

IR36 及兩三染體系統的核型¹

鍾美珠 吳信淦²

中央研究院植物研究所

(Received October 18, 1986; Accepted February 24, 1987)

中文摘要

國際稻米研究所作出一組稻的三染體，且將其與 IR36 回交，使之具有一致的遺傳背景，定名為 Triplo-1 至 -12 (Khush 等 1984) 本文報導使用 Wu (1967) 的稻粗絲期染色體製備法與 Kurata 等 (1978) 的稻前中期染色體法觀察 IR36 核型的結果，並檢定了 Triplo-1 及 -10 的額外染色體各為第 8 及第 10 對核仁染色體。

IR36 粗絲期及前中期染色體的絕對長度、相對長度及臂率等均經丈量，其數據經多變域測驗或 *t* 測驗的結果列表一及二。比較粗絲期與前中期染色體的相對長度時，較長染色體的相對長度於前中期為長，較短染色體的於前中期為短，且各有三對染色體相對長度的差異為極顯著。就臂率而言，九對染色體前中期的臂率均較其粗絲期的為大，其中四對差異極顯著。

IR36 粗絲期染色體上染色粒的分布以及前中期染色體上異染色質的分布有一定的型式，且兩者有同一趨勢。作者等以異染色質分布多的染色體片段於細胞分裂漸進時的收縮程度較大解釋為何稻前中期多數染色體的臂率較粗絲期的為大以及較短染色體相對長度於前中期較粗絲期的為短的原因。

作者等認為稻核型的分析要觀察較多個可以分析的細胞，並討論可分析細胞中染色體呈現的準則。

Key words: Rice karyotype; trisomics.

一、前言

全球約有一半以上的人口以稻米為主食，但是對於稻的遺傳，我們所知却遠不如玉米、小麥、大麥或是番茄。就以基因連鎖羣而言，Nagao 和 Takahashi 在 1963 年開始着手建立稻的 12 個基因連鎖羣，經多方努力已有相當成果 (Kinoshita, 1984)，但各連鎖羣與染色體間的對應關係仍混淆不明，研究者都認為搭建兩者對應關係最好的工具是全套相互轉座系統或是初級三染體，這也是第一次水稻遺傳及細胞遺傳研討會 (Symposium on Rice Genetics and Cytogenetics, IRRI, 1963) 所擬定的主要工作指標。

事實上，在 1975 年以前，水稻已有完整的轉座系統 (Nishimura, 1961) 和初級三染體系統 (Ramanujam, 1937; Yunoki & Masuyama, 1945; Karibasappa, 1961; Katayama, 1963; Sen, 1965; Hu, 1968; Iwata, Omura & Nakagahara, 1970 及 Watanabe & Koga 1975)，但僅止於外表形態的觀察，並沒有更進一步以細胞學證據辨識其染色體組成。Iwata 和 Omura (1971a, b) 以及 Sato (1973) 曾使用 Nishimura (1961) 的各轉座系統分析連鎖羣，但因該等

¹ 本文為中央研究院植物研究所研究報告，編號 332。

² 國立臺灣大學農藝學研究所博士班學生及中央研究院植物研究所研究員。

染色體的命名是依據其被檢定的次序，所建立的對應關係不是最自然合理的。細胞遺傳學上慣用的染色體命名體系是由長而短依序排列，最長者編號為 1，次長者編為 2，如此長度遞減而編號遞增；染色體長度（全長、臂長）以及異染色質的分布等均是識別染色體的最基本數據。

據 Nayar (1973) 記載，Kuwada 在 19 世紀初確定稻的染色體數目為 $2n=24$ 之後，許多學者參與稻核型之研究，但因稻體細胞染色體甚小，製作不易，核型分析沒有什麼結果。Shastry, Ranga Rao 及 Misra (1960) 曾定出稻粗絲期染色體的核型，另有多位學者也利用粗絲期染色體做核型研究，(Shastry & Misra, 1961; Sen, 1963; Shastry, 1964; Katayama, 1966a, 1966b; Misra & Shastry 1967; Ranganadhacharyulu & Yesoda, 1974; Khan, 1975; Reddi, 1977 及 Dolores, Chang & Ramirez, 1979)；但粗絲期染色體中節位置往往不易辨識，欠缺染色粒等標記，稻細胞遺傳的研究又停滯不前。後來 Wu (1967) 在技術上有所突破，先使花粉母細胞過份染色，再充分清洗後經溫火加熱使細胞膨大，可得到粗絲期染色體染色分明、散開良好的細胞。稻的若干相互轉座系統曾以此技術定出各系統轉座點的位置及轉座片段的長度，並以此釐訂第 VIII 連鎖羣之懶散株基因 (1a) 位於第三對染色體上 (Chen, Lai, Hwang, Chung & Wu, 1982)。

稻體細胞分裂中期染色體的製作遲至晚近才獲得成功。Kurata 和 Omura (1978) 利用 DNA 鹽基類似物前處理使根端細胞分裂部份同步化後，以酵素軟化，配合火焰乾燥法，得到體細胞分裂前中期染色體，最長染色體的長度可達 8μ ，且形態清晰，中節易辨。彼等曾以此技術來確認稷稻三染色體的額外染色體，效果不錯 (Kurata, Iwata & Omura, 1981)。

Khush, Singh, Sur 及 Librojo (1984) 也建立了一套稷稻初級三染色體系統，並以回交方法轉移成以 IR36 為主的遺傳背景。他們以 Shastry 等 (1960) 所定的稻粗絲期染色體核型為依據，比對各三染色體系統的三價體形態而檢定其額外染色體，因有半數三染色體尚未能確定其額外染色體為何，作者等嘗試利用已確定的技術 (Wu, 1967; Kurata 等 1978) 檢定同一套三染色體系統的染色體組成，本文先報導 IR 36 及其兩個三染色體系統的觀察結果。

二、材料與方法

本實驗材料為國際稻米研究所 (IRRI) Khush 博士所贈的 IR36 及其編號為 Triplo-1 至 -12 的一組三染色體系統。1983~1986 種於南港中央研究院植物所水泥栽培槽中。取花粉母細胞正行減數分裂的幼穗固定（固定液為 3 份酒精、1 份醋酸加 0.5% 氯化鐵），先觀察肥厚期，確定其為三染色體者，保存其幼穗，留作粗絲期染色體分析用，並收種子做根端細胞的前中期染色體分析。

前中期染色體的製備是依 Kurata (1978) 的方法，且以 1/15 M 磷酸緩衝液 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O} + \text{KH}_2\text{PO}_4$, pH=6.8) 配製的 5% 吉氏液 (Giemsa, Merck) 染色，風乾後封片照相，放大成 2,560 倍相片，次將各染色體剪下、配對、排列，再用 Logitec digitizer (Mypad-A3, model K-510) 與 NEC-9801 個人電腦連線丈量染色體長度，並作統計分析。

三、結 果

由於所用的兩個三染色體系統都經過多次回交至 IR 36 品種，故首先觀察此品種的核型，作為檢定此兩三染色體額外染色體的基礎。

(一) IR36 的粗絲期染色體

IR 36 粗絲期染色體的絕對長度由 25 個可以分析的細胞平均所得，最長的為 38.50μ ，最短的

為 16.8 μ 。相對長度最長的為 13.58%，最短的為 5.68%，但第 8、9 對間、第 10、11 對間的差異不顯著（表一）。長短臂的臂率以 1.17 為最低，2.93 為最高（表二）。根據此值及 Levan (1964) 的分類標準，可將第 2、5、6、9、11 及 12 各對歸為中央中節染色體，第 1、3、4、7、8 及 10 各對歸為次中央中節染色體。

各粗絲期染色體上染色粒的分布主在中節兩側，但其疏密及所在的片段有所不同。就顯明的染色粒而言，第 1、2 及 3 各對僅在中節兩側有少數染色粒。第 4、8 及 10 各對短臂幾全被顯明的染色粒所布滿。第 6、9 兩對的染色粒散布在居中的 1/3 片段上，但以後者的較為顯明且緊密。第 5、7 兩對染色粒分布在靠短臂的 1/3 片段上；前者只有少數染色粒，後者的却特別顯明。第 11 對的染色粒均勻地分布在中節的兩側。第 12 對的主要分布在短臂，又第 2 對的短臂及第 7、10 及 12 對的長臂均有一末端染色粒（圖 1）。

IR36 與其他品種不同，有兩對核仁染色體。若依染色體的長短排列，則分屬第 8 及第 10 兩對。這兩對核仁染色體各以其短臂的末端連接於核仁。與核仁相連的一端有較大且密的染色粒分布，延伸至染色體全長的 1/3 處，包括短臂在內，故此兩短臂的染色均較深。據以區別此兩對核仁染色體的特徵是長短及其臂率。第 8 對的臂率大，第 10 對的臂率小（圖 2 A, B, C, D）。

表 1. IR36 粗絲期及體細胞分裂前中期染色體的實測長度 (μ) 和相對長度 (佔總長度之百分率)

Table 1. Length measured in micron and relative length (in percent of total length) of IR36 pachytene and somatic prometaphase chromosomes

No.	Pachytene (25 cells)				Prometaphase (35 cells)				<i>t</i> for relative length (df=58)
	Absolute length (μ)		Relative length (%)		Absolute length (μ)		Relative length (%)		
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
1	38.50	9.03	13.58	0.87	6.44	1.54	13.81	0.97	0.95
2	35.97	5.01	12.15	0.74	5.75	1.51	11.70	0.93	2.01*
3	32.25	4.40	10.82	0.78	5.37	1.33	11.12	0.75	1.50
4	26.20	3.36	8.80	0.54	4.28	0.80	9.16	0.45	2.86**
5	24.12	3.35	8.06	0.37	4.17	1.03	8.71	0.50	5.51**
6	22.84	2.96	7.59	0.35	3.81	1.04	7.91	0.41	3.20**
7	21.48	2.73	7.19	0.31	3.55	0.95	7.26	0.60	0.54
8 ⁿ	20.34	2.59	6.82	0.37	3.12	0.76	6.69	0.32	1.46
9	19.97	2.70	6.70	0.38	3.07	0.63	6.51	0.51	1.56
10 ⁿ	19.03	2.26	6.39	0.37	2.92	0.52	6.02	0.47	3.25**
11	18.51	2.43	6.21	0.37	2.65	0.56	5.79	0.49	3.56**
12	16.68	2.41	5.68	0.39	2.53	0.56	5.33	0.42	3.33**

n 核仁染色體。 SE 標準偏差。 *t* 粗絲期與前中期染色體相對長度差異之 *t* 值。

*, ** 分別為達 5% 和 1% 差異顯著水準。

垂直線表示以鄧氏新多變域測驗其間差異未達 1% 顯著水準。

n-Nucleolar chromosome SE-Standard error

t-value for difference in relative length between pachytene and prometaphase.

*, ** Significant at 5% and 1% levels, respectively.

Vertical bar shows that the difference in relative length is not significant (at 1% level) after Duncan's new multiple range test.

表 2. IR36 粗絲期及前中期染色體依長短次序編號後的臂率觀察值
 Table 2. Arm ratios observed in IR36 pachytene and somatic prometaphase chromosomes numbered according to the descending order of length

No.	Pachytene (19-22 cells) ^a		Prometaphase (16-22 cells) ^a		<i>t</i> (df=33) ^a
	Mean	SE	Mean	SE	
1	1.79	0.28	1.81	0.26	0.23
2	1.17	0.15	1.28	0.18	2.00
3	1.93	0.49	1.88	0.28	0.36
4	2.93	0.60	3.72	0.46	4.29**
5	1.57	0.36	1.78	0.22	2.00
6	1.35	0.31	1.21	0.15	1.67
7	2.12	0.58	1.95	0.33	1.04
8 ⁿ	2.44	0.62	3.05	1.15	2.00
9	1.32	0.19	1.39	0.15	1.27
10 ⁿ	1.69	0.44	2.88	0.87	5.22**
11	1.31	0.28	1.79	0.27	5.05**
12	1.21	0.12	1.38	0.22	3.09**

n 核仁染色體。 SE 標準偏差。 *t* 粗絲期與前中期差異之 *t* 值。

*, ** 分別為達 5% 和 1% 差異顯著水準。

^a 丈量數目依染色體而異，以最小值作 *t*-值測驗。

n-Nucleolar chromosome SE-Standard error

t-value for difference between pachytene and prometaphase.

*, ** Significant at 5% and 1% levels, respectively.

^a-Number of measurements differed according to chromosomes. Smallest numbers were used in *t* test.

(二) IR 36 的前中期染色體

此品種前中期染色體的平均絕對長度最長的為 6.44μ ，最短的為 2.53μ ；平均相對長度最長與最短的各為 13.81% 及 5.33%，且第 2、3 對間，第 8、9 對間及第 10、11 對間無顯著差別。以前中期各對染色體相對長度與粗絲期同對染色體的比較時，六對間的 *t* 值有極顯著差異（表 1）。雖則如此，兩者之間的相關係數值仍高達 + 0.995。長短臂的臂率在 1.21 與 3.72 之間，除第 3、6 兩對的值較粗絲期的為小外，其餘十對的值均較粗絲期的為大，且以第 4、8、11 及 12 各對間的差異極顯著（表 2）。將染色體依其中節位置區分，則可將第 2、6、9 及 12 各對歸為中央中節，第 1、3、5、7、10 及 11 各對為次中央中節，而第 4、8 兩對為次末端中節。

各對染色體中節的兩側均有異染色質分布，但第 4、8 及 10 各對短臂幾全為異染色質構成，第 12 對短臂也有較多的異染色質（圖 3）。此現象與粗絲期各對相當染色體短臂上染色粒分布的緊密程度一致（比較圖 1 及 3）。

依染色體的長短順序排列時，前中期第 8、10 兩對為核仁染色體，以其短臂末端與核仁相連（圖 3, 4A）。在有些視角良好的細胞內，可見核仁染色體短臂末端介由兩股細絲及細絲末端的染色粒與核仁相連（圖 4B）。此兩對核仁染色體可由其長短、臂率大小及異染色質的分布區別之。如表二所記，第 8 對的臂率為 3.05，第 10 對的為 2.88。又前者的異染色質分布以中節靠長臂的一側較多，後者則中節兩側的分布幾相等（圖 3, 4A, B）。

(三) 三染體系統 Triplo-1 的檢定

從 Triplo-1 自交種子繁殖的後代中， $2n+1$ 個體較其 $2n$ 個體矮小，分蘗較少、散生、抽穗較晚； $2n$ 個體的形態與抽穗期則近 IR 36。減數分裂肥厚期可觀察到 $2n+1$ 個體的核仁上有二價體及三價體各一個（圖 5B）。丈量 28 個可分析的根端細胞前中期染色體之後，發現各對染色體的長度、臂率與 IR36 的相似。各染色體異染色質的分布（圖 6, 7A）。也與 IR36 的相似。此系統的 $2n+2$ 個體有四條第 8 對、2 條第 10 對核仁染色體（圖 7B）。因此，判定 Triplo-1 的額外染色體為第 8 對核仁染色體。

(四) 三染體系統 Triplo-10 的檢定

Triplo-10 自交後代中， $2n+1$ 個體與 $2n$ 個體在抽穗前不易分辨，抽穗均較 IR36 早了許多，但 $2n+1$ 個體的種子較瘦長。 $2n+1$ 個體減數分裂肥厚期的核仁上經常附着一個二價體和三個單價體（圖 5A）。丈量 19 個可分析的根端細胞的前中期染色體顯示各對染色體長度、臂率等都與 IR36 的相似，但第 8 對的平均絕對長度 (4.08μ) 較第 9 對的 (4.15μ) 略短；相對長度也然。由於分析的細胞中有 10 個細胞的第 8 對染色體較第 9 對為長，且第 9 對長度的變異係數 (40.00) 較第 8 對的 (21.57) 為大，故仍將平均長度略短的列為第 8 對。雖然如此，並不影響從長度、臂率及異染色質的分布判定此三染體系統的額外染色體為第 10 對核仁染色體（圖 8, 9A）。又 $2n+2$ 個體中有二條第 8 對、四條第 10 對核仁染色體（圖 9B），更足以證明 Triplo-10 的額外染色體為第 10 對核仁染色體。

四、討 論

自從 Kurata (1978) 發表稻根端細胞前中期染色體製備方法之後，稻核型的分析在製作粗絲期染色體 (Wu, 1967) 之外，又多了一種方法。本文以此兩種方法分析 IR36 品種的核型，得知無論在粗絲期或前中期，其 12 對染色體均可藉長度、臂率及染色粒或異染色質的分布而區別之。通常，單獨一種方法已經足夠。兩種方法並用 (其 $r = +0.995$)，將所得結果相互校核，則更為精確。

所用的兩三染體系統，Triplo-1 及 -10，因都具有核仁染色體，故只用前中期法檢定之。Triplo-1 的額外染色體屬於第 8 對核仁染色體，Triplo-10 的則為第 10 對核仁染色體。此結果的後半與 Khush 等 (1984) 的相同，前一半的則有差別；彼等檢定 Triplo-1 的額外染色體為第 1 對染色體。本文所用的材料為 Triplo-1 系統 $2n+1$ 個體的後代，該 $2n+1$ 個體矮小，分蘗少、抽穗晚，染色體數目為 25；曾連續栽種四季，每季均有 $2n+1$ 個體出現，且保持其矮小、分蘗少、抽穗晚等特性。從 $2n+1$ 個體所收種子觀察其根端細胞，則發現各種子的染色體組成為 $2n$, $2n+1$ 或 $2n+2$ ，而後兩種個體的額外染色體均各為一條或二條第 8 對核仁染色體。如此，由於種子混雜的可能性不大。另一種原因可能是該三染體在某一階段體細胞分裂時因染色體的不平衡而引發另一對染色體不分離，結果形成一鑲嵌體；由此鑲嵌體所結的穗有的仍保持其額外染色體為第 1 對染色體，有的却改變為第 8 對核仁染色體，而我們從國際稻米研究所取得的種子可能就是來自額外染色體已改變為第 8 對的穗。稻三染體後代中出現鑲嵌體現象，Sur (1975) 曾有報告。此外 Burnham (1962) 曾以三染體植株個體生理上的改變影響染色體的正常分離解釋 Datura 三染體自交後代中新三染體的出現。

稻染色體從細胞分裂的前中期到中期漸漸收縮，異染色質也常因此合併 (Kurata 等, 1981; Chen & Wu, 1982)。本文結果顯示 IR36 四對染色體前中期的臂率顯著地大於其粗絲期的 (表 2)，此可能由於這四對染色體 (第 4、10、11 及 12) 的短臂與其他各對比較有較多異染色質的分

布(圖3)。當染色體因細胞分裂的漸進而收縮時,不僅異染色質相互合併,其間的眞染色質也收縮,短臂的收縮程度因此較長臂爲大,最後於前中期形成較大的臂率。

稻嘉農 242 號十二對染色體的絕對長度於早粗絲期合計爲 443 μ , 於晚粗絲期則爲 314 μ , 早晚粗絲期的長度相差達 29% (Chen *et al.*, 1982); 此乃稻染色體因細胞分裂的進行而收縮。一細胞內各對染色體的收縮程度似應一致。如果確爲一致, 則彼等於前中期的相對長度應與其粗絲期的無別。表一所列結果與此不合。六對較長染色體(第 1 對至第 7 對, 不含第 2 對)的相對長度於前中期較長, 其中三對差異極顯著; 六對較短染色體(第 8 至第 12 對, 另加第 2 對)的前中期較短, 也有三對爲極顯著差異。此可能由於染色粒的分布而引起。染色粒不易正確計數, 但其分布的態勢可與異染色質的分布相提並論。比較圖 1 與圖 3, 可知各對染色體染色粒於粗絲期的分布與其異染色質於前中期的分布一致。細察圖 1 知 IR36 的十二對染色體中較長六對的異染色質分布相對的比較短五對的爲少。據此或可推論染色粒多的染色體其收縮程度較大, 相對長度因此較小; 反之亦然。第 4 對染色體長臂具較少染色粒, 且其長臂的長度約爲短臂的三倍, 故收縮程度較小因而前中期的相對長度較其粗絲期的爲長。

所謂可分析的細胞, 無論粗絲期或前中期, 是指染色體染色分化良好, 分散、平整、不扭曲、不拉長等等。染色分化良好可清晰地讀出染色粒, 異染色質以及中節的所在位置。稻染色體的中節用 Wu (1967) 粗絲期技術製作時不很明顯, 用 Kurata 等 (1981) 的技術時則明顯, 但後者不易得到染色體散開良好的細胞。染色體的完全分散在前中期比較容易做到; 粗絲期的則不然, 如能做到以目視讀出每對染色體的走勢已是上好的、可分析的細胞。染色體的平整與否影響到十二對粗絲期染色體能否在同一焦距平面上, 染色深的染色粒在不同焦距平面時常被誤讀爲眞染色體片段; 對前中期的影響則不嚴重。相反的, 扭曲不十分影響粗絲期染色體的判讀; 但對前中期則不然, 例圖 3 中第 2 對左、第 5 對右、第 7 對左及第 9 對左各條染色體都有扭曲, 好在同對中的另一條保持正常。拉長無論在粗絲期或前中期都嚴重影響其眞實長度; 粗絲期的任何一對染色體在製作過程中都有被加熱的醋酸及加於蓋玻片的壓力等拉長的可能, 前中期的則多限於核仁染色體(圖 4A)。如此, 要得到一個十全十美, 可分析的細胞, 不是十分容易的事, 但目前究竟已屬可能。

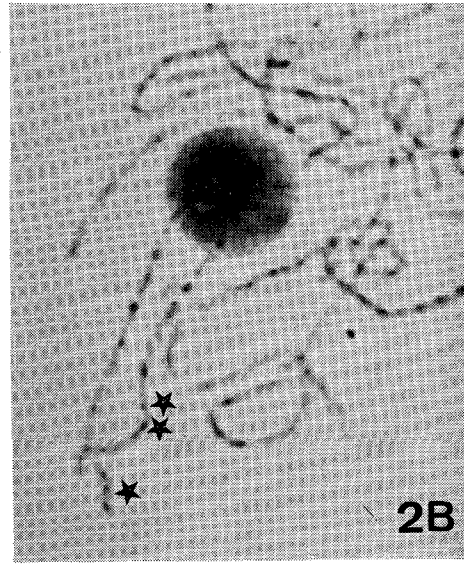
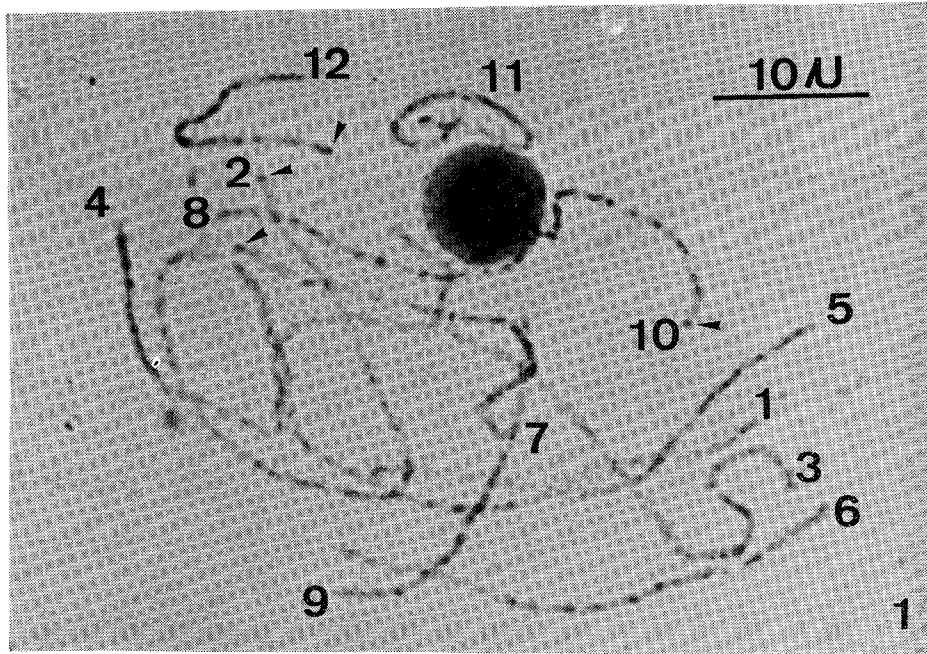
圖 版 說 明

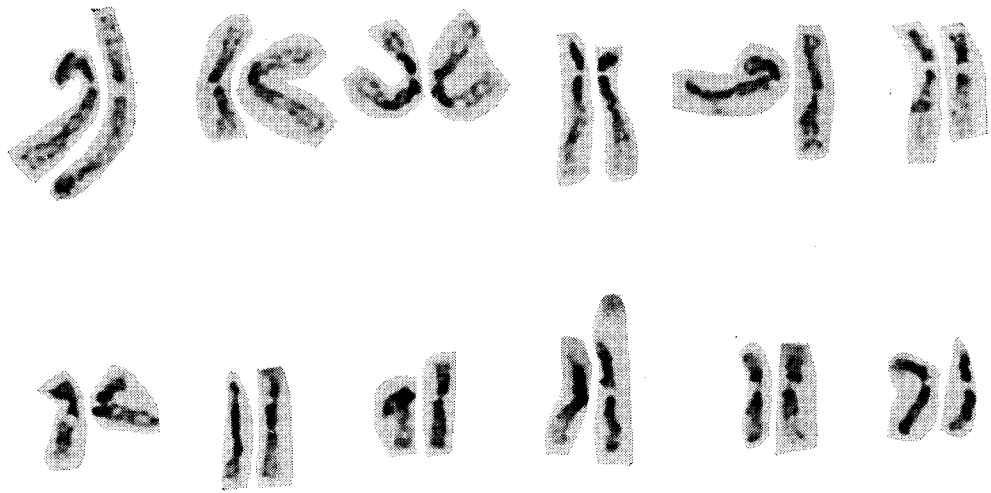
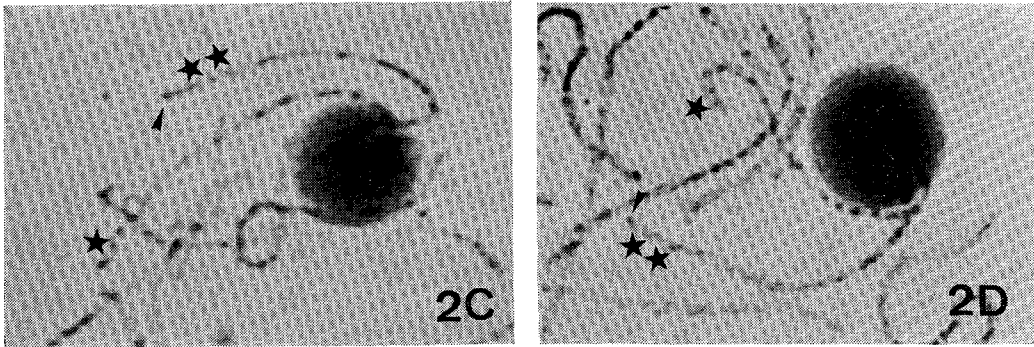
所有圖片的倍率均相同, 爲 2560 \times 。圖 1 中的比例尺爲 10 μ 。

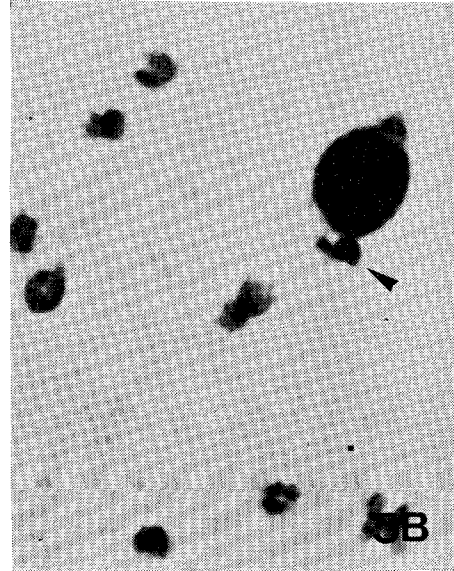
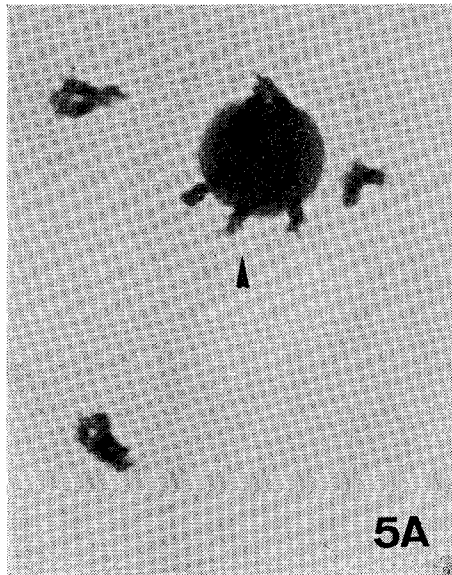
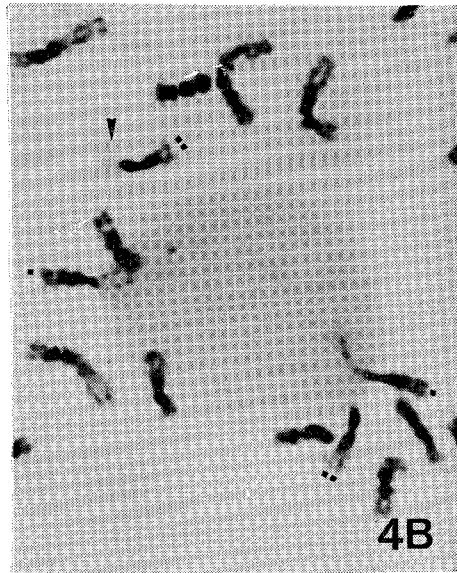
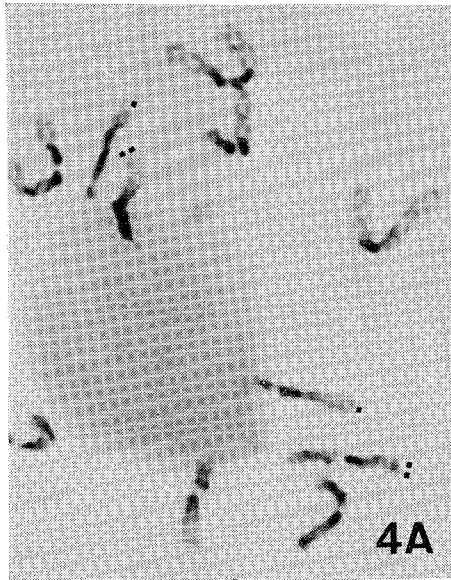
All figures are shown in same magnification. The scale shown in Fig. 1 is 10 μ .

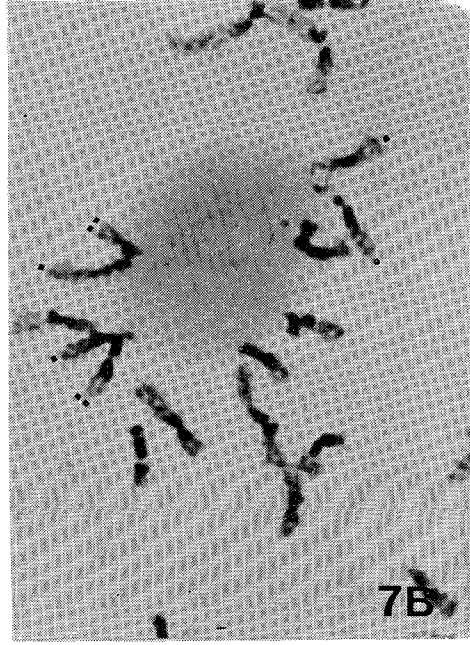
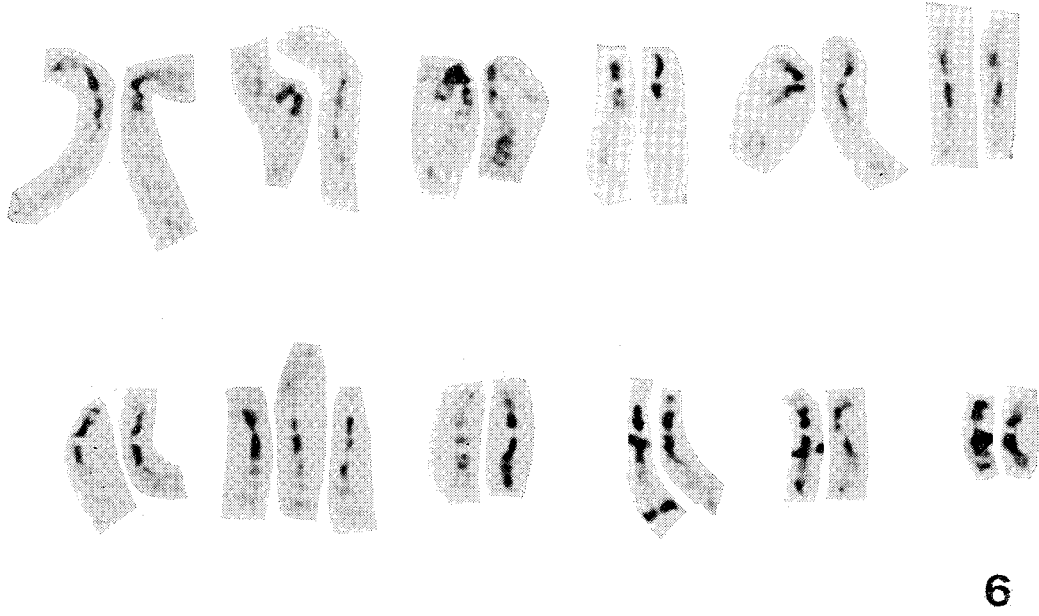
1. IR36 的 12 對粗絲期染色體, 編列爲第 1~12 對。序號均置於各對染色體的短臂端附近, 第 8、10 兩對例外, 在長臂端。圖示各對染色體上染色粒的分布及第 2 對短臂, 第 7、10 及 12 對長臂的末端染色粒(箭頭)。
1. Pachytene chromosomes from a PMC of cultivar IR36, numbered in the descending order of length. The number of each is labeled at the end of short arm, except that of no. 8 and 10, labeled at the end of long arm. Note the chromomere distribution pattern of each chromosome and the telomere (arrow head) at the end of chromosome no. 2, 7, 10 and 12.
- 2A-D. IR36 的兩對核仁染色體, 第 8 (*) 及第 10 (**) 對。示核仁染色體短臂末端與核仁相連 (2B, C 及 D)。2A 爲位差視野, 其與核仁相連的染色質細絲及染色粒清晰可見。2C 及 2D 中, 第 10 對末端可見其染色粒(箭頭)。
- 2A-D. The two pairs of nucleolar chromosomes, no. 8 (*) and 10 (**) of IR36. The attachment with their short arm end to the nucleolus is disclosed (2B, C & D). 2A shows the apparatus for attachment composed of a pair of the chromonema string and a pair of end chromomere. Arrow head denotes telomere.

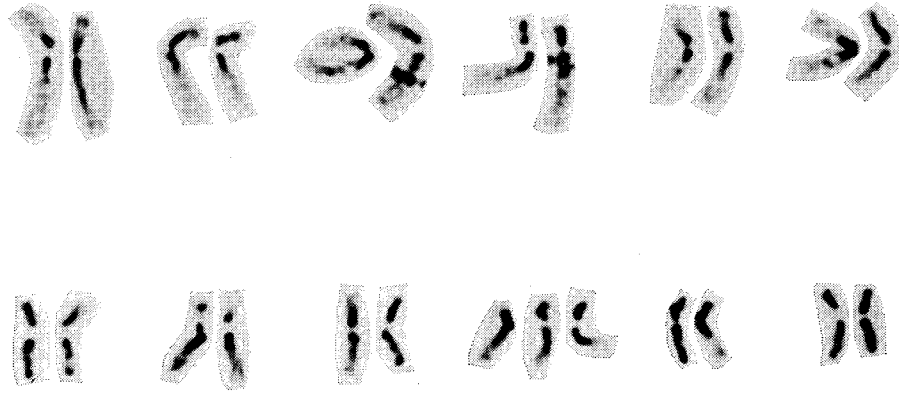
3. IR36 的前中期染色體依長短次序自左至右排列，上列爲染色體 1~6，下列爲 7~12。圖示各對染色體中節位置及異染色質的分布，第 8、10 兩對爲核仁染色體。
3. Karyotype of the cultivar IR36. Twelve pairs of prometaphase chromosomes arranged in the descending order of length, from left to right, from upper row (no. 1-6) to lower row (no. 7-12). The heterchromatin distribution pattern of each pair is specific. Chromosome 8 and 10 are nucleolar chromosomes.
- 4A. IR36 的兩對核仁染色體，第 8 對 (•) 與第 10 對 (••)；取自與圖 3 的同一細胞，示其與核仁相連接的態勢，其中兩條染色體顯曾被拉長。
- 4B. Triplo-1 的 $2n$ 個體的兩對核仁染色體，第 8 對 (•) 與第 10 對 (••)；以兩股染色質細絲與末端染色粒使第 8 對染色體短臂與核仁相連。小核仁 (箭頭) 上有一條第 10 對染色體。
- 4A. A nucleolus picked up from a picture used in Fig. 3 showing the attachment of chromosome 8 (•) and 10 (••) to it with their short arms. Note the stretch of two nucleolar chromosomes.
- 4B. A nucleolus obtained from a sib $2n$ plant of triplo-1 progeny, showing two pairs of chromosomes, 8 (•) and 10 (••) attached to two nucleoli, one large and one small (arrow head).
- 5A, B. Triplo-1 肥厚期核仁上有一個二價體及一個三價體 (5B)。Triplo-10 肥厚期核仁上有一個二價體及三個單價體 (5A)。
- 5A, B. Nucleolus at diakinesis, showing one bivalent and one trivalent attached to the nucleolus of Triplo-1 (5B); one bivalent and three univalent to the nucleolus of Triplo-10 (5A).
6. Triplo-1 前中期的核型，排列方式如圖 3。25 條染色體中有三條第 8 對染色體及二條第 10 對染色體，後者顯然曾略有拉長。
6. Karyotype of the Triplo-1. Twenty five chromosomes including three chromosome 8 and two chromosome 10 of a $2n+1$ plant of this trisomic line. Note that chromosome 10 shown here had been a little stretched. Chromosome 8 and 10 are nucleolar chromosomes.
- 7A, B. Triplo-1 系統後代的 $2n+1$ 個體，有三條第 8 對 (•)，一條第 10 對 (••) 染色體附着於核仁上，另一條第 10 對 (••) 在核仁附近 (7A)。核仁圖片與圖 6 的相同。
- 同系統後代的 $2n+2$ 個體有四條第 8 對 (•)，二條第 10 對 (••) 染色體附着於核仁 (7B)。
- 7A, B. A nucleolus picked from a picture used for Fig. 6 showing two chromosome 8 (•) and one chromosome 10 (••) attached to it; one chromosome 10 (••) near to it (7A).
- A nucleolus from a sib $2n+2$ plant in the progeny of Triplo-1 showing that it has six nucleolar chromosomes, four chromosome 8 (•) and two chromosome 10 (••) (7B).
8. Triplo-10 系統的核型。廿五條染色體中有三條爲第 10 對，二條爲第 8 對染色體。
8. Karyotype of Triplo-10 at prometaphase, showing that a $2n+1$ plant of this line has two chromosome 8 and three chromosome 10. Chromosome 8 and 10 are nucleolar chromosomes.
- 9A, B. Triplo-10 系統 $2n+1$ 個體的四條染色體與大核仁相連，另一條與小核仁 (箭頭) 相連；其中二條屬第 8 對 (•)，三條屬第 10 對 (••) (9A)。圖片來源與圖 8 的相同。
- Triplo-10 系統 $2n+2$ 個體的五條染色體與核仁相連，其中二條屬第 8 對 (•)，三條屬第 10 對 (••)，另一條第 10 對的在核仁附近。
- 9A, B. Two nucleoli detached from a picture used in Fig. 8. Note the attachment of two chromosome 8 (•) and two chromosome 10 (••) to the large nucleolus, one chromosome 10 (••) to the small one (arrow head) (9A).
- A nucleolus from a sib $2n+2$ plant of Triplo-10 showing that there are six nucleolar chromosomes, two chromosome 8 (•) and four chromosome 10 (••) (9B).



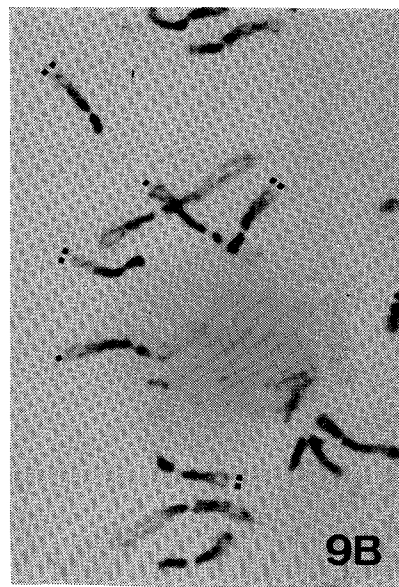
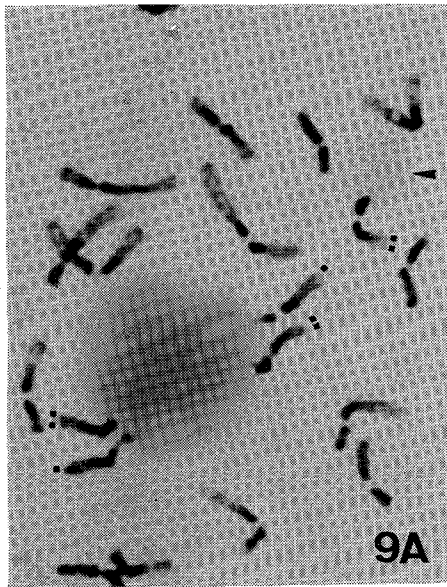








8



參 考 文 獻

- Burnham, C.R. 1962. Discussions in Cytogenetics. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota.
- Chen, J.T., H.C. Lai, Y.H. Hwang, M.C. Chung, and H.K. Wu. 1982. Identification of rice reciprocal translocation and the location of lazy gene. Bot. Bull. Acad. Sinica 23: 71-87.
- Chen, Y.J. and H.K. Wu 1982. A comparison of karyotypes among six *Oryza* species. Bot. Bull. Acad. Sinica 23: 163-183.
- Dolores, R.C., T.T. Chang, and D.A. Ramirez. 1979. The cytogenetics of F₁ hybrids from *Oryza nivara* Sharma et Shastry x *O. sativa* L. Cytologia 44: 527-540.
- Hu, C.H. 1968. Studies on the development of twelve type of trisomics in rice with reference to genetic study and breeding programme. J. Agr. Ass. China, New Ser. 63: 53-71.
- Iwata, N., T. Omura, and M. Nakagahara. 1970. Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L.) I. Morphological classification of trisomics. Jpn. J. Breed. 20: 230-236.
- Iwata, N. and T. Omura. 1971a. Linkage analysis by reciprocal translocation method in rice plants (*O. sativa* L.) I. Linkage groups corresponding to the chromosome 1, 2, 3 and 4. Jpn. J. Breed. 21: 19-28.
- Iwata, N. and T. Omura. 1971b. Linkage analysis by reciprocal translocation method in rice plants (*O. sativa* L.) II. Linkage groups corresponding to the chromosome 5, 6, 7, 8, 9, 10 and 11. Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ. 25: 137-153.
- Karibasappa, B.K. 1961. An auto-triploid of rice and its progeny. Curr. Sci. 30: 432-433.
- Katayama, T. 1963. Study on the progenies of autotriploid and asynaptic rice plants. Jpn. J. Breed. 13: 83-87.
- Katayama, T. 1966a. Cytogenetical studies of the genus *Oryza*. 2. Chromosome pairing in the interspecific hybrid with ABC genome. Jpn. J. Genet. 41: 309-316.
- Katayama, T. 1966b. Cytogenetical studies on the genus *Oryza*. 3. Chromosome pairing in the interspecific hybrid with the ACD genome. Jpn. J. Genet. 41: 317-324.
- Khan, S.H. 1975. A techniques for staining rice chromosomes. Cytologia 40: 595-598.
- Khush, G.S., R.J. Singh, S.C. Sur, and A.L. Librojo. 1984. Primary trisomics of rice: Origin, morphology, cytology and use in linkage mapping. Genetics 107: 141-163.
- Kinoshita, T. 1984. Gene analysis and linkage map. In S. Tsunoda and N. Takahashi (eds), Biology of Rice. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Elsevier, Amsterdam, pp. 187-274.
- Kurata, N. and T. Omura. 1978. Karyotype analysis in rice. I. A new method for identifying all chromosome pairs. Jpn. J. Genet. 53: 251-255.
- Kurata, N., N. Iwata, and T. Omura. 1981. Karyotype analysis in rice. II. Identification of extra chromosomes in trisomic plants and banding structure on some chromosomes. Jpn. J. Genet. 56: 41-50.
- Kurata, N., T. Omura, and N. Iwata. 1981. Studies on centromere, chromomere and nucleolus in pachytene nuclei of rice, *Oryza sativa*, microsporocytes. Cytologia 46: 791-800.
- Levan, A., K. Fredga, and A.A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Misra, R.N. and S.V.S. Shastry. 1967. Pachytene analysis in *Oryza*. VIII. Chromosome morphology and karyotypic variation in *O. sativa*. Indian J. Genet Plant. Breed. 27: 349-368.
- Nagao, S. and M. Takahashi. 1963. Genetical studies on rice plant. XXVII. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 53: 72-130.
- Nayar, N.M. 1973. Origin and cytogenetics of rice. Adv. Genet. 17: 153-292.
- Nishimura, Y. 1961. Studies on the reciprocal translocation in rice and barley. Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. Jpn. Ser. D9: 171-235.
- Ramanujam, S. 1937. Cytogenetical studies in the *Oryzae*. II. Cytogenetical behavior of an auto-triploid in rice (*Oryza sativa* L.) J. Genet. 35: 183-221.
- Ranganadhacharyulu, N. and A. Yesoda Raj. 1974. Pachytene analysis in an interspecific hybrid *Oryza punctata* Kotschy ex Steud x *O. eichingeri* A. Peter. Cytologia 39: 233-243.
- Reddi, V.R. and T.V.V. Seetharami Reddi. 1977. Chromosome pairing at pachytene and meiosis in autotetraploid rice. Cytologia 42: 189-196.

- Sato, S., T. Kinoshita, and M. Takahashi. 1973. Linkage analysis of rice plant, by the use of Nishimura's reciprocal translocation lines. Genetical studies on rice plant, LIV. Memo. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 8: 367-376.
- Shastry, S.V.S. 1964. A new approach to the study of rice karyomorphology. In Proc. Symposium on Rice Genetics and Cytogenetics. 1963, IRRI Lõs Baños, Philippines.
- Shastry, S.V.S., D.R. Ranga Rao, and R.M. Misra. 1960. Pachytene analysis in *Oryza*. 1. Chromosome morphology in *Oryza sativa*. Indian J. Genet. Plant Breed. 20: 15-21.
- Shastry, S.V.S. and R.N. Misra. 1961. Pachytene analysis in *Oryza*. Sterility in *japonica-indica* rice hybrids. Chromosoma (Berlin) 12: 248-271.
- Sen, S.K. 1965. Cytogenetics of trisomics in rice. Cytologia (Tokyo) 30: 229-238.
- Sur, S.C. 1975. Identification and cytogenetic studies of primary trisomics in rice (*Oryza sativa* L.). Ph.D. thesis, Univ. of the Philippines.
- Watanabe, Y. and Y. Koga. 1975. Cytogenetics studies on rice and its wild relatives. II. Genetic and cytogenetic studies on the trisomic plants of rice, *Oryza sativa* L. Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. Ser. D. 26: 92-138.
- Wu, H.K. 1967. Note on preparing of pachytene chromosomes by double mordant Scientific Agriculture 15: 40-44. (in Chinese, with Eng. summary)
- Yunoki, T. and Y. Masuyama. 1945. Investigation on the later generations of autotriploid rice plants. Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ. 11(2-3): 182-216.

KARYOTYPE ANALYSIS OF IR36 AND TWO TRISOMIC LINES OF RICE¹

MEI-CHU CHUNG and HSIN-KAN WU²

*Institute of Botany, Academia Sinica
Nankang, Taipei, Taiwan 11529, Republic of China*

Karyotype analysis of IR36 was performed through the use of techniques of pachytene chromosome (Wu, 1967) and of prometaphase chromosome (Kurata *et al.*, 1978). Twelve pairs of IR36 chromosomes were numbered from 1 to 12 according to their absolute length, relative length (Table 1), long/short arm ratio (Table 2), distribution pattern of chromomeres (Fig. 1) and of heterochromatin (Figs. 3 and 4A). Chromomeres are generally located at two flanks of centromere. The short arms of chromosome 4, 8 and 10 are however, composed largely of chromomeres. The middle one third segment of chromosome 9 and the one third segment of chromosome 7 including most part of its short arm has dark, prominent chromomeres. Telomere can be seen at short arm of chromosome 2 and at long arm of chromosome 7, 10 and 12. Heterochromatin distribution at prometaphase has a tendency similar to chromomere pattern at pachytene (cf Figs. 1 and 3). Contrary to the most common one pair, IR36 has two pairs of nucleolar chromosomes, i.e. no. 8 and 10. Both of these are attached to the nucleolus (Figs. 2 A, B, C and D) via a pair of fine chromonema strings and a pair of large, end chromomeres (Fig. 2A). Such connecting apparatus can also be noted at prometaphase (Figs. 4B, 7A, 7B and 9B).

To explain the significantly shorter relative length of chromosome 10, 11 and 12 at prometaphase compared with that of those corresponding chromosomes at pachytene (Table 1), a theory of differential condensation of chromosome segment was sought. It was supposed that chromosome segment carrying much chromomeres has a higher degree of condensation during cell division. This could also be true in the case of significantly larger arm ratio of chromosome 4, 10, 11 and 12 at prometaphase (Table 2).

The karyotype of Triplo-1 and -10 was found to be similar to that of IR36 except one chromosome extra. Identification of the extra chromosomes was based on the one trivalent or three univalents appeared at diakinesis (Fig. 5A and B), the lengths, arm ratio and heterochromatin distribution pattern of prometaphase chromosomes (Figs. 6, 7A, 8 and 9A), also the morphology of the extra chromosomes in the sib $2n+2$ plants (Figs. 7B and 9B). Then, the extra chromosome in

¹ Paper No. 332 of the Scientific Journal Series, Institute of Botany, Academia Sinica.

² Ph D Student of the Graduate Institute of Agronomy, National Taiwan University and Research Fellow of the Institute of Botany, Academia Sinica, Respectively.

Triplo-1 and -10 was figured out as the nucleolar chromosome 8 and 10, respectively. The discrepancy raised in identifying Triplo-1 between Khush *et al.* (1984) and the writers was explained due to the possible mosaicism induced by the internal chromosome imbalance in trisomic plant.

The writers have discussed criteria for the so called analyzable cell in which chromosomes should be well stained and differentiated, reasonably dispersed, in good flatness, untwisted and non-stretched and urged rice workers to use more such analyzable cells in karyotyping.