

我在臺大的稻作研究

文・圖／劉麗飛

我是1968年進入臺大農藝學系就讀，到現在還記得當時充滿憧憬的愉悅心情，因為我讀了一個以人類糧食為主題的學系，這是多麼重要的工作，值得我為它努力。讀到大三時更愛上作物育種學，當年分子生物學才剛剛冒芽，懵懂的我竟然以“直接將染色體分離出來，再送到細胞裡，達到改良的目的”作為育種學實習的報告，任課的侯愉老師給我很大的鼓勵，評了95分，這是我大學四年中得分最高的一門課，更引發我對作物改良的興趣。

1972年畢業以後，有幸到茶葉改良場工作，場長是對臺灣茶業貢獻卓著的吳振鐸教授，他對賴光隆教授的稻根組織培養研究很有興趣，因此指定我做茶樹的組織培養，同時協助茶樹育種栽培的工作，這段時間只有一年，卻讓我學到很多，尤其體會到大學所學偏於理論，到了現場，什麼也弄不清楚，一切從頭學起，可是實際去做了，卻又深感理論不足，需要加強，而且在學校時還沒有組培方面的課程，只好照著書本一步步地自己摸索，覺得實在不是辦法，所以一年後又回臺大農藝讀研究所，當時的系主任就是賴光隆教授。我向他表達育種學實習報告的構想，他就給了我兩篇菸草的研究報告，原來菸草已經可以藉由酵素分解細胞壁，得到原生質體，再進一步培養與融合，將二種野生菸草的染色體組合在一起，產生一個新的體細胞雜種，這真是了不起的突破，我歡喜萬分，躍躍欲試，經過深入討論後，決定在賴教授指導下對水稻進行相關研究，自此一頭栽進水稻的世界。

一開始，我信心滿滿，相信既然菸草可以培養成功，水稻應當也不難，未料禾本科植物與茄科植物完全不同，第一步從葉片分離原生質體就非常困難，進一步培養，試了又試，水稻原生質

體就是無動於衷，每一次的培養結果都失敗，相當挫折，信心開始動搖，碩士畢業後，考慮先去工作，這時賴教授輕描淡寫地說了一句話：「能念書的時候，就該好好把握機會早點念啊！」就這樣，因為老師的支持與鼓勵，我又鼓起勇氣繼續讀博士班。然而試驗一次又一次地做，紀錄一本又一本本地加厚，水稻原生質體的培養始終沒有動靜，壓力非常大，常常在夢中看到一顆顆原生質體滾來滾去而驚醒。漸漸地，國內外有些也研究水稻原生質體的學者都放棄了，很多關心我的師友勸我改材料，換個容易培養的植物，可以做很多深入的研究，這讓我常常陷入天人交戰。可能個性中有種執著吧，最後還是堅持下去，博士班5年，分析了水稻原生質體的其他特性，培養方面還是交了白卷，畢業時並不是很開心，論文離我的理想實在太遙遠。感恩的卻是，系裡系外的老師都對我愛護有加，恩師賴光隆教授更是從未責難。

畢業後有了全新的開始，感謝農藝系的師長給我機會留下來任教，我成了農藝系第一位女老師。面臨了教學與研究的挑戰，必須思考研究方向，我可以重新選擇試驗材料嗎？還記得在一次參加研討會的旅程中，與賴教授討論這個問題，他又一次輕描淡寫地說了一句話：「水稻是這麼重要的作物，還是應該有人繼續研究啊！」從此以後，我對我的研究材料再也沒有發出任何疑問，直到2007年退休，很歡喜的做了一些有趣的研究，由於前後時間上互相交錯，不容易依時序說明，所以分項來介紹。

水稻原生質體培養

回想起來，賴教授給我的指導是正確的，

而我自己的堅持也非常值得。1980年博士班畢業後，繼續與水稻原生質體奮戰了數年，最後終於解決了培養的困難，當第一眼看到由水稻原生質體生長出來的細胞團時，還非常懷疑，經重覆驗證後，才相信是真的。突破了這個難關，以後的試驗就順利多了。這時有王國忠、陳彥雄（現任農委會農糧署雜糧特作科科长）、鄭誠漢（現任農藝系技正）等碩士班研究生加入研究，大幅度提高原生質體培養、融合及再生效率，其中鄭誠漢先生參與時間最久，非常認真投入，得到水稻品種間的體細胞雜種，並嘗試用將水稻細胞質雄不稔性（CMS）轉移至栽培種，此外更嘗試水稻與稗子、水稻與狼尾草的原生質體融合，雖然成功得到雜種細胞系，可惜沒法進一步再生為植株。其後原生質體融合的研究漸漸減少，因為將兩套染色體組合在一起，容易產生不親和，問題很多，不是好的改良方法，而且，基因轉殖技術開始研發出來了，這是更有效率的改良方法。

水稻基因轉殖

原生質體研究漸漸停下來，1987-88年我申請到國科會進修計畫，前往美國康乃爾大學，在吳瑞教授研究室進修一年，學習分子生物學與基因轉殖技術，回國後，正式開始水稻基因轉殖的研究，這方面的工作陸續有王國忠、林怡君（現任職環保署）、趙雲洋（現任臺大農藝系博士後研究員）、洪傳揚（現任臺大農化系助理教授）、李鎮宇（現任職屏科大農園生產系）、陳斯婷（現就讀陽明大學微生物暨免疫學研究所博士班）、周書旭、王伯豪（現就讀美國賓州大學博士班）等人加入，因著大家的努力，逐步建立粒子槍法及農桿菌法基因轉殖系統，得到轉殖水稻植株，具有稔性，可得到正常之後代。前後陸續轉殖的基因包括：*pin II* 基因（抗蟲），海藻糖合成基因（耐旱）、MAPK基因（耐旱、鹽）、CBF基因（耐冷）、*salT*基因（耐旱、鹽）、*osmotin*基

因（耐旱、鹽）及*phytase*基因（減少環境污染）等，也分別進行各項農藝性狀與基因表現的分析。其中*phytase*基因轉殖水稻的構想，是希望把收穫的水稻穀粒添加於豬、雞飼料，*phytase*可以幫助分解*phytic acid*，將磷釋放出來提供豬、雞利用，相對降低糞尿中磷含量，減少糞尿對環境的污染，這是與中研院分生所余淑美博士合作，余博士同時也受聘為臺大農藝系兼任教授，聯合指導洪傳揚完成博士論文，因為投入時間較長，內容比較完整，得到非常具體的結果，並且有技術轉移給廠商，希望推動為商業生產產品。

水稻細胞培養及植株再生的研究

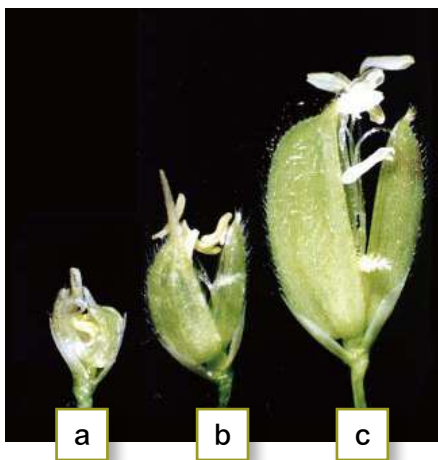
植物細胞具有分化全能性，即使變成單一細胞，經過培養後，也能分化再生成為完整植株，可是水稻的分化性似乎比較困難，不利於基因改良，因此我也花了一些時間來探討水稻植株再生的問題。首先選擇了30幾個品種進行培養，發現培養的細胞較乾，其再生植株的能力比較好，進一步證實以高濃度mannitol, sorbitol, agar等處理，對細胞造成高滲壓，可以有效促進細胞分化，再生為植株，其提高率達50%-90%，明顯提高水稻細胞培養的應用價值。一般的組培，在得到理想的培養條件，可以實際應用就很滿意了，可是我想深入了解，為什麼可以透過水分調節來影響細胞分化？究竟有什麼機制？

很高興有兩位博士班研究生、一位碩士生參加這個問題的研究，由曾一真小姐（碩）、李佳蕙（卉）小姐（現任職國科會生物處副研究員）探討植物荷爾蒙代謝，黃文理先生（現任國立嘉義大學農藝系副教授）探討細胞內糖與澱粉代謝、相關酵素的變化等，試驗中發展了酵素免疫定量法（ELISA）及組織免疫化學（Immunohistochemistry），結果發現滲透壓處理導致細胞內生長素（IAA）的累積，影響植物荷爾蒙cytokinin及ABA的代謝，同時促進澱粉的合成

與累積，當移除滲透壓處理時，迅速降低IAA含量，促進澱粉分解，提高glucose含量，經由這些變化造成細胞分化與植株再生。這個研究成果曾經在國際學術會議上發表，受到重視，有學者反應，他們回去試驗後，證實滲透壓處理確實非常有效而且實用。目前這個題目只做到滲透壓處理下與再生過程中的生理變化，很期盼有人能從分子生物學的角度，深入了解基因表現與調控的機制。

水稻培養細胞再生植株之體細胞變異

經由細胞培養再生的植株容易發生變異，這是屬於體細胞變異，其原因還不清楚，也無法掌控，如果變異太多當然就會影響基因改良的效果。這個題目就由研究生陳韻雯小姐（現任職中央研究院分生所研究助理）進行，這是一個非常辛苦的工作，韻雯每天在田裡認真埋頭苦幹，收穫了數千稻株，一株一株地考種、記錄、分析資料，結果發現第一代的再生植株（R₀世代）表現與原來品種差異不大，但是R₀世代自交繁殖產生的R₁世代，與R₁世代再自交繁殖產生的R₂世代中，卻發生各種性狀之變異，並呈現極複雜之分離現象，推測在培養過程中導致許多隱性的突



珍貴的水稻穎花突變體，可用於探討穎花發育的機制。

- a：內外穎發育嚴重受阻的突變體
- b：內外穎發育部分受阻的突變體
- c：正常水稻穎花

變，此種變異的頻率及範圍隨著培養時間明顯增加，但不受滲透壓處理的影響。這個結果提供了重要的訊息，日後基因轉殖試驗必須慎選材料及培養方法，以避免發生體細胞變異。

水稻懸浮培養細胞生理

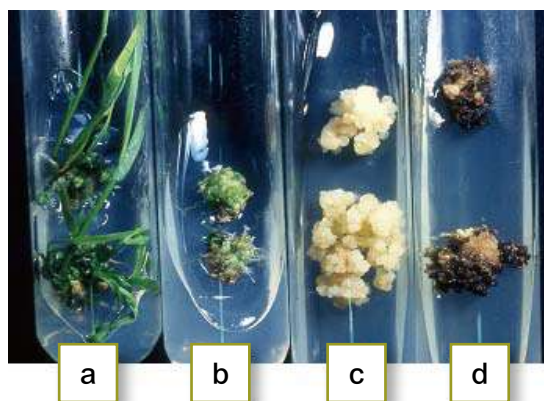
這項研究，是與本系高景輝教授合作，由研究生宋弘毅先生負責，主要探討懸浮培養細胞生長所需要的條件，及細胞生長過程中的生理變化，例如：缺糖時， α -澱粉分解酵素活性的變化及不同氮源下多元氮的變化等。

水稻 α -澱粉分解酵素基因表現之調控與利用

這一項研究非常有趣，是與余淑美教授合作，最初是由研究生郭彥宏先生（現在美國工作）進行，原始的構想，是希望利用水稻懸浮培養細胞大量迅速繁殖的優勢，探討植物荷爾蒙GA與ABA調控 α -澱粉分解酵素基因表現的機制，一開始試驗並不順利，完全看不出有調控基因表現的現象，但是延長培養時間以後， α -澱粉分解酵素大量表現，仔細推究其原因，赫然發現是培養基中糖份用完了，缺糖的狀況誘導 α -澱粉分解酵素基因表現，其蛋白質產物並可分泌到培養基內。這個發現在植株上是不可能看到的，因為沒法控制完全缺糖，只有在細胞培養的系統中才能清楚呈現。由於余淑美博士的積極與認真，從此開啟了一系列有趣的研究：了解了糖如何調控基因表現的分子機制，並進一步把這種調控機制研發為高價值重組蛋白質分子之生產系統，又因為這些研究而申請到了數項專利。

水稻內外穎相關基因之研究

這也是我非常喜愛的一項試驗，因為對植物花、葉片、根等的發育極有興趣，相關報告中有各式各樣的突變體，因此常常在想水稻穎花會有什麼樣的突變？可以改變內外穎的構造嗎？有一次有幸參觀農試所王強生博士、曾東海先生團隊



不同品種水稻之癒合組織分化再生植株能力有極大差異，啟發我思考究竟是什麼原因導致這種差異，最後發現滲透壓處理影響植株再生的機制。

- a：癒合組織再生植株能力高
- b：癒合組織可以分化小苗，但無法長成植株
- c：癒合組織無法分化再生植株
- d：癒合組織容易褐化，無法分化再生植株

水稻突變的材料，意外發現一個內外穎發育受到抑制的突變水稻，內外穎非常小，完全沒法結實，所以水稻收穫以後，這個植株不會被保留下來，記載中就從來沒有人發現到這種突變體，而我卻正巧能在開花的時候看到，真是欣喜若狂，此後花了些時間，努力繁殖了這個突變體，研究生劉昌郎先生（現任職雲林縣麥寮鄉公所）、康家豪先生（現任臺大農藝系研究助理）先後利用基因表現分析及晶片分析，進行基因比對，找出可能與內外穎發育有關基因，林雅芬小姐（現在荷蘭攻讀博士）並進行基因轉殖、*In situ* hybridization等相關分析，希望確認基因功能與基因表現之調控，可惜結果未能證明所轉殖基因與內外穎發育有關。2007年我退休後，把這個有趣的材料送給農藝系陳凱儀助理教授，他和研究生王聖善先生經過兩年研究，有很好的發現，明確地找到與內外穎發育有關的基因，這真是非常令人欣喜的事，很高興有人能繼續這個研究。



劉麗飛小檔案

1968年進入臺大農藝學系就讀，1972年畢業，1972-3年任茶業改良場研究助理，1975年取得臺大農藝所碩士，1980年取得臺大農藝所國家博士。1981年擔任農藝系講師，次年升任副教授，1987-88年赴美國康乃爾大學研究一年，1989年升任教授，並兼任人工氣候室主任，1999年再赴美國康乃爾大學研究半年，2007年退休，獲聘農藝學系名譽教授。退休後，繼續在校開授兩門通識課程：1.植物與糧食和2.飲食與文化；及新生專題課程：預約美麗人生；此外，於中正紀念堂開授終身學習課程，推廣健康飲食新觀念。

其他研究

除了上述與水稻有關的研究以外，我也花了一些時間發展多重PCR（聚合連鎖反應）技術，建立快速檢測基因轉殖玉米與大豆的方法，以期有效管控飼料的安全性，其中有來自尼泊爾的博士生哈利先生參與計畫，我退休後就移交給農藝系胡凱康副教授，並邀請他與本系張孟基助理教授共同繼續指導哈利，預計今年底可以順利畢業。

另外，也與本系張孟基助理教授共同著手探討了葉片發育的問題，不過研究材料選用了菸草，二位非常認真的碩士研究生劉秋萍小姐（現就讀臺大生物科技研究所博士班）、林維怡小姐（現就讀中研院生物科技研究所博士班）分別篩選出控制細胞分裂有關的基因，進行基因轉殖，觀察對葉片發育的影響，這也是非常有趣的題目，不過目前處於暫停的狀態，期待有緣人能繼續這方面的研究。

從1968年進入臺大就讀開始，到現在約40年了，非常感恩賴光隆教授對我的啟發，引領我進入水稻的領域，雖然有些研究工作並不成功，但是每一個過程都讓我學習、讓我深思、讓我歡喜，能有機會做自己喜歡的事是最幸福的。因為對生命的領悟，我提早退休，離開研究工作，但是沒有離開水稻，而是以另一種方式，向社會大眾傳遞健康飲食的觀念，讓大家認識米飯，健康的吃米飯，感覺上我與稻米更親近了，我想這會是一輩子的工作。

最後還是要說明，本文只是簡單描述我個人在水稻研究的歷程，事實上，臺大還有很多教授、同學對水稻研究有卓著貢獻，更值得大家努力發掘，讓我們一起向這些默默的工作者致敬。📷