Bot. Bull. Academia Sinica **23**: 163-183 (1982)

稻屬六物種核型的比較[1,2]

陳尤佳　吳信淦

中央研究院植物研究所

(Received June 17, 1982; Accepted July 7, 1982)

摘　　要

以二種栽培稻 (*O. sativa* 及 *O. glaberrima*) 和四種野生稻 (*O. perennis, O. breviligulata, O. punctata* 及 *O. australiensis*) 爲材料，引用 Kurata, Iwata 及 Omura (1981) 的體細胞染色體製片技術，綜合酵素軟化和火焰乾燥，以建立稻屬六物種的核型，並由核型的差異探求物種間的關係。

物種間染色體的相對長度差異不顯著，而絕對長度以 *O. australiensis* 爲最大，與其他五物種有極顯著差異（表 5 ）。根據 Levan 等 (1964) 由長、短臂比值區分中節位置不同的染色體，*O. sativa* 有五對 M型染色體，二對 ST 型，五對 SM 型；*O. glaberrima* 及 *O. breviligulata* 各有四對M型，二對 ST 型，六對 SM 型染色體；*O. perennis* 有四對M型，三對 ST 型，五對 SM 型染色體；*O. punctata* 及 *O. australiensis* 各有三對 M型，二對 ST 型，七對 SM 型染色體。各型染色體的分布見圖 8 。六物種中 *O. perennis* 有二對核仁染色體，分別列於第Ⅷ對與第X對，屬於 ST 型，其餘五物種只具一對核仁染色體，在 *O. australiensis* 屬於第Ⅷ對，在 *O. sativa, O. glaberrima, O. breviligulata* 及 *O. punctata* 均屬於第X對（圖 1-8）。水稻的異染色質大部分出現在染色體中節兩側，六物種中以 *O. australiensis* 的最明顯，且其量也較多（圖7, 8）。

核型分析結果 *O. sativa, O. glaberrima, O. breviligulata* 及 *O. perennis* 間頗爲相似，故支持前人所稱 *O. sativa* 與 *O. glaberrima* 有共同祖先之說。但也有若干相異之處，故建議此等物種的染色體組順次以 A^sA^s, A^gA^g, A^bA^b, A^pA^p 稱之。*O. punctata* 與 *O. australiensis* 的核型間及與上述四物種的核型間顯然不同，反映出此兩物種確應以 BB 及 EE 爲其染色體組的命名。由於 *O. australiensis* 的異染色質顯著較其餘物種爲大且明顯，故推論此物種在六物種中爲最原始者。

一、緒　　言

稻屬(*Oryza*) 約有二十餘物種，關於其物種的演化與起源，有由地理分布(張，1979)、生育習性、栽培歷史 (Chang, 1976)、植株性狀 (Oka, 1964) 以及細胞遺傳 (Nayar 1973) 等觀點去探究 。核型分析亦是探討物種間關係 在細胞遺傳上的 有利證據之一 ，據 Nayar (1973) 記載，Kuwada 首先於 1909、1910 決定水稻染色體數目爲 $2n=24$ 之後，許多學者曾參與水稻核型的研究 (Nandi 1936; Yausi 1941; 胡 1958，1964)。雖則 Shastry, Ranga Rao 及 Misra於1960年已能定出稻粗絲期染色體的核型，吳 (1967) 發展出頗爲成功的稻粗絲期染色體製片技術，陳、賴、黃、鍾及吳 (1982) 更分析稻若干轉座系統粗絲期染色體的核型，定出各系統轉座點的位置以及轉座片段的長度，然而在稻體細胞染色體研究上，一直陷於膠着狀態。稻體細胞中期染色體太小是主要的限制因子 (胡，1958) 。應用傳統的製片技術，不論是觀察根端體細胞或花粉有絲分裂，都無法得到理想結果。染色體形態

---

(1)本文爲中央研究院植物研究所研究報告，編號 256。

(2)部分內容爲第一作者於國立臺灣大學農藝學研究所碩士論文研究的一部分。

不明顯，更不易區分物種間的差異。Khan (1975) 改變處理方式，認爲長時間的固定和不經酸水解，可得到形態明顯的粗絲期和體細胞染色體。Kurata 及 Omura (1978) 發展出新的稻體細胞染色體製片技術，大大改善了水稻染色體形態的觀察，尤其可輕易得到前中期 (prometaphase) 染色體，長度在 3 至 8μ 之間，且形態清晰。1981年 Kurata, Iwata 及 Omura 修飾其1978的方法後，應用於三染體研究，得更良好效果。本文引用此種技術致力於六個稻屬物種核型的建立與比較，並由核型的差異探求物種間的關係。

二、材料與方法

本試驗材料列於表1，少數原始種子乃由日本國立遺傳研究所 (National Institute of Genetics, NIG) 贈予，於民國七十年三月種植於中央研究院(南港)，以一期作方式栽培，並於插秧後約一個月行短日處理，每天日照時數限爲11小時 (從早上七時到下午六時)，連續一個月。本試驗以黑塑膠布遮光方式進行處理，七月收得種子，乾燥後，置於 50°C 高溫下一星期，以解除種子休眠性。

體細胞的製片方法源自 Kurata 等 (1981)，綜合酵素軟化 (enzyme maceration) 及火焰乾燥法 (flame-drying)。栽培稻種子連穎及野生稻種子去穎後，經過消毒、浸種，選取露白種子置於含蒸餾水之培養皿 (30°C)，至發根 1～2 mm 進行下列前處理，先浸於 0.5 mM 2′-deoxyadenosine 30°C，15～20 小時，處理時間依物種不同有所差異。清洗後移到 0.5 mM uridine 30°C，3小時。將全根摘下，浸於 1.5 mM 8-hydroxyquinoline 20°C，2小時。再切下根尖，置於含4%果膠酶 (pectinase, Sigma P-5146) 及6%纖維素酶 (cellulase, Onozuka R-10, Yakult) 之氯化鉀 (75 mM) 溶液 (pH=4)，35°C，1小時。以蒸餾水冲洗15分鐘，固定於甲醇：醋酸爲 3：1 的混合液，並立刻以火焰乾燥法製片。首先使用反差顯微鏡 (phase contrast microscope) 觀察玻片上有否前中期細胞，有細胞的玻片以 1/15 M 磷酸緩衝液 ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O + KH_2PO_4$) (pH 6.8) 配製的4% 吉氏染料 (Giemsa, Merck) 染色30分鐘，流水冲洗數秒，風乾後保存。

染色體的觀察用 Wild M-20 型顯微鏡，照相用柯達 2415，35 mm 底片，於 10×100 油鏡下拍攝染色體散開良好，長度適中，分化明顯的前中期細胞，放大 8 倍洗成相片，利用此等相片進行核型分析。除了 *O. australiensis* (11重複)，*O. punctata* (14重複)，其餘物種至少分析20個以上前中期細胞。

表1. 參試的稻屬物種

Table 1. *Oryza species studied*

物種 Species	系號* Acc. no.	染色體數 2*n*	分布地區 Distribution
O. sativa L.		24	Cultivated, world wide
O. glaberrima Steud.	W0025	24	Cultivated, West africa
O. breviligulata A. Cheval et Roehr.	W0049	24	West Africa to Sudan
O. perennis Moench	W0107	24	Tropical countries, world wide
O. punctata Kotschy	W1593	24	East Africa
O. australiensis Domin	W0008	24	Northern Australia

* 該系號係日本國立遺傳研究所編列

三、結　　果

(一)核型分析

依據 Kurata 等 (1981) 所發展的方法進行體細胞染色體的觀察，不僅可得到分裂中期染色體 (metaphase chromosome)，更可觀察到展開良好的前中期染色體，除了染色體大小的改善外，染色體形態如中節位置，異染色質分布 (heterochromatin pattern)，衛星體 (satellite) 等均可定出，各染色體也能明顯區分，甚至有些染色體的眞染色質 (euchromatin)，也出現類似環帶的分化 (banding differentiation)。各物種依絕對長度、相對長度 (佔十二條染色體總長的百分比) 、長短臂比值加以分析。各圖片的比例尺均爲 10μ。

1. 栽培稻 *O. sativa* $2n=24$，臺中65號。分析21個理想細胞的前中期染色體(圖1A)，結果列於表 2 ，12對體細胞染色體實際長度最短爲 2.44μ， 最長爲 6.85μ，相對長度最短爲 5.11%，最長爲 14.30%。12對染色體，以第Ⅳ對臂率最大 (4.60)，第Ⅺ對最小 (1.22)。共有五對M型 (中節在中央，臂率 1.00～1.67) 染色體，五對 SM 型 (中節在次中央，臂率 1.67～3.00) 染色體，二對 ST 型 (中節在次末端，臂率 3.00～7.00) 染色體，其中之一爲核仁染色體，第Ⅹ對 (圖 1B) ，短臂末端帶有衛星體。

2. 野生稻 *O. perennis*, $2n=24$，分析32個前中期細胞 (圖 2A) ，各對染色體的平均長度由 2.54 至 7.13 μ，相對長度由5.16至14.43%，染色體臂率由1.17 (第Ⅺ對) 至4.43 (第Ⅳ對) (表 2) 。核型分析結果，此物種有 4 對M型染色體，五對 SM 型染色體，三對 ST 型染色體，其中二對爲核仁染色體，分別爲第 Ⅷ 對與第 Ⅹ 對，各具有衛星體，位於短臂末

表 2. *O. sativa* (臺中65號)和 *O. perennis* 體染色體的臂率、絕對和相對長度平均

Table 2. *Means of arm ratio, absolute and relative length of somatic chromosomes of O. sativa, Taichung 65 and O. perennis*

染色體* Chromosomes	*O. sativa* (Taichung 65)			*O. perennis*		
	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	臂率(長/短) Arm ratio (long/short)	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	臂率(長/短) Arm ratio (long/short)
Ⅰ	6.85±1.19	14.30±0.83	1.89±0.32	7.13±1.59	14.43±1.47	1.97±0.31
Ⅱ	5.88±1.08	12.34±0.98	1.53±0.25	6.15±1.21	12.48±1.00	1.32±0.24
Ⅲ	5.16±0.90	10.85±0.71	1.85±0.37	5.38±1.05	10.90±0.69	1.88±0.36
Ⅳ	4.44±0.71	9.34±0.62	4.60±0.69	4.61±0.98	9.36±0.75	4.43±1.08
Ⅴ	4.15±0.74	8.71±0.56	1.46±0.33	4.24±0.71	8.61±0.53	1.26±0.29
Ⅵ	3.75±0.69	7.83±0.53	1.72±0.39	3.94±0.68	7.94±0.49	1.86±0.53
Ⅶ	3.44±0.65	7.21±0.49	1.55±0.34	3.60±0.68	7.36±0.60	1.53±0.40
Ⅷ	3.23±0.53	6.79±0.39	1.39±0.25	3.19±0.54	6.51±0.56	3.60±1.52
Ⅸ	3.01±0.48	6.34±0.46	2.23±0.51	3.16±0.51	6.44±0.53	2.18±0.75
Ⅹ	2.74±0.41	5.77±0.54	3.73±0.96	2.93±0.48	5.96±0.62	3.36±1.31
Ⅺ	2.65±0.45	5.56±0.38	1.22±0.19	2.89±0.54	5.88±0.52	1.17±0.20
Ⅻ	2.44±0.46	5.11±0.54	2.60±0.64	2.54±0.43	5.16±0.55	1.81±0.43

* 依染色體長短順序排列

表3. *O. glaberrima* 和 *O. breviligulata* 體染色體的臂率、絕對和相對長度平均

Table 3. *Means of arm ratio, absolute and relative length of somatic chromosomes of O. glaberrima and O. breviligulata.*

染色體 Chromosomes	*O. glaberrima*			*O. breviligulata*		
	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	臂率(長/短) Arm ratio (long/short)	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	臂率(長/短) Arm ratio (long/short)
I	6.60±1.55	14.19±1.06	2.05±0.39	6.71±1.20	14.33±0.96	1.93±0.27
II	5.65±0.95	12.19±0.81	1.59±0.40	5.76±1.20	12.25±0.98	1.39±0.28
III	5.13±1.08	10.95±0.56	1.98±0.42	5.08±1.04	10.79±0.77	1.90±0.50
IV	4.45±0.83	9.58±0.68	4.82±1.14	4.29±0.74	9.15±0.66	5.42±1.56
V	4.04±0.85	8.67±0.68	1.64±0.46	4.06±0.71	8.66±0.64	1.37±0.33
VI	3.68±0.84	7.85±0.53	2.01±0.57	3.74±0.70	7.95±0.54	1.99±0.50
VII	3.35±0.73	7.18±0.50	1.76±0.31	3.43±0.65	7.32±0.59	1.54±0.44
VIII	3.14±0.68	6.71±0.40	1.39±0.34	3.24±0.64	6.89±0.42	1.91±0.32
IX	2.91±0.54	6.26±0.44	2.51±0.58	2.95±0.56	6.29±0.58	2.48±0.45
X	2.73±0.56	5.85±0.42	3.95±0.88	2.74±0.50	5.79±0.59	3.91±1.20
XI	2.58±0.60	5.51±0.43	1.36±0.31	2.59±0.55	5.51±0.59	1.33±0.22
XII	2.35±0.58	5.02±0.45	2.42±0.59	2.36±0.54	5.04±0.54	2.42±0.69

表4. *O. punctata* 和 *O. australiensis* 體染色體的臂率、絕對和相對長度平均

Table 4. *Means of arm ratio, absolute and relative length of somatic chromosomes of O. punctata and O. australiensis*

染色體 Chromosomes	*O. punctata*			*O. australiensis*		
	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	(臂率長/短) Arm ratio (long/short)	絕對長度 Absolute length (μ)	相對長度 Relative length (%)	臂率(長/短) Arm ratio (long/short)
I	7.13±2.35	13.35±1.01	1.68±0.32	11.11±3.85	14.65±1.80	2.14±0.37
II	6.45±2.11	12.07±0.75	1.64±0.38	9.64±3.26	12.71±1.16	1.54±0.44
III	5.64±1.68	10.63±0.53	1.81±0.40	7.81±2.16	10.46±0.70	1.83±0.32
IV	4.93±1.34	9.33±0.70	3.16±0.91	6.61±1.30	8.97±0.59	1.89±0.55
V	4.75±1.39	8.94±0.68	1.56±0.40	6.20±1.43	8.40±0.49	2.35±0.26
VI	4.31±1.31	8.10±0.55	1.79±0.41	6.03±1.54	8.05±0.41	3.67±0.91
VII	3.94±1.03	7.49±0.44	1.72±0.40	5.81±1.59	7.76±0.32	1.49±0.46
VIII	3.71±0.91	7.09±0.48	1.99±0.71	5.06±1.49	6.74±0.40	3.91±1.42
IX	3.36±0.90	6.40±0.54	1.63±0.46	4.78±1.29	6.39±0.19	1.80±0.45
X	3.14±0.94	5.92±0.41	3.16±0.81	4.30±1.20	5.75±0.44	2.47±0.26
XI	2.99±0.98	5.62±0.60	1.79±1.08	4.10±1.06	5.51±0.29	1.79±1.08
XII	2.68±0.89	5.06±0.63	1.75±0.59	3.43±0.71	4.70±0.74	1.40±0.34

端。由於衛星體深入核仁的緣故，有時並不清晰可見（圖2B）。觀察花粉母細胞減數分裂，粗絲期或肥厚期均可看見兩對核仁染色體附着於核仁（圖3）。

3. 栽培稻 *O. glaberrima*, $2n=24$，分析25個前中期細胞（圖 4A, B），各對染色體平均長度由 2.35 至 6.60 μ，相對長度由 5.02 至 14.19%，染色體臂率由 1.36（第XI對）至 4.82（第IV對）（表3）。核型分析結果，含有四對M型染色體，六對 SM 型染色體，二對 ST 型染色體，其中第X對爲核仁染色體（圖 4C）。

4. 野生稻 *O. breviligulata*, $2n=24$，分析26個前中期細胞（圖 5A），各對染色體平均長度由 2.36 至 6.71 μ，相對長度由 5.04至14.33%，臂率由1.33（第XI對）至 5.42（第IV對）（表3）。核型分析結果，包含四對M型染色體，六對 SM 型染色體，二對 ST 型染色體，第X對爲帶有衛星體的核仁染色體（圖 5B）。

5. 野生稻 *O. punctata*, $2n=24$，分析十四個前中期細胞（圖6A），各對染色體平均長度由 2.68 至 7.13 μ，相對長度由 5.06 至 13.35%，臂率由 1.63 至 3.16（表4）。核型分析結果，包含三對M型染色體，七對 SM 型染色體，二對 ST 型染色體，第X對爲核仁染色體（圖 6B）。

6. 野生稻 *O. australiensis*, $2n=24$（圖 7A），分析結果，各對染色體平均長度由 3.43 至 11.11 μ，是所觀察物種中染色體最長者，相對長度由 4.70 至 14.65%，臂率由 1.40（第XII對）至 3.91（第VIII對）（表4）。核型分析顯示三對M型染色體，七對 SM 型染色體，二對 ST 型染色體，第VIII對爲核仁染色體（圖 7B）。

(二)物種間核型的比較

核型的比較從染色體大小、各型染色體的分布、核仁染色體以及異染色質的分布等着手。

1. 染色體大小：比較六物種染色體實際長度，以 *O. australiensis* 最長，其最長染色體有達 20.51 μ。12條染色體總長的平均爲 74.88 μ，進一步分析六物種12條染色體總長之差異顯著性，發現 *O. australiensis* 與各物種均有差異，而 *O. sativa*, *O. glaberrima*, *O. breviligulata*, *O. perennis* 和 *O. punctata* 之間均爲差異不顯著（表5）。就相對長度比較，物種間並沒有明顯差異。12對染色體中最長的，相對長度佔14～15%，最短的佔4至5%，此與陳等（1982）分析粗絲期染色體相對長度由14.01%至5.20%，幾乎沒有差異。與 Kurata 等（1978）分析體染色體的結果15.02%至5.1%，亦非常近似。

2. ST 型及M型染色體的分布：比較物種染色體形態（圖8），除了核仁染色體外，每一物種均具有一對 ST 型染色體，短臂約佔長臂的四分之一，且均呈深色。此 ST 型染色體在 *O. australiensis* 的核型中列爲第VI對，其他物種均出現於第IV對。至於 M 型染色體在 *O. sativa* 共有五對，分別爲 II、V、VII、VIII 及 XI，是六物種中較多者。*O. perennis*, *O. glaberrima* 及 *O. breviligulata* 均具有四對M型染色體，除了共同的三對II，V及XI外，另一對位於 *O. glaberrima* 的第VIII對，*O. perennis* 和 *O. breviligulata* 的第VII對。*O. punctata* 和 *O. australiensis* 的 M 型染色體只有三對，分別爲染色體 II，V，IX 及 II，VII，XII。

3. 核仁染色體的數目與分布：除了 *O. perennis* 外，均具有一對核仁染色體。其中 *O. australiensis* 的核仁染色體爲第VIII對，其餘物種的均列於第X對，形態上均屬於 ST 型，且以短臂附着於核仁，短臂末端帶有衛星體。*O. perennis* 的核仁上有四條染色體附着，分析結果，分別爲第VIII對與第X對。

表 5. 六物種12條染色體總長的變方分析表

Table 5. *Analysis of variance of total length of 12 somatic chromosomes in six Oryza species*

變異原因 Source of variance	自由度 d. f.	均方 Mean square	F 值 F-value
物種 Species	5	1,508.32	12.96**
機差 Error	123	116.35	
總計 Total	128		

	染色體總長(μ)					
O. australiensis	74.88					
O. punctata	53.02	21.86**				
O. perennis	49.24	25.63**	3.77			
O. sativa	47.74	27.14**	5.28	1.51		
O. breviligulata	46.94	27.94**	6.08	2.31	0.80	
O. glaberrima	46.60	28.28**	6.42	2.65	1.14	0.34

** significant at 1% level

4. 異染色質的分布：本試驗曾比較同一細胞於吉氏染料染色前後染色體的形態（圖 9A, B），顯示不論染色與否，大部分異染色質出現在中節兩側及衛星體，但染色後，異染色質在眞染色質的分布較未染色的更爲明顯，有類似環帶的分化。此爲稻諸物種染色體上異染色質分布的共同特性。物種間 *O. australiensis* 多數染色體異染色質長度及異染色質百分比均顯著較其他物種的爲大，其餘物種間則差異很小。同一物種，各對染色體上異染色質的實際長度沒有明顯變化，但較小染色體却有較高的異染色質百分比，各物種均有類似的趨勢（圖 8）。比較不同分裂時期細胞同一對染色體的異染色質，發現其百分比隨着分裂的進行而漸增，但長度的改變却不多，顯示染色體的收縮主要在眞染色質。不同的異染色質環帶，常因其間眞染色質的收縮而合併，環帶數因此減少（圖10）。

四、討　　論

(一)稻核型分析的正確性

Bouharmont (1962) 比較水稻十個物種的體染色體，認爲物種間沒有明顯差異。Shastry (1964) 曾比較分析過九個物種的粗絲期染色體，却指出物種間有明顯差異。造成如此不一致的原因可能爲稻體染色體的短小和粗絲期製片的困難。

Kurata 等 (1981) 將其1978年新創的方法修正後用於水稻三染體的鑑定時，所觀察到的分裂細胞均較中期爲早。其中最長染色體爲 22～13 μ、最短爲 7.5～5.5 μ 者，稱爲晚前期 (late prophase)；最長染色體爲 12～7.μ、最短爲 5～3.5 μ 者稱爲前中期；最長染色體爲 6～4.5 μ、最短爲 3～1.5 μ 者稱爲早中期 (early metaphase)。此顯示稻體細胞染色體長度因細胞分裂的推進而縮短，而本試驗所觀察分析的細胞大多屬於前中期的。Nayar(1973) 綜合前人的報告稱稻體細胞中期染色體長度介於 1～3 μ，相較之下，用 Kurata 的方法所

觀察到的細胞分裂時期提早，染色體有足够的長度展示其大小，因此提高了數據的可靠性。

中節位置是決定染色體形態的重要因素，過去因觀察的染色體過短，中節不易確定，臂率數據的誤差較大。本試驗所觀察染色體中節明顯，清楚地劃分長臂與短臂。分析 *O. sativa* 體細胞核型中，臂率最大 (3.85)的爲第Ⅳ對，此與陳等 (1982) 觀察嘉農 242 號粗絲期核型中臂率最大 (3.85) 爲染色體 Ⅷ的不同，由於稻粗絲期分析時染色體中節的位置有時不易確定，故比較粗絲期與體細胞的核型時，似以後者爲可信。

細胞分裂一旦進入中期，核仁消失，因此無法觀察到核仁染色體附着於核仁的景象，一般核型分析時若只針對二次縊縮或衞星體的存在與否去推測其是否爲核仁染色體，難免發生偏差。觀察分裂前中期細胞，可彌補此項缺失。

由六個物種的分析得知水稻異染色質常出現在中節附近，稱爲中節異染色質 (centromeric heterochromatin)，經由吉氏染料染色後，異染色質分布更爲明顯，已如前述。

綜合言之，Kurata 的新方法，對稻體細胞核型的分析，無論在染色體大小、臂率、核仁染色體數目及異染色質分布等都顯示更爲可信的結果。對其他染色體短小的植物，此法也許也可適用。

(二)染色體組和核型的關係

根據種間雜種 F_1 個體的染色體配對及不孕性的高低，諸學者授予各物種染色體組的名稱。稻屬的 *O. sativa* 等四物種染色體組的命名，學者間不盡相同（表 6）。此外，*O. australiensis* 的染色體細由 Li, Chen, Weng 及 Wuu (1963)命名爲 EE，*O. brachyantha* 的由 Li, Weng, Chen 及 Wang (1961) 命名爲 FF。*O. officinalis* 的爲 CC (Morinaga 及 Kuriyama 1959)，*O. punctata* 的爲 BB (Katayama 1967)。

本試驗的六個物種中，*O. australiensis* 和 *O. punctata* 的核型相互間及與 *O. sativa* 等四物種間都有很大的差異，其染色體組的命名似應保持其原有名稱 EE 及 BB。*O. sativa* 與 *O. perennis* 核型的最大差別在於核仁染色體的數目以及後者少了一對M型染色體，故染色體組的命名似應有所不同。雖則 Richharia (1960) 曾將此兩物種的染色體組以 PP 爲基礎而分別命名，不如仍以 AA 爲基礎，以符合多數學者的意願。以 AA 爲基礎時，作者等建議將 *O. sativa* 及 *O. perennis* 的染色體組分別命名爲 A^sA^s 及 A^pA^p。*O. glaberrima* 與 *O. breviligulata* 核型的差別在於後者的一對 M 型染色體由Ⅷ轉變爲Ⅶ。差別雖不大但確有差別，故建議保留1963年在國際稻米研究所召開的「稻遺傳及細胞遺傳」討論會 (IRRI, 1964) 中所定的 *O. glaberrima* 爲 A^gA^g，而修改 *O. breviligulata* 的爲 A^bA^b。

表 6. 諸作者對稻屬六物種染色體組的命名

Table 6. *Genomic assignment of six rice species by different authors*

	Morinaga (1964)	Richharia (1960)	Yeh & Henderson (1961, 1962)	Bouharmont (1962)	IRRI (1963)	Katayama (1967)	Chen & Wu (1982)
O. sativa	AA	P^2P^2	A_1A_1	AA	AA	—	A^sA^s
O. perennis	AA	P^1P^1	—	—	—	—	A^pA^p
O. glaberrima	AA	P^3P^3	EE	A_1A_1	A^gA^g	—	A^gA^g
O. breviligulata	AA	P^3P^3	EE	A_1A_1	A^gA^g	—	A^bA^b
O. punctata	—	—	—	—	—	BB	BB
O. australiensis	—	—	—	—	EE	—	EE

(三)稻物種的演化

Sampath 及 Rao (1951) 提出單元發生說 (monophyletic hypothesis)，認爲兩種栽培稻具有共同的祖先 *O. perennis* 。Richharia (1960) 也支持這種說法。Morishima 等 (1963) 根據種間雜種不孕性等，主張 *O. glaberrima* 由 *O. breviligulata* 演化而來，*O. sativa* 則由 *O. perennis* 演化而來。Oka (1964) 調查十六物種的四十二個植株性狀也發現 *O. glaberrima* 和 *O. breviligulata* 有較近的相關，而 *O. perennis* 和 *O. sativa* 的親緣關係相近，且二種野生稻 (*O. perennis* 及 *O. breviligulata*) 可能由同一祖先而來。

核仁染色體的數目一定，可爲各物種核型的基礎，所分析的物種中只 *O. perennis* 有兩對核仁染色體，各爲第Ⅷ對與第X對；其他物種的核仁染色體則爲第Ⅷ對(*O. australiensis*)或第X對。不同物種的各對核仁染色體的形態極爲相似，此似乎暗示 *O. perennis* 的原始性，分別向着其他物種演化。又因 *O. perennis* 核型與 *O. sativa*, *O. glaberrima* 及 *O. breviligulata* 的均極爲相似（圖8），故兩栽培種有共同祖先的說法獲得體細胞核型分析結果的支持。

物種間染色體的大小以及異染色質的分布型式與多少，具有特異性，具在演化過程中從大趨小及由多趨少的傾向 (Stebbins, 1971)。從圖8知，*O. australiensis* 的染色體顯較其他五物種的爲大，異染色質也較多。Shastry 及 Mohan Rao (1961) Wu 及 Li (1964) 觀察同一物種粗絲期染色體也有類似現象。或可推論 *O. australiensis* 較其他五物種爲原始。

Stebbins (1971) 以核型中染色體大小及M型（或ST型）染色體多寡來考慮物種核型的對稱程度，認爲核型對稱性愈高的屬或物種，其原始性愈大，隨着演化，核型漸趨向不對稱性。本試驗中栽培稻 *O. sativa* 等的核型顯然具有較高程度的對稱性，而 *O. australiensis* 等的核型較不對稱，他的理論似不能通用於解釋稻屬物種的演化。

(四)稻物型分析的展望

應用 Kurata 等 (1981) 的方法於水稻物種的觀察，改善了核型分析，如前所述，也顯示了物種間的差異。Kurata 等 (1981) 認爲稻體細胞染色體用吉氏染料染色後現出的環帶與動物細胞染色體的G環帶相似，此種環帶隨着染色體的收縮而合併，故分裂期較早細胞中某染色體的環帶數常較分裂期較晚的同一染色體的爲多。本試驗有同樣的結果（圖10）。物種間，G環帶具特異性，似可作爲比較物種間差別的依據。

近年來，植物染色體的C環帶技術頗有進展，如小麥 (Natarajan 及 Sarma 1974)、黑麥 (Bennett, Gustafson 及Smith 1977)、大麥 (Nada 及 Kosha 1978)、黑小麥 (Darvey 及 Gustafson 1975)、燕麥 (Yen 及 Filion 1977)、玉米 (Ward 1980) 及蠶豆 (Hizume, Tanaka, Yonezawa 及 Tanaka 1980)。核仁組合區 (NOR) 環帶技術的進展則如蠶豆、葱屬植物 (Hizume, Sato 及 Tanaka 1980)。應用環帶技術，無疑可更肯定地比較同一物種核型內及不同物種核型間染色體的異同，進而探討物種的演化，一如小麥物種 (Natarajan 等 1974) 及老鼠物種 (Yosida 1980) 的演化。本試驗初始時，曾嘗試稻C環帶、NOR 環帶等技術的發展，惜未能突破，若能將 Kurata 等(1981) 的製片技術與環帶技術互相配合，那將是水稻細胞遺傳的新途徑。

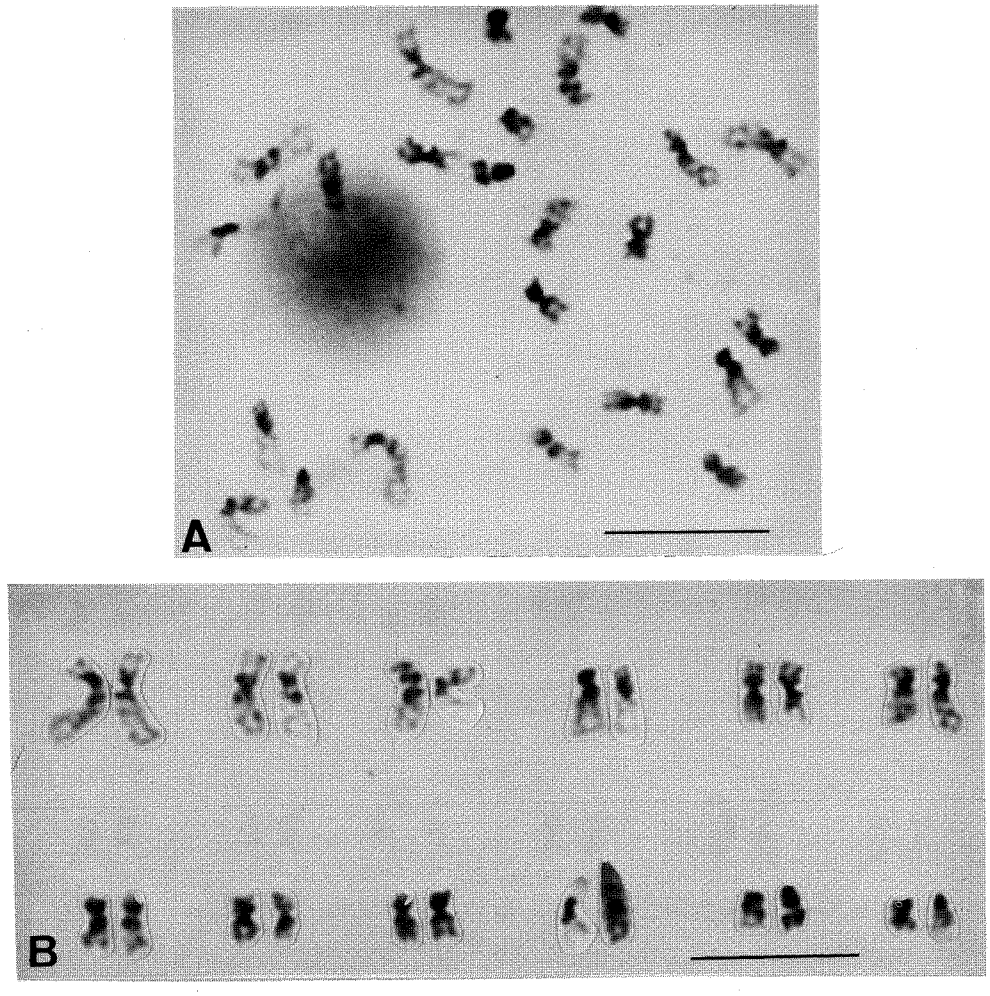

圖 1. *O. sativa*（臺中65號）的前中期染色體（A）及核型（B）.

Fig. 1. The prometaphase chromosomes (A) and karyotype (B) of *O. sativa*, (Taichung 65).

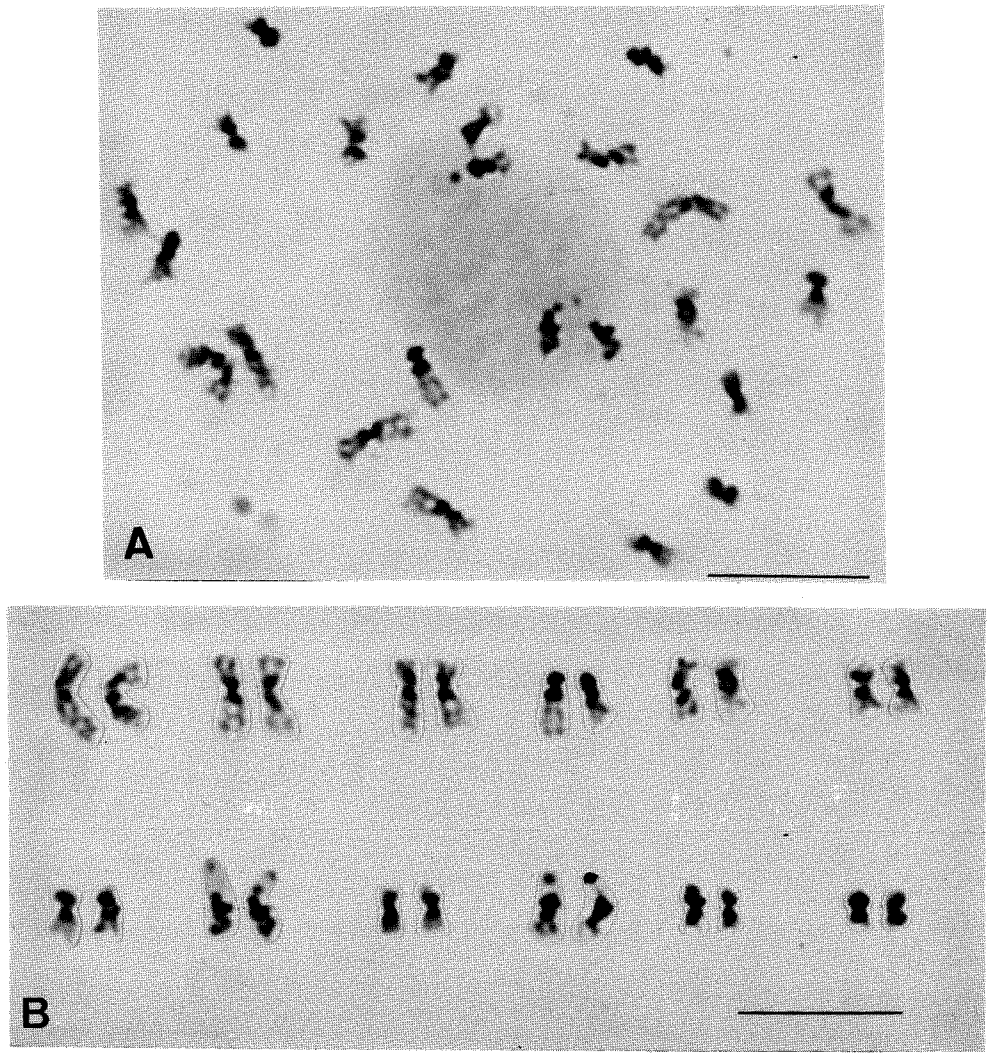

圖 2. *O. perennis* 的前中期染色體（A）及核型（B）.

Fig. 2. The prometaphase (A) and karyotype (B) of *O. perennis*.

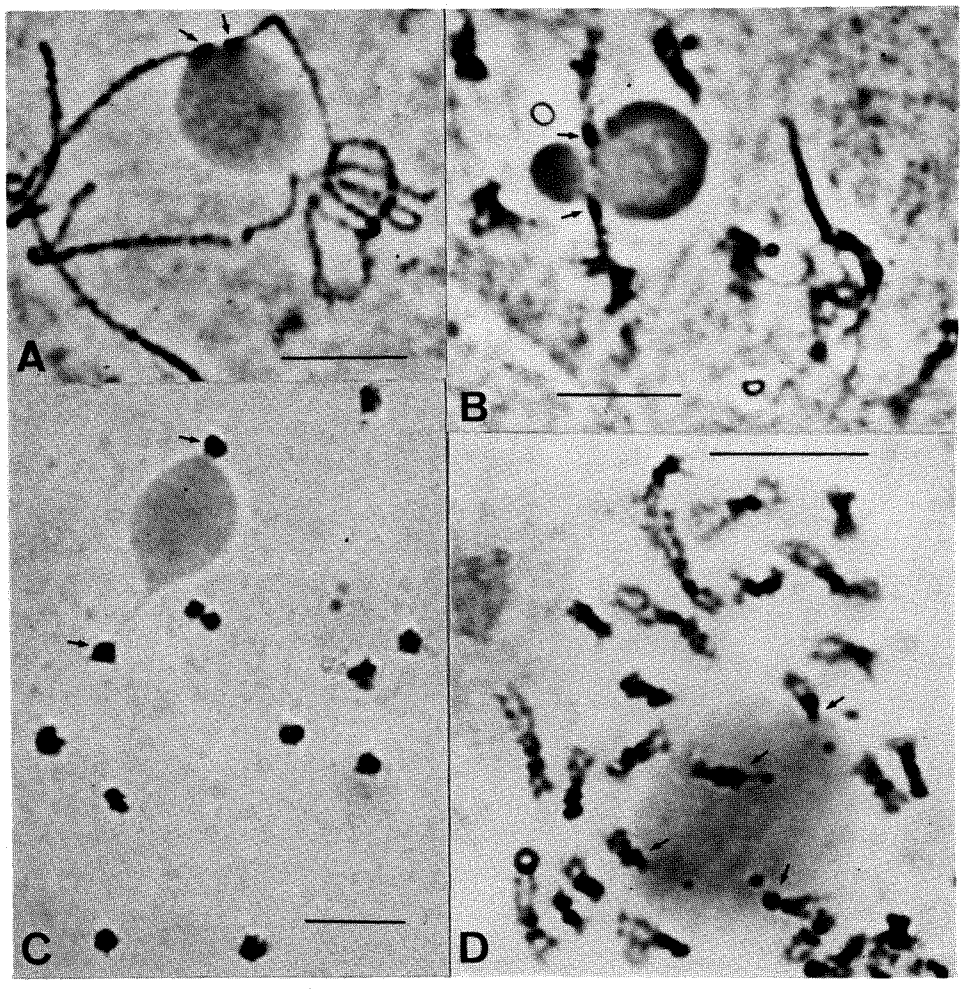

圖 3. *O. perennis* 的減數分裂粗絲期（A），顯叉期（B）肥厚期（C）及體細胞前中期染色體（D）→指示核仁染色體.

Fig. 3. The meiotic pachytene (A), diplotene (B), diakinesis (C) and somatic prometaphase (D) of *O. perennis*. → indicating nucleolar chromosomes.

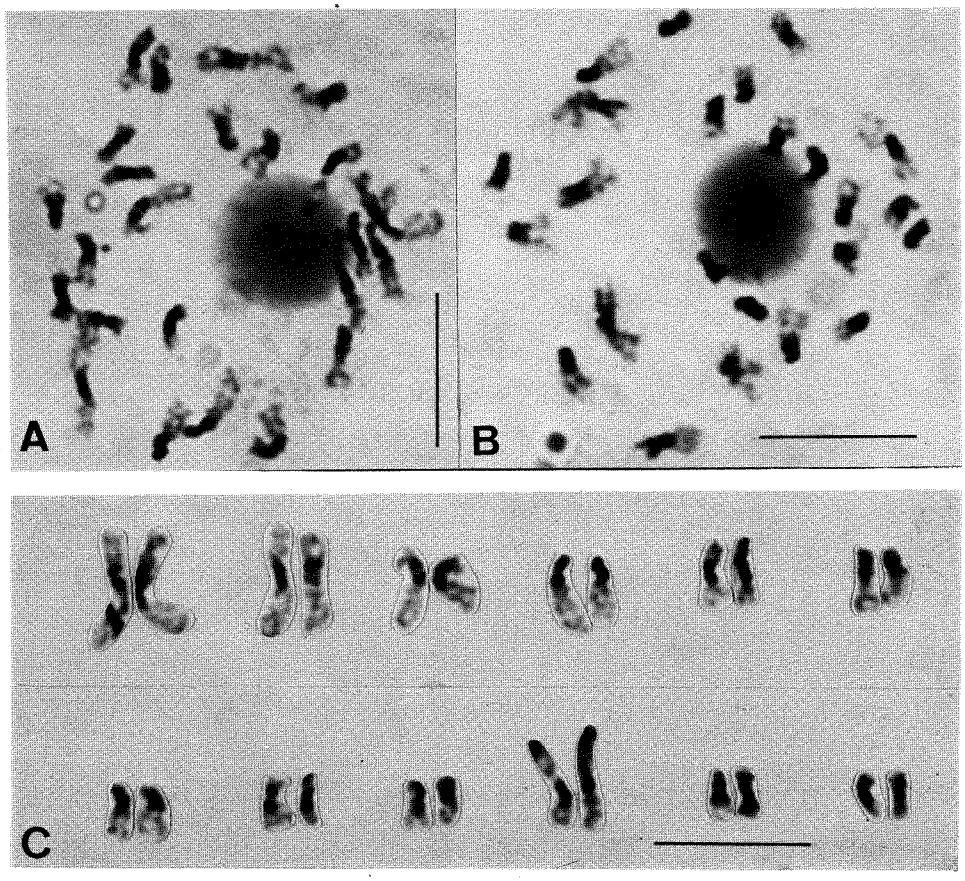

圖 4. *O. glaberrima* 的前中期染色體（A, B）及核型（C）.

Fig. 4. The prometaphase chromosomes (A, B) and karyotype (C) of *O. glaberrima*.

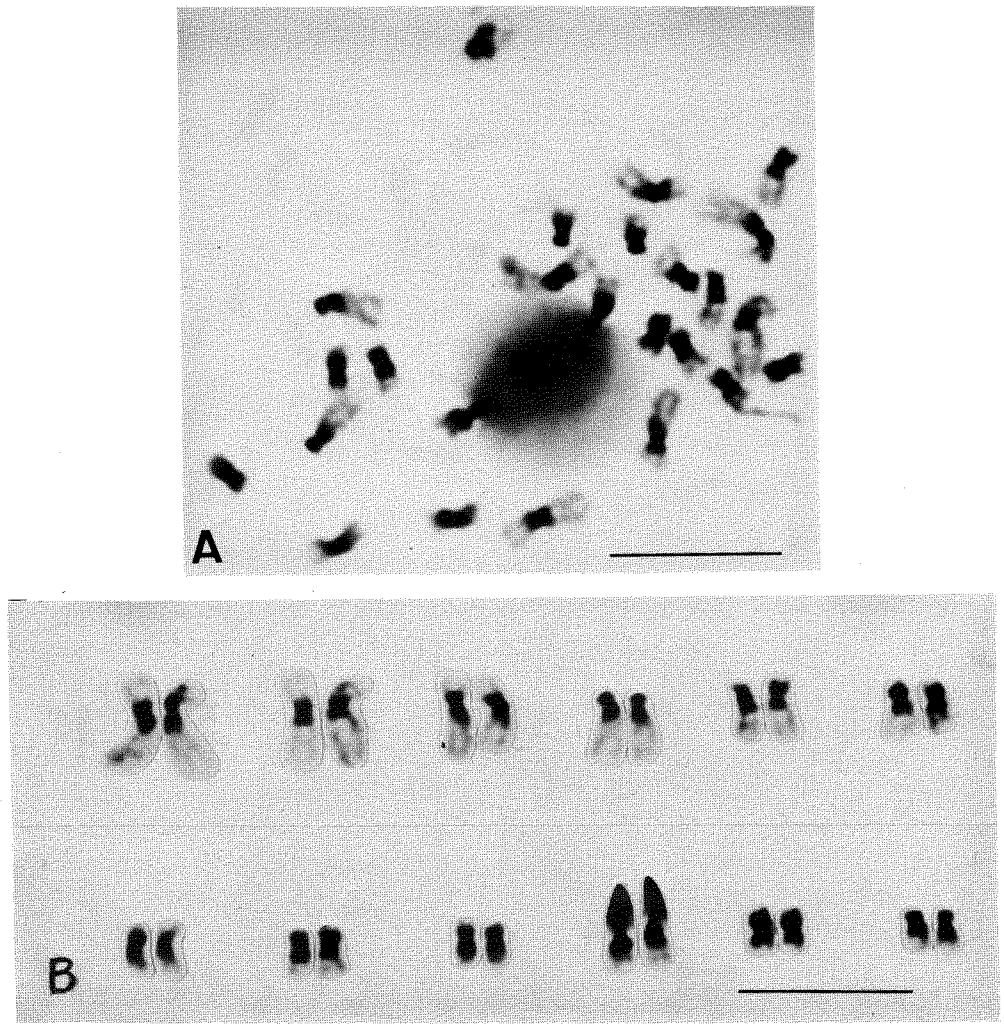

圖 5. *O. breviligulata* 的前中期染色體（A）及核型（B）.

Fig. 5. The prometaphase chromosomes (A) and karyotype (B) of *O. breviligulata*.

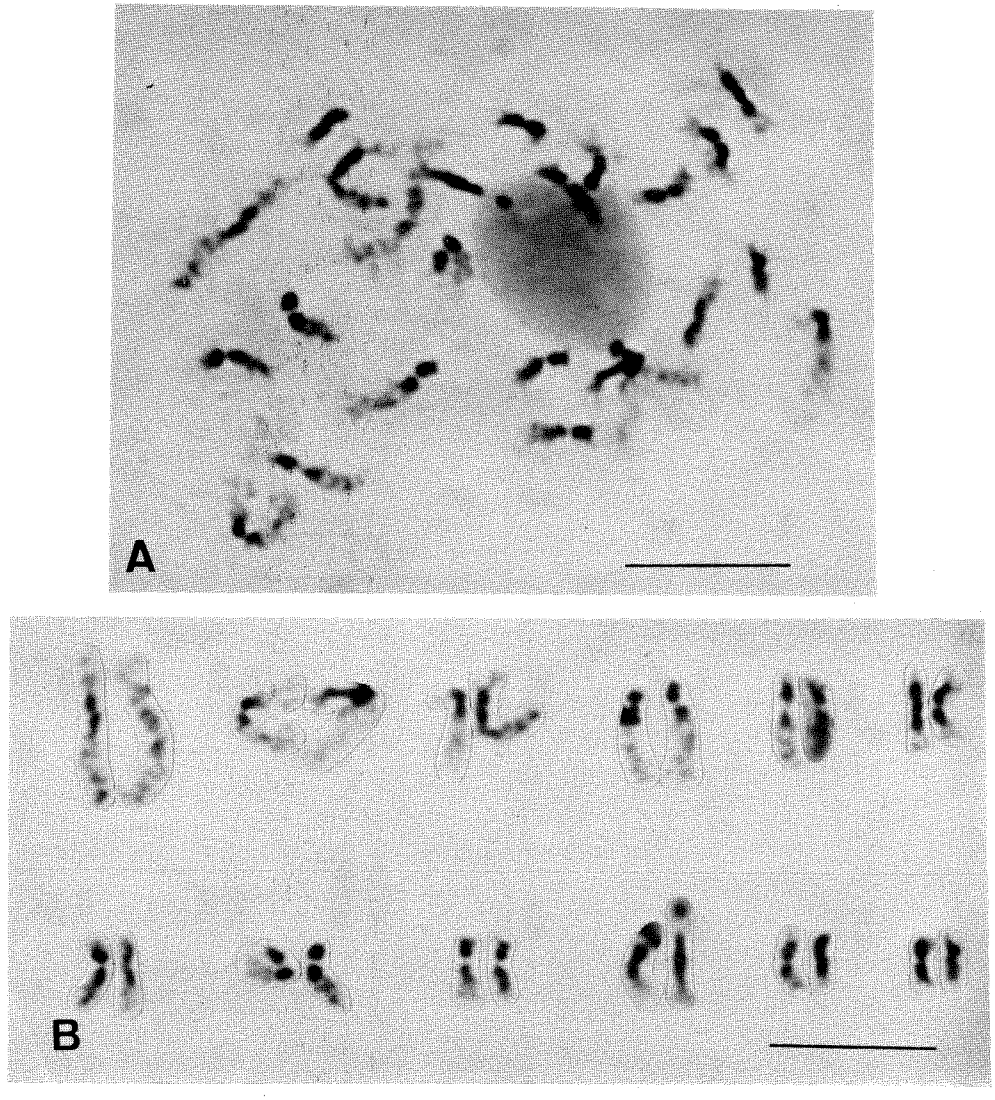

圖 6. *O. punctata* 的前中期染色體（A）及核型（B）.

Fig. 6. The prometaphase chromosomes (A) and karyotype (B) of *O. punctata*.

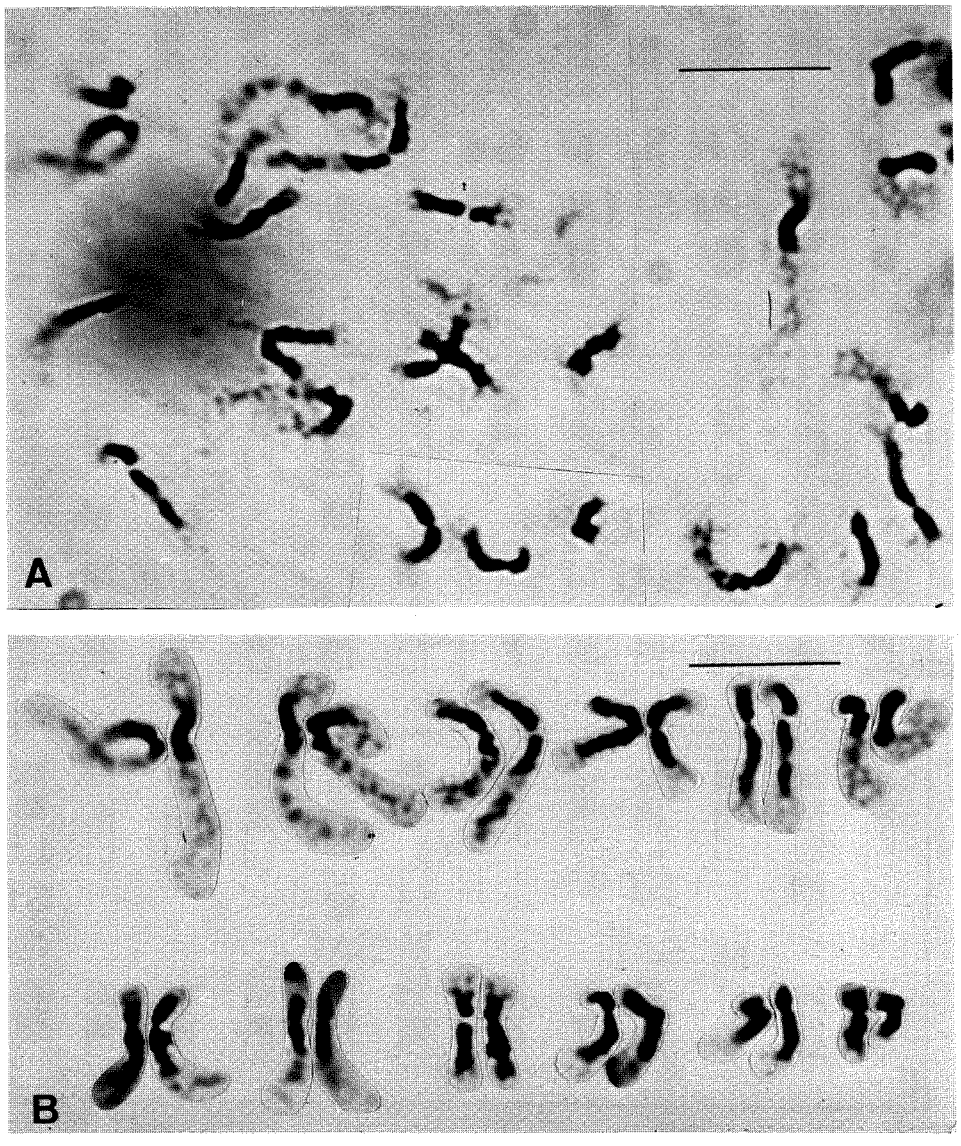

圖 7. *O. australiensis* 的前中期染色體（A）及核型（B）.

Fig. 7. The prometaphase chromosomes (A) and karyotype (B) of *O. australiensis*.

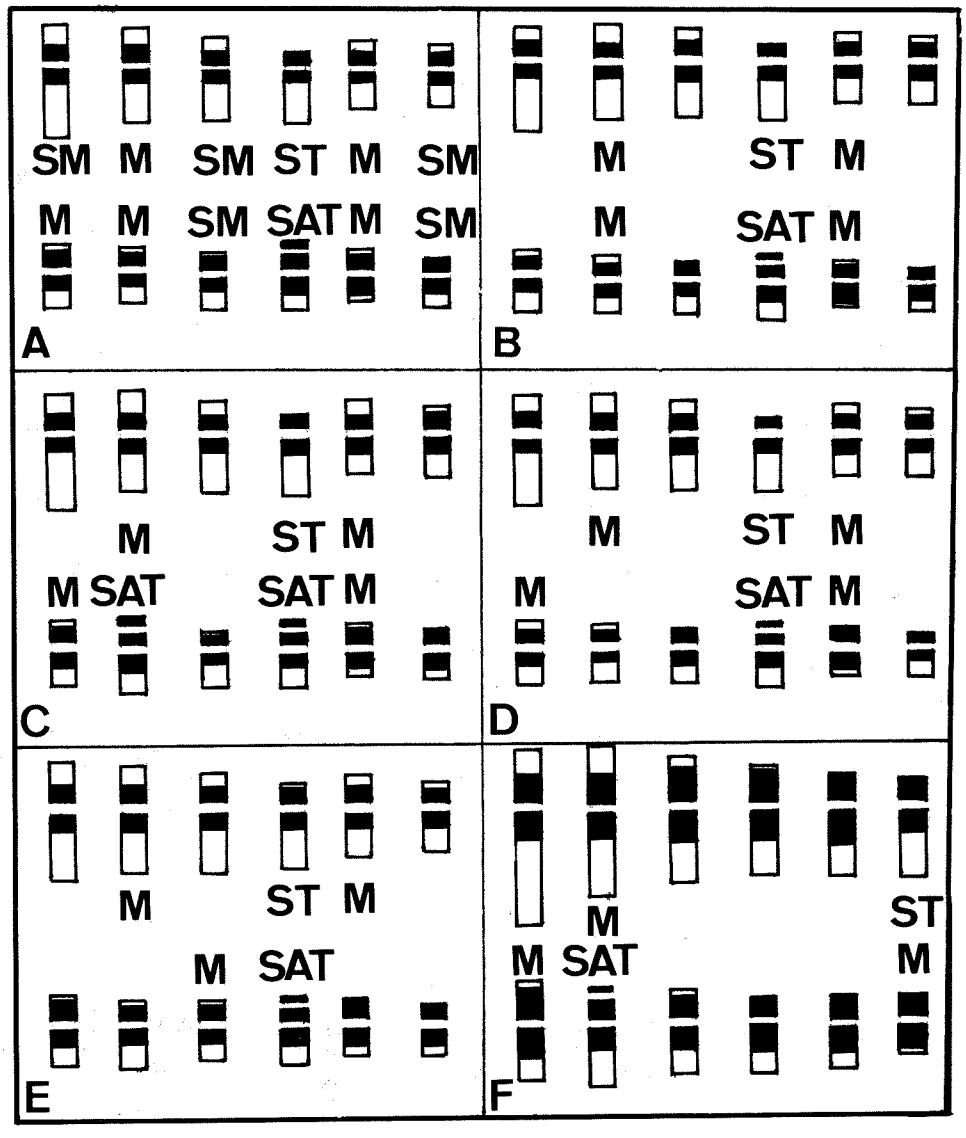

圖 8. 六物種體染色體的核型圖.

Fig. 8. The chromosome ideograms of six *Oryza* species.

A. *O. sativa* (Taichung 65) B. *O. glaberrima*
C. *O. perennis* D. *O. breviligulata*
E. *O. punctata* F. *O. australiensis*

註：圖中未標明的染色體均爲 SM 型

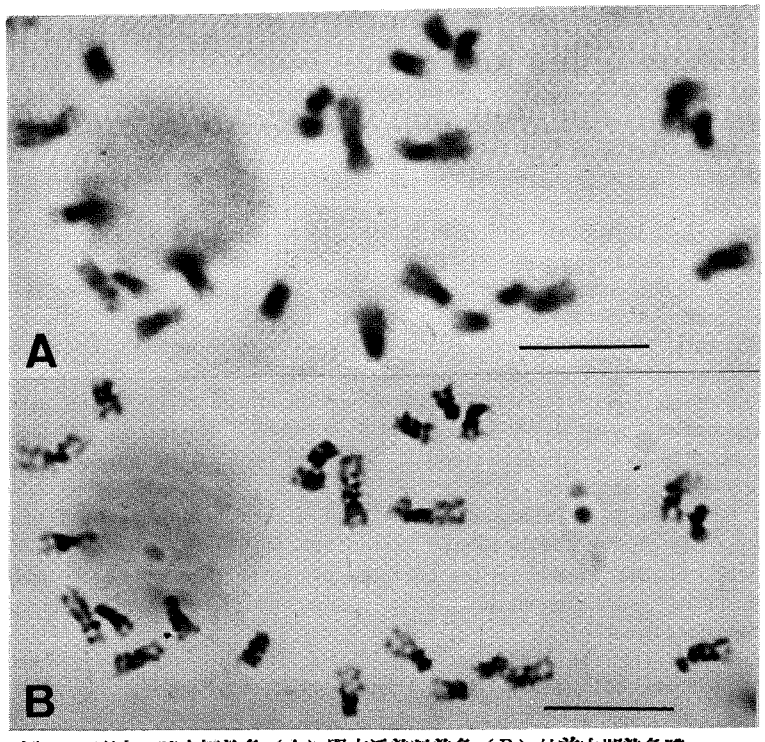

圖 9. 臺中65號未經染色（A）與吉氏染料染色（B）的前中期染色體.

Fig. 9. The unstained (A) and Giemsa-stained (B) prometaphase chromosomes of *O. sativa*, Taichung 65.

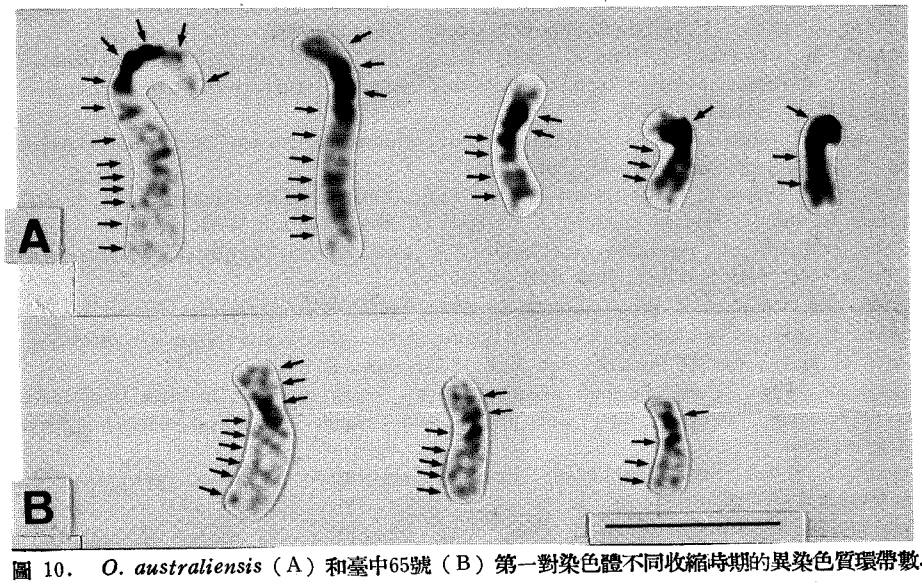

圖 10. *O. australiensis*（A）和臺中65號（B）第一對染色體不同收縮時期的異染色質環帶數.

Fig. 10. The heterochromatin banding numbers of different condensation stage of chromosome I in *O. australiensis* (A) and *O. sativa*, Taichung 65 (B).

參 考 文 獻

吳信淦 1967：粗絲期染色體製備法，科學農業 **15**(1,2): 40-44。

張德慈 1979：中華農業史——論集，第二章早期稻作歷史 pp. 49-68。臺灣商務印書館。

陳正次、賴惠珍、黃宜輝、鍾美珠及吳信淦 1982：稻七個轉座系統的檢定與懸散株基因 (la) 位置的釐訂，中央研究院植物學彙刊 **23**:71-87。

胡兆華 1958：稻の半數體植物の核學的研究。 II. 核型および體細胞染色體對合，遺傳學雜誌，**33** (9)：296-301。

Bennete, M. D., J. P. Gustafson and J. B. Smith. 1977. Variation in nuclear DNA in the genus *Secale*. Chromosoma **61**: 149-176.

Bouharmont, J. 1962. Observations on somatique and meiotic chromosomes of *Oryza* species. Cytologia **27**: 258-275.

Chang, T. T. 1976. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. Euphytica **25**: 425-441.

Darvey, N. L. and J. P. Gustafson. 1975. Identification of rye ceromosomes in wheat-rye addition lines and triticale by heterochromatin bands. Crop Sci. **15**: 239-243.

Hizume, M., A. Tanaka, Y. Yonezawa and R. Tanaka. 1980. A technique for C-banding in *Vicia faba* chromosomes. Japan J. Genetics **55**: 301-305.

Hizume, M., S. Sato and A. Tanaka. 1980. A highly reproducible method of nucleolus organizing regions staining in plants. Stain Tech. **55** (2): 87-90.

Hu, C. H. 1964. Further studies on the chromosome morphology of *Oryza sativa* L. In "Rice Genetics and Cytogenetics." Proc. Symp., Los Banos, Philippines. 1963, pp. 51-61. Elsevier, Amsterdam.

International Rice Research Institute. 1964. "Rice Genetics and Cytogenetics," Proc. Symp., Los Banos, Philippines, 1963, 274 pp. Elsevier, Amsterdam.

Katayama, T. 1967. Cytogenetical studies on *Oryza*: F_1 hybrids of the crosses BBCC X CC, BBCC X a diploid strain of *O. punctata* and CC X a diploid strain of *O. punctata*. Proc. Jap. Acad. **43**: 327-331.

Khan, S. H. 1975. A technique for staining rice chromosomes. Cytologia **40**: 595-598.

Kurata, N. and T. Omura. 1978. Karyotype analysis in rice I. A new method for identifying all chromosome pairs. Japan J. Genetics **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. Japan J. Genetics **56**: 41-50.

Levan, A., K. Fredga and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. Hereditas **52**: 201-220.

Li, H. W., T. S. Weng, C. C. Chen and W. H. Wang. 1961. Cytogenetical studies of *Oryza sativa* L. and its related species. I. Hybrids *O. Paraguaiensis* Wedd. × *O. brachyantha* Chev. et Roehr., *O. paraguaiensis* Wedd. × *O. australiensis* Domin and *O. australiensis* Domin × *O. alta* Swallen. Bot. Bull. Acad. Sini. **2**: 79-86.

Li, H. W., C. C. Chen, T. S. Weng and K. D. Wuu. 1963. Cytogenetical studies of *Oryza sativa* L. and its related species. IV. Interspecific crosses involving *O. australiensis* with *O. sativa* and *O. minuta*. Bot. Bull. Acad. Sini. **4**: 65-74.

Morinaga, T. 1964. Cytogenetical investigation on *Oryza* species. In "Rice Genetics and Cytogenetics. "Proc. Symp., Los Banos, Philippines, 1963, pp. 91-102. Elsevier, Amsterdam.

Morinaga, T. and H. Kuriyama. 1959. Genomic constitution of *Oryza officinalis*. Japan J. Breed. **4** (suppl.): 1-14.

Morishima, H., K. Hinata and H. I. Oka. 1963. Comparison of modes of evolution of cultivated forms from two wild rice species *Oryza breviligulata* and *O. perennis*. Evolution **7**: 170-181.

Nandi, H. K. 1936. The chromosome morphology, secondary association and origin of cultivated rice. J. Genet. **33**: 315-336.

Natarajan, A. T. and N. P. Sarma. 1974. Chromosome banding patterns and the origin of the B genome in wheat. Genet. Res. **24**: 103-108.

Nayar, N. M. 1973. Origin and cytogenetics of rice. Adv. Genet. **17**: 153-292.

Noda, K. and K. J. Kasha. 1978. A modified Giemsa C-banding technique for *Hordeum* species. Stain Tech. **53**: 155-162.

Oka, H. I. 1964. Pattern of interspecific relationships and evolutionary dynamics in *Oryza*. In "Rice Genetics and Cytogenetics," Proc. Symp., Los Banos, Philippines, 1963, pp. 71-90. Elsevier, Amsterdam.

Richharia, R. H. 1960. Origins of cultivated rices. Indian J. Genet. Plant Breed. **20**: 1-4.

Sampath, S., M. B. V. N. Rao. 1951. Interrelationships between species in genus *Oryza*. Indian J. Genet. Plant Breed. **11**: 14-17.

Shastry, S. V. S., D. R. Ranga Rao and R. N. Misra. 1960. Pachytene analysis in *Oryza*. I. Chromosome morphology in *Oryza sativa*. Indian J. Genet. Plant Breed. **20**: 15-21.

Shastry, S. V. S. and P. K. Mohan Rao. 1961. Pachytene analysis in Oryza. IV. Chromosome morphology of O. australiensis Domin, O. glaberrima Steud. and O. stapfii Rosch. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **54**: 100-112.

Shastry, S. V. S. 1964. A new approach to study of rice karyomorphology. In "Rice Genetics and Cytogenetics," Proc. Symp., Los Banos, Philippines, 1963, pp. 62-67. Elsevier, Amsterdam.

Stebbines, G. L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Arnold, London.

Ward, E. J. 1980. Banding patterns in maize mitotic chromosomes. Can. J. Genet. Cytol. **22**: 61-67.

Wu, H. K. and S. S. Y. Li. 1964. Chromosome morphology of *O. sativa* and *O. australiensis* and their pairing in F_1 hybrid at earier meiosis. Bot. Bull. Acad. Sini. **5**: 162-169.

Yausi, K. 1941. Diploid bud formations in a haploid *Oryza* with some remarks on the behavior of nucleolus in mitosis. Cytologia **11**: 515-525.

Yeh, B. P. and M. T. Henderson. 1961. Cytogenetic relationships between cultivated rice *Oryza sativa* L. and five wild diploid forms of *Oryza*. Crop Sci. **1**: 445-450.

Yeh, B. P. and M. T. Henderson 1962. Cytogenetic relationships between African annual diploid species of *Oryza* and cultivated rice *O. sativa* L. Crop Sci. **2**: 463-467.

Yen, S. T. and W. G. Filion. 1977. Differential Giemsa staining in plants V. Two types of constitutive heterochromatin in species of *Avena*. Can. J. Genet. Cytol. **19**: 739-743.

Yosida, T. H. 1980. Cytogenetics of the Black Rat—Karyotype Evolution and Species Differentiation. University of Tokyo Press.

A COMPARISON OF KARYOTYPES AMONG SIX *ORYZA* SPECIES[1,2]

YOU-JYA CHEN and HSIN-KAN WU

Institute of Botany, Academia Sinica, Nankang, Taipei, Taiwan 115, Republic of China

Two cultivated (*O. sativa* and *O. glaberrima*) and four wild rice species (*O. perennis, O. breviligulata, O. punctata* and *O. australiensis*) were used as materials. Utilizing Kurata, Iwata & Omura's (1981) method of rice somatic chromosome preparation, including enzyme maceration and flame drying, an attempt was made to establish karyotypes of several *Oryza* species. Further, it was also to reveal interspecific relationships by comparing karyotype differences among those species.

With regard to the relative length of each chromosome, all observed species were not variable significantly, but the total length of the twelve chromosomes of *O. australiensis* was significantly longer than that of the other five species at 1% level (Table 5).

According to Levan *et al.* (1964), chromosome types in a complement were decided by a ratio of long arm over short arm. The distribution of chromosome types in six species determined in such a manner was not the same (Fig. 8). Briefly, *O. sativa* consisted of five pairs of M-chromosomes (metacentric), two pairs of ST-chromosomes (subtelocentric) and five pairs of SM-chromosomes (submetacentric). *O. glaberrima* and *O. breviligulata* consisted of four pairs of M-chromosomes, two pairs of ST-chromosomes and six pairs of SM-chromosomes. In *O. perennis* there were four pairs of M-chromosomes, three pairs of ST-chromosomes and five pairs of SM-chromosomes. In *O. punctata* and *O. australiensis* there were three pairs of M-chromosomes, two pairs of ST-chromosomes and seven pairs of SM-chromosomes.

Except that *O. perennis* had two pairs of nucleolar chromosomes, VIII and X, the rest species had only one pair. In *O. australiensis*, the nucleolar pair was chromosome VIII. In *O. sativa, O. glaberrima, O. breviligulata* and *O. punctata*, the pair was unique of chromosome X (Fig. 1–8).

In rice, the main part of heterochromatin usually exists in the two flanks of the centromere, and is so called centromeric heterochromatin. The centromeric heterochromatin of *O. australiensis* was particularly large and apparent

(1) Paper No. 256 of Scientific Journal Series, Institute of Botany, Academia Sinica.

(2) Portion of the work was submitted by the first auther in partial fulfillment of requirement for M.S. degree to the Graduate Institute of Agronomy, National Taiwan University.

(Figs. 7, 8).

The karyotypes of *O. sativa*, *O. perennis*, *O. glaberrima* and *O. breviligulata* were quite similar to each other in our observations. This supports the previous findings that *O. sativa* and *O. glaberrima* were monophyletic. However, there were some karyotypic differences among the four species, so their genomes should not be considered all the same. The genome of *O. sativa*, *O. perennis*, *O. glaberrima* and *O. breviligulata* was suggested in turn as A^sA^s, A^pA^p, A^gA^g and A^bA^b respectively. The karyotypes of *O. punctata* and *O. australiensis* were apparently different from each other and from that of the other four species. It reflected that they deserve to have BB and EE which have been respectively assigned to them. Due to its larger and more apparent centromeric heterochromatin, it was thought that *O. australiensis* is more primitive than the other species studied.