

萬代蘭類切花育種與遺傳分析 (文獻報告)

郭嫻婷、劉明宗

前言

蘭科是被子植物種類當中最大之一，包含了 7%~10% 的開花植物種類，至少 1000 屬，25,000 ~30,000 個種，其中萬代蘭 (*Vanda*) 在蘭花切花育種及產業應用上，是非常重要一類，萬代蘭屬 (*Vanda*) 屬於萬代蘭族 (tribe Vandaeae)、指甲蘭亞族 (subtribe Sarcanthinae)，原產於熱帶亞洲，約有 80 個原種，部分為單莖類的附生蘭，少部分為石生蘭 (lithophytic) 或地生蘭 (terrestrial)，分佈於印度、喜馬拉雅、中國南部、印尼、菲律賓及澳洲南部等區域。而所謂萬代蘭類蘭花 (Vandaceous Orchids 或稱 *Vanda alliances*)，則是指包含萬代蘭屬 (*Vanda*) 在內，約有 1000 多種與萬代蘭近緣的蘭花之統稱，這些蘭花與萬代蘭屬間，具有相似的生理特性，例如喜好充足的日照、為單莖，且常常可以相互進行雜交，但因父母本親緣關係較遠，雜交後代多因不正常的減數分裂，染色體無法順利配對，因而多具不稔性。萬代蘭類作為切花具備許多優勢，包含可密植 (每公頃可達 60,000 株)，易於栽培，可以露天方式或部分遮蔭進行，且切花瓶插壽命可長達 2 周，新加坡的育種者利用指甲蘭族之萬代蘭類蘭花，約 86 個屬進行育種，育出許多優良的商業品種，並比較其特性及各遠緣雜交屬之差異與特性。同時，亦有分子標誌分析方法的開發，主要是利用 RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA)，用於辨別不同種類萬代蘭，可應用於種源保存辨識，或協助育種材料遺傳背景的辨識，以提高育種效率。

萬代蘭類切花之遠緣雜交育種

萬代蘭類屬間雜交種的「屬名」，原則上是由父母本組合而來，如 *Aranthera* 為 *Arachnis* × *Renanthera*、*Aranda* 為 *Arachnis* × *Vanda*、*Ascecenda* 為 *Ascocentrum* × *Vanda* 等。若為三屬以上的雜交屬名，則以第一個育種者等名稱加上 'ara' 的字尾，如莫氏蘭-Mokara (*Arachnis* × *Vanda* × *Renanthera*) 是首次由 C. Y. Mok 於 1969 年所育出。在新加坡的重要萬代蘭類商業切花品種多是由「屬間」及「種間」雜交而來，主要使用的材料包含龍爪蘭屬 (*Arachinis*)、萬代蘭屬 (*Vanda*)、腎藥蘭屬 (*Renanthera*)、百代蘭屬 (*Ascocentrum*) 及指甲蘭屬 (*Aerides*)

等（表一）。其中以龍爪蘭使用得最多，主要是貢獻其優良的瓶插壽命，各種組合當中，以 *Aranda* 及莫氏蘭 (*Mokara*) 二者後裔之表現較佳，亦具有較高的商業重要性。

Aranda 蘭之育種及雜交後裔類型

利用龍爪蘭屬與萬代蘭屬進行屬間雜交育種得到 *Aranda* (*Arachnis* × *Vanda*) 其育種的架構如圖一。第一代雜交後裔多為 $2n=38$ 的二倍體，各具一套父母本基因組(AV,龍爪蘭基因組代號 A、萬代蘭基因組代號 V)，因親緣性較遠，大部分不稔，但在特定的組合下，卻有相對較高的機率產生 $2n$ 配子（未減數配子），但不易產生雄配子，因此作為「母本」使用，再與 2 倍體萬代蘭屬 (VV) 雜交可獲得 3 倍體的第二代雜交後裔，遺傳組成為 AVV，此二代雜交後裔表現通常優於第一代，具有較佳的花朵品質及生長勢。 $2x$ *Arachnis* (AA) × $4x$ *Vanda* (VVVV) 或 $4x$ *Aranda* (AAVV) × $2x$ *Vanda* (VV) 亦可雜交並獲得遺傳組成為 AVV 之三倍體後裔，但相對而言，四倍體的 *Aranda* (AAVV) 及 *Vanda* (VVVV) 個體數量極少，不易利用此途徑獲得 AVV 個體。而利用 $2x$ *Aranda* (AV) × $4x$ *Vanda* (VVVV) 可獲得四倍體 *Aranda* (AVVV)，雖四倍體具有較大的花朵直徑 (11-12cm)，但因生長速度太慢、花朵數較少等特性，商業特性反而不如三倍體個體。

莫氏蘭育種及遺傳組成

為了進一步改善龍爪蘭屬及萬代蘭屬的顏色限制，育種家應用百代蘭 (*Ascocentrum*，基因組代號 As) 的加入，進一步獲得顏色鮮艷、多彩的切花種類-莫氏蘭，莫氏蘭主要是由三個不同的屬相互雜交而來。2 倍體的莫氏蘭主要由 2 倍體龍爪蘭 (AA) 雜交 2 倍體千代蘭 (AsV) (*Ascocenda*，由百代蘭 *Ascocentrum* × 萬代蘭 *Vanda*) 而來，雖然千代蘭為百代蘭及萬代蘭之屬間雜交，然而其雜交後裔染色體可正常配對（顯示其親緣性相當接近，近年來在分類上也將百代蘭屬視為萬代蘭屬之同物異名種，或將千代蘭併入萬代蘭屬之中），因此推測其後代其基因組成為 $A + 1/2 (As + V)$ (圖二)，然而二倍體的莫氏蘭花朵較小，橫徑僅約 4.5-5.5cm，若利用部分 *Aranda* 易產生 $2n$ 配子的特性，與二倍體千代蘭雜交，則可產生花朵較大的三倍體莫氏蘭，推測其基因組成為 $A + V + 1/2 (As + V)$ 。若利用二倍體的莫氏蘭與 2 倍體萬代蘭或與 2 倍體千代蘭雜交，亦可產生三倍體

的莫氏蘭，惟基因組成略有差異（詳見圖二）。三倍體的莫氏蘭明顯優於二倍體個體的表現，具有生長勢佳、產量高且花朵較大的優勢（橫徑 8-9cm）。藉由細胞遺傳分析，可以觀察到不論是二倍體或是三倍體的莫氏蘭，皆有二分體孢子發生的情形，亦即能產生 2n 配子，雖然比率很低，但仍具備突破遠緣雜交育種瓶頸之應用潛力。

RAPD 分子標誌於萬代蘭類之遺傳分析

萬代蘭屬蘭花依其葉子的形狀，可分為二群，帶狀葉（strap-leaved）及柱狀葉（terete-leaved），其中柱狀葉萬代蘭相較於帶狀葉萬代蘭需要更多的日照，而這二群內的種間雜交種可觀察到染色體同源性高，雜交後裔稔性高，但跨群之間的雜交則常常產生不稔的後裔，這樣的特性不僅在萬代蘭屬之內可發現，某些類別的跨屬雜交也有相似的情形，利如「帶狀葉-千代蘭」與「帶狀葉-萬代蘭」雜交後裔，其染色體同源性甚至高於「帶狀葉-萬代蘭」及「柱狀葉-萬代蘭」之雜交。Lim 等人在 1999 年利用 RAPD（Random Amplification of Polymorphic DNA）技術，分析不同萬代蘭間之親緣性，試驗結果顯示同葉形的原生種間遺傳相似度較高，符合細胞遺傳分析的結論與雜交後裔稔性的表現，此外，參試了二個非萬代蘭屬的原生種 *Ascocentrum miniatum* 及 *Euanthe sandariana*，其葉形皆屬帶狀葉，遺傳相似度的分析結果也與帶狀葉萬代蘭相近。後來在 2014 年出版的 *Genera Orchidacearum Volume 6* 當中，*Euanthe sandariana* 確實再被改回 *Vanda sandariana*，而千代蘭屬 (*Ascocentrum*) 也被歸屬至萬代蘭屬，柱狀葉的萬代蘭，也被歸為另一個屬-鐵釘蘭屬 (*Papilionanthe*)，這些分類方式皆與試驗的分析結果符合。2012 年 Tanee 等人利用 RAPD 技術分析 10 個泰國的萬代蘭原生種、雜交種及其他近緣屬（圖三、表二），試驗結果顯示，依據遺傳距離 (D 介於 0.15-0.17 之間可視為同一種類)，可以分辨推測出未知的原生種，雖然仍無法辨別雜交種之父、母本為何，但 RAPD 技術仍被認為是很適合作為萬代蘭原生種遺傳親緣分析的應用。

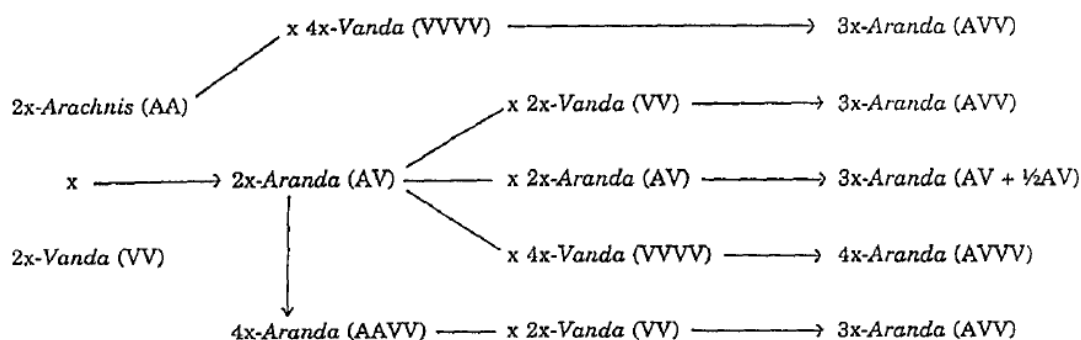
結論

萬代蘭切花近年來在臺灣有逐漸增加的趨勢，除了內銷市場外，也有外銷日本、荷蘭、香港等地。主要生產地集中於中、南部地區，但仍有不耐低溫儲運、瓶插壽命表現較差等現象，因此，除了提高觀賞性外，仍需要針對適合臺灣環境、提

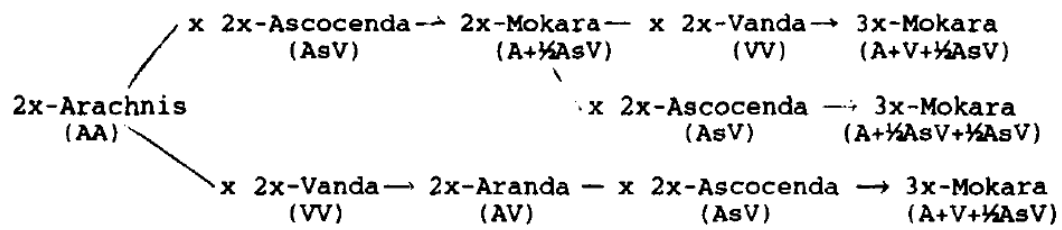
高切花品質、瓶插壽命及縮短生長期等目標進行育種，由新加坡的育種策略可看出萬代蘭類可利用「遠緣雜交」，將多樣化的萬代蘭類蘭花之優良花色、長瓶插壽命等特性導入，加上已有相關 RAPD 技術可用來分析原生種間之親緣性，未來也許有機會應用於分析父母本親緣性，以提高雜交成功機率。藉由相關技術的瞭解與應用，希望能創造適合臺灣的優良品種，以提昇臺灣萬代蘭切花產業。

表一、新加坡重要的萬代蘭類商業切花種類：

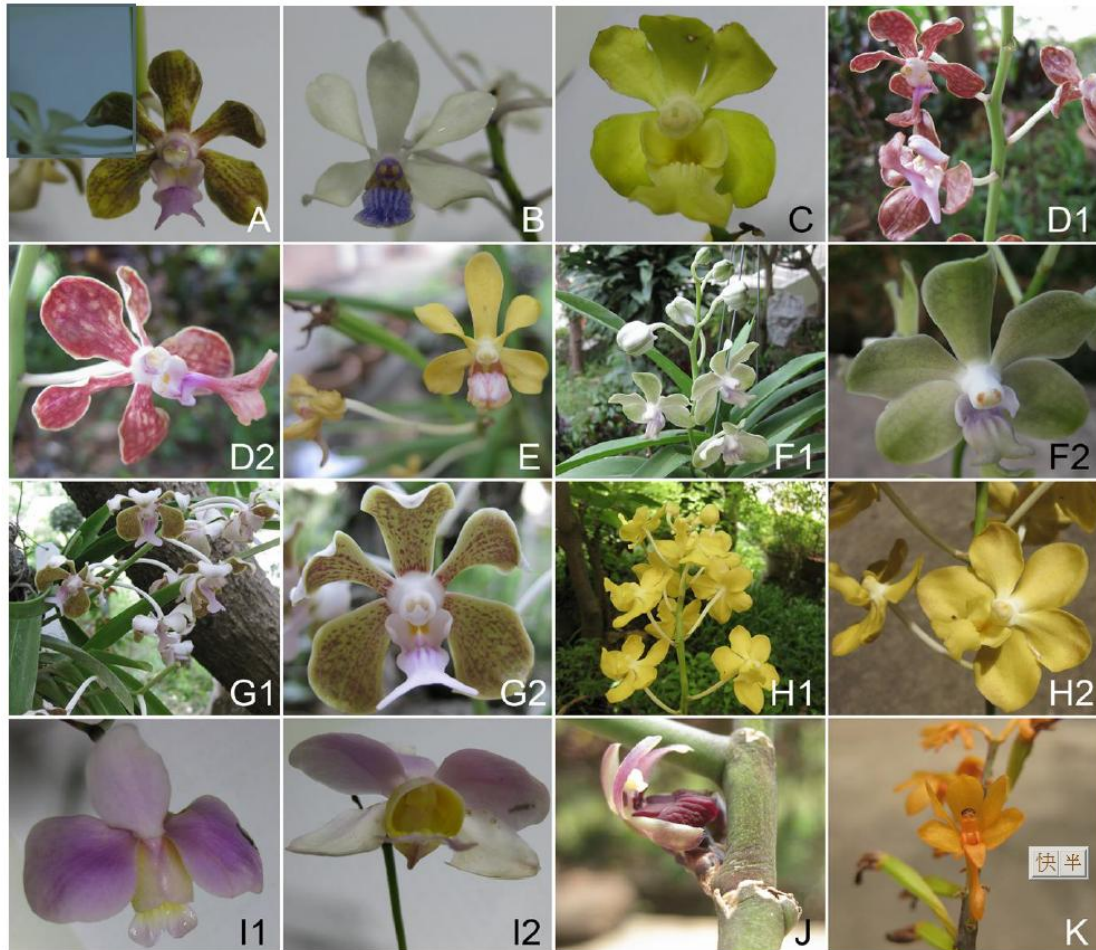
<i>Aranda</i> (<i>Arachnis</i> × <i>Vanda</i>)
<i>Mokara</i> (<i>Arachnis</i> × <i>Vanda</i> × <i>Ascocentrum</i>)
<i>Arachnis</i> (該屬內種間雜交品種)
<i>Aranthera</i> (<i>Arachnis</i> × <i>Renanthera</i>)
<i>Renantanda</i> (<i>Renanthera</i> × <i>Vanda</i>)
<i>Aeridachnis</i> (<i>Aerides</i> × <i>Arachnis</i>)
<i>Aeridovanda</i> (<i>Aerides</i> × <i>Vanda</i>)
<i>Holttumara</i> (<i>Arachnis</i> × <i>Vanda</i> × <i>Renanthera</i>)
<i>Leeara</i> (<i>Arachnis</i> × <i>Vanda</i> × <i>Vandopsis</i>)



圖一、Aranda 蘭花之育種架構。(Lee, et al., 1996)



圖二、莫氏蘭之育種架構。(Lee, 1995)



圖三、萬代蘭屬原生種、雜交種、其他近緣原生種。A. *V. bensonii*; B. *V. coerulescens*; C. *V. denisoniana*; D. *V. liouvillei*; E. *V. testacea*; F. Hybrid 1; G. Hybrid 2; H. Hybrid 3; I. *Papilionanthe teres*; J. *Luisia thailandica*; K. *Ascocentrum miniatum*. (Tanee et al., 2012; African Journal of Biotechnology V11(55) pp.11772-11781)

表二、萬代蘭屬原生種、雜交種、其他近緣原生種之遺傳距離分析。(Tanee et al., 2012; African Journal of Biotechnology V11(55) pp.11772-11781)

Vanda spp.	<i>V. bensonii</i>	<i>Vanda</i> sp. 1	<i>Vanda</i> sp. 2	<i>V. brunnea</i> 1	<i>V. brunnea</i> 2	<i>V. coerulea</i>	<i>V. coerulescens</i>	<i>V. denisoniana</i>	<i>Vanda</i> sp. 3	<i>V. pumila</i>	<i>V. lilacina</i> 1	<i>V. lilacina</i> 2	<i>V. liouvillei</i>	<i>V. testacea</i>	<i>V. tessellata</i>	Hybrid 1	Hybrid 2	Hybrid 3	<i>H. kimballianum</i>	<i>P. teres</i>	<i>L. thailandica</i>	<i>A. miniatum</i>	
<i>Vanda bensonii</i>	0.00																						
<i>Vanda</i> sp. 1	0.17	0.00																					
<i>Vanda</i> sp. 2	0.24	0.21	0.00																				
<i>V. brunnea</i> 1	0.28	0.24	0.15	0.00																			
<i>V. brunnea</i> 2	0.26	0.24	0.17	0.16	0.00																		
<i>V. coerulea</i>	0.33	0.29	0.33	0.29	0.24	0.00																	
<i>V. coerulescens</i>	0.36	0.29	0.37	0.32	0.35	0.24	0.00																
<i>V. denisoniana</i>	0.22	0.24	0.24	0.26	0.24	0.26	0.31	0.00															
<i>Vanda</i> sp. 3	0.28	0.24	0.27	0.22	0.20	0.26	0.31	0.26	0.00														
<i>V. pumila</i>	0.30	0.28	0.30	0.26	0.29	0.28	0.28	0.26	0.30	0.00													
<i>V. lilacina</i> 1	0.37	0.35	0.35	0.31	0.34	0.33	0.26	0.32	0.29	0.20	0.00												
<i>V. lilacina</i> 2	0.36	0.35	0.33	0.33	0.33	0.28	0.27	0.31	0.29	0.28	0.15	0.00											
<i>V. liouvillei</i>	0.35	0.35	0.39	0.39	0.38	0.37	0.33	0.31	0.26	0.33	0.29	0.30	0.00										
<i>V. testacea</i>	0.35	0.30	0.39	0.40	0.36	0.33	0.26	0.34	0.31	0.31	0.26	0.22	0.24	0.00									
<i>V. tessellata</i>	0.33	0.31	0.37	0.39	0.40	0.37	0.37	0.30	0.34	0.33	0.38	0.31	0.38	0.32	0.00								
Hybrid 1	0.35	0.30	0.39	0.40	0.35	0.31	0.29	0.33	0.30	0.29	0.33	0.30	0.27	0.24	0.29	0.00							
Hybrid 2	0.29	0.35	0.27	0.35	0.32	0.43	0.35	0.31	0.33	0.35	0.35	0.39	0.32	0.37	0.39	0.34	0.00						
Hybrid 3	0.31	0.34	0.30	0.30	0.31	0.36	0.33	0.30	0.26	0.31	0.31	0.31	0.29	0.32	0.29	0.26	0.27	0.00					
<i>Holcoglossum kimballianum</i>	0.40	0.37	0.38	0.41	0.43	0.43	0.38	0.36	0.37	0.42	0.40	0.40	0.37	0.40	0.43	0.38	0.45	0.38	0.00				
<i>Papilionanthe teres</i>	0.40	0.39	0.44	0.40	0.42	0.41	0.42	0.39	0.33	0.38	0.43	0.44	0.40	0.37	0.36	0.32	0.43	0.28	0.37	0.00			
<i>Luisia thailandica</i>	0.44	0.39	0.43	0.43	0.41	0.40	0.35	0.42	0.42	0.36	0.42	0.40	0.45	0.36	0.36	0.31	0.43	0.36	0.43	0.35	0.00		
<i>Ascocentrum miniatum</i>	0.37	0.37	0.44	0.44	0.43	0.43	0.38	0.42	0.40	0.34	0.35	0.33	0.37	0.35	0.43	0.34	0.41	0.33	0.41	0.44	0.43	0.00	