

野生稻 *Oryza nivara* 與栽培稻 *O. sativa* 之雜種後代的遺傳育種行為¹ I. 種間雜交親和性及 F₁ 雜種行為

戴順發 吳詩都 曾富生²

摘 要

為探討水稻野生種 *Oryza nivara* 與栽培種 *O. sativa* 雜交後代之遺傳育種行為，使用由 IRRI 引入 *O. nivara* Acc101507, Acc101508, Acc101509 三個系統與三個粳型品種 T65, Shiokari 及 ID-47 相互雜交共 17 個組合之 F₁，於 1984~1985 進行試驗，結果如下：

O. nivara 三個系統與三個粳型品種間均具有雜交親和性，與 T65 雜交時之親和力較高，而與 Shiokari 及 ID-47 雜交時則較低，正反交結果類似。

17 個正反組合 F₁ 染色體配對均正常，但花粉稔性依野生系統之不同而有甚大之變異，其中由 Acc101508 雜交者花粉稔性高達 80% 以上，由 Acc101507 及 Acc101509 雜交者，花粉稔性在 0~7% 之間。

O. nivara 與 *O. sativa* 的種間雜交 F₁ 未發現有雜種弱勢及致死之情形，且以 Acc101508 為母本與 T65 及 ID-47 雜交的 F₁ 農藝性狀在單株產量呈現雜種優勢，但後者之抽穗期異於其他組合。

關鍵字：水稻、雜交、野生稻、雜種

前 言

近年來植物遺傳資源之探索已成世界各國所關注之問題，開始大力從事新遺傳資源的導入工作，野生種源的提昇與利用也再度受到重視⁽⁶⁾。但因野生種源大多無法直接馴化，必須將其所攜有之基因導入栽培種內，經由種間雜交育種途徑進行選拔，所得的系統方能加以利用。使得野生種源之價值雖受肯定，但僅止於研究階段，距實用階段還相當遙遠。

許多的研究指出，水稻種間雜交的生殖隔離障礙包含有雜交親和力低，F₁ 雜種弱勢、不稔及致死，但在栽培種與其野生祖先種間較少發生^(1,7,13,14,15,19)。為克服種間的生殖隔離障礙，使用野生祖先種做為育種材料，或許可行。

1. 本計畫承行政院國家科學發展委員會經費補助。
2. 台灣省高雄區農業改良場助理、中興大學藝系教授、教授。

O. nivara 原產於印度 Uttar Pradesh 州東北部，是目前唯一具有強抗 grassy stunt virus 的一年生野生稻^(12,16,18)，且被認為是栽培稻 *O. sativa* 的祖先種^(8,9,10,11)，與栽培種間之基因交流可能較其他野生種容易，在水稻種間雜交育種之種源應用上為一重要材料。

本試驗擬先探討 *O. nivara* 與 *O. sativa* 種間相互雜交之親和性， F_1 雜種的稔性、染色體行為及農藝性狀之變異，作為將來育種之參考。

材料與方法

本試驗使用由國際稻米研究所 (IRRI) 引進的野生種 *O. nivara* 之 Acc101507 (感光)、Acc101508 (如圖 1)、Acc101509 (感光) 及栽培稻台中65號 (T65)、Shiokari、ID-47 (為 Shiokari 之矮生同質基因系統) 等 6 個品系 (品種) 為材料。

1984年第二期作進行野生 3 系統與 3 個粳型品種的正反雜交，共17個組合 (表 1)，由 Acc101508 雜交的 6 個組合 F_1 種子及親本種植於1985年第一期作 (3月7日插秧)，其餘11個組合 F_1 及其親本則於1985年第二期作 (8月14日插秧) 種植。

試驗在中興大學農場進行，單本植，行株距 25×25 公分，種植親本100株、 F_1 10~20株。肥料施用量為每公頃 $N_2 : P_2O_5 : K_2O = 80 : 50 : 40$ 公斤，田間管理依一般慣行法。

減數分裂時染色體之配對調查：以改良 Smears 方法鏡檢染色體配對之行為。花粉稔性調查：鏡檢花粉時，以碘—碘化鉀染色測其稔性，稔性低者另以醋酸洋紅觀察不稔花粉的退化型。農藝性狀調查：每組合之 F_1 逢機收穫 5 株，親本 20 株調查穗長、穗重、穗數、一穗穎花數、稔實率、千粒重、單株產量、稈長、抽穗期等性狀。

結 果

(一) 種間雜交親和性、 F_1 染色體行為及花粉稔性

1984年第二期作進行野生稻系統與栽培稻品種的正反雜交，發現 *O. nivara* 系統與 T65 的雜交成功率較高達 70% 以上，而與日本品種 Shiokari 及 ID-47 的成功率較低，但仍能獲得 F_1 種子，反交結果呈類似趨勢。

鏡檢 17 個組合 F_1 減數分裂時之染色體行為 (如圖 2) 發現配對均正常，又觀察 F_1 花粉稔性之結果 (如表 1)，發現依稔率之不同，17 個雜交組合大致可區分為高稔性與低稔性兩群。高稔性群為 Acc101508 與粳型品種的 6 個正反交組合，低稔性群則為 Acc101507、Acc101509 兩系統與粳型品種的 11 個雜交組合。稔性高者，花粉稔率在 80% 以上，正反交差異不顯著；低稔性群內稔性變異範圍在 0~7% 之間，而正反交之稔性依親本之不同而有差異。

(圖 3) 為正常稔性花粉與不稔花粉之差異。由 (圖 3) 可看正常花粉為完整圓形而呈濃顏色 (圖 3A)、而不稔之花粉則為一核退化 (圖 3B)、花粉淡顏色 (圖 3C) 及內容物空虛 (圖 3D-F) 等型態。進一步鏡檢 Acc101507、Acc101509 與栽培種雜交之

11個低稔性組合的 F_1 花粉退化，結果如（圖 4~圖 5），由圖中可看出所有雜交組合之花粉在外型雖然呈完整型態，但大都為淡顏色或空虛花粉。

(二) F_1 農藝性狀之特性

17個組合 F_1 族群中未發現弱勢及致死之植株，由於以 Acc101507、Acc101509 作為親本之雜交組合的 F_1 呈現不稔，因此僅調查具有稔性之 Acc101508 與台中65號、Shiokari 及 ID-47 正反雜交之 F_1 世代的農藝性狀，結果如（表 2）所示，由（表 2）發現：

1. 穗長：除 T65 × Acc101508 及其反交近於兩親中間值外，其他的組合均表現雜種優勢。
2. 穗重：ID-47、Shiokari 與 Acc101508 的 4 個正反雜交組合中，除 Shiokari × Acc101508 的表現為趨向栽培種的完全顯性外，其餘的組合呈偏於大親本之超顯性；而 T65 與 Acc101508 的正反交 F_1 均為偏向野生種之完全顯性。
3. 穗數：Acc101508 × ID-47 與 Acc101508 × T65 呈現偏向野生種之完全顯性，兩組合之反交 F_1 與 Acc101508 × Shiokari 則近於兩親中間值，而 Shiokari × Acc101508 表現近野生種的部份顯性。
4. 一穗穎花數：Acc101508 × ID-47 呈偏於栽培種之完全顯性，ID-47 × Acc101508 則偏向栽培種之超顯性；Shiokari 與 Acc101508 之正反交 F_1 現表近於兩親

Table 1. Mean percentage of pollen fertility in the F_1 hybrids and their parents.

<i>O. nivara</i> strains	<i>O. sativa</i> varieties		
	ID-47	Shiokari	T65
Wild x Cultivar.			
Acc101507	2.0	0.0	4.1
Acc101508	82.9	85.2	88.7
Acc101509	0.1	0.4	0.0
Cultivar x Wild			
Acc101507	4.0	6.6	0.0
Acc101508	84.9	86.9	83.7
Acc101509	0.0	—	1.8
Parents			
Acc101507	89.5		
Acc101508	71.8		
Acc101509	81.8		

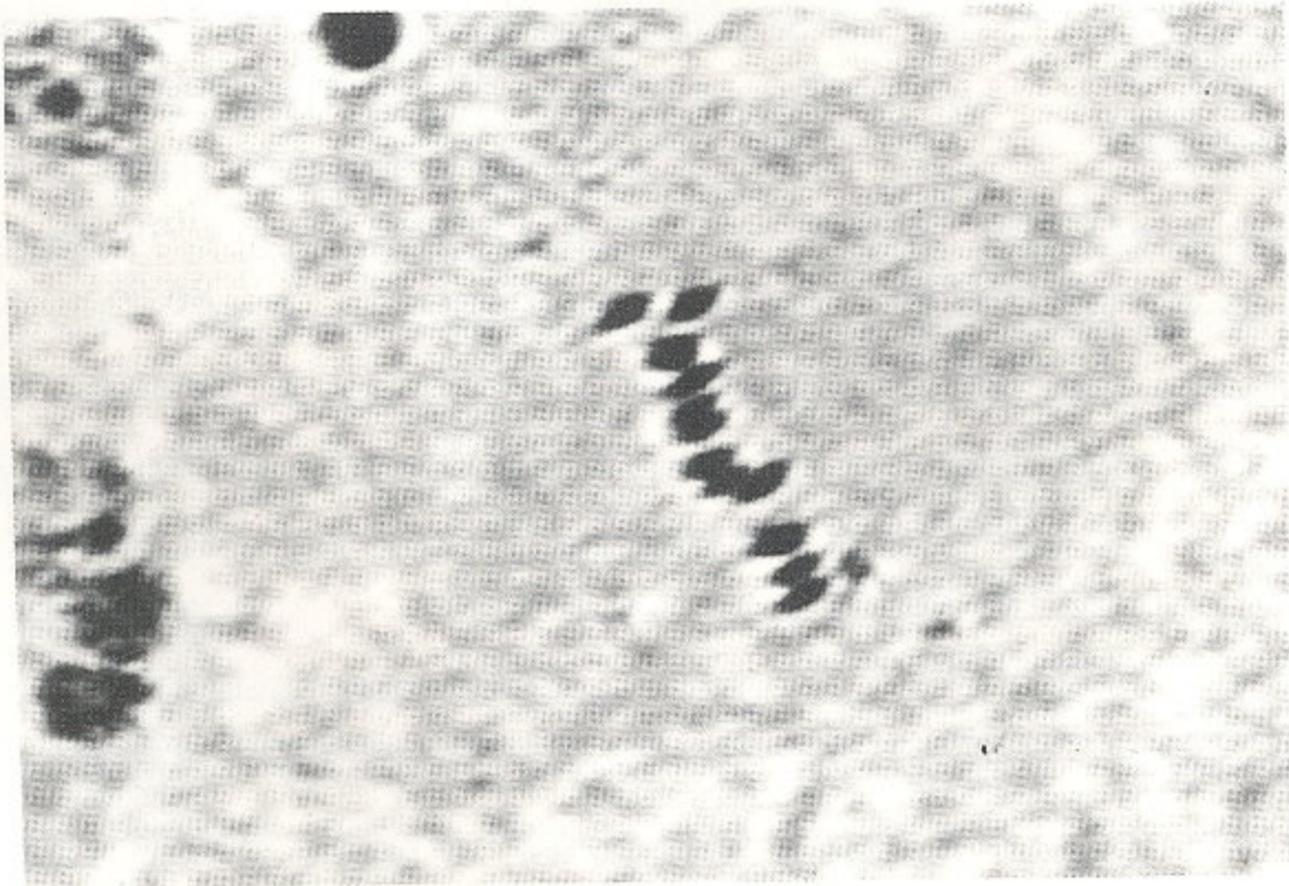


Fig. 2. Chromosome pairing of metaphase I in the hybrid of *Oryza nivara* x *O. sativa*, showing 12II.

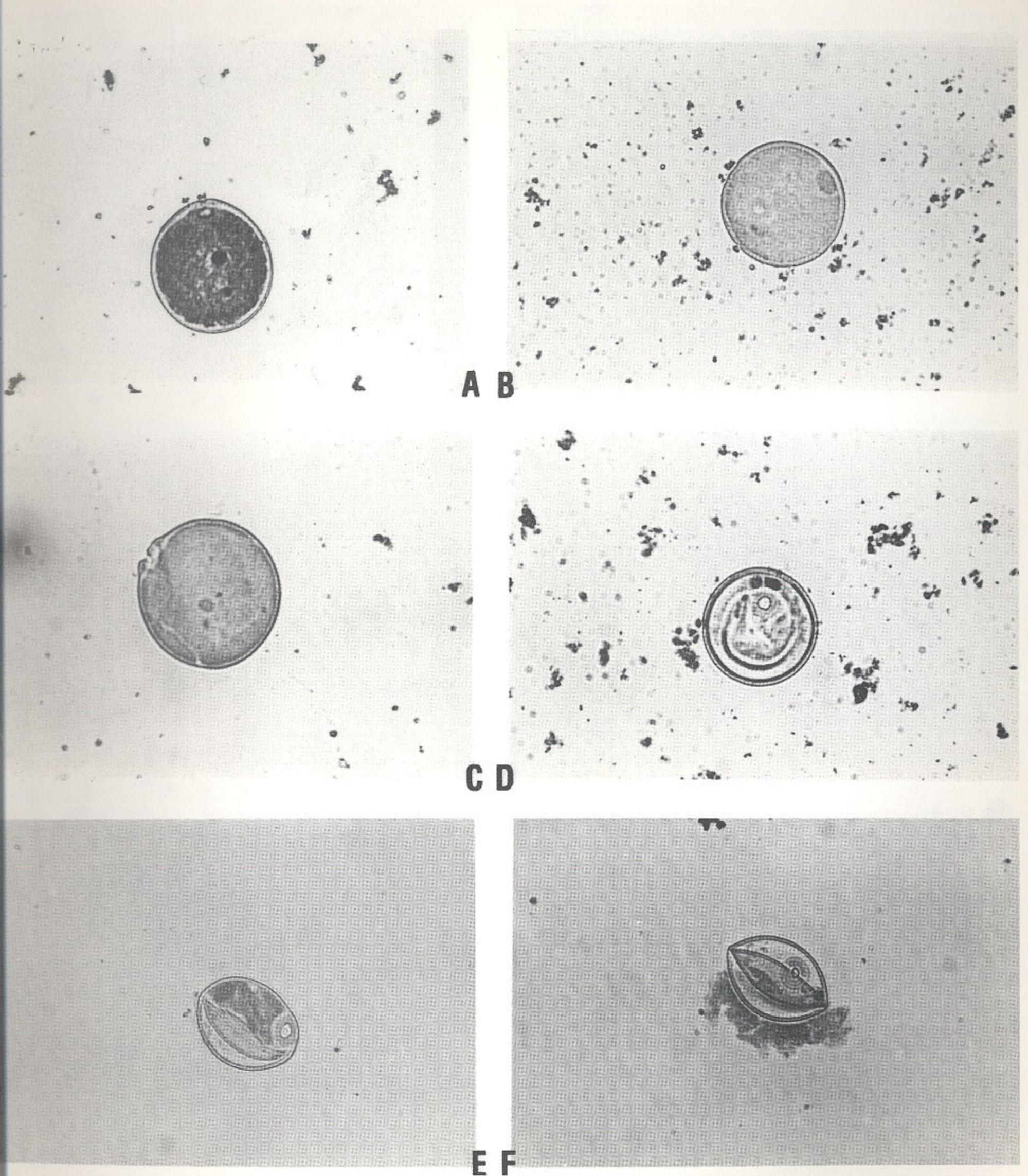
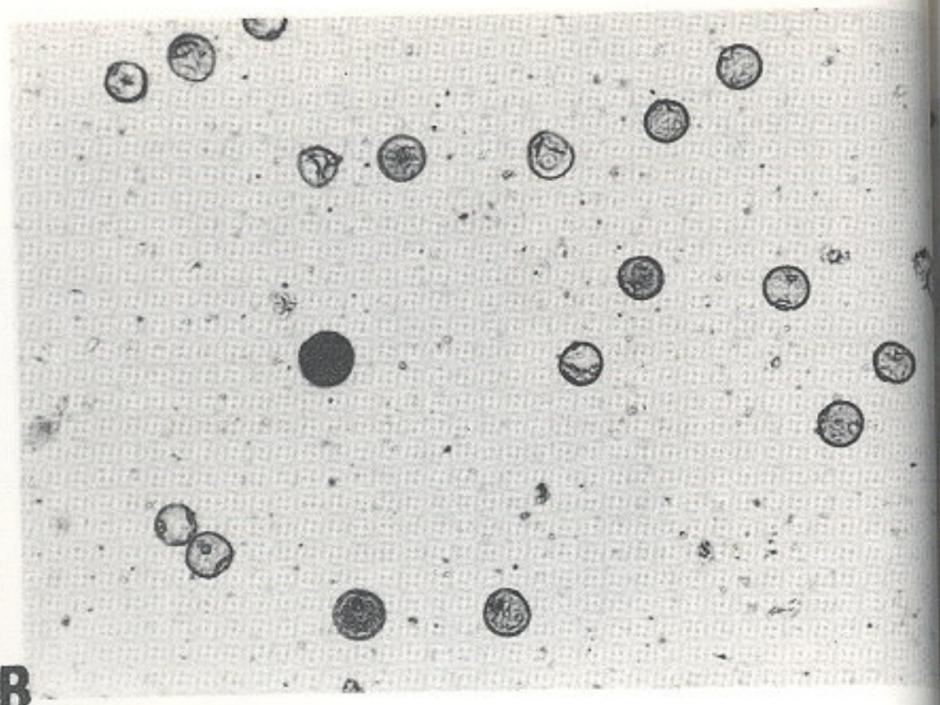
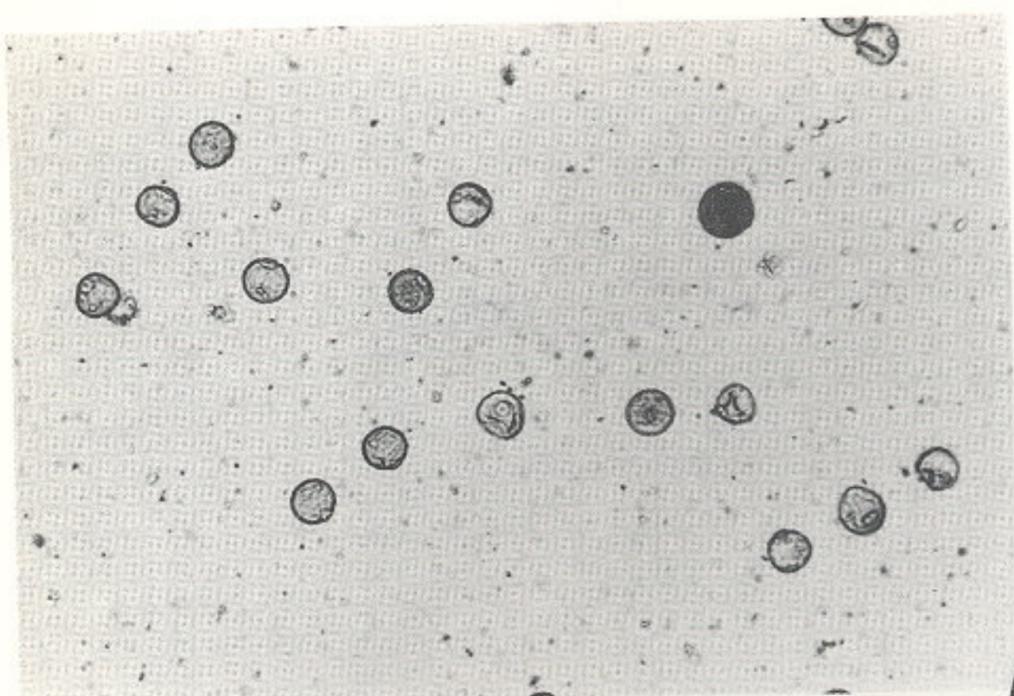
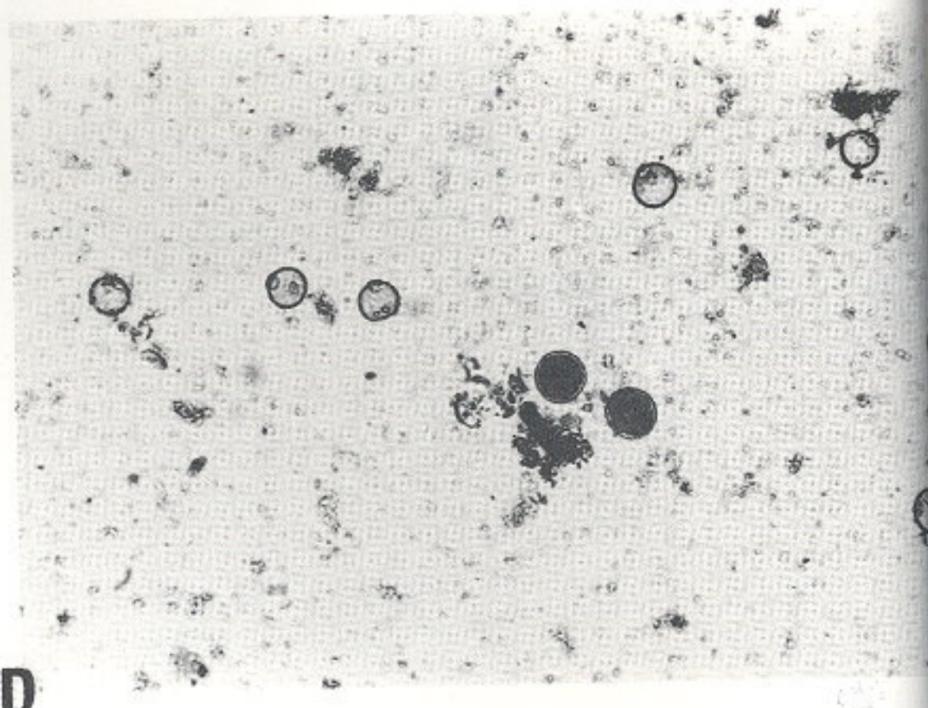
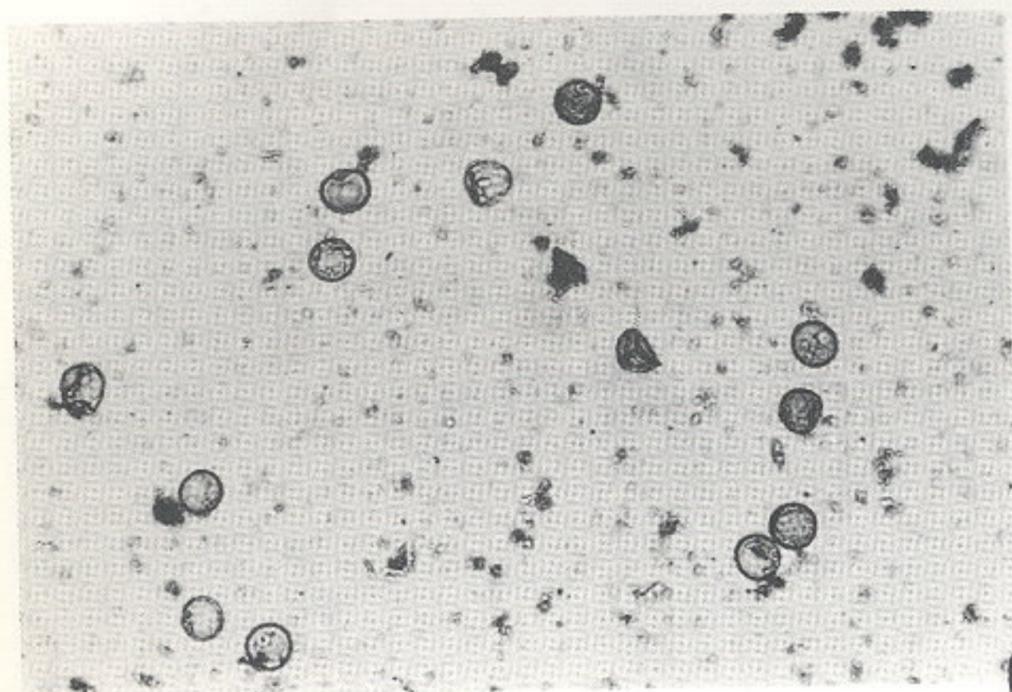


Fig. 3. Pollen grain types found in the F_1 hybrids between wild strains and Japonica varieties which stained by aceto-carmin.

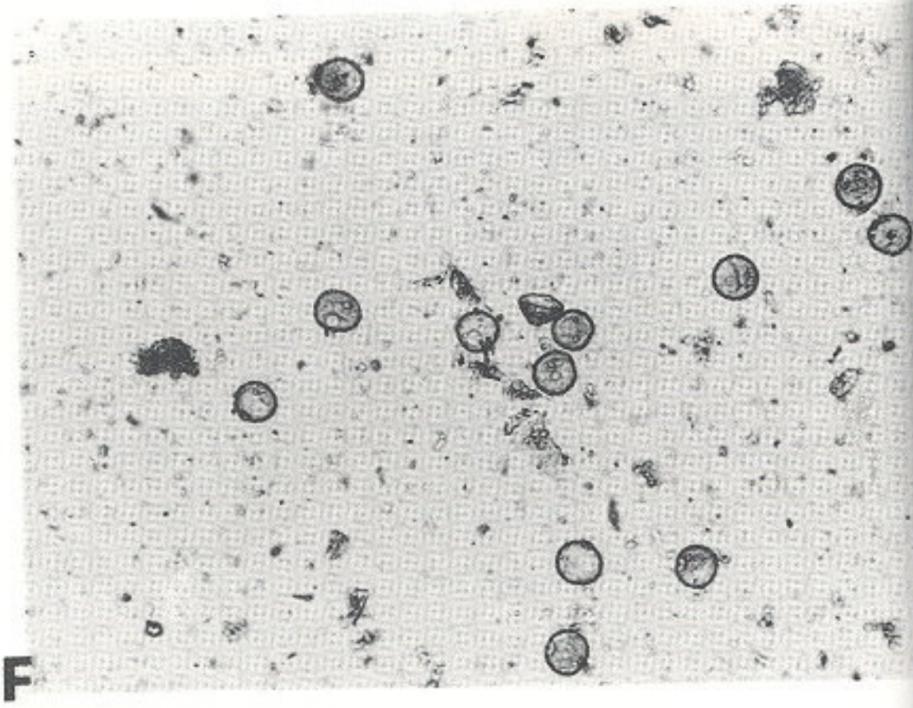
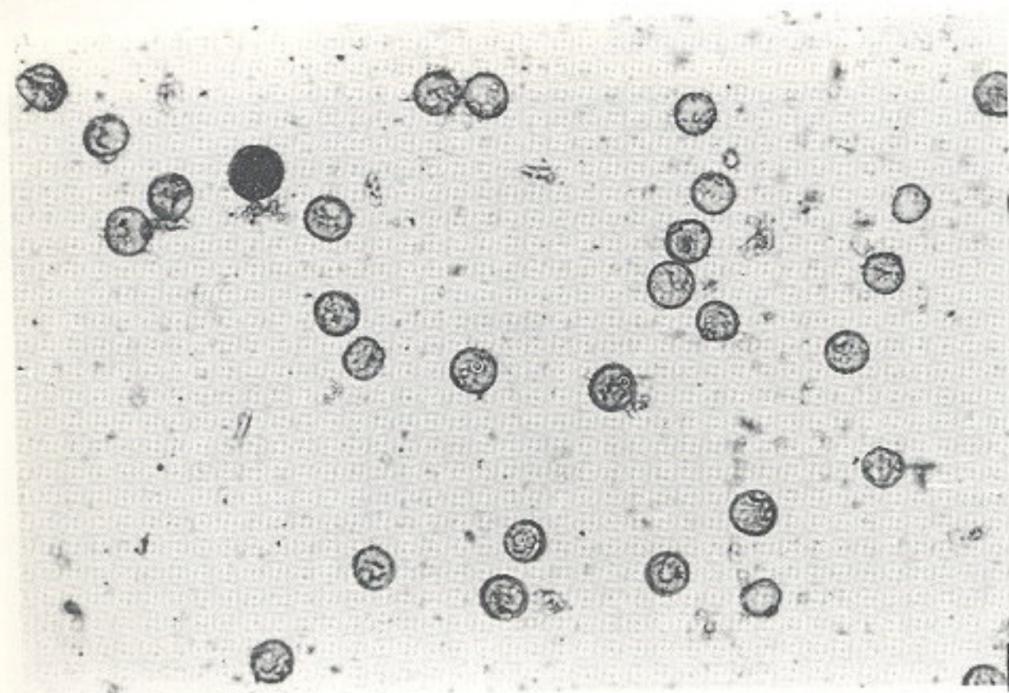
- A: Normal pollen grain (deeply stained)
- B: Abortive pollen grain (uninucleate abortion)
- C: Abortive pollen grain (faintly stained)
- D-F: Empty pollen grains



A B



C D



E F

Fig. 4. Pollen grains of F_1 hybrids between wild strain (Acc101507) and Japonica varieties stained by aceto-carmin.

A: Acc101507 x ID-47

C: Acc101507 x Shiokari

E: Acc101507 x T65

B: ID-47 x Acc101507

D: Shiokari x Acc101507

F: T65 x Acc101507

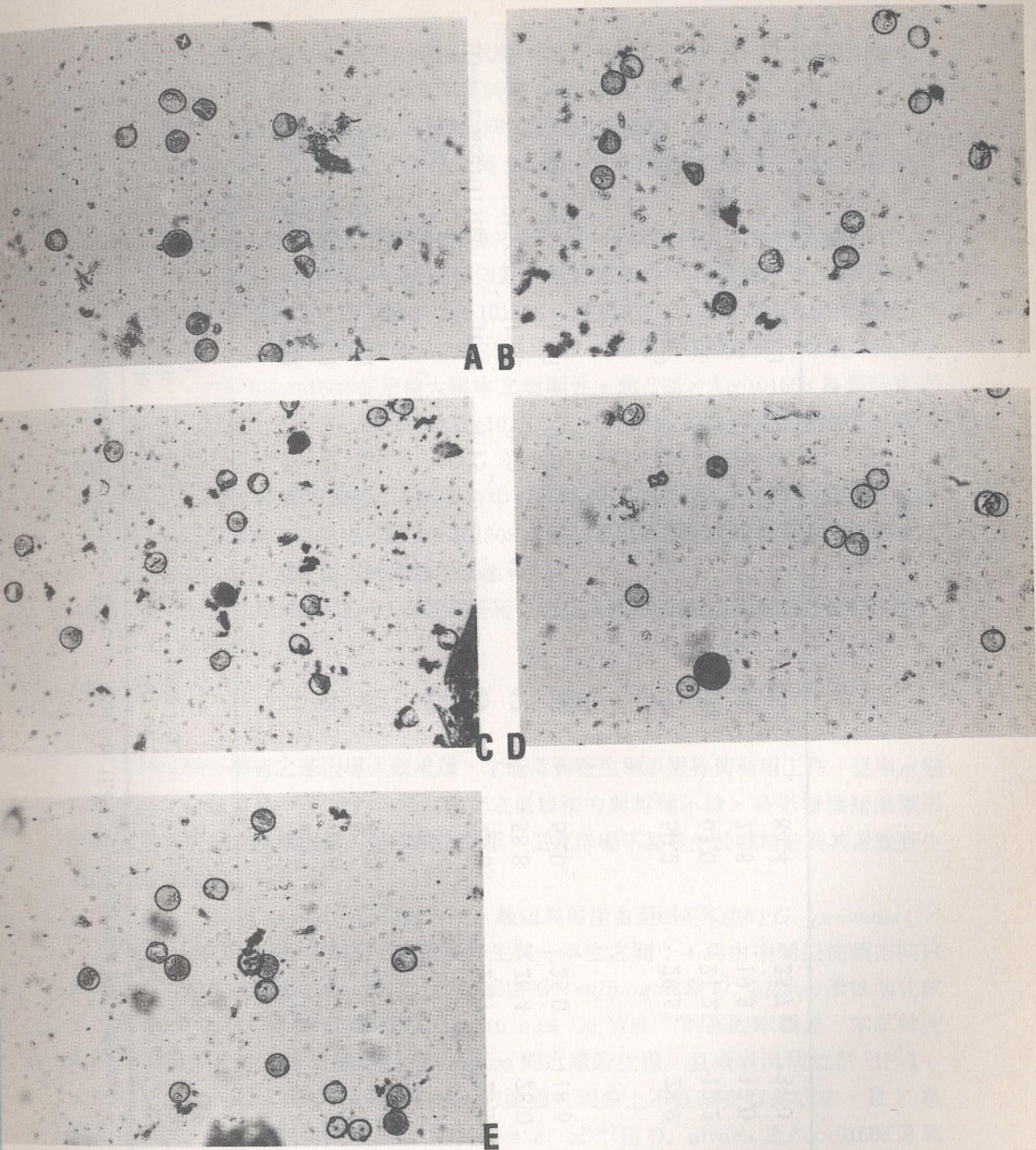


Fig. 5. Pollen grains of F_1 hybrids between wild strain (Acc101509) and Japonica varieties which stained by aceto-carmin.

A: Acc101509 x ID-47

B: ID-47 x Acc101509

C: Acc101509 x T65

D: T65 x Acc101509

E: Acc101509 x Shiokari

Table 2. Mean values of nine agronomic traits in the F₁ hybrids and their parents.

Cross	Panicle length (cm)	Panicle weight (g)	No. of panicles	No. of spikelets	Rate of spikelet fertility (%)	1000-seed weight (g)	Grain Yield (g)	Culm length (cm)	Days to heading (day)
Wild x Cultivar									
Acc101508 x ID-47	15.1	1.08	54	41	77.6	29.0	50.8	80	60
Acc101508 x Shiokari	16.1	1.03	33	44	66.6	29.3	25.6	88	65
Acc101508 x T65	17.1	0.87	59	38	65.6	28.0	41.1	96	64
Cultivar x Wild									
ID-47 x Acc101508	16.0	1.15	29	49	73.8	27.7	29.9	80	65
Shiokari x Acc101508	15.5	0.80	43	42	58.8	26.4	28.0	84	63
T65 x Acc101508	17.3	0.88	28	44	62.0	25.0	18.6	91	64
Parents									
Acc101508	13.9	0.77	52	34	60.2	28.5	28.9	79	67
ID-47	12.6	0.59	17	39	63.0	21.2	12.2	46	59
Shiokari	13.1	0.80	20	52	71.8	19.8	13.0	71	56
T65	20.0	2.03	17	86	84.4	25.7	31.0	114	87

- 之中間值，而 T65 與 Acc101508 之正反交則呈近於野生之部份顯性。
5. 稔實率：野生種×栽培種 F_1 的稔實率高於栽培種×野生種。6 個正反交組合中 ID-47 與 Acc101508 相互雜交 F_1 皆偏向栽培種之超顯性；然 Acc101508×Shiokari 表現近於兩親中間值，其反交與 Acc101508×T65 之正反交 F_1 則均呈近野生種之部份顯性。
 6. 千粒重：野生種×栽培種 F_1 大於栽培種×野生種。6 個組合中，Acc101508×ID-47 與 Acc101508×Shiokari 呈偏向野生種之超顯性，其反交之 F_1 則為近野生種之部份顯性，而 T65 與 Acc101508 正反交之 F_1 均為近母本之部份顯性。
 7. 單株產量：Acc101508×ID-47 與 Acc101508×T65 具顯著的雜種優勢，兩組合與 ID-47×Acc101508 皆呈偏大親本之超顯性。然 T65×Acc101508 為偏野生之超顯性，而 Shiokari 與 Acc101508 之正反交 F_1 則均呈近野生種部份顯性。
 8. 稈長：正反交 F_1 差異不顯著；6 個組合中 ID-47 與 Acc101508 之正反交呈近野生種之完全顯性；Shiokari 與 Acc101508 之正反交呈偏野生之超顯性；T65 與 Acc101508 之正反交則近於兩親中間值。
 9. 抽穗期：除 Acc101508×ID-47 為近栽培種之完全顯性，其餘之組合皆為近野生種之完全顯性。

討 論

把野生種所攜有之基因導入栽培種，才能落實野生種源提昇與利用工作。從事水稻種間雜交的研究者^(7,13,15,19)均認為種間雜交之低親和力與雜種不稔，是影響種間雜種形成基因交流之一大障礙因素，必須設法克服。但此障礙不易發生於栽培種與其近緣野生種間之相互雜交。

栽培稻 *Oryza sativa* 的演化過程，一般認為可能由亞洲多年生的 *O. perennis* (= *O. rufipogon*) 演化至中間型（介於多年生與一年生之間），再由中間型往兩方向分化而成 *O. sativa* 與 *O. nivara*^(2,5,19,22)；或由 *O. rufipogon* 經 *O. nivara* 最後演化成 *O. sativa*^(8,9,10,11)。據此兩個學說及 Harlan and De Wet⁽¹⁷⁾ 的基因庫觀念，本試驗使用的野生稻 *O. nivara* 是栽培稻 *O. sativa* 的近緣野生種，且兩者為同位於 GP-1 (primary gene pool) 內，兩個生物學上的亞種，理論上不僅雜交容易成功，且 F_1 植株稔性也高。種間雜交親和力方面：Dolores *et al.*⁽¹⁶⁾ 以 *O. nivara* 之 Acc101508 系統與 6 個籼型品種雜交，結果顯示彼此間具雜交親和力。但 Ng Quat⁽²⁰⁾ 則發現 *O. nivara* 系統除 Acc101508 外，其他的系統與栽培稻雜交則呈現高度的不親和性，而本試驗之結果也顯示 Acc101507—9 三系統與 T65、Shiokari 及 ID-47 三個粳型品種的雜交雖具有親和性，其親和力之大小仍因栽培稻品種之不同而有所差異。由此可知 *O. nivara* 系統與 *O. sativa* 品種的雜交親和力，依野生稻系統別及栽培稻品種籼粳類型之不同而有極大差異。雜種稔性方面：野生稻三系統與 T65 等三個粳型品種雜交，僅

有以 Acc101508 雜交的 6 個組合 F_1 稔性正常，其餘兩系統的 11 個雜交組合 F_1 則呈現不稔，顯示栽培種與近緣野生種雜交時 F_1 雜種也有不稔的情形。由 *O. nivara* 系統與 *O. sativa* 品種間雜交親和力及雜種稔性之差異可知，即使 *O. nivara* 是栽培種的祖先種也可能有不位於 GP-1 內之系統⁽⁹⁾，且 F_1 雜種不稔是影響 Acc101507、Acc101509 兩系統與栽培稻品種間基因交流之生殖隔離障礙。

水稻栽培種與野生種雜交時，後代常有之不稔現象，其因為花粉與胚的不稔⁽¹⁵⁾，遺傳上則可能出於兩親由來染色體構造的差異，基因的相互作用或細胞質的影響⁽¹⁾。一般認為不同染色體組的種間雜交，由於兩親染色體構造的懸殊差異致減數分裂時染色體配對不完全，而造成雜種不稔^(7,24)。唯同屬 A 染色體組之種間雜交的 F_1 ，其減數分裂鮮有異常^(1,19)，不稔的發生被認為可能是染色體構造微細的差異，基因或細胞質的作用^(21,23,26)，但前兩者很難加以區別。Shinjo⁽²⁵⁾及 Yabuno⁽²⁶⁾則證實 A 染色體組間某些特定組合的雜種不稔係細胞質與該基因不調和所致。至於栽培稻 *O. sativa* 遠緣雜交籼、粳雜種的不稔性，多數的研究者認為係由兩品種（群）染色體潛在的構造差異所引起⁽⁷⁾，但岡⁽⁴⁾則主張品種間的分化主要是基因的變化， F_1 會出現各種不同程度的不稔性，應是雜種配子體自身的基因型或孢子體基因型所引起的。進一步探討 Acc101507、Acc101509 兩系統與 T65 等三個粳型品種 F_1 不稔發生的原因，發現花粉母細胞在減數分裂時染色體配對均正常，但花粉呈完整圓形之退化型態且大多為淡顏色及空虛花粉，其花粉稔性雖低，仍因親本不同而異。*O. nivara* 屬 A 染色體組⁽¹⁶⁾，據森島^(1,19)指出同屬 A 染色體組種間雜交的 F_1 ，其染色體的行為很少產生異常配對現象。因此，本試驗之不稔行為可能是配偶子發育基因^(4,21)或基因與細胞質間的相互作用^(25,26)，阻礙了四分子期後之花粉發育內容物蓄積，當然其詳細原因有待更進一步探討。

野生種與栽培種間之生殖隔離障礙除種間雜交親和力及雜種不稔外，雜種弱勢及致死亦為限制兩者基因交流之因子^(1,13,14,15)。然而本試驗發現，17 個雜交組合之 F_1 族群中未出現弱勢及致死個體。因此，雜種弱勢及致死不影響野生稻 *O. nivara* 三系統與栽培稻 *O. sativa* 三個粳型品種之間的基因交流。

就稔性正常 F_1 農藝性狀之變異而言，以 Acc101508 雜交的 6 個組合中 Acc101508 × T65、Acc101508 × ID-47 兩組合在單株產量方面具有明顯的雜種優勢。通常遠緣品種籼、粳雜交 F_1 出穗較兩親為遲⁽³⁾，但本試驗發現各組合之抽穗期除 Acc101508 × ID-47 為近栽培種之完全顯性外，其餘之組合皆為近野生種之完全顯性。

總之，初步的試驗結果顯示野生三系統中僅 Acc101508 與栽培稻品種之 F_1 稔性正常，可繁衍 F_2 雜種集團，且暗示以近緣野生種作為水稻育種材料時，須選擇野生系統與栽培品種作為特定的雜交組合，以克服雜交不親和性及雜種不稔。

參 考 文 獻

1. 森島啟子。1982。內的生殖隔離を友配する遺傳子。大村武編：「イネ遺傳子分析の現状」イネ遺傳子研究班，福岡 pp.63~67。

2. 森島啓子。1986。栽培植物の進化と適應的特性。遺傳40：175～181。
3. 永松土己。1958。イネの亞種間雜種集團の構成に及ぼす環境の影響。酒井、明峰、高橋編：「植物の集團育種法研究」。養賢堂、東京 pp.106～113。
4. 岡彦一。1962。栽培稻にあける雜種不稔性の機構。育種學最近進歩 4：34～43。
5. 佐野芳雄。1985。栽培化の進化遺傳。遺傳39：8～14。
6. 田中正武。1985。21世紀に託する植物遺傳資源の探索と利用。育種學最近の進歩26：12～18。
7. Chang, T. T. 1964. Present knowledge of rice genetics and cytogenetics. Tech. Bull. 1. Irri. Los Banos, Philippine.
8. Chang, T. T. 1976a. The origin, evolution, cultivation, dissemination and diversification of Asian and African rices. Euphytica 25: 425–441.
9. Chang, T. T. 1976b. Rice. In “Evolution of crop plants” (ed. N.W. Simmonds) Longman, London. pp. 98–103.
10. Chang, T. T. 1985a. Principles of genetic conservation. Iowa State J. Res. 59: 325–348.
11. Chang, T. T. 1985b. Crop history and genetic conservation: Rice-a case study. Iowa State J. Res. 59: 425–455.
12. Chang, T. T., S. H. Ou, M. D. Pathak, K. C. Ling and H. E. Kauffman 1975. The search for disease and insect resistance in rice germplasm. In “Crop genetic resources for today and tomorrow” (eds. O. H. Frankel and J. G. Hawkes) Cambridge University Press, Cambridge. pp. 183–200.
13. Chu, Y. E. and H. I. Oka 1970. Introgression across isolating barriers in wild and cultivated *Oryza* species. Evolution 24: 344–355.
14. Chu, Y. E. and H. I. Oka 1972. The distribution and effects of genes causing F_1 weakness in *Oryza breviligulata* and *O. glaberrima*. Genetics 70: 163–173.
15. Chu, Y. E., H. Morishima, and H. I. Oka 1969. Reproductive barriers distributed in cultivated rice species and their wild relatives. Japan. J. Genet. 44: 207–223.
16. Dolores, R. C., T. T. Chang and D. A. Ramires 1979. The cytogenetics of F_1 hybrids from *Oryza nivara* Sharma et Shastry x *O. sativa* L. Cytologia 44: 527–540.
17. Harlan, J. R. and J. M. J. De Wet 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. Taxon 20: 509–517.
18. Ling, K. C., V. M. Aquiero and S. H. Lee. 1970. A mass screening methods for testing resistance to grassy stunt disease in rice. Plant Dis. Rep. (U. S.) 54: 565–569.

19. Morishima, H. 1984. Wild plants and domestication. In "Biology of rice" (eds. S. Tsunoda and N. Takahashi) Elsevier, Tokyo. pp. 3–30.
20. Ng, Q. N. 1977. A biosystemetic study of the Asian wild and cultivated taxa in the "*sativa* species complex" of genus *Oryza*. Ph. D. Thesis, University of Birmingham, U. K.
21. Oka, H. I. 1974. Analysis of genes controlling F_1 sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77: 521–534.
22. Oka, H. I. 1977. The ancestors of cultivated rice and their evolution. In "Meeting on African rice species" (ed. I. O. Paris).
23. Sano, Y. 1980. Analysis of genes controlling the F_1 pollen sterility between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Ann Rep., Nat. Inst. Genet.* 30: 113–114.
24. Shastry, S. V. S. 1964. Chromosome structural differentiation, isolating mechanisms and speciation in *Oryza*. In "Rice genetics and cytogenetics" (IRRI). Elsevier, Amsterdam. pp. 111.
25. Shinjo, C. 1984. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration in rice having genome A. In "Biology of rice" (eds. S. Tsunoda and N. Takahashi) pp. 321–338.
26. Yabuno, T. 1977. Genetic studies of the interspecific cytoplasm substitution line of Japonica varieties of *Oryza sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Euphytica* 26: 451–463.