台灣原生百合遺傳資源之開發利用研究 [1]

蔡月夏 [2]　林學詩 [3]

摘要

以本省原生之台灣百合及鐵炮百合為母本，分別與 12 個亞洲雜交型，及 2 個東方雜交型百合雜交，由授粉 30 天後子房膨大現象判斷種間雜交親和程度；台灣百合在授粉的 59 朵花中，有 6 個雜交組合的 22 個子房膨大發育成果莢，但鐵炮百合授粉的 260 朵花中，僅 4 個子房膨大，而且屬於同一個雜交組合，顯示台灣百合的雜交親和性高於鐵炮百合。台灣百合雜交成功的 22 個果莢中有 20 個都得到無胚性種子，顯示種子發育過程中有胚退化現象發生；只有 1 個果莢(×Dreamland)獲得 332 粒有胚種子，在 18℃恒溫下催芽，其發芽率達 100%。為了拯救胚退化現象，將種間雜交 40 天後的百合果莢切下，取出胚珠，放置在 MS(1962)培養基加 NAA(0.01mg/l)、蔗糖(3%)、洋菜(0.8%)等，pH 值為 5.5 的試瓶內培養。胚珠有的直接長出植株，有的長出癒傷組織後再分化不定芽，有的在癒傷組織上分化出擬胚後長成植株。利用這種方式，台灣百合×Avignon（亞洲型），及鐵炮百合×San Francisco（亞洲型）兩雜交組合均成功地獲得後代植株。

（關鍵字：台灣百合、鐵炮百合、亞洲型及東方型雜交百合、雜交、胚珠培養）

[1] 花蓮區農業改良場研究報告第 79 號，本研究部份經費承中正農業科技社會公益基金會補助（計畫編號：79–中基–農–26），謹致謝意。

[2] 作物改良課助理。

[3] 作物改良課助理研究員。

前言

百合科百合屬（Lilium）植物之原生種超過 85 種（species），主要栽培的品種有傳統的白色鐵炮百合，近年則興起色彩艷麗的亞洲型雜交百合（Asiatic hybrid）及東方型雜交百合（Oriental hybrid)，而且發展迅速，成為一種重要的觀賞花卉(15)。現有百合栽培品種雖已廣受歡迎，但仍必需繼續進行育種工作，導入其他種百合的優良性狀，以增添現有品種之優點如耐熱性、抗病性、早生性等。

本省為台灣百合（Lilium formosanum Wall.）、鐵炮百合（L. longiflorum Thunb.）、鹿子百合（L. speciosum）、細葉卷丹（L. callosum）等四種百合的原生地(1,2,11)，其中鹿子百合及細葉卷丹的分佈範圍小，且又瀕臨絕種，不利於研究應用。而台灣百合分佈全省，具有豐富之遺傳變異可供選擇、適應性廣、實生播種一年內即可開花、自交親和性強、早熟、耐熱性強等優點，可供雜交育種之應用(1,3,4)。而原產於琉球及台灣的鐵炮百合，經日本及美國引進改良後，早在二次大戰前就已經是一種重要的花卉作物，歷久不衰，其乃具有生長勢極強、切花壽命長及花朵清香之優點(1)。近年來國、內外市場對於亞洲型、東方型百合切花的需求日多，

花卉栽培業者對花卉品種求新求變的要求日殷，如能將台灣百合及鐵炮百合的優點，導入於亞洲型及東方型百合內，則一方面可開發新品種，另一方面有助於新興花卉之本土化，並且善加利用本土性之材料。

材料與方法

(一)供試材料：

母本為本省原生之台灣百合與鐵炮百合 2 品種；父本為亞洲型雜交百合 12 個品種，及東方型雜交百合 2 品種，這些品種均為前一年由荷蘭引進，經一年之種植觀察，其特性如表 1 所示。亞洲型百合中黃色花系有 7 品種，紅色花系有 1 品種，橙色花系有 2 品種，粉色花系有 2 品種，東方型百合中粉色系有 1 品種，紅色系有 1 品種。

表 1.新引進百合品種之園藝性狀

Table 1. Characteristics of lilies used in this experiment.

Variety	Colour	No. of flower	Plant height (cm)	Days to first flowering	Growth* vigour
亞洲型(Asiatic hybrid lilies)					
Avignon	red	3.4	37.7	49	S
Connecticut King	yellow	5.8	71.3	65	S
Cote d'Azur	pink	7.9	44.8	56	W
Dreamland	Dark yellow	4.5	55.2	61	S
Enchantment	orange	5.3	67.5	53	S
Festival	yellow-red	3.9	70.8	70	S
Florence	yellow	4.1	69.3	70	S
Jolanda	orange-red	7.9	77.8	68	S
Monte Rosa	pink	4.7	46.8	60	S
San Francisco	yellow	7.9	75.9	64	S
Yellow Blaze	yellow	7.8	72.0	77	W
Yellow Present	yellow	5.5	59.5	60	S
東方型(Oriental hybrid lilies)					
Le Reve	pink	3.1	36.4	86	S
Star Gazer	white-red	3.7	45.6	91	S

*Growth vigour: s means strong, and w means weak.

(二)百合種間雜交：

夏季末將前一年繁殖所得的父母本各品種百合種球收穫陰乾，用免賴得(Benlate)1000 倍水溶液浸種 30 分後，取出濕藏於泥炭苔中，置入 5℃冷藏庫中處理 8 週，再取出定植於網室內，俟開花時分別進行雜交。定植期，母本為 79 年 11 月 7 日，父本為 79 年 10 月 30 日。

選擇次日將開之台灣百合與鐵炮百合母本除去花藥後分別套袋，次日於父本花藥開裂後，分別採取花粉授於套袋之母本柱頭上，台灣百合採直接授粉法，而鐵炮百合以切花柱授粉方式進行，保留子房上方花柱長約 0.5 公分，其餘切除，花粉授在花柱切面上，授粉完成後再行套袋並掛牌記錄之。授粉後 30 天，依據果莢膨大情形，調查雜交親合程度。

(三)雜交後裔培育：

將雜交親和性佳，果莢發育良好的組合，於果莢轉色成熟時取出種子播種繁殖，種子催芽溫度為 18℃。

雜交親和性不良，種子發育中途會退化的組合，在授粉後 40 天左右取下果莢，先經酒精及次氯酸鈉作表面消毒處理後移至無菌操作箱中，切開果莢取未熟種子，放置於半固體培養基上培養。培養基主要成份為 MS[10]配方，添加蔗糖(3%)，NAA(0.01mg/l)，洋菜(0.8%)，pH 值為 5.5。

結果

以台灣百合為母本，分別與 Avignon 等 11 個亞洲型百合及 Le Reve 等 2 個東方型百合品種為父本進行雜交，另以鐵炮百合為母本，分別與 Avignon 等 12 個亞洲型百合及 Le Reve 等 2 個東方型百合品種為父本進行雜交，授粉工作於 80 年 1 月 2 日起至 2 月 7 日止，前者共完成 13 個雜交組合，後者共完成 14 個雜交組合（如表 2）。

在以台灣百合為母本的雜交試驗中，總共完成授粉 59 朵花，其中子房發生膨大現象的有 Avignon、Dreamland、Jolanda、San Francisco、Yellow Present、Le Reve 等 6 個品種的 22 個子房（表 2），顯示這 6 個品種與台灣百合雜交可親和。而以鐵炮百合為母本的雜交試驗中，總共完成授粉 260 朵花, 其中子房發生膨大現象的只有 San Francisco 品種的 4 個子房（表 2），其他雜交組合的子房則在授粉後二週內萎凋。

表 2.台灣百合及鐵炮百合為母本與亞洲型、東方型百合雜交後子房發育情形

Table 2. Ovary enlargement of Lilium formosanum and L. longiflorum, which were pollinated with Asiatic and Oriental hybrid lilies.

父 本 Pollen plant	台灣百合(L. formosanum)		鐵炮百合(L. longiflorum)	
	No. of flower pollinated	No. of ovary enlarged	No. of flower pollinated	No. of ovary enlarged
亞洲型(Asiatic hybrid lilies)				
Avignon	6	1	16	0
Connecticut King	2	0	13	0

Cote D'azur	-	-	6	0
Dreamland	7	1	29	0
Enchantment	2	0	11	0
Festival	1	0	9	0
Florence	4	0	18	0
Jolanda	4	3	12	0
Monte Rosa	3	0	5	0
San Francisco	12	10	86	4
Yellow Blaze	3	0	26	0
Yellow Present	5	3	13	0
東方型(Oriental hybrid lilies)				
Le Reve	9	4	15	0
Star Gazer	1	0	1	0
合計(Total)	59	22	260	4

台灣百合雜交膨大的果莢生長 30 天後表皮開始呈黃化現象，接著會開裂，種子飛散，所以必須在表皮轉黃時採收，採收期從 32 天至 73 天不等，此時果莢長 6.3　6.6 公分（表 3），雜交單一果莢內所含種子數不一，為 410 粒至 990 粒之間。

將雜交種子放置於日光燈看片器上檢視，有些種子細小而發育不完全，只有薄薄的一層種皮，是為無胚種子，有些種子較厚而大，內有完整的胚狀體，是為有胚種子。無胚種子乃在果實發育過程之中胚退化掉，成為無效種子，惟有有胚種子具有發芽能力。在台灣百合的５個雜交組合中，只有台灣百合×Dreamland 具有 332 粒有胚種子（表 3），稔實率為 28.8%。將此 332 粒種子置於 18℃恒溫箱中催芽，至第 10 天起胚根陸續伸出種皮外，催芽後 22 天，發芽率達 100%。至於與 Jolanda、San Francisco、Yellow Present、及 Le Reve 等 4 品種雜交者，均得到無胚種子。

表 3.台灣百合與亞洲型、東方型百合雜交果莢生長及種子發育情形

Table 3. Fruits and seeds development of L. formosanum pollinated with Asiatic and Oriental hybrid lilies.

父　　本 (Pollen plant)	Days to fruit harvested	No. of fruit	Fruit length (cm)	No. of seeds without embryo	No. of seeds with embryo
亞洲型(Asiatic hybrid liles)					
Dreamland	45	1	6.6	822	332

Jolanda	40　43	3	6.4	1769	0
San Francisco	32　73	10	6.4	6319	0
Yellow Present	36　37	3	6.3	1970	0
東方型(Oriental hybrid lilies)					
Le Reve	49　61	4	6.4	2464	0

為利用組織培養技術拯救百合種間雜交胚退化現象，將台灣百合×Avignon 之雜交果莢 1 個，與鐵炮百合×San Francisco 之雜交果莢 4 個，分別在授粉 43 及 40 天後取下，於 80 年 2 月 28 日進行未熟種子(胚珠)無菌培養，經過 30 多天後培養瓶內的種子開始有反應，其反應情形與一般百合種子發芽不同，有 3 種模式。一般百合種子發芽時胚根先伸出一點，然後子葉抽長，最後本葉在接近胚根部位長出。

雜交種子的胚很小，胚根不明顯，而且非常短，子葉也非常短。第 1 種模式，種子在發芽後直接長出鱗片葉，發育成為獨立的植株。第 2 種模式，種子發芽後長出許多緻密狀的癒傷組織，之後在癒傷組織上直接長出不定芽，這些不定芽轉換至不含生長調節劑的培養基後，發根成為植株。第 3 種模式，種子發芽後長出許多緻密狀的癒傷組織，增殖迅速，將此癒傷組織移至含有 MS 加 NAA(0.1mg/l)、加蔗糖(3%)，pH 值為 5.5 的培養基上做繼代培養，則在癒傷組織表面形成許多擬胚，擬胚發育為一植株。

台灣百合×Avignon 培養後有 2 個種子發芽，其中一個循第 1 種模式，另一個循第 2 種模式，經過增殖後，已有 31 株幼苗，並且移出瓶成活。雜交株本葉細長，基部形成的鱗片小，播種後 200 天取 17 株調查葉片數，平均每株有 7.9 片。由植株葉片發育性狀來看，雜交株帶有母本台灣百合的特性，即簇生葉發育極為旺盛，多且細長（圖 1)。此外其葉片顏色為深綠色，有反光現象（圖 2），此與台灣百合不同，而與 Avignon 較相似。

鐵炮百合×San Francisco 培養後有 7 個種子發芽，其中 3 個循第 1 種模式，長成小植株，但與台灣百合雜交株不同者，為其植株葉片很小，但葉片基部形成肥厚的鱗片。另 1 個種子發芽後循第 2 種模式，長出許多不定芽。其餘 3 個循第 3 種模式，長出癒傷組織，經繼代培養後形成許多擬胚，最後發育為植株。本雜交組合經增殖後，已有 63 株幼苗，雜交株本葉短而厚，基部形成肥厚的鱗片，播種後 200 天取 17 株調查葉片數，平均每株有 3.5 片葉。由葉片發育性狀來看，雜交後代帶有母本鐵炮百合的特性，即簇生葉少而短，基部鱗片肥厚(圖 3、圖 4)。

圖 1. 台灣百合× Avignon 胚珠培養後獲得之植株，簇生葉多且生育旺盛

Fig. 1. Plantlets of L. formosanum × Avignon with vigorous rosette leaves, which were regenerated from ovule culture.

圖 2. 台灣百合× Avignon 後代植株移植出瓶成活

Fig. 2. Progenies of L. formosanum × Avignon after transplanted.

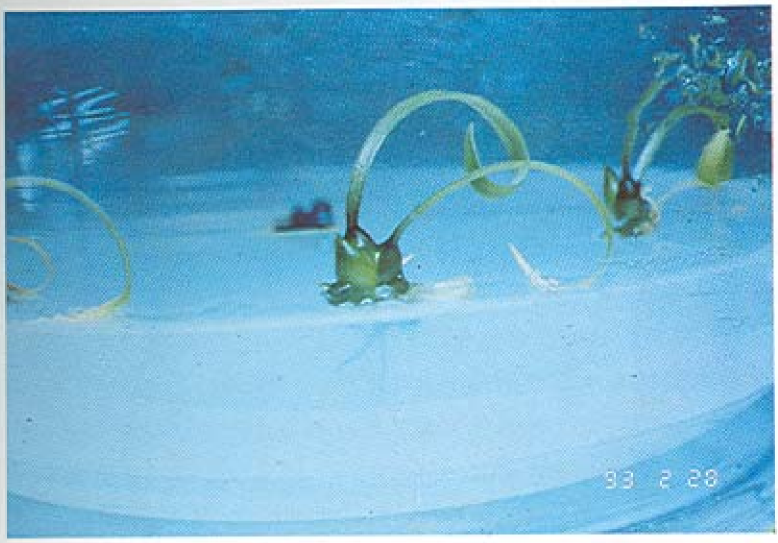

圖 3. 鐵炮百合× San Francisco 胚珠培養後獲得之植株，簇生葉少而短，基部形成肥厚鱗片。

Fig. 3. Plantlets of L. longiflorum × San Francisco with a few short leaves and large scales, which were regenerated from ovule culture.

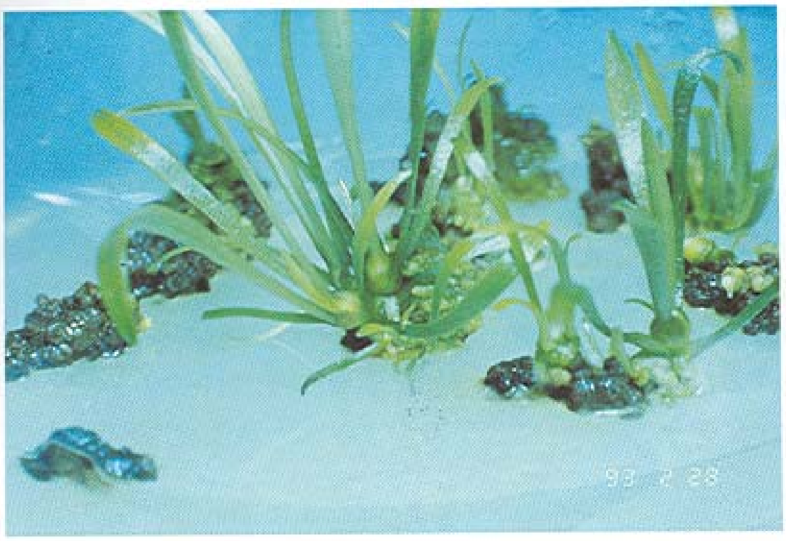

圖 4. 鐵炮百合× San Francisco 胚珠培養後長出大量癒傷組織，繼代培養後在癒傷組織表面分化出擬胚，再發育成植株

Fig. 4. Callus clusters were produced from ovules culture of L. longiflorum × San Francisco, then regenerated embryoids on surface, and then differentiated plantlets.

討論

本省原生的台灣百合自交可親和, 鐵炮百合則具有自交不親和性, 因此在本場試驗田間, 開花後台灣百合結實累累, 而鐵炮百合則很少結果莢, 此種現象為品種之遺傳特性, 表現在種間雜交時亦然。其原因有二, 一為不親和性（incompatibility）, 一為不調和性（incongruity）

[13,17]，前者發生在柱頭，花粉管被阻擋在柱頭上，無法穿過花柱到達胚珠完成受精；後者發生在受精胚上，花粉可以順利到達胚珠完成受精，但由於遺傳上的不調和，而使得受精胚在發育途中萎縮。為了克服不親和性，發展出許多方法[13,14,15]，其中以切花柱授粉法最常被人引用而有效[5,12,14,15,16]。因此本試驗中以鐵炮百合為母本的雜交組合，全部採用切花柱授粉法，唯其成功率仍是甚低。以台灣百合為母本之雜交組合採直接授粉法，其成功率較鐵炮百合為高。此顯示百合種間雜交時，母本本身親和能力之強弱為影響雜交成功與否之重要因素。同時本試驗結果亦顯示，百合種間雜交有選擇性，只有限定在某些特定組合，雜交才有成功的可能。

台灣百合自交結實時，果實成熟期約為 80 天，其果莢長度約為 9　13 公分，一果莢內含有種子數目約為 1200　2400 粒[1,2]，台灣百合與亞洲型百合雜交成功之組合，其果實成熟期則提早，果莢較短，單莢內種子數減少，此可能與前述不調和性有關，雜交胚可能在發育中途退化，種子無法正常成熟，而影響果實發育。本試驗中台灣百合與 5 個亞洲型百合，及 1 個東方型百合雜交可親和，果實會發育，但只有與 Dreamland 雜交之組合獲得有胚性種子，此表示種間雜交有時雖能成功，但並不能保證可獲得有效種子，大多數種子內的胚在發育過程中會退化掉，成為無胚種子，因此必須藉助其他方法，在受精胚未退化前加以拯救。

為了拯救雜交胚免於退化，前人曾研究出許多方法，如採用胚培養法[5,6,7]、子房培養法[8,9,16]、胚珠培養法[15,16]，或綜合法[15]等，証明均能提高成功的機會。本試驗取未熟種子直接培養，亦能成功的得到雜交後裔，表示此法在百合種間雜交上頗有助益。

百合未熟種子培養後，種子萌芽後的發育型態與 van Tuyl 等人的研究結果相類似[15]，而有 3 種不同途徑，此乃由於雜交胚發育不正常所造成。培養出來的後代各自具有其母本的特性，如台灣百合最明顯的簇生葉性狀，鐵炮百合易生成肥厚鱗片的性狀等。台灣百合與 Avignon 雜交的後代除了具有母本的特性之外，其葉片顏色呈深綠，表面會有反光現象，此為父本 Avignon 品種的特有性狀，因此同時亦具有父本的特性。此雜交組合植株生育非常快速，期望在 82 年能夠開花。

參考文獻

1.許圳塗 1978 台灣原生百合生長習性及栽培利用之研究 25pp. 國立台灣大學編印。

2.許圳塗 1984 台灣百合 Lilium formosanum Wall.與 L. longiflorum Thunb.之變異與特性台灣省農業試驗所特刊第 14 號 p.177-182。

3.許圳塗、阮明淑、金石文 1988 球根花卉生產與調製 p.216-221 In:林俊義、陳培昌編〝園藝種苗產銷技術研討會專集〞農林廳種苗改良繁殖場編印。

4.許圳塗、鄭免、陳世賢 1987 台灣百合簇生早熟性狀及栽培利用 p.19-26 In:張林仁編〝園藝作物產期調節研討會專集〞台中區農業改良場特刊第 10 號。

5.平田　良樹 1988　ユリの胚培養利用による新品種育成　農耕と園藝 43:184-187。

6.Asano, Y. 1980. Studies on crosses between distantly relted species of lilies. IV. The culture of immature hybrid embryos 0.3-0.4 mm long. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 49:114-118.

7.Asano, Y. and H. Myodo. 1977. Studies on crosses between distantly related species of lilies. II. The culture of immature hybrid embryos. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 46:267-273.

8.Hayashi, M., K. Kanoh, Y. Serizawa and E. Yoon. 1986. Ovary slice culture of Lilium formosanum Wallace. Jap. J. Breed. 36:304-308.

9.Kanoh, K., M. Hayashi and Y. Serizawa. 1988. Production of interspecific hybrids between Lilium longiflorum and L. ×elegance by ovary slice culture. Jpn. J. Breed. 38:278-282.

10.Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

11.Shii, C.T. 1983. The distribution and variation of Lilium formosanum Wall. And L. longiflorum Thunb. In Taiwan. Lily yearbook of the North Amer. Lily Soc. 36:48-51.

12.Van Tuyl, J.M., J. Franken, R.C. Jongerius, C.A.M. Lock, and T.A.M. Kwakkenbos. 1986. Interspecific hybridization in Lilium. Acta Hort. 177:591-595.

13.Van Tuyl. J.M., M.C. Marcucci and T. Visser. 1982. Pollen and pollination experiments. VII. The effect of pollen treatment and applicaton method on incompatibility and incongruity in Lilium. Euphytica 31:613-619.

14.Van Tuyl, J.M., T.P. Straathof, R.J. Bino and A.A.M. Kwakkenbos. 1988. Effect of three pollination methods on embryo development and seedset in intra-and interspecific crosses between seven Lilium species. Sex. Plant Rep. 1:119-123.

15.Van Tuyl, J.M., M.P. Van Dien, M.G.M. Van Creij, T.C.M. Van Kleinwee, J. Franken and R.J. Bino. 1991. Application of in vitro pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific Lilium crosses. Plant Sci. 74:115-126.

16.Van Tuyl, J.M., K. Van de Sande, R. Van Dien, D. Straathof and H.M.C. Van Holsteijn. 1990. Overcoming interspecific crossing barriers in Lilium by ovary and embryo culture. Acta Hort. 266:317-322.

17.Wolf, S.T. and J.M. van Tuyl. 1984. Hybridization of Liliaceas: overcoming self-incompatibility and incongruity. HortScience 19:696-697