

植物基因體之研究與應用

洋桔梗開花時間及花型改良潛力

撰文/陳銘坤·張玉雲·李坤紘·楊長賢

細說洋桔梗

洋桔梗 (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) 屬於龍膽科植物，別名麗鉢花、土耳其桔梗、德州藍鈴，原產於美國中南部科羅拉多州至德州一帶，為一至二年生植物。洋桔梗於 1933 年引進日本，經日本人多年的馴化與育種後，至 1999 年已培育出超過 190 種的洋桔梗園藝品系，其洋桔梗的育種與研究成果居世界之冠。因洋桔梗屬於高經濟花卉，

近年來台灣也有多家種苗公司及農業改良場加入洋桔梗育種的行列中。台灣的洋桔梗栽培始於 1968 年，栽培品種大多來自日本育種公司 F1 商業化品系為主，至 2006 年栽培面積已高達 65 公頃，總產量 160 萬打，出口價值為 2,300 萬台幣，主要產地分布在彰化、雲林、嘉義及台南，約占總產量的 90% 以上。台灣從 2004 年開始對日本大量外銷洋桔梗，至 2008 年外銷日本的洋桔梗約達 170 公噸，產值約 158 萬美元，僅次於文心蘭及火鶴花出口至日本的切

花產值，因此台灣已成為日本洋桔梗最大進口國。在台灣若利用不同的定植時間或選擇不同的品系來調節產期，洋桔梗的切花幾乎全年都可以採收。一般來說，夏季切花主要銷售國內市場，冬季切花主要外銷日本。洋桔梗的花色與花型種類眾多，花色主要為紫、白、粉紅、黃及雙色系列等，花型似玫瑰花且富變化，單瓣及重瓣品系種類繁多。洋桔梗的花苞尚未打開之前狀似蟬蛹，打開後其構造由外而內分別是五個花萼、五個花瓣、五至七個雄蕊與一個雌蕊（圖一）。洋桔梗的切花吸水性佳且耐儲運，周年均可供貨，在切花市場中屬高單價花卉，因此是深具市場潛力的新興花卉。



A：洋桔梗東方系列桃白雙色品種。
B：將花朵打開之後可見五個花萼 (s)，五個花瓣 (p)，五到七個雄蕊 (st)，一個雌蕊 (c)。
C：由左到右為小花苞、成熟花苞與成熟花。s：花萼，p：花瓣。

圖一 洋桔梗外觀及花器

洋桔梗產業上待解決之問題

日本的秋、冬季因為氣溫太低，洋桔梗須在溫室栽培而增加生產成本，因此秋、冬季的洋桔梗大部分都是由國外進口到日本。台灣的冬天氣候涼爽，正好適合洋桔梗的生長，因此冬季切花主要都銷往日本。不過，洋桔梗在栽培上最大的問題是不良的生長環境會造成苗株簇生化 (rosette) 現象，即葉片呈橢圓形且平攤、節間不伸長與生長緩慢，農民稱之為“睡覺”。高溫是造成簇生化最主要的原因，而簇生化現象將延長栽培時間，增加生產成本。洋桔梗須育苗至 3 對本葉以上 (約需 50-60 天) 才適合定植，而育苗階段的前 6 週是對高溫最敏感的時候，其引發簇生化的臨界溫度是日溫 28~30°C，夜溫 20-23°C 以上。若在育苗階段的前 6 週內以高溫 (日溫 33°C，夜溫 28°C) 處理 14 天，抽苔率幾乎等於 0；若以涼溫 (日溫 23°C，夜溫 18°C) 育苗，抽苔率可達到 90% 以上。不過，抽苔後若處理高溫與長日照則可加速誘導花芽的分化。一旦洋桔梗遭遇高溫而產生簇生化現象，須以低溫 5~15°C 處理 4~6 週才能打破簇生化情形。為因應冬季日本的大量訂單，台灣種植的洋桔梗必須在 6-8 月育苗，8-10 月定植。這段時間正好是台灣最熱的季節，因此很容易出現簇生化現象，進而增加生產成本，且無法趕上最佳的出口時機。所以，現今的解決辦法為購買涼溫培育之丹麥進口苗 (占 80%) 或國內涼溫培育之種苗，不過也相對的增加栽培成本。目前市場較受歡迎的晚生及重瓣品系大多為不耐高溫的品系，因此，培育在高溫環境下仍正常開花及不出現簇生化之品種是台灣許多種苗公司及農業改良場的主要目標之一。

此外花朵的外型特徵如形狀、大小、花瓣質地、單瓣或重瓣花等也是影響消費者喜愛與否的原因之一。傳統的洋桔梗花卉育種是以雜交的方式篩選出符合市場需求的品種 (如生長快速，特定花型、花色與花苞數，或是耐高溫的品種)，不過卻有許多潛在的缺點。傳統育種需依賴育種家長久累積的經驗，經過長時間且高人力成本的雜交栽培才能得到

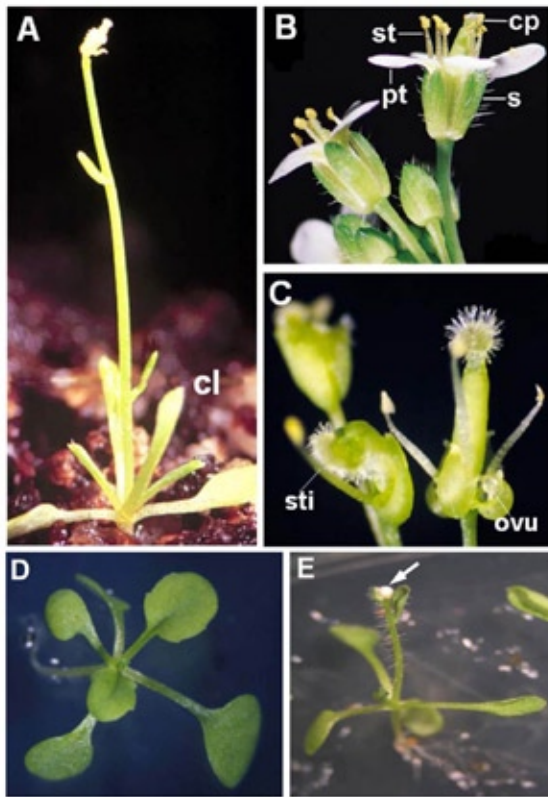
新的品種，不過往往無法得到集多種優點於一身的完美品種，有時候甚至辛苦孕育出來的品種無法符合市場的需求，或是品種遭到盜用而求償無門。花卉市場的走向決定於消費者的喜好，而市場的流行趨勢往往是快速且難以預測的。因此，加速洋桔梗新品種的研發以符合市場的需求，甚至創造新的花卉品種來引領潮流有其必要性。

以生物技術改良洋桔梗

針對上述洋桔梗產業之問題，若借由生物技術分子育種 - 即選殖及轉殖有用的基因至洋桔梗中來改變固有之性狀，實為有效且快速的解決方法。植物基因轉殖的方式即是將任何生物如微生物、植物、動物、甚至是人類的特定功能基因經過改造或修飾後轉殖入具有優良品種的植物中表現。因每次只轉殖一至數個基因來改變植物的特定性狀，所以不會影響原有品種的優良特性，甚至可以一次就創造多種預期的特定性狀。植物基因轉殖不但可以克服種原的限制與不同屬、種間雜交的瓶頸，得到新品種的時間也比傳統育種短，新品種出現的特性也是可以預期的，更重要的是可以使用分子檢測來確定是否為自己創造出來的新品種。

由於開花時間與花朵器官的發育受到嚴謹的基因調控，若想以生物技術的方式來調節開花時間與改變花朵的外型，首先必須了解植物開花與花器發育的機制。植物的開花由複雜的遺傳途徑所調控，以模式植物 - 阿拉伯芥為例，其開花受到三群基因影響。第一群為開花誘導基因，其功能為調節植物由營養時期轉變為花序時期 - 即植物開始長出花序。這群基因包括光週期的基因 (如 *GI*、*CO*、*FT*、*SOCI*)、春化作用的基因 (如 *VRN1*、*VRN2*)、植物自發性的基因 (如 *FLD*、*LD*) 與荷爾蒙的基因 (如 *GAI*、*SPY*)。第二群為開花起始基因，其功能為調節花序時期轉變為花器時期 - 即花序上開始長出花苞，如 *TFL*、*LFY*、*API*、*CAL*、*UFO*。第三群基因因為花器發育基因，主要由 A、B、C、D、E 五種不同功

能的 MADS box 基因組成，進而控制花朵器官（花萼、花瓣、雄蕊與雌蕊）的發育。這五種 MADS box 基因中，A 功能基因調控花萼與花瓣的發育，如阿拉伯芥的 *API*；B 功能基因調控花瓣與雄蕊的發育，如阿拉伯芥的 *AP3* 與 *PI*；C 功能基因調控雄蕊與雌蕊的發育，如阿拉伯芥的 *AG*；D 功能基因調控胚珠的發育，如阿拉伯芥的 *SHPI*、*SHP2* 與 *STK*；E 功能基因則與前述四種功能的 MADS box 基因共同調控花器發育，如阿拉伯芥的 *SEPI*、*SEP2*、*SEP3* 與 *SEP4*。



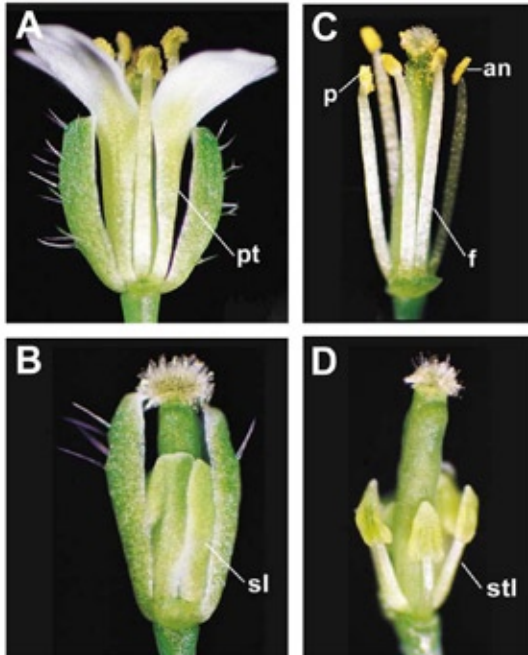
- A：35S::*EgMADS1*的轉基因植物出現極度早開花且有捲曲葉 (cl) 的性狀。
 B：野生型阿拉伯芥的花。s：花萼、pt：花瓣、st：雄蕊、cp：雌蕊。
 C：35S::*EgMADS1*的轉基因花朵，出現花萼上著生柱毛 (sti) 與胚珠 (ovu)、花瓣消失等性狀。
 D：兩週大的野生型阿拉伯芥小苗，尚處於營養時期。
 E：兩週大的35S::*EgMADS5*轉基因阿拉伯芥，只長出兩片真葉就開花，花序及花苞(箭號)已經出現。

圖二 大量表現*EgMADS1*及*EgMADS5*的轉基因阿拉伯芥

至目前為止，本實驗室已從洋桔梗中成功選殖出開花起始基因 *-EgLFY* 與九個 MADS box 基因，包括 *EgMADS3*、*9*（屬於 A 功能基因），*EgMADS2*、*4*、*7*（屬於 B 功能基因），*EgMADS8*（屬於 C 功能基因），*EgMADS1*（屬於 D 功能基因）與 *EgMADS5*、*6*（屬於 E 功能基因）。這些基因有部分已經進行轉基因植物的功能分析，且獲得如預期般之變異性狀。例如將 *EgMADS1*（D 功能基因）轉殖到阿拉伯芥中大量表現，則轉基因植物會極度早開花且花器出現變異 - 在花萼上長出雌蕊的結構（柱毛與胚珠），且花瓣完全消失了（圖二）。若進一步將 *EgMADS1* 以組織培養的方式轉殖回洋桔梗中大量表現，花瓣的形成將會受影響。若將 *EgMADS5*（E 功能基因）轉殖到阿拉伯芥中大量表現，則轉殖植物會提早開花（圖二）。除此之外，本實驗室亦將其他植物中選殖出之相關基因轉殖入洋桔梗中大量表現，以改造洋桔梗之性狀，例如將百合 B 功能基因 *-LMADS1* 的 MADS 區域去掉 (*LMADS1-M*) 後轉殖至阿拉伯芥中（模擬 *LMADS1* 的突變），轉基因阿拉伯芥的花瓣會轉型成花萼的結構（圖三）。若進一步將此基因轉殖至洋桔梗中，則亦會得到相同花瓣變成花萼的結果。另外將文心蘭屬於 A/E 功能的 *OMADS1* 基因轉殖至阿拉伯芥及菸草後植株明顯提早開花（圖四），若進一步將 *OMADS1* 基因轉殖至洋桔梗中，開花時間將比同時期的野生型洋桔梗提早許多。

未來展望

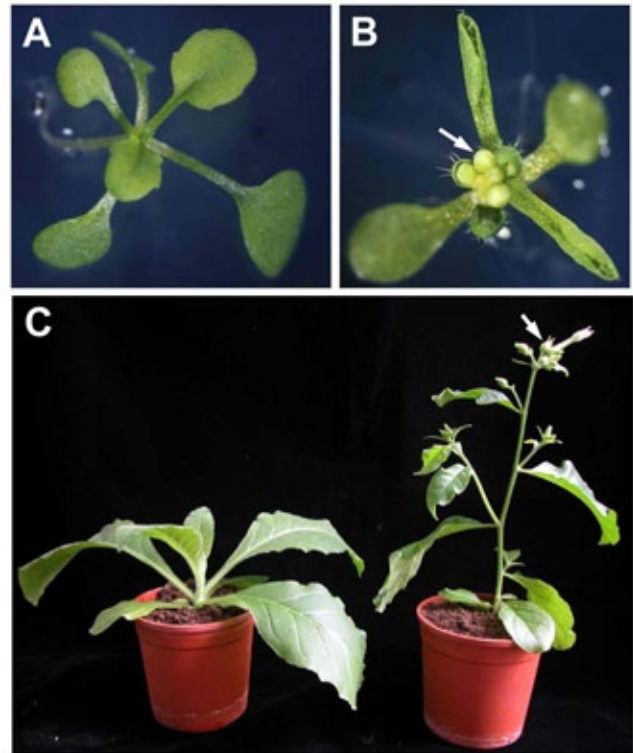
經由以上對 MADS box 等基因進行轉殖的研究，得以了解以基因轉殖的方式來調節洋桔梗的開花時間與改變花型是可行的，並且可以在短時間之內就看到成果，符合市場流行趨勢多變的需求。同時，本實驗室目前也正在進行耐熱品種洋桔梗的研發，也就是將已選殖出之開花誘導、開花起始及一些 MADS box 基因轉殖到非耐熱品種的洋桔梗中進行測試，相信不久的將來即可得到開花時間受到



A：野生型阿拉伯芥的花苞打開後的外觀。pt：花瓣。
 B：35S::*LMADS1-M* (即將*LMADS1*的MADS區域去掉) 轉基因阿拉伯芥的花，顯示花瓣轉變為如花萼之綠色結構 (sl) 且長度較短。
 C：將A圖的花萼與花瓣去除後顯現出雄蕊。an：花藥、f：花絲、p：花粉。
 D：將B圖的花萼與花瓣去除後，顯示雄蕊轉變為綠色、長度較短且表皮細胞如雌蕊之結構 (stl)。

圖三 大量表現*LMADS1-M*的轉基因阿拉伯芥

控制之耐熱、不易簇生化的轉基因洋桔梗。得到有特殊性狀的轉基因洋桔梗經評估後若有經濟價值，也可以直接申請為新的品種，受到智慧財產權的保護，提高商品的價值。不過，以組織培養進行基因轉殖約須四個月到半年的時間才能從癒傷組織分化為一株完整的轉基因植株，並且在出瓶馴化的過程中常會折損不少轉基因植物的幼苗，此為發展基因轉殖洋桔梗的瓶頸。因此，以組織培養進行洋桔梗的基因轉殖還有許多改進的空間，甚至還需要進一步發展更簡便快速的基因轉殖技術，加速新品種的



A：兩週大的野生型阿拉伯芥小苗，尚處於營養時期。
 B：兩週大的35S::*OMADS1*轉基因阿拉伯芥已開花，花苞已經出現 (箭號)。
 C：35S::*OMADS1*轉基因菸草植株 (右) 之開花時間明顯比野生型之菸草植株 (左) 提早許多，此時轉殖植株已產生數個花苞 (箭號)。

圖四 大量表現*OMADS1*的轉基因阿拉伯芥及菸草

研發以符合市場的需求。希望不久的將來，轉基因洋桔梗會在花市出現，甚至進而達到客製化的目標 (應客戶要求而訂製特殊性狀轉基因洋桔梗)，因此全新的品種將可以創造話題與引領花卉市場的潮流。

AgBio

陳銘坤 中興大學生物科技學研究所 博士後研究員
 張玉雲 中興大學生物科技學研究所 博士生
 李坤紘 中興大學生物科技學研究所 博士生
 楊長賢 中興大學生物科技學研究所 教授
 兼任中興大學生物科技發展中心 主任

參考文獻

1. 王裕權，張元聰 (2007) 洋桔梗育苗技術探討。台南區農業改良場研究彙報 50:39-48。
2. 徐杏芬 (2003) 文心蘭花朵發育相關之MADS box基因之選殖及功能分析。中興大學博士論文。
3. 陳星宇 (2007) 洋桔梗與阿拉伯芥中與胚珠分化及花朵發育相關之MADS-box基因之選殖及功能分析。中興大學博士論文。
4. 曾才郁 (2002) 百合中參與調控花朵發育基因及其機制之研究。中興大學博士論文。
5. 劉友珍 (2005) 洋桔梗中E功能性之MADS box基因的選殖與特性分析。中興大學碩士。