

水稻成熟種子癒傷組織誘導與再生植株之研究¹

王啓正² 林學詩²

摘要

為建立水稻成熟種子癒傷組織培養體系，選取 22 個主要水稻栽培品種進行研究，將去穎種子培養於含有 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2 mg/l)的 N6 培養基上培養，以比較水稻品種間誘導產生癒傷組織之差異。結果顯示，產生癒傷組織能力與水稻之基因型有密切的關係，稈稻品種比秈稻品種容易產生癒傷組織，其中又以台稈 17 號、台農 67 號、台農 70 號形成率較高，分別為 96.7、96.0、97.5%。另選取台農 67 號、台稈 4 號、台稈 16 號、台稈 17 號、台中秈 10 號及越光等 6 個品種做作進一步研究。培養基添加脯氨酸可顯著增加大部分品種之癒傷組織形成率及增生量，對於癒傷組織形成率較低的品種如台中秈 10 號及越光等效果尤為明顯。將癒傷組織移到含有不同濃度 naphthalene acetic acid (NAA)及 kinetin 組合的 MS 培養基上培養，結果顯示在培養四週後，參試之 6 個品種的癒傷組織均會分化出綠色芽體，惟再生能力在品種間有差異存在，台農 67 號、台稈 4 號、台稈 16 號及台稈 17 號再生能力明顯高於台中秈 10 號及越光。

(關鍵字：水稻、癒傷組織誘導、植株再生)

前言

水稻為本省最大宗之糧食作物，栽培面積高達三十萬公頃以上，但自從我國加入 WTO 後，國外的稻米產品大量進口使國內稻米發生產量過剩的問題，因此我國稻米產業有必要轉型發展。若能利用基因轉殖的方式將一些功能性基因轉殖進入水稻中，生產對人體保健有幫助之物質，以提高水稻附加價值，將是未來可發展的方向。

水稻癒傷組織之誘導、增生及再生效率常依其基因型而有所差異，Mikami 及 Kinoshita (1988) 選取 108 個水稻品種，誘導成熟種子產生癒傷組織，結果指出各品種之癒傷組織生長速度有顯著之差異。Abe 及 Futsuhara (1986) 誘導 60 個稈稻、秈稻及其雜交後裔種子產生癒傷組織，認為品種間癒傷組織之增生量有顯著差異，稈稻形成癒傷組織能力及再生率較高。Davoyan (1987) 依照 103 個水稻品系種子產生癒傷組織的能力，將其分成高、中、低癒傷組織形成率三群，各品系所產生的癒傷組織鮮重也有所差異；而 Seraj 等 (1997) 利用 13 個品種未成熟胚進行試驗，指出品種間癒傷組織形成率及再生率亦有差異。然而有關於國內水稻基因轉殖及癒傷組織再生系統的研究僅限於少數的品種，例如台農 67 號(夏及王, 1998; 夏等, 2001)。而在培養基中添加脯氨酸 (proline) (Ozawa and Komamine 1989; Wenjing et al, 1997; Pons et al, 2000) 或酪蛋白水解物 (casamino acid) (夏及王, 1998; Ozawa and Komamine 1989; Wenjing et al, 1997) 可以增加水稻癒傷組織的再生能力，但沒有針對脯氨酸或酪蛋白水解物對國內栽培水稻品種再生系統影響之研究報告。若能研究針對國內普遍栽培之水稻品

種間再生組織培養系統的差異，並改進培養基，應用在基因轉殖過程中，將對提高基因轉殖效率有所助益。

¹花蓮區農業改良場研究報告第 173 號

²花蓮區農業改良場作物改良課助理研究員及副研究員兼課長

本研究嘗試從本省栽培的許多水稻品種癒傷組織形成能力開始探討，進而研究品種間及添加脯氨酸、酪蛋白水解物對癒傷組織形成、增生及再生的差異，並建立數個水稻品種基因轉殖所需的再生體系。

材料與實施方法

一、水稻品種間形成癒傷組織之差異

參試材料為本省栽培的水稻品種，分為粳稻、秈稻及糯稻共 22 個水稻品種，詳如表一。水稻種子成熟收穫後經乾燥處理，再以封口袋包裝並貯存於 4°C 的冰箱中。

將參試品種的種子去穎後以 70% 酒精浸泡滅菌 1 分鐘，再以 1.2% 次氯酸鈉添加數滴 Tween 20 浸泡 15 分鐘，接著以無菌水清洗 3 次，在無菌操作台內平放於培養基表面，培養基為 N6 鹽類及維生素 (Chu et al., 1975) 添加 30g/l 蔗糖、2 mg/l 2,4-D、8.5 g/l Agar, pH = 5.6 (簡稱 2ND 培養基)，培養基容器為 100ml 之廣口瓶，每瓶分配 20-22ml 培養基，每瓶培養基置入 10 粒種子，每品種 10 瓶，並置於黑暗下、26-28°C 之培養室中誘導癒傷組織生成。一個月後以瓶為單位調查水稻種子癒傷組織之形成比率。

根據初步結果，選取具有的地方特色的水稻品種：台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號、1 個秈稻品種台中秈 10 號及高品質但因不抗病蟲害而產量低之越光品種，另外選取本省研究較多的台農 67 號作為對照品種，以上共 6 個水稻品種供作以下進一步的研究。

將於 4°C 冷藏 8、20 及 24 個月之不同期作水稻成熟種子取出，以上述方式去穎滅菌後平置於 N6D 培養基 (N6 鹽類及維生素，添加 30g/l 蔗糖，2.8g/l 脯氨酸，0.3g/l 酪蛋白水解物，2 mg/l 2,4-D，2 g/l gerlite, pH = 5.6) (Toki, 1997)，於 26-28°C 之培養室中黑暗或每日光照 16 小時下誘導產生癒傷組織，培養基容器為 9 公分之塑膠培養皿 (α -Plus)，每盤倒入 15-20ml 之培養基。每盤培養基置入 10 粒種子，每品種重複 12 盤。3 週後以盤為單位調查有癒傷組織形成之種子比率。

二、脯氨酸、酪蛋白水解物對水稻成熟種子誘導癒傷組織比率之影響

為了探討培養基添加脯氨酸或酪蛋白水解物對上述 6 個水稻品種癒傷組織誘導及增生的影響。以 2ND 培養基 (N6 鹽類及維生素，添加 30g/l 蔗糖，2 mg/l 2,4-D，2 g/l gerlite, pH = 5.6) 為基礎，分別添加 2.8g/l 脯氨酸 (簡稱 2NPD 培養基)，或添加 0.3g/l 酪蛋白水解物 (簡稱 2NCD 培養基)，或兩者都添加 (簡稱 N6D 培養基)，培養基如上述方式分裝於塑膠培養皿中，每培養皿盤置入 5 粒去穎消毒之水稻種子，每處理重複 5 盤。

調查項目為癒傷組織形成率及生成量，計算方式如下：

癒傷組織形成率(%) = (長出癒傷組織之種子數/每盤置入種子數) × 100%。

生成癒傷組織的量以其橫截面之直徑表示，直徑 = (癒傷組織縱徑 + 橫徑) / 2。

三、培養基成分對水稻癒傷組織分化植株之影響

取上述 6 個水稻品種成熟種子以 N6D 培養基先行誘導生成癒傷組織，三週後取相同大小(直徑約 5mm)之癒傷組織分別置於以 MS 培養基(Murashige and Skoog, 1962)為基礎之 K1N01 (1mg/l kinetin, 0.1 mg/l NAA)、K2N01 (2mg/l kinetin, 0.1mg/l NAA) 及 K2N002 (2mg/l kinetin, 0.02mg/l NAA) 培養基中，以供作植株再生培養基試驗，每個培養皿置入 6 團細胞，每處理至少有 5 盤重複，培養盤置於每天光照 16 小時，溫度 26-28°C 的培養室中培養，五週後以盤為單位調查癒傷組織形成綠色癒傷組織之比率與再生芽體數。

結果

一、水稻品種間形成癒傷組織之差異

水稻去穎種子於黑暗環境下、含 2mg/l 2,4-D 培養基中，培養 3 至 5 天後，部分的種子於胚盤(scutellum)表面開始有膨大現象，7 至 10 天後可觀察到有黃白色或黃褐色癒傷組織形成，並持續增生，品種間形成癒傷組織的外觀不盡相同，約可區分為兩類：一為外觀呈黃白色、細顆粒狀，例如台梗 17 號(圖一 a)、台農 67 號、台梗 4 號、台梗 13 號及台梗 16 號等種子誘導形成的癒傷組織；另一為外觀顏色呈暗黃色，硬塊狀，如台中秈 10 號、越光及台中秈糯 1 號等形成之癒傷組織(圖一 b)。

以 2ND 培養基誘導 22 個品種水稻成熟種子產生癒傷組織，結果顯示水稻品種間產生癒傷組織的能力有相當大的差異存在，梗稻品種比秈稻品種容易產生癒傷組織，其中癒傷組織形成率較高的品種有台農 67 號、台農 70 號、台梗 4 號、台梗 13 號、台梗 17 號等，分別為 96.0%、97.5%、95%、95.0%、96.7%；癒傷組織形成率較低者有高雄 1 號、台農秈 18 號、台農秈 20 號、台中秈糯 1 號，分別為 20.0%、28.9%、35.6%、24.4% (表一)。

表一、不同水稻品種產生癒傷組織能力之比較

Table 1. Abilities of callus formation among different rice cultivars.

Cultivar Percentage of callus formation(%)			Cultivar Percentage of callus formation(%)		
TK* 2	88.0±12.3	japonica	TNG 67	96.0±5.2	japonica
TK 4	95.0±5.3	japonica	TNG 70	97.5±4.6	japonica
TK 6	88.9±10.5	japonica	TNG 72	80.0±12.2	japonica
TK 8	84.4±14.2	japonica	Yoshino 1	77.5±7.1	japonica
TK 9	93.8±7.4	japonica	Koshihikari	73.3±18.6	japonica
TK 13	95.0±5.3	japonica	KH 1	20.0±17.7	japonica
TK 14	80.0±13.2	japonica	TCS 10	56.0±11.4	Indica
TK 15	85.0±12.7	japonica	TNS 18	28.9±10.5	Indica
TK 16	91.0±8.8	japonica	TNS 20	35.6±7.3	Indica
TK 17	96.7±5.2	japonica	TCSG 1	24.4±15.1	Glutinous

KH 139	93.0±8.2	japonica	TKG 5	89.0±12.0	Glutinous
--------	----------	----------	-------	-----------	-----------

*:TK:TaiKen, TNG:TaiNung, KH:KaoHsiung, TCS:TaiChung Sen, TNS:TaiNung Sen, TCSG:TaiChung Sen Glutinous, TKG:TaiKen Glutinous

隨著水稻種子貯藏時間的增加，除了台稈 17 號以外，癒傷組織形成率均有下降的趨勢，但差異並不顯著(表二)。

二、脯氨酸、酪蛋白水解物對水稻成熟種子誘導癒傷組織之影響

水稻種子培養在四種培養基中，6 個品種間癒傷組織形成率皆存在顯著差異，以越光及台中秈 10 號較低，以對照組 2ND 培養基為例，誘導癒傷組織生成之比率依次為：台稈 17 號 88%、台農 67 號 75%、台稈 4 號 72%、台稈 16 號 48%、台中秈 10 號 30%、越光 20% (表三)。

表二、經貯藏後水稻種子產生癒傷組織能力之比較

Table 2. Abilities of callus formation from stored seeds of six rice cultivars.

Storage period (Month)	Percentage of callus formation (%)					
	TK17	TK16	TK4	TCS10	Koshihikari	TNG67
8	94.6 ±8.91	93.3 ±8.17	81.4 ±8.17	75.0 ±19.36	78.4±12.31	96.9±8.07
20	92.8±10.30	91.3±13.25	83.1±12.67	57.0±16.66	50.8±16.85	93.3±13.25
24	97.5±6.61	80.0±12.06	78.2±21.67	Mold	38.0±16.61	90.0±10.00

培養基添加酪蛋白水解物時(2NCD 培養基)，顯著地增加台中秈 10 號之癒傷組織形成率，對其他水稻品種也有提高癒傷組織形成率的效果，但差異不顯著；培養基只添加脯氨酸時(2NPD 培養基)，顯著的提高台稈 4 號、台稈 16 號、越光及台中秈 10 號的癒傷組織形成率；同時添加酪蛋白水解物及脯氨酸處理(N6D 培養基)，與只添加脯氨酸處理的結果相近(表三)。

表三、培養基添加脯氨酸與酪蛋白水解物對誘導水稻種子產生癒傷組織之影響。

Table 3. The effects of proline and casamino acids on callus formation from rice seeds.

Medium	Percentage of callus formation (%)					
	TK17	TK16	TK4	TCS10	Koshihikari	TNG67
N6D	100±0.0	80±14.1	100±0.0	60±28.3	80±13.1	100±0.0
2NPD	100±0.0	96±8.0	100±0.0	75±16.6	83±22.5	96±8.0
2NCD	92±9.8	70±17.3	72±20.4	53±9.4	30±22.4	90±10.0
2ND	88±16.0	48±16.0	72±15.0	30±10.1	20±15.1	75±25.9

N6D: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, 2.8 g/l proline, and 0.3 g/l casamino acids.

2NPD: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, and 2.8 g/l proline.

2NCD: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, and 0.3 g/l casamino acids.

2ND: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D.

在不添加酪蛋白水解物或脯氨酸的培養基中，水稻品種間癒傷組織增生量即有顯著差異，依次為：台梗 17 號 6.8mm、台農 67 號 5.5mm、台梗 4 號 5.3mm、台梗 16 號 4.7mm、台中秈 10 號 4.6mm、越光 3.1mm（表四）

培養基添加酪蛋白水解物並沒有顯著的影響水稻癒傷組織的增生量，添加脯氨酸對台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號及越光 4 品種癒傷組織增生量有顯著提高的效果。同時添加酪蛋白水解物及脯氨酸對台農 67 號產生癒傷組織量有顯著加成的效果，對其他品種則沒有顯著的加成效果（表四）。

表四、培養基添加脯氨酸與酪蛋白水解物對水稻癒傷組織增生量之影響

Table 4. The effects of proline and casamino acids on callus growth among six rice cultivars.

Medium	The size of callus increased (mm)					
	TK17	TK16	TK4	TCS10	Koshihikari	TNG67
N6D	8.5±0.4	7.7±0.3	8.3±1.0	5.4±1.6	5.0± 0.3	8.5±0.6
2NPD	8.9±0.7	7.7±1.3	7.9±0.9	5.8±1.1	5.2±1.3	6.5±1.3
2NCD	6.9± 0.6	5.5±1.1	6.4±0.9	4.9±0.2	3.6±1.8	5.1±0.8
2ND	6.8±0.7	4.7±1.3	5.3±0.6	4.6±1.2	3.1±2.4	5.5±0.2

N6D: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, 2.8 g/l proline, and 0.3 g/l casamino acids.

2NPD: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, and 2.8 g/l proline.

2NCD: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, and 0.3 g/l casamino acids.

2ND: N6 medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D.

三、生長調節劑對水稻癒傷組織再生植株之影響

水稻癒傷組織置於再生培養基後，約需 8-14 天可以觀察到綠色的細胞於靠近培養基的部分形成（圖二 a），再經過 10-14 天已有肉眼可見的芽體形成（圖二 b）。

水稻癒傷組織再生植株之能力，在品種間之表現亦有所差異，其中以台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號及台農 67 號產生綠色細胞及再生芽體數較多。而各品種在不同的生長調節劑組合的培養基上，再生能力表現情形並不相同。台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號及台中秈 10 號四個品種，在 K2N01 培養基表現較佳，每盤平均再生植株數分別可達 27.6、25.8、27.8 及 7.8 個；台農 67 號在 K1N01 培養基表現較佳，每盤平均再生植株數可達 34.6 個；而越光在 K2N002 培養基表現較佳，每盤平均再生植株數可達 12.2 個（表五、六）。

表五、不同植物生長調節劑組合對水稻癒傷組織產生綠色細胞之影響

Table 5. The effects of plant growth regulators on the formation of green callus.

Medium	Percentage of green callus formation (%)					
	TK4	TK16	TK17	TCS10	Koshihikari	TNG67
K1N01	45.6±6.7	44.0±11.9	25.8±4.8	17.8±10.8	17.3±5.2	39.4±7.0
K2N01	55.6±5.1	48.2±5.0	58.0±8.9	26.6±4.3	19.4±7.3	57.3±5.8
K2N002	60.4±7.4	45.5±5.4	55.8±7.6	25.2±10.5	31.0±2.3	51.6±8.2

K1N01: Medium supplemented with 1mg/l Kinetin, and 0.1 mg/l NAA.

K2N01: Medium supplemented with 2 mg/l Kinetin and 0.1 mg/l NAA.

K2N002: Medium supplemented with 2 mg/l Kinetin and 0.02 mg/l NAA.

表六、不同植物生長調節劑組合對水稻癒傷組織分化植株之影響

Table 6. The effects of plant growth regulators on the shoot regeneration of rice callus.

Medium	Number of regenerated shoots					
	TK4	TK16	TK17	TCS10	Koshihikari	TNG67
K1N01	25.0±4.3	23.0±3.7	16.8±4.1	3.8±2.1	2.3±2.6	34.6±9.5
K2N01	27.6±3.0	25.8±9.6	27.8±7.5	7.8±1.6	5.6±4.2	22.8±4.8
K2N002	24.2±6.5	21.0±3.2	20.2±5.7	7.6±2.7	12.2±4.6	30.4±4.7

K1N01: Medium supplemented with 1mg/l Kinetin, and 0.1 mg/l NAA.

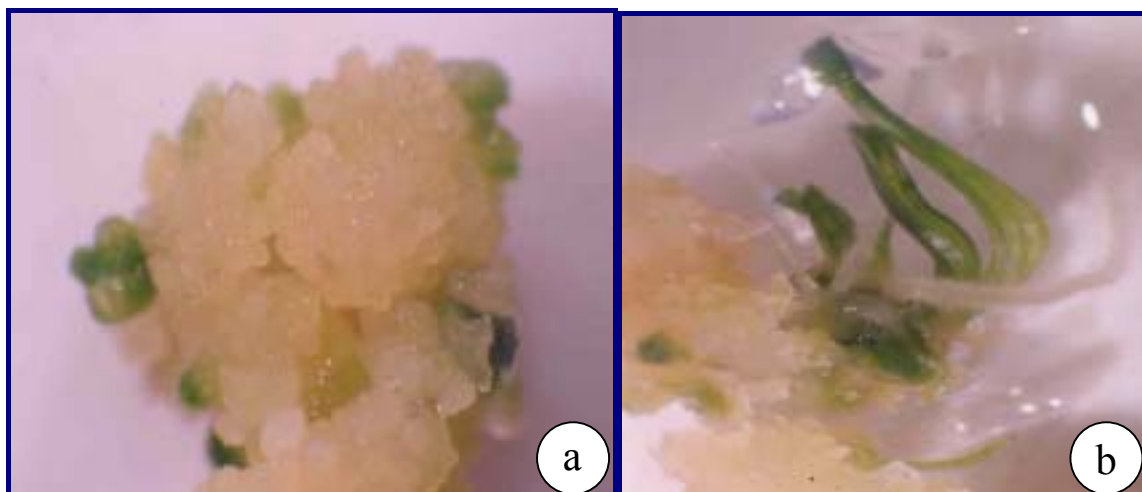
K2N01: Medium supplemented with 2 mg/l Kinetin and 0.1 mg/l NAA.

K2N002: Medium supplemented with 2 mg/l Kinetin and 0.02 mg/l NAA.



圖一、水稻台梗 17 號(a)和台中秈 10 號(b)成熟種子於誘導培養基培養三週後產生癒傷組織之情形

Fig. 1. Calluses induced from seeds of rice cultivar TK 17 (a) and cultivar TCS 10 (b) after 3 weeks incubation.



圖二、水稻癒傷組織置於再生培養基後，形成綠色細胞(a)及分化出芽體(b)之情形

Fig. 2. The formation of green cells (a) and buds (b) on the surface of rice calluses after inoculated

on the regeneration medium.

討論

本研究觀察到 22 個水稻品種成熟種子經含 2,4-D 之培養基培養後，癒傷組織皆由胚盤附近形成而後增殖（圖一），一些前人研究也都觀察到癒傷組織由胚盤或胚盤表面發生（劉及賴，1982；Lai and Liu，1982；Chowdhry et al.，1993；Yoshida et al.，1994；Jain et al.，1996），Abe 及 Futsuhara（1986）經由電子顯微鏡觀察水稻種子形成的癒傷組織是由胚盤之上皮細胞（epithellum）發生，本試驗結果與其相符。

劉及賴（1982）選取 17 個水稻品種之幼胚誘導癒傷組織，每個品種之癒傷組織外觀有淡黃色、黃色及黃褐色，質地有乾硬、濕軟及鬆軟等不同；Fatokun and Yamada（1984）研究 20 個水稻品系，成熟胚所誘導之癒傷組織外觀依品系不同而有粉狀化、亮黃色及硬塊狀、暗黃色之分；Oard 及 Rutger（1988）誘導水稻 5 個水稻品系種子產生癒傷組織之外觀顏色並不盡相同；本試驗結果與上述前人研究結果相似。根據表四、五、六顯示癒傷組織增生及分化、再生能力亦依品種而有差異，產生淡黃色、細緻癒傷組織之台梗 16、17 號等品種之癒傷組織增生、再生能力較強，而產生黃褐色、硬塊狀癒傷組織之越光、台中秈 10 號等品種癒傷組織增生、再生能力較差，因此品種應為影響水稻癒傷組織形成外觀、增生量及再生力之重要因素。而一些再生力高之水稻品種所誘導淡黃色、細緻的細胞團通常被認為具有較高的胚發生能力，並有較佳之活力及再生力（Armstrong and Green，1985），因此台梗 16、17 號等品種產生的癒傷組織細胞型態可能具有較高的再生能力，也因此再生率較高。雖然水稻癒傷組織可經由改變培養基成分增加這種胚狀細胞的比率（夏及王，1998；Ozawa and Komamine 1989；Pons et al.，2000），但本試驗結果顯示作物本身的遺傳背景仍是決定其產生有分化能力細胞的重要因子。

Abe 及 Futsuhara（1986）及 Mikami and Kinoshita（1988）分別用 60 及 108 個梗稻、秈稻及其雜交種成熟種子誘導癒傷組織，梗稻癒傷組織形成率較高，其癒傷組織重量增加的倍數依品種不同可達 1.9 到 14.4 倍；Wenjing 等人（1997）研究 17 個梗稻品種未成熟胚癒傷組織形成率，依品種而有 60%到 98%的不同。Miah 等人（1985）分析四個水稻親本品種及其全互交後裔花粉形成癒傷組織能力，遺傳效應造成的變異極顯著，表示遺傳因子是造成水稻癒傷組織形成率高低的主要因素；Davoyan（1987）依照 103 個水稻品系癒傷組織形成率分成高、中、低三群，所產生癒傷組織的鮮重也依品系而各有所差異；Fatokun 及 Yamada（1984）也指出 20 個水稻品系成熟種子誘導癒傷組織之橫截面積依品系而有不同的差異；本試驗結果亦顯示水稻品種間的癒傷組織形成率（表一）、形成量（表四）及繼代增生速度（資料未發表）皆有顯著差異，與上述研究各品種癒傷組織形成率、形成量存在顯著差異之結論相符；而癒傷組織形成率、增生速度低的品種如越光、台中秈 10 號之再生率亦低，反之，台梗 4 號、台梗 16 號、台梗 17 號及台農 67 號癒傷組織形成率、增生速度高，再生率也高（表二、四、

五、六），Davoyan，（1987）也指出水稻癒傷組織產生率低的品系再生率亦較低，Abe and Futsuhara，（1986）試驗顯示稈稻形成癒傷組織能力較好，再生率也較佳，稈稻與秈稻雜交種或秈稻形成癒傷組織能力較差，再生率也較差，癒傷組織形成及增生能力似乎跟其再生力有正相關。因此水稻品種間的癒傷組織形成率、增生量及再生率應與產生胚狀細胞能力一樣與基因型有關。

添加脯氨酸有助癒傷組織之形成、增生，尤其針對原本癒傷組織形成率、增生速度不佳之品種有明顯的幫助（表四），而許多報告也指出培養基中添加一些有機物，如色氨酸（tryptophan）（Chowdhry et al. 1993；Siriwardana and Nabors，1983；Pons et al.，2000）、脯氨酸（Ozawa and Komamine 1989；Wenjing et al，1997；Pons et al.，2000）、椰子汁（Fatokun and Yamada，1984）或酪蛋白水解物（夏及王，1998；Ozawa and Komamine 1989；Wenjing et al，1997），可以增加水稻癒傷組織之形成量、胚狀細胞比率或植株再生數目。Liu 及 Lai（1991）研究指出水稻癒傷組織受到滲透壓處理時，內生脯氨酸濃度也會增加，一些特殊之 polypeptide 也開始產生，胚狀細胞比率和再生率會接著增加。這也可以解釋利用部分脫水（partial desiccation）（Rancé et al.，1994；Tsukahara and Hirose，1992）、或高滲透壓處理（Lai and Liu，1988；Higuchi and Maeda，1991；Jain et al.，1996）可以增加水稻癒傷組織之再生能力。其他作物如番茄（Handa et al.，1986）、玉米（Duncan and Widholm，1987）受到寒害、水分逆境時，內生脯氨酸都會增加，癒傷組織也會出現較多的胚狀細胞，脯氨酸似乎在提高植物再生及分化能力方面扮演一個重要的角色。

表五、表六顯示水稻各品種之間的癒傷組織分化及再生植株能力彼此有所差異，而許多報告也顯示水稻品種間再生力差異極顯著（劉及賴，1982；Lai and Liu，1982；Abe and Futsuhara，1986；Rancé et al.，1994；Seraj et al，1997）。此外，本研究顯示各品種在不同生長調節劑組合的培養基上，表現情形不盡相同，如台稈 4 號、台稈 16 號、台稈 17 號及台中秈 10 號在 K2N01 基培養較為合適；台農 67 號、越光則分別在 K1N01、K2N002 培養基較為合適（表六）。Khanna and Raina（1998）認為水稻基因型與再生培養基種類有交感作用，也就是說各品種水稻再生率會依照培養基生長調節劑比率不同而有顯著的差異，Fatokun and Yamada（1984）認為水稻癒傷組織再生能力高低決定於培養基成分，Pons 等（2000）以 3 個水稻品種做試驗，結果顯示所需之最佳再生培養基各有所不同，與本研究結果相似。可能是因為各水稻品種有不同濃度的內生荷爾蒙，需要外加不同濃度之 auxin 及 cytokinin 於再生培養基才能獲得較高再生率，造成每個品種再生率於每種培養基表現不同的結果。

水稻癒傷組織培植體經過農桿菌基因轉殖後，須經過篩選和再生的過程方可獲得可能之轉殖植株（Toki，1997），因此再生系統優劣為獲得基因轉殖再生植株多寡的關鍵。以水稻未成熟胚誘導之癒傷組織被認為有較佳的再生能力（Lai and Liu，1982；劉及賴，1982），但為了試驗材料取得的方便性，利用成熟種子做培植體的研究，逐漸變得重要，例如台農 67 號方面的研究（夏及王，1998；夏等，2001）。本研究以許多水稻栽培品種為對象，亦以成

熟種子為啓始材料，在再生能力較強之品種如：台農 67 號、台稉 4 號、台稉 16 號及台稉 17 號等，分別可產生每盤平均 25.8-34.6 個芽體，而再生力較差之台中秈 10 號、越光品種，每盤平均亦可產生 7.8、12.2 個芽體（表六），整體而言，其再生效率極高。此外，新鮮種子較貯存種子具有較高的癒傷組織產生率（表二）。因此，在從事基因轉殖試驗時，可選擇再生率較佳的品種，如台稉 16 號、台稉 17 號等的新鮮種子，並配合適當的培養基，則可提高基因轉殖成功率。

誌謝

本試驗研究經費承蒙行政院農委會(計畫編號:90 農科-2.1.1-花-V1;91 農科-3.1.1-花-V1)補助，花蓮區農業改良場魏小凡、楊淑芬及王琇玟小姐先後協助組織培養試驗工作，文成後承蒙花蓮區農業改良場作物環境課陳哲民課長及台灣大學農藝系劉麗飛教授斧正，僅此致謝。

參考文獻

1. 夏奇鋌、王強生 1998 水稻台農 67 號胚癒合組織之誘導及再生研究 中華農業研究 47 : 338-345。
2. 夏奇鋌、顏信沐、曾東海、卓緯玄、王強生 2001 基因槍轉殖台農 67 號水稻影響因子研究 中華農業研究 50:1-11。
3. 劉麗飛、賴光隆 1982 水稻幼胚誘導癒合組織器官分化能力之比較 科學發展月刊 10:135-143。
4. Abe, T. and Y. Futsuhara. 1986. Genotypic variability for callus formation and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.) Theor. Appl. Genet. 72:3-10.
5. Armstrong, C. L. and C. E. Green. 1985. Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and the involvement of L-proline. *Planta* 164:207-214.
6. Chowdhry, C. N., A. K. Tyagi, N. Maheshwari and S. C. Maheshwari. 1993. Effect of L-proline and L-tryptophan on somatic embryogenesis and plantlet regeneration of rice (*Oryza sativa* L. cv. Pusa 169). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 32:357-361.
7. Chu, C. C., C. S. Wang, C. C. Sun, C. Hiu, K. C. Yin, C. Y. Chu. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiment on the nitrogen source. *Sci. Sinica* 18:659-668.
8. Davoyan, É. I. 1987. Genetic determination of callus formation and induction of regenerants in rice tissue culture. *Soviet Genetics.* 23:208-213.
9. Duncan, D. R. and J. M. Widholm. 1987. Proline accumulation and its implication in cold tolerance of regenerable maize callus. *Plant Physiol.* 83:703-708.
10. Fatokun, C. and Y. Yamada. 1984. Variation in callus formation and plant regeneration in African rice (*Oryza glaberrima* Steud). *J. Plant Physiol.* 117:179-183.

11. Handa, S., A. K. Handa, P. M. Hasegawa, and R. A. Bressan. 1986. Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cell. *Plant Physiol.* 80:938-945.
12. Higuchi, N. and E. Maeda. 1991. Effect of pre-treatment with excess sucrose or mannitol on plant regeneration from rice callus cultures. *Jap J. Crop Sci.* 60:122-129.
13. Jain, R. K., S. Jain, and R. Wu. 1996. Stimulatory effect of water stress on plant regeneration in aromatic indica rice varieties. *Plant Cell Rep.* 15:449-454.
14. Khanna, H. K. and S. K. Raina. 1998. Genotype x culture media interaction effects on regeneration response of three indica rice cultivars. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 52:145-153.
15. Lai, K. L. and L. F. Liu. 1982. Induction and regeneration of callus from immature embryos of rice plants (*Oryza sativa* L.). *Jap. J. Crop Sci.* 51:70-74.
16. Lai, K. L. and L. F. Liu. 1988. Increase plant regeneration frequency in water-stressed rice tissue cultures. *Jap. J. Crop Sci.* 57:533-557.
17. Liu, L. F and K. L. Lai, 1991. Enhancement of regeneration in rice tissue cultures by water and salt stress. *Bio. Agri. and Forestry* 14:47-57.
18. Miah, M. A. A., E. D. Earle and G. S. Khush. 1985. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L.. *Theor. Appl. Genet.* 70:113-116.
19. Mikami, T. and T. Kinoshita. 1988. Genotypic effects on the callus formation from different explants of rice, *Oryza sativa* L.. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 12:311-314.
20. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
21. Oard, J. H. and J. H. Rutger. 1988. Callus induction and plant regeneration in elite U.S. rice lines. *Crop Sci.* 28:565-567.
22. Ozawa, K. and A. Komamine. 1989. Establishment of a system of high-frequency embryogenesis from long-term cell suspension cultures of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 77: 205-211.
23. Pons, M. J. , V. Marfà, E. Malé and J. Messeguer. 2000. Regeneration and genetic transformation of Spanish rice cultivars using mature embryos. *Euphytica* 114:117-122.
24. Rancé, I. M., W. Tian, H. Mathews, A. de Kochko, and R. N. Beachy. 1994. Partial desiccation of mature embryo-derived calli, a simple treatment that dramatically enhances the regeneration ability of indica rice. *Plant Cell Rep.* 13:647-651.
25. Seraj, Z. I., Z. Islam, M. O. Faruque, T. Devi and S. Ahmed. 1997. Identification of the regeneration potential of embryo derived calluses from various indica rice varieties. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 48:9-13.
26. Siriwardana. S., and M. W. Nabors. 1983. Tryptophan enhancement of somatic embryogenesis

in rice. *Plant Physiol.* 73:143-146.

27. Toki, S. 1997. Rapid and efficient *Agrobacterium*-Mediated transformation in rice. *Plant Mol. Biol. Rep.* 15: 16-21.
28. Tsukahara, M. and T. Hirosawa. 1992. Simple dehydration treatment promotes plantlet regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) callus. *Plant Cell Rep.* 11:550-553.
29. Wenjing, T., L. Bao, and X. Miao. 1997. Establishing japonica rice suspensions retaining a high regeneration potential after 14 months of culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 47:213-216.
30. Yoshida, K. T., S. Fujii, M. Sakata and G. Takeda. 1994. Control of organogenesis and embryogenesis in rice calli. *Breeding Sci.* 44:355-360.