

由花藥培養誘得單元體水稻倍加品系

田間表現之初步觀察¹

郭益全 林明華 謝順景²

摘要：本研究爲了初步檢討水稻花藥培養所育成雙單元體植株之育種價值，乃選用遺傳質純接合稻株之花藥所誘得雙單元體品系進行本試驗。結果發現：從花藥之培養到雙單元體植株之誘導的整個過程中，產量 4 要素之有關遺傳因子極可能發生各類不易查覺之突變，且突變後之遺傳因子對本省一、二期作生育環境之適應能力也有若干程度之差異。文中曾就此等結果加以討論，並據此等結果推論水稻之花藥培養應有利於雜接合育種集團遺傳多樣性之擴大，而實際俾益於新品種之選育。

水稻之花藥經培養後，除了可獲得單元體之植株外，尚可產生大量的二元體及少數之多元體植株^(3,5-7,9-14)。而這些單元體植物得經由秋水仙素 (Colchicine) 之處理，行染色體之人工倍加以獲致雙單元體之水稻植株^(1,8)；或將這些單元體植株之器官或組織於添加有某特殊化學成份 (例如 2, 4-D) 之培養基上行繼代培養 (subculture)，亦可誘得遺傳質純接合之雙單元體植株⁽¹⁾。至於那些非單元體植株之來源，據 Chen (1977) 之研究推論，認爲此可能係花粉在早期發育過程中，細胞之核融合 (nuclear fusion) 所造成的⁽⁵⁾。因爲這些二元體理論上都是完全同基因型的 (completely homozygous) 個體，所以水稻之花藥培養在水稻之遺傳及育種上具有高度的實用價值⁽³⁾。

臺灣省農業試驗所農藝系遺傳研究室已成功連續由水稻之花藥培養誘導出各種倍數體之植株，並已培育成許多性狀表現安定而不分離的固定品系。惟，過去之研究工作概偏重於最適培養基之究明^(4,6,14)，內在適期花粉發育時期之決定^(1,2,5)與外在培養環境之影響^(1,2,4)，癒合組織 (callus) 再分化率的提高與白苗率之控制⁽⁴⁾，單元體植物之倍加技術⁽⁸⁾及各類單、雙及多元體植物之來源與其形成之機制^(1,2,5,9,11,13)等基本問題的探討，而尚未盡力於誘得雙單元體植物在遺傳與育種等實用價值方面之觀察和檢討。

鑑此，筆者等乃由本研究室現保存之 100 多個品系中，逢機選用經秋水仙素處理單元體稻株而得之人工倍加的雙單元體品系 2 個；由單元體植株繼代宿根繁殖過程中而獲之自然倍加的雙單元體品 2 個及花藥親臺中 65 號等 5 個材料，行一年兩期作之栽培，以初步檢討由花藥培養所誘得雙單元體品系之表現。

材料與方法

本研究的水稻材料係逢機選自本研究室以臺中 65 號之花藥所培育成之雙單元體品系。其來源說明詳表 1。

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 922 號

2. 本所農藝系技士及技正兼系主任。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

表 1. 試驗材料

Table 1. Experimental materials used

Materials	Source
Taichung 65	Original variety
T-11	Naturally occurred doubled-haploid through anther culture
T-12	Naturally occurred doubled-haploid through anther culture
T-29	Doubled-haploid derived by colchicine treatment through anther culture
T-30	Doubled-haploid derived by colchicine treatment through anther culture

試驗在臺中縣萬豐本所試驗農場進行。田間設計採逢機完全區集設計，二重覆。1 期作 1978 年 1 月 19 日播種，2 月 27 日插秧，肥料用量 N:P:K=120:40:40 (kg/ha)；2 期作 1978 年 7 月 13 日播種，8 月 3 日插秧，肥料用量 N:P:K=100:20:40 (kg/ha)。行株距 25×25cm，每小區插 3 行，每行 12 株，成熟時收穫調查中間 10 株。調查項目計有抽穗期（據此及播種期以換算為生育日數）、株高、穗數、穗長、穗重，平均一穗穎花數、結實率、千粒重及單株穀產量等九個性狀。

結 果

一、供試雙單元體系統各農藝性狀之變力分析

將所調查之 9 個性狀，以期作及材料為處理行二因子之逢機完全區集的複因子變力分析，其分析結果列於表 2。

表 2. 各性狀之變力分析

Table 2. Analysis of variance for various characters

Source of variation	D. f.	Growth ¹ duration (day)	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	Panicle weight (g)	Panicle number	Spikelet number	Seed setting (%)	1,000 grain wt. (g)	Yield /per plant (g)
Block	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Materials (M)	4	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	*	*
Crops (C)	1	**	**	**	**	ns	**	**	**	**
M×C	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*

1. from sowing to heading.

ns. nonsignificant.

*. significant at 5% level.

**. significant at 1% level.

細察表 2 知，各性狀區集間之差異均不顯著，表示本試驗之設計對土壤差異之局部控制尚稱得當，亦即本試驗之設計尚稱精密，試驗之結果應屬正確詳實，結果之推論亦應合理可信。

由同表可知，本研究供試材料間之各性狀大致上概無顯着差異存在，僅平均一穗穎花數、千粒重及單株穀產量之差異達 5% 之顯著水準，暗示有關控制複合性狀產量之諸數量因子（polygene）在花藥之培養到雙單元體植株之誘導的過程中，可能發生或多或少之不易察覺的突變。而調查性狀在兩期作之表現，則除穗數外餘均有極顯著之差異存在，顯示期作對供試諸雙單元體系統各性狀之表現

有相當程度之影響。至於供試材料與期作之交感作用，則僅僅單株穀產量顯著，意即在兩期作生育環境下，供試材料單株之穀產量的表現出豐產抑低產之情形，材料間並不十分一致。

二、供試雙單元體系統各性狀之比較

變力分析表(表2)所示數據僅將供試材料之調查性狀作一綜合性之分析，因而材料間個別性之實質差異則無法現出端倪，故將調查性狀按期作之不同分別把5個供試材料作進一步之平均值比較。其結果列如表3及表4。

表3. 雙單元體各性狀之表現(1978 1期作)

Table 3. Performance of various characters of doubled-haploid rice (1978 1st. crop)

Materials	Growth ¹ duration (day)	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	Panicle weight (g)	Panicle number	Spikelet number	Seed setting (%)	1,000 grain wt. (g)	Yield/per plant (g)
Taichung 65	101 ² a	104 a b	20.0 a	2.49 a	10 a	90 a c	96 a	28.18 a	24.08 a
T-11	101 a	99 a	20.2 a	2.39 a	8 a	85 a b	95 a	27.68 a	17.23 b
T-12	101 a	101 a	20.7 a	2.32 a	9 a	82 b	95 a	27.96 a	18.68 b
T-29	102 a	110 a	19.8 a	2.57 a	10 a	95 a c	95 a	26.64 b	23.29 a
T-30	102 a	105 a b	20.5 a	2.57 a	10 a	93 a c	95 a	27.25 a b	23.16 a

1. from sowing to heading

2. means followed by the same letter are not significantly different at 5% level

表4. 雙單元體各性狀之表現(1978 2期作)

Table 4. Performance of various characters of doubled-haploid rice (1978 2nd. crop)

Materials	Growth ¹ duration (day)	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	Panicle weight (g)	Panicle number	Spikelet number	Seed setting (%)	1,000 grain wt. (g)	Yield/per plant (g)
Taichung 65	80 ² a	119 a	24.5 a	2.18 a	10 a	123 a	62 a	23.08 a	16.58 a
T-11	80 a	113 a	24.4 a	2.04 a	10 a	119 a	60 a	23.03 a	16.04 a
T-12	81 a	113 a	24.2 a	1.95 a	10 a	107 b	62 a	23.45 a	14.72 b
T-29	81 a	118 a	24.9 a	1.93 a	10 a	124 a	54 b	21.85 b	14.24 b
T-30	80 a	119 a	25.0 a	2.00 a	10 a	117 a	58 a b	22.44 a b	16.51 a

1. from sowing to heading

2. means followed by the same letter are not significantly different at 5% level

綜覽兩表知：在1期作之生育環境下，產量有關之性狀中，僅T-11及T-12兩系統之平均一穗穎花數及單株穀產量較差，T-29系統千粒重較輕。而其他農藝性狀之表現則T-11及T-12兩系統之植株略矮，其餘諸性狀之表現材料間幾無差異存在(表3)。而各材料在2期作之表現，則T-12系統之平均一穗穎花數與單株穀產量及T-29系統之結實率、千粒重與單株穀產量之表現略遜(表4)。

三、供試雙單元體系統各性狀之期作間差異

本省稻作之栽培年有兩期。但因為兩期作之生育環境迥然不同，雖相同品種栽培於相同地點，其性狀之表現亦自不同；且性狀表現之期作間的差異程度亦隨品種之不同而不同，而與供試材料之安定

性 (stability) 有關。本研究爲了便於不同性狀間差異程度之比較，曾將供試材料諸性狀之兩期作間差異之絕對值對兩期作值之和求比值，以初步描述供試材料性狀表現之期作間的安定程度，其值則示於表 5。綜觀表 5 而知，由水稻臺中 65 號之花藥，經培養誘得的 4 個雙單元體系統各性狀表現之期作間差異，概與原花藥親本相似，並皆以結實率之期作間差異最大，而以穗數之變異最小。而若就不同材料之同一性狀言，則除單株穀產量之變異較大外，餘各材料同性狀之期作間差異的變異程度則尚稱一致。

表 5. 雙單元體各性狀在兩期作間之差異

Table 5. Difference in various characters of doubled-haploid rice between the first and second crop season

Materials	Growth ¹ duration (day)	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	Panicle weight (g)	Panicle number	Spikelet number	Seed setting (%)	1,000 grain wt. (g)	Yield/per plant (g)
Taichung 65	0.1160 ²	0.0673	0.0805	0.0664	0	0.1549	0.2152	0.0995	0.1845
T-11	0.1160	0.0660	0.0942	0.0790	0.0714	0.1667	0.2258	0.0917	0.0295
T-12	0.1099	0.0536	0.0780	0.0867	0.0526	0.1323	0.2101	0.0877	0.1183
T-29	0.1148	0.0351	0.1141	0.1422	0	0.1324	0.2752	0.0988	0.2411
T-30	0.1209	0.0625	0.0989	0.1247	0	0.1143	0.2157	0.0968	0.1676

1. from sowing to heading

2. value = $\frac{|\text{1st. crop} - \text{2nd. crop}|}{\text{1st. crop} + \text{2nd. crop}}$

四、供試雙單元體系統之期作與單株穀產量的交感

由變方分析表中知期作與材料之交感僅單株穀產量顯著 (表 2)，而各材料單株穀產量期作間差異之變異程度又頗大 (表 5)。故本研究特進行期作與各個材料單株穀產量個別交感效應值的進一步估算 (表 6)。結果發現供試材料僅 T-11 及 T-29 兩系統之個別期作交感值達 5% 顯著水準，其餘各材料則皆不顯著。而由交感效應值之是正或負可判定：T-11 系統較適合二期作之栽培，而 T-29 系統則僅一期作之環境下栽培較有利，至於其餘材料雖也有較適一期作或二期作生育條件下栽培較妥善之傾向，但因其個別期作與單株穀產量之交感效應值不顯著，啓示此等材料在任何期作之環境下栽培，均尚可達水準之單株穀產量。

表 6. 單株穀產量之材料與期作間之交感

Table 6. Interaction between materials and crop of grain yield per plant

	Taichung 65	T-11	T-12	T-29	T-30
1978 1st crop	0.94	- 2.36*	- 0.83	1.72*	0.52
1978 2nd crop	- 0.94	2.36*	0.83	- 1.72*	- 0.52

*. significant at 5% level

討 論

就理論上言，遺傳質純接合水稻個體之花藥經培養後所誘得的雙單元體植株，其不論是由單元體植株經秋水仙素處理所人工倍加者或經繼代宿根繁殖而自然誘致者，皆應是完全同基因型的（completely homologous）個體，亦即這些雙單元體各性狀之表現應與原花藥親者一致。其若發生若干變異，則可能的原因互大別歸成兩類：一為試驗環境局部差異之控制不當所引起，亦即外在試驗設計不當所造成；二係由花藥培養到雙單元體誘導之整個過程中，控制性狀表現之若干遺傳因子發生不易查覺之小突變（micromutation）或大突變（macromutation）所造成，亦即為內在遺傳因素所引起。而本研究中供試材料調查性狀經變方分析結果顯示區集效應不顯著（表2），表示本試驗中所發現供試材料性狀表現之發生若干變異，應非導因於試驗設計之不當所引起。援Chen水稻花藥培養發現染色體數 $2n=25$ 植株之事實⁽⁵⁾，再證於本研究所得之數據，筆者等肯定地認為控制性狀表現之主效因子（major gene）或微效因子（minor gene or poly gene），在花藥之培養到雙單元體植株誘導之整個過程中發生各類突變，才是造成供試材料性狀表現不一之主要原因。

生物本身能經由遺傳及生理之機制而具自我控制的能力，使其在複雜變動的生育環境中，能忍受某些不適的生育條件而正常穩定地維持其生存且茁壯並繁衍後代，此即所謂之自身調整（homeostasis）或緩衝（buffering）或安定性（stability）。本研究中發現供試材料單株穀產量之期作間差異的變異相當大，顯示各供試材料單株穀產量之自身調整能力不一，而一般咸認複合性狀產量是由穗數、一穗穎花數、結實率及千粒重等四要素所成。仔細比較兩期作供試材料產量4要素的表現（表3及表4），並參照表5所列各產量要素期作間差異之變異情形，筆者等相當肯定地認為供試材料單株穀產量安定性之不一，乃源自培養過程中產量4要素發生或多或少之各類突變，同時突變後之遺傳因子在一、二期作生育條件互異的環境中之適應能力又自不一，故由4要素累積相乘效果之複合性狀產量的安定性變異遂最大。亦即筆者等以為整個培養過程中，有關性狀之遺傳因子不僅有發生各類突變之可能，同時突變後之因子的自身調整能力也不盡相同。也因之，數據顯示雙單元體供試材料中有較適合二期作生育條件下栽培之系統；有較適合一期作栽培之品系；也有兩期作皆能獲得水準穀量之系統（表6）。

綜合本研究發現從遺傳質純接合稻植株花藥之培養中可能獲致各類變異，且突變之遺傳因子對變動之生育環境的適應能力又不盡一致之事實。啓示吾人不僅遺傳質純接合花藥之培養有遺傳育種價值；而若從遺傳質異接合之雜交 F_1 稻植株花藥之選用，並使用添加適當誘導劑之培養基行培養，則應更能大大提高雜種花藥集團之遺傳多樣性（diversity），而有助吾人更迅速簡單地選獲具目標性狀之因定品系。總言之，即筆者等樂觀地相信，花藥培養不僅在遺傳方面能提供具饒趣的研究材料；即在實際造成育種目標集團之多樣性及縮短育種年限方面也具實用價值。

誌謝：本文蒙國立臺灣大學植物學系陳教授其昌博士之過目斧正，謹誌表謝悃。

引用文獻

1. 陳其昌、張穎、1974·花藥培養與單元體育種 科學農業 22(5-6)：95-103。
2. 陳其昌、1976·水稻花藥培養之研究 花粉時期與低溫處理 科學發展 4(2)：2186-2190。
3. 許淑卿、陳其昌、1977·水稻花藥培養之研究 二元體花藥植株的來源 科學發展 5(10)：834-839。
4. 蔡秀錦、林明華、1977·水稻花藥培養以育成植株之研究 中華農業研究 26(2)：100-112。
5. Chen, C. C. 1977. *In Vitro* development of plants from microspores of rice. *In Vitro* 13(8)：484-489.
6. Chen, C. C. and M. H. Lin. 1976. Induction of rice plantlets from anther culture. *Bot. Bull. Academia Sinica* 17：18-24.
7. Iyer, R. D. and S. K. Raina. 1972. The early ontogeny of embryoids and callus from pollen and

- subsequent organogenesis in anther cultures of *Datura metel* and rice. *Planta* 104 : 146-156.
8. Lin, M. H. 1979. Diploidization of haploid rice plants by colchicine treatment. *J. Agri. Res. China* 28 (1) : 45-49.
 9. Mok, T. and S. C. Woo. 1976. Identification of pollen plants regenerated from anther of an intersubspecific rice hybrid. *Bot. Bull. Academia Sinica* 17 : 169-174.
 10. Nishi, T. and S. Mitsuoka. 1969. Occurrence of various ploid plants from anther and ovary culture of rice plant. *Jan. J. Genet.* 44 : 341-346.
 11. Woo, S. C. and I. J. Tung. 1972. Induction of rice plants from hybrid anthers of *indica* and *japonica* cross. *Bot. Bull. Academia Sinica* 13 : 67-69.
 12. Woo, S. C. and H. Y. Su. 1975. Doubled haploid rice from *indica* and *japonica* through anther culture. *Bot. Bull. Academia Sinica* 16 : 19-24.
 13. Woo, S. C., H. Y. Su, C. M. Ng and I. J. Tung. 1973. Seed formation on induced haploid plant and cytology of anther culture callus from hybrid rice. *Bot. Bull. Academia Sinica* 14 : 61-64.
 14. Woo, S. C., T. Mok and J. Y. Huang. 1978. Anther culture of *Oryza sativa* L. and *Oryza perennis* Moench hybrids. *Bot. Bull. Academia Sinica* 19 : 171-178.

A preliminary observation on field performance of doubled-haploid rice through anther culture¹

Yi-Chuan Kuo, Ming-Hwa Lin and Sung-Ching Hsieh²

Summary

The present studies were conducted to evaluate the value of doubled-haploid plants in rice breeding. Four of 100 completely homozygous lines developed through anther culture were randomly selected for field trial. The results of statistical analysis showed that the micromutation of quantitative characters had been induced during the process of doubled haploid development following anther culture. The performance of four major yield components controlled by minor genes as well as mutated genes, differed from crop seasons due to different climatic conditions. The advantages of using hybrid anther for tissue culture to increase the genetic variability of doubled-haploid plants so that to increase the chance of selection had been stressed.

1. Contribution No. 922 from the Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Respectively, Associate and Senior Agronomists of Department of Agronomy, TARI, Taichung Hsien, Taiwan 431. ROC.