

一項更有效率的育種方法

水稻花藥培養

蔡新聲

以花藥培養來育種的目的，在獲得單倍體，再經由染色體倍加的程序，迅速獲得同質雙倍體，這種染色體數目變化的過程，理論上可以減少，甚至避免雜種子代所發生的特性分離現象，同時也可以將遠緣基因快速固定成純系，是時下歐美先進國家熱衷採行的育種新方法。

我國花藥培養技術研究，有中研院、台大及農試所等單位在進行中，目前已能將此技術應用於實際的水稻育種。這是怎麼做的呢？現在就將過程簡介如下

稻穗採取

當雜種水稻劍葉葉耳距離下位葉葉耳約3~5公分時（此時期穗位中部花藥小孢子的發育約為中單核期，是水稻花藥最適當的培養時間，正確時期可以醋洋紅壓漬法檢查），連同劍葉自基部取下，準備低溫處理材料，以濕潤衛生紙包裹稻穗基部，用塑膠袋包裝後置於7°~10°C的冰箱中一星期，此種低溫處理，可增加花藥癒傷組織形成率一倍左右。

預備採取花藥的稻穗，先以70%酒精擦拭劍葉外表，於無菌接種箱中，將稻穗取出，採取發育時期屬中單核期的小穎花，置於消毒過的培養皿上，經70%酒精消毒30秒後，再以0.5%次氯酸鈉溶液消毒3分鐘，以無菌水清洗3~4次，將小穎花放在液體NK培養基上，等候採取花藥。

接種花藥

在含有5毫升NK液體培養基的直徑9公分培養皿中，以解剖刀自小穎花靠近花藥的基部，將內外穎



癒傷組織長成約2~4公厘大小時，是移植分化誘導的最適時期。



水稻花藥癒傷組織，自開裂的花藥背縫中形成。

連同花絲切斷，再以接種針輕挑花藥，即可使水稻花藥漂浮於培養基表面。

待收集相當數量的花藥後，以前端彎曲成圓形的接種針，將花藥撈起接種於固體NK培養基上。每根含有10毫升培養基，約20平方公分培養面積的試管，約接種40~60個花藥。

花藥採取過程中，應儘量避免傷及花藥壁，因受傷的花藥易褐化，失去形成癒傷組織的能力，且體細胞來源的癒傷組織亦可能由受傷部位產生，這種二倍體癒傷組織極易與花粉來源的單倍體癒傷組織混雜，增加以後工作上的困擾。

單倍體誘導

誘導水稻花藥癒傷組織形成的最適培養環境為25~27°C恆溫下的暗處理。花藥約經3~4星期的培養，癒傷組織可自開裂的花藥背縫中形成，約10天後，待癒傷組織長成約2~4公厘大小時，應迅速移植至分化培養基上，並置於1,500lux光強，每日16小時的照光上培養，以誘導植物體形成。

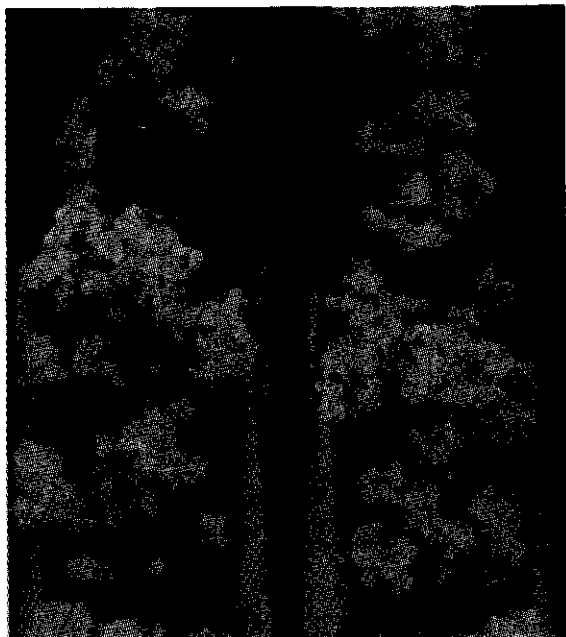
太晚移植的癒傷組織（如超過30天以上），會喪失分化植物體的能力，通常植物體都在癒傷組織移植後20天內形成，超過20天仍不形成植物體的癒傷組織，幾乎不再具有分化的能力。

染色體倍加

經誘導形成的植物體，在原培養基繼續生長20~30天，形成健狀的根系後，可洗淨培養基，移植於消毒過的壤土或泥炭土中。

移植之初需避免溫度的急劇變化（一般25~30°C為最適宜的移植溫度），保持適當的濕度及避免過強光線的照射，在有保濕的遮陰棚上約10~20天，成活的植株即可移至田間種植。

誘得植物體的染色體倍數性，除可用根端細胞檢查外，亦可由植物的外表型看出，通常單倍體植株矮小，內外穎細小而不結果；二倍體植株生長正常，結



太老的癒傷組織分化能力大幅度降低



花藥癒傷組織植物體的形成

果極佳；三倍體植株正常可開花但不結果；四倍體植株較高大，葉寬大而結實率極差，種子較大且部份種子有芒。

這些多倍體的產生，許多學者均已利用細胞學或後裔鑑定方法，證明它們均源自花粉粒癒傷組織的自然倍加。所以這些自然形成的二倍體屬同型染色體，植株立刻可供田間選拔之用。

單倍體則需利用秋水仙碱（Colchicine）處理，以使染色體倍加。處理方法分葉鞘注射法及浸漬法2種，成功率約為35%，偶有單倍體種植田間，經宿根後自行倍加的情形，但比率不高。

誘導單倍體的細胞產生癒傷組織，再由此癒傷組織產生核融合及 endomitosis，以達到倍加染色體的效果，亦是可行方法之一。

農試所組織培養研究室及水稻研究室，正利用這種技術大量培養水稻雜交種的後代，希望在精減的人力及有限的土地下，達到比傳統育種方法更有效率的選拔方式。

