

菸草花藥培養單倍體的形成

高中教師組生物科第二名

台灣省立中興高級中學

作者：洪美貞



一、研究動機：

生物藉生殖以延續種族的生命，除有性生殖外，尚常見行無性生殖，單雄生殖或孤雌生殖者。組織培養乃最新的科學技術，目前已被實際應用於育種上，並解決了許多細胞遺傳及生化方面的問題，故引起作者之注意。高中生物學第十八章：開花植物的生殖與發育，提到有些植物利用根、莖、葉營養器官來繁殖，而花藥乃植物形成雄性配子之器官，是否可用組織培養的方法，使其行單雄生殖，而產生出新個體呢？是一值得探討的問題。

二、研究目的：

了解菸草花藥培養形成單倍體的情形。

三、研究材料與方法：

(一)材料：萬國士菸草品種（菸葉試驗所種植）

(二)培養基的配製：MS 基本鹽類培養基（Murashige and Skoog medium）

		大量元素	mg/ℓ	微量元素	mg/ℓ
Sucrose	3 %	NH ₄ NO ₃	1650	H ₃ BO ₃	6.2
phytagar	0.8 %	KNO ₃	1900	MnSO ₄ ·H ₂ O	16.9
		CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6
thiamine HCl	0.4 %	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	KI	0.83
		KH ₂ PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
inositol	100mg/ℓ	Na ₂ -EDTA	37.3	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
		FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025

(Composition of MS medium)

加水至一公升，pH = 5.7 ± 0.1，經 121℃，15 磅/吋² 之高溫，高壓滅菌後備用。

(三)花藥培養：

1 採取花萼及花冠之比約為 1 : 1 的花蕾，以 5 % Purex（含 0.5 % 次氯酸鈉）消毒 10 分鐘，再將花藥自花蕾中取出，接種於培養基上。

註：每個花蕾含 5 個花藥，採取需特別小心，避免花藥壁等體細胞組織受到傷害。

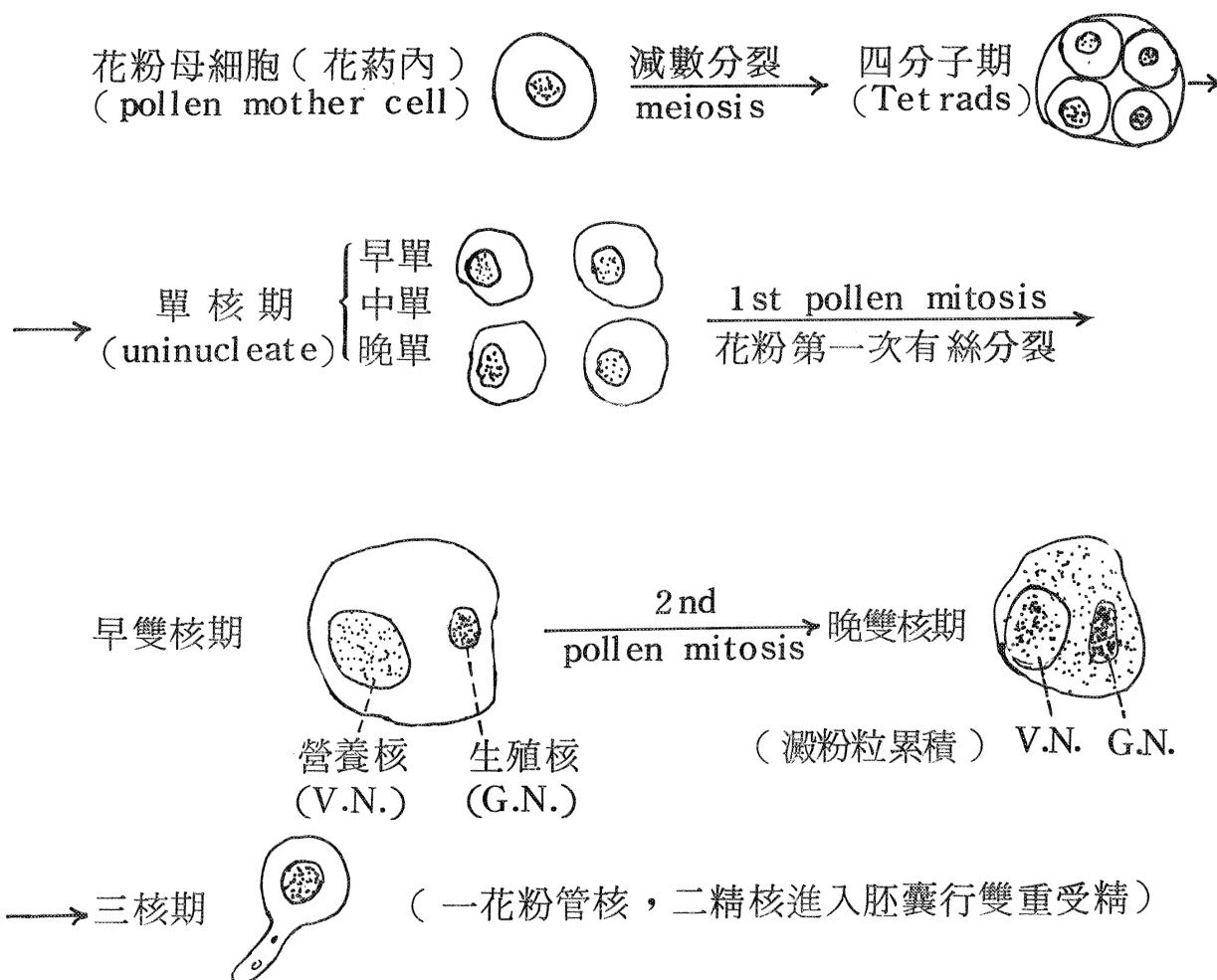
2 接種完畢之試管材料，置於 27° ± 1℃ 之恆溫，以 1,000 lux 之光強度，每日行 16 小時之照光下培養。

四、實驗結果：

- (一)綠色之菸草花藥，部分於三週後轉變為褐色。
- (二)花藥培養約35天後，即有單倍體植株產生。
- (三)一個菸草花藥上，可長出數十株單倍植物體。

五、討論

(一)花粉粒之發育過程乃：



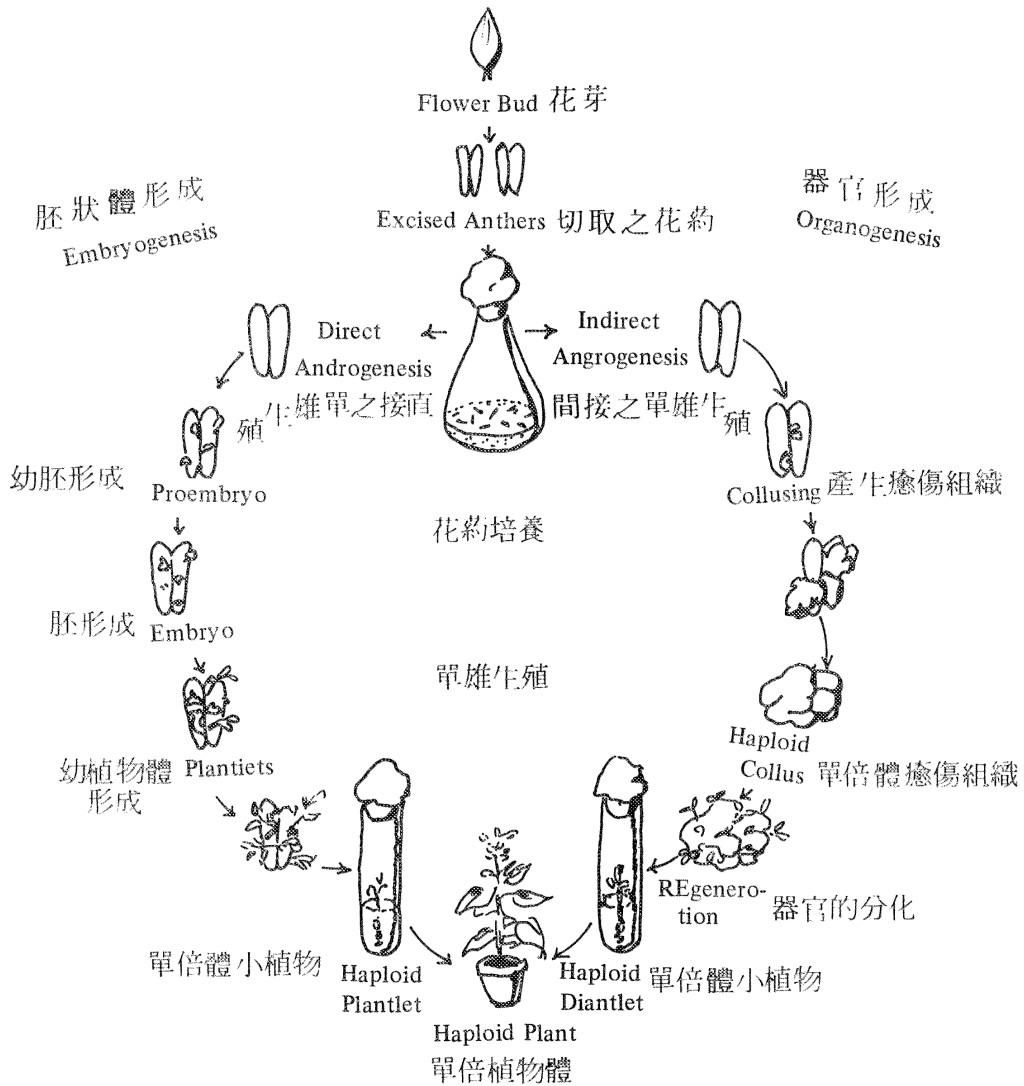
一般植物花藥培養之最適時期，介於四分子期至第一次花粉有絲分裂剛完畢之間。而菸草花藥培養最適當時期，介於晚單核期至第一次花粉有絲分裂期之間，因此時期進行花藥培養可破壞正常之核分裂而使典型之一大一小的營養核及生殖核細胞無法產生，代之而來的是兩個相同性狀及大小的細胞，此種過程的產生，可

能就是胚狀體起源的第一步。

(二)單倍體產生的方式：

由花藥培養而獲得單倍體植物，基本上有兩種方式

- 1 經由癒傷組織而形成單倍體植物 —— 如：水稻、甘藍、蘆筍等作物。
- 2 經由胚狀體形成單倍體植物 —— 即直接由花粉粒產生胚狀體，此方法不但快，且染色體發生變異的情形也較少。這類作物包括菸草、蔓陀蘿等。



基因型 AaBb 產生 AB 配子之機率為 $\frac{1}{4}$ ，經由花藥培養出單倍體，再經由染色體倍加，即可得基因型為 AABB 之植株。故其機率為 $\frac{1}{4} = \left(\frac{1}{2}\right)^2$

同理 若 F₁ 基因型為 AaBbCcDDEeFfGG，希望選拔的基因型是 AABBCcDDeeffGG

與傳統育種法——經由 F₁ 自交，產生之機率為

$$\frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times 1 \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times 1 = \left(\frac{1}{4}\right)^5$$

♀單倍體育種法——選出基因型為 (ABCDefG) 之配子，其機

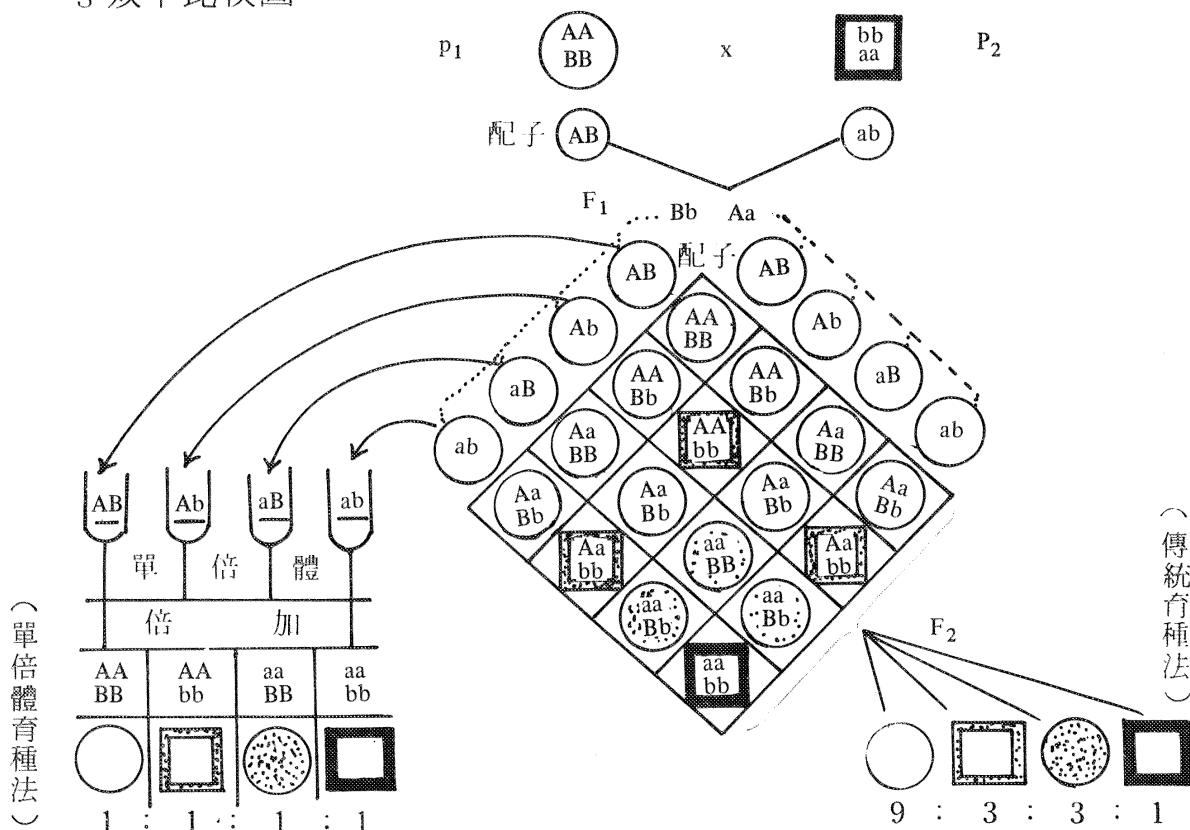
$$\text{率為 } \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times 1 \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times 1 = \left(\frac{1}{2}\right)^5$$

再行染色體倍加即成。

故獲得相同基因型，兩法之效率比為 $\left(\frac{1}{2}\right)^n : \left(\frac{1}{4}\right)^n$

(n : 異型結合子數)

§ 效率比較圖



(2)可克服自花不合和性 (Self-incompatibility) :

對某些因自花不合和，而不能育成純自交系的植物，花藥培養形成單倍體植株的方法，可能是唯一可行的機會。如一年生作物中，許多蔬菜類及果樹方面，如椰子的育種，均利用花藥培養育成純系。

(3)可克服雜種 F_1 之分離：

將 F_1 的花藥培養，獲得單倍體，染色體倍加所得的雙倍體其後代表現的外表型極為一致，故克服了繼續分離及常有不孕性存在之障礙。蓬萊型與在來型水稻之雜交後代即應用之。

(4)較容易選拔：

花藥培養所得之單倍體，可將顯性或隱性致死因子，由最初的培養族羣中去除，省去了許多麻煩。若能在單倍體倍加之前即先行選拔各單倍體系統，對育種工作人員而言，其利益更多。

(5)較容易檢定突變：

由於單倍體各個性狀的表現均代表一個單一因子，故在突變育種的檢定極為方便，每個個體的各種隱性性狀均可被容易的檢查出。

(6)易於做突變育種：

利用花粉來源細胞懸浮液的誘變處理，可提供單倍突變體的產生。一般最常用的是放射線及化學誘變劑的處理兩種方法。

2. 遺傳因子分析之用：

由花藥誘導形成的菸草單倍體植株，其染色體倍加後，所得之雙倍體植株，可做為簡單遺傳分離比之測定。

3. 體細胞雜交之應用：

單倍體的原生質體 (protoplast) 亦提供了同種或不同種作物間體細胞雜交的可行性。如：馬鈴薯與蕃茄單倍原生質體之融合獲得不同作物間之雜交種 pomato 。

4. 無毒素植物體之育成：

由花藥來源癒傷組織所誘得之無性繁殖作物，常有無病毒植物

體之出現。

六、結 論：

- (一)本研究已成功地利用菸草花藥，經由組織培養的技術，培養出單雄生殖之單倍體植物。
- (二)花藥培養在育種上及遺傳研究上，非常重要，相信有朝一日，以花藥培養大量形成單倍體植株，再配合優良誘變劑之處理，在作物品種的改良上，必有重大的突破。

七、參考資料：

- (一)蔡新聲．1980．花藥培養單倍體植物之形成及應用．科學農業 28 卷．
- (二) JENSEN, C.J. 1977. Monoploid Production by Chromosome Elimination.
In: Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture. (Eds. by J. Reinert and Y. P. S. Bajaj.) pp.299 ~ 330. Springer—Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
- (三) Reinert, J. and Y.P.S. Bajaj. 1977. Anther culture: Haploid production and its significance. In: Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture. (Eds. by J. Reinert and Y.P.S. Bajaj) pp.251-267. Springer—Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
- (四) Sunderland, N., G. B. Collins and J.M. Dunwell. 1974. The role of nuclear fusion in pollen embryogenesis of *Datura innoxia* Mill. *Planta* 117: 227 ~ 241.

評語：

研究方法可作為示範教學。