

多倍體化

之藍紫色蝴蝶蘭

農試所生技組 曹進義 夏奇鋌 陳威臣

花卉中心 吳容儀

一、前言

蝴蝶蘭為國際花卉市場上最受歡迎的蘭花之一，雖然台灣在蝴蝶蘭種原上具有優勢，多年來藉由雜交育種與組織培養技術繁殖，培育出各種色系的蝴蝶蘭品種，但長久下來，仍有難以突破的瓶頸，意即缺乏特定花色的新穎性，與大多數蝴蝶蘭品種相較之下，藍紫色品系蝴蝶蘭亦屬稀少與珍貴。藍紫色花為開花植物中的夢幻顏色，為育種者亟欲開發與突破之目標 (Griesbach 2005)。考察目前商業生產的蝴蝶蘭品種中，仍鮮有可商業化的藍紫色蝴蝶蘭品種可通過商業生產模式的考驗。在藍紫色蝴蝶蘭育種常用之原生種親本 *Phal. bellina*、*Phal. violacea* 與 *Phal. pulcherrima* 具有大型染色體，*Phal. equestris* 則為小型染色體 (Arends 1970)，且在分類上 *Phal. bellina*、*Phal. violacea* 同屬於 *Polychilos* 亞屬 *Amboineses* 節，而 *Phal. pulcherrima* 與 *Phal. equestris* 則屬於 *Phalaenopsis* 亞屬但

不同節 (Christenson 2001)。而其他所使用的藍紫色蝴蝶蘭親本，亦源自前述原生種間雜交或回交而來，實際進行藍紫色蝴蝶蘭與商業品種蝴蝶蘭雜交育種容易產生雜交不親和性的現象，困難度較一般蝴蝶蘭雜交育種為高。由於現有之藍紫色蝴蝶蘭的親本大多是原種或是原種第一代雜交種，以2倍體居多，花朵(徑)較小、花朵質地較薄、花形較差且花朵壽命較短等缺點，而商業生產之蝴蝶蘭品種許多為4倍體之植株，二者之間雜交亦可能面臨雜交親和性低的問題，即使育有雜交後代也可能為3倍體，難以再進行更進一步之雜交育種之應用 (Chen *et al.* 2009)。多倍體主要是指相對正常染色體 ($2n = 2x$) 數目增加之植株，可改善許多園藝性狀與植株型態，包括增大植物的器官 (Osborn *et al.* 2003)；花徑增大及改善花朵質地與花型 (Griesbach 1981)；葉數與根數減少，根較粗短，生長較為緩慢 (Azmi *et al.* 2016) 以及可克服雜交不親和性 (Adaniya & Shirai 2001；Griesbach 1985) 等。由於自然界自發性染色體倍加的頻率非常低且難以被發現，因此需藉由人為的方式進行多倍體化誘導以獲得

作者：曹進義 聘用助理研究員
連絡電話：04-23317325

多倍體的藍紫色蝴蝶蘭育種親本，且可擴大種原的利用性，並加速雜交後代育成為商業品種，用以解決藍紫色蝴蝶蘭在雜交育種上所面臨之問題。

二、蝴蝶蘭多倍體化之誘導方式

(一)化學藥劑誘導處理

以抗微管化學藥劑 (anti-microtubule)，如秋水仙素 (colchicine)、歐拉靈 (oryzalin)、三福林 (trifluralin)、甲基胺草磷 (amiprophos-methyl)、一氧化二氮 (N_2O) 等於誘導植物多倍體化主要是利用細胞減數分裂時，抑制紡錘體微管的形成阻止染色體分離 (促使染色體複製，但阻止細胞分裂)，其中秋水仙素是人工多倍體誘導最常被使用之藥劑 (Osborn *et al.* 2003)。化學藥劑誘導多倍體的研究當中，可觀察到藥劑種類、處理濃度、處理時間，施用方式及培植體類型、部位等因素皆會影響誘導效果，一般而言，培植體的生長會因藥劑處理濃度與時間增加而受到抑制，嚴重者會導致培植體死亡，因此，培植體的選擇與處理條件的配合，對於以人為的方式進行多倍體誘導的效果相當重要，除有效誘導多倍體外，必須兼顧培植體的成活率，才能得到總量較多的多倍體植株。蝴蝶蘭的多倍體化於自然界中發生的機率並不高，需藉由人工的方式進行多倍體誘導 (Griesbach 1981)，Griesbach (1981) 以 50 mg/L 秋水仙素處理蝴蝶蘭原球體 10 天其多倍體誘導率為 48%，Azmi *et al.* (2016) 以秋水仙素處理授粉後 3 天之蝴蝶

蘭花朵之柱頭與子房，果莢成熟後經無菌播種，4 倍體植株誘導率可達 100%。以離體方式誘導多倍體大多採用分化能力較強的培植體，主要是希望培植體的細胞必須具有高度分裂及生長發育之特性 (夏等，2010)，由於蝴蝶蘭原球體具有前述之特性，為最佳誘導多倍體蝴蝶蘭之材料 (Griesbach 1981)。

(二)物理性誘導

物理性因素亦可誘導多倍體的發生，物理方法包括劇烈的溫度改變，例如在花粉發育的特定時期加以溫度處理，以及 γ 射線與 x 射線的輻射誘變，相對於以化學藥劑誘導多倍體，物理方法的誘導效率偏低 (夏等，2010)。Chen 等 (2009) 利用蝴蝶蘭原生種 *Phalaenopsis aphrodite* subsp. *formosana* 原球體中所發現具有內生染色體多倍化之現象，具有多倍體細胞，以物理切割原球體的方式，將 3~5 mm 大小的原球體均等份橫切為片狀培植體，於固體培養基中誘導出具有多倍化的擬原球體，多倍體誘導效率佳且可改善因藥劑處理所造成生長速度較慢與抑制生長之現象。

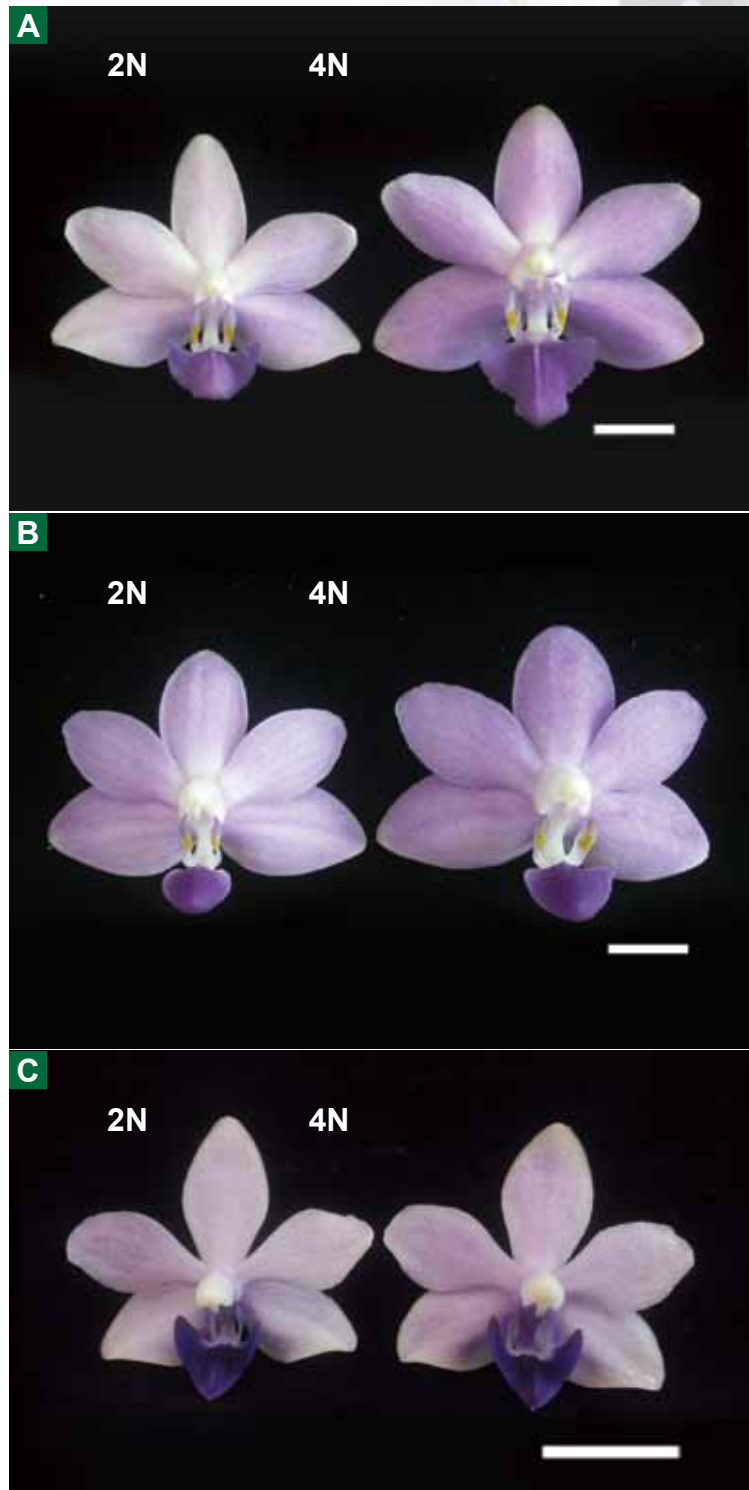
(三)組織培養變異

蝴蝶蘭種苗繁殖過程中，除了以無菌播種生產實生苗之外，優良單株都是以無性繁殖的方式，以誘導出擬原球體，利用擬原球體為培植體進行大量繁殖，或以花梗誘導出營養芽，以營養芽為培植體，以芽長芽的模式進行不斷的芽體切離繼代的方式進行分生苗大量繁殖。由於蝴蝶蘭具有內生染色體多倍化之現象，因此，在分生苗大量無性繁殖，

擬原球體與營養芽不斷地切割過程中，恰巧切割分離到具有多倍性的組織或體細胞，造成誘導出來之擬原球體或營養芽體多倍體化，或者在大量增殖的過程中，培養基中皆會持續添加細胞分裂素，以刺激芽體誘導與增殖，經由多世代增殖與繼代，造成體細胞變異而多倍體化，目前已可發現藍紫色蝴蝶蘭 *Phal.* Kenneth Schubert、*Phal.* Purple Martin、*Phal.* Tzu Chiang Sapphire 等品種於組織培養分生的過程中造成多倍體化(圖一)。

三、多倍體化藍紫色蝴蝶蘭之誘導

由於蝴蝶蘭的多倍體化於自然界中發生的機率並不高，需藉由人工的方式進行多倍體誘導，而秋水仙素是人工多倍體誘導最常被使用且效果最好之藥劑，因此本文是以藍紫色蝴蝶蘭原生種 *Phal. pulcherrima* fma. *coerulea*、*Phal. violacea* fma. *coerulea*、



圖一、由組織培養大量分生繁殖過程中造成之藍紫色蝴蝶蘭品種多倍體化之變異 (A) *Phal.* Kenneth Schubert (B) *Phal.* Purple Martin (C) *Phal.* Tzu Chiang Sapphire。Bar =1cm。

Phal. bellina fma. *coerulea*、*Phal. equestris* fma. *coerulea*及雜交種*Phal. Siam Treasure*等優良單株為材料，將其自花授粉，取其成熟果莢經無菌播種後約1.5個月，2-3 mm大小之原球體為培植體，經由不同濃度之秋水仙素與天數處理原球體後可誘導出多倍體，並篩選出最佳多倍體誘導處理條件，多倍體誘導率可達46%以上。

經由多倍體化誘導之藍紫色蝴蝶蘭可改變其園藝性狀，2倍體植株與秋水仙素誘導所得4倍體植株之園藝性狀觀察與相較之下，並非所有4倍體植株之藍紫色蝴蝶蘭原生種或品種皆可明顯表現出較大花徑，其中 *Phal. pulcherrima* fma.

*coerulea*與*Phal. equestris* fma. *coerulea* 4倍體植株較2倍體植株有較大的花徑與果莢(圖二)，*Phal. Siam Treasure* 4倍體植株則花梗較短(圖三)，而*Phal. violacea* fma. *coerulea*、*Phal. bellina* fma. *coerulea* 4倍體植株雖無表現特別明顯較大花徑，但花形較2倍體佳且平整(圖四)，因此，不同藍紫色蝴蝶蘭材料經由人為方式進行多倍體化誘導之4倍體可產生不同園藝性狀之表現，雖未全數皆可明顯表現在較大花徑，但在其他花朵組織如唇瓣、側裂片、瘤狀物、子房皆較2倍體大(圖五)，且花朵質地較厚實堅挺，花形較平整。



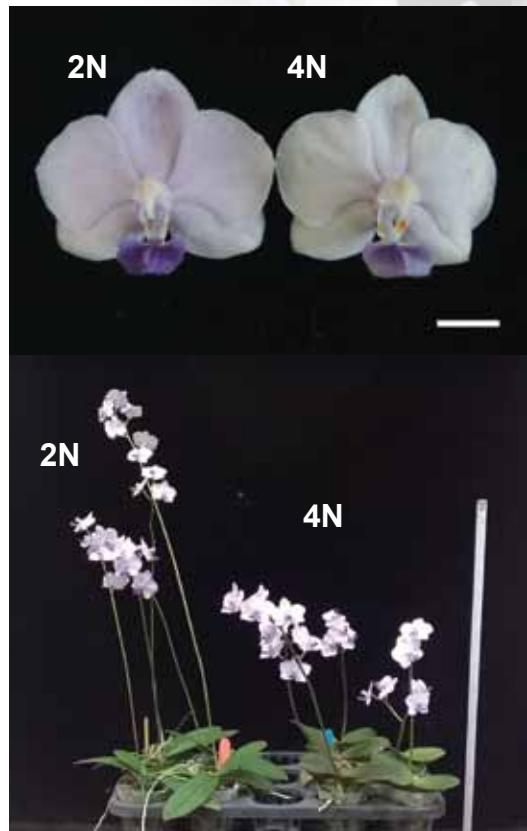
圖二、藍紫色蝴蝶蘭 (A) *Phal. pulcherrima* fma. *coerulea* 與 (B) *Phal. equestris* fma. *coerulea* 2倍體與4倍體花朵以及 (C) *Phal. pulcherrima* fma. *coerulea* 授粉後果莢型態。Bar =1 cm。

四、結語

由於現有之藍紫色蝴蝶蘭的親本大多是原種或是原種第一代雜交種，以2倍體居多，而商業生產之蝴蝶蘭品種許多為4倍體之植株型態，二者之間雜交亦可能面臨雜交親和性低的問題，即使育有雜交後代也可能為3倍體，難以進行更進一步雜交育種之應用，經由本人實際進行超過200個以上雜交組合之育種過程中，亦發現藍紫色蝴蝶蘭與商業品種雜交之後代，欲再利用相同之父母本以及其他藍紫色蝴蝶蘭親本分別進行回交與雜交皆無法成功獲得果莢，雜交親和性更低，提高育種的困難度，無法執行下一步之雜交育種工作，而根據Griesbach (1985) 的研究顯示，多倍體化 (4倍體) 之蝴蝶蘭可改進雜交不親和性，且經由本研究證實藍紫色蝴蝶蘭經由多倍體化誘導產生之4倍體植株確實可改善許多園藝性狀，因此期望藉由藍紫色蝴蝶蘭的多倍體化，作為育種親本，輔助藍紫色蝴蝶蘭之育種，並解決在雜交育種上所面臨之親和性問題，並可擴大種原的利用性，並加速雜交後代育成為商業品種。

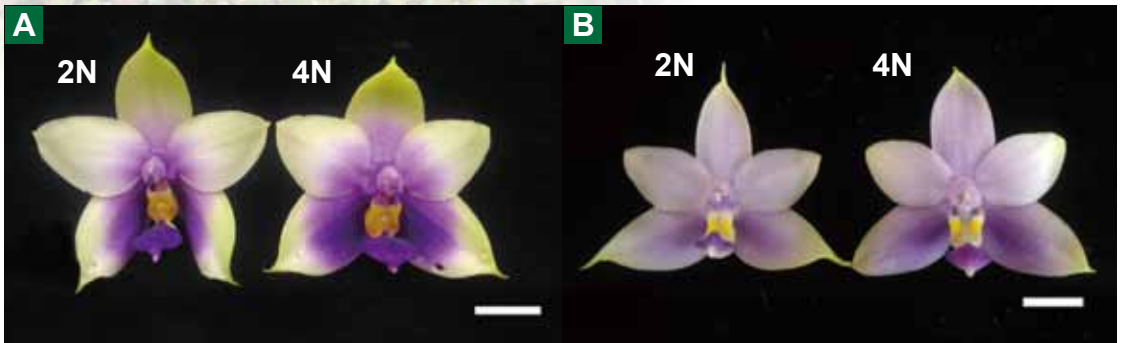
五、參考文獻

- 夏奇鋌、陳威臣、曹進義。2010。多倍體植物的產生、利用與展望。農業試驗所技術服務季刊 84:14-17。
- Adaniya, S. and M. Shirai. 2001. In vitro induction of tetraploid ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its pollen fertility and germinability. *Sci. Hort.* 88:277-287.

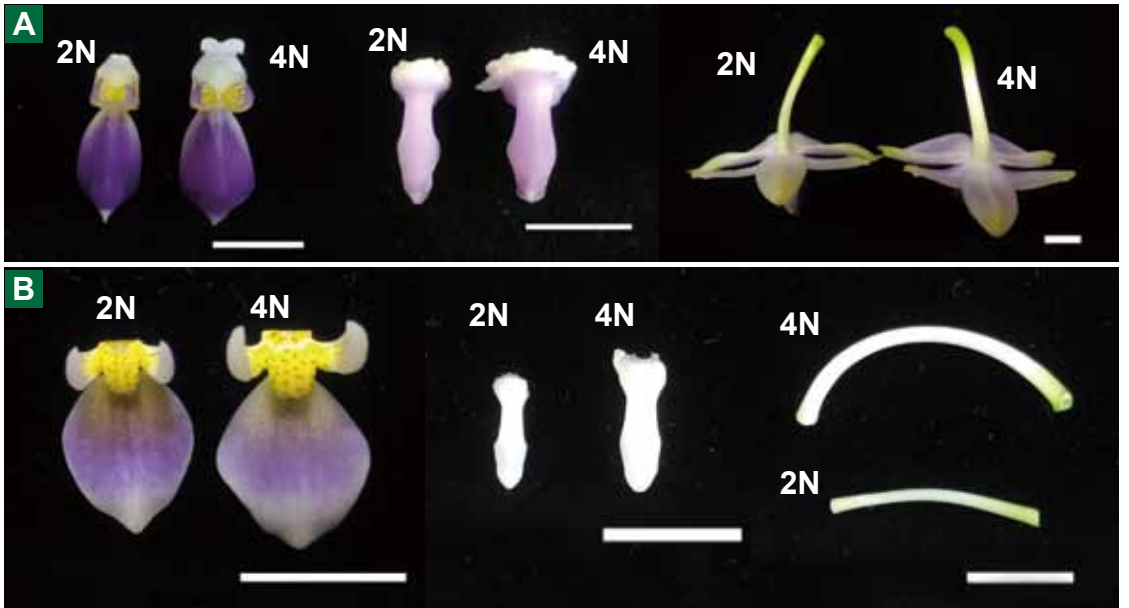


圖三、藍紫色蝴蝶蘭 *Phal. Siam Treasure* 2倍體與4倍體花朵與植株型態。Bar = 1 cm。

- Arends, J. C. 1970. Cytological observation on genome homology in eight interspecific hybrid of *Phalaenopsis*. *Genetica* 41:88-100.
- Azmi, T. K. K., D. Sukma, S. A. Aziz, and M. Syukur. 2016. Polyploid induction of moth orchid (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume) by colchicine treatment on pollinated flowers. *J. Agr. Sci.* 11:62-73.
- Chen, W. H., C. Y. Tang, and Y. L. Kao. 2009. Ploidy doubling by in vitro culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* species. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 98:229-238.



圖四、藍紫色蝴蝶蘭 (A) *Phal. bellina* fma. *coerulea* 與 (B) *Phal. violacea* fma. *coerulea* 2倍體與4倍體花朵型態。Bar = 1 cm。



圖五、藍紫色蝴蝶蘭 (A) *Phal. violacea* fma. *coerulea* 與 (B) *Phal. equestris* fma. *coerulea* 2倍體與4倍體唇瓣 (包括側裂片、瘤狀物)、蕊柱與子房型態。Bar = 1 cm。

Christenson, E. A. 2001. *Phalaenopsis* A Monograph. Timber Press, Portland, Oregon.

Griesbach, R. J. 1981. Colchicine-induced polyploidy in *Phalaenopsis* orchid. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1:103-107.

Griesbach, R. J. 1985. Polyploidy in *Phalaenopsis* orchid improvement. *J. Hered.* 76:74-75.

Griesbach, R. J. 2005. A scientific approach to breeding blue orchid-exploring new frontiers in search of elusive flower colors. *Orchids* 74:376-379.

Osborn, T. C., J. C. Piresl, J. A. Birchler, D. L. Auger, Z. J. Chen, H. S. Lee, L. Comai, and A. Martienssen. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends Genet.* 19:141-147.