

水稻花藥癒傷組織形成培養基的檢討¹

陳良築 賴本智 廖千賀 蔡新聲²

摘要：利用 MS (Murashige & Skoog, 1962) 或 N-6 (Chu *et al.*, 1975) 基本鹽類培養基，配合不同的植物荷爾蒙，做為誘導水稻花藥癒傷組織形成及幼植株分化的培養基，發現含有 N-6 無機鹽類的兩種培養基，其癒傷組織的誘導率為 40% 左右，遠較含有 MS 無機鹽類培養基的 20% 為高。對幼植株的分化而言，源自含有 NAA、Kinetin 培養基的花藥癒傷組織，其分化綠苗的能力，遠較源自含有 2, 4-D 2mg/l 培養基者為高。若同時考慮花藥癒傷組織的形成及綠苗分化，則以含有 NAA 4mg/l、Kinetin 2mg/l 的 N-6 無機鹽及 MS 有機鹽類培養基最優，其育種效率 (breeding efficiency, 即由花藥培養形成綠苗的百分率) 為 12.4。含有 NAA、Kinetin 的 MS 無機鹽類培養基次之，其育種效率為 4.7。而含有 2, 4-D 的 MS 及 N-6 培養基均不佳，其育種效率均為 1.8，不適於利用花藥培養進行育種工作時使用。

利用水稻花藥培養獲得的單元體，進行染色體數倍加而得完全同質二元體的育種方式，不但能縮短育種時間，且能提高選拔效果，已為先進育種工作人員所採行^(4,6)。唯目前誘導花藥產生癒傷組織的頻率仍太低^(3,6,27)，限制了花藥培養被廣泛的應用於實際的育種工作上。因此，如何提高花藥癒傷組織產生的頻率，是我們亟欲解決的目標。

提高花藥癒傷組織形成頻率的方法中；除了，花藥來源母株的生長情形^(3,5,17,25,26)，花藥培養的最適時期^(2,4,11,15,22)，花藥培養前的低溫處理^(2,4,8,9,16)，及花藥培養的環境⁽⁴⁾等重要因子會影響花藥癒傷組織形成的頻率外，培養基的選用將是最重要的關鍵之一。

有關培養基的探討，國外的報告很多，如 Murashige & Skoog (1962)⁽²¹⁾、Miller (1963)⁽²⁰⁾、Linsmaier & Skoog (1965)⁽¹⁹⁾、Blaydes (1966)⁽⁷⁾、Oono (1975)⁽²³⁾ 的 K-1 培養基及最近由 Chu *et al.* (1975)⁽¹³⁾ 發表的 N-6 培養基等，但均侷限於一隅。就水稻花藥培養癒傷組織形成的培養基而言；一般認為 MS 及 N-6 的基本配方較好^(4,14)。而國內對水稻花藥培養基的探討，除了林等⁽¹⁾ 以 Blaydes' 為基本培養基進行植物荷爾蒙 2, 4-D、IAA 及 Kinetin 的濃度組合比較試驗，及蔡和林等⁽³⁾ 對 MS、Miller 及 White 等三種基本培養基的比較試驗外，其餘學者均慣用某一特定培養基。如 Chen⁽¹¹⁾ 自 1977 年起一直使用 MS 為基本培養基進行研究工作。因此國內對培養基的探討非常缺乏。

本研究即針對目前被廣泛使用的 MS 及 N-6 基本鹽類培養基進行檢討，期能找出更適合於誘導水稻花藥癒傷組織形成的培養基，使花藥培養的育種技術更邁向實用的階段。

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1068 號。本研究承國科會之補助 (NSC 71-0204-B 055-02)。資料蒙劉清博士及何惠小姐分析。英文摘要蒙劉大江博士修正。謹此一併誌謝。

2. 本所農藝系助理、助理研究員、研究助理及研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

材料與方法

花藥培養所用的材料為臺農 67 號及表 6 所列秈硬稻雜種的花藥。將劍葉葉耳距下位葉葉耳約 5 cm 時之稻穗連同劍葉摘下，以 70% 酒精擦拭葉鞘外部後，取出幼穗，浸漬於 70% 酒精中 30 秒，再以 0.5% 的次氯酸鈉消毒 3 分鐘，以無菌水沖洗 3—4 次後，將屬於單核期的花藥以 chen et al. (12) 所述之方法，分別接種於下述之 A、B、C、D 等四種培養基上。

A 培養基：添加植物荷爾蒙 NAA 4 mg/l, Kinetin 2 mg/l, Sucrose 6%, Phytagar 0.8% 及大量無機鹽減半 (Na-Fe-EDTA 除外) 之改良式 MS 培養基。(簡稱為 R-1)。

B 培養基：除植物荷爾蒙改用 2,4-D 2 mg/l 外，其餘均同於 A 培養基。

C 培養基：使用 N-6 培養基之無機鹽類及添加 2,4-D 2mg/l 為植物荷爾蒙外，其餘均同於 A 培養基。

D 培養基：除植物荷爾蒙改用 NAA 4mg/l、Kinetin 2 mg/l 外，其餘均同於 C 培養基。

培養花藥在溫度為 26 ± 1 °C，不照光的環境下，進行癒傷組織的誘導，並調查形成癒傷組織的數目及日數。

將在原培養基生長約 10 天左右的花藥癒傷組織，繼代培養於含有 NAA 1mg/l, Kinetin 4 mg/l, NaH_2PO_4 170 mg/l, Adenine Sulfate 40 mg/l 及 Sucrose 3% 的全量 MS 無機鹽類固體分化培養基上，培養在溫度 26 ± 1 °C，光照 1,500 lux，光期 16 小時的環境下，進行幼植株分化的誘導。

結 果

一、癒傷組織的誘導：

水稻花藥在培養三週後即開始自開裂的花藥中，長出白色或淡黃色的癒傷組織。四種不同培養基對花藥癒傷組織的誘導能力，有顯着的差異。表 1 顯示含有 N-6 無機鹽類的 C、D 培養基，其花藥癒傷組織的誘導率分別為 37.9% 及 42.8%；均較含有 R-1 基本鹽類的 A、B 培養基為高。觀察由不同培養基形成的癒傷組織，發現自含有 2,4-D 的 B、C 培養基形成的癒傷組織，顏色較深黃，質地鬆軟易散，表面光滑富含水分，測定其乾物重百分比分別為 9.2% 及 12.3%。而自含有 NAA 及 Kinetin 的 A、D 培養基產生的癒傷組織，成團塊狀，顏色淡黃或乳白，表面參差不齊，水分含量較少，經測定其乾物重百分比分別為 23.4% 及 17.9% (如表 2)。此種不同植物荷爾蒙對癒傷組織顏色、質地及水分含量的影響，與癒傷組織分化幼植株難易間的關係，值得進一步研究。

表 1. 無機鹽類及植物荷爾蒙對水稻花藥培養癒傷組織形成之效應

Table 1. Effect of mineral salts and plant hormones on callus formation in rice anther culture (cv. Tainung 67)*.

Medium	Basic salts**	Plant hormones			No. of anthers cultured	No. of anthers forming callus	Percent of anthers forming callus
		2, 4-D	NAA	kinetin			
		— mg/l —					
A	R-1	0	4	2	709	149	21.0 ^b
B	R-1	2	0	0	823	172	20.9 ^b
C	N-6	2	0	0	940	356	37.9 ^a
D	N-6	0	4	2	866	371	42.8 ^a

* 2nd crop, 1981

** R-1 basal medium: Murashige and Skoog (1962) organic salts, $\frac{1}{2}$ strength of MS mineral salts (except Na-Fe-EDTA), and 6% sucrose.

N-6 basal medium: Chu et al., (1975) inorganic salts and MS organic salts, and 6% sucrose.

表 2. 無機鹽類及植物荷爾蒙對水稻花藥癒傷組織乾物量之影響

Table 2. Effect of mineral salts and plant hormones on callus dry weight in rice anther culture.

Callus induction* medium	Fresh weight of callus (mg)	Dry weight of callus (mg)	% of dry weight of callus
A	266.63	62.31	23.4
B	1,076.74	99.21	9.2
C	699.48	86.19	12.3
D	795.93	142.39	17.9

* See table 1 for composition of callus induction medium.

二、幼植株的誘導：

將自四種不同培養基形成的癒傷組織，移至分化培養基上，可誘導癒傷組織分化成綠苗、白苗、不正常芽體及根或全不分化。表 3 顯示，由含有 NAA, Kinetin 的 A、D 培養基形成的花藥癒傷組織，其分化綠苗的比率分別為 22.2% 及 29.0%，較含有 2,4-D 的 B、C 培養基，其綠苗的分化率分別為 8.5% 及 4.8%，高出甚多。白苗的分化率，四種培養基的差異不顯着。但綠苗及白苗的總分化率，仍以含有 NAA, Kinetin 的 A、D 培養基為佳。

此外，將四種培養基剛形成的癒傷組織，先繼代培養於 D 培養基 7—10 天後，再移至分化培養基上，進行幼植株的誘導，發現原來綠苗分化率極低的 B、C 培養基，經上述繼代培養後，其綠苗分化率提高很多，如表 4 所示。此種結果顯示，2,4-D 的使用，不利於花藥癒傷組織的分化是很明顯的。

表 3. 水稻花藥癒傷組織誘導培養基中無機鹽類及植物荷爾蒙對癒傷組織分化能力之影響

Table 3. Influence of mineral salts and plant hormones of callus induction medium on callus differentiation ability in rice anther culture. *

Callus induction medium**	No. of callus cultured	No. of callus forming plants***			Percent of callus forming plants		
		green	albino	total	green(G)	albino(A)	total (G+A)
A	90	20	9	29	22.2 ^a	10.0 ^a	32.2 ^a
B	106	9	7	16	8.5 ^b	6.6 ^a	15.1 ^b
C	230	11	13	24	4.8 ^b	5.7 ^a	10.5 ^b
D	300	87	32	119	29.0 ^a	10.7 ^a	39.7 ^a

* 2nd crop, 1981

** See Table 1 for composition of callus induction medium

*** Callus differentiation medium : MS salts with 170 mg/l NaH₂PO₄, 40 mg/l adenine sulfate, 3% sucrose, 1 mg/l NAA and 4 mg/l kinetin.

表4. 水稻花藥癒傷組織經繼代培養於D培養基後對分化植物體之影響

Table 4. Plant differentiation from rice anther callus as affected by subculture of callus on medium D.

Callus induction medium*	No. of callus subcultured	No. of callus forming green plant	Percent of callus forming green plant	CK**
A	12	2	16.7	22.2 ^a
B	62	11	17.7	8.5 ^b
C	117	43	36.8	4.8 ^b
D	64	21	32.8	29.0 ^a

* See Table 1 for composition of callus induction medium

** Percent of plant differentiation from callus without subculture on medium D.

三、育種效率及培養基的實際應用：

育種效率 (Breeding efficiency) 即由花藥培養形成綠苗的百分率。此數值可做為實際從事花藥培養育種工作的指標。除非育種效率不斷提高，否則花藥培養的技術就無法被廣泛地應用在實際的育種工作上。水稻花藥培養是以癒傷組織的形成為第一步驟。因此，育種效率是由癒傷組織的誘導率及綠苗分化率相乘而得。由上述表 1 及表 3 的結果相乘而得表 5。表 5 顯示，含有 NAA 4 mg/l, Kinetin 2 mg/l, N-6 無機鹽類及 MS 有機物的 D 培養基，其育種效率為 12.4 最高。較本研究室慣用的 R-1 培養基 (即 A 培養基)，其育種效率為 4.7，高出有 2.6 倍之多。

利用育種效率最高的 D 培養基，培養本研究室實際從事育種工作時使用的秈梗稻雜種花藥；與上期作利用 A 培養基培養所得的結果，進行比較，得到表 6 的結果。此結果顯示，D 培養基不僅對栽培稻臺農 67 號的花藥培養效果良好。對秈梗稻雜種的花藥培養亦同樣具有良好的效果。因此，D 培養基的發現，將使水稻花藥培養的育種工作，再向前邁進一步。

表5. 無機鹽類及植物荷爾蒙對水稻花藥培養單倍體形成之效應

Table 5. Effects of mineral salts and plant hormones on haploid plant formation in rice anther culture. *

Basal media**	Percent of anther forming callus (A)	Percent of callus forming green plants (B)	Breeding efficiency (A × B)
A	21.0	22.2	4.7
B	20.9	8.5	1.8
C	37.9	4.8	1.8
D	42.8	29.0	12.4

* 2nd crop, 1981

** Basal media: See Table 1 for medium composition

表6. 改良培養基對和硬稻雜種花藥培養癒傷組織形成及植物體分化之效果

Table 6. Effects of improved medium on callus formation and plant differentiation ability in hybrid (Japonica x Indica) anther culture.

Cross combination	Callus induction medium*	No. of anthers cultured	No. of anthers forming callus	Percent of anthers forming callus (A)	Percent of callus forming green plant (B)	Breeding efficiency (A × B)
TNG 67/Laka**	A	1,314	222	16.9	18.0	3.0
	D	2,831	1,312	46.3	22.0	10.2
TNG 67 ² /Tetep**	A	2,341	608	26.0	7.1	1.8
	D	3,000	928	30.9	22.7	7.0
TNG 67 ² /Laka**	A	2,288	461	20.2	7.8	1.6
	D	3,050	922	30.2	20.3	6.1
TN 5 ² /IR30**	A	1,882	198	10.5	26.2	2.8
	D	2,400	512	21.3	29.1	6.2

* See Table 1 for composition of callus induction medium

** Data of anther cultured in A and D media were obtained from 1st and 2nd crop, 1981 respectively

討 論

培養基成分及植物荷爾蒙之有無，是花藥培養能否誘致單元體植株的最重要因子之一，而每種作物或品種的花藥培養對培養基的要求各異⁽⁴⁾。若單倍體的產生是直接來自胚狀體，不需經由癒傷組織，則培養基中通常不需添加或只需添加少量的 Auxins 及 Cytokinins；但若單倍體的形成是以癒傷組織的產生為第一步驟，則培養基中含有較高濃度的植物荷爾蒙是必需的。水稻花藥培養單倍體的形成，即以癒傷組織的產生為第一步驟；因此，植物荷爾蒙的添加是必需的。

目前常被使用的植物荷爾蒙主要有 2,4-D、IAA、NAA 及 Kinetin 等。但在使用上，常因作物之種類及試驗之需要，而有各種不同濃度的組合，且結果也不甚一致。如林等氏研究水稻花藥培養，發現 2,4-D 為水稻花藥癒傷組織形成的必需成分，如加上 IAA 則其誘導效果更佳，其含量為 2,4-D、IAA 各 2-4 mg/l。但 IAA 及 Kinetin 單獨或同時使用，都無誘導癒傷組織形成的效果⁽¹⁾。Liang 氏也報導 2,4-D 2 mg/l 較適於水稻花藥癒傷組織的誘導，而 IAA 則無效⁽¹⁸⁾。蔡和林氏在水稻花藥培養的研究中，使用 NAA 5 mg/l, Kinetin 2.5 mg/l 的植物荷爾蒙濃度，可誘導花藥癒傷組織形成的比率達 20.2%。如改以 2,4-D 代替 NAA，癒傷組織的誘導率反而降低。因此蔡氏等認為花藥癒傷組織的誘導過程中，2,4-D 並非必要⁽³⁾。Chaleff 氏也報導 2 mg/l 的 NAA 或更高的濃度，對癒傷組織的形成有促進作用，再添加 0.5 mg/l 的 2,4-D 也有促進效果，但不顯著；而 IAA 却有抑制作用⁽⁹⁾。陳和林等在水稻花藥培養的報告中，曾指出 2,4-D 會刺激體細胞產生癒傷組織，且會導致癒傷組織不易分化。而使用 NAA 則可使幼植株直接在癒傷組織誘導培養基中產生⁽¹⁰⁾。本試驗結果，發現含有 2,4-D 2 mg/l 的培養基與含有 NAA 4 mg/l、Kinetin 2 mg/l 的培養基，對癒傷組織的誘導具有相同的效果。但對癒傷組織分化綠苗而言；含有 2,4-D 的兩種培養基，分化綠苗的比率非常低，只有 8.5% 及 4.8%。而含有 NAA 及 Kinetin 的培養基則具有較高的分化率。表 4 之試驗結果更進一步說明 2,4-D 不利於癒傷組織分化成幼植株。這種現象與陳氏的報告極為一致。因此，利用花藥培養從事育種工作時，以不使用 2,4-D 為宜。

陳氏⁽¹¹⁾自 1977 年開始一直使用含有 NAA 4 mg/l 及 Kinetin 2 mg/l 的改良 MS 培養基，做為誘導水稻花藥癒傷組織形成的培養基，本研究室也一直以此培養基從事於水稻花藥培養的育種工作。但最近國外許多報告指出 N-6 培養基對水稻花藥癒傷組織的誘導具有良好的效果。本試驗結果也

發現 N-6 培養基對水稻花藥癒傷組織的誘導效果較本研究室慣用的 R-1 培養基為優。Chu⁽¹³⁾ 也報導 N-6 培養基在許多穀類作物，如水稻、小麥、黑麥及玉米的花藥培養，均較 Miller's 及 MS 培養基的效果好。他同時指出，培養基中低濃度的 NH_4^+ 有利於花藥癒傷組織的形成。而較高濃度的 NH_4^+ 將抑制花藥癒傷組織的產生。Chu 等發表的 N-6 培養基，即針對不同氮源 NH_4^+ 、 NO_3^- 而建立了一個適當的氮素濃度組合。在他的報告中還指出 NH_4^+ 的適當濃度，因硬、秈及雜種稻之不同而異，分別是 3.5、7.0 及 4.76 m.e./l。Liang 氏⁽¹⁸⁾ 也報導除了 NH_4^+ 的濃度外， NO_3^- 、 H_2PO_4^- 、 Mg^{++} 及 Fe^{++} 的適宜用量，也會影響癒傷組織的形成。其中 NO_3^- 的適宜濃度與 NH_4^+ 之存在與否相關，其範圍介於 28.0—31.5 m.e./l。 H_2PO_4^- 、對癒傷組織的綠苗分化率影響很大，其適宜之濃度為 4.5—5.0 m.e./l。 Mg^{++} 及 Fe^{++} 均會影響癒傷組織的形成及綠苗的分化率。 Mg^{++} 之適宜濃度為 0.3—2.2 m.e./l， Fe^{++} 則為 0.4—0.6 m.e./l。N-6 培養基對上述所提之無機鹽成分，均有適宜的含量。本試驗結果也證實 N-6 的無機鹽成分確實較半量的 MS 無機鹽更有利於水稻花藥癒傷組織的誘導。

綜合上述之結果，得知 N-6 培養基的無機鹽成分有利於水稻花藥癒傷組織的形成。但所含的植物荷爾蒙 2,4-D 却限制了癒傷組織的分化。今將 2 mg/l 的 2,4-D 以 NAA 4 mg/l，Kinetin 2 mg/l 取代，並配合 N-6 無機鹽、MS 有機鹽、6% Sucrose 及 0.8% Phytagar 的 D 培養基，經實際應用在秈硬稻雜種的花藥培養結果，證實此改良培養基確實有利於實際從事水稻花藥培養育種工作時使用。

引用文獻

1. 林正義、曾美倉、蔡新聲。1974。影響水稻花藥起源癒傷組織形成諸因子之研究。國立臺灣大學農學院研究報告 15 (2) : 1—16。
2. 陳其昌。1976。水稻花藥培養之研究：花粉時期與低溫處理。科學發展月刊 4(2) : 2187—2190。
3. 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。
4. 蔡新聲。1980。花藥培養單倍體植物之形成及應用。科學農業 28(11—12) : 379—396。
5. 蔡新聲。1980。不同季節生長下母株菸草花藥培養植物體之形成。中華農業研究 29(2) : 147—155。
6. 蔡新聲、鄧耀宗、賴本智、紀酒淳。1981。秈硬稻雜種的花藥培養。中華農業研究 30 (2) : 133—139。
7. Blaydes, D. F. 1966. Introduction of kinetin and various inhibitors on the growth of soybean tissue. *Physiol. Plant.* 19 : 748—753.
8. Chaleff, R. S., S. R. Hill, and J. M. Dunwell. 1975. Rice anther culture. *John Innes Ann. Rept.* pp. 64—66.
9. Chaleff, R. S. and A. Stolarz. 1981. Factors influencing the frequency of callus formation among cultured rice (*Oryza sativa*) anthers. *Physiol. Plant.* 51 : 201—206.
10. Chen C. C. and M. H. Lin. 1976. Induction of rice plantlets from anther culture. *Bot. Bull. Academia Sinica* 17 : 18—24.
11. Chen, C. C. 1977. In vitro development of plants from microspores of rice. *In Vitro* 13(8) : 484—489.
12. Chen, C. C. and C. M. Chen. 1979. A method for anther culture of rice. *TCA Manual* 5(2) : 1051—1053.
13. Chu, C. C., C. C. Wang, C. S. Sun, H. Chen, K. C. Yin, C. Y. Chu, and F. Y. Bi. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen source. *Sci. Sin.* 18 : 659—668.
14. Chu, C. C. 1978. The N_6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. *In: Proc. Symp. on plant tissue culture.* Science Press, Peking. pp. 43—50.
15. Guha-Mukherjee, S. 1973. Genotypic differences in the *in vitro* formation of embryoids from rice pollen. *J. Exp. Bot.* 24 : 139—144.

16. Genovesi, A. D. and C. W. Magill. 1979. Improved rate of callus and green plant production from rice anther culture following cold shock. *Crop Science*. 19 : 662-664.
17. Hu, C., S. C. Huang, C. P. Ho, H. C. Liang, C. C. Chuang, and L. P. Peng. 1978. On the inductive conditions of pollen plantlets in anther culture. In : *Proc. Symp. on plant tissue culture*. Science Press, Peking. pp. 87-96.
18. Liang, H. M. 1978. The advance of studies on medium for anther culture of rice in China. *Proc. Symp. on plant tissue culture*. Science Press, Peking. pp. 57-63.
19. Linsmaier, E. M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 18 : 100-127.
20. Miller, C. O. 1963. Kinetin and kinetin-like compounds. *Modern Meth. Plant Anal.* 6 : 194-202.
21. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15 : 473-497.
22. Niizeki, H. and K. Oono. 1971. Rice plants obtained by anther culture. In : *Les cultures de plantlets. Colloques Internationaux du C. N. R. S. No. 193. Paris* : 251-257.
23. Oono, K. 1975. Production of haploid plants of rice (*Oryza sativa* L.) by anther culture and their use for breeding. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Series D* 26 : 139-222.
24. Rush, M. C. and Q. Q. Shao, 1980. Rice improvement through cell and tissue culture. In : *Rice research strategies for the future. International Symp. 21-25. April 1980. The International Rice Research Institute*. pp. 1-46.
25. Sunderland, N. 1973. Pollen and anther culture. In : *Plant tissue and cell culture*. pp. 205-239. Univ. of California press. Berkeley.
26. Tsay, H. S. 1981. Effects of nitrogen supply to donor plants of pollen embryogenesis in culture tobacco anthers. *Jour. Agri. Res. China* 30(1) : 5-13.
27. 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.

Medium Evaluation for Rice Anther Culture¹

L. J. Chen, P. C. Lai, C. H. Liao and H. S. Tsay²

Summary

Rice anthers of cv. Tainung 67 and F₁ hybrids of japonica x indica crosses at uninucleate developmental stage were inoculated on 4 different media. The effects of plant hormones and inorganic salts based on Murashige and Skoog (MS) or Chu *et al.* (N-6) on callus induction and further differentiation into green plants from cultured rice anthers were evaluated. It was found that the medium containing inorganic salts of N-6 composition gave better results in both callus induction and plant regeneration than that of MS inorganic salts. About 40% of cultured Tainung 67 anthers produced callus from N-6 medium compared with 20% from MS medium. Callus induced from medium containing NAA (4 mg/l) and kinetin (2 mg/l) possessed higher plant regeneration ability than those induced from 2, 4-D-containing medium. The medium composed of N-6 inorganic salts, MS organic substances and supplemented with 4 mg/l NAA and 2 mg/l kinetin was considered to be the best for callus induction and plant regeneration in rice anther culture. The breeding efficiency (number of anthers which produced green plant per 100 cultured anthers) of the new evaluated medium, when tested in Tainung 67, was 12.4 which was about 3 times higher than that of the MS medium with the same amounts of NAA and kinetin. The breeding efficiency of 2, 4-D-containing medium was only 1.8 and was not suitable in practical rice breeding programs.

¹ Contribution No. 1068 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by a grant (NSC-71-0204-B055-02) from National Science Council, Republic of China.

² Research Assistant, Assistant Agronomist, Assistant and Senior Agronomist, respectively of the Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, ROC.