

# 無籽番石榴的形成機制與育種行為

陳幼光

屏東科技大學農園系助理教授

## 摘 要

無籽化為番石榴關於果實性狀方面一個有價值的特性。本研究調查無籽番石榴品種或品系的倍體數、花粉稔性和胚珠發育，以探討造成無籽化的機制。結果發現所有的多倍體均屬無籽，雖然無籽化現象也能發生在二倍體。即使大多數無籽番石榴可產生有活力的花粉，在一些特殊的基因型也找到有雄不稔者。觀察臺灣主要的無籽番石榴品種‘水晶’在開花時的子房，顯示胚珠異常可能是導致其無籽化的原因。此外，無籽和有籽品種或品系間亦進行廣泛的雜交以轉移無籽的性狀，此包括多倍體間和倍體數間的雜交。當利用無籽的二倍體作為花粉源時，與有籽的二倍體能成功雜交。然而，當無籽的二倍體作為雌親時，其著果率就相對較低。多倍體則不論是作為雌親或雄親，一般而言較難用於雜交。從不同二倍體有籽和四倍體無籽親本的雜交組合所獲得的後代，基於流式細胞儀分析結果或其他形態特徵均顯示其為二倍體。除了多倍體外，雜交所得二倍體後代的種子數均較近似有籽的親本。

關鍵字：無籽番石榴、育種、多倍體、倍體數間雜交。

## 前 言

臺灣目前番石榴的經濟栽培品種如‘珍珠拔’、‘帝王拔’等大多屬於多籽類型，而無籽番石榴除可增加果肉供食用的部分，使食用較容易外，亦可節省果實切片販售或加工時去籽的人力，增加果品的多樣

性，故為番石榴有關果實特性方面一個值得發展的育種方向。無籽番石榴植株的出現，雖可經由實生變異或芽條突變等方式產生，然機率低而可遇不可求，為能經由育種方式有系統和有效率的培育或改良無籽番石榴的品種，其無籽化的機制與雜交行為的探討將有助於育種計畫的擬定和進行。

## 內 容

### 一、無籽化(seedlessness)的定義

本文中所稱的無籽乃依照 Varoquaux 等人(2000)的定義，意指植株能產生沒有種子、只具夭折種子的殘跡或種子數大為降低的果實者，故無籽番石榴不一定為完全無籽，少籽亦屬於無籽番石榴的一種類別。以番石榴果實內種子的數量而言，多籽類型所含的種子數目常有數百個之多，例如一個重約 400-500 公克的'珍珠拔'果實，其種子的數目可達 500-600 個；少籽類型果實內所含種子的數目則明顯減少許多，如'水晶拔'即使雖果實大小有不同，但其果實內所含種子的數量通常在 50 個以下；至於果實內完全無籽的種類，其可能在果實中央仍留有由種子夭折殘跡構成黃褐或黑色硬核，或從果蒂處向果實內部延伸的褐色空腔，也可能在果實中完全不見任何種子的痕跡。不論是少籽或完全無籽的番石榴，在本文中均以無籽番石榴統稱之，除非有特別指明的情形。

### 二、無籽化的類型

果實的發育一般可分成著果、細胞分裂和細胞膨大三個階段，而無籽現象的產生依果實發育時種子形成受阻的時間可分為二類：(1) 單為結果(parthenocarpy)：發生於果實受精、著果的階段，其子房發育而不經過受精作用；其中若不需要授粉而能著果者，稱為營養性單為結果(vegetative parthenocarpy)，若需要授粉才能著果者，稱為刺激性單為結果(stimulated parthenocarpy)。(2) 略精結實

(stenospermocarpy)：發生於果實細胞分裂的階段，其經過授粉和受精的過程，但由於染色體分裂或胚乳發育等異常造成種子的夭折 (Varoquaux et al., 2000; Vardi et al., 2008)。基於有籽與無籽番石榴子房及胚珠發育過程切片觀察比較的結果，Selim 等人(1959)認為番石榴的無籽化是屬於略精結實這一類型，但不同的無籽品種或品系間其無籽化的類型也可能不同。

### 三、番石榴無籽化原因的探討

#### (一)倍體數的估測

正常栽培種番石榴為二倍體，其染色體數為  $2n=2x=22$  (Atchison, 1947)，然於文獻中亦可見有染色體數或倍體數變異的報導，如三倍體 (Kumar and Ranade, 1952; Seth, 1959; Majumder and Singh, 1964)、四倍體 (Srivastava, 1977)、近二倍體或三倍體的非整倍體(D’Cruz and Babu Rao, 1962)。以流式細胞儀分析從本省各地所收集到的有籽或無籽番石榴品種或品系，發現無籽番石榴的倍體數可能為多倍體或二倍體，多倍體番石榴均為無籽番石榴，但無籽番石榴不一定為多倍體，有些無籽番石榴為二倍體(劉，2004)。另就所收集到的番石榴品種或品系依葉形可區分為正常葉與圓葉種二類。依倍體數的分析結果發現，正常葉種的倍體數為二倍體或接近二倍體，圓葉種大部分為四倍體，少部分為三倍體，故葉形可為番石榴倍體數是二倍體或多倍體的一種簡易判斷方式(劉，2004)。

#### (二)花粉稔性的測試

由於無籽番石榴除無籽外也常有著果率偏低的問題，此現象是否與無籽番石榴花粉稔性有關，極值得加以探討。以含蔗糖加硼酸的培養基於  $25^{\circ}\text{C}$  下進行番石榴花粉體外(*in vitro*)發芽率測試發現，二倍體品種或品系的花粉發芽率不論有籽或無籽種類一般均可達 80%以上，而多倍體無籽番石榴其花粉發芽率則一般

較低，有些甚至低於 50%。觀察花粉管在體內(*in vivo*)生長的情形，亦發現二倍體番石榴不論有籽或無籽品種或品系其花粉管不論自交或雜交在體內生長一般沒有問題，而四倍體番石榴花粉管在體內萌芽、生長的情形則較遲緩或只伸展到花柱基部，無法到達子房部位(劉，2004)。以'水晶拔'為例，其花粉發芽率在 25°C 可達 90%，且雜交授粉後可使'珍珠拔'等果實形成大量種子，故花粉稔性並非導致'水晶拔'少籽之主因。相對於大多數無籽番石榴可產生有活力的花粉，完全無籽品系 M4-2 的花藥則呈現紡錘形或畸形，且於開花當天不見開裂；另利用秋水仙素所誘導出的多倍體植株中，也找到有雄不稔者。

### (三)胚珠或胚囊的觀察

為瞭解雌蕊部分在番石榴無籽性狀形成過程中所扮演的角色，有必要檢視其子房發育的情形。比較'水晶拔'和'珍珠拔'在開花當天子房的切片，發現'水晶拔'子房內正常胚囊所佔的百分比遠低於'珍珠拔'，而其胚囊異常的類型中又以胚珠中無胚囊者的比例最高，約佔所有觀察胚囊總數的一半，可見導致'水晶拔'少籽之主要原因在於其胚珠與胚囊的異常(陳，2009)。另使用完全無籽品系 M4-2 和與其遺傳背景相當近似的有籽品系 M3 (陳，2005)當作材料，比較兩者間子房內部形態的差異。切片觀察時發現 M3 從直徑小於 3mm 的花苞至開花前一天皆可在子房內看到許多胚珠，而 M4-2 在花苞直徑小於 3mm 時很難觀察到胚珠，花苞直徑在 3-5mm 和大於 5mm 時胚珠排列方式與數目和有籽品系相似，然於開花前一天 M4-2 花苞子房內胚珠即已退化消失；在花後一週 M3 仍可觀察到胚珠，而 M4-2 則看到在其子房內的種子腔部位只殘留狹窄的間隙。M4-2 的胚珠中常可見有異常的現象，如橫生胚珠、胚珠內呈現空心無胚囊形成與直生胚珠等，而 M3 的胚珠則大多為倒生胚珠，異常胚珠的比例相對較低(陳

等，2011)。

#### 四、無籽番石榴的培育與育種

##### (一)無籽與有籽品種或品系的雜交

為能將無籽的特性轉移到雜交後代、改進現有無籽品種或品系的性狀，以及瞭解無籽性狀在雜交後代的遺傳情形，於是把無籽品種或廣泛的與其他無籽或有籽的品種或品系進行雜交。結果顯示，無籽的二倍體只有在作為父本時可以成功地和有籽的二倍體雜交。當無籽的二倍體被用作母本時，可觀察到其著果率相對較低，而多倍體番石榴一般較難用於雜交，不論是當作母本或父本。調查這些無籽和有籽番石榴雜交後代所產生的果實，發現幾乎都是有籽的，此顯示無籽的性狀偏向隱性。

##### (二)多倍體誘引

果樹多倍體一般具有生長旺盛、果實大、無籽或少籽、細胞內成分增加等優點。多倍體雖可經芽條突變或實生變異等方法獲得，然因機率偏低，一般多用如秋水仙素等抑制紡錘絲形成的藥劑處理，以提高染色體倍加的效率。有鑑於三倍體無籽化育種的需求，且為擴大可供選育的四倍體族群，人為誘導番石榴四倍體的產生有其應用的價值。利用秋水仙素處理番石榴種子，目前已得到數棵似多倍體的植株，以流式細胞儀進行倍體數估測，發現其中有些確為四倍體植株，有些則為混倍體植株，需進一步再分離固定其倍體數。

##### (三)不同倍體數間的雜交

三倍體有可能造成植株的不稔性與無籽化，於是擬利用二倍體與四倍體間的雜交以得到三倍體。以四倍體當作母本與二倍體雜交，迄今仍未能得到雜交後代，而以二倍體當母本與四倍體的雜交目前已獲得數種不同組合的雜交後代，然根據葉形等形態特徵的觀察及流式細胞儀分析的結果，顯示所有這些雜交組合的後

代均為二倍體而不是三倍體。進一步利用 RAPD 分子標記分析也提供證據支持這些二倍體的確是二倍體與四倍體雜交所得。

## 結 語

綜合言之，番石榴造成無籽特性的原因至少包括倍體數的增加、雄不稔及胚珠或胚囊的發育異常等，其無籽化機制依無籽品種或品系的不同可能有所不同，很多屬於略精結實這一類型，而如品系 M4-2，其同時具有雄雌二方的不稔性，屬於營養性單為結果。在無籽番石榴的育種應用方面，除非是多倍體間雜交產生的多倍體後代為無籽外，二倍體間或倍體數間的雜交，目前所獲得的後代多屬多籽類型。由於無籽與有籽番石榴雜交的  $F_1$  均為有籽，可見無籽性狀屬於隱性性狀，且即使在已建立的二個  $F_2$  後代族群中亦難獲得少籽的植株，推測其遺傳應不只由一對基因控制，故篩選的族群可能還要再擴大。利用秋水仙素處理已成功誘導出四倍體的番石榴數株，然包括此秋水仙素誘導的四倍體以及其他四倍體與二倍體雜交，所獲得的後代均為二倍體而不是三倍體，其原因仍有待探討。

## 參考文獻

1. 陳袖真 2005 分子標記在番石榴基因型遺傳相似性分析及性狀鑑定上的應用 國立屏東科技大學農園生產系碩士論文 屏東。
2. 陳姿璇 2009 胚珠異常導致'水晶拔'番石榴少籽並施用  $GA_3$  提升其著果率 國立臺灣大學園藝學系碩士論文 台北。
3. 陳容臻 陳幼光 謝鴻業 2011 番石榴無籽品系雌雄蕊器官形態與子房發育的觀察 臺灣園藝 56:284(摘要)。
4. 劉玠吟 2004 無籽番石榴之倍體數、花粉活力及雜交稔實率 國立屏東科技大學農園生產系碩士論文 屏東。
5. Atchinson, E. 1947. Chromosome number in Myrtaceae. Amer. J. Bot.

- 5: 159-164.
6. D'cruz, R. and G. Babu Rao. 1962. Cytogenetic studies in two guava aneuploids. *J. Indian Bot. Soc.* 41: 316-321.
  7. Kumar, L. S. S. and S. G. Ranade. 1952. Autotriploidy in guava (*Psidium guajava* Linn.). *Curr. Sci.* 21: 75-76.
  8. Majumder, P. K. and R. N. Singh. 1964. Seedlessness in guava (*Psidium guajava* L.). *Curr. Sci.* 1: 24-25.
  9. Selim, H. H. A., E. I. M. Bakr and K. M. Abdalla. 1978. Some developmental aspects of the ovaries and ovules of seedy and seedless guava trees. *Egypt. J. Hort.* 5: 21-28.
  10. Seth, J. N. 1959. Causes of seedlessness in *Psidium Guajava* L. *Hort. Adv.* 3: 82-88.
  11. Srivastava, H. C. 1977. Chromosome behaviour of a spontaneous autotetraploid guava (*Psidium guajava*, L.). *Cytologia* 42: 389-394.
  12. Varoquaux, F., R. Blanvillain, M. Delseny and P. Gallois. 2000. Less is better: new approaches for seedless fruit production. *Trends Biotech.* 18: 233-242.
  13. Vardi, A., I. Levin and N. Carmi. 2008. Induction of seedlessness in citrus: from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133: 117-126.

# **Mechanisms of Seedlessness and Breeding Behavior of Seedless Guava**

Yu-Kuang Chen

Assistant Professor, Department of Plant Industry

National Pingtung University of Science and Technology

## **ABSTRACT**

Seedlessness is a valuable characteristic in regard to fruit traits of guava. To explore the mechanisms resulting in seedlessness, ploidy level, pollen fertility, and ovule development were investigated in seedless guava cultivars or lines in this study. All of the polyploid guavas are found to be seedless, although seedlessness can also occur in diploids. While most of the seedless guavas produce viable pollen, male sterility can be noticed in a few special genotypes. Ovary observations at anthesis reveal that ovule abnormality might be responsible for seedlessness in 'Shuei-Jing', the main seedless cultivar in Taiwan. In an attempt to transfer the seedless trait, extensive hybridizations were made between seedless and seeded cultivars or lines including inter-polyploidy and inter-ploidy crosses. The seedless diploids when used as pollen sources crossed successfully with seeded diploids. However, seedless diploid guava achieved relatively low fruit set when used as female parent. Polyploid guavas generally were more difficult to use in crosses as either female or male parent. The hybrids obtained from different crosses between diploid seeded and tetraploid seedless parents turned out to be diploids based on flow cytometric analysis and other morphological features. Aside from polyploids, the diploid progeny derived generally contain seed numbers similar to those of the seeded parents.

Key words : seedless guava, breeding, polyploids, inter-ploidy crosses.