中華農業研究 (Jour. agric. Res. China) 31(1)：51～58 (1982)

蘆筍的細胞遺傳學研究

I. 蘆筍之核型與雜交[1]

陳敏祥　沈再發[2]

摘要：1）從本試驗之研究得知，蘆筍之染色體爲6長4短 (6L+4S)，經核型分析結果，其核型爲：$K=2n=20=2L_1^{st}+2L_2^{st}+2L_3^{st}+2L_4^{st}+2L_5^{st}+2L_6^{st}+2S_1^{m}+2S_2^{m}+2S_3^{m}+2S_4^{m}=61.4\mu$，其中一對染色體 ($L_6$) 之長臂上有附隨體，所有大型染色體之長臂上，均有二次縊縮現象。

2）兩性株 SH69-1-2 之花粉母細胞，369個細胞中，有360個呈現正常之配對，僅有9個呈 $9_{II}+2_I$；而第一後期之176個細胞中，有2個具染色體橋，其餘均正常。

3）以 Connover's Colossal 無花青素之植株爲親本之雜交 F_1，其花粉稔性在95～99%之間，♀：♂=5.2：1：6.2，含與不含花青素之個體比率爲1：1.4。另又從 F_1 品系間、及 F_1 品系與品種間之不同性別做多數雜交組合，獲得多量之種子，供次代育種研究之材料。

蘆筍爲百合科石刁柏屬雌雄異株之作物，從以往之研究試驗，顯示雄株之產量比雌株多20%以上；而 Rick 與 Hanna[8] 曾報告育成全雄株之可能性，其後 Huyskes[2] 育成全雄品種；Reimann-Philipp[7] 與 Zilm[11] 等曾對蘆筍染色體加以研究，又 Furusato[6] 將二倍體染色體加以分類。本省洪立[1] 提供了苗期花器鑑定法，可於播種後4～5個月區別雌雄株，但至目前爲止，很少有關蘆筍細胞遺傳學上之研究。

許多蘆筍育種上之報告[5,7,8,9,11]，結果表示蘆筍雄株與偏雄（雌雄同株）通常係異型結合體，從偏雄（雌雄同株）之後代有 $\frac{2}{4}$XY 與 $\frac{1}{4}$YY 之雄個體出現。在純雄育種上辨認同型結合 YY 個體，至少需三年以上。本試驗擬從細胞遺傳學上將染色體之核型加以分析，進而爲鑑別性染色體（XX, XY 與 YY）差異之基礎，供全雄育種之參考。

材料與方法

本試驗之供試品種爲 Mary Washington, UC 309, NJ 583, Darbonne No. 4 及Connover's Colossal 等五品種。其中 Darbonne No. 4 及 Connover's Colossal 二品種供爲雜交之親本，以配合無花青素品種之育種工作。

兩性株爲將 67 年3月～10月及 68 年2月～6月間，自高屏地區之新園、林園、麟洛、潮寮及鳳山熱帶園藝試驗分所等分別選獲之植株，分別植於素燒盆中。所有供試材料，均放置於鳳山熱帶園藝試驗分所之玻璃網室中，供雜交及染色體觀察之用。雜交工作均在網室中進行，採人工授粉法。雜交分二次進行，第一次於 67 年3月間進行，6月中旬播種，8月 15 日移植；第二次於 68 年4 月

1.臺灣省農業試驗所研究報告第1030 號。本試驗承臺灣區洋菇、蘆筍試驗研究審議小組資助，國科會獎助，謹此誌謝。

2.本所鳳山熱帶園藝試驗分所副研究員及研究員兼分所長。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

25 日～7 月 10 日及 9 月 5 日～10 日間舉行，並分別於 7 月 1 日～8 月 6 日及 11 月 5 日～6 日間採收種子。供當代或次一代含花青素之有無、性別及染色體觀察之用。

染色體之觀察[4]，以根端體細胞行染色體數之鑑定與形態分析。其法爲取細胞分裂最盛之根端 5～6mm，置於 0.002M 之 8-Oxyquinoline 溶液中，於 18 ～20°C 之恆溫，作二小時之前處理；用 Carnoy's 液固定之；以 1N-HCl 60°C 之恆溫下，行加水分解 6 分鐘後；置於 Feülgen液中，直至根端漸次變成紫紅色時，即可鏡檢。行鏡檢觀察時，再以 aceto-carmine 重複染色，用壓碎法製片觀察。取新鮮而不經固定之 PMC，以 aceto-carmine 染色，行減數分裂之觀察。

結 果 與 討 論

一、蘆筍染色體之形態

蘆筍染色體數 2n=20, n=10，經鏡檢觀察之結果爲 6 長 4 短，以大型者爲 L，小型者爲 S，則其簡單標準核型爲 6L+4S。按染色體之全長長短，依次分類爲 L_1(4.0μ), L_2(3.8μ), L_3(3.7μ), L_4(3.5μ), L_5(3.2μ), S_1(2.4μ), S_2(2.3μ), S_3(2.2μ), S_4(2.1μ) 及 L_6(3.5μ)。染色體之特徵，長度及縊縮情形等詳如圖 1 及表 1。

表1. 蘆 筍 之 核 型

Table 1. Chromosome Karyotype of *Asparagus officinalis* L.

染色體數 Chromo l-lsome No. (2n)	染色體長度 Chromosome length (μ)										附隨體 Satellite chromo l-lsome	平均總長度 Total mean length of diploid chromol-l somal complel-l ment(μ)
	L_1	L_2	L_3	L_4	L_5	$L_6{}^a$	S_1	S_2	S_3	S_4		
12L +8S =20	0.5+3.5 =4.0	0.7+3.1 =3.8	0.8+2.9 =3.7	0.9+2.6 =3.5	0.8+2.4 =3.2	1.0+2.5 =3.5	1.0+1.4 =2.4	1.0+1.3 =2.3	1.0+1.2 =2.2	1.0+1.1 =2.1	$2L_6=2$	61.4

a. Presumably the sex-chromosome.

如上之結果得知：

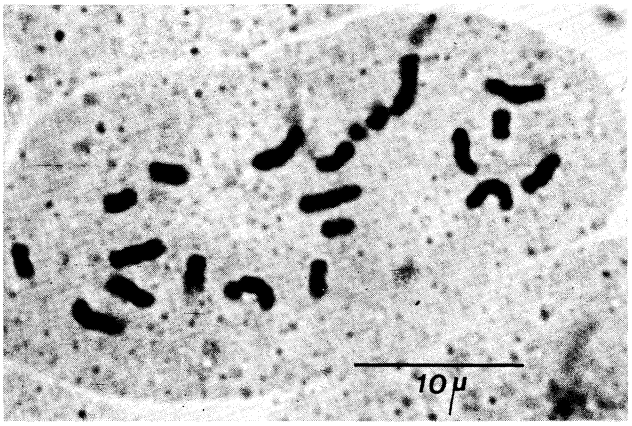
(一) 染色體之核型可以下式表示之，

$$K=2n=20=2L_1{}^{st}+2L_2{}^{st}+2L_3{}^{st}+2L_4{}^{st}+2L_5{}^{st}+2L_6{}^{st}+2S_1{}^{m}+2S_2{}^{m}+2S_3{}^{m}+2S_4{}^{m}=61.4\mu$$

(圖 2)。

從本試驗材料之前處理與染色方法，發現四對小型染色體均在其中部或近於中部位置上 (m) 有初級縊縮，而六對大型染色體除在其次級端部位置上 (st) 均有初級縊縮外，在其長臂 (long arm) 上則可觀察到第二次縊縮現象。全體染色體之長短變化，呈雙峰 (bimodal) 的排列形式[10]。

(二) 六對大型染色體中，顯然的 L_1 之短臂 (short arm) 最短而全長爲最長，L_5 短臂雖與 L_2, L_3 及 L_4 相近，但全長最短。L_2, L_3, L_4 及 L_6 之核型雖甚相似，但詳細測量之結果，其長度仍有差異，尤其是 L_6 與 L_4 幾乎同長，但在 L_6 之長臂端部上具有附隨體，經初步觀察結果，假定爲性染色體——可能與 Reimann-P.[7] & Zilm[11] 之第十對染色體相同，然此 L_6 染色體之行動及在不同因子型上之差異，有進一步探討與研究之必要。小型染色體之外觀形態，均很相似屬 Median 型，但經詳細測量結果，彼此間均有些微差異，即 S_1 染色體全長最長而依次 S_4 全長最短。



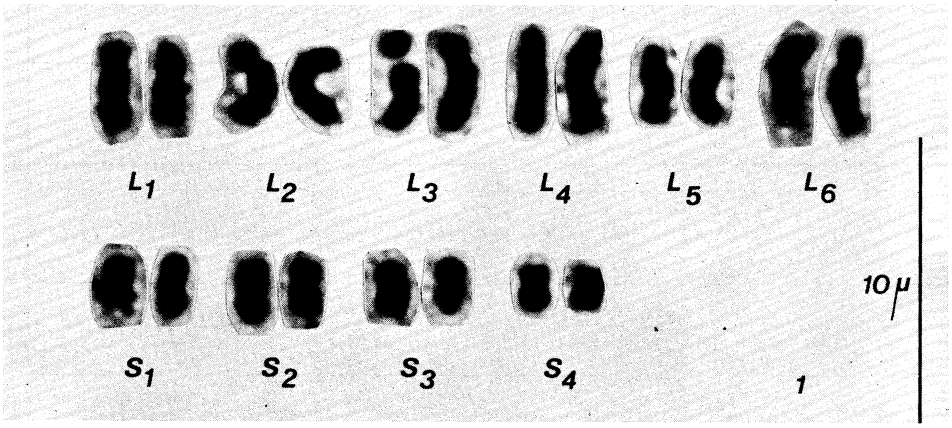


圖 1. 蘆筍染色體及核型

Fig. 1. Photomicrographs of Somatic Metaphase Chromosomes in *Asparagus officinalis* L. (2n=20), line represents 10μ.

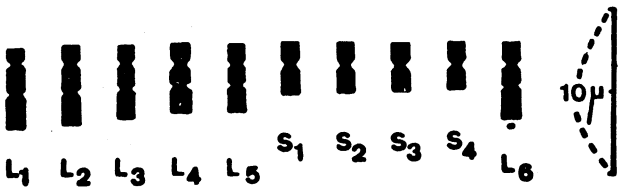


圖 2. 蘆筍核型之圖式

Fig. 2. Idiogram of Chromosome Karyotype of *Asparagus officinalis* L. (n=10), line represents 10μ.

二、減數分裂之觀察

從本試驗之觀察結果，多數蘆筍之雄性植株，在減數分裂中期（M_I），均呈現 10 對二價染色體之正常配對；後期亦呈 10：10 正常之分離現象（圖8）。又將兩性植株 SH69-1-2（在自然情形下，曾結種子，但經選拔移植網室後，行雜交與自交均尚未獲得種子）之 PMC 之染色體行動（chromosome behavior）觀察結果如表2所示。在移動期（Diakinesis）觀察之 117 個細胞均呈 10_{II} 及有一個核仁（圖6）。於第一分裂中期觀察 252 個細胞中，有 243 個呈 10_{II} 之配對（圖5），而呈現 $9_{II}+2_I$（圖4）之配對者，僅有9個細胞。於第一分裂後期觀察之 176 個細胞中，其絕大部分細胞均呈正常分離（圖8），僅2個細胞具染色體橋（圖7）。此種現象可能由於染色體之延遲分裂或染色體構造差異所引起。

Furusato[6] 氏曾將蘆筍之 10 對體染色體分爲三羣：(1)四對小型染色體中，2 對屬 Median 另2對屬 Submedian ；(2)四對中間型染色體中，2對屬 Median ，另2對屬 Submedian ；(3)2對大型染色體均具有附隨體屬 Submedian ；無性染色體之報告或假設。又 Reimann-Philipp[7] 等氏將蘆筍染色體按機會排列分爲 10 型，其後 Zilm[11] 氏再依其原來之分類順序，重新按其全長長短排列之，並假定具有附隨體之第 10 對染色體爲性染色體，但減數分裂之觀察，並無切確之證實。從本研究之初步調查結果顯示，L_6 爲 SAT— 染色體，其形態上雖與 L_4 頗爲相似，但仍有差異。此種差異，亦無法在其成熟分裂過程中加以證明，僅能觀察出6對大型與4對小型染色體之配對及其相同染色體間之交叉結（chiasma）位置之情形。因之，不同性別間之雜交（尤其是以兩性株爲母本之交配工作）及其染色體形態與行動之觀察，有待進一步之探討與研究。

表 2. 兩性株 SH69-1-2 染色體之行動

Table 2. Meiotic behavior of a bisexual SH69-1-2 plant

類型／特性 Types/Characters		觀察細胞數 No. of PMCs observed	百分率 Percentage (%)
移動期 Diakinesis	10_{II} (with nucleolus)	117	100.0
第一中期 Metaphase I	10_{II}	243	96.4
	$9_{II}+2_I$	9	3.6
	Total	252	
第一後期 Anaphase I	Irregular with one bridge	2	1.1
	Regular	174	98.9
	Total	176	

三、雜交結果

爲求上述試驗之進行，行各種不同性別品系（品種）間之雜交組合。爲配合無花青素品種（系）之育成，雜交親本以 Connover's Colossal 品種爲主，分述於下。

(一) 67年 Connover's Colossal 雜交與 F_1 代之調查

從無花青素母本之自然授粉，得兩品系之後代，即（78-A）與（78-B）。調查其性別，有無花青素植株之比、及其染色體數與花粉稔性之關係，如表3所示。可知，F_1 代之♀：☿：♂=5.2：1：6.2，其中兩性株中有三株花柱之長短與柱頭之開裂，似受開花期氣候溫度之影響；含與不含花青素植株之比爲1：1.4，可爲次代育成無花青素品種之用，其染色體數均爲 2n=20 ，無異數體之出

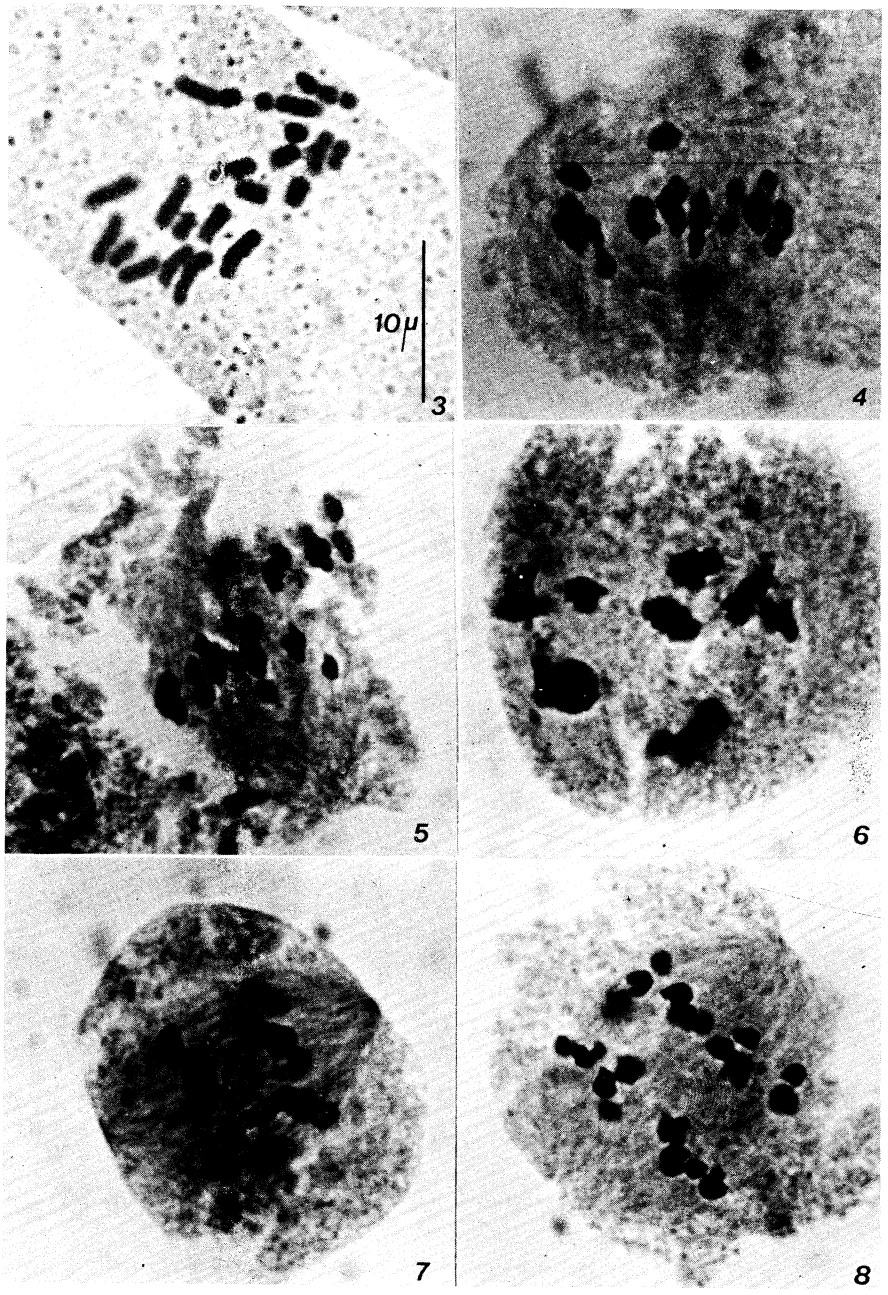


圖3～8.蘆筍植株體細胞染色體數與花粉母細胞減數分裂之情形。

圖3.體染色體數 2n=20 **Fig. 3.** Somatic chromosome showing 2n=20.

圖4.第一分裂中期$9_{II}+2_{I}$。 **Fig. 4.** Metaphase I showing $9_{II}+2_{I}$.

圖5.第一分裂中期10_{II}。 **Fig. 5.** Meiotic metaphase I showing 10_{II}.

圖6.移動期示10_{II}及核仁 **Fig. 6.** Diakinesis showing 10_{II} with nucleolus.

圖7.第一分裂後期示染色分體橋。 **Fig. 7.** Anaphase I showing the chromatid bridge.

圖8.分裂後期示染色體之正常分離情形。 **Fig. 8.** Anaphase I showing the normal separation.

現，且花粉稔性甚高，在 95～99 %之間，平均97.8 %，與 Furusato[6] 之報告蘆筍二倍體之花粉稔性 97.3%相近。

表3. Connover's Colossal F_1 代之含花青素與不含花青素、性別比（♀，☿，♂）及花粉稔性

Table 3. Sex ratio, anthocyanin-containing & anthocyanin-free ratio, and pollen fertility in the F_1 plants of Connover's Colossal cultivar

品系 line	調查項目 Item	花青素 Anthocyanin		性別 Sex			花粉稔性 Pollen fertility		染色體數
		白 -free	紫 -containing	♀	☿	♂	平均 Average (%)	範圍 Range (%)	Chromosome number (2n)
78-A	10	1	1	4	1	5	97.8	97—99	20
78-B	61	1.44	1	5.75	1	6.5	97.8	95—99	20

（二）68年雜交之結果

爲確實了解蘆筍性別間與花青素的遺傳，以及便於細胞遺傳學之研究，而行雜交如表4所示。可知，(1)☿×♂之組合，雖雜交 15 花，均沒有得到種子。另本試驗亦將所有獲選之兩性株4品種 10 個體，分別在網室行自交及隔離採種，均未獲得種子。Zilm 氏[11] 曾從2株偏雄一雌雄同株個體分離出 XX, XY 與 YY 三種因子型後代。故兩性株之選拔及從兩性株爲母本雜交之分離工作，仍有待加强進行。(2) 以☿株爲父本之♀×☿雜交組合，可獲得多量種子。本組合以花器構造鑑定不同程度之兩性株[8][9]〔顯著者 (43-L_2) 與 (78-A), (78-B) 等3個體，不太顯著者 (78-B) 2個體〕，分別交配，供調查其後代之分離情形。但此種父本花器構造之差異，經雜交結果，對母本結實率之高低，似無顯著影響。(3)以♀×♂之雜交組合，其結實率較♀×☿之組合爲高，可能是品系間與品種間交配之差異；又☿與♂性間之花粉稔性均高，在95%以上，然其間之花粉之受粉能力等情形是否受其他遺傳原因等之影響，而產生差異，有待今後重複之試驗與確認後，詳加探討。

表4. 不同性別（♀，☿，♂）品種（品系）間之雜交結果

Table 4. Result of inter-and intracultivar crosses in different sex combination

交配組合 Combination		組合數 No. of Combinations	親本花青素 Anthocyanin of parents[a]	交配花數 No. of pollinating flowers	結實數 No. of fertile fruits	結實率 Percentage of fertile fruits (%)	種子數 No. of seeds obtained
♀×☿	Connover's Colossal F_1						
	1) 78-B×78-B	6	Ac×Ac	204	129	63.2	450
	2) 78-A×78-A	1	Ac×Af	15	11	73.3	46
	78-B×78-A	4	〃	66	43	65.2	144
	3) 78-B×78-B	3	Af×Ac	78	29	37.2	126
	78-A×78-B	1	〃	2	0	0	0
	4) 78-B×78-A	4	Af×Af	28	20	71.4	75
	78-A×78-A	1	〃	2	2	100	3
	Connover's Colossal F_1 × Darbonne No. 4						
	1) 78-A×43-L2	1	Ac×Ac	23	2	8.7	5
	78-B×43-L2	6	〃	169	97	57.4	292
	2) 78-B×43-L2	6	Af×Ac	63	48	76.2	153

	Connover's Colossal F_1						
	1) 78-B×78-B	2	Ac×Ac	24	15	62.5	56
	2) 78-A×78-A	1	Ac×Af	5	3	60	15
♀×♂	78-A×78-B	2	〃	18	13	72.2	64
	78-B×78-B	3	〃	62	45	72.6	178
	3) 78-B×78-A	1	Af×Ac	41	33	80.5	73
	4) 78-B×78-B	4	Af×Af	10	7	70	29
♀×♂	Connover's Colossal F_1 78-B×78-B	1	Ac×Af	15	0	0	0

a. Ac…anthocyanin-containing Af…anthocyanin-free.

參 考 文 獻

1.洪 立. 1973.蘆筍幼苗開花習性之研究。國立臺灣大學農學院研究報告14(2)：12～23

2.洪 立. 1978.蘆筍育種——臺灣區第二屆蘆筍學術討論會試驗研究報告。國立中興大學編印：133～154。

3.沈再發、林俊義、洪美玲 1978. 蘆筍品種保留觀察及育種試驗～臺灣區第二屆蘆筍學術討論會試驗研究報告。國立中興大學編印：207～208。

4.陳敏祥、沈再發 1980.蘆筍染色體的細胞學研究(1)蘆筍之核型與雜交(初報)。臺灣蘆筍試驗研究報告 68：22～26。

5. Franken, A. A. 1970. Sex characteristics and inheritance of sex in Asparagus (*Asparagus officinalis* L.). Euphytica 19 : 277-287.

6. Furusato, K. and M. Shimotsuma. 1960. A preliminary note on sex expression and cytological observations in induced autopolyploid *Asparagus officinalis* L. Seiken Jiho/Rep. Kihara Inst. Biol. Res. 11 : 38-42.

7. Reimann-Philipp, R., B. Zilm, and H. Eresen. 1959. Cytologische Untersuchungen Zur Identifizierung der Geschlechtschromosomen bei *Asparagus officinalis* L. in Verbindung mit der Züchtung rein mannlicher Sorten. Z. Pflanzens. 42 : 295-304.

8. Rick, C. M. and G. C. Hanna. 1943. Determination of sex in *Asparagus officinalis* L. Am. J. Bot. 30 : 711-714.

9. Sneep, J. 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L. Euphytica 2 : 89-95, 224-228.

10. Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants Edword Annold Ltd., London. P. 96-98.

11. Zilm, B. 1966. Cytogenetic investigations on *Asparagus officinalis* L. having regard to their importance for breeding pure male and polyploid varieties. Z. Pflanzenzucht. 56 : 1-26.

Cytogenetic studies on *Asparagus officinalis* L.

I. Karyotype and hybridization of *Asparagus officinalis* L.[1]

Min-Syang Chen and Tzay-Fa Sheen[2]

Summary

1) In this study, the normal karyotype of *Asparagus officinalis* L. comprises 12 long and 8 short chromosomes (6L+4S). From the detailed measurements and karyotypic analyses, the karyotype of *A. officinalis* L. was formulated as : $K=2n=20=2L_1^{st}+2L_2^{st}+2L_3^{st}+2L_4^{st}+2L_5^{st}+2L_6^{st}+2S_1^{m}+2S_2^{m}+2S_3^{m}+2S_4^{m}=61.4\mu$ (Fig. 1, 2 & Table 1) . All of the long chromosomes have subterminal primary constrictions while all the short chromosomes have median primary constrictions. The long arms of all the long chromosomes also have secondary constriction. One particular long chromosome, i. e. L_6 (presumably the sex chromosome) have a satellite at the end of the long arm.

2) The meiotic behavior of a bisexual SH69-1-2 plant was examined. A total of 369 PMCs at metaphase was investigated, 360 cells showed 10_{II} and 9 had $9_{II}+2_{I}$. During anaphase, only 2 of 176 cells showed chromatid bridge. The possible cytological explanations was discussed.

3) Progenies of the cultivar Connover's Colossal were investigated in order to study the inheritance nature of the anthocyanin-free characteristics of *Asparagus officinalis* L.

1. Contribution No. 1030 From the Taiwan Agricultual Research Institute.

2. Horticulturist and Senior Holticulturist, Respectively, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung Hsien , Taiwan 830 R. O. C.