

酸漿屬種間雜交之研究

() 不同成熟度雜交種胚培養¹

彭瑞菊、王仕賢²

摘 要

彭瑞菊、王仕賢. 2002. 酸漿屬種間雜交之研究()不同成熟度雜交種胚培養。台南區農業改良場研究彙報 39 : 42~48。

苦蕒與酸漿雜交不親和無法產生成熟的種子，本實驗以苦蕒為母本與粘果酸漿雜交，以番茄種間雜交胚培養的培養基，可成功的獲得子代植株。授粉後 23 天採集果實內之種子進行胚培養，苦蕒與粘果酸漿紫色種雜交的未成熟胚有 7.4 % 可產生癒合組織，與黃色種雜交者則有 3 %。另授粉後 27 天才採集的種間雜交果，苦蕒與紫色種粘果酸漿雜交的未成熟胚僅剩 1.4 % 可產生癒合組織，而與黃色種雜交者則只有 1.1 %。另先將苦蕒以秋水仙素處理使其染色體倍加後再與紫色種雜交的亦只有 1.0 %，苦蕒染色體倍加後與黃色種雜交的亦只有 0.9 % 的未成熟胚可產生癒合組織。胚培養形成癒合組織率雖然不高，然而形成之癒合組織可經由再分化為芽體，而成功獲得雜交的酸漿植株。此外亦可知授粉後 23 天採集的種子其胚成熟度較授粉後 27 天的種子更適合進行胚培養。

關鍵詞：酸漿、雜交種、胚培養

接受日期：2002 年 5 月 20 日

前 言

酸漿屬 (*Physalis*) 作物為茄科作物中與番茄最為近緣之作物，最廣為接受的作物首推秘魯酸漿，為世界知名的園藝作物。其次被人類大量食用者為粘果酸漿或稱之為墨西哥酸漿，英名稱之為 Husk tomato 或 Tomatillo，學名為 *Physalis ixocarpa*，其果實為酸漿類中最大者，且果實表面具有粘液。粘果酸漿原產墨西哥，食用上以未成熟果為主，因此時果實較酸且較具風味，主要做為漿汁，做成沙拉漿汁。最近^(5,6)被美國政府作為新興作物栽培。

苦蕒 (*Physalis angulata*) 雖是不起眼的雜草或民俗作物，Richer 和 Carlson (1998)⁽¹⁰⁾整理其民俗利用情形，至少有六個地區或國家使用苦蕒作為藥草。最近幾年，苦蕒在世界各國的藥用研究相當多，如苦蕒成分可抗腫瘤活性，發現對 5 種人類腫瘤細胞株均有細胞毒性的反應。苦蕒在台灣山區與民間草藥上，常被利用為青草茶，全草具有清熱、利尿及祛風、止痛、鎮咳、行血、調經及解毒之效。在美國農部的民俗植物資料庫內，酸漿屬共有 11 種具

1.行政院農業委員會台南區農業改良場研究報告第 273 號。

2.台南區農業改良場助理、副研究員兼課長。

有醫藥用途，其中苦蕒之療效算是最廣泛的。而其對人體免疫功能的加強已被證實。苦蕒的萃出物對引發嗜眠性腦炎之布魯氏錐蟲具殺錐蟲效果。苦蕒亦有抗菌效果，苦蕒的萃出物對愛滋病人常感染之肺結核菌有顯著的抗病性^(1,8)。

種間雜交在抗病育種上是相當重要的技術之一⁽²⁾，Bapat 和 Schieder (1981)⁽³⁾將數個酸漿屬作物進行體細胞培養，其中包括粘果酸漿的花粉單倍體與正常細胞，雖可誘發癒合組織，但無法誘發芽體。大果酸漿極為不易與其他同屬作物進行種間雜交，Quiros (1984)⁽⁹⁾嘗試將大果酸漿與 *P. floridiana* 或祕魯酸漿進行種間雜交，無法獲得成功之種間雜交種。Thomas 和 Pratt (1981)⁽¹¹⁾成功地利用胚培養達成栽培種番茄與祕魯番茄之種間雜交，利用此一方法應可達成酸漿屬之種間雜交。本實驗嘗試將酸漿和苦蕒雜交，希望能獲得較大的果實又同時含有苦蕒的高糖度及保健功能，雖然雜交後，可結果實，但無法獲得成熟的種子，種子發育到某一階段後，種子內的胚開始退化，故本實驗嘗試將未成熟的胚取出，利用茄科作物的培養基，細胞培養技術，獲得種間雜交的酸漿雜種，以作進一步的育種工作。

材料及方法

一、材料：

苦蕒地方種採自台南縣白河鎮柑桔果園，粘果酸漿則自美國引入，於 89 年秋季播種，待兩者開花，將苦蕒 (*Physalis angulata*) 為母本與粘果酸漿 (*Physalis ixocarpa*) 紫色種 (Purple) 及黃色種 (Toma Verde) 分別雜交，苦蕒為台灣野生種，粘果酸漿由國外引進，另外以秋水仙素倍加苦蕒的染色體，創造人為四倍體後，再與粘果酸漿紫色種 (Purple) 及黃色種 (Toma Verde) 分別雜交，雜交後均可結果實，在果實未成熟時，將授粉後 23 天及 27 天之未成熟果實，取出種子，進行胚培養。

二、癒合組織及植物的再生：

將未成熟的果實，採集後進行果實的表面消毒，將果實浸於 95 % 的酒精中，再以 5 % 的次氯酸鈉 (sodium hypochloride) 消毒 5 分鐘，無菌水漂洗三次，剖開果實，注意器具必須滅菌在無菌的狀態，取出其中未成熟的種子，每顆果實內約有種子 300-500 顆，置於消毒過的吸水紙，將種子周圍的果膠質去除，置入培養基，培養基配方如表一，將 60-80 個未發育的種子置於含培養基之直徑 9 公分培養皿中，置於黑暗 27 的環境下，誘發產生癒合組織後，再移置於 25 °C、每天 16 小時光照環境下誘發芽體 (shooting) 產生，再誘發長根 (rooting)，成為一完整的植株。

三、不同成熟度胚培養

於授粉後 23 天及 27 天分別取出未成熟的種子進行胚培養，經過約二個半月癒合組織長出，由於授粉後 30-35 天胚即退化，故採集胚尚未退化又夠成熟的時期取出種子，進行胚培養。產生癒合組織後誘發芽體產生，再誘發長根，成為一完整的植株。完整的植株移出至滅菌的生長介質 (蛭石：珍珠石 = 6：1) 時，先以稀釋 40 倍沙威隆浸泡 5 分鐘，再以流動水緩緩的沖洗 20 分鐘後，再移入含生長介質的盆中，先以塑膠袋罩住花盆保濕，在 25 °C 的培養室中馴化 10-14 天，再移至溫室中。

表一 不同時期胚培養配方 (11)

Table 1. The Media used in different stage for embryo culture

Medium	Purpose	Hormone composition	
2D/1PCCM ^{a,d}	Callus	2mg/l	2,4-dichlorophenoxy acetic acid(2,4-D)
		1mg/l	6(γ,γ-dimethylallylamino)-purine(2ip)
2Z ^b	Shoot regeneration	2mg/l	zeatin, trans isomer
MSS ^{c,d}	Rooting	None	

All media contained salts, sucrose, inositol, pyridoxine HCl, nicotinic acid and agar as in Murashige and Skoog(1962) ⁽⁷⁾ and 1mg/l thiamine, except as noted. A solution containing the salts, vitamins, inositol and hormones was adjusted to pH 6.0 before autoclaving. Solutions of agar and sucrose were autoclaved separated. Solutions of coconut milk (where used) ⁽⁴⁾ were throughted by 0.2µm minipore. Solutions of agar, sucrose and coconut milk were mixed thoroughly with the balance of the mediun before pouring into petri plates.

a Also contains 100ml/l processed coconut milk from mature fruits

b Sucrose concentration reduced to 20g/l

c Agar concentration reduced to 6g/l; inositol and thiamine deleted

d Pyridoxine HCl and nicotinic acid deleted

結 果

一、胚癒合組織的產生：

由於酸漿與苦蕒雜交後，無法獲得成熟的種子，故嘗試以未成熟的種子進行胚培養，誘發出癒合組織後，利用細胞培養技術能獲得雜交後的子代作物。苦蕒與粘果酸漿紫色種及黃色種雜交及苦蕒倍加染色體後與粘果酸漿雜交後的果實大小差異不大，其內所含種子均為乳白色，置入 2D/1P CCM 培養基，種子大小約為 1-3 mm。四星期後種子轉變為褐色，種子周圍產生癒合組織 (callus-like) 似的組織，二個半月後種子產生癒合組織，四種不同的雜交後代產生的癒合組織數如表二。

表二 四種雜交果實在授粉後不同時期所產生癒合組織數

Table 2. Number of embryo callus from fruits of various ages

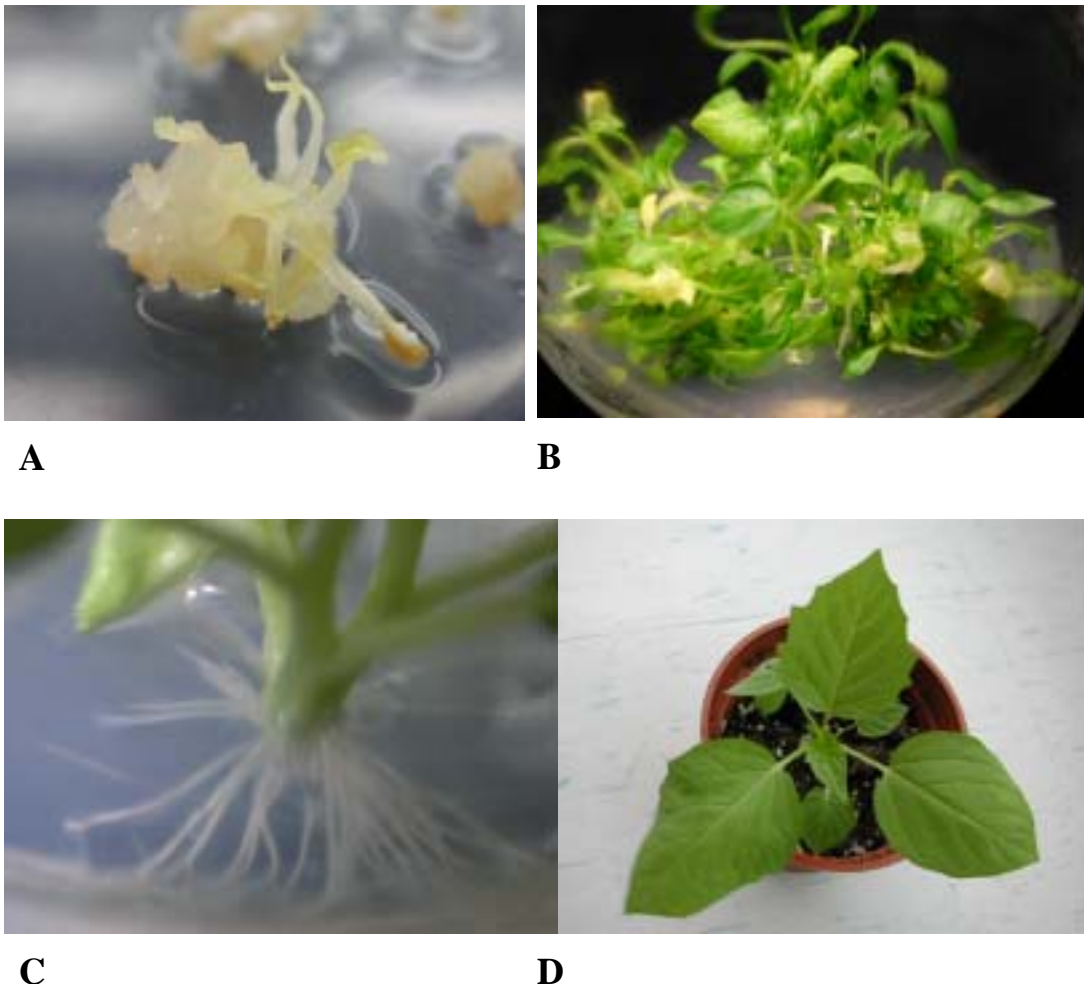
Time after pollination when fruits were harvest	23 days			27 days		
	Number of undeveloped seeds plated	Number of seeds formed callus within 2 months after plating	Percent of seeds formed callus	Number of undeveloped seeds plated	Number of seeds formed callus within 2 months after plating	Percent of seeds formed callus
Angulata ×purple	258	19	7.4 %	434	6	1.4 %
Angulata ×verde	237	7	3.0 %	355	4	1.1 %
angulata(D) ×purple				298	3	1.0 %
angulata(D) ×verde				232	2	0.9 %

由表二可了解到苦蕒與粘果酸漿雜交授粉後 23 天的果實內，未成熟胚誘發癒合組織苦

藟與粘果酸漿紫色種雜交 (*Physalis angulata* × *P. ixocarpa* (Purple)) 為 7.4 %、苦藟與粘果酸漿黃色種雜交 (*Physalis angulata* × *P. ixocarpa* (Toma Verde)) 為 3.0 %；授粉後 27 天的果實內，未成熟胚誘發癒合組織 苦藟與粘果酸漿紫色種雜交為 1.4 %、苦藟與粘果酸漿黃色種雜交為 1.1 %，苦藟染色體倍加後與粘果酸漿雜交授粉後 27 天的果實內，未成熟胚誘發癒合組織 *Physalis angulata*(D) × *P. ixocarpa* (Purple) 為 1.0 %，而 *Physalis angulata*(D) × *P. ixocarpa* (Toma Verde) 為 0.9 %。

二、完整植株的形成：

將癒合組織分別移至 2D/1P CCM 新的培養基，癒合組織快速生長增生至直徑 1-2cm，將癒合組織移至 2Z 培養基，經過三星期癒合組織可再生芽體 (shoot regeneration)，又經三星期芽體長成 2-3 cm 後，切下個別的芽體移至發根 MSS 培養基，約二星期後即長出根，成為一完整的植株。移至含生長介質的盆中，先在 25℃ 培養室中馴化，再移到溫室中生長。如圖一。



圖一：苦藟與粘果酸漿雜交後，胚培養的型態。A為癒合組織 (callus) B為芽體 (shooting) C為誘發長根 (rooting) D為完整的植株。

討 論

本場嘗試以祕魯酸漿、粘果酸漿及苦蕒三者相互雜交，只有利用苦蕒為母本，粘果酸漿為父本才能產生果實，成熟種子在洗種子之時，可在清水中分出充實及未充實種子，但均無法正常發芽，因此採用胚培養方式獲取雜交植株。

種間雜交為創造遺傳變異的重要手段，苦蕒果實常為世界各國兒童採食，果實糖度雖較祕魯酸漿低，但遠高於粘果酸漿，若是能在作物育種上加以改良，使其果實更大，能當一般水果來食用，既具有好吃的口感又兼具保健功能，豈不一舉兩得。

本實驗的酸漿胚培養，可知番茄胚培養的培養基可應用於同是茄科作物的酸漿胚培養上，不論是在癒合組織 (callus)、芽體 (shooting) 及發根培養基 (rooting) 均可應用，但生長情形較番茄為慢，約二個半月才能產生較大的癒合組織，三星期後才能產生芽體，至於發根情形則與番茄一樣二星期即可長出完整的根系。在進行胚培養時，最重要的是採集的時間，若是太早採果，種子內胚太嫩，不易產生癒合組織，若是太老，胚已退化，無法產生癒合組織，本實驗於授粉後 23 天及 27 天採集酸漿果實來作試驗，發現均可誘發產生癒合組織，但以 23 天較為適當，因為苦蕒與粘果酸漿紫色種雜交可得 7.4%、與黃色種雜交可得 3.0% 的癒合組織，明顯較 27 天的誘發率為高，所以未來胚培養宜使用授粉 23 天果實為佳。

胚培養出來的後代植株，外表型態具有兩品種之特性，葉片外型似苦蕒，但植株觸摸之後，其氣味與粘果酸漿相似，花也較大，但無法結實。其中紫色種之種間雜交種會產生單偽果，果色為紫色，必須以其他技術克服雜交種不稔問題。

基本上酸漿與番茄均屬茄科作物，染色體均為 $2n=12$ ，但酸漿種子形態與番椒較為相似，本試驗成功地利用番茄種間雜交胚培養配方培育酸漿屬種間雜交種，其中 2,4-D 誘導癒合組織形成與 Bapat 和 Schieder 的結論相同，2,4-D 有效促進細胞之增生，若以 NAA 取代，則酸漿體細胞增生速率降低。

誌 謝

感謝實驗過程中本場楊藹華、林怡廷、張元聰等同仁之協助，致萬分感謝。

引用文獻

1. 王仕賢、黃山內。2001。介紹民俗植物 - 酸漿。台南區農業專訊第35期：11~14頁。
2. Ammirato, P.V., Evans, D. R., Sharp, W. R., and Y. P. S. Bajaja. 1990. Handbook of plant cell culture, Volume 5. McGraw-Hill publishing Company. 833pp.
3. Bapat, V. A., and O. Schieder. 1981. Protoplast culture of several members of the genus *Physalis*. Plant Cell Reports 1:69-70.
4. Henshaw, G. G., Jha, K. K., Mehta, A. R., Shakeshaft, D. J., and H. E. Street 1966. Studies on

- the growth in culture of plant cells. I. Growth patterns in batch propagated suspension cultures. *J. Exp. Bot.* 17:362-377.
5. Freyre, R., and J. B. Loy. 2000. Evaluation and yield trials of tomatillo in New Hampshire. *Hort. Technology* 10:374-377.
 6. Moriconi, O. N., M. C. Rush, and H. Flores. 1990. Tomatillo: a potential vegetable crop for Louisiana. P.407-413. In: J. Janick and J. E. Simon (eds.), *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, OR.
 7. Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and Skoog bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473~497.
 8. Pietro, R. C. L., S. Kashima, D. N. Sato, A. H. Januarario and S. C. Franca. 2000. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine* 7:335-338.
 9. Quiros, C. F. 1984. Overview of the genetics and breeding of husk tomato. *HortSci.* 19:872-874.
 10. Richter, R. K., and T. J. S. Carlson. 1998. Reporting biological assay results on tropical medicinal plants to host country collaborators. *Journal of Ethnopharmacology* 62:85-88.
 11. Thomas, B. R. and D. Pratt. 1981. Efficient hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *L. peruanum* via embryo callus. *Thero. Appl. Genet.* 59:215-219.

Improvement of Interspecific Hybridization between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* ()Embryo Culture of Hybrids at Different Stages¹

Peng, J. C. and S. S. Wang²

Summary

An unilateral incompatibility mechanism prevents *Physalis angulata* from serving as the male parent in crosses with *Physalis ixocarpa*. The media used is the same as that for embryo culture in *Lycopersicon sp.* Twenty-three days after pollination, embryo callus was produced, up to 7.4%, in the immature embryos of the interspecific cross between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* (Purple), and 3.0% between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* (Toma Verde). Twenty-seven days after pollination, 1.4% of embryo callus was produced in the immature embryos of the interspecific cross between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* (Purple), and 1.1% between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* (Toma Verde). Colchicines was used for the treatment of *Physalis angulata*. When plants regenerated from the chromosome were tetraploid (double-chromosome), 1.0% of embryo callus was produced in the immature embryos of the interspecific cross between *Physalis angulata* (D) and *P. ixocarpa* (Purple), and 0.9% between *Physalis angulata* (D) and *P. ixocarpa* (Toma Verde). Although percentage of the immature embryos plated for callus was low, this method for production of F₁ interspecific hybrids between *Physalis angulata* and *P. ixocarpa* is efficient. This paper shows that seeds from the 23-days-old fruits were found with the highest percentage of callus formation.

Key words: *Physalis sp.*, Hybrids, Embryo culture.

Accepted for publication:20 May,2002

-
1. Contribution No.273 from Tainan District Agricultural Improvement Station.
 2. Assistant and Associat Horticulturist and Head of Crop Improvement Division, Tainan DAIS, 350 section1, Linsen Road, Tainan 701, Taiwan, R.O.C.