

遠緣雜交與分子遺傳鑑定技術在蝴蝶蘭育種之應用潛力

撰文/蔡奇助·莊畫婷

遠緣雜交在蝴蝶蘭育種的應用潛力

蘭科 (Orchidaceae) 屬於單子葉植物，在高等植物演化過程中較為現代的一群，本科植物的物種歧異度相當高，全球估計約二萬五千種，陸續依然有新種被發現。這群植物中有一類具有醒目的花朵、飄逸的花序及高雅氣質稱為蝴蝶蘭的植物已經受到全世界的關注，不僅在品種的培育、種苗生產以及商業栽培上都受到相當的重視，在學術的研究上也很積極投入，其中又以台灣的研究最為積極。

自從第一棵由 John Dominy 以白鶴蘭 (*Calanthe tripllicate*) [其同物異名 (synonym, 縮寫成 syn.) 為 *Cal. furcata*] 與長距根節蘭 (*Cal. sylvatica*) (syn. *Cal. masuca*) 進行人工雜交育成之 *Calanthe Dominyi* 在西元 1856 年開花以來，蘭花的育種歷史至今已達一百五十年。上述的雜交組合後來也證實原本就有天然雜交種存在，稱為長距白鶴蘭 (*Calanthe x dominii*)，值得一提的是上述兩物種及其天然雜交種在台灣皆有分佈。由於蘭花物種的歧異度高，目前已經育成各式各樣的蘭花品種，加上蘭科植物不同屬間有些可以經由人工雜交產生屬間雜交種，因此目前的蘭花品種之數量相當驚人。蘭科植物能夠完成屬間雜交的特性在其它植物或動物中都是少

見的，第一棵被鑑別為天然雜交種的蘭花是一種學名為 *Orchis suaveolens* 的地生蘭，由 Villars 在西元 1787 年所描述，被鑑定是由手參蘭 (*Gymnadenia conopsea*) 與 *Nigritella nigra* 兩種不同屬的物種天然雜交而來。第一棵人工雜交屬 *Dossinimaria* 是由 Veitch 於西元 1861 年所登錄，此人工雜交屬是由寶石蘭 (*Dossinia marmorata*) 與彩葉蘭 (*Haemaria discolor*) 所交配而成，命名為 *Dossinimaria Dominyi*。由於蘭花本身生育的特殊性，不同屬之物種有時候可以進行屬間雜交，而且後代有時可孕，因此已有不少的人工雜交屬產生，據英國皇家園藝協會的記錄，目前約有一千四百多個人工雜交屬。由於蘭科植物種原歧異度高，若能克服遠緣屬間雜交不親和的問題，未來蘭科植物的育種上仍然有很大的空間。雖然蘭花在屬間雜交有許多成功的例子，不過還是存在不少問題。最主要的問題是大部分屬間雜交成功的例子都是雙親本中至少有一個親本為原生種，尤其以兩個親本都是原生種更容易些，最主要的原因在於屬間雜交品種之配子較難正常發育，可能其在形成過程中遺傳不平衡，也有可能是染色體配對不均衡，造成配子的發育不良。實際觀察屬間雜交後代也發現，確實有些屬間雜交後

代在花粉的發育明顯不良，因此造成進一步育種的困難。

蝴蝶蘭為萬代蘭族 (tribe Vandae)、仙人指甲蘭亞族 (subtribe Aeridinae) 的成員之一，原產於熱帶亞洲，分佈的北界是喜馬拉雅山南緣，從印度東北、不丹、尼伯爾、中國南緣、海南島延伸至台灣南部；南界是澳洲北部；東部延伸至新幾內亞；向西至印度東緣，主要的產地集中在菲律賓、印尼及馬來西亞。由於這種蘭花的花型優美、小花排列整齊，花期長，因此有蘭花之后的美譽。最早登錄於英國皇家園藝協會的蝴蝶蘭品種是在西元 1919 年由 Gratiot 所登錄，品種名為 *Phalaenopsis Younes Resal*，是由白花蝴蝶蘭 (*P. rimestadiana*) (syn. *P. amabilis*) 與姬蝴蝶蘭 (*P. equestris*) 雜交而來。而最早登錄的蝴蝶蘭屬間雜交品種是蝴蝶蘭與朵麗蘭的屬間雜交後代，稱為朵麗蝶 (*Doritaenopsis*)，由 Iwasaki 在西元 1923 年所登錄，品種名為朝日朵麗蝶 (*Doritaenopsis Asahi*)，是由林登蝴蝶蘭 (*P. lindenii*) 與朵麗蘭 (*Doritis pulcherrima*) 雜交而來，其後續第二代僅育成一個品種；西元 1950-59 年間也只有 6 個朵麗蝶品種登錄；西元 1960-69 年間育成的朵麗蝶快速增加，其中後續育種利用率較高的品種有紅珊瑚朵麗蝶 (*Doritaenopsis Red Coral*)、粉玉朵麗蝶 (*Dtps. Pink Jewel*) 及普韋布洛朵麗蝶 (*Dtps. Pueblo*)；到了西元 1990-99 年間所登錄的朵麗蝶品種就將近 2,000 個品種。

曾經成功的與蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis*) 進行屬間雜交的有仙人指甲蘭屬 (*Aerides*)、蜘蛛蘭屬 (*Arachnis*)、百代蘭屬 (*Ascocentrum*)、閉距蘭屬 (*Cleisocentrum*)、倒吊蘭屬 (*Diploprora*)、朵麗蘭屬 (*Doritis*)、漏斗蘭屬 (*Eurychone*)、香蘭屬 (*Haraella*)、金釵蘭屬 (*Luisia*)、金氏小蝶蘭屬 (*Kingidium*)、風蘭 (*Neofinetia*)、火焰蘭屬 (*Renanthera*)、狐狸尾蘭屬 (*Rhynchostylis*)、*Sarcanthopsis*、狹唇蘭屬 (*Sarcochilus*)、萼脊蘭屬 (*Sedirea*)、毛舌蘭屬 (*Trichoglottis*)、萬

代蘭屬 (*Vanda*)、萬歲蘭 (*Vandopsis*)、鐵釘蘭 (*Papilionanthe*) 及擬蝶蘭屬 (*Paraphalaenopsis*) 等 21 屬；其中朵麗蘭屬及金氏小蝶蘭屬目前被分類學家 Christenson(2001) 處理為蝴蝶蘭屬的同物異名，不過在園藝上朵麗蘭屬及金氏小蝶蘭屬依然存在。上述屬間雜交在蝴蝶蘭的育種應用最成功的例子是將朵麗蘭導入蝴蝶蘭的育種種原，其人工雜交屬稱之為朵麗蝶，目前該群成員是商業品種蝴蝶蘭相當重要的一群，此屬間雜交組合品種選育的方向保留住朵麗蘭豔麗的紅色，如滿天紅 (*Dtps. Queen Beer*) 及瑞利美人 (*Dtps. Ruyi Lih Beauty*) 等，皆為受國人喜愛的紅色朵麗蝶品種。此外，含蝴蝶蘭屬血緣的三屬人工雜交屬目前計有 29 個，其中 *Dresslerara* (*Ascoglossum* x *Phalaenopsis* x *Renanthera*) 及 *Lichtara* (*Doritis* x *Gastrochilus* x *Phalaenopsis*) 兩個人工屬分別間接導入囊舌蘭屬 (*Ascoglossum*) 及松蘭屬 (*Gastrochilus*) 的種原；四屬人工雜交屬有 17 個，五屬人工雜交屬有 4 個，六屬人工雜交屬僅有 1 個，詳見表一。

屬間雜交雖然有機會可以順利經由人為方式達到配對的目的，不過大部分的組合之花粉無法與胚珠順利受精，或雖有受精但卻無法胚培養成功，有些雖然能進行初期胚培養，但卻無法繼續發育而死亡。因此有關蘭科植物的生殖仍有太多的未知數，若能完全克服上述問題，未來蘭花品種的育成會更加多彩繽紛。目前遠緣的屬間雜交對蝴蝶蘭的育種依然有很大的障礙，因此比較難依照蝴蝶蘭商品價值的眼光進行有意義的育種，大多蝴蝶蘭屬間雜交的組合僅在成功創造新的人工雜交屬，而且屬間雜交成功的例子大部分的親本至少有一方為原生種，其成功的機率較大，所以容易限制進一步的育種方向。種間或屬間雜交所造成的不親和機制相當複雜，一般認為不親和現象可以分為受精前的障礙 (pre-fertilization barrier) 與受精後的障礙 (post-fertilization barrier)，其中受精前的障礙是發生在柱頭或花柱上，受精後的障礙則發生於受精的胚無法

表一 含蝴蝶蘭屬血統之人工雜交屬

兩屬雜交

Aeridopsis (Aerps.)=Aerides x Phalaenopsis

Asconopsis (Ascps.)=Ascocentrum XPhalaenopsis

Diplonopsis (Dpnps.) = Diploprora X Phalaenopsis

Euryopsis (Eunps.) = Eurychone X Phalaenopsis

Luinopsis (Lnps.) = Luisia X Phalaenopsis

Phalandopsis (Phdps.) = Phalaenopsis X Vandopsis

Phalphalaenopsis (Phph.) = Paraphalaenopsis XPhalaenopsis

Rhynchonopsis (Rhnps.) = Phalaenopsis X Rhynchostylis

Sarconopsis (Srnps.) = Phalaenopsis X Sarcochilus

Trichonopsis (Trnps.) = Phalaenopsis X Trichoglottis

Phalaenopapilio (Php.) = Papilionanthe x Phalaenopsis

Arachnopsis (Arnps.)=Arachnis X Phalaenopsis

Cleisonopsis (Clnps.) = Cleisocentron X Phalaenopsis

Doritaenopsis (Dtps.) = Doritis X Phalaenopsis

Haraenopsis (Hnp.) = Haraella X Phalaenopsis

Phalaenidium (Phd.) = Kingidium X Phalaenopsis

Phalanetia (Phnta.) = Neofinetia X Phalaenopsis

Renanthopsis (Rnthps.) = Phalaenopsis X Renanthera

Sarcalaenopsis (Sar.) = Phalaenopsis X Sarcanthopsis

Sediopsis (Sdp.) = Phalaenopsis X Sedirea

Vandaenopsis (Vdnps.) = Phalaenopsis X Vanda

三屬雜交

Arachnopsisirea (Aps.) =Arachnis XPhalaenopsis X Sedirea

Chinheongara (Chi.) =Ascocentrum XPhalaenopsis X Rhynchostylis

Doriopsisium (Dpm.) = Doritis X Kingidium X Phalaenopsis

Dresslerara (Dres.) =Ascoglossum X Phalaenopsis X Renanthera

Hagerara (Hgra.) =Doritis XPhalaenopsis X Vanda

Laycockara (Lay.) =Arachnis XPhalaenopsis X Vandopsis.

Lutherara (Luth.) = Phalaenopsis X Renanthera X Rhynchostylis

Nakagawaara (Nkgwa.) = Aerides X Doritis X Phalaenopsis

Owensara (Owsr.) = Doritis X Phalaenopsis X Renanthera

Phalaerianda=Aerides x Phalaenopsis X Vanda

Richardmizutaara (Rcmza.) = Ascocentrum X Phalaenopsis X Vandopsis

Sidranara (Sidr.) = Ascocentrum X Phalaenopsis X Renanthera

Trautara (Tirta.) = Doritis X Luisia X Phalaenopsis

Uptonara (Upta.) = Phalaenopsis X Rhynchostylis X Sarcochilus

Yapara (Yap.) = Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

Beardara (Bdra.) =Ascocentrum XDoritis X Phalaenopsis

Devereuxara (Dvra.) =Ascocentrum XPhalaenopsis X Vanda

Doriopsisium (Dpm.) =Doritis X Kingidium X Phalaenopsis

Ernestara (Enra.) = Phalaenopsis X Renanthera X Vandopsis

Hausermannara (Haus.) =Doritis XPhalaenopsis X Vandopsis

Lichtara (Licht.) =Doritis X Gastrochilus X Phalaenopsis

Moirara (Moir.) = Phalaenopsis X Renanthera X Vanda

Neostyloysis (Nsls.) = Neofinetia X Phalaenopsis X Rhynchostylis

Parnataara (Parn.) = Aerides X Arachnis X Phalaenopsis

Rhyndoropsis (Rhdp.) = Doritis X Phalaenopsis X Rhynchostylis

Sappanara (Sapp.) = Arachnis X Phalaenopsis X Renanthera

Sladeara (Slad.) = Doritis X Phalaenopsis X Sarcochilus

Trevorara (Trev.) = Arachnis X Phalaenopsis X Vanda

Wilcara (Wlk.) = Ascocentrum X Neofinetia X Phalaenopsis

四屬雜交

Bogardara (Bgd.) =Ascocentrum X Phalaenopsis X Vanda X Vandopsis

Edeara (Edr.) =Arachnis XPhalaenopsis X Renanthera X Vandopsis

Huntingtonara (Htg.) = Paraphalaenopsis X Phalaenopsis X Renanthera X Vandopsis

Meirmosesara (Mei.) = Ascocentrum X Paraphalaenopsis X Phalaenopsis X Vanda

Pepearara (Ppa.) = Ascocentrum X Doritis X Phalaenopsis X Renanthera

Roseara (Rsra.) = Doritis X Kingiella X Phalaenopsis X Renanthera

Stamariaara (Stmra.) =Ascocentrum XPhalaenopsis X Renanthera X Vanda

Yeepengara (Ypga.) = Aerides X Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

Neomoirara (Neom.)= Papilionanthe x Phalaenopsis x Renanthera x Vanda

Bokchoonara (Bkch.) =Arachnis X Ascocentrum X Phalaenopsis X Vanda

Himoriara (Hmra.) =Ascocentrum X Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

Isaoara (Isr.) =Aerides x Ascocentrum X Phalaenopsis X Vanda

Morieara (Moi.) = Doritis X Neofinetia X Phalaenopsis X Rhynchostylis

Pooleara (Polra.) = Ascocentrum X Ascoglossum X Phalaenopsis X Renanthera

Stamariaara (Stmra.) = Ascocentrum X Phalaenopsis X Renanthera X Vanda

Vandewegheara (Vwga.) = Ascocentrum X Doritis X Phalaenopsis X Vanda

Yeepengara (Ypga.) =Aerides x Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

五屬雜交

Meechaliara (Mchr.) = Ascocentrum X Doritis X Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

Sutingara (Sut.) = Arachnis X Ascocentrum X Phalaenopsis X Vanda X Vandopsis

Paulara (Pira.) = Ascocentrum X Doritis X Phalaenopsis X Renanthera X Vanda

Waibengara (Wai.) = Aerides X Ascocentrum X Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

六屬雜交

Yithoeara (Yit.) = Aerides X Ascocentrum X Doritis X Phalaenopsis X Rhynchostylis X Vanda

正常發育。解決上述交配時受精前所面臨的阻礙，在各種不同的植物研究中已有不少成功的例子，如蕾期授粉、混合花粉授粉、截除柱頭、化學處理、電刺激法、子房內授粉、離體受精；克服受精後的障礙則以胚的拯救 (embryo rescue) 或子房培養 (ovary culture) 行之。

目前園藝上廣義的蝴蝶蘭是包含蝴蝶蘭屬內之雜交品種，以及蝴蝶蘭與朵麗蘭的屬間雜交品種，稱為朵麗蝶。截至西元 2007 年底，登錄於英國皇家園藝協會 (Royal Horticultural Society, RHS) 的蝴蝶蘭品種約 21,280 個，朵麗蝶品種約有 5,680 個，近 10 年來登錄的蝴蝶蘭與朵麗蝶品種平均約以每年 800 種增加，而且也可以看出蝴蝶蘭品種與朵麗蝶品種有明顯的消長，在西元 2007 年以前，每年蝴蝶蘭登錄的品種皆較朵麗蝶多，不過差距每年在拉近，到了西元 2007 年朵麗蝶登錄的品種數量明顯超越蝴蝶蘭品種，這可能因為台灣對蝴蝶蘭的育種相當積極，而台灣又偏愛紅色系，使得朵麗蝶的品種增加快速。因此蝴蝶蘭育種從早期聚焦在蝴蝶蘭屬內品種間的雜交，到最近屬間雜交的朵麗蝶快速增加，令蝴蝶蘭雜交品種在紅色的鮮豔度有了極佳的表現。由此可知，若能克服屬間雜交的障礙，就可以將更多蝴蝶蘭屬內物種所沒有的園藝性狀，導

入蝴蝶蘭的育種種原，亦可讓未來蝴蝶蘭屬間雜交品種產生新穎的特徵，以提升蝴蝶蘭品種的多樣性與特殊性。本文以下即針對改變蝴蝶蘭花色、花型及香味進行探討。

(一) 改變蝴蝶蘭屬花型的人工雜交組合

在萬代蘭族、Aerangidinae 亞族 (subtribe Aerangidinae) 的 *Aerangis* 屬物種及 Angraecinae 亞族 (subtribe Angraecinae) *Angraecum* 屬的花朵具有一個稱為「距 (spur)」的特殊構造，所以可藉由遠緣雜交將船形風蘭屬 (*Aerangis*) 及大慧星蘭屬 (*Angraecum*) 兩屬成員花器上特有的「距」的構造導引入蝴蝶蘭中，希望後代的蝴蝶蘭屬間雜交品種也可以具有「距」這樣的特殊構造。以白色系、紅色系、白花紅心等品種的蝴蝶蘭為材料，分別與船形風蘭屬的空船蘭 (*Aerangis citrata*) (圖一) 及



圖一 花型特殊的空船蘭



圖二 花朵有一根長距的大慧星風蘭

大慧星蘭屬的大慧星蘭 (*Angraecum sesquipedale*) (圖二) 完成屬間雜交，其雜交胚也能順利培養成功。雜交後代若能順利開花，將是新的人工雜交屬，可以將船形風蘭屬與蝴蝶蘭屬的人工雜交屬命名為 *Aeraenopsis*；大慧星蘭屬與蝴蝶蘭屬的人工雜交屬命名為 *Angraenopsis*。此外，一種屬於仙人指甲蘭亞族成員，俗稱為菲律賓風蘭 (*Amesiella philippinensis*) 的蘭花也具有一根很長的距，利用此花與蝴蝶蘭進行人工配對，也能順利胚培養成功，雜交後代若能順利開花，也可以產生新的人工雜交屬，可以將菲律賓風蘭屬 (*Amesiella*) 與蝴蝶蘭屬的人工雜交屬命名為 *Amenopsis*。上述相關的屬間雜交組合，已經陸續會開花，相信不久的將來蝴蝶蘭屬間雜交品種的育成，會有機會將這些具有特性花型的基因導入蝴蝶蘭的育種種原，使未來蝴蝶蘭的品種更加多樣化。

(二) 改變蝴蝶蘭花色的人工雜交組合

據文獻記載，蝴蝶蘭屬的物種數量僅約 66 種，現今野外尚可以找到 56 種，再加上一些變種及亞種，蝴蝶蘭的種原顏色還頗齊全。藍色或紫色是花卉中的夢幻顏色，雖然蝴蝶蘭中也有淺紫色或淺藍色的種原，如紫紋蝴蝶蘭藍變種 (*Phalaenopsis violacea* var. *coerulea*) 及朵麗蘭 (*Phalaenopsis pulcherrima*) (syn. *Doritis pulcherrima*) 有紫色的樣式，目前已有以上述兩者為親本進行紫色蝴蝶蘭的育種，如西元 1963 年由上述兩物種的雜交後代，登錄名為肯尼士舒伯特朵麗蝶 (*Doritaenopsis* Kenneth Schubert)，後來以上述品種為親本與紫紋蝴蝶蘭藍變種雜交進一步培育出紫馬丁朵麗蝶 (*Doritaenopsis* Purple Martin) 等紫色蝴蝶蘭品種。不管是紫紋蝴蝶蘭藍變種或朵麗蘭其花朵皆小且圓整度差，因此紫色蝴蝶蘭的育種尚有很大的改善空間。事實上在千代蘭與萬代蘭的種原中有許多特殊顏色是蝴蝶蘭種原中所缺少的，如湛藍色、橘色等。千代蘭事實上是萬代蘭與百代蘭的屬間雜交而來，其中湛藍色的



圖三 具有湛藍色花朵的千代蘭

種原是來自萬代蘭屬的大花萬代蘭 (*Vanda coerulea*) 及小藍萬代蘭 (*V. coerulescens*)，其中以大花萬代蘭的花徑較大 (約 8-10 cm)，目前也有育出不少顏色相當鮮豔的湛藍色品種，如 *V. Patchara Delight* 及 *V. Patchara Blue* 等。另外也有導入百代蘭屬的彎葉百代蘭 (*Ascocentrum curvifolium*) 遺傳因子於萬代蘭商業品種中，育成顏色均勻且一致的湛藍千代蘭品種，此即有名的 *Ascocenda* John De Biase (圖三)，此品種也是各大蘭展的常勝軍。上述的湛藍色蘭花品種皆具備花朵圓整、花徑大 (不過 *Ascocenda* John De Biase 花徑僅約 5-6 cm) 等特色，可藉由屬間雜交，將藍色素基因導入蝴蝶蘭育種種原。另外，橘色的種原來自百代蘭屬的橙花百代蘭 (*Ascocentrum miniatum*)；Thornton 於 1968 年成功完成百代蘭與蝴蝶蘭的屬間雜交組合，稱之為 *Asconopsis*，是由橙花百代蘭與 *Phalaenopsis* Doris 進行雜交，當時登錄的品種名稱為 *Asconopsis* Irene Dobkin，導入橘色系統進入蝴蝶蘭育種種原，不過此屬間雜交品種後續的育種較為困難，因此在橘色系蝴蝶蘭的育種較為緩慢。據資料顯示，蝴蝶蘭與千代蘭或萬代蘭間的屬間雜交已經有許多成功例子，也有許多人工雜交屬被命名，如蝴蝶蘭屬與萬代蘭屬之人工雜交屬稱為 *Vandaenopsis*。由於千代蘭是萬代蘭與百代

蘭雜交而得的人工雜交屬，因此千代蘭與蝴蝶蘭的人工雜交屬實際上是由萬代蘭屬、百代蘭屬及蝴蝶蘭屬所組成，該人工雜交屬被命名為 *Devereuxara*。因此研究人員嘗試從萬代蘭或千代蘭找尋適合做為導入紫色或藍色進入蝴蝶蘭的親本，由於千代蘭與萬代蘭的花朵較大（尤其是萬代蘭），且花型圓整度還不錯，因此希望能從中獲得紫色或藍色的蝴蝶蘭，雖然目前已經有不少的後代已培育出來，不過尚須從中挑選較優的後代。雖然可以預期後代在花型、花徑及顏色上能有不錯表現，不過在花朵的排列上若受千代蘭或萬代蘭影響，則會影響原本蝴蝶蘭花序優雅的排列美姿，而且也不希望後代的植株及葉片擁有太多千代蘭或萬代蘭的影子。從目前的後代小苗可以觀察到有些小苗的植株及葉片與千代蘭或萬代蘭較類似，不過也有許多與蝴蝶蘭近似。相信上述的第一代組合不太可能出現完全合乎夢幻標準的湛藍色蝴蝶蘭，尤其在株高及花朵排列上仍有很大的改善空間。不過導入藍色千代蘭或萬代蘭進入蝴蝶蘭的育種種原後，未來大花藍色蝴蝶蘭品種的產生指日可待。

（三）改變蝴蝶蘭花香的人工雜交組合

香味也是花卉的重要園藝性狀之一，但這方面是蝴蝶蘭較弱的一環。事實上蝴蝶蘭屬植物的原種中也具有會香的種原，如紫紋蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis violacea*)、大葉蝴蝶蘭 (*P. bellina*)、橫紋蝴蝶蘭 (*P. fasciata*)、瑞氏蝴蝶蘭 (*P. reichenbacciana*)、馬斑蝴蝶蘭 (*P. zebrina*)、柯寧蝴蝶蘭 (*P. corningiana*) 等，上述種原皆屬於革質花、花朵數少且小，所以目前有香味的商業蝴蝶蘭品種尚不多見，僅少數中小型花會香的蝴蝶蘭商業品種，如 *P. Sweet Memory*，其在香味的表現很不錯，是由 *P. Deventeriana* 與紫紋蝴蝶蘭雜交所選育而來。不過對於市場需求量較多的白花系列或白花紅心系列的商業品種則尚無會香的品種。狐狸尾蘭屬 (*Rhynchostylis*) 各個物種皆香味濃郁，因此可以試著將狐狸尾蘭的香味導入蝴蝶



圖四 花白色且香味濃郁的狐狸尾蘭

蘭的育種種原。最早成功獲取蝴蝶蘭屬與狐狸尾蘭屬之屬間雜交組合的成功例子是在西元 1966 年由 Vaughn 完成，其人工雜交屬稱為 *Rhynchonopsis*，所登錄的品種為 *Rhynchonopsis Melody*，是由 *Phalaenopsis Macassar* 與大狐狸尾蘭 (*Rhynchostylis gigantea*) 屬間雜交而來，後續也有少數成功的例子，主要是以大狐狸尾蘭為親本，還有以狐狸尾 (*R. retusa*) 或藍狐狸尾蘭 (*R. coelestis*) 為親本的個案，但上述狐狸尾蘭屬成員皆有明顯的斑點，並無進一步與蝴蝶蘭回交的例子，因此目前在導入狐狸尾蘭香味上較無突破。不過現今狐狸尾蘭屬有出現大狐狸尾蘭的白變種 (*R. gigantea* var. *alba*) (圖四)，也具有極香的特性，可以利用蝴蝶蘭白花系與之雜交，由於親本皆為白色花，因此預期未來可以獲得白色系且會香的蝴蝶蘭屬間雜交品種。由於狐狸尾蘭屬本身的花形也不錯，且花朵數極多 (30 朵以上)，因此期待能找到多花、會香的白花蝴蝶蘭屬間雜交品種，藉由進一步回交蝴蝶蘭就能有機會獲取具商業價值的白花、香花蝴蝶蘭屬間雜交品種。

（四）結語

台灣蝴蝶蘭產業的發展起於民間的趣味栽培者，加上後來台糖投入發展蝴蝶蘭事業，民間的趣

味栽培者也有不少轉型成大型的蘭園或農企業，各大蘭園皆有能力從事育種研發、組織培養及栽培生產，加上其他的民間趣味栽培者投入育種的工作，使得台灣的蝴蝶蘭產業在短短半世紀就在世界發光發熱，不管是品種研發、組培種苗生產，以及栽培技術上都執世界之牛耳。不過也因為蝴蝶蘭具有極高的經濟價值，遂吸引世界各國競相投入，因此對台灣的蝴蝶蘭產業發展造成壓力，這樣的壓力需要被轉換成研發的動力，尤其在品種的研發上面，因為品種是產業發展的基礎，台灣各大蘭園除了需要持續研發新品種之外，也要體認品種保護的重要性，並且應該發展出各自的特色，這樣在激烈的競爭壓力下仍能占有一席之地。當前政府也積極發展蝴蝶蘭產業，尤其在植物基因的研究方面有許多投入，雖然目前不一定能有立竿見影的成效，不過這也是產業提升的另一途徑。遠緣雜交對蝴蝶蘭育種之應用需要長期、有系統且持續性的培育，相信不久的將來蝴蝶蘭的品種必會更加精彩、多樣。

分子遺傳鑑定技術在蝴蝶蘭育種的應用潛力

分子遺傳鑑定技術主要探討的是分子標誌 (molecular marker)，為近年來急速發展的一項技術，廣義的分子標誌是包含 DNA 與蛋白質 (如同功酵素)，但由於蛋白質的表現會受到環境、不同組織或生長時期影響而改變，因此現今的分子標誌常常指的是 DNA 的標誌。分子標誌主要藉由分析 DNA 的差異來提供可供區別的標誌。在進行實際鑑定時僅需要少量的樣本，而且可以提供的標誌多且穩定，因此在作物育種時常常被應用於品種鑑定、種子純度檢定及輔助育種早期篩選之用。由於蝴蝶蘭是屬於高度雜交之作物，並且其繁殖主要採分生繁殖，因此不討論其種子純度之應用方面，僅針對品種鑑定及輔助育種早期篩選方面進行論述。

(一) DNA 鑑定技術及在品種鑑定之應用

傳統的品種鑑定不外乎外部形態、比較解剖、

化學分類、染色體數目、大小及形態等。但上述鑑定技術，時常會遇到如下的難題：特徵會隨不同生長時期、環境而改變，或可獲取的特徵數量太少，以致對相近品種無法有效判定。自從 DNA 指紋技術發展以來，很快被應用在品種鑑定上，因該技術是直接分析農作物之遺傳物質，此項特徵穩定，不因生長時期或環境而改變，可提供之特徵數量龐大。若再配合 90 年代發展的聚合酵素連鎖反應，不僅快速且所需樣本量少。促使各研究展開分子層次的品種鑑定技術。

品種鑑定在育種上的重要性除了可以篩選正確的親本外，還可以促進育種的發展，因為有效的品種鑑定技術可保障育種者所育成的品種，因而鼓勵育種者投入育種，間接促成新品種的產生。由於品種權利與品種保護是目前國際間普遍的共識，一套有效的品種鑑定技術將對育種者、生產者、銷售者與消費者有莫大貢獻。以下介紹幾種常用的 DNA 指紋技術：(1) 限制酵素片段長度多型分析 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)，此技術乃利用識別不同核酸序列的限制酵素 (restriction enzyme)，將不同樣本之 DNA 分解成長度不一之核酸片段，不同品種之 DNA 即可能因核酸出現取代、插入或缺失而造成差異，這些差異即可被不同限制酵素識別，因而造成限制酵素水解後會有不同的片段出現；(2) 隨機複製多型性 DNA (random amplified polymorphism DNA, RAPD)，此技術西元 1990 年發展出來，以聚合酵素連鎖反應為基礎，以一隨機引子 (primer) 進行 DNA 隨機複製反應，不同品種所具之不同遺傳物質經聚合酵素隨機複製後，會出現 DNA 的多型性片段，上述多型性 DNA 片段即可供品種鑑定之用，此技術具快速、簡單、無需知道所分析的樣本基因組，且所需樣本量少等優點，但本技術有穩定度較差的缺點；(3) PCR-amplified RFLP 技術，此技術亦以聚合酵素連鎖反應為基礎，在結合限制酵素的水解，來針對品種特定 DNA 進行分析，該技術具快速、簡單，所需樣本量少且反應穩

定等優點；(4) AFLP 指紋分析技術，此技術是西元 1995 年與 PCR-amplified RFLP 的差別在於此技術的偵測需靠螢光或放射線同位素顯影，但無需知道分析樣本之基因組資料；(5) SSR 技術稱為簡單序列重複 (simple sequence repeat, SSR)，是因為基因組中可以發現一些 1 到 8 個的重複性序列，如 (GA)_n、(TAC)_n 等，這些重複性序列相鄰成群，其套數在演化過程中變異快速，因此在重複性序列群組的兩端尋找序列保留區設計引子，即可藉由 PCR 技術來偵測 SSR 的多型性稱之；(6) ISSR 稱為重複性序列間隔區 (inter-simple sequence repeat, ISSR)，是探討兩組相鄰的 SSR 之間隔區的多型性。

(二) DNA 分子標誌協助育種篩選

DNA 分子標誌應用在作物育種時，植株在幼苗時期即能進行早期鑑定，因此可以早期確認是否雜交成功，以便減少後代栽培規模，加強育種選拔效率。此外，蘭花也有孤雌生殖 (apomixis) 的現象，最常見的是 *Zygopetalum* 屬成員，其胚珠很容易在柱頭受到近緣屬之花粉的刺激下，未經受精的胚珠能發育成胚，但柱頭上的花粉並沒有萌芽，最後也可以獲得孤雌生殖之植株，故在進行蝴蝶蘭遠緣雜交之研究時，也不能完全排除孤雌生殖的可能性。另外，也有可能因為花粉污染，造成假性屬間雜交成功，因此若要早期進行雜交苗之篩選可以利用分子遺傳鑑定技術在幼苗時進行鑑定。上述屬間雜交苗之分子遺傳鑑定技術事實上也都可做為找到每個屬間雜交品種或蝴蝶蘭屬內雜交品種有用的 DNA 標誌，未來在品種保護上也可提供有效的鑑別工具。然而這些技術是近幾年所發展出來，分析所需要試劑費用偏高，在實際應用上需要考量成本，雖然如此，分子遺傳鑑定技術應用鑑定雜交後代、輔助品種選育、品種權利的保護上將是未來的趨勢。分子標誌在育種上除了在鑑定雜交是否成功外，也可以利用特定的分子標誌進行輔助育種選擇 (marker assisted selection, MAS)，針對與特定性狀

相連鎖的分子標誌，或直接設計可以針對特定性狀的引子組進行檢測，如抗病、抗蟲、株高、香味、花色等性狀，在育種時就可以進行早期的篩選，淘汰掉沒有該性狀的子代，以提升育種效率。

此外，基因組原位雜交技術 (genomic *in situ* hybridization, GISH) 也可以用在雜交後代鑑定，此技術主要是結合染色體與 DNA 技術，雖然古典遺傳細胞學之研究已經建立完整的染色體檢驗技術，但傳統的染色體鏡檢僅能針對染色體大小、數目進行判定。若屬間雜交的兩個屬的染色體數目一樣¹且大小相當，那麼就無法以染色體加以判斷是否為真正的雜交苗。新近的 DNA 技術在染色體分析的應用，即導入 DNA 探針與螢光標定的觀念，利用雜交苗細胞內來自雙親的染色體標定不同的顏色，藉由觀察雜交細胞染色體兩種顏色的染色體，即表示為屬間雜交苗，這種給染色體塗上顏色的技術稱為基因組原位雜交技術。此技術除了可以區別雜交後代是否為雙親本的雜交後代，若雜交後代為三倍體 $2n=3x=57$ ，此技術也可以區別其中的 38 條染色體是來自哪一個親本，另外的 19 條染色體是來自那個親本。另外，針對整個基因組進行分析也可以利用流式細胞儀 (flow cytometry) 來偵測，流式細胞儀可以針對 DNA 的含量進行快速鑑定，因此很適合應用於染色體倍加的育種，其中以四倍體植株的培育是目前最普遍的育種目標，因為在四倍體植株通常具有植株健壯，葉子增厚，花朵增大等現象，是一種可以快速改變現有品種特徵的育種策略。

(三) 結語

蝴蝶蘭的育種已有 90 年了，若三年一個世代來換算的話，有些品種可能已經雜交幾十個世代了，加上染色體有自然加倍的現象，使得目前的蝴蝶蘭品種有不少三倍體或四倍體植株，造成現今商業蝴蝶蘭品種的遺傳背景相當複雜，所以其雜交後代的外部特徵分離的很厲害，同一個雜交組合會出現很不一樣的雜交後代，不同的雜交組合有可能出現出

¹ 萬代蘭族下的各個屬的染色體數都是 $2n=38$ ，如蝴蝶蘭屬、萬代蘭屬、狐狸尾蘭屬等。

現特徵相近的個體，因而造成蝴蝶蘭品種在鑑定上有很高的難度，也常遭遇很多問題。DNA 鑑定雖然可以做為品種鑑定的有效策略，但不同的鑑定目的需要選取相對應的有效方法。一個兼具穩定性、鑑別力、省時及費用低廉的技術，方能符合做為蝴蝶蘭品種的鑑別工具，目前利用 DNA 鑑定技術判定雜交成功與否是相對容易的，因為所需分析的樣本很清楚。要進行蝴蝶蘭品種鑑定時，若品種是利用無性繁殖的固定品種，要判定兩個品種是否為不同品種或相同品種，技術也相對的簡單；若一個未知品

種在未開花以前，要判定屬於哪一個品種則困難許多，因為蝴蝶蘭的品種太多了，沒有相對應的 DNA 資料庫可以與未知品種 DNA 進行比對，也沒有參考品種可以進行 DNA 比對，因此要用 DNA 鑑定技術來判定其品種就有困難。然而，可知的是 DNA 技術所產生的分子標誌在鑑定上已經有了很大的躍進，未來在蝴蝶蘭品種鑑定、品種保護及輔助育種上應能漸漸扮演起舉足輕重的角色。 AgBIO

蔡奇助 高雄區農業改良場 作物改良課 副研究員
莊晝婷 高雄區農業改良場 作物改良課 助理研究員

參考文獻

1. Bhaskar, P. B., Ahuja, I., Janeja, H. S. and Banga, S. S. (2002) *Intergeneric hybridization between *Erucastrum canariense* and *Brassica rapa*. Genetic relatedness between *E*^c and *A* genomes. *Theor Appl Genet* 105:754-758.*
2. Christenson, E. A. (2001) *Phalaenopsis*. Timber Press, Portland, OR.
3. Colonel, M. and Godfery, J. (1927) *Natural Orchid Hybrids*. *Genetica* 9:19-38.
4. Lenz, L. W. and Wimber, D. E. (1959) *Hybridization and Inheritance in Orchids (p. 262)*. In: F. Verdoorn. *The Orchids-A Scientific Survey*. The Ronald Press company, New York.
5. Moir, W. W. G. (1995) *In: An orchid database*. Wildcatt Database Co., USA.
6. Shivanna, K. R. (1996) *Incompatibility and wide hybridization*. In: Chopra, V. L. and S. Prakash (eds) *Oilseed and vegetable Brassicas: Indian perspective*. Oxford and IBH Publishing Co, New Delhi, pp77-102.
7. Tautz, D. (1989) *Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers*. *Nucleic Acids Res.* 17:6463-6471.
8. Zietkiewicz, Rafalski, E. A. and Labuda, D. (1994) *Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification*. *Genomics* 20:176-183.
9. 英國皇家園藝協會，http://www.rhs.org.uk/plants/plant_groups/orchids.asp