

## 三種劍葉文心蘭栽培種之雜交潛力和近交弱勢

邱翊恬<sup>1)</sup> 張正<sup>2)</sup>

關鍵字：劍葉文心蘭、近交弱勢、自交不親合

**摘要：**本試驗以三種劍葉文心蘭栽培種進行自交和種間雜交試驗，測試親合性和雜交特性。三種劍葉文心蘭中 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 可自交親合但有近交弱勢的情形，而 *Tol. Snow Fairy* 則具有自交不親合性，顯示劍葉文心蘭屬於異交型的蘭花。雖然親合性有差異，但三種劍葉文心蘭栽培種均有稔性，可做為雜交育種的親本。

### 前 言

被子植物通過有性繁殖，可創造物種的遺傳變異性，但授粉後也可能會有不稔、自交不親合、雜交不親合、單為結果等授粉受精失敗的情形。而不親合性(incompatibility)為植物之花粉與胚株均正常，因生理的阻礙而不能受精結子(盧，1961)。蘭科植物大多為異花受精的授粉形式，也是雜交種品種最多的一個科，而現有的雜交方式有種內雜交、種間雜交和屬間雜交三類，而屬間雜交較少見於其他的種類(Arditti, 1992)。

劍葉文心蘭曾於英國皇家園藝學會(Royal Horticulture Society; RHS)網站登錄的雜交後代多達2000多種，其中可與文心蘭亞族中的凹唇蘭屬(*Comparettia*)、文心蘭屬(*Oncidium*)、茹氏蘭屬(*Rodriguezia*)等多種近緣屬進行屬間雜交，種間雜交種也有1368種，而以文心蘭亞族中種類最多的文心蘭屬為雜交親本的子代也僅登錄3000多種，顯示劍葉文心蘭於育種上被廣泛利用。了解其授粉特性，有利於育用種上的應用。

劍葉文心蘭(*Tolumnia*)原生於加勒比海(Caribbean)的島嶼上，生長棲地廣泛，遍及熱帶低地、乾燥環境、或冷涼多濕的山區，均可發現不同種類的劍葉文心蘭。劍葉文心蘭屬於1836年由Rafinesque提出，包含葉基部重合的文心蘭種類，和其他多種文心蘭。至1986

---

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。

年 Guido Braem 將葉基部重合的文心蘭併入新的屬中，至目前劍葉文心蘭屬約有 22 個種，包含 3 個天然雜交種，和數個亞種，如 *Tol. pulchella*、*Tol. urophyaal*、*Tol. guianensi* 和 *Tol. variegata* 等。栽培劍葉文心蘭時，於營養生長期需大量的水分，但需栽培於排水良好的介質，使根部能快速乾燥，生長於光線充足的環境，有利於開花，但不可於中午時間直射陽光(Baker and Baker, 2006)。

劍葉文心蘭屬於細枝附生型蘭花(twig epiphyte)，其幼苗葉片均呈扇形的排列，為不具假球莖的文心蘭亞族成員(Chase, 1988; Otero *et al.*, 2005)。Chase and Palmer (1997)經觀察後將劍葉文心蘭歸類為無報酬的詐騙傳粉型蘭花。劍葉文心蘭原種於植株大小、形狀、顏色和花朵香味上個體差異很大(Ackerman *et al.*, 1996; Otero *et al.*, 2005)。

本文利用 3 種劍葉文心蘭栽培種，進行自交和種間雜交試驗，測試其親合性和雜交特性，以了解其雜交潛力和著果能力，並應用於未來的雜交育種。

## 材 料 方 法

### 一、植物材料來源與栽培

於 2009 年 1 月由佳和蘭園購入劍葉文心蘭 3 個栽培品種，分別為 *Tolumnia Genting Angel*、*Tolumnia Rich Orange* 和 *Tolumnia Snow Fairy* 各 20 盆，以水苔種植於 2.5 吋黑色軟盆。植株種植於中興大學園藝學系葡萄中心水牆風扇溫室中，每週澆一次水，每 3 週施用 1 次 Peters 肥料溶液(N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=20:20:20, 2000 倍)。於 2009 年 2-4 月間進行雜交試驗。

### 二、性狀調查

*Tol. Genting Angel*、*Tol. Rich Orange*、*Tol. Snow Fairy* 花卉性狀調查於主花梗花朵全數開放，但尚未有花朵萎凋時進行花性狀調查，每品種調查 10 株，調查項目包含：花莖長、花數、主花色。每品種並調查 3-5 株開花植株的株高。

### 三、培養基、培養容器與培養環境

無菌播種培養基：1/4 MS (Murashige and Skoog, 1962)、170 mg/l NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、20 g/l 蔗糖、150 ml/l 椰子水、100 mg/l 肌醇(myo-inositol)、1 g/l 蛋白胨(peptone)、6 g/l 馬鈴薯粉(Technology laboratories<sup>TM</sup>)，其 pH 值並以 1N HCl 及 1N NaOH 調整到 5.2。培養基裝入血清瓶中，以 121°C、1.2 kg cm<sup>-2</sup> 高溫高壓滅菌釜滅菌 20 min 後冷卻備用。

無菌播種培養基，放入血清瓶滅菌後，以 5ml 吸取器(pipetman)和滅菌的吸管吸取 5 ml 培養基，加入直徑 9 cm 無菌塑膠培養皿，播種後以石蠟膜封口。培養於溫度 25±2°C，光週期 12/12 hr 之環境，光強度為 5.6 μmolm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>。

#### 四、三種劍葉文心蘭全互交

於盛花期分別進行三種劍葉文心蘭的自交與互交，共有 *Tol. Genting Angel* 自交、*Tol. Rich Orange* 自交、*Tol. Snow Fairy* 自交、*Tol. Genting Angel* × *Tol. Rich Orange*、*Tol. Genting Angel* × *Tol. Snow Fairy*、*Tol. Snow Fairy* × *Tol. Genting Angel*、*Tol. Snow Fairy* × *Tol. Rich Orange*、*Tol. Rich Orange* × *Tol. Genting Angel*、*Tol. Rich Orange* × *Tol. Snow Fairy* 九種雜交組合，每種雜交組合除雄後分別授粉 6-11 朵花，進行不同雜交組合時，鑷子以衛生紙沾 95%酒精擦拭，授粉完成後標牌紀錄雜交組合及授粉日期。每株挑選花序較下部的花朵進行授粉。於果實轉黃或開裂後收成，並計算著果率。於光學顯微鏡下，測量種子長寬和胚長寬，並計算有胚率。

綠果播種：果實以 2%次氯酸鈉溶液滅菌 15 min，無菌水漂洗 3 次，於無菌操作台內，以解剖刀縱切開蒴果，鑷子夾取種子，接種在液體培養基內。裂果播種：取已開裂之蒴果，收集種子後，以 1%次氯酸鈉溶液滅菌 10 min，取無菌水和濾網沖洗種子至無泡沫後，以鑷子夾取種子，接種在液體培養基內。播種 6 週後觀察種子發芽情形。

種子有胚率和長寬調方法如下：以鑷子夾取種子散布於載玻片上，滴 2 滴甘油於載玻片中央，蓋上蓋玻片，於光學顯微鏡(Priom Star, ZEISS, Germany)下進行觀察，每蒴果調查 10-150 粒種子，以在 100×可見胚的構造視為種子有胚，以測定該蒴果的種子有胚率。每雜交組合調查 3-17 粒種子，在 100×下以測微尺測量種子和胚的長度、寬度。

#### 五、統計方法

試驗數據利用 Costat 軟體(CoHort softwarw, Minneapolis, USA)以鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range test)比較 5%差異顯著性。

## 結 果

#### 一、性狀調查

*Tol. Genting Angel*(圖 1A)株高大於 20cm，花莖長度約 40 cm，花序屬圓錐花序，每株平均可形成 17-44 朵花，為 3 種中花朵數最多的種類，花色為黃花紅心。

*Tol. Rich Orange* (圖 1B)平均株高約 20 cm，花莖長度約 35-40 cm，花序屬於圓錐花序，每株具有 15 朵以上的花朵，花色為橘紅色。

*Tol. Snow Fairy* (圖 1C)株高約 15 cm，花莖長約 35 cm，屬於圓錐花序，每株平均可開約 15 朵花，唇瓣為 3 種中最大，且花形較圓，花色為白底紅斑。

三種劍葉文心蘭栽培種具有較厚的肉質葉片，橫斷面均呈 V 字型，為具側芽的複軸莖型蘭花，株高至花莖長在 60 cm 以下，於文心蘭性狀分類上屬迷你型文心蘭。為文心蘭亞族中不具假球莖的蘭花。其中 *Tol. Snow Fairy* 株形屬三種中最小。

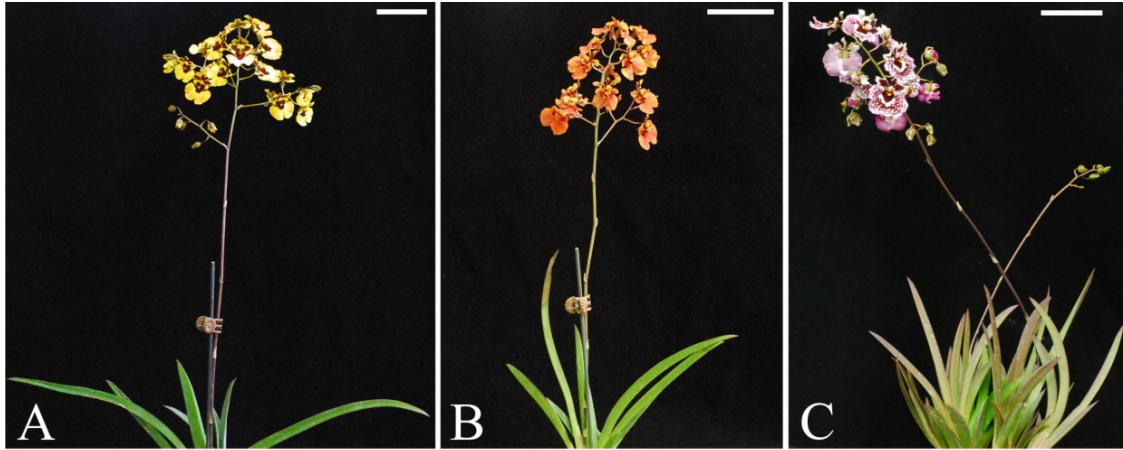


圖 1. 三種劍葉文心蘭栽培種之植株型態。(A). 劍葉文心蘭栽培種 *Tol. Genting Angel* 植株外觀; (B). 劍葉文心蘭栽培種 *Tol. Rich Orange* 植株外觀; (C). 劍葉文心蘭栽培種 *Tol. Snow Fairy* 植株外觀(A-C:比例尺= 5 cm)。

Fig. 1. Plant morphology of three *Tolumnia* cultivars. (A). Appearance of *Tol. Genting Angel*; (B). Appearance of *Tol. Rich Orange*; (C). Appearance of *Tol. Snow Fairy* (A-C:Bar = 5 cm).

## 二、三種劍葉文心蘭全互交

進行 *Tol. Genting Angel*、*Tol. Rich Orange* 和 *Tol. Snow Fairy* 的自交和種間雜交試驗。其中 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 自交著果率分別為 90.9%和 62.5%，而 *Tol. Snow Fairy* 授粉 7 朵花均未著果。種間雜交方面，3 種劍葉文心蘭間僅 *Tol. Genting Angel*×*Tol. Snow Fairy* 無法著果，其他雜交組合著果率為 50%-100%間，其中以 *Tol. Rich Orange* 和 *Tol. Snow Fairy* 間親合性最高，正反交分別有 100%和 83.3%著果率(表 1)。

*Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 自交種子有胚率為 39.9%和 18.3%，較大部分種間雜交形成種子 38.8%-75.4%的有胚率低，而 *Tol. Rich Orange* 自交種子的胚長寬為 165  $\mu\text{m}$  和 35  $\mu\text{m}$ ，相較於其他雜交組合，胚長為 257.4 - 292.8  $\mu\text{m}$ ，胚寬為 64.7 - 78.9  $\mu\text{m}$ ，顯示 *Tol. Rich Orange* 自交種子的胚明顯較小，而 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 自交種子的發芽能力也較差(表 2)。

種間雜交方面，以 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 正反交、*Tol. Rich Orange*×*Tol. Snow Fairy* 三種雜交組合種子發芽能力較好，而 *Tol. Snow Fairy*×*Tol. Genting Angel* 雖然有 75.4%的有胚率，胚大小也和其他雜交組合無差異，但種子長度為 442.2  $\mu\text{m}$ ，明顯較小，無菌播種結果無種子發芽。其中以 *Tol. Rich Orange* 為母本時，形成種子長度在 564 - 601.1  $\mu\text{m}$  間，相較其他雜交組合，種子長度在 608.9 - 625  $\mu\text{m}$  間小，但胚長度則無差異(表 2)。

表 1. 三種劍葉文心蘭栽培種正反交之著果率

Table 1. Fruit set rate of reciprocal crosses among three *Toumnia* cultivars.

Parent	No. of pollinated flowers	No. of capsules	Fruit set rate(%)
G×G <sup>z</sup>	11	10	90.9
R×R	8	5	62.5
S×S	7	0	0
G×R	6	5	83.3
G×S	7	0	0
R×G	6	4	66.7
R×S	6	6	100
S×G	6	3	50
S×R	6	5	83.3

<sup>z</sup>G: *Toumnia* Genting Angel; R:*Toumnia* Rich Orange; S:*Toumnia* Snow Fairy

表 2. 三種劍葉文心蘭栽培種正反交著果之種子性狀及發芽

Table 2. The seed characteristics and germination ability derived from capsule of reciprocal crosses among three *Toumnia* cultivars.

Parents	Seed			Germination <sup>x</sup> index	Embryo	
	Embryo present (%)	length (μm)	width (μm)		Length (μm)	Width (μm)
G × G <sup>y</sup>	39.9 ab <sup>y</sup>	625 a	78.3 ab	++	271.5 a	71.7 a
R × R	18.3 b	600 ab	65.0 b	+	165.0 b	35.0 b
S × S	- <sup>w</sup>	-	-	-	-	-
G × R	38.8 ab	608.9 a	72.5 b	++++	292.8 a	64.7 a
G × S	-	-	-	-	-	-
R × G	57.1 a	601.1 ab	71.9 b	+++	273.1 a	69.7 a
R × S	46.0 ab	564.0 b	76.0 ab	++++	282.7 a	75.0 a
S × G <sup>z</sup>	75.4	442.2	97.8	0 <sup>u</sup>	257.8	78.9
S × R	60.3 a	625 a	78.3 ab	++	257.4 a	74.2 a

<sup>z</sup> Only one fruit

<sup>y</sup> Different letters within a column indicate significant differences at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test

<sup>x</sup> Sowing after 12 weeks

<sup>w</sup> no fruit set

<sup>y</sup> G: *Toumnia* Genting Angel; R:*Toumnia* Rich Orange; S:*Toumnia* Snow Fairy

<sup>u</sup> no seed germination

## 討 論

*Tol. Genting Angel*、*Tol. Rich Orange* 和 *Tol. Snow Fairy* 三種劍葉文心蘭間，於自交和種間雜交親合性具差異。於自交方面，*Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 自交可著果，但有胚率和種子發芽能力均較種間雜交組合低。對照於靠昆蟲傳粉的舌蘭屬(*Serapias*)蘭花種類，經人工授粉後 *Srps. vomeracea* 和 *Srps. cordigera* 雖然有 50% 的自交著果率，但胚活力和種子發芽率明顯較種內雜交的低(Bellusci *et al.*, 2009)。而在 5 種肋柄蘭屬(*Pleurothallis*)的種類間也發現，*Pths. johannensis*、*Pths. teres* 和 *Pths. Ochreata* 自交著果率和種子活力均較低，具近交弱勢或部分自交不親合現象，*Pths. adamantinensis* 和 *Pths. fabriobarrosii* 則清楚表現自交不親合性(Borba *et al.*, 2001)。

而由邱(2011)測試結果可知，三種劍葉文心蘭栽培種花粉均具有活力，可於體外培養後發芽，而由本篇結果也顯示，三種栽培種均有種子形成(表 2)，因此並不具有雄不稔或胚珠發育障礙等不稔性。顯示 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange* 應是具有近交弱勢的現象，而 *Tol. Snow Fairy* 具有自交不親合現象。有文獻報導，一種原生種劍葉文心蘭(*Tol. variegata*)即具自交不親合性(Ackerman *et al.*, 1996; Otero *et al.*, 2005)。

於種間雜交方面，可見 *Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Snow Fairy* 間應具有不親合性，無論正反交均無法著果或形成不具發芽能力的種子，由 RHS 網站查詢可知兩栽培種皆由多代雜交而得，而在兩者的原生種種原中，*Tol. pulchella* 染色體數為  $2n=42$ ，*Tol. urophyaal* 染色體數為  $2n=84$ ，*Tol. guianensis* 染色體數為  $2n=40$  (Baker and Baker, 2006)，顯示種原中染色體數即有差異，而三種劍葉文心蘭栽培種不同細胞的染色體數也不一，約為  $2n=54-68$  (邱, 2011)，可能造成雜交染色體配對上的障礙。且兩栽培種間有多種相同的親本，也可能因此有近交弱勢或不親合的情形。

而另兩組雜交結果，*Tol. Genting Angel* 和 *Tol. Rich Orange*、*Tol. Rich Orange* 和 *Tol. Snow Fairy* 間，進行正反交時，無論著果率、種子有胚率和發芽能力均較自交結果好(表 1,2)。此結果和 5 種異交的肋柄蘭屬(*Pleurothallis*)種類間，種間雜交的著果率和有活力種子率，均較自交高(Borba *et al.*, 2001)的結果相似，且盧(1961)指出異交植物多有自交不親合性，顯示劍葉文心蘭主要應為異交型的蘭花。可能為劍葉文心蘭植株大小、形狀、顏色和花朵香味個體差異很大(Ackerman *et al.*, 1996)的原因。

由以上結果可知，三種劍葉文心蘭具有不同程度的近交弱勢或自交不親合現象，為詐騙傳粉型蘭花的授粉特性(Bellusci *et al.*, 2009)，以維持種間的歧異度和雜交子代的優勢。因此進行劍葉文心蘭種間雜交育種時，應選擇親緣差異較多的親本，可得到較高的育種效率。雖然三種劍葉文心蘭間親合性不同，但花粉均可發芽，並可授粉著果、形成正常種子並具有發芽能力，無不稔性，且由許多劍葉文心蘭種間雜交品種被登錄，顯示其雜交應不困難，因此也可應用作為文心蘭亞族的育種親本，進行屬間雜交，引入迷你株型、多樣花色、花朵數多等優良特性。

## 參 考 文 獻

- 邱翊恬。2011。扇形文心蘭試管內開花授粉及與劍葉文心蘭屬間雜交之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。台中。91p。
- 盧守耕。1961。現代作物育種學。國立台灣大學農學院。420pp。
- Ackerman, J. D., A. Sabat, and J. K. Zimmerman. 1996. Seedling establishment in an epiphytic orchid: an experimental study of seed limitation. *Oecologia* 106:192-198.
- Arditti J. 1992. Heredity and breeding. In: *Fundamentals of orchid biology*. John Wiley & Sons, Inc. p.571-585.
- Baker, M. L. & C. O. Baker, 2006. *Orchid species culture Oncidium/Odontoglossum alliance*. 992pp., Timber Press, Oregon.
- Bellusci, F., G. Pellegrino, and A. Musacchio. 2009. Different levels of inbreeding depression between outcrossing and selfing *Serapias* species. *Biolog. Plant.* 53:175-178.
- Borba, E. L., J. Semir, and G. J. Shepherd. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Ann. Bot.* 88:89-99.
- Chase, M. W. 1988. Obligate twig epiphytes: a distinct subset of Neotropical orchidaceous epiphytes. *Selbyana* 10:331-332.
- Chase, M. W. and J. D. Palmer. 1997. Leapfrog radiation in floral and vegetative traits among twig epiphytes in the Orchid subtribe Oncidiinae. p.331-352. In: Giunish T. J., K. J. Sytsma, eds. *Molecular evolution and adaptive radiation*. Cambridge: Cambridge university press.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Otero, J. T., P. Bayman, and J. D. Ackerman. 2005. Variation in mycorrhizal performance in the epiphytic orchid *Tolumnia variegata in vitro*: the potential for natural selection. *Evol. Ecol.* 19:29-43.
- Royal Horticultural Society. 2011. Plants. <http://apps.rhs.org.uk/horticulturaldatabase/orchidregister/>

## Crossing Potential and Inbreeding Depression in Three *Toumnia* Cultivars

Yi-Tien Chiu <sup>1)</sup>    Chen Chang <sup>2)</sup>

Key words: *Toumnia*, Inbreeding depression, Self-incompatibility

### Summary

Test for compatibility and cross characteristic of reciprocal crosses among three *Toumnia* cultivars. *Tol. Genting Angel* and *Tol. Rich Orange* are self-compatibility with inbreeding depression, and *Tol. Snow Fairy* is a self-incompatibility cultivar. Inbreeding depression may promote outcrossing in *Toumnia* by acting as a post-pollination barrier of self-pollination. Although the vary degree of compatibility among three *Toumnia* cultivars, but may form the seeds and germinate in to seedling. Three *Toumnia* cultivates has the ability of fertility, and will be use for the crossbreeding parent.

---

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Assistant Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Corresponding author.