

遠緣雜交育種障礙 及克服策略

農試所鳳山分所 邱金春 王三太

一、前言

作物育種技術不斷地改良與更新，雖然基因轉殖或分子育種是未來作物育種趨勢，但是目前仍然以有性生殖法為主；惟受限於親合性，雜交授粉都是以無雜交障礙的種(species)內材料作為育種親本。而傳統育種經長期選拔難以克服的問題，由於遺傳質差異性愈來愈小，大幅改變的可能性降低，必須尋求新的變異。遠緣雜交親本擴大到種間(interspecies)或屬間(intergenous)的層次，經由異種或異屬遺傳質的導入可以開創一般傳統育種難以得到的新基因型，惟親本間的染色體同源性低，因此遠緣雜交過程中會出現各種雜交障礙，這也是一般的人工雜交技術較難以獲得遠緣雜種的原因。

二、遠緣雜交育種障礙

遠緣雜交育種常見的障礙大致上可以分為三階段，包括受精前之親本間雜交不親和、雜種胚敗育死亡和雜交種植株稔實性低甚至不稔性等。雜交不親和通常指受精前花粉在柱頭無法萌芽，

或花粉雖可萌芽但花粉管的伸長受阻無法到達子房內的胚珠位置，所以雜交不親和的表現方式一般為花粉黏合性降低或花粉管生長遲緩或分叉畸形，因而阻礙了受精作用的發生，雜交授粉後初期受花粉刺激子房雖然有可能顏色轉綠甚至稍微膨大，但是往往在短時間內即轉為黃化脫落。雜種胚的敗育則是指雜交的障礙發生在受精之後，有三種表現方式：(一)植物在雙重受精後，雜種胚和胚乳不能正常發育，胚乳發育畸形影響養份之供應與輸送，導致雜種胚的分化受到抑制；(二)雜種胚可以正常分化發育，但是雜交種子接近成熟時，雜種胚敗育死亡；(三)雜交種子雖然有胚，但不發芽，有的雖能發芽，但苗期容易死亡不能成株。為了解決雜交胚敗育的問題，未成熟胚培養是最佳途徑之一，可以避免雜交胚的萎縮退化。惟即使是胚拯救成功順利獲得雜交種，來自於遠緣交配所得的雜種第一代因為基因組發生了重大的改變，染色體在配對過程中不平衡甚至可能部分丟失，使得雜種後代遺傳上有不穩定及多樣性的特點。雜種植株雖然可以利用組織培養微繁殖方法繁殖保存，但是只適用於高價可無性繁殖的作物如蝴蝶蘭、文心蘭新雜交種，對

作者：邱金春助理研究員
連絡電話：07-7310191-204

於一般採用種子繁殖的十字花科蔬菜作物，若無法大量採種，則失去產業應用的價值。因此，遠緣雜交育種必須能同時克服受精前親本間雜交親和性問題、受精後雜種胚敗育和雜交種植株稔實性低等障礙才能在作物育種上發揮潛力。

三、克服遠緣雜交育種障礙方法

雜交親和性的強弱主要視兩育種親本遺傳質相似度而定，染色體組型相同或相似的種間雜交親和性強，因此雜交組合或親本基因型的選擇會影響親和性的強弱，親緣關係較遠的屬間雜交比種間雜交更常發生雜交不親和的問題。遠緣雜交的兩個育種親本遺傳關係較為疏遠，雜交親和性低是可預期的，但是仍然有某些規則可依循。當訂定特殊性狀轉移的育種目標後，若有一個以上的基因供應者，應該以與目標作物親緣關係較緊密之組合為優先。以十字花科蕓苔屬(*Brassica*)蔬菜為例，蕓苔屬植物是由甘藍(*B. oleracea*, $2n=CC=18$)、白菜(*B. campestris*, $2n=AA=20$)與黑芥(*B. nigra*, $2n=BB=16$)三個基本種以及大油菜(*B. napus*, $2n=AACC=38$)、阿比西尼亞芥(*B. carinata*, $2n=BBCC=34$)與芥菜(*B. juncea*, $2n=AABB=36$)三個複合種所組成，目前經由分子層次分析已知基因組A與C相似性較高，基因組B則自成一群，若以兩基本種進行種間雜交，兩親本基因組AA/CC雜交成功率較親AA/BB或BB/CC為高。若以基本種與複合種進行種間雜交，則以兩親本基因組為AA/AC親和性最佳，BB/BC或CC/CA次之，CC/AB因為相似度最小其親合性也是最差。

有時候即使是同一雜交親本組合，正交或反交所受到的不親和性程度也會有差別，正反交親和性差異據推測可能受到母本細胞質基因組的影響，這種現

象在很多園藝作物都曾被發現，在蕓苔屬植物尤其明顯，例如進行芥藍與油菜種間雜交，以油菜為母本（油菜 $\times$ 芥藍）和以芥藍為母本（芥藍 $\times$ 油菜）雜交授粉後的親和性表現就有明顯的差異，後者雜交胚培養後成活率低難以成苗。因此，當依育種目標選定基因供應者與目標作物後，可同時嘗試正交與反交，增加遠緣雜交育種成功率。

除了慎選適當育種親本及基因型外，可以在蕾期趁著花粉萌芽抑制物質尚未形成前進行授粉，有助於花粉的萌發與花粉管的伸長；或採用重複大量授粉增加植物受精機會（圖一）。部分育種者利用植物生長調節劑刺激花粉萌發增加受精機率，或是改變生長環境條件如降低溫度或光照以延長授粉後雌蕊生育時間，都有助於降低遠緣雜交不親和性問題。例如文心蘭遠緣雜交授粉後，植株在涼溫環境下生育減緩，子房緩慢發育中使得胚珠受精機率增加，大大地提高文心蘭遠緣雜交育種成功率（圖二及圖三）。此外，也有研究報告指出使用經輻射處理之花粉，或是以氯化鈉溶液塗抹柱頭配合蕾期授粉，可提高遠緣雜交之親和性。

遠緣雜交種胚衰敗死亡主要是由於胚和胚乳發育異常、胚乳提早退化萎縮，因此在胚發生敗育之前取出進行離體培養拯救，在某種程度上可以克服雜交胚敗育障礙（圖四）。胚拯救技術是指在適當時機下將子房、胚珠或胚切離母體，在無菌的條件下放置在人工製備的培養基，提供適當的營養組成及適宜的溫度、光照等生長條件使其再生成為植株之技術。親本間親和性低使得遠緣雜種胚的分化受到抑制，其發育通常比正常胚弱小，對於在球型或心型胚階段即發生敗育的遠緣雜種胚而言，很難從

子房中直接剖離取出幼胚進行胚培養，在此種情況下可分兩個階段進行胚拯救，初期先摘取整個子房進行培養，而在子房培養後期再將胚珠或胚切離出來轉移到新鮮培養基上繼續培養。

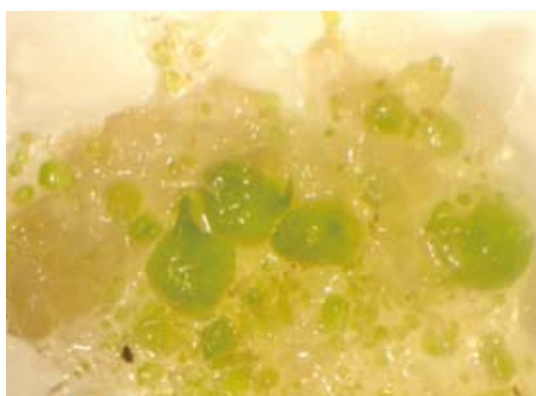


圖一、克服雜交不親和性是遠緣雜交育種的第一步。



圖二、文心蘭授粉後子房於涼溫下生育提高遠緣雜交成功率。

影響子房培養、胚珠培養和胚培養成功與否的因素很多，尤其是遠緣雜交親和性及胚珠退化時間會隨著雜交組合親本的不同及基因型的選擇而不同。在胚敗育發生之前掌握適當的受精胚摘



圖三、胚培養培育新文心蘭遠緣雜交種。



圖四、胚拯救可避免胚敗育，是培育遠緣雜種最佳方法。



圖五、遠緣雜種植株有生理性雄不稔問題，利用回交法或染色體倍加提高稔實性。

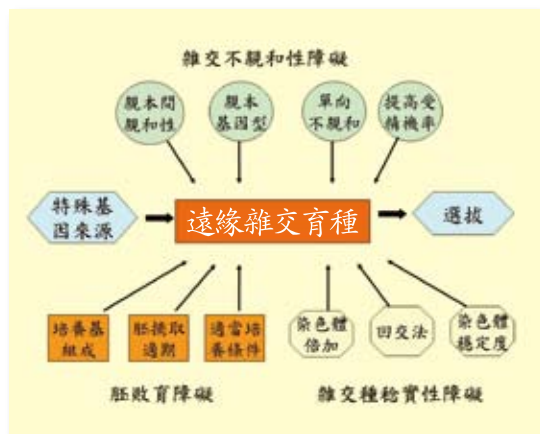
取時間，是決定胚培養成功與否的關鍵因子之一（圖四）。此外，培植體對培養基組成的要求也會受不同基因型親本、雜交組合與培植體切離母體時胚的發育程度而有差異性，一般來說，胚齡越小培養的難度越大，對培養基的要求也越複雜，通常需要較多的外加物質如植物生長調節素或水解酪蛋白(casein hydrolysate)等有機複合添加物才能滿足其生長發育的要求，因此培養不易成功；越接近成熟的雜種胚不僅容易摘取，對培養基的要求較簡單，因此成功率較高。但是遠緣雜交胚的衰敗通常在授粉後初期即迅速發生；若在雜交胚已開始發生退化敗育才要取樣培養，即使供給適當的培養基，也會因錯過適當胚拯救時期而回天乏術了。

遠緣雜交種染色體的配對異常或細胞核與細胞質的不協調導致植株無法正常地行使減數分裂，是造成雜種發生生理性雄不稔或稔實性低的主因，無法得到自交後代（圖五）。遠緣雜種基因組分別來自異種或異屬的兩親本，因此多以異源二倍體(allodiploid)或異源三倍體(allotriploid)雜種呈現，對於種子繁殖作物而言，雜種第一代無法立即應用於產業，一般多利用回交育種親來逐漸提高遠緣雜種的稔實性，回交配合胚培養技術，隨著代數增加，稔實性愈高。另一種提高遠緣雜種稔實性的方法為染色體倍加技術，將異源二倍體或異源三倍體的遠緣雜種第一代以秋水仙素處理植株芽體，誘導細胞染色體倍加成為異源四倍體（或稱複二倍體）或異源六倍體，遠緣雜種經過染色體倍加後，染色體配對平衡可以進行正常的減數分裂，藉以改變雜種稔實性。採用二倍體x二倍體模式的遠緣雜交育種，一般都先培育出遠緣雜种植株後再進行染色體倍加；但也

有報告指出將兩個二倍體育種親本先進行染色體倍加形成四倍體植株，再採用四倍體x四倍體遠緣雜交育種模式，能直接獲得具有稔實性的異源四倍體，較前者省工省時。無論是回交法或是染色體倍加技術，都使遠緣雜種稔實性低或不稔性的障礙得以部分克服，能經由自交採收種子繼續育種上的選拔，也使遠緣雜交育種技術有實際產業應用價值。

四、結語

遠緣雜交育種是由異種或異屬導入遺傳質，較一般侷限於種內雜交層次的傳統育種困難許多，具有新穎性與進步性，可以申請專利權。依育種目標選定特殊有用基因來源後，經由對雜交不親和、雜種胚敗育及雜種稔實性低等障礙發生原因的了解再擬出對策，配合胚拯救技術的改良，大大地提高雜種培育的成功機率（圖六）。遠緣雜交技術擴大了種原利用的範圍，抗病、抗逆境、細胞質雄不稔性等有用遺傳質因而得以在不同作物之間移轉利用，並經由回交或染色體倍加技術提高雜種稔實性，使遠緣雜交技術也可實際應用於作物品種改良，輔助傳統育種的不足。



圖六、遠緣雜交技術用於作物改良需同時克服雜交不親和、胚敗育和雜種稔實性低等障礙。