中華農業研究（Jour. Agric. Res. China ）36 (3)：247～257 (1987)

不同接種季節對水稻花藥培養的影響[1]

葉常青　蔡新聲[2]

摘要：以週年栽培方式種植水稻臺農67號，探討水稻母株生育環境對花藥培養形成癒合組織及分化成植株的影響，結果發現4至12月份所接種的花藥癒合組織形成率約在27～42%之間；由於低溫造成水稻植株的生長遲滯，因而錯失了1月及3月份的資料，而在2月份低溫下產生的花藥，則完全無癒合組織的形成。以水稻母株生育環境的溫度而言，低溫較高溫對花藥癒合組織的形成能力有較爲不利的影響。就水稻母株的生育過程而言，生殖生長期對溫度變化的反應比營養生長期敏感，尤其以花粉母細胞減數分裂期爲最。經切片觀察，低溫會造成絨氈層細胞的異常增殖，及產生多核性巨大小孢子，而阻止小孢子發育。癒合組織的分化率並不隨着癒合組織形成率的高低而變化，亦無法找出其與外界溫度的關係。

爲了獲得足够的材料及調節人力的運用，週年種植母體植物，以充裕花藥培養育成單倍體的材料，實屬必要。花藥來源母株之營養及生理狀況均會影響花藥培養之成敗[7-8,10-11,14-20]，如以開花初期之水稻花藥進行培養，效果較佳[7,17]；Tsai and Lin[17] 報導水稻花藥培養之效果，一期作比二期作好；Hu *et al.*[12] 認爲水稻孕穗期之溫度及日照爲影響花藥培養的重要因子；Chaleff and Stolarz[5] 更指出水稻不同穎花，甚至同一穎花內不同花藥之癒合組織形成能力亦不一致。由此得知花藥來源母株的生理況狀，將影響花藥培養之成敗，須更進一步的探討。

本研究以週年種植水稻母體植株，進行花藥培養，以探討不同生育環境對水稻母株，其花藥癒合組織形成及分化成植株之影響，並配合石蠟切片，觀察不同生長季節水稻母株產生之花藥及花藥培養小孢子發育情形，探討其與癒合組織形成之關係，尋求適合母株之生長環境，以提高花藥培養效率，利於實際育種工作。

材料與方法

一、母體植株的種植及幼穗取樣方法

花藥培養所用的材料爲粳稻臺農 67 號品種，以單本植每盆三株方式種植於含有 18kg 壤土之 1/2,000 are塑膠盆中，施肥方式爲 $N : P_2O_5 : K_2O = 1g : 1g : 1g$，置於霧峰農業試驗所網室內生長。

幼穗取樣之標準，對水稻能正常抽穗之材料，俟植株發育至劍葉與下位葉之葉耳間長約 3～5cm 時連同劍葉取下，若因低溫造成抽穗不正常之植株，則輔以醋酸洋紅壓潰法檢定小孢子，取單核期者爲材料。

二、水稻母體植株之低温處理

將生殖生長期各個發育階段之水稻植株置於生長箱，以日溫20°C（16hr），夜溫15°C（8hr）的

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第 1353 號。本文承蒙臺灣省農業試驗所農藝系研究員劉大江博士斧正，特此申謝。
2.臺灣省農業試驗所助理及研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

低溫處理之。各個處理代號之水稻植株發育時期如下：

L_1, L_{1b}：13.5葉齡，主桿尚無肉眼可見之幼穗，即幼穗形成初期之枝梗分化期[2]。

L_2, L_{2b}：14.5葉齡，主桿幼穗長約0.3cm，即幼穗形成後期之穎花分化期[2]。

L_3, L_{3b}：15.5葉齡，主桿幼穗長約7.5cm，即花粉母細胞減數分裂期[2]。

L_1, L_2, L_3 各處理一週，L_{1b}, L_{2b}, L_{3b} 處理至採樣。

三、花藥接種及培養基種類

取回之幼穗先以70%酒精擦拭葉鞘外部，取出稻穗浸漬於70%酒精中30秒，再以 0.5%次氯酸鈉消毒3分鐘，經無菌水沖洗3～4次後，將屬於單核期之花藥以 Chen *et al.*[6] 所述之方法接種於培養基上。

培養過程中採用兩種培養基，一爲誘導花藥形成癒合組織之培養基，簡稱NK 培養基，係以 MS 培養基的主要有機鹽類[13]，及 N_6 培養基之無機鹽類[9]，加上 4mg/l NAA, 2mg/l kinetin, 6% sucrose 及 0.8% Phytagar 所配製而成。二爲誘導癒合組織分化的培養基，簡稱 R-2，係以 MS 基本培養基加上 4mg/l kinetin, 1mg/l NAA, 40mg/l adenine sulfate, 3% sucrose 及 0.8% Phytagar 所配製而成。

培養於 NK培養基之花藥係於 26±1°C 之恆溫及黑暗下進行癒合組織之誘導。誘導癒合組織分化植物體之方式則取10日齡之癒合組織接種於 R-2培養基上，在26±1°C 恆溫，光照 1,500 lux 及光期 16hr 的環境下培養。

四、石蠟切片

將每批接種之花藥，分別取出經 0，7，14，21，28與 35 天培養之花藥各約 30 個，以 FAA 固定後，經 TBA 脫水、滲蠟、包埋等步驟，以轉動式切片機切取 10μ 厚度之連續蠟帶，以 Haupt's adhesive粘着於載玻片上，經 hematoxylin 染色，製成永久片觀察[19,20]。

結　　果

一、水稻週年栽培花藥培養

（一）對癒合組織形成之影響：

表1顯示於4～12月份所接種之花藥，癒合組織形成百分率在27～42%之間，其中又以5月下旬（如正常之一期作），9月（如正常之二期作），10月及11月份所接種之花藥其癒合組織形成率最高。由於低溫造成水稻植株生長遲滯，因而錯失了1月及3月份的資料，而2月份低溫下所產生的花藥，則完全無癒合組織的形成。

爲了探討溫度與水稻花藥癒合組織形成及分化之關係，在圖1中將每批水稻生長發育過程劃分成兩部份：①由插秧的4.0葉齡至12.5葉齡（包括營養生長盛期及部分營養生長遲滯期），②由 12.5葉齡至花藥採樣（包括部分營養生長遲滯期及生殖生長期）。而後將每批水稻生長過程與每十日均溫線配合比較，探討溫度對花藥癒合組織形成之影響。

A. 水稻母株營養生長期之溫度對花藥癒合組織形成之影響：

圖1之第5、6兩批水稻植株的營養生長期完全處於低溫下，其癒合組織形成率分別僅爲31%及27%，而第11、12兩批水稻植株之營養生長期處於高溫環境，癒合組織形成率分別高達40%及42%。

B. 水稻母株生殖生長期之溫度對花藥癒合組織形成之影響：

圖1之第2批水稻，其生殖生長後期（即孕穗期）適逢溫度急劇下降，使得癒合組織形成率也降至僅27%，而第3批水稻植株生殖生長期完全處於低溫下，更使花藥無法形成癒合組織。第9、10兩批水稻植株的生殖生長期處於高溫環境下，依然有29%及32%的癒合組織形成率。

（二）對癒合組織分化能力之影響：

由表1中癒合組織分化之結果顯示，綠苗，白苗及不定芽體所佔百分率似乎與癒合組織形成能力

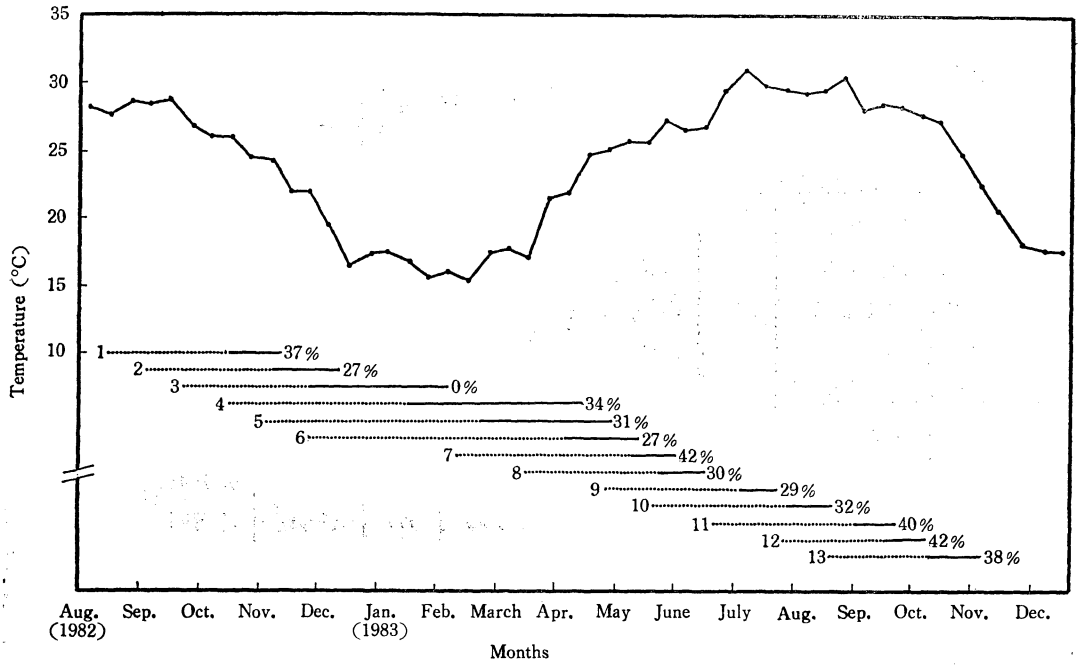


Fig. 1. Influence of mean air temperature during the growth period of donor plant on the callus formation ability in anther culture of Tainung 67 rice.
(-·—·-Average temperature, ·····Vegetative growth stage, ————Reporductive growth stage, %Callus inducing ability) 1-13: Batch No. of rice donor plant (same as table 1)

的高低並無關連。綠苗形成率較穩定，介於19%～34%之間，以第9、10、11與12批等溫度曲線往下降之月份較高。白苗分化率約4%～29%，在溫度曲線往上升之第5、6與7三批最低，其白苗分化率僅分別爲5%、4%及7%，然而這種低比率的白苗，對綠苗及不定芽體分化率的提高並無助益。

二、低温處理水稻母體植株對花藥培養之影響

表1及圖1顯示，水稻發育至生殖生長期若遭遇低溫，將嚴重影響花藥癒合組織之形成能力，因此將生殖生長期各個發育階段之水稻植株，在生長箱中以日溫 20°C (16hr)，夜溫 15°C (8hr) 的低溫處理，以探討水稻生殖生長期各個發育階段遭受低溫及低溫持續時間久暫對花藥培養之影響。

(一) 對癒合組織形成之影響：

表2顯示對照組之花藥癒合組織形成率爲40%。花粉母細胞減數分裂期爲低溫影響花藥能否形成癒合組織最重要的時期，此時施以低溫之 L_3 處理其癒合組織形成率僅達 28.4%。L_1 處理之幼穗形成初期次之，其癒合組織形成率爲34.1%。幼穗形成後期則無影響。隨着低溫處理時間的加長，低溫的影響具有累加性的效果，此可由 L_{3b} 處理尚有 29.4%的癒合組織形成率，而早一週處理的 L_{2b} 便降至14.2%得知。

(二) 對癒合組織分化能力之影響：

表2顯示，癒合組織形成能力與分化能力並無一致的關係。低溫處理發育階段愈早之水稻植株，則其花藥癒合組織之綠苗及白苗的形成率愈低。但當處理時間加長時，綠苗形成率依然下降，而白苗形成率反而異常增加。

三、水稻花藥培養切片觀察

(一) 正常花藥之小孢子發育情形：

Table 1. Influence of anther inoculation time (month of the year) on the abilities of callus formation and plantlet differentiation of Tainung 67 rice.

Batch No. of rice donor plants	Date of anthers cultured	Num. of anthers cultured	Num. and % of anthers browning	Num. and % of anthers forming callus	Num. of callus cultured	Num. and % of callus forming plants		
						Green	Albino	Roots & abnormal shoots
1	November 8-10 1982	2,244	1,186(53)b[1/]	822(37)bcd[1/]	110	23(21)bc[2/]	22(20)abc[2/]	18(16)cde[2/]
2	December 9-11 1982	2,244	704(31)gh	661(27)g	108	36(33)ab	27(25)abc	13(9)e
3	February 2-7 1983	1,024	890(87)a	0(0)h	—	—	—	—
4	April 13-14 1983	1,925	851(44)de	650(34)cde	126	27(21)bc	36(29)ab	32(25)ab
5	April 25-28 1983	1,932	565(29)h	604(31)efg	120	31(26)abc	6(5)e	22(18)bcde
6	May 11-12 1983	2,171	771(36)fg	582(27)fg	124	29(23)abc	5(4)e	16(13)de
7	May 29-30 1983	2,129	762(34)fg	890(42)a	122	31(25)abc	8(7)de	38(31)a
8	June 14-16 1983	2,087	692(33)fgh	619(30)efg	120	23(19)c	18(15)cd	23(19)bcd
9	July 20-22 1983	1,282	601(47)cd	372(29)efg	120	27(23)abc	21(18)bc	22(18)bcde
10	August 1-20 1983	2,034	800(39)ef	651(32)def	134	33(25)abc	27(20)abc	22(16)cde
11	September 20-22 1983	2,189	693(32)gh	876(40)ab	118	40(34)a	24(20)abc	19(16)cde
12	October 7-9 1983	1,998	711(36)fg	839(42)a	140	40(29)abc	29(21)abc	39(28)ab
13	November 4-7 1983	2,094	1,049(50)bc	792(38)abc	136	41(30)abc	40(29)a	13(10)e

[1/]: Means with the same letter are not significantly different at 5% level by Duncan's New Multiple Range Test.
[2/]: Means with the same letter are not significantly different at 5% level by Chi-square Test.

Table 2. Effect of low temperature treatment during reproductive growth on the anther culture of Tainung 67 rice.

Treatment*	Num. of anthers cultured	Num. and % of anthers browning	Num. and % of anthers forming callus	Num. of callus cultured	Num. and % of callus forming plants		
					Green	Albino	Roots & abnormal shoots
CK	2,189	693(31.7)b[1/]	876(40.0)ab[1/]	118	40(33.9)a[2/]	24(20.3)b[2/]	19(16.1)a[2/]
L_1	1,156	388(33.6)b	394(34.1)bc	134	16(11.9)c	13(9.7)c	31(23.1)a
L_2	1,263	390(30.9)b	532(42.1)a	160	25(15.6)bc	24(15.0)bc	23(14.4)a
L_3	1,218	347(28.5)d	346(28.4)d	140	36(25.7)a	31(22.4)b	24(17.1)a
L_{1b}**	—	—	—	—	—	—	—
L_{2b}	897	439(49.9)a	127(14.2)e	84	9(10.7)c	36(42.9)a	14(16.7)a
L_{3b}	1,213	344(28.4)b	357(29.4)cd	140	35(25.0)ab	32(22.9)b	23(16.4)a

*: CK: Rice plants were grown under normal environment of the 2nd crop season, 1983.
L_1, L_2 and L_3: Rice plants at 13.5, 14.5, and 15.5-leaf stage, respectively, were treated with temperature (20/15C, 16 hr photoperiod) for 1 week. L_{1b}, L_{2b} and L_{3b}: similar treatments were executed as L_1, L_2, and L_3, respectively, except that the plants were kept at low temperature until the anthers were collected for culture.
**: No anthers were available for culture due to prolonged low temperature treatment.
[1/], [2/]: Same as table 1.

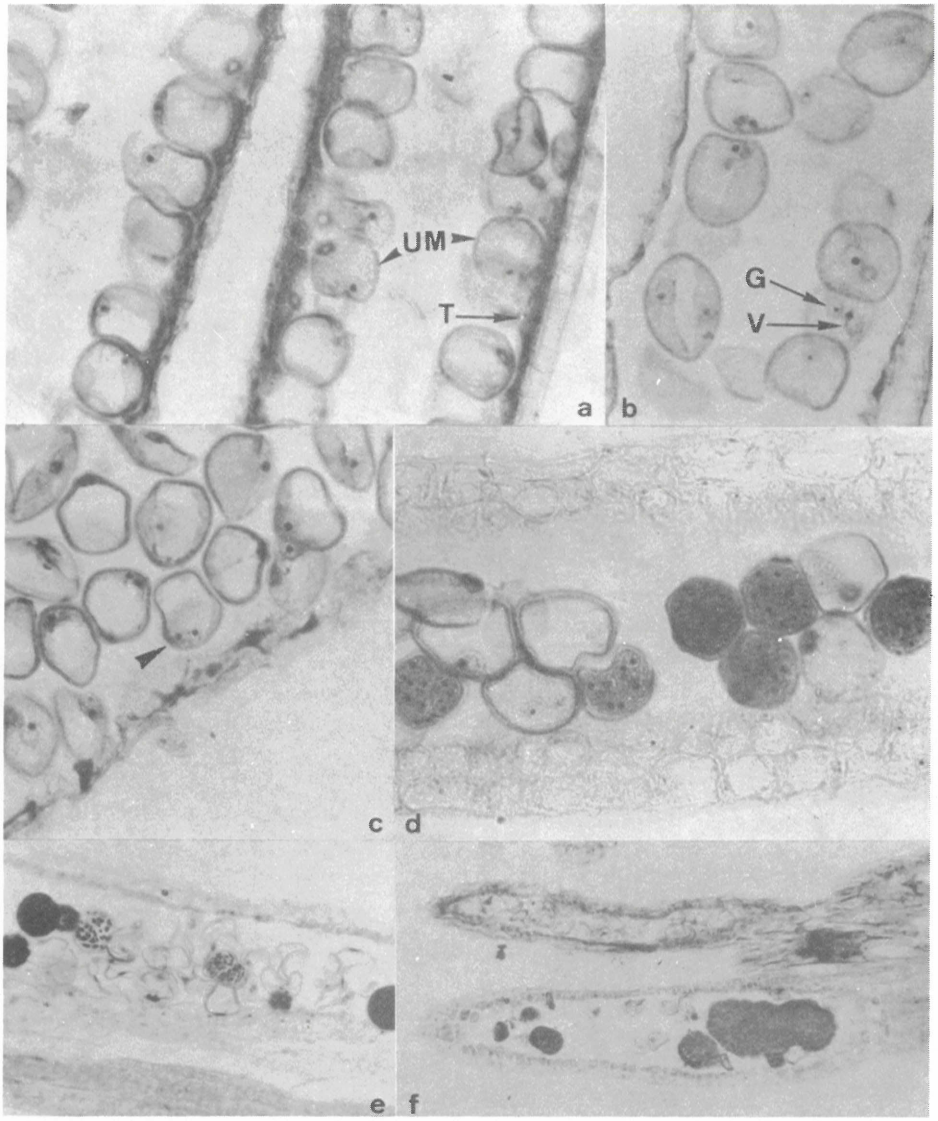


Fig. 2. The development of microspores in rice anther culture

a. Uninucleate microspores (UM) and degenerated tapetum layer (T). (400X).
b. Microspore with a large vegetative nucleus (V) and a small generative nucleus (G) after one week of anther culture. (400X).
c. Binuclei (arrow) of equal size in microspores after one week of anther culture. (400X).
d. Cell wall in multicellular microspores after two weeks of anther culture. (400X).
e. Two types of multicellular microspores after three weeks of anther culture. (200X).
f. Proembryoids formed in anther after three-week in culture. (100X).

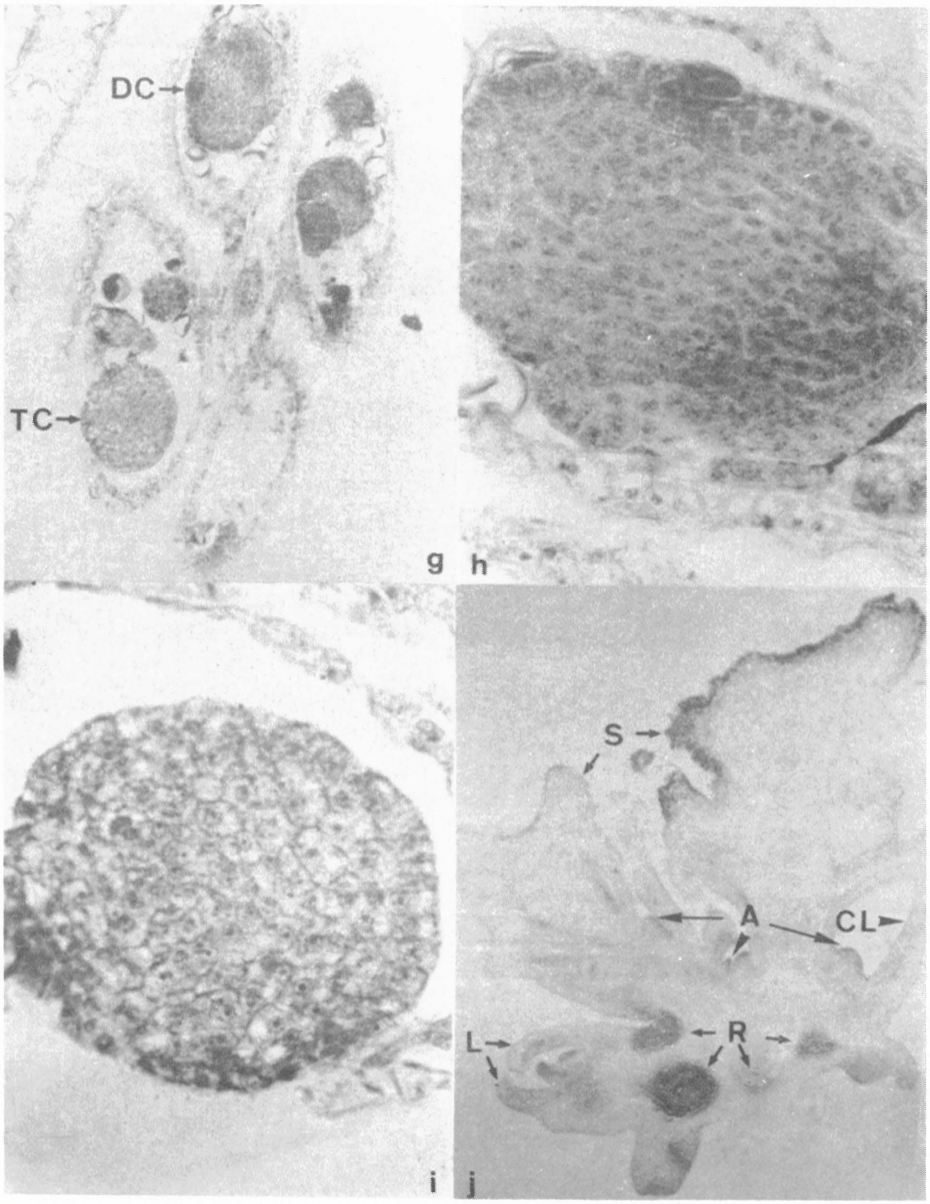


Fig. 2. The development of microspores in rice anther culture

g. Globular embryoids bursted out of anther wall with dense cytoplasm (DC), and with thin cytoplasm (TC). Observation made four weeks after anther culture. (100X).

h. High magnification of dense cytoplasm cell in Fig. 2g having uniform small nuclei. (400X).

i. High magnification of thin cytoplasm cell in Fig. 2g having uniform large nuclei. (400X).

j. Multiple apical meristem (A), radicle (R), leaf primodium (L), coleoptile (CL) and scutellum (S) of embryo five weeks after anther culture. (50X).

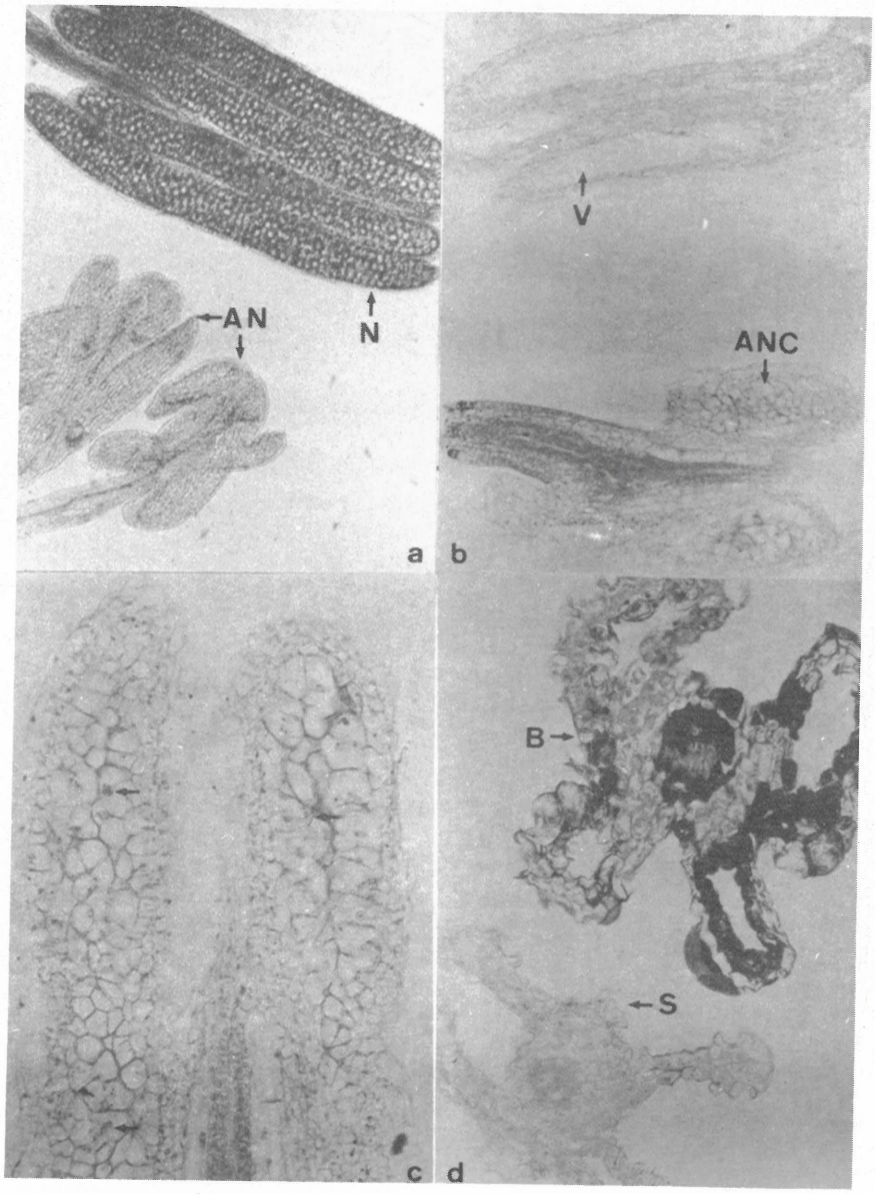


Fig. 3. The abnormality of anthers from donor plants grown under low temperature in February

a. Normal anther (N) filled with microspores and abnormal anthers (AN) without microspores by aceto-carmine squash. (35X).

b. Anthers with vacuoles (V) and anthers with abnormal cells (ANC) in pollen sacs during anthers excision and culturing. (100X).

c. Abnormal cells with multiple nuclei (arrow). (200X).

d. Browning (B) and shrinking (S) of anthers observed three weeks after anther culturing. (400X).

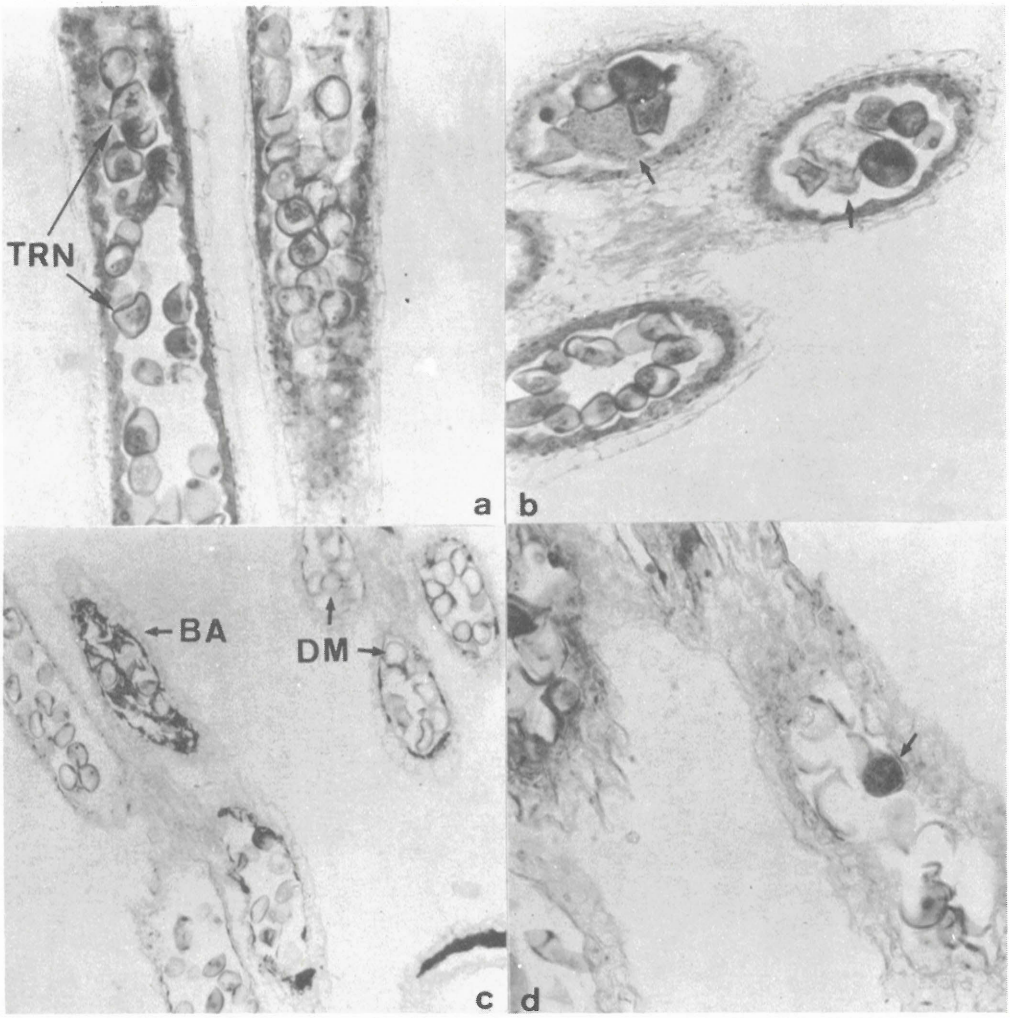


Fig. 4. Abnormality of anthers from rice plants grown under low temperature in growth chamber

a. Abnormal microspores with varied size from treatment L_{2b}. Some microspores had two or more nuclei. Note: two nuclei microspores (TN) and three nuclei microspores (TRN). (200X).

b. Abnormal cells (arrow) in pollen sacs from treatment L_{2b}. (200X).

c. Browning of anther (BA) and degenerating of microspores (DM) appeared one week after anther culture. (100X).

d. Multicellular microspores (arrow) and degenerated microspores after three weeks of anther culture. (200X).

單核期水稻花藥培養之初，圓球型之單核小孢子多緊靠花藥壁絨氈層上（圖2a）。培養7天後的花藥，小孢子經第一次有絲分裂形成一大（營養核）一小（生殖核）之雙核細胞（圖2b），或分裂成大小相同的兩個核（圖2c）。培養至14天的花藥，由小孢子發育成的多細胞小孢子仍包含在花粉的外粉層（exine）內（圖 2d）。培養至21天的花藥，多細胞小孢子的細胞數目急劇增加，多數仍包含在外粉層內，且在 hematoxylin 染色下可觀察出兩種不同型態的細胞，一種爲染色較淺，尙能分辨出核者，另一種呈染色極深的狀態（圖2e）；少數發育較快的小孢子已突破外粉層長成小型癒合組織（圖2f）。培養至28天，癒合組織不斷擴大，且突破藥壁（圖2g）；同樣的初期之癒合組織亦有明顯的不同染色型態，一爲染色深具小核之細胞（圖2h），另一種爲染色淺具大核之細胞（圖 2i）。培養至35天的花藥，小孢子形成的癒合組織已有根與芽的分化（圖2j）。

（二）2月份低溫下異常花藥之小孢子發育情形：

2月份低溫下所取得之花藥與正常花藥以醋酸洋紅染色壓片顯示，正常花藥的四個藥腔中皆充滿小孢子，而2月份產生的花藥則不含小孢子（圖3a）。經切片觀察顯示其藥囊爲空囊（圖3b），或充塞着許多不正常的多核細胞，故推測爲絨氈層細胞延伸所成（圖3c）。經取不同培養時期的花藥切片，只見花藥褐化及萎縮，而無任何生長（圖3d）。

（三）植物生長箱低溫處理之異常花藥的小孢子發育情形：

低溫處理除了 L_{2b} 處理外，其它處理之切片無法觀察出與對照組有何差異。L_{2b} 處理的水稻花藥於培養0天時，其小孢子與正常者比較，除排列凌亂大小不均外，且具有不正常之多核小孢子（圖4a），而部份花藥的藥囊中也發現絨氈層組織的異常增殖（圖 4b）。培養至7天的花藥，已有部份花藥褐化及萎縮，且許多小孢子之核已消失，而呈空胞化（圖 4c）。培養至14天，僅有極少數的小孢子能發育成多細胞小孢子，且不發育的小孢子迅速萎縮崩解（圖4d）。

討　　論

Tsai and Lin [17] 曾報導一期作水稻之花藥較二期作的花藥有較高之癒合組織形成率，但本研究未發現期作間的差異。許多報告指出植株營養狀況能左右花藥培養單倍體形成能力 [8,15,20]。本研究之結果顯示水稻母株營養生長期長期處於低溫環境生長，可能因生育不良而間接影響了癒合組織的形成，而營養生長期於高溫環境中生長，則無此不良影響。Hu *et al.* [12] 報導水稻植株孕穗期之溫度及日照爲影響花藥培養的重要因子，氏等認爲平均溫度 18.5～20°C，平均日照4小時，爲孕穗期最佳之生長環境；本研究發現臺農67號水稻母株的生殖生長期於 18～28°C 之間生長，均能有相當之癒合組織形成率，適溫範圍遠大於 Hu *et al.* [12] 所提出者，這種差異可能因水稻品種不同所致。本研究爲週年種植母體植株，每批水稻植株之生理狀況不同，因此對溫度的反應也各異，可能因而擴大了適溫範圍。如欲找出更精確之適溫範圍，應以植物生長箱測試，作更進一步的探討。

佐竹 [1] 於水稻生殖生長期以 12°C 的低溫處理，發現花粉母細胞減數分裂期受低溫影響時不稔率最高，幼穗形成初期次之。本研究以植物生長箱對水稻母株施以低溫處理，探討低溫影響花藥癒合組織形成率低下之結果，與佐竹所述之不稔率相符合。

植株在孕穗期如遇低溫，會造成花粉母細胞減數分裂時染色體不配對，減數分裂後細胞膜生成受阻，產生多核性巨大孢子，及絨氈層細胞的異常增殖，擴至藥腔，而阻止花粉發育等現象 [3,4]。本研究低溫處理所產生的花藥亦有相同的結果（圖 4a, 4b），且經切片觀察只有少數小孢子能分裂發育，而不發育的小孢子，在培養早期便已空胞化而迅速萎縮崩解（圖4c, 4d），並不形成具澱粉粒之營養細胞。Tsay [20] 及Tsay *et al.* [21]., 均曾指出這些具有澱粉粒之營養細胞的功能爲瓦解後供給發育中小孢子之養份，其數目與擬胚體之形成呈正相關。而週年栽培中2月份接種之第3批水稻母株的生殖生長期完全於低溫下生長，其花藥經切片結果爲空囊或充塞着不正常的多核細胞（圖 3b, 3c），以致完全無癒合組織的形成。

Tsai and Lin [17] 報告一期作水稻花藥癒合組織之分化率高於二期作。Hu *et al.* [12] 報導水稻孕穗期於高溫下生長之植株，其花藥癒合組織分化率低下，且有綠苗減少與白苗增加之現象。本研究週年栽培中7、8、9三個月份接種之水稻，其孕穗期均於高溫下生長，而花藥癒合組織之分化率並不低於其它月份，因而尚未能找出分化率與溫度變化的相關關係，可能是取樣數目較少，或外界其它因子（如日照、濕度等）與植株本身發育過程交感影響花藥癒合組織的分化，而非單從溫度一個因子便能探討的。在利用植物生長箱於水稻生殖生長期幾個階段施以低溫處理的試驗中，發現低溫不僅影響花藥癒合組織之誘導率，且影響癒合組織的分化能力。處理的階段愈早，癒合組織的分化能力便愈低。而處理時間加長則反而造成白苗比率的異常增加，可見在其它條件控制下，溫度確實能影響癒合組織的分化能力。若欲了解水稻母株對花藥癒合組織分化能力之影響，則需由更多的角度作更進一步的探討。

綜合本試驗結果得知，就臺農67號水稻之週年栽培，除了9月中旬至10中旬的一個月，其餘任何時間種植水稻均能產生正常健全的花藥，以供花藥培養之用，培養的花藥不但能有相當高的癒合組織形成率，且可正常的分化出植株，而不必僅限於每年兩次的期作，如此不但可提供充足的材料，更能調節人力、物力，充份運用空間，對實際的育種工作及提高育種效率上有莫大的助益。

引用文獻

1. 佐竹徹夫。1976。イネの冷害，北條良夫，星川清親共編。作物－その形態上機能（下卷）。*PP*：196-212 農業技術協會，日本，東京。
2. 松島省三。1972。稻作の理論と技術。*PP*：56-77，養賢堂，東京。
3. 酒井寬一。1943。昭和十六年の冷害に於け爲北海道水稻不稔機構に關すそ細胞組織的調查。北海道農業試驗場報告40：1—17。
4. 酒井寬一。1949。冷害にわけるイネ不稔性の細胞組織的竝に育種學的研究特に低溫によるタペート肥大に關する實驗的研究。北海道農業試驗場報告43：1—46。
5. Chaleff, R. L. and A. Stolarz. 1981. Factors influencing the frequency of callus formation among cultured rice (*Oryza sativa* L.) anthers. Physiol. Plant. 51：201-206.
6. Chen, C. C. and C. M. Chen. 1979. A method for anther culture of rice. TCA Manual 5：1051-1053.
7. Chen, C. C. and M. H. Lin. 1976. Induction of rice plantlets from anther culture. Bot. Bull. Acad. Sinica 17：18-24.
8. Chen, J. J. and H. S. Tsay. 1984. The callus-forming ability of rice anthers originated from tillers of different orders and from spikelets of different positions and branches on the panicles. Jour. Agric. Res. China 33(4)：354-362.
9. Chu, C. C., C. C. Wang, C. S. Sun, H. Chan, K. C. Yin, C. Y. Chu and F. Y. Bi. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of the nitrogen source. Sci. Sinica 18：659-668.
10. Dunwell, J. M. 1976. A comparative study of environmental and developmental factors which influence embryo induction and growth in cultured anthers of *Nicotiana tabacum*. Environm. Exp. Bot. 16：109-118.
11. Engvild, K. C., I. Linde-Laursen and A. Lundequist. 1972. Anther cultures of *Datuia innoxia*: flower bud stage and embryoid level ploidy. Hereditas 72：331-332.
12. Hu, C., S. C. Huang, C. P. Ho and H. C. Liang. 1978. On the inductive conditions of rice pollen plantlets in anther culture. In: Proc. Symp. Plant Tissue Culture. pp. 87-95. Science Press.
13. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15：473-497.
14. Sunderland, N. 1973. Pollen and anther culture. In:Plant cell and tissue culture. (Ed. by H. Street)

pp. 205-239. Oxford, Blackwell.
15. Sunderland, N. 1978. Strategies in the improvement of yields in anther culture. In: Proc. Symp. Plant Tissue culture. pp. 65-86. Science Press.
16. Tomes, D. T. and G. B. Collins. 1976. Factors affecting haploid plant production from in vitro anther cultures of *Nicotiana* species. Crop Sci. 16 : 837-840.
17. Tsai, S. C. and M. H. Lin. 1977. Production of rice plantlets by anther culture. Jour. Agric. Res. China 26: 100-112.
18. Tsay, H. S. 1980. Tobacco plants formation from anther culture as influenced by the mother plants grown under different seasons. Jour. Agric. Res. China 29 : 147-155.
19. Tsay, H. S. 1981. Effects of nitrogen supply to donor plants of pollen embryogenesis in cultured tobacco anthers. Jour. Agric. Res. China 30(1) : 5-13.
20. Tsay, H. S. 1932. The microspore development and haploid embryogenesis of anther culture with five nitrogen doses to the donor tobacco plants. Jour. Agric. Res. China 31(1) : 1-13.
21. Tsay, S. S., H. S. Tsay and C. Y. Chao. 1986. Cytochemical studies of callus development from microspore in cultured anther of rice. Plant Cell Reports 5 : 119-123.

Effect of Inoculation Time during the Year on the Culture Efficiency of Rice Anthers[1]

C. C. Yeh and H. S. Tsay[2]

Summary

Rice plants (cv Tainung 67) were transplanted year round and anthers were collected and inoculated in different months of the year in order to investigate the effect of environmental factors, especially temperature, on the efficiency of rice anther culture. Results showed that the rate of callus formation for anthers inoculated between April and December ranged between 27 and 42%. Anthers collected in February failed to produce any callus. No anthers were available for culture in January and March due to the influence of temperature of the development of rice plants. Low temperature under which the rice donor plants were grown affected callus formation more severely than did the high temperature. The reproductive growth of rice plant, especially the meiosis of pollen mother cells, was more sensitive to extreme temperature than vegetative growth. Histological study indicated that low temperature inhibited microspore formation and caused abnormal multiplication of tapetum layer cells. No relationship was established between the rates of callus formation and plantlet regeneration in anther culture for rice plants grown in different seasons. The influence of average air temperature on the callus differentiation ability was also not clear.

1. Contribution No. 1353 from the Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Research Assistant, Senior Agronomist, respectively, Department of Agronomy, TARI, Wufeng Taichung Hsien, Taiwan 41301, ROC.