綜觀水稻耐寒育種與花藥之關聯

農試所作物組 吳佩真 吳東鴻 卓緯玄 李長沛 顏信沐 賴明信

一、前言

水稻在生育過程中深受外在環境影響，舉凡溫度、溼度、降雨量與日照時數等因子皆與水稻的生長發育息息相關，其中又尤以溫度的變化對稻穀收量的豐歉最為關鍵。溫度逆境若發生於營養生長期，將造成水稻生長期延遲及植株黃化枯萎(圖一)，倘異常溫度出現在生殖生長期，則易導致幼穗死亡、稻穀充實不良或不稔實等情形發生(圖二)。

低溫傷害意指作物因低溫造成生長受阻、生理障礙甚至生長停滯、死亡的現象。若以溫度間距可區分為0°C以下的凍害、0- 10°C之寒害，以及10°C以上但低於作物生長適溫而造成的冷害。台灣地區水稻易遭受寒害有兩個時期，一為中南部地區一期水稻的生育初期，由於中南部冬季平均溫度較高，一期水稻播種較早，然一、二月期間仍常有強烈寒流侵襲，秧苗易遭受寒害。另一時期為北部地區二期水稻的抽穗期，若水稻插秧過晚，於九月下旬或十月上旬才開始抽穗，則易受初到的冷鋒影響，導致穀粒充實不全、空穎及結實率降低的情形發生。能預期之低溫可藉由灌水、覆蓋PE塑膠布或不織布保護幼苗，或提早播種等方式減低寒流可能帶來的損失。然而，除了上述原本易發生寒害的時期外，近年來受全球氣候變遷之影響，短暫的溫度變化不易預測且難以防患，例如民國98年3-4月份突如其來的冷鋒對台灣東部地區水稻造成難以評估的損失，該次冷害花蓮、台東地區受災面積將近7,000公頃，損失超過3億3千萬元(98年農業統計年報)，調查結果顯示，該時期正逢水稻孕穗時節，低溫可能影響了花粉的發育而致使開花授粉表現不良，稻穗上絕大部分佈滿「空包彈」，面對無稔實的稻穀農民也只能望之興嘆。相較之下其他地區影響不大，推估此乃因花東地區種植的品種相對較不耐寒，因此，了解水稻耐冷性之遺傳及基因定位等背景知識並選育耐寒性水稻品種是當前不容忽視的方向。

作　　者：吳東鴻助理研究員
連絡電話：04-23317106

二、水稻耐冷性遺傳及基因定位之研究概況

據研究，水稻在秧苗期、孕穗期及抽穗開花期等三個生育階段對低溫極

為敏感，秧苗期遭受寒害易造成秧苗死亡；若孕穗期遇到低溫則會造成幼穗發育遲緩、減數分裂不良、花粉發育受阻進而影響產量；抽穗開花期遭逢低溫冷空氣，則易導致開花受精不全而大幅降低稔實率。水稻之產量構成主要由每株穗數、每穗粒數、結實率及千粒重等要素組成，除穗數在營養生長期形成外，其餘三個要素均是在生殖生長期形成，因此若水稻在幼穗分化期、花粉形成及抽穗期間，遭遇低溫易導致成熟期無稔實稻穀可收的情形發生。而植物對環境之耐受程度在不同生長階段並不一定具有絕對性，水稻亦然，研究顯示水稻對低溫的敏感性在不同生育期有所差異，苗期耐寒性強的越冬稻在孕穗開花期並不耐冷；反之，苗期不耐寒的品種在孕穗開花期卻有極耐冷的表現，故水稻於營養生長期與生殖生長期的耐冷性是相對獨立的，所以評估一水稻品種或雜交組合對低溫之耐受能力應觀察其在不同生育階段感受低溫後對產量之影響。



圖一、不耐寒之水稻苗期遭遇寒害導致葉片黃化之情形。



圖二、孕穗期低溫對稻穗結實率之影響。右為對照組，左為12℃處理三天，低溫造成稻穗空粒，稔實率下降。

古典育種結合分子標誌輔助選種可準確有效地選育出真正帶有目標性狀基因的植株，大幅減少族群數量、縮短育種年限，對育種效率的提升極有幫助。目前對水稻耐冷性的遺傳特性與基因定位世界各國已藉由多種方式定位出許多相關之數量性狀基因座(quantitative trait loci,QTL)(圖三)，各QTL所控制的耐冷特性依水稻生育期臚列如下：

1.苗期耐低溫：水稻苗期遭遇低溫易導致幼苗黃化、生長勢弱甚而枯萎死亡，苗期低溫在台灣亦是年年需面對的考驗之一。Lou等(2007)以粳稻耐冷品種‘AAV002863’與對冷敏感之秈稻品種‘Zhenshan97B’雜交產生197單倍體倍加系(double haploid line)，在第1、2、8條染色體共定位出5個與幼苗低溫存活率相關的QTL，其中影響最大者為第2條染色體介於兩SSR分子標誌RM561及RM341間的qCTS-2，可解釋27.42% 的變異量。另由品種‘Jileng1’苗期的研究，在第1、2、7、8和12條染色體，共發現12個與幼苗乾物種與高度具相關性的QTL，其中第1條染色體上的qCSDW1、第2條染色體上的qCSH2以及第12條染色體上的qCSH12與qSDW12，分別可解釋16.2%、16.6%、17.9%與15.9%的外表型變異量(Han et al., 2007)。而由品種‘M-202’發現在第12條染色體具有苗期及營養生長後期抗低溫萎凋及壞死之QTL qCTS12a，其累積解釋量達41% (Andaya and Mackill, 2003)。Lan等 (2007) 以品種‘Dualr’研究發現一主

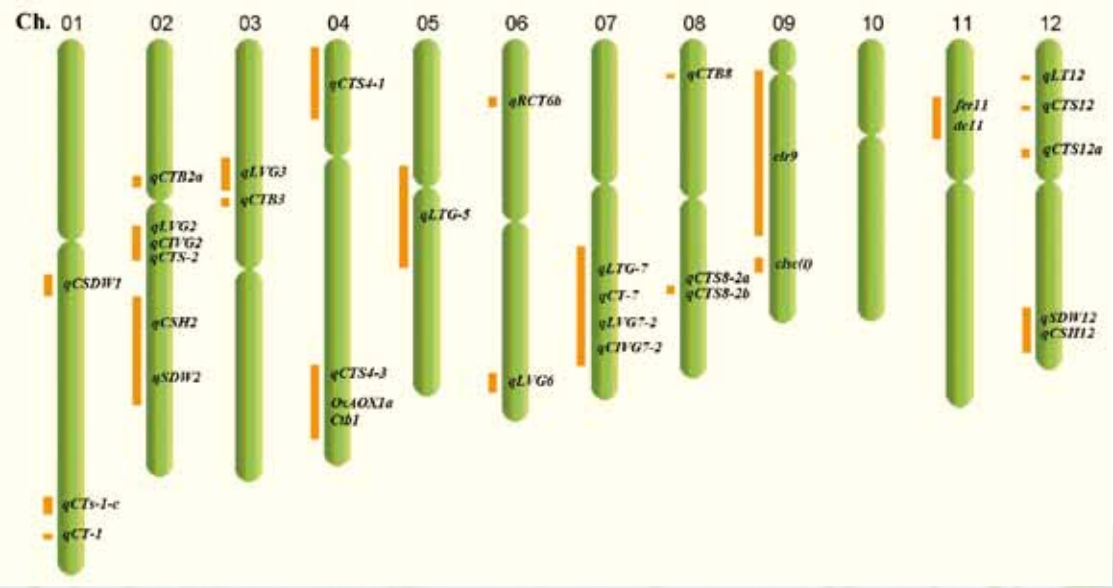
效控制苗期低溫導致黃化(chlorosis)的基因cisc(t)，其位於第9條染色體RM257與RM242兩SSR分子標誌之間。

2.孕穗開花期耐低溫：水稻自孕穗、抽穗直到開花授粉、穀粒的充實為其營養生長期，此階段對低溫甚為敏感，易導致花粉敗育、花藥開裂異常、授粉不全等情形，但此時期遭遇冷害在稻株外觀上往往無明顯徵狀可供辨識，常需接近成熟期才驚見稻穗不低頭、穀粒不飽滿的現象，如此狀況不但難以防患，更是對產量最直接的衝擊。故選育此階段耐冷品種有其迫切性。由品種‘Koshihikari’而來的耐冷性，分別在第1、7、11找到3個相關的QTL，其中影響最大者為qCT-7，位於第7條染色體，可解釋22.1% (Takeuchi, et al.,2001)。而由品種‘M-202’所獲得的耐冷性，則分別在第1、2、3、5、6、7、9、12條染色體共發現8個QTL，其中影響最大者為位於第2條與第3條染色體的qCTB2a與qCTB3，兩者均可提供17%的解釋量。另由雲南品種‘Kunmingxiaobaigu’發現在第1、3、6、7、10、12條染色體具有生殖生長期耐冷之QTL，其中以第7條的qRCT7解釋量20.6%為最大(Dai et al., 2004)。此外，由品種‘Hokkai-PL9’發現第8條染色體介於兩SSR分子標誌RM5647與PLA61間的QTL qCTB8，具26.6%的解釋量(Kuroki et al., 2007)。

而針對不同生育階段耐冷性育種，除以分子標誌輔助選種外，倘有相關農藝性狀可相互配合評估有助於提升篩選效率與準確性。

三、花藥與水稻耐冷性之關係

花藥為雄蕊重要組織之一，其自花芽分化孕育幼穗，直至抽穗開花階段都受溫度、溼度、光照等生長環境所左右，也關係到花粉粒的數量與活力，想當然耳花藥發育良否對水稻稔實率、品質及產量極為關鍵。研究指出，冷害導致水稻不稔實主要是孕穗期對低溫甚為敏感所致，但一般雌蕊仍保有授粉受



圖三、水稻耐寒性相關數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)分佈。

精能力，然低溫卻造成花藥於小孢子形態發生期發生小孢子退化及絨氈層細胞肥大，造成花粉的養分供應中斷，此乃低溫致使不稔實的因素所在，也即所謂低溫誘導之雄不稔 (cold-induced male sterility, CIMS; Zhou et al., 2010)。

Saito等(2010)發現一耐冷QTL Ctb1，並將其精細定位到17kb的範圍內，其中包含兩個候選基因，一個編碼F-box 蛋白，另一個則編碼絲胺酸 (ser) / 羥丁胺酸 (thr) 蛋白激酶。其自耐冷品種‘Norin-PL8’中選殖到這兩個基因，分別轉進對冷敏感的‘Hokkai241’和‘T4-74-8B’中。以冷水灌溉 (19°C, 25 cm) 及冷溫 (12 °C, 4 days) 處理，調查其T2、T3轉基因後代之稔實率，獲得了耐冷轉基因植株，證明F-box 蛋白基因為耐冷基因。F-box 蛋白和一E3 泛素連接酶亞基Skp1互作，顯示泛素-蛋白酶體途徑可能與水稻孕穗期耐冷特性相關。而量測轉殖株及未轉殖株之花藥長度，結果發現轉殖株之花藥長度較長，顯示耐冷性和花藥長度具相關性。

Uga等(2010) 以5個不同族群分析栽培稻與花器性狀相關之QTL，其中共發現18個與花藥長度相關之QTL，分別位於第1、2、3、4、5、7、8、9、10條染色體上，而與上述Ctb1同樣位在第4條染色體的QTL最緊鄰之marker為XNpb331，同樣座落於第4條染色體長臂末端，但因所使用之族群不同，是否緊密連鎖仍待進一步研究。

四、結語

水稻耐冷性為多種數量性狀對低溫耐性的綜合表現，但植株葉色與產量等形態易受環境因素干擾，進而增加選拔上的困難度，而QTL分析方法為一有效之工具，可協助育種者及研究人員找出控制該性狀相關的染色體區域，再佐分子輔助選種增加雜交後裔篩選效率。另目前水稻耐寒性檢定主要仰賴高海拔篩選圃進行耐性評估，近年來全球暖化趨勢日益明顯卻震盪起伏，高山氣溫若在抽穗期間無法穩定維持低溫恐喪失篩選強度，而倘有易判斷且穩定表現的形態性狀可輔助判別，更可提高選種的準確度與效率，各性狀中花藥長度受環境影響相對上比植株稔實率變動小，在氣溫波動期間可作為水稻品系耐冷性強弱之評估間接指標。

五、參考文獻

Han, L., Y. Qiao, S. Zhang, Y. Zhang, G. Cao, J. Kim, K. Lee and H. Koh. 2007. J. Genet. Genom. 34: 239-246.

Kuroki, M., K. Saito, S. Matsuba, N. Yokogami, H. Shimizu, I. Ando and Y. Sato. 2007. Theor. Appl. Genet. 115: 593-600.

Lan, T., K. J. Liang, Z. W. Chen, Y. L. Duan, J. L. Wang, N. Ye and W. R. Wu. 2007. Yi Chuan 29: 1121-1125.

Lou, Q., L. Chen, Z. Sun, Y. Xing, J. Li, X. Xu and H. Mei. 2007. Euphytica 158: 87-94.

Saito, K., Y. Hayano-Saito, M. Kuroki and Y. Sato. 2010. Plant Science 179: 97-102.

Takeuchi, Y., H. Hayasaka, B. Chiba, I. Tanaka, T. Shimano, M. Yamagishi, K. Nagano, T. Sasaki and M. Yano. 2001. Breed. Sci. 51: 191-197.

Uga, Y., M. Siangliw, T. Nagamine, R. Ohsawa, T. Fujimura and Y. Fukta. 2010. Plant Breed. 129: 657-669.

Zhou, L., Y. Zeng, W. Zheng, B. Tang, S. Yang, H. Z, J. Li and Z. Li, 2010. Theor. Appl. Genet. 121:895–905.