

無融合生殖在植物生殖中的角色

黃祥益¹

摘 要

無融合生殖(apomixis)是指植物未經由受精作用產生無性生殖種子的現象，通常伴隨著正常有性生殖的過程發生，在大部分植物的有性生殖中為偶發現象。無融合生殖一般分為無孢子生殖(aposporous)及倍數體孢子生殖(diplosporous)兩類，前者由子房的體細胞發育而成，未經過減數分裂；後者由大孢子母細胞發展而得，但同樣未經過減數分裂。另一種情形則是需要極核(polar cell)受精，使胚乳正常發育，但胚未受精仍可正常發育，稱為假受精無融合生殖(pseudogamous apomixis)。有性生殖過程中產生無融合生殖必需逃避過減數分裂、胚的發育不經由受精作用，同時胚乳正常發育等三個要件。無融合生殖大多在多倍體與高度異質接合的物種中出現，可能與多倍體形成機制有關。到目前為止對於無融合生殖的遺傳調控機制所知仍然有限，不同物種間有所差異，如大黍(*Panicum maximum*)及毛茛(*Ranunculus auricomus*)由一對基因所控制，其他物種則由兩個以上基因所調控，如柑橘已知至少有6個與無融合生殖相關的數量性狀基因座(QTL)。無融合生殖基因目前在主要的作物中並未發現，若未來可將無融合生殖基因導入主要作物中，特別是生長勢強、抗病及抗逆境的品種，對傳統利用雜種優勢育成F₁品種的策略將面臨挑戰。

關鍵字：無融合生殖、多倍體、植物生殖

前 言

開花植物的生殖作用(reproduction)可分為有性(sexual)生殖及無性(asexual)生殖兩類。有性生殖包含雜交及自交；無性生殖則包含無融合生殖(apomixis)、單性生殖(parthenogenesis)及營養繁殖(vegetative propagation)等三種。有性生殖是植物經過減數分裂分別產生雌雄配子，再經配子接合(受精作用)發育成為有性種子的生殖方式。而無性生殖則是不經過有性配子接合的過程繁殖後代。無融合生殖及單性生殖均是由有性生殖器官或組織一部份

¹高雄區農業改良場助理研究員，國立屏東科技大學植物科學研究所博士生。

所發育而成(Grossniklaus *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2007; Richards, 2003)。二者主要的區別是無融合生殖是由於生殖細胞未進行減數分裂或減數分裂失敗，使新生成的細胞染色體數與大孢子母細胞(megaspore mother cell)相同，並持續生長成胚。而單性生殖則是由體細胞直接有絲分裂發育所得。

目前已知的無融合生殖植物物種有 400 種以上，包含 330 屬，大部份分佈於寒帶地區(Grossniklaus *et al.*, 2001; Richards, 2003)。無融合生殖目前被研究的方向主要針對(1)解剖及發生學，(2)遺傳控制機制，(3)族群結構(population struction)，(4)族群演化趨勢(evolutionary potential)等 4 項(Richards, 2003)。無融合生殖除了在遺傳及生理學上的研究之外，未來在作物育種上的利用亦深具潛力(Bicknella and Koltunow, 2004; Grimanelli *et al.*, 2001)。

無融合生殖的特性

由於無融合生殖的發生源自於有性生殖的過程，從有性生殖轉變為無融合生殖必需具有一、要避開減數分裂(meiosis)。二、胚由未受精的卵發育而成。三、胚乳不論受精與否，可正常發育 (Grimanelli *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2007)。等 3 個條件才能成功發展為無融合種子。

依照發育機制可將無融合生殖分為倍數孢子生殖(diplospory)、無孢子生殖(apospory)及不定胚(adventitious embryony)三類(Grimanelli *et al.*, 2001; Koltunow, 1993; Koltunow *et al.*, 1995; Spielman *et al.*, 2003)。倍數孢子生殖及無孢子生殖的發生是由於胚囊中的細胞未經減數分裂或減數分裂不完整而形成，不定胚則是由胚囊細胞直接分裂生成。倍數孢子生殖完全未經過減數分裂，由大孢子母細胞直接有絲分裂者稱為"mitotic diplospory"；若經過不完整減數分裂而成者稱為"meiotic diplospory"(圖 1)，二者所生成的無融合配子染色體套數均與胚囊細胞相同。

無孢子生殖則是由胚囊細胞直接分裂形成無融合胚，無孢子生殖的創始(aposporic initial)與正常有性生殖細胞的減數分裂會出現在同一個胚囊中，在無孢子生殖植物聖約翰草(*Hypericum perforatum*)胚囊發育時即被觀察到無孢子生殖創始與大孢子母細胞減數分裂的四分子體(tetrad)同時出現在同一胚囊中(Barcaccia *et al.*, 2006)，且無孢子生殖的創始與大孢子母細胞的減數分裂(即大配子形成，megagametogenesis)同時發生(圖 2)。另一情形則是中央細胞需正常受精，胚乳正常發育的狀況下，胚未受精由單性生殖而來，稱為假受精無融合生殖(pseudogamous apomicts)。

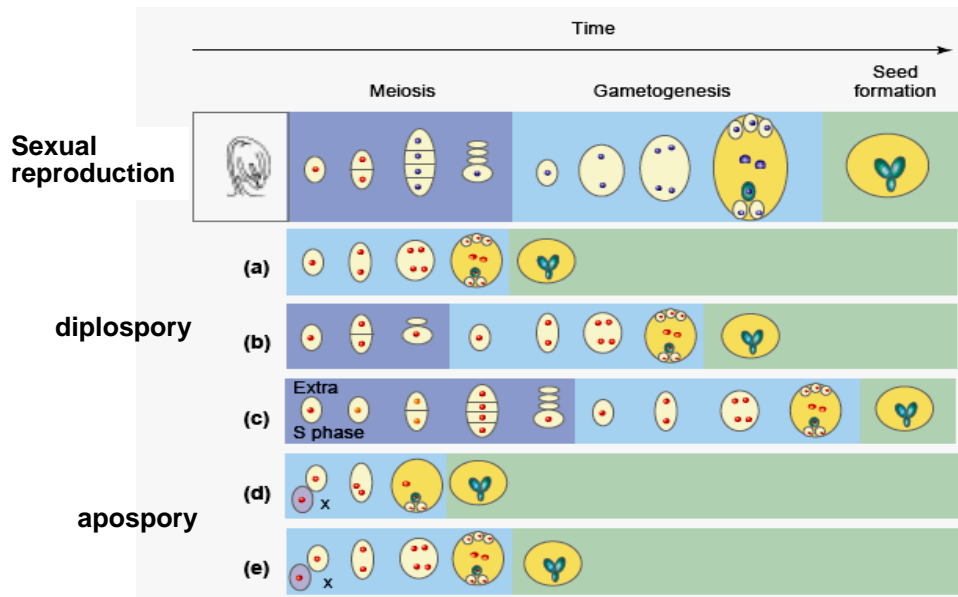


圖1.無融合生殖發展機制。(a) 有絲分裂倍數孢子生殖。(b)~(c) 減數分裂倍數孢子生殖。(d)~(e) 無孢子生殖。

Fig 1. Mechanism of apomictic development. (a) mitotic diplospory (b)~(c) meiotic diplospory (d)~(e) apospory. (Grimanelli *et al.*, 2001)

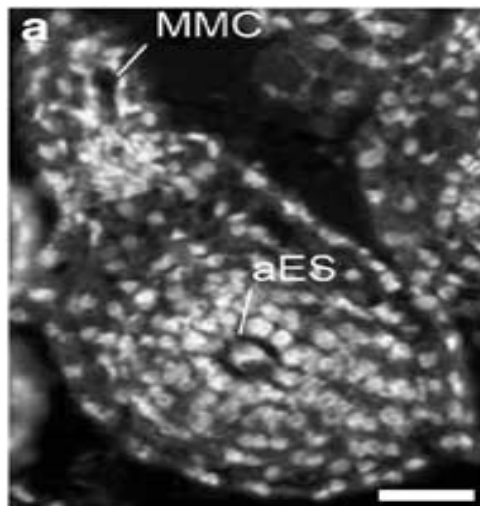


圖2.聖約翰草(*Hypericum perforatum*)大配子形成過程中，子房出現有性及無性孢子胚囊(aES)。MMC：大孢子母細胞

Fig 2. Ovule with a sexual and aposporic embryo sac(aES) within megagametogenesis in *Hypericum perforatum*. MMC:megaspore mother cell (Barcaccia *et al.*, 2006)

大部分無融合植物染色體為多倍體(polyploid)，從二倍至八倍體均可發現，大部分為四倍體，聖約翰草(*Hypericum perforatum* L.)及蒲公英(*Taraxacum*)中可發現此一現象。且大多數的無融合植物族群同時存在有性生殖與無性生殖個體例如大黍(*Panicum maximum*)、毛茛(*Ranunculus auricomus*)及山柳菊(*Hieracium pilosella*)等物種在天然族群中可發現不同倍數體及有性、無性繁殖個體同時存在(Grimanelli *et al.*, 2001; Koltunow, 1993)。不同倍數體及不同生殖型態個體雜交後代的染色體數及生殖表現型的變異極大。Martínez (2007)等人利用雀稗(*Paspalum simplex*)有性二倍體、三倍體及四倍體分別與無性的三倍體雜交所得到的後裔進行染色體套數分析，結果發現有性三倍體($2n=3x=30$)與無性三倍體雜交後代的染色體數在20-40之間呈現連續性分佈(表1)，且出現不整倍數體(euiploid)。有性二倍體與無性三倍體的組合的後裔均為二倍體；有性四倍體與無性三倍體的雜交後代染色體數則趨近四倍體。且所有組合的二倍體後裔均為有性後代。

無融合生殖之遺傳育種研究

無融合植物經過雜交受精之後代無法產生無融合二倍體的主要原因有兩個假說，第一是控制無融合生殖的基因與致死基因連鎖，導致無融合基因同質接合時，致死基因也同時表現，使無融合二倍體種子無法生成。第二是含量需求(dosage requirement)的假說，無融合生殖的表現為數量遺傳性狀，需要遺傳因子累積到一定量才能表現，二倍體所累積的量尚不足以使無融合生殖表現(Matzk *et al.*, 2005)。但含量需求尚無直接證據證明，且此一假說並無法解釋有些二倍體植株，仍存有無融合生殖特性。

在蒲公英野生族群中收集的天然雜交種子所培育之二至四倍體植株，以人工授粉進行互交結果發現後裔之染色體套數與母本之染色體套數較接近(圖3)，但二倍體母本與四倍體父本雜交之後代則大部分為三倍體(Verduijn *et al.*, 2004)。Schranz等人(2006)以十字花科的有性二倍體*Beochera stricta*作為母本與無融合生殖二倍體*Beochera divaricarpa*進行種間雜交，並自F₁世代中選出三倍體品系($2n = 3x = 21$)進行自交，發現自交所得之F₂世代之染色體數分佈於三倍至四倍體間的不整倍數體($2n = 21-28$)。此外，在上述兩種植物的後裔中也發現有性及無融合生殖後代的比率及表現並不穩定，而且不同物種所呈現的狀況差異極大。

表 1. 雀稗(*Paspalum simplex*)無融合三倍體與有性基因型雜交之二倍體後裔的染色體數調查

Table 1. Crosses performed to determine the feasibility of transmitting apomixis and the method of transmission from an apomictic triploid genotype of *Paspalum simplex* to sexual genotypes of the same species. (Martínez *et al.*, 2007)

Crosses*	Number of plants with 2n															
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	30	32	37	38	39	40	
S 2x × A 3x																
C3-32×U45	28	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
S 3x × A 3x																
U36×U45	4	10	8	9	5	1	1	1	3	2	2	1	1	1	0	
S 4x × A 3x																
C1B2×U4	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1	2	4	7	
C1-2×U45	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	7	16	

* S 2x indicated sexual diploid, S 3x was sexual triploid, S 4x was sexual tetraploid, A 3x was apomixis triploid.

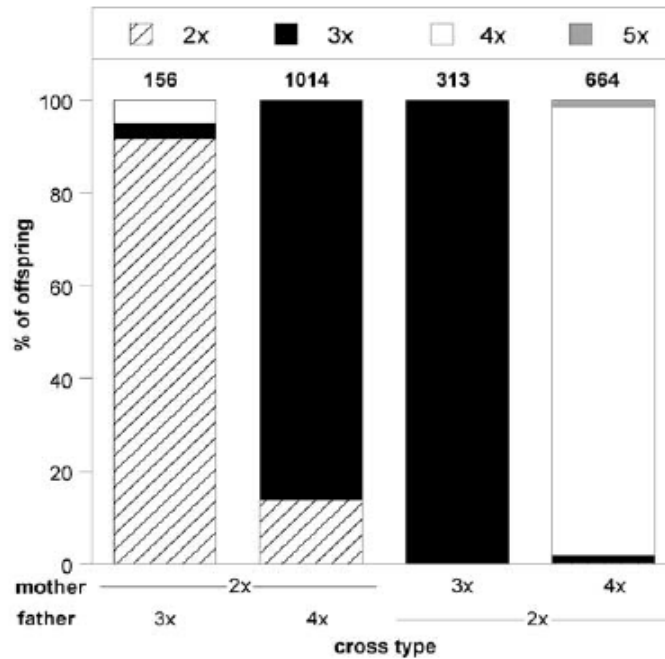


圖3. 蒲公英G1代二倍體植株與多倍體雜交後代之倍數體組成

Fig 3. Progeny composition of reciprocal crosses of dandelions between diploid G1 plants and G1 plants of a higher ploidy level.

(Verduijn *et al.*, 2004)

此情形在復活節雛菊(*Townsendia hookeri*) (Thompson and Ritland, 2006)、冬蓬菊(*Erigeron annuus*)(Noyes, 2005; Noyes *et al.*, 2007)及山柳菊 (*Hieracium*) (Tucker *et al.*, 2003)等物種中也被觀察到不同的表現。雖然無融合植物雜交後裔染色體及遺傳變化較大,但無融合生殖特性能維持穩定的情況下,良好的性狀容易保存,但其缺點是族群的遺傳歧異度低(van Dijk and van Damm, 2000)。

另一與無融合生殖特性有關的性狀是花粉的稔性,Meirmans 等人(2006)觀察蒲公英族群,發現二倍體常具自交不親和性,而三倍體多具雄不稔性。若以雄不稔二倍體為母本與無融合三倍體雜交,其後代多為雄不稔無性多倍體。若以雄可稔二倍體為母本與雄不稔三倍體雜交則會產生二、三、四倍體種子,但有活力的種子很少。此一結果顯示蒲公英雖具有雄不稔的特性,但是由於無融合生殖的存在巧妙地彌補生殖作用中的缺口。

無融合生殖的遺傳控制

關於無融合生殖的遺傳調控有兩個假設,一是無融合植物是源自有性生殖的祖先;另一個假設認為無融合生殖的出現,是因為有性生殖中一些關鍵時期的基因表現缺失或新的基因參與有性生殖步驟所造成(Matzk *et al.*, 2005)。早期對於無融合生殖遺傳的觀察中發現不同物種的無融合生殖作用由不同基因座控制,並且認為是由一對或兩對基因所控制。但最近由於研究對象增加且細胞遺傳及分子鑑定技術有長足的進展,發現許多無融合生殖物種是由多個基因,甚至是數量性狀基因座(quantitative trait locus, QTL)所控制;例如,柑橘類即由 6 個以上相關 QTL 控制(Chaudhury *et al.*, 1998; Richards, 2003)。目前已有些參與無融合生殖的基因表現及作用的位置被找出(圖 4),但調控的細節仍然不完整。

Matzk 等人(2005)觀察肯德基藍草(Kentucky bluegrass, *Poa pratensis*)中特定的 5 組參與有性及無融合生殖的基因在雜交後代中基因型與表現型相關性的調查中發現,各基因間의 交互作用極為複雜,不同基因型組合與表現型間無法歸納出具體可解釋的結論。且特定基因型組合對表現型的影響不穩定,呈現較大的變異。其原因可能是雜交後代分析的取樣數太少,造成分析時變異過大,無法呈現表現趨勢。無融合生殖現象的發生除物種本身具有控制基因之外,一般有性生殖植物,也可藉由生殖基因變異的方式造成無融合生殖的情形(Chaudhury *et al.*, 1998; Lohe and Chaudhury, 2002),例如阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana*)的生殖由 3 個 *FIS* 基因控制,若其中一組基因發生變異,即因此出現無融合生殖,如發生 *fis-2* 基因突變時,在角果中會出現未受精的種子,未發育種子與未受精種子的比率為 1:1。

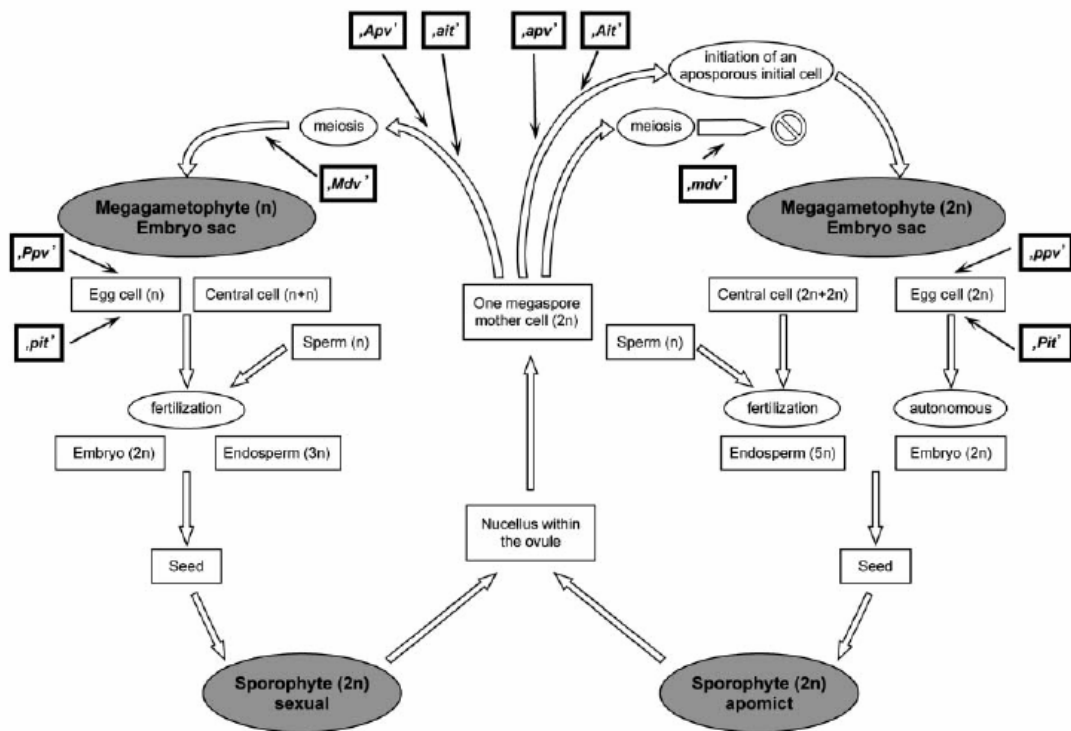


圖 4.經由有性及假受精無融合生殖的生活史。粗框線方格為與無融合生殖相關之基因。

Fig 4. Life cycle via the sexual and the aposporous-pseudogamous reproduction. Thick borderline boxes are apomixis relative genes.

(Matzk et al., 2005)

無融合生殖的應用

由於無融合生殖未經過減數分裂及受精作用而發展成胚，可將母本遺傳特性完整的保留，避免因減數分裂及受精作用，將遺傳特性改變。若能將此特性掌握利用於作物的育種，對於傳統一代雜交(F₁)品種的育種策略是極大的挑戰。Grimanelli等人(2001)建議無融合生殖育種策略模式(圖 5)，將具無融合生殖特性植株作為雜交親本，再將具無融合生殖特性之雜交後代固定，即可獲得無融合生殖後代。

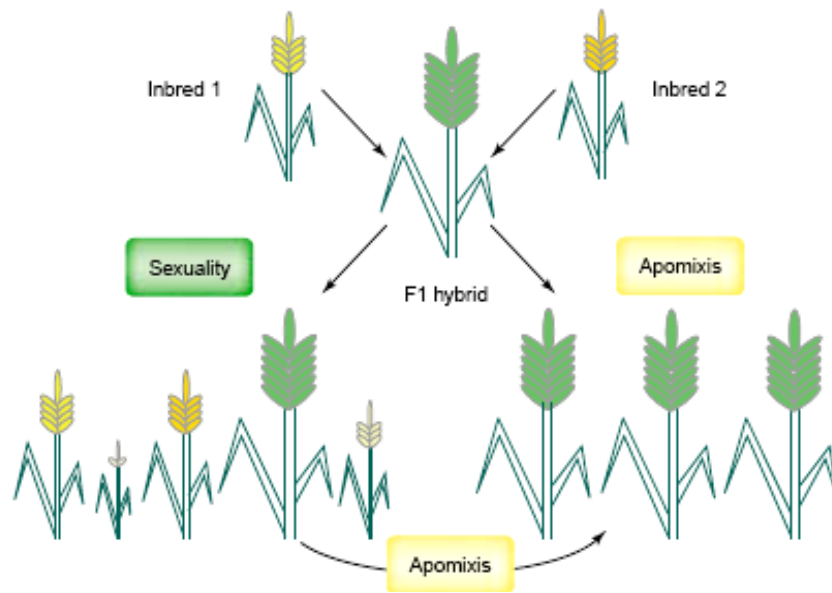


圖5.無融合生殖在農業上的潛力

Fig 5. Apomixis and its potential in agriculture. (Grimanelli *et al.*, 2001)

目前作物中以樹薯的無融合生殖育種有較為具體的結果被報導(Nassar and Collevatti, 2005; Nassar *et al.*, 2007)，Nassar 及 Collevatti利用有性栽培種樹薯(*Manihot esculenta*)與抗蟲、抗病的無融合生殖野生種樹薯(*M. glaziovii*)進行雜交，得到兩個無融合和生殖F₁品系，以微衛星(microsatellite)分子標誌鑑定結果，所有後代全部具無融合生殖特性。但篩選 29 個F₂後裔品系僅 20%為無融合後代。由此結果可發現樹薯的無融合生殖發生率隨雜交世代增加而下降，在不同的環境無融合生殖表現不穩定。另外，為增加遺傳歧異度適應環境而產生有性生殖。除樹薯之外，熱帶、亞熱帶果樹(如柑橘與芒果)及牧草、草坪作物可能是比較有潛力可應用無融合生殖育種的作物(Bicknella and Koltunow, 2004)。主要理由是這些作物的都已具有無融合生殖及多倍體品種，最符合無融合生殖的基本條件。

結 論

無融合生殖介於有性及無性生殖作用間的關鍵作用，因此在族群生殖方式及染色體倍數演化趨勢上扮演關鍵之角色。對於環境的適應上相對於其他物種是比較具有競爭優勢。無融合植物族群在穩定環境中可將遺傳性狀較完整保存。但其對於突發的環境變化適應性較差，不過由於目前所知的無融合

生殖植物大多同時具有有性生殖的功能，尚有機會產生可適應環境變化的變異。

目前對於無融合生殖遺傳機制的研究僅建構出初步的輪廓，較不易進行的主要原因為無融合生殖雜交後代數量少，可得到的資訊，相對於整個族群所可能涵蓋的變異量而言，往往不足。另外，目前所被報導與無融合生殖相關的基因尚無法解釋無融合生殖被觀察到的現象，可能另有重要的基因未被找到。

無融合生殖的應用，除前述已具備基本條件之物種外，重要的穀類作物如水稻、小麥、大麥、玉米等若能利用傳統方法或生物技術將此特性導入，將會是另一波的綠色革命。

參考文獻

1. Barcaccia, G., F. Arzenton, T.F. Sharbel, S. Varotto, P. Parrini and M. Lucchin. 2006. Genetic diversity and reproductive biology in ecotypes of the facultative apomict *Hypericum perforatum* L. *Heredity* 96: 322-334.
2. Bicknella, R.A. and A.M. Koltunow. 2004. Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell* 16:S228-S245.
3. Chaudhury, A.M., S. Craig, E.S. Dennis and W.J. Peacock. 1998. Ovule and embryo development, apomixis and fertilization. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1:26-31.
4. Grimaneli, D., O. Leblanc, E. Perotti and U. Grossniklaus. 2001. Developmental genetics of gametophytic apomixes. *Trends Genet.* 17:597-604.
5. Grossniklaus, U., G.A. Nogler and P. J. van Dijk. 2001. How to avoid sex: The genetic control of gametophytic apomixes. *Plant Cell* 13:1491-1497.
6. Koltunow, A.M. 1993. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell* 5:1425-1437.
7. Koltunow, A.M., R.A. Bicknell and A.M. Chaudhury. 1995. Apomixis: Molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. *Plant Physiol.* 108:1345-1352.
8. Lohe, A.R. and A. Chaudhury. 2002. Genetic and epigenetic processes in seed development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:19-25.
9. Martínez, E.J., C.A. Acuña, D.H. Hojsgaard, M.A. Tcach and C.L. Quarín. 2007. Segregation for sexual seed production in *Paspalum* as directed by male gametes of apomictic triploid plants. *Ann. Bot.*

- 100:1239-1247.
10. Matzk, F., S. Prodanovic, H. Bäumlein and I. Schubert. 2005. The inheritance of apomixis in *Poa pratensis* confirms a five locus model with differences in gene expressivity and penetrance. *Plant Cell* 17:13-24.
 11. Meirmans, P.G., H.(J)C.M. Den Nijs, and P.H. Van Tienderen. 2006. Male sterility in triploid dandelions: asexual females vs asexual hermaphrodites. *Heredity* 96:45–52.
 12. Nassar, N.M.A. and R.G. Collevatti. 2005. Breeding cassava for apomixes. *Genet. Mol. Res.* 4:710-715.
 13. Nassar, N.M.A., D.C. Kalkmann and R. Collevatti. 2007. A further study of microsatellite on apomixis in cassava. *Heredity* 144:181-184.
 14. Noyes, R.D. 2005. Inheritance of apomeiosis (diplospory) in fleabanes (*Erigeron*, Asteraceae). *Heredity* 94:193–198.
 15. Noyes, R.D., R. Baker and B. Mai. 2007. Mendelian segregation for two-factor apomixes in *Erigeron annuus* (Asteraceae). *Heredity* 98:92–98.
 16. Richards, A.J. 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358:1085-1093.
 17. Schranz M.E., L. Kantama, H. de Jong and T. Mitchell-Olds. 2006. Asexual reproduction in a close relative of *Arabidopsis*: a genetic investigation of apomixis in *Boechera* (Brassicaceae). *New Phytol.* 171:425-438.
 18. Spielman, M., R. Vinkenoog and R.J. Scott. 2003. Genetic mechanisms of apomixes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358:1095-1103.
 19. Thompson, S.L. and K. Ritland. 2006. A novel mating system analysis for modes of self-oriented mating applied to diploid and polyploidy arctic Easter daisies (*Townsendia hookeri*). *Heredity* 97:119–126.
 20. Tucker, M.R., A.G. Araujo, N.A. Paech, V. Hecht, Ed D.L. Schmidt, J. Rossell, S.C. de Vries, and A.M.G. Koltunow. 2003. Sexual and apomictic reproduction in *Hieracium* subgenus *Pilosella* are closely interrelated developmental pathways. *Plant Cell* 15:1524-1537.
 21. van Dijk, P. and J. van Damme. 2000. Apomixis technology and the paradox of sex. *Trends Plant Sci.* 5:81-84.
 22. Verduijn, M.H., P.J. van Dijk and J.M.M. van Damme. 2004. The role of tetraploids in the sexual–asexual cycle in dandelions (*Taraxacum*). *Heredity* 93: 390-398.