

國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝暨景觀學系



博士論文

Department of Horticulture and Landscape Architecture

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

重瓣及香氣孤挺花品種之選育

Breeding and Selection for Double-flowered and Fragrant

*Hippeastrum* Cultivars

劉明宗

Ming-Chung Liu

指導教授：葉德銘 教授

Advisor: Prof. Der-Ming Yeh

中華民國 105 年 11 月

Nov., 2016



國立臺灣大學博士學位論文  
口試委員會審定書

重瓣及香氣孤挺花品種之選育  
Breeding and Selection for Double-flowered and  
Fragrant *Hippeastrum* Cultivars

本論文係劉明宗君 (D00628006) 在國立臺灣大學園藝暨景觀學系完成之博士學位論文，於民國一〇五年十一月十四日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

葉德銘

(指導教授)

朱玉

張正

楊愛如

黃光亮



## 誌謝(Acknowledgement)



本論文承蒙恩師葉德銘教授悉心指導，引導我從不同層面思考與邏輯觀念，提供寬廣的揮灑空間，使我在研究方面獲益良多，並於論文撰寫期間詳加批閱與斧正，使我受益匪淺。稿成復蒙黃光亮博士、楊雯如博士、張正博士與朱玉博士之詳加斧正與潤飾，並提供寶貴意見，特製卷首以示最深謝忱。

感謝黃敏展老師引領我進入花卉研究領域，李咩老師之教導讓我在工作與試驗研究更能貼近花卉產業，張育森老師與張耀乾老師的關懷皆令我衷心感激。

工作與進修期間承蒙農委會種苗改良繁殖場前場長沈再發博士引領我進入公職生涯，蕭吉雄博士、黃維東與陳國雄等前場長之支持與楊佐琦場長的鼓勵，使我在繁忙的工作下，順利完成學業。感謝種苗改良場之所有長官與同事之關懷，特別是品種改良保護課之志豪、嫻婷、品慧、佑光、勝智、瑛穗、守懿、鈺鶯、正忱、尚謙、卓翰、玉樹、思吟、馨儀、慶肇、訓芳等所有同仁，不論在試驗研究的幫忙還是工作上之分擔與協助，都是我由衷感謝。

本論文能順利完成還要特別感謝學弟子耀在論文撰寫期間提供大力協助，從協助試驗結果分析、論文之校稿及口試期間等幫忙，與學妹韶妤在行政業務之協助，使我論文能順利完成。

最後感謝關懷我的所有家人與親戚，特別是吾妻麗雅的包容，在我進修與工作期間給我最大的生活支柱，照顧家庭，使我在無後顧之憂下，能順利完成學業，寶貝兒子昱愷，有你的出現，使我的生活更加精彩。謹將此本論文獻給我摯愛的家人與好友們，因為有你們的存在，讓我的生命更具意義。

劉明宗 謹誌於

園藝暨景觀系 花卉館

2016年11月



## 中文摘要



孤挺花可供盆植、切花或景觀應用，市場需重瓣具香氣品種。本論文收集 41 個單瓣品種與 33 個重瓣品種，進行品種性狀、重瓣特性及花粉發芽之研究。結果顯示單瓣品種花之器官由外而內依序分別為萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊，共四輪。重瓣品種之花器數目及排列，大致可分為二大類，類型一為花朵器官排列仍為四輪，基本輪數不變，僅雌、雄蕊瓣化程度差異；類型二為花器官輪數增加，各增加一輪雌、雄蕊，增加之雌或雄蕊瓣化、部分瓣化或無瓣化。其中類型一又可依雌雄蕊瓣化程度細分成三群，類型二增加輪數後所有雌雄蕊又因瓣化程度差異可細分為五群。

以根尖染色體之壓片觀察，探討孤挺花商業品種之染色體數與倍體數，結果顯示 Montevedio、Papillio Butterfly 及 Estella 等品種染色體為  $2n = 22$  條，為二倍體；Gervase、Fortune 及 Blossom Peacock 等品種之染色體為  $2n = 44$  條，為四倍體。測量 19 個商業品種之 DNA 含量，其中 6 個二倍體品種之染色體 DNA 含量在 38.72 - 49.47 pg，13 個四倍體品種之染色體 DNA 含量在 71.35 - 94.04 pg。

由六個重瓣孤挺花品種之不同類型花藥取下花粉，以含 10% 蔗糖 B&K 培養基、於 28°C 培養 2 小時，結果顯示正常花藥、畸形花藥及雄蕊瓣化殘存花藥之花粉皆可發芽。除 'Splash' 瓣化花藥產生之花粉發芽率較低外，其他五個參試重瓣孤挺花之花粉發芽率皆大於 50%。'Blossom Peacock' 正常花藥之花粉發芽適溫在 25-35°C，各類型花藥產生之花粉皆在培養後 2 小時達最大發芽率，約 78%-91%。'Blossom Peacock' 三種類型花藥產生之花粉與單瓣 'Design' 雜交，結果顯示授粉 30 天後皆可收穫種子，花粉來源對每果實種子數及種子發芽率無顯著影響。

觀察 65 個雜交組合之後代，共 3936 植株，嘗試以雜交一代之後裔單瓣與重瓣株數，進行重瓣遺傳之推論。以一雙基因顯性表現重瓣並受隱性修飾基因調節之模式評估後代是否符合假說，結果有 45 組雜交組合後代分離比符合 1 重瓣: 3 單瓣 ( $\chi^2 = 0.00-7.68$ )，16 組雜交組合後代分離比符合 3 重瓣: 5 單瓣 ( $\chi^2 = 0.04-7.48$ )，1 組雜交組合後代分離比符合 1 重瓣: 1 單瓣 ( $\chi^2 = 0.00$ )。

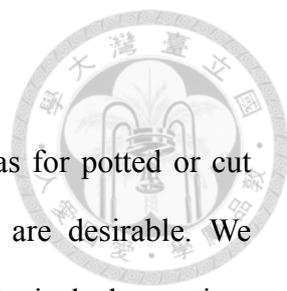


為選育出具香氣的孤挺花新品種，以香氣濃郁之孤挺花二倍體品種與具香氣之四倍體品種進行雜交育種。於授粉後 7、10、14 天採收各雜交組合果莢，取胚珠培養於 1/4MS 培養基鹽類濃度並添加 15 g·L<sup>-1</sup> sucrose，結果顯示以授粉後 14 天採收者萌芽率較高。以二倍體‘Estella’為種子親與 四倍體‘Trendsetter’雜交之胚珠萌芽率少於 18.2%，以四倍體品種為種子親之雜交胚珠萌芽率顯著較高。以‘Estella’與四倍體‘Faro’、‘Trendsetter’及‘Christmas Star’雜交，獲得 14 株雜交後裔，以流式細胞儀分析基因組含量，結果顯示 12 株雜交後裔為三倍體，2 株雜交後裔為四倍體。以氣象層析儀-質譜儀分析雜交後裔單株花朵香氣化學成分，後裔同時具有兩親本之香氣成分。

為選育出花莖長、紅色、重瓣且具香氣之孤挺花新品種，以單瓣‘San Remo’與重瓣‘Blossom Peacock’為親本進行雜交，選拔出重瓣‘種苗 1 號-粉珍珠’；為選育出紅色、重瓣且具香氣之孤挺花盆花新品種，以單瓣‘Design’與重瓣‘Blossom Peacock’為親本進行雜交，選拔出重瓣‘種苗 2 號-紅豔’，並已獲得植物品種權。

附加關鍵字：畸形花藥、顯性遺傳、流式細胞儀、氣象層析-質譜儀、瓣化

## Abstract

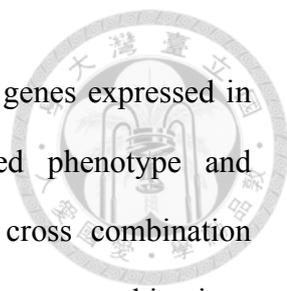


*Amaryllis* (*Hippeastrum hybridum* Hort.) is used in many areas for potted or cut flowers and landscaping. Double-flowered and fragrant cultivars are desirable. We collected 41 single- and 35 double-flowered cultivars for morphological observation. Flowers of single-flowered amaryllis consist of three sepals, three petals, six stamens, and one tri-carpel-united pistil from outer towards inner. Double-flowered cultivars could be classified into two major types. Flowers of type I double-flowered cultivars consist of four organ whorls and further three sub-types could be divided based on degree of petalization. Flowers of type II cultivars had additional whorls of stamen and carpel, and five sub-types could be divided based on degree of petalization.

Mitotic metaphase chromosomes were prepared from root tips. Results show that  $2n=22$  chromosomes for ‘Montevedio’, ‘Papillio Butterfly’, and ‘Estella’, while  $2n=44$  for ‘Gervase’, ‘Fortune’, and ‘Blossome Peacock’. Flow cytometric comparison of ploidy in 19 cultivars, revealed that 6 cultivars were diploid and had DNA contents of 38.72-49.47, as compared to 13 cultivars were tetraploid, with DNA contents of 71.35-94.94 pg.

Pollen from normal, defected, and tepalized anthers of six amaryllis cultivars were incubated in B&K medium containing 10% sucrose at 28°C for 2 h. Pollen all germinated, with 50% or higher germination rate, except for tepalized anthers of ‘Splash’. Optimum temperatures for pollen from normal anthers of ‘Blossom Peacock’ ranged from 25 to 35°C. Pollen from three types of anthers in ‘Blossom Peacock’ germinated at 2 h after culture, with 78%-91% germination. Pollen source did not alter fruit set number of hybrid seeds per fruit, and seed germination rate when placed the pollen onto the stigma of ‘Design’.

A total of 3936 progenies were created from 65 cross combinations and from the number of single-flowered and double-flowered progenies tried to deduce the



inheritance of double-flowered. A model consists of two dominant genes expressed in the heterozygous or homozygous state causing double-flowered phenotype and modified by a recessive locus was proposed. Progenies of 45 cross combination segregated into 1 double : 3 single ratio ( $\chi^2 = 0.00-7.68$ ), 16 cross combinations segregated into 3 double : 5 single ( $\chi^2 = 0.04-7.48$ ) and 1 cross combination segregated into 1 double : 1 single ( $\chi^2 = 0$ ).

Since progeny of two fragrant parents are usually fragrant, we selected diploid and tetraploid parents cultivars both have fragrant flowers. The hybrid ovules were collected and cultured in 1/4MS with 15 g·L<sup>-1</sup> sucrose medium. The ovules at 14 days after pollination (DAP) had higher germination than those at 7 or 10 DAP. Ovule germination was lower than 18.2% in diploid than tetraploid cultivars as seed parents. Fourteen hybrid progenies were obtained after crossing diploid ‘Estella’ and tetraploid ‘Faro’, ‘Trendsetter’, and ‘Christmas Star’. Flow cytometry revealed that 12 progenies were triploids, and 2 were tetraploids. GC-MS analysis showed that hybrid individuals had fragrant compounds of both parents.

Single-flowered ‘San Remo’ was used as seed parent and crossed with double-flowered ‘Blossom Peacock’. A red double-flowered progeny was selected for cut flowers and named as ‘T.S.S. No.1-Pink Pearl’. Single-flowered ‘Design’ was used as seed parent and crossed with ‘Blossom Peacock’. A red double-flowered progeny was selected for potted plants and named as ‘T.S.S. No.2- Red Splendor’. Both cultivars have been granted with plant breeder’s right.

Additional index words: defected anthers, dominant inheritance, flow cytometry, gas chromatography-mass spectrometry, petalization.

## 目錄(Contents)



口試委員會審定書.....	i
誌謝.....	ii
中文摘要.....	iii
Abstract.....	v
目錄(Contents).....	vii
圖目錄(Contents of Figures).....	ix
表目錄(Contents of Tables).....	xi
第一章 前言.....	1
參考文獻.....	3
第二章 前人研究.....	7
一、孤挺花之育種歷史.....	7
二、孤挺花重瓣品種.....	8
三、重瓣花之起源.....	9
四、重瓣花遺傳特性.....	10
五、重瓣花之分類.....	12
六、各國重瓣孤挺花育種歷史.....	13
七、孤挺花三倍體育種.....	15
八、孤挺花香氣育種.....	16
參考文獻.....	18
第三章 孤挺花品種之花器觀察及倍體性分析.....	23
摘要.....	23
Abstract.....	23
前言.....	24
材料與方法.....	27
試驗一、孤挺花品種之花器性狀調查.....	27
試驗二、重瓣孤挺花品種之花器排列分類.....	28
試驗三、孤挺花品種染色體之觀察與測定.....	28
試驗四、流式細胞儀測定孤挺花倍體性與染色體 DNA 含量.....	29
結果.....	30
討論.....	32
參考文獻.....	59
第四章 重瓣孤挺花之花藥類型、花粉發芽與結實率.....	63
摘要.....	63
Abstract.....	63
前言.....	64
材料與方法.....	65
試驗一、溫度對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響.....	65
試驗二、花粉來源與培養時間對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響.....	65

試驗三、六個重瓣孤挺花品種之花藥類型與產生之花粉發芽比較.....	66
試驗四、孤挺花‘Blossom Peacock’不同花藥之花粉與‘Design’雜交之稔實率	66
結果.....	67
討論.....	68
參考文獻.....	81
第五章 孤挺花重瓣性狀之遺傳.....	83
摘要.....	83
Abstract.....	83
前言.....	84
材料與方法.....	85
結果與討論.....	85
參考文獻.....	90
第六章 重瓣具香氣之孤挺花品種選育.....	93
摘要.....	93
Abstract.....	94
前言.....	95
材料與方法.....	95
結果.....	97
討論.....	98
參考文獻.....	106
第七章 應用胚珠培養獲得具香氣之孤挺花雜交後代.....	109
摘要.....	109
Abstract.....	109
前言.....	110
材料與方法.....	111
試驗一、四倍體與二倍體孤挺花商業品種雜交之後裔數量.....	111
試驗二、不同雜交組合之胚珠發芽比較.....	112
試驗三、培養基蔗糖濃度對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響.....	113
試驗四、培養基蔗糖濃度、授粉天數與雜交組合對孤挺花雜交胚珠培 養之影響.....	113
試驗五、孤挺花香氣三倍體新品系育成與性狀調查.....	114
結果.....	115
討論.....	118
參考文獻.....	143
第八章 綜合討論與結論.....	145
參考文獻.....	150

## 圖目錄(Contents of Figures)



圖 1.1. 國內拍賣市場 2007 年至 2015 年間之孤挺花切花交易量及交易額.....	5
圖 1.2. 國內拍賣市場 2015 年每月之孤挺花切花交易量.....	6
圖 3.1. 本研究使用之孤挺花單瓣品種.....	44
圖 3.2. 本研究使用之孤挺花單瓣品種(續).....	45
圖 3.3. 本研究使用之孤挺花重瓣品種.....	46
圖 3.4. 本研究使用之孤挺花重瓣品種(續).....	47
圖 3.5. 單瓣孤挺花‘Spring Time’之花朵(A)與花式圖(B).....	48
圖 3.6. 重瓣孤挺花‘Macarena’ (I-1 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)....	49
圖 3.7. 重瓣孤挺花‘Rio’ (I-2 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C).....	50
圖 3.8. 重瓣孤挺花‘Rozetta’ (I-3 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C).....	51
圖 3.9. 重瓣孤挺花‘Jewel’ (II-1 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C).....	52
圖 3.10. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’ (II-2 型)花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)53	
圖 3.11. 重瓣孤挺花‘Dancing Queen’ (II-3 型)花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)...	54
圖 3.12. 重瓣孤挺花‘種苗一號-粉珍珠’ (II-4 型)花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)...	55
圖 3.13. 重瓣孤挺花‘Double Dragon’ (II-5 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)56	
圖 3.14. 單瓣孤挺花及重瓣孤挺花之體染色體數觀察.....	57
圖 3.15. 孤挺花二倍體原生種 <i>Hippeastrum aulicum</i> 、‘Giraffe’、‘Amputo’及四體 ‘Susan’、‘Salmon Peacock’之 DNA 含量分析測定圖譜.....	58
圖 4.1. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’之正常(A)、畸形(B)及瓣化(C)花藥.....	71
圖 4.2. 參試之六個重瓣孤挺花品種.....	72
圖 4.3. 培養溫度對重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥之花粉發芽率之影響	73
圖 4.4. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥、畸形花藥或瓣化花藥之花粉培 養在 25°C 之發芽率變化.....	74
圖 4.5. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’、‘Dancing Queen’及‘Macarena’正常(A- C)、畸形(D-F)及瓣化(G-I)花藥之花粉發芽情形.....	75
圖 4.6. 重瓣孤挺花‘Flaming Peacock’、‘Splash’及‘Double Delicious’正常(A-C) 及瓣化(D-F)花藥之花粉發芽情形.....	76
圖 4.7. 重瓣孤挺花品種之正常花藥、畸形花藥及瓣化花藥之花粉發芽率比較	77
圖 4.8. 取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常(A)、畸形(B)及瓣化花藥之花粉授 於單瓣孤挺花‘Design’柱頭 30 天後之結實情形.....	78
圖 4.9. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥之花粉與單瓣孤挺花‘Design’雜 交，所獲得種子.....	79
圖 6.1. 孤挺花‘San Remo’與‘Blossom Peacock’之雜交後裔重瓣單株花朵.....	104
圖 6.2. 利用 GC-MS 分析重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’ (A)及其芳香重瓣後代 ‘種苗 1 號-粉珍珠’ (B)之香氣成分組成.....	105
圖 7.1. 以胚挽救技術所得雜交後裔定植六個月(A)與定植一年半(B)後生育情形.	135

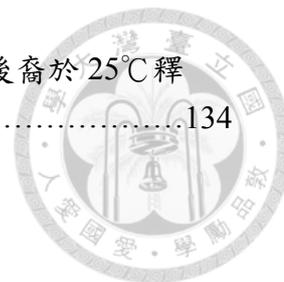
圖 7.2. 以具香氣二倍體孤挺花‘Estella’為種子親與具香氣四倍體‘Faro’為花粉親所得雜交後裔 A1、A2 與 A3 之花朵性狀.....	136
圖 7.3. 具香氣二倍體孤挺花‘Estella’、四倍體‘Faro’及其雜交後裔(A1、A2、A3)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜.....	137
圖 7.4. 以具香氣四倍體孤挺花‘Faro’為種子親與二倍體‘Estella’為花粉親所得雜交後裔 B1、B2、B3 與 B5 之花朵性狀.....	138
圖 7.5. 具香氣四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’及其雜交後裔(B1、B2、B3、B5)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜.....	139
圖 7.6. 具香氣四倍體孤挺花‘Trendsetter’與二倍體‘Estella’及其雜交後裔(C1、C2、C3)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜.....	140
圖 7.7. 具香氣二倍體孤挺花‘Estella’與四倍體‘Trendsetter’及其雜交後裔(D1、D2)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜.....	141
圖 7.8. 具香氣四倍體孤挺花‘Christmas Star’與二倍體‘Estella’及其雜交後裔(F1、F2)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜.....	142

## 表目錄(Contents of Tables)



表 3.1. 種苗改良繁殖場簡易網室內之月平均溫度.....	39
表 3.2. 四十一個孤挺花單瓣品種花莖長、花徑、花正面型態、花瓣內面主要 顏色及花色類型等性狀比較.....	40
表 3.3. 三十四個孤挺花重瓣品種花莖長、花徑、花正面型態、花瓣內面主要 顏色及花色類型等性狀比較.....	41
表 3.4. 依花器構造類型分類重瓣及單瓣孤挺花品種.....	42
表 3.5. 參試孤挺花之染色體數及倍體數.....	43
表 4.1. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’之正常、畸形或瓣化花藥之花粉與單瓣 孤挺花‘Design’雜交，所獲得種子數與發芽率.....	80
表 5.1. 卡方檢定孤挺花品種雜交後代重瓣(含半重瓣)與單瓣花型之分離比....	88-89
表 6.1. 孤挺花‘San Remo’與‘Blossom Peacock’之雜交重瓣單株性狀比較.....	100
表 6.2. 孤挺花‘Design’與‘Blossom Peacock’之雜交重瓣單株性狀比較.....	101
表 6.3. 孤挺花‘種苗 1 號-粉珍珠’植物品種特性表及照片.....	102
表 6.4. 孤挺花‘種苗 2 號-紅豔’植物品種特性表及照片.....	103
表 7.1. 孤挺花二倍體與四倍體品種雜交組合之後裔數.....	123
表 7.2. 於 2012 年以二倍體孤挺花‘Estella’為種子親或花粉親與四倍體品種雜 交所得胚珠培養之胚發芽率.....	124
表 7.3. 於 2015 年以二倍體孤挺花‘Estella’為種子親與四倍體品種雜交所得胚 珠培養之胚發芽率.....	125
表 7.4. 花粉親與培養基蔗糖濃度對以二倍體‘Estella’為種子親與四倍體品種 雜交所得胚珠培養後胚發芽率之影響.....	126
表 7.5. 種子親與培養基蔗糖濃度對以二倍體‘Estella’為花粉親與四倍體品種 雜交所得胚珠培養後胚發芽率之影響.....	127
表 7.6. 授粉後天數與培養基蔗糖濃度對孤挺花二倍體‘Estella’與四倍體 ‘Trendsetter’正反雜交胚珠培養後胚發芽率之影響.....	128
表 7.7. 授粉後天數與培養基蔗糖濃度對孤挺花四倍體‘Toronto’與‘Bold Leader’正反雜交胚珠培養後胚發芽率之影響.....	129
表 7.8. 二倍體孤挺花‘Estella’、四倍體‘Faro’與其胚珠培養所得雜交後裔 A3 之性狀比較.....	130
表 7.9. 四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交後裔 B3 之性狀比較.....	131
表 7.10. 四倍體孤挺花‘Trendsetter’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交後 裔 C2 之性狀比較.....	132
表 7.11. 四倍體孤挺花‘Christmas Star’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交 後裔 F1 之性狀比較.....	133

表 7.12. 具香氣四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’及其正反交後裔於 25°C 釋放之揮發性成分分析.....134





## 第一章 前言

### Chapter 1. Introduction

孤挺花為石蒜科(Amaryllidaceae)孤挺花屬(*Hippeastrum*)之鱗莖類(bulb)多年生植物。約有 50-85 個原生種(Okubo, 1993; Read, 2004)，原生於巴西東部和安地斯山中南部之東部坡地和鄰近祕魯、玻利維亞和阿根廷等之丘陵地區，亦有少數分布在墨西哥和西印度群島(Meerow, 2000; Okubo, 1993)。至西元 2000 年已有超過 200 年的育種歷史(Meerow, 2000)。

鈴木三郎於 1911 年首先自新加坡引入 *H. equestre* Herb、*H. puniceum* (Lam.) Voss、*H. reginae*(L.) Herb.、*H. reticulatum* Herb.、*H. vittatum* Herb.至臺灣，以庭園栽培為主(楊，1984；邱和張，1995)，1955 年引進 *H. gracilis* Hort (楊，1984)，1960 年從英國引進大花雜交品種(王，1995；楊，1984)，是現今商業栽培主流。根據農產品交易行情網之資料統計，臺灣在 2007 至 2015 年間，平均每年孤挺花切花總交易量約為 3 萬 5 千支，國內切花數量約 1 萬 6 千支，年產值平均約為 31.5 萬新台幣，而進口切花數量約為 1 萬 9 千支，交易額則達 123 萬新台幣(圖 1.1)，進口花量多且單價高，而本地切花量少且價格低。國內自產切花主要集中在 3 至 5 月份出貨，且交易量較進口者少(圖 1.2)。

重瓣花可一定程度提高花卉作物觀賞性，通常重瓣孤挺花之花色較深而美觀、花朵壽命長及香氣較濃(Reynolds and Tampion, 1983)。重瓣孤挺花種球價格常較單瓣品種高，且花朵壽命普遍較單瓣品種壽命長(Read, 2004)。雖然市面上已經流通許多重瓣孤挺花品種，但尚未有孤挺花重瓣性狀遺傳之科學報告。

重瓣花可分為花瓣或花輪數量增加、花瓣極度褶皺面積變大形成重瓣花狀及頭狀花序的筒瓣花被舌瓣花取代或本身面積加大等形成(趙和劉，2009)。重瓣花之起源方式大致可分為六大類：積累起源、苞片起源、雌雄蕊起源、台閣起源、重複起源及花序起源。此外，Reynolds 和 Tampion (1983)提出一系統化的重瓣花分類系統。重瓣孤挺花主要是由雄蕊及雌蕊器官瓣化而來 (McCann,1937; Meerow, 2000)。美國育種者 Latapie 將孤挺花品種依花被瓣數(tepals)分為單瓣花、半重瓣花



(semi-double)、重瓣花(double)及超重瓣花(super-double) (Latapie, 1980)。但 Latapie 並未仔細敘述孤挺花瓣化之器官來源。

早在 1937 年，McCann 已提出部分重瓣孤挺花品種之花藥瓣化不全，可產生花粉，做為重瓣育種之親本。但品種間瓣化不全之花藥形態，及其花粉之發芽率等資訊未明。花粉活力是作物育種效率的指標之一，發芽率偏低的花粉其授粉後產生種子數或果實發育皆有可能受影響(徐等，1986)。

多數孤挺花原生種為二倍體( $2n = 2x = 22$ ) (Naranjo and Poggio, 1988)，但商業栽培品種多為四倍體( $2n = 4x = 44$ )。長期以四倍體商業品種間雜交育種，有些二倍體原生種之優良特性會漸漸被稀釋(Meerow, 2000)。為了提高孤挺花新品種之商業價值，取商業品種與具新穎或優良性狀之二倍體原生種或品種雜交獲得後代為一重要的途徑。然而四倍體與二倍體雜交，可能遭遇雜交障礙無法取得後代，或後代可能為三倍體、稔性低(Meerow, 2000)之缺點。雖然已利用胚挽救技術所獲得孤挺花雜交後代(Choi and Park, 1998；Patanakanog, 1999)，但皆需在培養基中添加植物生長調節劑，此可能誘導癒傷組織及體胚發生等(Ziv et al., 1973; Stewart, 1981)，再生之植株是否會變異尚待確認。

近年花卉作物開始著重香氣育種。現有的孤挺花商業品種多半不具香氣，但 Meerow (2000)指出以皆具有香氣之親本進行雜交及回交，後裔較有機會具有香氣性狀，當具有香氣之二倍體與不具香氣之二倍體雜交，後裔中會分離出具香氣及不具香氣植株。而當具香氣之二倍體與具香氣的四倍體雜交，後裔多半皆具香氣。

本研究擬觀察孤挺花品種花瓣器官起源及瓣數並予以分析、歸類，以作為孤挺花重瓣品種選育之參考，並觀察重瓣孤挺花品種之花藥形態，取其花粉進行離體培養及授粉，以評估其育種效率；擬探討在不添加植物生長調節劑的適當培養基之胚挽救條件，以取得商業四倍體品種與優良二倍體品種/原種之雜交後代及進一步取皆具香氣的二倍體及四倍體親本進行雜交育種，並選育出具香氣的重瓣孤挺花新品種。

## 參考文獻(References)



- 王才義. 1995. 孤挺花. 臺灣農家要覽. 農作物篇(二). 財團法人豐年社出版. 台北市. 臺灣.
- 邱年永、張光雄. 1995. 原色台灣藥用植物圖鑑. 第四冊. 南天書局出版. 台北市. 臺灣. p. 273.
- 徐炳聲、林中箴、俞志洲、黃少甫. 1986. 從花粉的生活力和雜交後的結實評價石蒜屬內的種間關係. 遺傳學報 13:369-376.
- 財政部關稅總局. 2016. 24 Aug 2016. <<https://portal.sw.nat.gov.tw/APGA/GA01>>.
- 楊恭毅. 1984. 楊氏園藝植物大名典. 第四冊. 中國花卉雜誌社. 台北市. 臺灣.
- 農產品交易行情網. 2016. 24 Aug 2016. <<http://amis.afa.gov.tw/l-asp/top-v.asp>>.
- 趙印泉、劉青林. 2009. 重瓣花的形成機理及遺傳特性研究進展. 西北植物學報 4:832-841.
- Choi, E.G. and H.B. Park. 1998. Plant regeneration from immature embryo and bulb scale tissue of *Hippeastrum hybridum*. Kor. J. Plant Tiss.Cult. 25:27-31.
- Latapie, W.R. 1980. Suggested standards for judging double Amaryllis. Plant Life 36:41.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. Herbertia 15:69.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). Breeding ornamental plants. Timber Press, Portland, Oregon, U.S.A.
- Naranjo, C.A. and L. Poggio. 1988. A comparison of karyotype, Ag-NOR bands and DNA contents in *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 42:317-325.
- Okubo, H. 1993. *Hippeastrum* (Amaryllis), p. 321-334. In: A. de Hertogh and M. Le Nard (eds.). The physiology of flower bulbs. Elsevier, The Netherlands.
- Patanakanog, S. 1999. Varietal improvement of *Hippeastrum* spp. Kasetsart Univ.,

Bangkok, Thailand, PhD Diss.

Read, V.M. 2004. *Hippeastrum* the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Oregon, U.S.A.

Reynolds, J. and J. Tampion 1983. Double flowers: A scientific study. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.

Stewart, J.M. 1981. In vitro fertilization and embryo rescue. Environ. Expt. Bot. 21:301-315.

Ziv, M., R. Kanterovitz, and A.H. Halevy. 1973. Vegetative propagation of *Alstroemeria* in vitro. Scientia Hort.1:271-277.



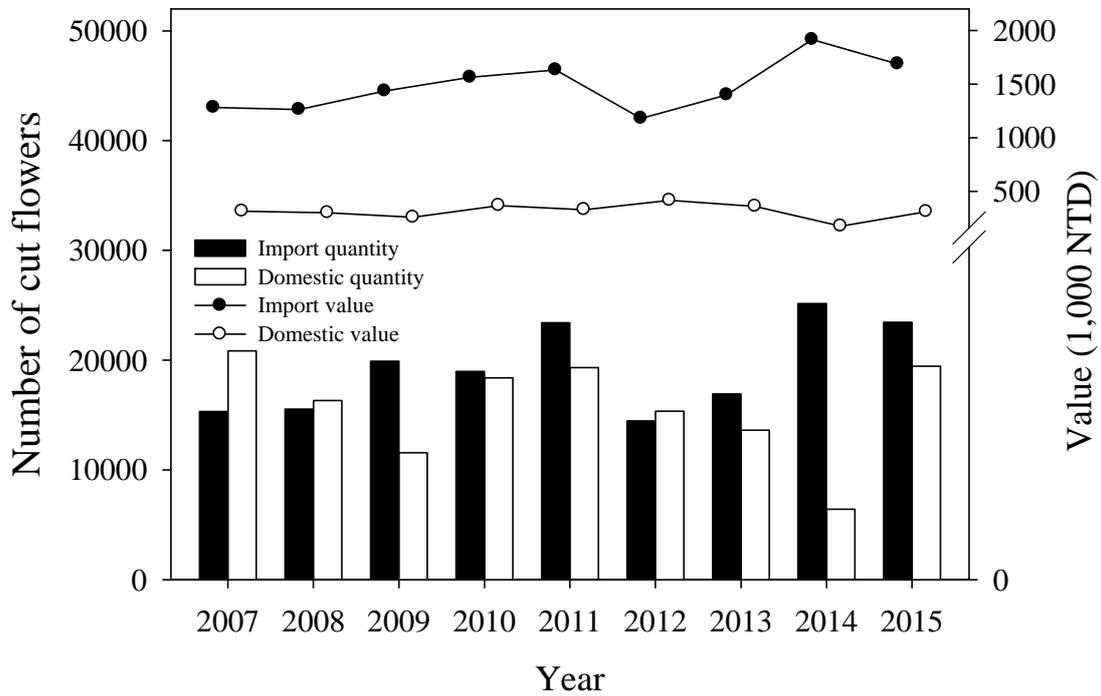
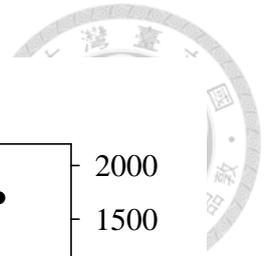


圖 1.1. 國內拍賣市場 2007 年至 2015 年間之孤挺花切花交易量及交易額  
Fig.1.1.1. Annual quantity and value of amaryllis cut flower in domestic auction markets  
from year 2007 to 2015. (資料來源：財政部關稅總局及農產品交易行情網)

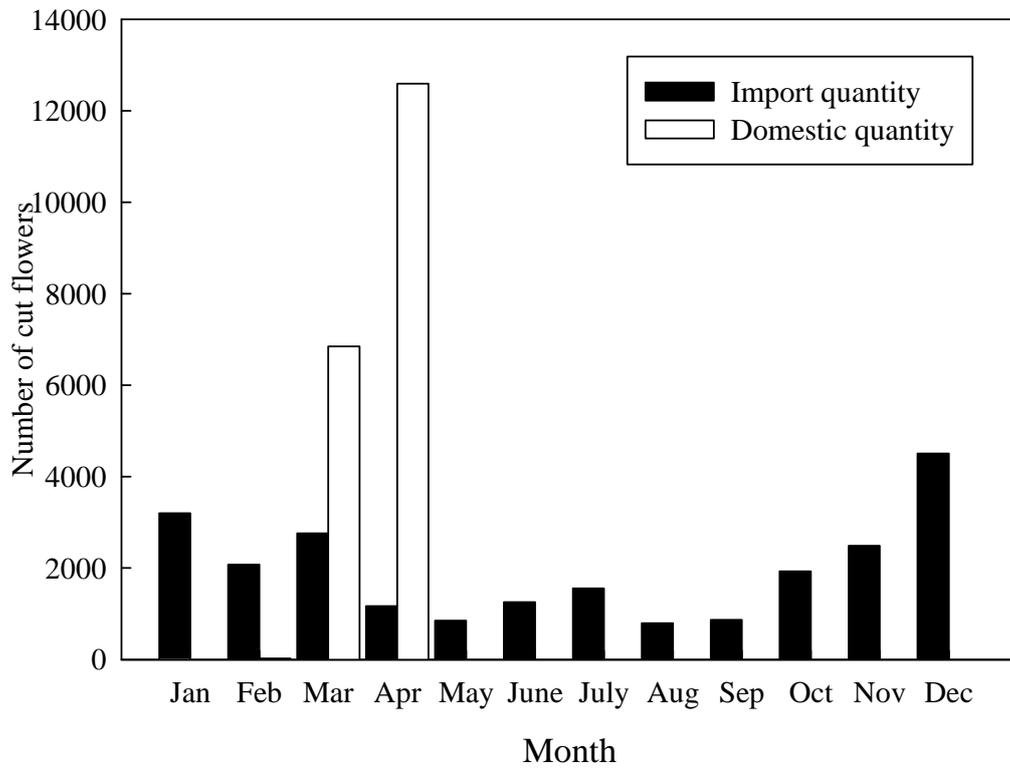


圖 1.2. 國內拍賣市場 2015 年每月之孤挺花切花交易量

Fig.1.2. Monthly amaryllis cut flower quantity in domestic auction markets during year 2015. (資料來源：農產品交易行情網)

## 第二章 前人研究

### Chapter 2. Literature Review



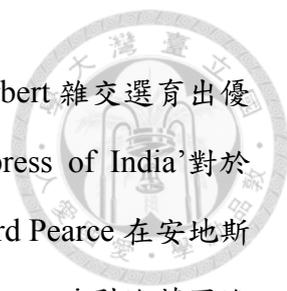
孤挺花為多年生草本球根花卉，在植物分類上屬於單子葉植物亞綱(subclass Monocotyledonae)石蒜科(Amaryllidaceae)孤挺花屬(*Hippeastrum*)之鱗莖類(bulb)(Okubo, 1993)。孤挺花屬內約包含 50-85 種，原生於巴西東部、安地斯山中南部之東部坡地和鄰近丘陵地區之祕魯、玻利維亞和阿根廷等(Read, 2004)。

孤挺花之花莖(scape)中空。為繖形花序，由 2-6 朵花所形成。每一朵花具六花被，花萼與花瓣不易區分，故統稱花被。雄蕊六枚，花柱較雄蕊長，柱頭三裂。三心皮，子房下位。果實為蒴果。種子為黑色扁平狀，具薄膜(Rees, 1985)。

大多數孤挺花之原種為二倍體，染色體數為  $2n = 22$ ，具有自交不親和性。現今大多數商業品種為四倍體，植株及花朵較大。四倍體之間的雜交，可產生高活力之種子，成為現今商業栽培品種之主流(Meerow, 2000)。孤挺花雜交育種可經由許多方式改進，選育出市場需求商業品種，如花型(喇叭形或長筒花冠形)改善、香氣導入、葉片常綠性、重複開花性、抗孤挺花嵌紋病毒(*Hippeastrum mosaic virus*)和赤斑病(red scorch)等(Meerow, 2000)。而雜交後裔之基本評估方式可依循下列準則，如每球產生花莖數、花朵數、花朵形態和大小、花色、增殖倍率或由育種者所需求之特殊性狀等(Meerow, 2000)、切花市場之瓶插壽命、種球根系之發育與活力等(Ockenga, 2002)。從首次雜交育種至選育出可商業利用新品種，一般需要 7-9 年時間(Read, 2004)。

#### 一、孤挺花之育種歷史

孤挺花最早是 1799 年在英國育出 *Johnsonii* 雜交種(*Hippeastrum* × *johnsonii*)，以 *H. vittatum* Herbert 和 *H. reginae* Herbert 雜交育種而成(Traub, 1934)。育種歷史已超過 200 年(Meerow, 1988, 2009)。現今孤挺花育種最重要之二群即是 *Reginae* 和 *Leopoldii* 之雜交群。*Reginae* 群是由荷蘭 Jan de Graff 先生與其二子在十九世紀利



用 *H. vittatum* Herbert、*H. striatum* Lamarck 和 *H. psittacinum* Herbert 雜交選育出優良雜交種。目前適用於歐洲，尤其是栽培品種‘Graveana’和‘Empress of India’對於日後育種之貢獻特別重要(Ockenga, 2002)。Leopoldii 群由 Richard Pearce 在安地斯山發現的 *H. leopoldii* J. A. Hort 和 *H. pardinum* A. T. Hunziker&Cocucci 引進英國進行雜交育種，選育出具有花大、開張性佳及花對稱之特性(Meerow, 2000)。

除了上述重要二雜交群外，後來又發展出許多雜交群，如 Veitch 群，此群是由 Veitch 和 Sons 兩人將 Leopoldii 群與 Reginae 群進行雜交育種，發展出具有花大、開張性佳及每個花莖具有 4-6 朵花特性之雜交群。Vittatum 群是由 *H. vittatum* Herbert 與其他種及雜交種雜交育種而成。這些主要源自法國，其次是英國。Reticulatum 雜交群為夏末至秋季開花雜交種，主要親本是巴西原產的 *H. reticulatum* Herbert，特色是較其他雜交群矮小，常綠，葉脈中肋常有白色或黃色條帶(Meerow, 2000)。Mead 雜交群主要是由佛羅里達 Captain J. J. McCann 雜交而來，此雜交群主要由 Reginae 群與加入其他六種顏色品種雜交而來。此群特色為具有長度短至中的花被瓣筒(tepal tube)，不像歐洲選育之 Reginae 雜交群與 Leopoldii 雜交群僅適合在溫室盆栽種植，Mead 雜交群可在佛羅里達之田間栽培(Read, 2004)。

## 二、孤挺花重瓣品種

重瓣孤挺花(*Hippeastrum equestre* f. *albertii*)是在 1866 年由 M. Albert Wagner 於古巴哈瓦那之野外發現。1930 年 McCann 以此重瓣孤挺花與單瓣 Mead 雜交群進行雜交，選育出第一個重瓣孤挺花‘Helen Hull’，但由於花形較差，此品種並不具商業價值(Read, 2004)。1970 年代美國加州育種者 Charles D. Cothram，利用‘Helen Hull’及 *Hippeastrum equestre* f. *albertii* 兩重瓣孤挺花與許多荷蘭單瓣品種如‘Maria Goretti’成功創造許多重瓣孤挺花品種(Read, 2004)。

美國育種者 Latapie 於 1980 年將孤挺花之花被瓣數(tepals)作一分類，將花被瓣數為 6 定義為單瓣花；花被瓣數 7-11 為半重瓣花(semi-double)；花被瓣數 12-17 為重瓣花(double)；花被瓣數 18 以上為超重瓣花(super-double)，後來此分類方式也



受美國孤挺花協會之認可採用(Read, 2004)。

在 21 世紀初超過 30 個由澳大利亞、荷蘭、日本和南非的重瓣品種，已進入商業量產。荷蘭與南非主要以發展大花重瓣孤挺花品種而日本則以小花或矮小重瓣為主。一般重瓣孤挺花育種較單瓣育種所需時間較長。

孤挺花之重瓣花瓣來源可能是雄蕊和雌蕊等器官轉變而來(McCann, 1937)。但是以孤挺花單瓣花之最外層有 6 片花被瓣，6 枚雄蕊與 3 個心皮，若雌雄蕊完全瓣化，總數最多只有 15 片花被瓣。15 片以上之花被瓣顯然除了雌雄蕊瓣化外，另外有產生其他花被瓣之可能機制。

若重瓣孤挺花由雌雄蕊完全瓣化而來，則重瓣花朵應無任何正常生殖器官產生，但瓣化不完整之雄蕊，會產生一些具有花藥之少量具稔性之花粉，此花粉可利用為重瓣育種之重要親本來源(Meerow, 2000)。

### 三、重瓣花之起源

重瓣花可為花瓣或花輪數量增加、花瓣極度褶皺面積變大形成重瓣花狀及頭狀花序的筒瓣花被舌瓣花取代或本身面積加大等形成所為重瓣花(趙和劉，2009)。重瓣花之起源方式大致可分為六大類：積累起源、苞片起源、雌雄蕊起源、台閣起源(Prolifera)、重複起源及花序起源。

以分子層次而言，由 Coen 和 Meyerowitz (1991)所共同提出花朵器官發育之模式—ABC Model，是建立在遺傳試驗基礎上，以金魚草(*Antirrhinum*)和阿拉伯芥(*Arabidopsis*)為模式植物，進行研究定義，此模式目前約可廣泛適用於被子植物(Coen and Meyerowitz, 1991)。影響花朵分化之基因分成 A、B、C 三群，此三群基因會個別或共同表現來決定花朵分生組織發育，花器官形成。以阿拉伯芥為例，花由外而內可分為四輪，分別是萼片(sepals)、花瓣(petals)、雄蕊(stamen)和心皮(carpel) (Irish and Kramer, 1998)。而 ABC model 中三群基因對花器官分化形成之貢獻如下：A 群基因在阿拉伯芥有 *APETALA1* (*API*)和 *APETALA2* (*AP2*)，利用 *ap1* 和 *ap2* 突變株，可使花朵器官之萼片無法發育，因此將此定為 A 群。B 群基因是



*APETALA 3 (AP3)*和 *PISTILLATA (PI)*，主要調控花朵第二、三輪(花瓣、雄蕊)器官發育。C 群基因如 *AGAMOUS (AG)* 單獨調控第四輪之心皮(carpel)的形成；A 群和 B 群功能型基因，共同控制第二輪花瓣的發育，B 群和 C 群功能型基因在第三輪共同調控雄蕊的發育；C 群功能型基因則單獨調控第四輪心皮的發育。而 A 和 C 群基因是以負調控的方式相互調控(Jack, 2001)。以 ABC Model 為基礎研究不同植物種類之花器官發育，結果顯示矮牽牛(*Petunia*)除了現有 A、B、C 三群基因調控外，另有第四群基因(D-class genes)與胚珠發育有關(Angenent and Colombo, 1996)，隨著研究進展，在 MADS-box 基因內有另一群基因 *SEPALLATA1,2,3* 亦會影響花萼、花瓣、雄蕊與心皮之形成(Pelaz et al., 2000)，利用 *sep1*、*sep2*、*sep3* 與 *sep4* 突變株確認影響阿拉伯芥之營養葉形成，進而影響花萼、花瓣、雄蕊與心皮之形成(Ditta et al., 2004)，並被稱為 E 群基因。因此修正影響花器官發育之模式成 ABCDE-model (Theißen and Saedler, 2001；Zahn et al., 2005)。因此在五大群基因模式詮釋各群基因對於花器官形成的影響方面，其中 A 群基因決定調控萼片之發育，A、B 與 E 群基因共同調控花瓣的發育，B、C 群與 E 群基因共同調控雄蕊之發育，C、D 與 E 群基因調控雌蕊與胚珠之發育(Theißen, 2001)。

#### 四、重瓣花遺傳特性

關於重瓣花遺傳研究很多，可因植物種類不同而有不同的控制模式。依其顯、隱性或者基因數、倍體數或細胞質遺傳等性質整理如下：

- (一) 一對顯性基因控制：如仙客來(*Cyclamen persicum* Mill.)、香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)、非洲菊(*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook. f.)、天竺葵(*Pelargonium ×hortorum* L. H. Bailey)、矮牽牛(*Petunia ×hybrid* Hort. Ex Vilm.)、玫瑰花(*Rosa ×hybrida* Hort)、非洲堇(*Saintpaulia ionantha* Wendl.)、大岩桐 [*Sinningia speciose* (Lodd, etl al. ex Ker Gawl.) Hiern]、早小菊 [*Dendranthema ×grandiflorum* (Ramat) Tzvel] (林和李, 2000)和萬壽菊(*Tagetes erecta* L.) (Horn, 2002)等。

- 
- (二) 一對隱性基因控制：如金魚草(*Antirrhinum majus* L.)、翠菊(*Callistephus chinensis* L.)、美國石竹(*Dianthus barbatus* L.)、花菱草(*Eschscholtzia californica* cham.)、紫羅蘭(*Matthiola incana* (L.) R. Br.) (張和王, 2006)、虞美人(*Papaver rhoeas* L.)、花煙草(*Nicotiana alata*) (Zainol and Stimart, 2001)、金蓮花(*Tropaeolum majus* L.) (Eyster and Burpee, 1936)及日日春[*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] (Chen et al., 2012)等。
- (三) 一對不完全顯性基因控制：香石竹的重瓣花遺傳特性屬於不完全顯性基因控制，所以可以產生超重瓣、重瓣及單瓣花三種外表型(Imai, 1938; Scovel et al., 1998)。天竺葵區分單瓣(5瓣)、半重瓣(6-16瓣)與重瓣(16瓣以上)，推論亦屬於不完全顯性對偶基因遺傳(Craig, 1963)。
- (四) 二對基因且其隱性上位性：單瓣鳳仙花與茶花型重瓣鳳仙花雜交後代分比為單瓣：重瓣：茶花型重瓣為9:3:4，說明單瓣鳳仙花對茶花型重瓣的瓣數遺傳表現為典型的雙基因控制的隱性上位控制模式(程和劉, 2000)。
- (五) 數量基因控制：為累加性變化(Heursel and Garretsen, 1989)，如非洲菊(*Gerbera jamesonii* Adlam)之舌狀花的數量，累加性組成變化程度可廣泛地被遺傳(Noack, 1962)。可分為(a)主基因加修飾基因控制：如重瓣天竺葵(Almousslem and Tilney-Bassett, 1989)、重瓣的四季秋海棠(*Begonia* × *semperflorens-cultorum* Hort.) (b) 微效多基因控制：如重瓣型大理花(Crane and Lawrence, 1947)。
- (六) 倍性遺傳：異質結合體獨立的個體可以從同質結合的分離，且根據對偶基因數量發現有多倍體的劑量效應(Horn, 2002)，如金蓮花由三個基因座控制超重瓣、重瓣和單瓣表現(Eyster and Burpee, 1936)。
- (七) 細胞質遺傳：以單瓣耬斗菜(*Aquilegia vulgaris* L.)為母本，重瓣耬斗菜為父本進行雜交，雜交後裔全為單瓣花；若以重瓣耬斗菜為母本，單瓣或重瓣耬斗菜為父本進行雜交，雜交後裔全為重瓣花。此結果顯示耬斗菜瓣性主要是細胞質遺傳(Rousi, 1968)。



## 五、重瓣花之分類

Reynolds 和 Tampion(1983)以形態與生理觀點將重瓣花分為五類，分述如下：

(一)離瓣植物(Polypetalous plants)的重瓣花，此類型的重瓣花其花器官通常能正常結實，但也有部分受影響，可分為以下 4 種：

1. 缺刻、重疊和分裂(fluting, overlapping and dissection)：花瓣之表面積增加，形成皺摺、缺刻、重疊或向外生長，外觀上似重瓣，實際上花瓣數無增加。
2. 花瓣數增加(extra petals)：花瓣數較原花瓣數多，其它花各部位器官不變。
3. 花瓣輪數增加(extra whorl)：花基本構造不變，增加額外輪數，使花瓣數呈倍數增加，造成重瓣現象，如西洋耬斗菜、鐵線蓮(*Clematis* spp.)、飛燕草(*Delphinium grandiflorum* L.)和小蒼蘭(*Freesia hybrid* L.)。
4. 新增次生中心(secondary centres)：原花之輪數中，產生第二個中心輪(如花中花)，造成重瓣現象，如康乃馨。

(二)合瓣花植物(Sympetalous plants)，可分為以下 2 種：

1. 缺刻、重疊和分裂(fluting, overlapping and dissection)：花瓣表面增加凹凸條紋、重疊性和花瓣向外生長，如矮牽牛及杜鵑花。
2. 花瓣輪數增加(extra whorl)：合瓣花的花器官之正常位置，亦有增加輪數或瓣化花瓣之輪數等，如大岩桐及曼陀羅(*Datura stramonium* L.)等。

(三)離瓣花與合瓣花花瓣區正常但有瓣化雄蕊或雌蕊，有以下 4 種：

1. 雄蕊部分瓣化(petaloid of part stamens)：花瓣區域雄蕊部分花瓣化，增生花瓣上可能殘存花藥且可產生花粉，但多數為雄不稔性，如水仙花(*Narcissus* sp.)、玫瑰、山茶花(*Camellia japonica* L.)、球根海棠(*Begonia tuberhybrida* Voss)及四季秋海棠等。
2. 雄蕊完全瓣化(petaloid of complete stamens)：全部雄蕊花瓣化，為完全雄不稔性，如重瓣非洲鳳仙花。
3. 雄蕊完全瓣化及部分心皮瓣化(petaloid of complete stamens and part carpel)：



全部雄蕊花瓣化，最內層增生花瓣連結部分心皮，子房中胚珠功能有時受影響，如杜鵑花、玫瑰及茶花等部分品種上可見此類型。

4. 雄蕊與心皮完全瓣化(petaloid of complete stamens and carpels)：雌、雄蕊完全花瓣化，如重瓣荊豆(*Ulex europaeus* L.)及毛茛(*Ranunculus aconitifolius* L.)。

(四)假重瓣花(pseudo-doubles)，主要是菊科植物之舌狀花取代中間管狀花，雖然花瓣數本身並未增加，但是頭狀花序本身亦可視為重瓣花，如翠菊[*Callistephus chinensis* (L.)Nees]、向日葵(*Helianthus annuus* L.)、大理花(*Dahlia pinnata* Cav.)、百日草(*Zinnia elegans* Jacq.)及非洲菊等重瓣品種。

(五)花朵異常(floral abnormalities)之重瓣花：泛指其他增加類似花瓣的重瓣花，常見為苞片瓣化，如重瓣聖誕紅(*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)、重瓣九重葛(*Bougainvillea spectabilis* Willd.)及重瓣麒麟花(*Euphorbia milii* Des Moul.)等。

## 六、各國重瓣孤挺花育種歷史

### (一) 美國

十九世紀末至二十世紀初在美國德州、加州及佛羅里達州開始進行孤挺花育種工作(Meerow, 2009)，Luther Burbank 以歐洲 *Reginae* 與 *Leopoldii* 雜交群為基礎開發出大花孤挺花品系(Traub, 1958)。然而美國最偉大的孤挺花育種者是佛羅里達州之 Henry Nehrling 和 Theodore Mead 二位(Bell, 1973; Meerow, 2009; Traub, 1934)，創造出孤挺花 Mead 雜交群，此雜交群之種原來源主要來自 Nehrling 所蒐集之種原雜交而來，由 Mead 雜交群與 Ludwig 雜交群或荷蘭親本，創造出許多現代孤挺花新品種(Bell, 1973; Meerow, 2009)。

孤挺花育種者 McCann 於 1930 年，利用原生種重瓣孤挺花(*H. equestre* f. *albertii*) 與單瓣 Mead 雜交群進行雜交，結果選育出重瓣孤挺花‘Helen Hull’；1970 年代美國加州育種者 Charles D. Cothram，利用重瓣‘Helen Hull’及 *H. equestre* f. *albertii* 兩



重瓣孤挺花與許多荷蘭單瓣品種如‘Maria Goretti’成功創造許多重瓣孤挺花品種；同時期加州育種者 John W. Demes 利用‘Helen Hull’與‘Park’s Apricot’進行雜交，成功創造出多個重瓣孤挺花單株，也奠定日後他在 1980 年代選育出許多花朵較平面、比例佳與花瓣多之重瓣孤挺花品種，如‘Judy’、‘Louis Parajos’、‘Lynn’、‘Kristy’、‘Fanny White’和‘Surprise’等。現今流通商業重瓣品種，如‘Double Record’、‘Lady Jane’與‘Pasadena’是由 Demes 創育出，也是他首先向 ICRA (International Cultivars Registration Authority)申請並獲得植物品種權(Read, 2004)。

## (二) 荷蘭

荷蘭重瓣孤挺花育種之主要代表為 Penning Breeding B.V. 與 T. van Nieuwkerk Amaryllis B.V.兩家公司。這兩家公司創造出現今荷蘭重瓣孤挺花的主流品種。如 Penning Breeding B.V.公司的‘Promise’、‘Salmon Peacock’、‘Dancing Queen’等品種；21 世紀初，Nieuwkerk Amaryllis B.V.公司開始進行大花白色或紅色重瓣育種，選育出大花白色重瓣之‘Double Queen’較 Penning Breeding B.V.公司的‘Dancing Queen’更大，而重瓣孤挺花 Nymph 系列品種如‘Red Nymph’、‘White Nymph’、‘Pink Nymph’等亦是 Nieuwkerk Amaryllis B.V.公司重要代表品種(Read, 2004)。

## (三) 日本

日本重瓣孤挺花育種之主要人物為 Miyake 農場之 Isamu Miyake 先生，在其閱讀到美國 John W. Demes 於 1972 年發表於 Plant Life 期刊之重瓣孤挺花文章後開始進行重瓣孤挺花之育種。重瓣孤挺花最早在日本商業市場流通是在 1990 年代，有超過 10 個重瓣或半重瓣品種孤挺花在市場流通，而後陸續開發許多新品種，其中‘Blossom Peacock’特別受到英國市場歡迎。為與歐美重瓣品種區隔，Isamu Miyake 將育種目標轉向選育出中型與小花型之重瓣孤挺花品種，其他選拔性狀包括春季開花、易栽培、從播種到開花僅三年等(Read, 2004)。

## (四) 南非

在 1980 年代末期大約有 12 個單色或雙色重瓣孤挺花品種已在南非商業市場流通，包括‘Fanfare’、‘Ragtime’、‘Rozetta’、‘Alfresco’、‘Snow White’、‘Joker’、



‘Razzmatazz’、‘Rio’、‘Fluffy Ruffles’、‘My Favourite’等。主要發展重瓣孤挺花公司為 Hadeco 公司，其選育目標為易栽培，種植到開花為 6-7 週，單花序有 3-8 朵小花，花朵直徑在 11-22cm，花莖長為 25-50cm(Read, 2004)。

#### (五) 澳大利亞

澳大利亞之重瓣孤挺花育種歷史可追溯至 2002 年，由 Maguire 農場所引進南非、日本與荷蘭的重瓣孤挺花品種開始，Maguire 利用這些重瓣品種與單瓣品種雜交，創造出 10 株不同程度的粉紅色和紅色的重瓣孤挺花單株，而從中選拔出淡粉紅色的‘Boysenberry Swirl’ (Read, 2004)。

#### 七、孤挺花三倍體育種

孤挺花約有 50-85 種原生種(Read, 2004)，種之間差異大。前人指出孤挺花屬基本染色體數為 11，染色體數為  $2n = 22$ ，而核型觀察顯示由 4 條短臂染色體及 7 條長臂染色體構成基本染色體(Arroyo, 1982; Brandham and Bhandol, 1997; Naranjo and Poggio, 1988; Poggio et al., 2007)。現今商業用孤挺花育種，已經朝向大花、花對稱、花筒短及花莖多之特性，以四倍體為主與最初運用之原生種差異愈來愈大。

大多數四倍體孤挺花品種易自花授粉或雜交授粉，多數種子具活力、可發芽，相較之下，二倍體孤挺花品種大多具有自交不親和特性(Bell, 1973, 1977)。Bell (1977)指出以二倍體孤挺花為種子親與四倍體品種為花粉親雜交，通常不會產生種子，但以四倍體為種子親與二倍體為花粉親進行雜交，則可產生少量具稔性之種子。利用胚挽救技術，在胚未夭折(abortion)前，取出胚置於適當培養基上，使胚能繼續發育成植株，以此方法可獲得少許之三倍體後代(Meerow, 2000)。

二倍體原生種自交種子無菌播種後 3-4 天，將 0.05%秋水仙素加入培養基中，可由實生苗中選擇存活之植株篩選四倍體植株(Williams, 1980)，但此四倍體通常會不穩定，有時會轉回二倍體；利用輻射照射孤挺花種子或組培苗可成功獲得四倍體或外表性狀產生突變之孤挺花(Kaicker and Singh 1979)。

三倍體與四倍體之孤挺花可雜交成功，可能是第三套染色體在配子形成過程



中，產生某些程度之逢機排列，產生後裔。若某性狀在三倍體之染色體上，將可利用漸滲作用(introgression)將此性狀導入四倍體內，達到育種目標(Meerow, 2000)。

孤挺花之三倍體後裔通常是由二倍體與四倍體雜交而來，三倍體不論自交或與其他親本雜交都顯示不稔性。少部分三倍體可與二倍體之種或雜交種雜交成功(雖然胚挽救技術能取代種子發育過程中之夭折現象)。利用三倍體與四倍體雜交有許多成功例子之報導，可能是由於配子形成時某些程度三套染色體的逢機配對。三倍體可能會造成所欲特性，產生漸滲雜交(introgression)，進入建立四倍體栽培種，不會快速稀釋這些特性。此策略成功將視所欲特性是否仍存在於染色體內。

#### 八、孤挺花香氣育種

植物為了吸引昆蟲、鳥類及哺乳動物幫助授粉以利繁衍後代，發展出多變形狀、顏色及香味(Hsiao et al., 2008)。Knudsen 等(2006)指出蘭科、木蘭科、薔薇科、棕櫚科等具濃郁香氣。分析 *Stanhopea lietzeii* Frost ex Hooker、*S. insignis* Frost ex Hooker、*Polystachya estrellensis* Hook、*Psilochilus modestus* Baarb. Rodr.、*Epidendrum secundum* L. 與 *Epidendrum paniculatum* L.等六種蘭花之揮發性化合物，大多為單萜烯( $\beta$ -myrcene、trans- $\beta$ -ocimene、linalool 及 geranial)及倍半萜烯( $\alpha$ -copaene 與  $\delta$ -cadinene)，大約佔總量之 95%，其中單萜類化合物更佔總量之 85% (Reis et al., 2004)。張等(2010)分析蕙蘭‘台北小姐’之香氣，共有 74 種揮發性化合物。Zhang 等(2011)分析文心蘭‘Sharry Baby’不同花期及不同花朵部位之香氣，結果顯示主要成分是 3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene、(Z)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol、3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol 及(E)-2-butenoicacid-2-(methylene-cyclopropyl)prop-2-yl ester。大葉蝴蝶蘭(*Phalaenopsis bellina* Rchb. f.)之香氣主要由單萜類、萜類及苯丙素萜類(phenylpropanoid)組成，又以 linalool、geraniol 及其衍生物為主(蕭，2008)。

孤挺花原生種中 *H. brasilianum* Traub & Nelson、*H. elegans* Sprengel、*H. fragrantissimum* Cardenas 和 *H. vittatum* Herbert 具香氣，目前尚未有孤挺花香氣之

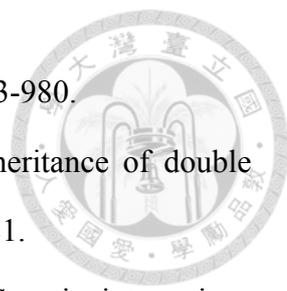


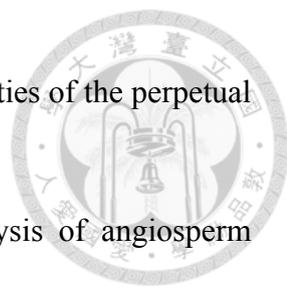
遺傳分析。通常雙親皆有香氣則後裔亦具香氣。以具有香氣之二倍體與不具香氣之二倍體雜交所產生 F1 族群通常香氣性狀會分離。取不具香氣之二倍體與具香氣的四倍體雜交，後裔大多具香氣，可能是因其 F1 的染色體組當中具有二套香氣基因之故(Meerow, 2000)。現在商業栽培的品種大多是缺少香氣，所以雜交後裔皆無香氣，除非與具有香氣之父母本進行回交，或更進一步與栽培種或原生種進行複雜之雜交工作，才有可能產生具香氣的雜交後裔。香氣似乎與白色或淡色花有連鎖遺傳(Meerow, 2000)。

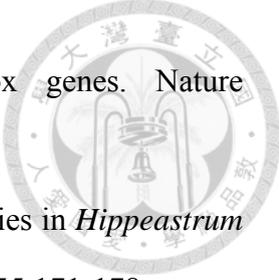
## 參考文獻(References)



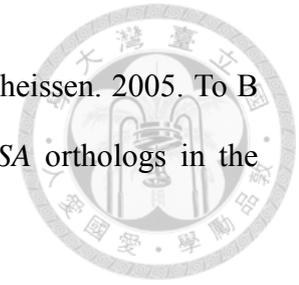
- 李金龍. 1987. 園藝作物花粉活力測定與貯藏之研究. 科學農業 5:347-356.
- 阮明淑. 2000. 金花石蒜及相關種遺傳歧異性分析及核型重塑之研究. 國立臺灣大學園藝系博士論文.
- 林功濤、李鳳宜. 2000. 北京小菊品種選育及遺傳規律探討. 中國花卉科技 20 年. 科學出版社. 北京. 中國.
- 徐炳聲、林中箴、俞志洲、黃少甫. 1986. 從花粉的生活力和雜交後的結實評價石蒜屬內的種間關係. 遺傳學報 13:369-376.
- 張元聰、王裕權. 2006. 單重瓣蓮所遺傳在紫羅蘭育種上之應用. 植物種苗 8:1-15.
- 張瑩、李辛雷、田敏、陳勝. 2010. 大花蕙蘭鮮花香氣成分的研究. 武漢植物學研究 28:381-384.
- 程金水、劉青林. 2000. 園林植物遺傳育種學. 中國林業出版社. 北京. 中國.
- 趙印泉、劉青林. 2009. 重瓣花的形成機理及遺傳特性研究進展. 西北植物學報 4:832-841.
- 蕭郁芸. 2008. 大葉蝴蝶蘭(*Phalaenopsis bellina*)香味生合成及其相關基因之研究. 成功大學生命科學系博士論文
- Almouslem, A.B. and R.A.E. Tilney-Bassett. 1989. The inheritance of flower doubleness and nectar spur in *Pelargonium ×hortorum* Bailey. Euphytica 41:23-29.
- Angenent, G.C. and L. Colombo. 1996. Molecular control of ovule development. Trends Plant Sci. 1:228-232.
- Arroyo, S. 1982. The chromosome of *Hippeastrum*, *Amaryllis* and *Phycella* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 37:211-216.
- Bell, W.D. 1973. New potentials in amaryllis breeding. Proc. Fla. State Hort. Soc. 86:462-466.
- Bell, W.D. 1977. Double flowered amaryllis. Proc. Fla. State Hort. Soc. 90:121-122.
- Brandham, P.E. and P.S. Bhandol. 1997. Chromosomal relationships between the genera

- 
- Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 52:973-980.
- Chen, C.M., T.Y. Wei, and D.M. Yeh. 2012. Morphology and inheritance of double floweredness in *Catharanthus roseus*. HortScience 47:1679-1681.
- Coen, E.S., and E.M. Meyerowitz. 1991. The war of whorls: Genetic interactions controlling flower development. Nature 353:31-37.
- Craig, R. 1963. The inheritance of several characters in the geranium, *Pelargonium hortorum* Baily. Penn. State Univ., State College, Penn., U.S.A., PhD. Diss.
- Crane, M.B. and J.C. Lawrence. 1947. The genetics of garden plants. MacMillan, London, U.K.
- Ditta, G., A. Pinyopich, P. Robles, S. Pelaz, and M.F. Yanofsky. 2004. The *SEP4* gene of *Arabidopsis thaliana* functions in floral organ and meristem identity. Curr. Biol. 14:1935-1940.
- Eyster, W.H. and D. Burpee. 1936. Inheritance of doubleness in the flowers of the nasturtium. J. Hered. 27:51-60.
- Heursel, J. and F. Garretsen. 1989. Inheritance of corolla size, number of stamens and plants with petaloid stamens in evergreen azaleas (*Rhododendron obtusa*). Plant Breeding 103:304-309.
- Honda, K., H. Watanabe, and K. Tsutsui. 2002. Cryopreservation of *Delphinium* pollen at -30°C. Euphytica 126:315-320.
- Horn, W. 2002. Breeding methods and breeding research, p. 47-83. In: A. Vainstein (ed.). Breeding for ornamental: Classical and molecular approaches. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Hsiao, Y.Y., M.F. Jeng, W.C. Tsai, Y.C. Chuang, C.Y. Li, T.S. Wu, C.S. Kuoh, W.H. Chen, and H.H. Chen. 2008. A novel homodimeric geranyl diphosphate synthase from the orchid *Phalaenopsis bellina* lacking a DD(X)2-4D motif. Plant J. 55:719-733.

- 
- Imai, Y. 1938. The genes for double flowers in the commercial varieties of the perpetual carnation. *Jpn. J. Genet.* 14:63-65.
- Irish, V.F., and E.M. Kramer. 1998. Genetic and molecular analysis of angiosperm flower development. *Adv. Bot. Res.* 28:197-230.
- Jack T. 2001. Relearning our ABCs: New twists on an old model. *Trends Plant Sci.* 6:310-316.
- Kaicker, U.S. and H.P. Singh. 1979. Role of mutation breeding in amaryllis. *Plant Life* 35:66-73.
- Knudsen, J.T., R. Eriksson, J. Gershenzon, and B. Ståhl. 2006. Diversity and distribution of floral scent. *Bot. Rev.* 72:1-120.
- Latapie, W.R. 1980. Suggested standards for judging double amaryllis. *Plant Life* 36:41.
- McCann, J. J. 1937. New double hybrid amaryllis. *Herbertia* 15:69.
- Meerow, A.W. 1988. New trends in amaryllis (*Hippeastrum*) breeding. *Proc. Flo. State Hort. Soc.* 101:285-288.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In : D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). *Breeding ornamental plants*. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Meerow, A.W. 2009. Tilting at windmills: 20 years of *Hippeastrum* breeding. *Israel J. Plant Sci.* 57:303-313.
- Naranjo, C.A. and L. Poggio. 1988. A comparison of karyotype, Ag-NOR bands and DNA contents in *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Kew Bull.* 42:317-325.
- Noack, R. 1962. Plasmatische Vererbung in der Gattung Begonia. *Z. Botanik* 50:52-59.
- Ockenga, S. 2002. *Amaryllis*. Clarkson Potter, New York, U.S.A.
- Okubo, H. 1992. *Hippeastrum*, p. 321-334. In: A. De Hertogh and M. Le Nards (eds.). *The physiology of flower bulbs*. Elsevier Science, The Netherlands.
- Pelaz, S., G.S. Ditta, E. Baumann, E. Wisman, and M.F. Yanofsky. 2000. B and C floral

- 
- organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature* 405:200-203.
- Poggio, L., G. González, and C.A. Naranjo. 2007. Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): Variation in genome size. *Bot. J. Linn. Soc.* 155:171-178.
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum* the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Rees, A.R. 1985. Ornamental bulbous plants, p. 59-267. In: A.H. Halevy (ed.). Handbook of flowering. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Reynolds, J. and J. Tampion 1983. Double flowers: A scientific study. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.
- Rousi, A. 1968. Cytoplasmic inheritance in *Aquilegia vulgaris*. *Hereditas* 60:223-232.
- Scovel, G., H. Ben-Meir, M. Ovadis, H. Itzhaki, and A. Vainstein. 1998. RAPD and RFLP markers tightly linked to the locus controlling carnation (*Dianthus caryophyllus*) flower type. *Theor. Appl. Genet.* 96:117-122.
- Theißen, G. 2001. Development of floral organ identity: Stories from the MADS house. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:75-85.
- Theißen, G. and H. Saedler. 2001. Floral quartets. *Nature* 409:469-471.
- Traub, H.P. 1934. The Nehrling hybrid amaryllis. *Yrbk. Amer. Amaryllis Soc.* 1:61.
- Traub, H.P. 1958. The amaryllis manual. MacMillan, New York, U.S.A.
- Williams, M. 1980. Self-sterility in *Hippeastrum* (Amaryllis) species. *Amaryllis Bull.* 1:20.
- Zainol, R. and D.P. Stimart. 2001. A monogenic recessive gene, *fw*, conditions flower doubling in *Nicotiana glauca*. *HortScience* 36:128-130.
- Zhang, Y., X.I. Li, Y. Wang, M. Tian, and M.H. Fan. 2011. Changes of aroma components in *Oncidium Sharry Baby* in different florescence and flower parts. *Scientia Agr. Sinica* 44:110-117.

Zahn, L.M., J. Leebens-Mack, C.W. DePamphilis, H. Ma, and G. Theissen. 2005. To B or not to B a flower: The role of *DEFICIENS* and *GLOBOSA* orthologs in the evolution of the angiosperms. *J. Hered.* 96:225-240.





### 第三章 孤挺花品種之花器觀察及倍體性分析

## Chapter 3. Floral Observation and Ploidy Analysis of Amaryllis Cultivars

附加關鍵字：染色體、花式圖、花輪、流式細胞儀、瓣化

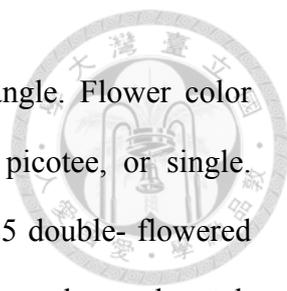
Additional index words: chromosome, floral diagram, floral whorl, flow cytometry, petalization

### 摘要

本研究蒐集孤挺花 41 個單瓣品種與 33 個重瓣品種，依孤挺花品種性狀調查表進行花朵性狀調查。結果顯示大部分品種之花主要是圓形、星形與三角形。花色類型則有星狀線條、火焰花紋、脈紋、線條斑紋、石竹花紋與單色等。另取單瓣孤挺花‘Spring Time’及 35 個重瓣品種觀察花器官，單瓣品種由外而內依序分別為萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊，共四輪。而重瓣品種可分為二大類，類型 I 為四輪花器官，依雌、雄蕊瓣化程度可再分為三群。類型 II 為花器官輪數增加，各增加一輪雄、雌蕊，增加之雄或雌蕊瓣化、部分瓣化或無瓣化，可細分為五群。取孤挺花商業品種 Montevedio、Papillio Butterfly、Gervase、Fortune、Blossom Peacock 及 Estella 進行根尖染色體壓片觀察。結果顯示 Montevedio、Papillio Butterfly 及 Estella 等品種染色體為 22 條，係二倍體，而 Gervase、Fortune 及 Blossom Peacock 等為 44 條，係四倍體。測量 19 個商業孤挺花品種之染色體含量，其中六個品種之染色體含量在 38.72 - 49.47 pg，係二倍體，而 13 個品種之染色體含量在 71.35 - 94.04 pg，係四倍體。

### Abstract

Flower traits of 41 single-flowered and 34 double-flowered amaryllis cultivars were evaluated with the test guideline of amaryllis. Results show that scape length and flower diameter were 22.5-66.2 and 9.7-21.6 cm, respectively, for the 75 tested cultivars.



Shape shape of front view are majorly round, star-shaped, or triangle. Flower color patterns were star like striped, flamed, veined, striped-speckled, picotee, or single. Floral diagrams were made on single-flowered ‘Spring Time’ and 35 double-flowered cultivars. Single-flowered amaryllis flower consists of four whorls, namely sepal, petal, stamen, and carpel from outer towards inner. The double-flowered amaryllis cultivars could be classified into two major types. Flowers of type I double-flowered cultivars consist of four organ whorls. Further three sub-types could be divided based on degree of petalization. Flowers of type II cultivars had additional whorls of stamen and carpel, and five sub-types could be divided based on degree of tepalization. Somatic chromosome numbers of amaryllis cultivars were measured and ‘Montevedio’, ‘Papillio Butterfly’, and ‘Estella’ had 22 chromosomes and were considered diploid, while ‘Gervase’, ‘Fortune’, and ‘Blossom Peacock’ had 44 chromosomes and were considered tetraploid. DNA content of 19 amaryllis cultivars were tested with flow cytometry. DNA content of six cultivars ranged from 38.72 to 49.47 pg, and were considered diploid, other 13 cultivars had 71.35 - 94.04 pg DNA content, and were considered tetraploid.

## 前言(Introduction)

孤挺花屬(*Hippeastrum*)是石蒜科內最多樣性之屬，孤挺花屬之種約有 50-85 種，原種之來源分佈廣，主要原種之來源為巴西、玻利維亞、智利、秘魯與阿根廷，另有些稀有種來自西印度群島與墨西哥(Read, 2004)。由於孤挺花種原豐富，因此孕育出許多不同花形及花色之孤挺花商業品種。孤挺花早期育種，主要是集中在 *H. aulicum* Herbert, *H. psittacinum* Herbert, *H. puniceum* Lamarck, *H. reginae* Herbert, *H. reticulatum* Herbert, *H. striatum* Lamarck and *H. vittatum* Herbert 等原生種，經雜交育種所選育而來(Bell, 1973; Traub, 1934, 1958)。其中 *H. aulicum* Herbert 花朵花色為鮮紅色，具紫色網紋(Read, 2004)，花瓣倒卵形且鬆散，上兩片花瓣較大(Okubo, 1993)，花形較不常見；*H. psittacinum* Herbert 花朵花色為紅色，具條斑，圓形花(Read,



2004); *H. puniceum* Lamarck 花朵花色為桔紅色或粉紅色，花朵具輕微下垂性(Bryan and Griffiths, 1995); *H. reginae* Herbert 花朵花色為亮紅色，花朵具輕微下垂性，花形偏星形; *H. reticulatum* Herbert 花朵花色為淡紫紅色具紫紅色網紋，花朵具輕微下垂性，花形為喇叭形; *H. striatum* Lamarck 花朵具多種顏色，仍以紅色為主; *H. vittatum* Herbert 花朵花色為白色具紅色條紋，花形為喇叭形(Read, 2004)。經長期雜交育種，因此創造出現今孤挺花育種最重要之二群即是 *Reginae* 和 *Leopoldii* 之雜交群，具有花大、開張性佳及花對稱之特性(Meerow, 2000)，也因此創造出不同花形及花色類型之孤挺花品種。由於現今孤挺花品種繁多，主要育種國家如荷蘭、美國、日本與南非(Read, 2004)等國，所選育出不同品種，也各具不同特色。因此欲選育適合臺灣之孤挺花品種，則必須瞭解孤挺花品種之花莖與花朵器官主要性狀，才能選育符合臺灣需求的孤挺花品種。

重瓣花一般是以單瓣花為基礎演化而來，重瓣花引起人們的興趣是因為比單瓣品種具更多的花瓣，通常花朵較大，顏色較深或較亮麗，也可能具較濃郁之香氣(Reynolds and Tampion, 1983)，故其觀賞價值通常高於單瓣品種。而花卉育種者對重瓣花有興趣的不僅是它們具有美學的吸引力外，也因它們有時具有不稔性，更具育種挑戰性。

重瓣花之形成原因可分為花瓣化、器官重複、花瓣裂開、管狀花的發育及花中花(黃, 1996)。重瓣花的表現為花瓣、花輪數增加，或花瓣面積增加等，重瓣花育種是觀賞植物重要育種目標之一(趙和劉, 2009)。重瓣孤挺花首先是在 1866 年由 M. Albert Wagner 於古巴哈瓦那之野外發現，為 *Hippeastrum equestre* f. *albertii*。重要重瓣花育種首先由 McCann 報導出，最早有登記資料之重瓣花在 1930 年，但是較常用之重瓣花開始於 1990 年。重瓣花之花瓣來源可能是雄蕊和雌蕊等花器官轉變而來(McCann, 1937)。

在 1979 年美國孤挺花栽培與育種者 W. R. Latapie 以孤挺花被瓣數為基礎，將孤挺花每朵花之花被瓣數少於 9 為單瓣花(single)、花被瓣數 9-11 為半重瓣花(semidouble)、花被瓣數 12-17 為重瓣花(double)及花被瓣數 17 以上為超重瓣花



(superdouble) (Read, 2004)。另有利用 6 片之花被瓣為一層之單位分類，單瓣品種僅為一層，大多數重瓣品種之花被瓣有 12-17 片，可分為 2 層或更多層，孤挺花‘Jewel’與‘Razzmatazz’在外層完整內層是由許多發育不完整之片狀構造集中在中間部位，形成似花冠構造，因此稱為半重瓣，孤挺花‘Alfredo’則有 3 層構造，只是內層之花被瓣較小而已，稱為重瓣(Read, 2004)。因此若欲選育孤挺花重瓣品種，除了蒐集重瓣品種進行花器官觀察外，擬觀察重瓣品種之花瓣器官起源及瓣數並予以分析、歸類，作為選育重瓣孤挺花重要參考依據。

孤挺花屬染色體基數為  $x = 11$ ，原生種之染色體數為  $2n = 22$ ，但也有觀察到有三倍體、四倍體、五倍體原生種(Arroyo, 1982; Naranjo and Poggio, 1988; Poggio et al., 2014)。核型觀察顯示這 11 條染色體，分別為四條短臂染色體及七條長臂染色體(Arroyo, 1982; Brandham and Bhandol, 1997; Naranjo and Poggio, 1988; Poggio et al., 2007)。Brandham 和 Bhandol (1997)分析孤挺花屬之染色體愈短者，愈接近原始種，染色體較長者則較接近現代品種，推論在孤挺花屬內種(species)之演化過程中，染色體逐漸加長、形成長臂染色體。原生種孤挺花多為二倍體、有自交不親和性，但現今主流的商業品種多為四倍體雜交種、不具自交不親和性特性，這可能是 19-20 世紀期間孤挺花育種者為了提高育種效率所挑選出的親本特性，並經由持續的人為選拔而失去或不存在自交不親合性，在選拔大花及大植株的過程中則逐漸形成四倍體為主的品種群。為了導入原生種特殊性狀如香氣與抗病性等性狀，常藉由原生種與商業品種雜交，因此現代孤挺花育種常遭遇三倍體不具稔性而無法繼續育種之問題；由於原生種多半為二倍體，而性狀優良的現代商業品種多為四倍體，兩者間的三倍體雜交後裔不論自交或與其他孤挺花雜交都無法產生種子。藉由染色體之觀察與倍數體分析，可針對所蒐集之孤挺花育種之材料作為基本瞭解，以促進選育孤挺花新品種之效率。

本研究調查所收集孤挺花品種之花朵主要性狀，作為育種材料之基本瞭解。另外由於不同孤挺花育種者對於重瓣之定義有不同之見解，因此在重瓣育種之定義上，會有混淆解釋不清之疑義，因此解剖分析目前商業重瓣品種花朵之構造，

並進行分類。另針對商業品種進行染色體觀察、倍體數分析與 DNA 含量測量，作為後續孤挺花雜交育種之重要參考。



## 材料與方法(Materials and Methods)

### 試驗一、孤挺花品種之花朵性狀調查

取孤挺花單瓣品種 Sunny、Orange Sovereign、Lucky Strike、Susan、Telstar、Yellow Goddess、Kalahari、Design、Amoretta、Trendsetter、Hermitage、Royal Velvet、Basuto、Blushing Bride、Double Six、Spring Time、Pardina Cross、Pink Wonder、Salmon Wonder、White Striped、Fairytale、Matterhorn、Wonderland、San Remo、Tosto、Minerva、Comtesse、Athene、Hurricane、La Paz、Grandeur、Santos、Estella、Faro、Limone、Pink Impression、Calgary、Vivaldi、Happiness、Exposure、Salmon Pearl 等 41 品種；重瓣品種包括 Unique、Ragtime、Rozetta、Harlequin、Rio、Double Record、Macarena、Lady Jane、Madrid、Nymph、Double Roma、Smoked Salmon、Alfresco、Double Dragon、Red Peacock、Philadelphia、Exotic Peacock、Aphrodite、Cherry Nymph、Joker、White Peacock、Alure、Elvas、Promise、Mary Lou、Pasadena、Snow White、Dancing Queen、Red Charm、Jewel、Blossom Peacock、Salmon Peacock 及農委會種苗改良繁殖場所選育之種苗一號-粉珍珠(T.S.S. No-1-Pink Pearl)、種苗二號-紅豔(T.S.S. No-2-Red Splendor)等共計 33 品種。每個品種收集 5 - 10 球，球周徑約 25-30 cm。以盆植方式栽植，盆器大小為直徑 30 cm 塑膠盆，每盆定植 1 球，栽培介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)= 4：1 (v/v)，栽植期間每月施一次含 200 mg·L<sup>-1</sup> N 之 20N-8.6P-16.6K (Peters 20-20-20, Scotts Co., Marysville, Ohio, U.S.A.)可溶性速效完全肥料。視介質乾燥程度調整澆水頻率及給水量，定期實施病蟲害防治。栽培環境之平均溫度為 22±3 °C (表 3.1)，平均中午光強度為 1300 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (photosynthetic photon flux, PPF)，當植株開花時，量測花朵性狀，調查方法依照行政院農委會植物品種權公告查詢系統公告之孤挺花品種性狀調查表，調查花莖



長、花被最大寬度、花正面型態、花瓣內面主色、花色類型等，每品種連續兩年進行觀察與調查至少 5 株。

### 試驗二、重瓣孤挺花品種之花器排列分類

除單瓣‘Spring Time’外，另收集孤挺花重瓣品種包括 Unique、Ragtime、Rozetta、Harlequin、Rio、Double Record、Temptation、Macarena、Lady Jane、Madrid、Nymph、Double Roma、Smoked Salmon、Alfresco、Double Dragon、Red Peacock、Philadelphia、Exotic Peacock、Aphrodite、Cherry Nymph、Joker、White Peacock、Alure、Elvas、Promise、Mary Lou、Pasadena、Snow White、Dancing Queen、Red Charm、Jewel、Flaming Peacock、Blossom Peacock 及農委會種苗改良繁殖場所選育之種苗一號-粉珍珠(T.S.S. No-1-Pink Pearl)、種苗二號-紅豔(T.S.S. No-2-Red Splendor)，共 35 品種。每個品種收集 5–10 球，球周徑 25-30 cm。以盆植方式栽植，盆器大小為直徑 30 cm 塑膠盆，每盆定植 1 球，栽培介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣) = 4：1 (v/v)，栽植期間每月施一次含  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ N}$  之 20N-8.6P-16.6K (Peters 20-20-20, Scotts Co., Marysville, Ohio, USA) 可溶性速效完全肥料。視介質乾燥程度調整澆水頻率及給水量，定期實施病蟲害防治。栽培環境之平均溫度為  $22 \pm 3^\circ\text{C}$  (表 3.1)，平均中午光強度為  $1300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (photosynthetic photon flux, *PPF*)，當植株開花時，將各品種之單朵花切下，每品種至少觀察與調查 3 朵花，利用解剖刀將花器官按照順序由外而內切下，並依據黃(1993)之花式圖，進行分類。

### 試驗三、孤挺花品種染色體之觀察與測定

選取孤挺花單瓣品種 Montevedio、Estella、Gervase、Design、Papillo Butterfly、Fortune 及重瓣品種 Blossom Peacock、Razzmatazz 等，參考 Chung 和 Wu (1987) 之方法觀察染色體，於 0900-1100 HR 取孤挺花不同品種之幼嫩根尖，將取下的根尖置於蒸餾水中以  $4^\circ\text{C}$  低溫處理 24 h，再移至 Farmer’s 溶液(95%酒精：冰醋酸 = 3：



1) 中固定 24 h 終止細胞活動。將根尖取出置於 1 N HCL 中，以 60°C 水浴 6~7 分鐘以軟化樣本，取出用蒸餾水沖洗 2~3 次，再以 1% 的醋酸洋紅染色 1 h (將 90 mL 醋酸加入 110 mL 蒸餾水煮沸，立即加入 2 g 洋紅(Carmine, Sigma)，使之迅速冷卻過濾，成為 1% 的醋酸洋紅，並於室溫保存)。將染色的根尖置於玻片上，以針頭挑除根冠後，再滴 1 滴醋酸洋紅於根尖，以平底玻璃棒搗碎根尖，蓋上蓋玻片，於酒精燈上過火至燙手為止，玻片反面置於白紙上，於平整桌面上以手掌用力壓片，置於光學顯微鏡(Eclipse E400, Nikon, Tokyo, Japan)下觀察並拍照。

#### 試驗四、流式細胞儀測定孤挺花之倍體性與染色體 DNA 含量

參考 Dpoožel 等人(1989)之方法，取從美國 Telo Rare Bulbs 公司購買之原生種 *Hippeastrum aulicum* Herbert 與分別自荷蘭、日本與南非進口之‘Montevedio’、‘Amputo’、‘Estella’、‘Giraffe’、‘Rosario’、‘Evergreen’、‘Fortune’、‘Ludwig’s Dazzler’、‘Acapulco’、‘Sunny’、‘Susan’、‘EOS’、‘Santa Cruz’、‘Minerva’、‘Faro’、‘Showmaster’ 等單瓣品種及‘Salmon Peacock’、‘Blossom Peacock’、‘Razzmatazz’等重瓣孤挺花商業品種，將孤挺花植株之第三片成熟葉中段部位，避開主葉脈，切取約 0.5 cm<sup>2</sup> 的葉片組織，以刮鬚刀片快速將葉片組織剝碎後，加入 400 μL 的萃取緩衝液(CyStain extraction buffer)靜置約 1 分鐘，再以 50 μL 孔徑的細胞濾網過濾，並添加 1.6 mL 的染色緩衝液(Cystain UV Precise P, Sysmex, Kobe, Japan)靜置染色 2 分鐘。以流式細胞儀(CyFlow Cube3, Partec, Sysmex, Kobe, Japan)分析收集 365 nm 之螢光，每樣品共分析 1000 個細胞，每品種取樣 3 次。DNA 含量為測試原生種 *H. aulicum* Herbert 與商業品種之流式細胞儀結果，以原生種 *H. aulicum* Herbert 之 2C = 33.12 pg 為標準做比對(Poggio et al., 2007)，並以 CyFlow Cube 軟體編輯分析，計算各樣品之 DNA 含量。

#### 統計分析

試驗皆採完全逢機試驗設計(Completely randomized design, CRD)。數據資料以



CoStat 6.4 (CoHort Software, Monterey, CA, U.S.A.)統計軟體進行最小顯著差異性分析(least significant difference, LSD)比較處理間差異，顯著水準為  $P < 0.05$ 。

## 結果(Results)

### 試驗一、孤挺花品種之花朵性狀調查

觀察 41 個單瓣品種(圖 3.1、3.2)及 33 個重瓣品種(圖 3.3、3.4)之花朵性狀。依照行政院農委會植物品種權公告查詢系統公告之孤挺花品種性狀調查表，在栽培平均溫度為  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ，平均中午光強度為  $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  之環境下進行調查。結果顯示單瓣品種之花莖長介於 22.5-55.1 cm，以 Matterhorn 花莖最長，達 55.1 cm，Trendsetter 之花莖最短僅 22.5 cm；花被瓣最大寬度介於 9.7-20.1 cm，以 Basuto、Tosto 最寬，達 20.1 cm，Santos 最窄僅 9.7 cm；大部分品種之花正面形狀是圓形、星形與三角形，只有 La Paz 為石蒜花形與 Estella 為喇叭形；花朵顏色以紅色、紅紫色、桔紅色、粉紅色與白色為主；花色類型則有星狀線條、火焰花紋、脈紋、線條斑紋與單色等(表 3.2)。

重瓣品種之花莖長介於 22.9-66.2 cm，以種苗一號-粉珍珠 (T.S.S. No-1-Pink Pearl)花莖最長，達 66.2 cm，Double Dragon 之花莖最短僅 22.9 cm；花被瓣最大寬度介於 12.1-21.6 cm，以 Double Roma 最寬，達 21.6 cm，Unique 最窄僅 12.1 cm；大部分品種之花正面形狀是圓形、星形與三角形，只有 Jewel 為喇叭形；花色類型則有星狀線條、火焰花紋、脈紋、線條斑紋、石竹花紋與單色等(表 3.3)。

### 試驗二、重瓣孤挺花品種之花器排列分類

解剖觀察單瓣孤挺花‘Spring Time’花器官排列分為四輪，分別為萼片(sepal)、花瓣(petal)、雄蕊(stamen)和雌蕊(pistil)，將此觀察結果繪成花式圖(圖 3.5)。將 35 個重瓣孤挺花品種，經由外觀及解剖觀察，可歸納為以下兩大類：

類型 I 為花朵器官排列為四輪，基本輪數與單瓣品種相同，僅雌、雄蕊瓣化程度有差異(表 3.4)。依雌、雄蕊瓣化之程度不同，可區分為 I-1、I-2 及 I-3 三群，其

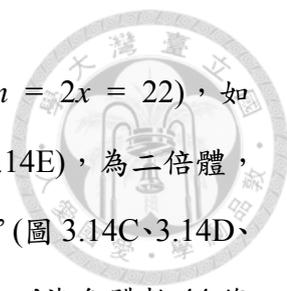


中‘Macarena’僅雄蕊有不同程度之瓣化，雌蕊 1 畸形，花被瓣(tepals)數為 7-9 片，歸類為類型 I-1 (圖 3.6)；雌、雄蕊雖瓣化，但雄蕊瓣化不完全，可觀察到 3-5 枚雄蕊，雌蕊 1 畸形，花被瓣數為 10-12 片，如‘Double Record’、‘Temptation’、‘Rio’，為類型 I-2 (圖 3.7)；‘Harlequin’、‘Ragtime’、‘Rozetta’、‘Unique’等品種，其雌雄蕊皆瓣化，因此花被瓣數有 15 片，歸類為類型 I-3 (圖 3.8)。

類型 II 為花器官排列之輪數增加，有 6 輪；經觀察為原雌蕊內，各增加一輪雌蕊與雄蕊。又可因增加的雌、雄蕊輪中，瓣化有無或瓣化程度等不同，區分為 II-1、II-2、II-3、II-4 及 II-5 五群(表 3.4)。其中，第一輪雄蕊僅瓣化 1-3 枚，其餘有 1-3 枚瓣化不完全、可觀察到花絲之花瓣或未瓣化之雄蕊，第一輪雌蕊完全瓣化，第二輪雄蕊 3 枚及第二輪雌蕊 1 畸形，花被瓣數為 12 片，如‘Jewel’與‘Red Charm’，歸類為類型 II-1 (圖 3.9)。第一輪雄蕊瓣化 6 枚，第一輪雌蕊完全瓣化，第二輪雄蕊僅 3 枚，第二輪雌蕊 1 畸形，花被瓣數為 15 片，如‘Blossom Peacock’，歸類為類型 II-2 (圖 3.10)。第一輪雌、雄蕊完全瓣化，第二輪雄蕊僅瓣化 1-3 枚，所以可見雄蕊 1-3 枚，第二輪雌蕊 1 畸形，花被瓣數為 16-18 片，歸類為類型 II-3 (圖 3.11)，如‘Dancing Queen’、‘Pasadena’、‘Snow White’及‘種苗二號-紅豔’(‘T.S.S. No-2-Red Splendor’)等。第一輪雌、雄蕊完全瓣化，第二輪雄蕊僅瓣化 1-3 枚，第二輪雌蕊 1 畸形，歸類為類型 II-4 (圖 3.12)，如‘Alure’、‘Aphrodite’、‘Cherry Nymph’、‘Elvas’、‘Exotic Peacock’、‘Joker’、‘Mary Lou’、‘Promise’、‘種苗一號-粉珍珠’(‘T.S.S. No-1-Pink Pearl’)、‘White Peacock’等。第一輪雌、雄蕊完全瓣化，第二輪雄蕊完全瓣化，而第二輪雌蕊瓣化 3 枚或雌蕊 1 畸形，歸類為類型 II-5 (圖 3.13)，如‘Alfresco’、‘Double Dragon’、‘Double Roma’、‘Lady Jane’、‘Madrid’、‘Nymph’、‘Philadelphia’、‘Red Peacock’與‘Smoked Salmon’等。

### 試驗三、孤挺花品種染色體之觀察與測定

以醋酸洋紅法觀察單瓣孤挺花‘Montevedio’、‘Estella’、‘Gervase’、‘Design’、‘Papillo Buttergly’、‘Fortune’及重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’、‘Razzmatazz’之根尖



染色體數量。結果觀察單瓣品種之孤挺花染色體數為 22 條( $2n = 2x = 22$ )，如‘Montevedio’、‘Estella’、‘Papillo Butterfly’(圖 3.14A、3.14B、3.14E)，為二倍體，亦有染色體數 44 條( $2n = 4x = 44$ )，如‘Gervase’、‘Design’、‘Fortune’(圖 3.14C、3.14D、3.14F)，為四倍體，而重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’及‘Razzmatazz’染色體數 44 條( $2n = 4x = 44$ )，為四倍體(圖 3.14G、3.14H)。

#### 試驗四、流式細胞儀測定孤挺花倍體性與染色體 DNA 含量

為加速品種倍體數之判定，採用流式細胞儀測定與分析。結果顯示單瓣之‘Montevedio’、‘Amputo’、‘Estella’、‘Giraffe’、‘Rosario’、‘Evergreen’等 DNA 含量為  $2C = 38.72 - 53.33$  pg，為二倍體，而單瓣之‘Fortune’、‘Ludwig’s Dazzler’、‘Acapulco’、‘Sunny’、‘Susan’、‘EOS’、‘Santa Cruz’、‘Minerva’、‘Faro’及‘Showmaster’等 DNA 含量為  $2C = 71.35 - 94.04$  pg，為四倍體，而重瓣之‘Salmon Peacock’、‘Blossom Peacock’及‘Razzmatazz’其 DNA 含量為  $2C = 74.54 - 92.74$  pg，為四倍體(表 3.5；圖 3.15)。

## 討論(Discussion)

### 試驗一、孤挺花品種之花朵性狀調查

觀察 41 個孤挺花單瓣品種，結果顯示參試品種之花莖長度在 22.5-55.1 cm，花被瓣最大寬度介於 9.7-20.1 cm；重瓣品種之花莖長介於 22.9-66.2 cm，花被瓣最大寬度介於 12.1-21.6 cm。全世界孤挺花在商業利用性主要運用於切花與盆花，Read (2004)統計 2001-2002 年資料，孤挺花之主要生產國以荷蘭為最主，種球生產約 1 千萬球，用於盆花生產約生產 160 萬盆，切花生產 9 千萬支，巴西則約生產 4 百萬盆花，南非則超過 3 百萬盆花在聖誕節時販售，以色列則約生產 2 百萬盆花販售。我國目前孤挺花種球以進口為大宗，每年進口種球數量約 3 萬粒種球(財政部關稅總局)，主要以盆花方式生產販售，另外也於每年 3 至 5 月間生產切花販售(農產品交易行情網)。以目前收集之市面流通之商業品種中，花莖長短依品種不同，



並不適合完全進行盆花生產，荷蘭育種者認為盆花生產之花莖高度宜在 35-45 cm 之間，最高不超過 50 cm，最低不低於 30 cm；南非育種者則認為理想生產盆花之孤挺花花莖長度在 30 cm (Read, 2004)。以所收集單瓣品種而言花莖在 30-45 cm 如‘Orange Sovereign’等 22 品種，重瓣品種則是‘Unique’等 16 品種(表 3.2、3.3)。理想孤挺花切花花莖長度則在 70 cm，60 cm 長亦可接受(Read, 2004)，以所收集單瓣品種而言，若在花莖長上加上總苞長則達到 60-70 cm 之品種僅‘Yellow Goddess’、‘Design’、‘Amoretta’、‘Matterhorn’、‘Minerva’、‘Athene’與‘La Paz’等 7 品種(表 3.2)；重瓣品種則僅有‘Mary Lou’、‘Pasadena’與‘種苗一號-粉珍珠’等 3 品種(表 3.3)。各國對孤挺花朵大小之定義若有差異，以荷蘭而言，將孤挺花大小分為大花(花徑 >16 cm)、中花(花徑在 12-16 cm)與小花(<12 cm)三級；南非則分為 Symphony (花徑 >16 cm)、Sonata (花徑在 10-16 cm)、Sonatini (花徑在 6-10 cm)及 Solo (花徑 <6 cm)四級；日本則分為大花(花徑 >16 cm)、中花(花徑在 15 cm)、迷你花(10 -12 cm)及超迷你花(花徑在 6 cm)四級(Read, 2004)。若以孤挺花主要生產供應國荷蘭標準則所收集之單瓣 41 個品種中以大花品種為最多有 21 品種，其次是中花品種 15 個，小花品種僅 4 個品種；33 個重瓣品種中大花品種有 28 品種，中花品種有 5 品種。顯然國內所流通品種主要偏好盆花與大花品種為主。

孤挺花花色育種之遺傳研究較少，花青素(anthocyanin)如紅色顯然比以胡蘿蔔素(carotenoid)為基礎之顏色如黃色較具優勢。在深紅色或粉色品種與白色或淡綠色品種雜交，則在雜交後裔顏色表現上，則大多數或全部會呈現紅色系(Meerow, 2000)。本次所收集之單、重瓣孤挺花品種亦以紅色系佔大多數(表 3.2、3.3)。而在綠花孤挺花品種中，由於葉綠體存在花被瓣中，因此花色呈現出綠色，而白色花則在花被瓣中並不存在有葉綠體(Meerow, 2000)。原生種中 *Hippeastrum evansiae*、*H. parodii* 和 *H. algaiae* 為黃色花朵，在黃花選育中則集中利用此三原生種進行選育(Cothran, 1979, 1980)，現今商業品種如‘Yellow Pioneer’、‘Lemon Lime’與‘Germa’，即是以這些原生種開發(Meerow, 2000)。因此若欲選育出非紅色系之孤挺花品種，在親本選擇上宜選擇花色較淡色系或白色系之孤挺花親本，較易達到育種目標。



以荷蘭而言，孤挺花之主要育種目標為大花與重瓣性為主，日本則以中、小花型單、重瓣與易栽培為主(Read, 2004)，因此進行孤挺花育種，必須確認目標，並瞭解親本性狀。

## 試驗二、重瓣孤挺花品種之花器排列分類

溫度會影響花朵之瓣化程度，夏季高溫下，重瓣玫瑰花之花瓣減少，主要是玫瑰葉片乾重明顯降低，葉片累積的光合產物大量消耗在呼吸作用所致(Blom, 1980)。紫羅蘭在花發育期間給予短時間的低溫處理，使紫羅蘭花的中心長出花瓣和花萼，形成花中花形態的重瓣花(Reynolds and Tampon, 1983)。Deme (1978)指出 32°C 之溫度會影響某些孤挺花品種之重瓣性，會由重瓣轉變成單瓣，但是來年又會轉回重瓣；本試驗連續二年觀察與調查重瓣品種之花器排列、花朵輪數與花被瓣數等，觀察時期為每年之孤挺花自然花期 3-4 月間，此時期之平均溫度並不超過 30°C (表 3.1)，且是適合孤挺花生育之溫度，除了有些品種之花被瓣(tepal)數有略增或略減外，大多數品種之花朵輪數與花被瓣數皆相同。

典型被子植物的花主要是由四種類型的花器官以中央為中心排列成四輪，不具稔性的花萼與花瓣器官排列在外二輪，繁殖器官雄蕊與雌蕊則為內二輪(Coen and Meyerowitz, 1991)。孤挺花單瓣品種亦符合此特性。觀察重瓣孤挺花之花器官排列基本上是以中央為中心排列成四輪，除雌或雄蕊瓣化所產生重瓣化之外，另有一類型重瓣化是重複增加輪數，共有 6 輪(表 3.4)。

孤挺花重瓣類型 I 可分為 I-1、I-2 及 I-3 三群，其中 I-1、I-2 二群，為部分雄蕊花瓣化，與水仙花(*Narcissus* spp.)、玫瑰(*Rosa* L.)、山茶花(*Camellia japonica* L.)、球根海棠(*Begonia tuberhybrida* Voss)與四季秋海棠(*Begonia ×semperflorens-cultorum* Hort.)相類似，此類型在增生花瓣上殘存之部分花藥可產生花粉(Reynolds and Tampion, 1983)。孤挺花重瓣類型 I-1、I-2 即可歸類為雄蕊部分瓣化(petaloid of part stamens)，所產生之重瓣；重瓣類型 I-3 則是雄蕊與心皮完全瓣化(petaloid of complete stamens and carpels)，與紫羅蘭、晚香玉(*Polianthes tuberosa* L.)、牡丹



(*Paeonia ×suffruticosa* Andrews)、茶花、芍藥(*Paeonia lactiflora* Pall.)、滿天星(*Gypsophila paniculata* L.)等作物類似，此類型若雌、雄蕊器官瓣化完整，則不易取得花粉，故在重瓣品種選育上則無法以之為花粉親。

而重瓣孤挺花之類型 II 則是同時發生器官花瓣化與器官重複而產生，亦即除原來雌、雄蕊器官瓣化之外，又各增加一輪雌蕊與雄蕊，與金魚草、鳳仙花、香石竹、矮牽牛、仙客來等植物之重瓣類似。Reynolds 和 Tampion (1983)以形態與生理觀點將歸類重瓣花之類型一之離瓣植物(polypetalous plants)的重瓣花下的花瓣輪數增加(extra whorl)，花基本構造不變，增加額外輪數，使花瓣數呈倍數增加，造成重瓣現象。本研究中孤挺花重瓣類型 II 之 II-1 群，第一輪雄蕊部分瓣化，而第二輪增加之雌、雄蕊並無瓣化而有畸形情況產生，所以花被瓣數相對於此類型 II 之其他群而較少。重瓣類型 II 之 II-2 群，第一輪雄蕊完全瓣化，而第二輪增加之雌、雄蕊同樣並無瓣化而有畸形情況產生；重瓣類型 II 之 II-3、II-4 群，則在第二輪增加之雌、雄蕊部分瓣化；重瓣類型 II 之 II-5 群，除第一輪之雄、雌蕊完全瓣化外，第二輪之雄、雌蕊亦完全瓣化，所以此群之孤挺花品種之花被瓣數最多。

根據趙和劉(2009)之重瓣花起源論述，孤挺花重瓣類型 I，主要是由雌、雄蕊起源，類似植物有蓮(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)、蜀葵(*Alcea rosea* L.)、山茶，而類型 II 則是雌雄蕊起源與重複起源兩者混合，類似植物如曼陀羅、矮牽牛等。Meyerowitz 和 Coen (1991)提出花朵器官發育之 ABC 模式理論，大多數的花主要是由萼片、花瓣、雄蕊和心皮所組成。影響花朵分化之基因分成 A、B、C 三群，此三群基因會個別或共同表現來決定花朵分生組織發育，而後形成各個花器。B 群基因與 C 群基因共同調節雄蕊之發育，C 群基因調節雌蕊之發育。依此推測重瓣孤挺花的器官瓣化可能源自 C 群基因功能喪失(和)或 A 群基因表現位置擴張(或 C 群基因表現位置壓縮)等抑或是其他控制花器官發育之基因功能的異常，但目前仍缺乏相關的研究，推論重瓣孤挺花可能是在 B 群基因和 C 群基因產生變異，造成雌雄蕊無法形成，產生花瓣化現象。Theißen 和 Saedler (2001)與 Zahn 等人(2005)修正影響花器官發育之模式由 ABC-Model 演變成 ABCDE 模式理論，孤挺花重瓣



類型 I 與 II 和生殖器官之花瓣化與器官重複有關，因此推論可能與 B、C 群及 E 群基因共同調控雄蕊和 C、D 與 E 群基因調控雌蕊之基因功能異常有關。

### 試驗三、孤挺花品種染色體之觀察與測定

本研究進行染色體觀察之孤挺花‘Montevedio’、‘Estella’及‘Papillo Butterfly’屬於較接近原生種之品種，而‘Gervase’、‘Design’、‘Fortune’、‘Blossom Peacock’及‘Razzmatazz’則是較常見於商業生產之品種。前人分析孤挺花原生種之染色體數為  $2n = 22$ ，基本染色體為  $X = 11$ ，由四條短的中位中節(metacentric)染色體及七條長的近端中節(acrocentric)染色體組成(Arroyo, 1982；Brandham and Bhandol, 1997；Naranjo and Poggio, 1988；Poggio et al., 2007)。由於 19-20 世紀期間孤挺花育種者持續挑選大花、硬挺、大植株等性狀，配合多倍體育種及天然多倍體之存在，現今商業孤挺花品種多為四倍體。Brandham 和 Bhandol (1997)提出孤挺花染色體愈短者，愈接近原始種，染色體較長者則較接近現代種。本試驗觀察結果亦顯示常見商業生產之品種染色體較長，而接近原生種的三個品種其染色體較為短小(圖 3.14)。

Golubeva 和 Krotov (1975)觀察三個蕎麥屬(*Fagopyrum*)物種之染色體形態，*F. esculentum* 之染色體最大(3.78-6.97  $\mu\text{m}$ )，*F. tataricum* 之染色體最小(2.0-3.3  $\mu\text{m}$ )，而 *F. cymosum* 之染色體則介於 2 種之間為 2.6-4.4  $\mu\text{m}$ 。從演化遺傳觀點，由於染色體大小差異造成 *F. esculentum* 與 *F. tataricum* 無法順利雜交成功；但利用複二倍體(amphidiploid)方式雜交[*F. tataricum* (4x)  $\times$  *F. esculentum* (4x)]則可雜交成功(Krotov and Dranenko, 1973)，此論述與試驗觀察到二倍體‘Estella’、‘Montevedio’及‘Papillo Butterfly’(圖 3.14A、B、E)之染色體大小，較接近原生種且較四倍體品種短小。二倍體孤挺花之種或品種，常無法雜交育種成功且大多數具有自交不親和性特性(Bell, 1973, 1977)，將孤挺花之二倍體加倍後，則可除去不稔性障礙，變成複二倍體(amphidiploid)，複二倍體一般較原種或雜種二倍體具有更大活性(viability)和競爭力(competitive ability)，則雜交育種較易進行，也就是目前孤挺花商業品種傾向



花朵較大、開張性佳與易栽培、育種之四倍體(Meerow, 2000)。

多倍體化可能一定程度調節重瓣性狀之產生(Ning et al., 2009)，如金蓮花由三個基因座控制超重瓣、重瓣和單瓣表現(Eyster and Burpee, 1936)。本試驗觀察結果顯示單瓣品種可能為二倍體或四倍體，但重瓣品種則皆為四倍體(表 3.5；圖 3.14)。重瓣孤挺花(*H. equestre* f. *albertii*)是在 1866 年由 M. Albert Wagner 於古巴哈瓦那之野外發現。McCann 以此重瓣孤挺花與單瓣 Mead 雜交群進行雜交，選育出第一個重瓣孤挺花‘Helen Hull’，Mead 雜交群主要是以 *Reginae* 和 *Leopoldii* 雜交群為基礎所雜交育種選出。而根據 Poggio 等人(2014)所收集與觀察孤挺花原生種中，*H. reginae* 原生種即為四倍體，且原生種中亦有二、三、四、五及六倍體型產生，顯示孤挺花原生種倍體穩定性不高。而在育種過程中發生多倍體化及因選拔大花性狀而使現有重瓣品種多為四倍體。另一方面，重瓣性狀未出現在二倍體型植株，可能係品種收集尚不夠廣泛，或原生種中若出現重瓣性狀可能不利生育而在族群中不具優勢。若重瓣性狀屬於隱性遺傳，亦有可能二倍體僅能帶有該遺傳但無法順利顯現於族群中，必須藉由人為育種選拔之，如花煙草(Zainol and Stimart, 2001)、金蓮花(Eyster and Burpee, 1936)。因此孤挺花重瓣品種可能與多倍體具關聯性。

#### 試驗四、流式細胞儀測定孤挺花倍體性與染色體 DNA 含量

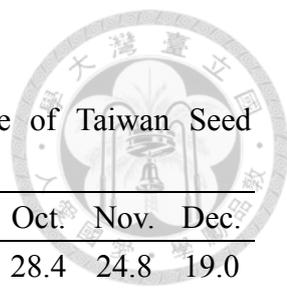
現今多利用流式細胞儀分析植物倍體性(Dolezel et al., 2007；Dpooležel et al., 1989)，具有省時、省工之優點。本試驗以原生種 *H. aulicum* 為基準(Naranjo and Poggio, 1988；Poggio et al., 2007)與商業品種進行比對測量染色體組之 DNA 含量，結果顯示測量品種之二倍體 DNA 含量在  $2C = 38.72 - 49.47$  pg，四倍體 DNA 含量在  $2C = 71.35 - 94.04$  pg，實際觀察根尖染色體品種(圖 3.14)與流式細胞儀所測定之 DNA 含量，顯示孤挺花二倍體及四倍體品種之流式細胞儀分析結果與染色體倍數性相符(表 3.5)。Poggio 等人(2014)測量 9 種孤挺花二倍體原生種之 DNA 含量在  $2C = 26.80 - 34.17$  pg，顯示孤挺花原生種之多樣性。Khaleel 等人(1991)觀察孤挺花 9 個商業品種之染色體，進行核型與基因組分析，雖同為四倍體，但染色體長



短則有差異性，且根據染色體形態又可分為三群，全部染色質(chromatin)長度範圍在 307.6-502  $\mu\text{m}$ ，顯示品種間來源之複雜性。現今孤挺花商業品種具多樣性，與育種者常利用原生種進行雜交育種有關，且原生種多、地理分佈廣(Read, 2004)及染色體組具變異性(Poggio et al., 2007)，因此造成現今商業品種不論外表性狀差異外，雖同為二倍體原種或品種與四倍體品種在染色體之形態、長度(Khaleel et al., 1991)及 DNA 含量，具差異性。本試驗建立數個商業品種之倍體數資料及流式細胞儀分析結果，未來可參考本試驗結果推知孤挺花品種及物種之倍體數，進而探討雜交組合是否容易成功或後代之倍體數，作為未來孤挺花雜交育種之參考。

表 3.1. 種苗改良繁殖場簡易網室內之月平均溫度

Table 3.1. Monthly average temperature (°C) in net greenhouse of Taiwan Seed Improvement and Propagation Station from 2011 to 2015.



Year	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
2011	15.6	18.1	18.4	23.6	26.8	29.8	29.5	29.5	28.8	28.4	24.8	19.0
2012	17.8	18.3	21.2	25.9	26.8	27.5	29.0	28.6	29.2	26.6	23.2	19.5
2013	17.4	20.5	21.0	22.9	26.6	28.9	27.8	28.4	27.0	24.0	21.7	16.5
2014	16.4	17.0	19.8	24.1	25.8	28.6	30.1	28.9	29.2	25.6	23.1	17.1
2015	17.1	18.1	20.7	24.4	26.9	29.7	29.2	28.0	27.8	26.2	24.3	19.6

表 3.2. 四十一個孤挺花單瓣品種花莖長、花徑、花正面型態、花瓣內面主要顏色及花色類型等性狀比較

Table 3.2. Comparisons of scape length, flower width, shape of front view, main color of tepal inner side, and flower color pattern in 41 single-flowered amaryllis cultivars.

Cultivar	Scape length (cm)	Flower width (cm)	Shape of front view	Main color of tepal inner side	Flower color pattern
Amoretta	53.3 a <sup>z</sup>	12.3 e	Star-shaped	Pink	Striped-speckled
Athene	53.0 a	16.9 b	Star-shaped	White	Single
Basuto	40.8 b	20.1 a	Triangular	Red	Single
Blushing Bride	43.0 b	17.1 b	Round	Pink	Single
Calgary	45.4 b	13.9 d	Round	White	Single
Comtesse	43.6 b	16.5 b	Round	Orange	Single
Design	52.0 a	16.2 b	Round	Orange-red	Flamed
Double Six	38.5 c	17.4 b	Star-shaped	Orange-red	Single
Estella	48.3 a	14.1 d	Trumpet	Red-purple	Striped-speckled
Exposure	36.8 c	15.7 c	Triangular	Red	Veined
Fairytale	48.3 a	11.8 f	Star-shaped	Orange-red	Star like striped
Faro	34.0 c	16.3 b	Triangular	Orange-red	Striped-speckled
Grandeur	48.0 a	15.7 c	Star-shaped	Orange-red	Single
Happiness	39.3 b	16.2 b	Triangular	Red	Striped-speckled
Hermitage	33.6 c	16.0 b	Round	Orange-red	Star like striped
Hurricane	48.0 a	18.0 a	Round	Pink	Veined
Kalahari	45.5 b	18.9 a	Star-shaped	Peach red	Single
La Paz	52.9 a	13.3 e	Cybister	Red	Single
Limone	39.0 c	14.5 d	Star-shaped	Orange-red	Striped-speckled
Lucky Strike	48.4 a	17.0 b	Round	Orange-red	Single
Matterhorn	55.1 a	19.0 a	Star-shaped	White	Single
Minerva	51.8 a	17.9 b	Triangular	Orange-red	Flamed
Orange Sovereign	40.3 b	15.8 c	Star-shaped	Orange-red	Single
Pardina Cross	47.5 a	10.8 f	Star-shaped	Orange-red	Star like striped
Pink Impression	38.9 c	14.8 c	Star-shaped	Red-purple	Star like striped
Pink Wonder	44.5 b	15.2 c	Star-shaped	Red	Star like striped
Royal Velvet	47.5 a	17.2 b	Round	Red	Single
Salmon Pearl	34.1 c	11.2 f	Star-shaped	Orange-red	Single
Salmon Wonder	40.6 b	17.1 b	Round	Orange-red	Flamed
Santos	33.5 c	9.7 g	Star-shaped	Red	Star like striped
San Remo	53.9 a	19.9 a	Round	Pink	Picotee
Spring Time	38.5 c	19.7 a	Star-shaped	Pink	Striped-speckled
Sunny	47.7 b	18.1 a	Round	Pink	Single
Susan	42.2 b	14.8 c	Round	Pink	Single
Telstar	38.2 c	17.7 b	Triangular	Pink	Single
Tosto	46.2 b	20.1 a	Star-shaped	Red	Single
Trendsetter	22.5 d	15.3 c	Round	Orange-red	Star like striped
Vivaldi	38.2 c	12.1 e	Round	Orange-red	Striped-speckled
White Striped	49.1 a	13.1 e	Star-shaped	Red	Flamed
Wonderland	35.6 c	17.9 b	Round	Pink	Flamed
Yellow Goddess	54.2 a	14.5 d	Star-shaped	Pale green	Single

<sup>z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P < 0.05$

表 3.3. 三十三個孤挺花重瓣品種花莖長、花徑、花正面型態、花瓣內面主要顏色及花色類型等性狀比較

Table 3.3. Comparisons of scape length, flower width, shape of front view, main color of tepal inner side, and flower color pattern in 33 double-flowered amaryllis cultivars.

Cultivar	Scape length (cm)	Flower width (cm)	Shape of front view	Main color of tepal inner side	Flower color pattern
Alfresco	48.2 c <sup>z</sup>	16.3 c	Star-shaped	Pale green	Single
Alure	49.5 b	18.9 b	Star-shaped	White	Picotee
Aphrodite	30.4 f	20.3 a	Star-shaped	Orange-red	Striped-speckled
Blossom Peacock	50.4 b	16.4 c	Star-shaped	Orange-red	Star like striped
Cherry Nymph	39.2 d	20.9 a	Star-shaped	Red	Single
Dancing Queen	44.4 c	21.2 a	Star-shaped	Orange-red	Star like striped
Double Dragon	22.9 f	15.8 d	Round	Red	Single
Double Record	39.1 e	18.5 d	Triangular	Red	Striped-speckled
Double Roma	35.0 e	21.6 a	Round	Red	Single
Elvas	33.9 e	20.2 a	Star-shaped	White	Picotee
Exotic Peacock	48.7 b	16.5 c	Round	Red	Striped-speckled
Harlequin	44.8 c	14.6 e	Round	Orange-red	Striped-speckled
Jewel	43.1 c	13.2 e	Trumpet	White	Single
Joker	34.8 e	16.0 c	Star-shaped	Orange-red	Single
Lady Jane	28.3 f	20.7 a	Star-shaped	Orange-red	Star like striped
Macarena	29.1 f	17.7 c	Triangular	White	Striped-speckled
Madrid	41.0 c	17.5 c	Round	Red	Striped-speckled
Mary Lou	56.9 b	19.1 b	Round	White	Single
Nymph	29.0 f	17.1 c	Round	White	Striped-speckled
Pasadena	52.0 b	14.9 c	Star-shaped	Orange-red	Flamed
Philadelphia	28.5 f	20.4 a	Star-shaped	White	Striped-speckled
Promise	33.0 e	18.7 b	Star-shaped	Orange-red	Flamed
Ragtime	32.9 c	21.2 a	Triangular	Orange-red	Single
Red Charm	47.9 c	17.2 d	Triangular	Red	Single
Red Peacock	34.0 e	17.2 c	Star-shaped	Orange-red	Single
Rio	28.4 f	20.6 a	Star-shaped	Orange-red	Picotee
Rozetta	29.4 f	20.0 a	Star-shaped	Pink	Star like striped
Salmon Peacock	27.9 e	19.4 b	Star-shaped	Orange	Single
Snow White	45.5 c	20.7 a	Triangular	White	Single
T.S.S No-1-Pink Pearl	66.2 a	16.9 c	Round	White	Picotee
T.S.S No-2-Red Splendor	37.9 e	18.0 b	Star-shaped	Red	Flamed
Unique	38.1 e	12.1 f	Star-shaped	Orange-red	Flamed
White Peacock	31.7 e	19.7 b	Star-shaped	White	Single

<sup>z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P < 0.05$



表 3.4. 依花器構造類型分類重瓣及單瓣孤挺花品種

Table 3.4. Classification of double- and single-flowered amaryllis cultivars based on floral organ arrangements.

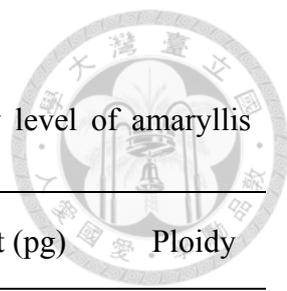
Class	Flower type	Number of organs at respective whorl						Tepal no.	Cultivar
		Se <sup>z</sup>	Pe	1 <sup>st</sup> Sta	1 <sup>st</sup> Ca	2 <sup>nd</sup> Sta	2 <sup>nd</sup> Ca		
0	Single	3	3	6	1	-	-	6	Spring Time
I-1	Semi-double	3	3	Part. 3~5 Fully 1~3	1	-	-	7~9	Macarena
I-2	Semi-double	3	3	Stam. 3~5 Fully 1~3	Fully 3	-	-	10~12	Double Record, Rio, Temptation
I-3	Double	3	3	Fully 6 <sup>y</sup>	Fully 3	-	-	15	Harlequin, Ragtime, Rozetta, Unique
II-1	Semi-double	3	3	Stam. 3 Fully 3	Fully 3	Stam. 3	1	12	Jewel, Red Charm
II-2	Double	3	3	Fully 6	Fully 3	Stam. 3	1	15	Blossom Peacock
II-3	Double	3	3	Fully 6	Fully 3	Stam. 3~5 Fully 1~3	1	16~18	Dancing Queen, Pasadena, Snow White, T.S.S. No.2-Red Splendor
II-4	Double	3	3	Fully 6	Fully 3	Fully 1~3	1	16~18	Alure, Aphrodite, Cherry Nymph, Elvas, Exotic Peacock, Joker, Mary Lou, Promise, T.S.S. No.1-Pink Pearl, White Peacock
II-5	Double	3	3	Fully 6	Fully 3	Fully 6	1 (or fully 3)	21~24	Alfresco, Double Dragon, Double Roma, Lady Jane, Madrid, Nymph, Philadelphia, Red Peacock, Smoked Salmon

<sup>z</sup> Se, Pe, 1<sup>st</sup>Sta, 1<sup>st</sup>Ca, 2<sup>nd</sup>Sta, 2<sup>nd</sup>Ca represent sepal, petal, first whorl stamen or staminoid tepal if stated, first whorl carpel or carpelloid tepal if stated, second whorl stamen or staminoid tepal if stated, and second whorl carpel or carpelloid tepal if stated, respectively.

<sup>y</sup> Fully, stam., and part. represent fully tepalized stamen or carpel, stamen, and partially tepalized where part of filament still presents, respectively. When numerals only, indicates number of the organ at respective whorl.— indicates no organ(s) present at respective whorl.

表 3.5. 參試孤挺花之染色體數及倍體數

Table 3.5. Chromosome number, chromosome content, and ploidy level of amaryllis species and cultivars tested.



Cultivar	Chromosome number	2C DNA content (pg)	Ploidy
<u>Single-flowered:</u>			
<i>Hippeastrum aulicum</i>	22	33.12±0.30 <sup>z</sup>	2x
Amputo	-	53.33±4.57	2x
Estella	22	46.70±0.50	2x
Evergreen	-	38.72±2.89	2x
Giraffe	-	49.47±1.34	2x
Montevedio	22	40.66±1.37	2x
Rosario	-	43.82±1.27	2x
Acapulco	-	91.84±0.51	4x
EOS	-	81.71±2.10	4x
Faro	-	73.69±1.36	4x
Fortune	44	90.96±2.62	4x
Ludwig's Dazzler	-	94.04±2.25	4x
Minerva	-	86.48±1.17	4x
Santa Cruz	-	79.34±3.66	4x
Showmaster	-	71.35±1.80	4x
Sunny	-	73.61±1.42	4x
Susan	-	80.28±2.65	4x
<u>Double-flowered:</u>			
Blossom Peacock	44	92.74±3.40	4x
Razzmatazz	44	74.54±0.95	4x
Salmon Peacock	-	78.98±2.20	4x

<sup>z</sup> 2C value was adapted from Poggio et al. (2007).

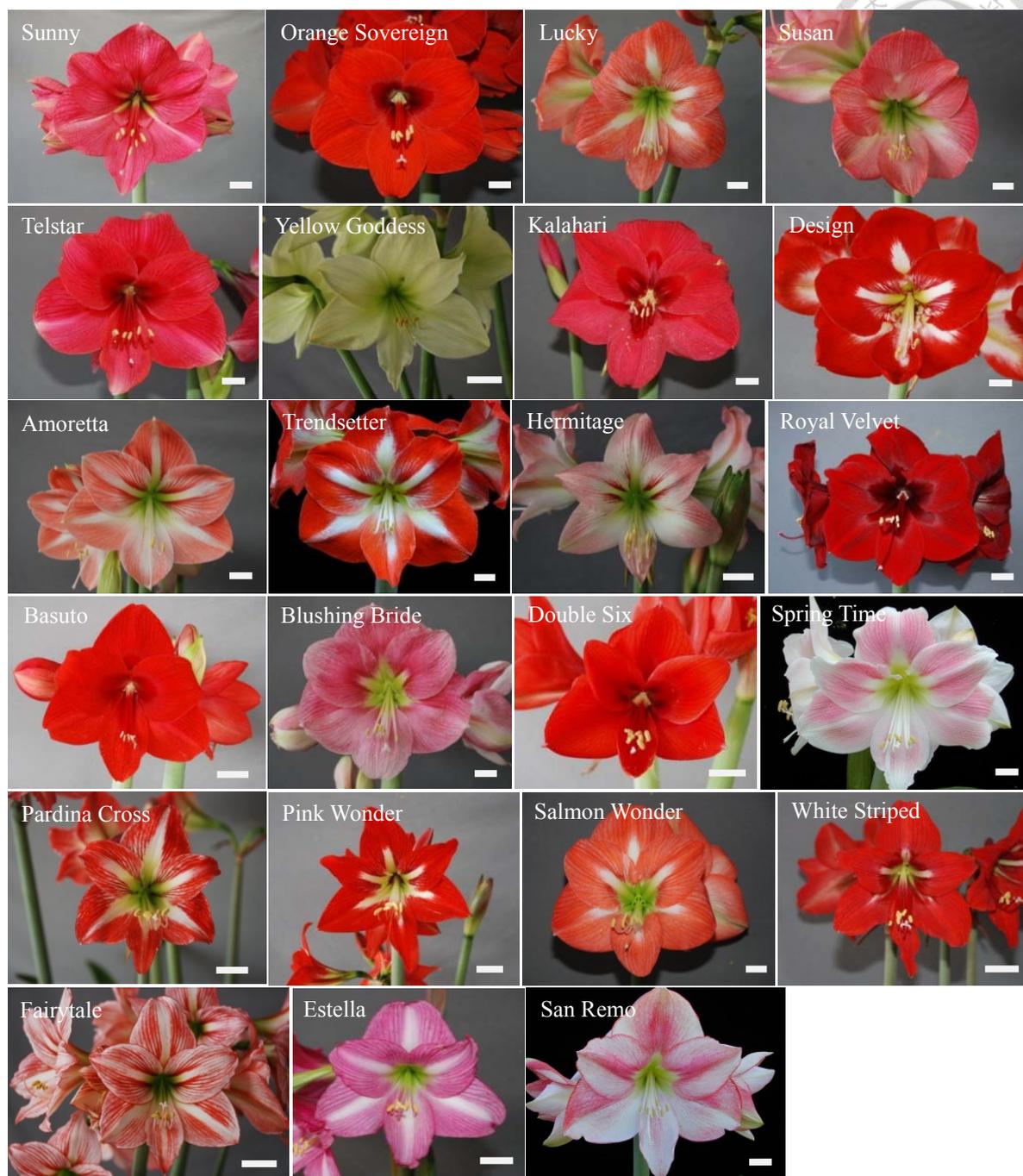


圖 3.1. 本研究使用之孤挺花單瓣品種

Fig. 3.1. Single-flowered amaryllis cultivars used in this study. Bars = 1 cm.

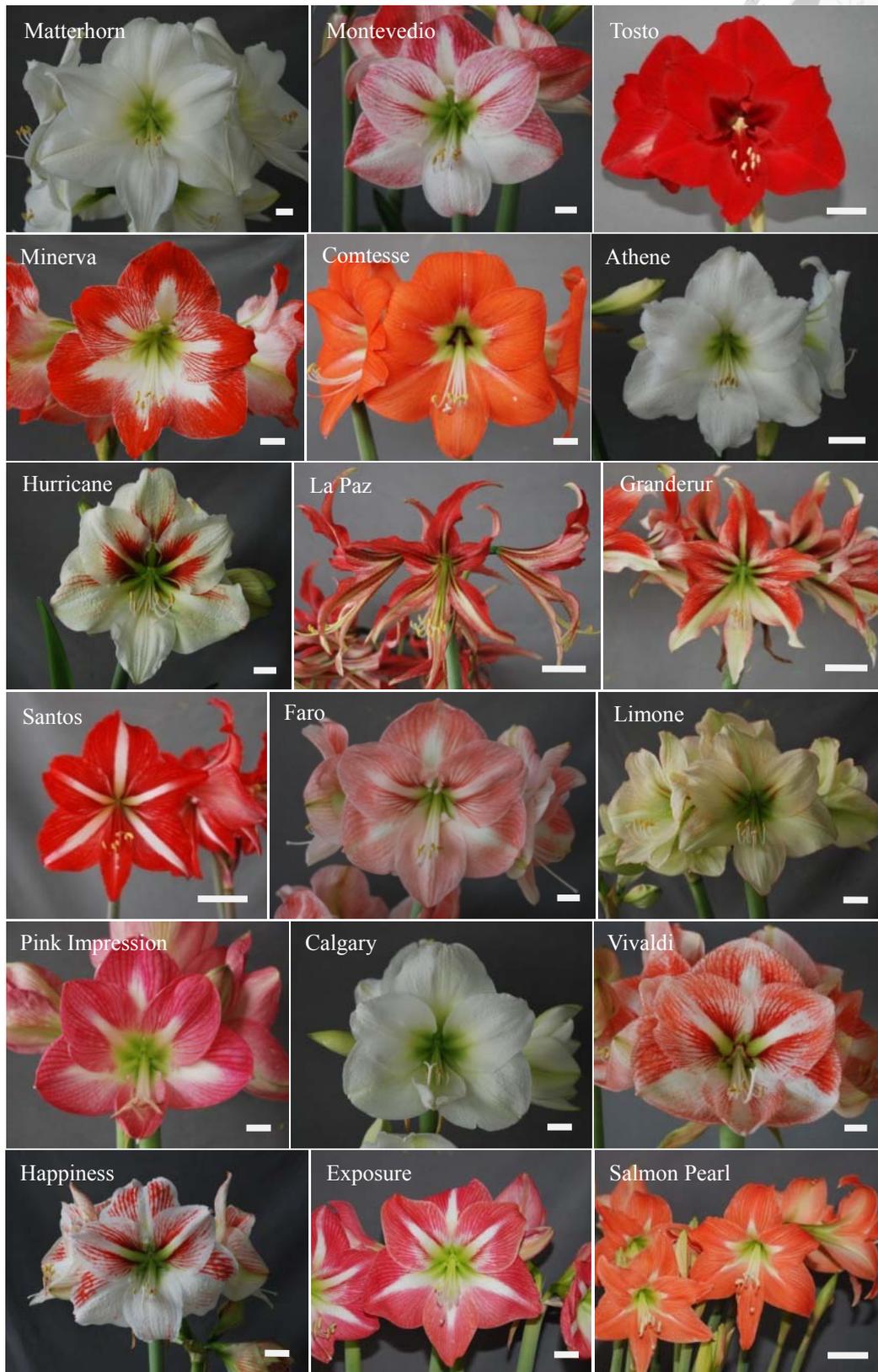


圖 3.2. 本研究使用之孤挺花單瓣品種(續)

Fig. 3.2. Single-flowered amaryllis cultivars used in this study (cont.). Bars = 1 cm.

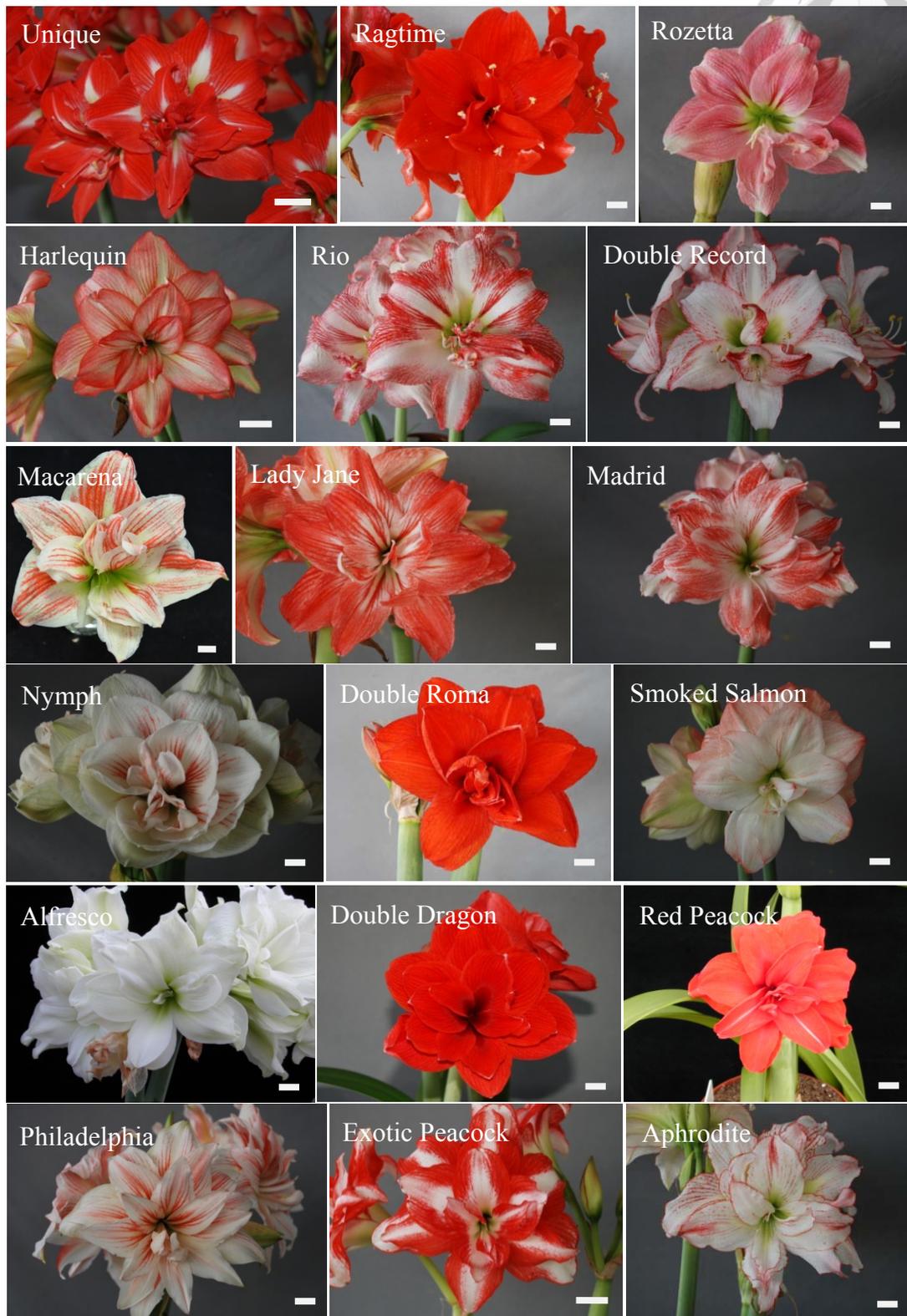


圖 3.3. 本研究使用之孤挺花重瓣品種。

Fig. 3.3. Double-flowered amaryllis cultivars used in this study. Bars = 1 cm.

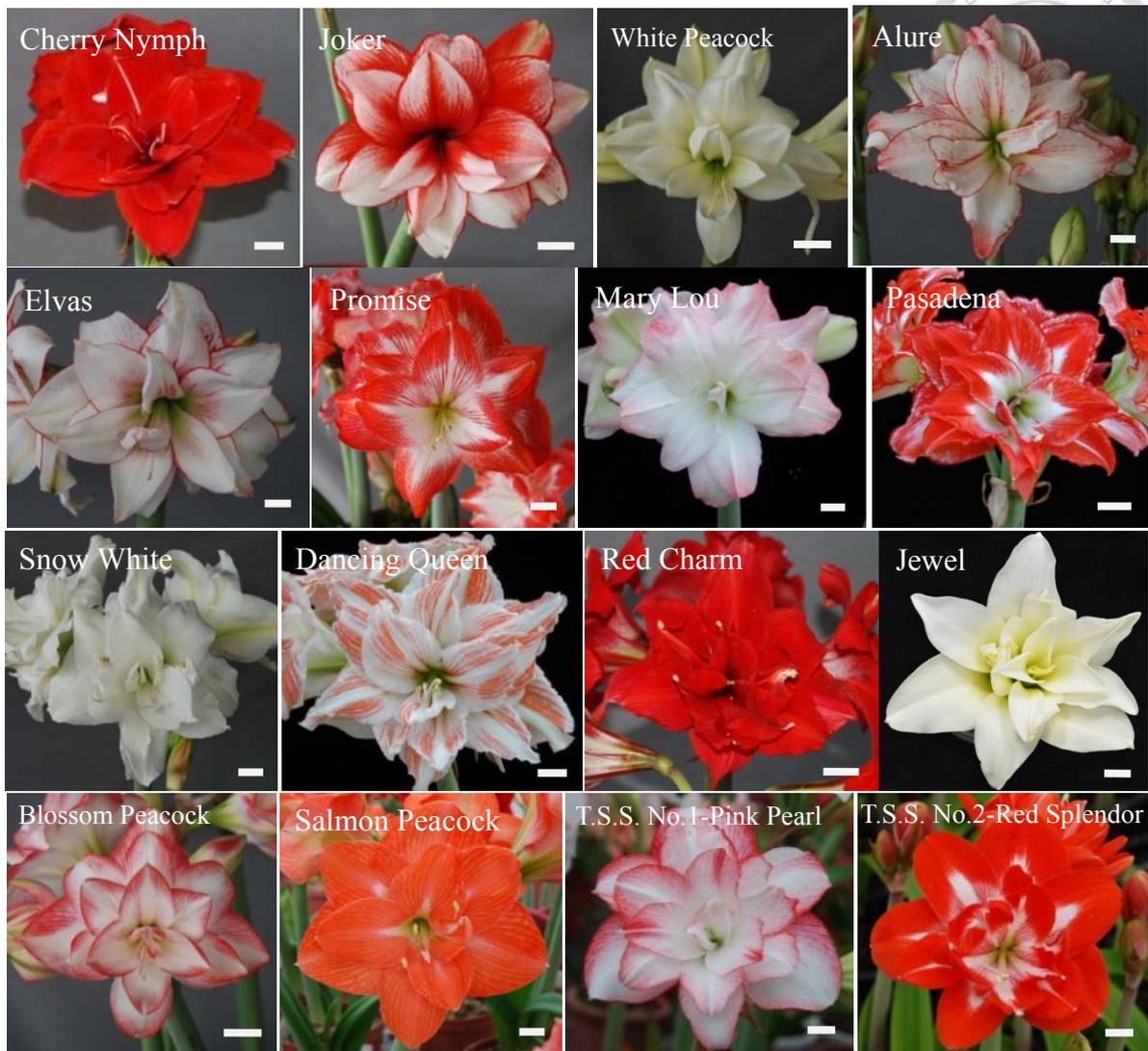


圖 3.4. 本研究使用之孤挺花重瓣品種(續)。

Fig. 3.4. Double-flowered amaryllis cultivars used in this study (cont.). Bars = 1 cm.



B

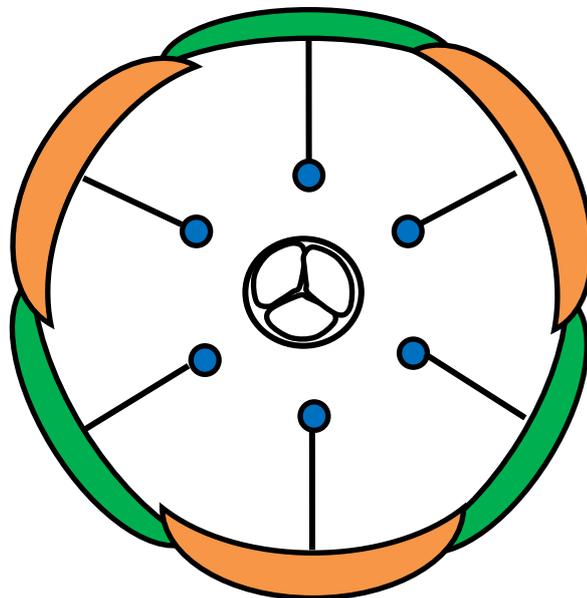


圖 3.5. 單瓣孤挺花‘Spring Time’之花朵(A)與花式圖(B)。

Fig. 3.5. The flower (A) and floral diagram (B) of amaryllis ‘Spring Time’. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

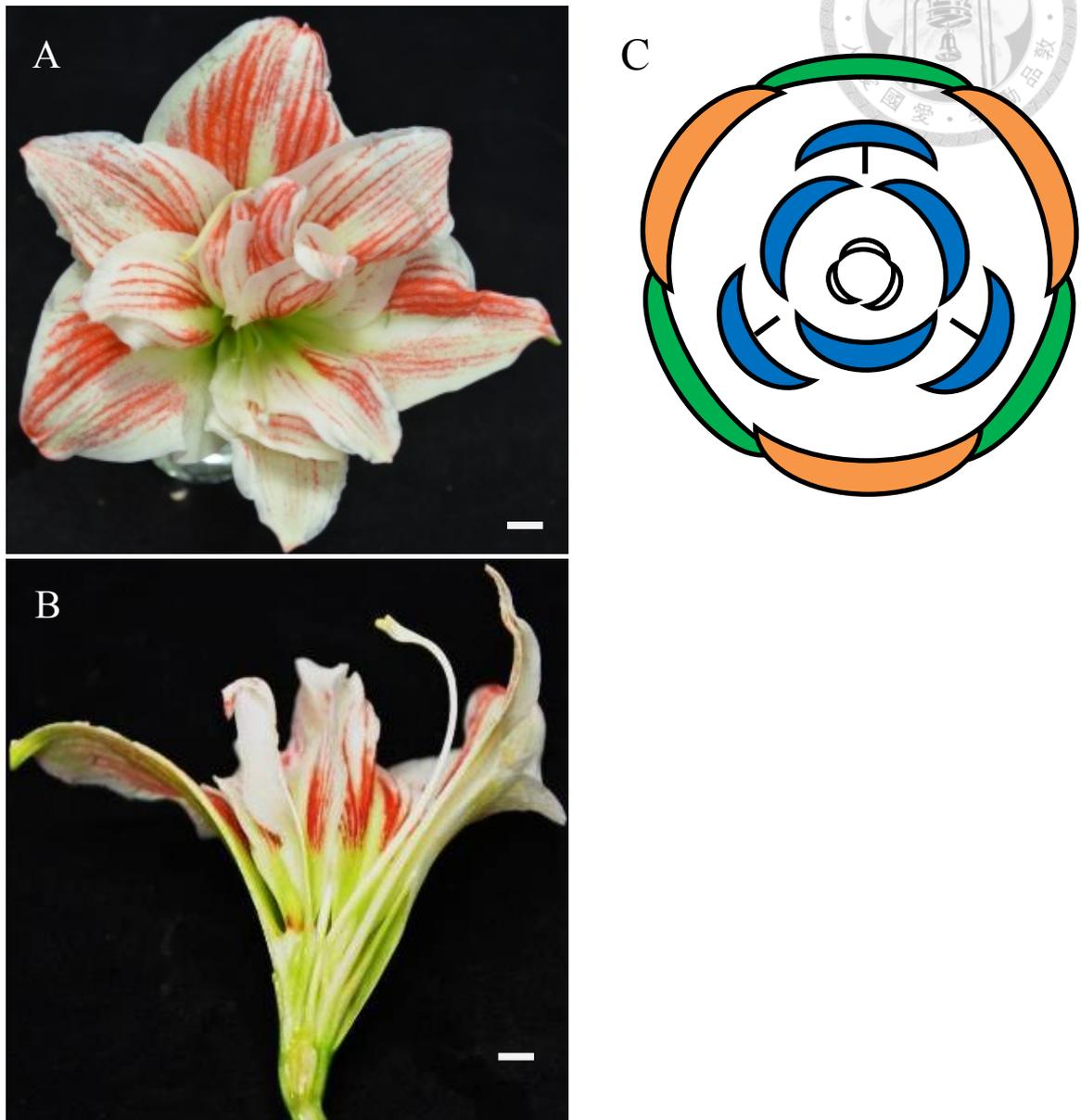


圖 3.6. 重瓣孤挺花‘Macarena’ (I-1 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。  
 Fig. 3.6. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) of amaryllis ‘Macarena’, classified as type I-1. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

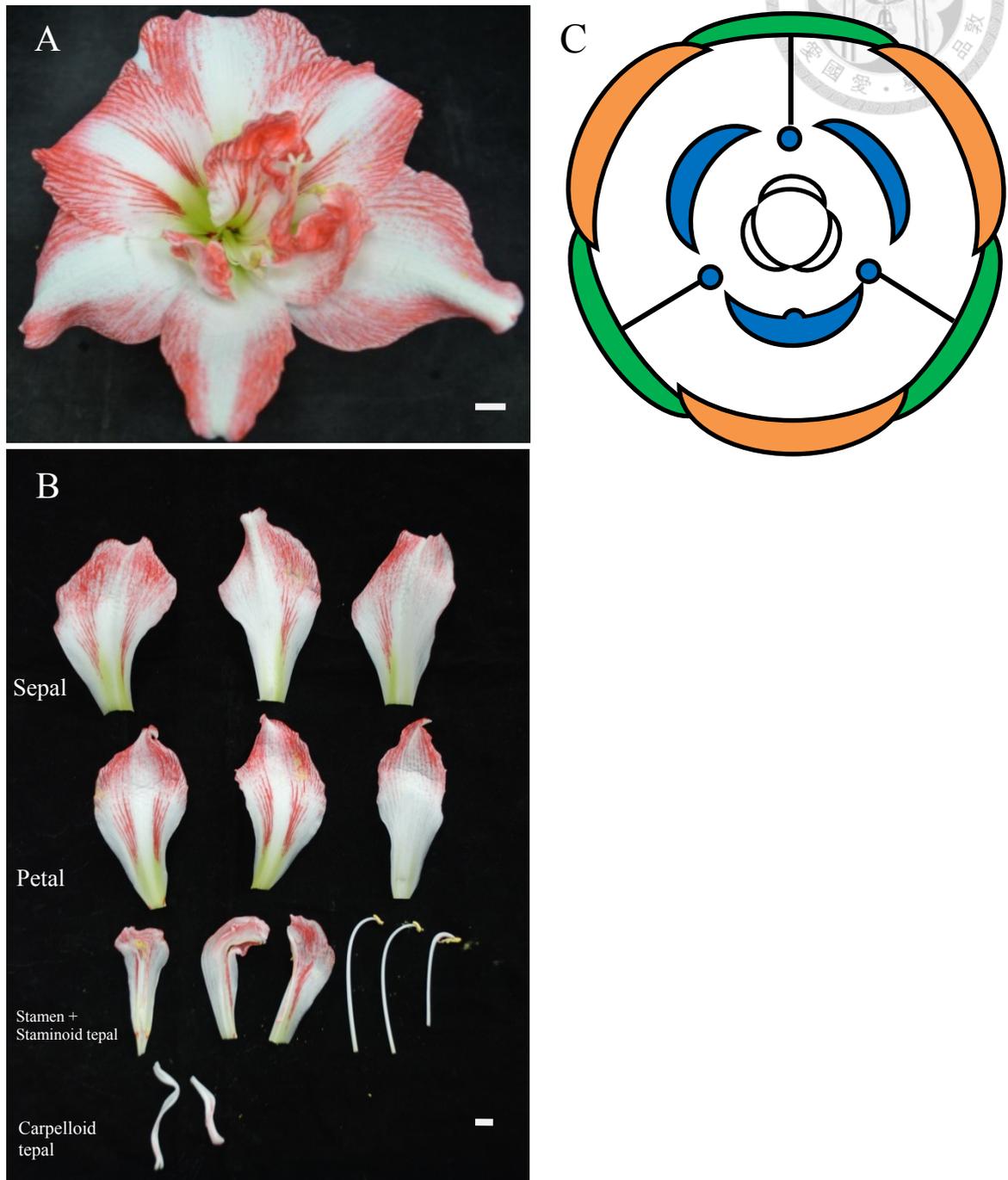


圖 3.7.重瓣孤挺花‘Rio’ (I-2 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。

Fig. 3.7.The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) of amaryllis ‘Rio’, classified as type I-2. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

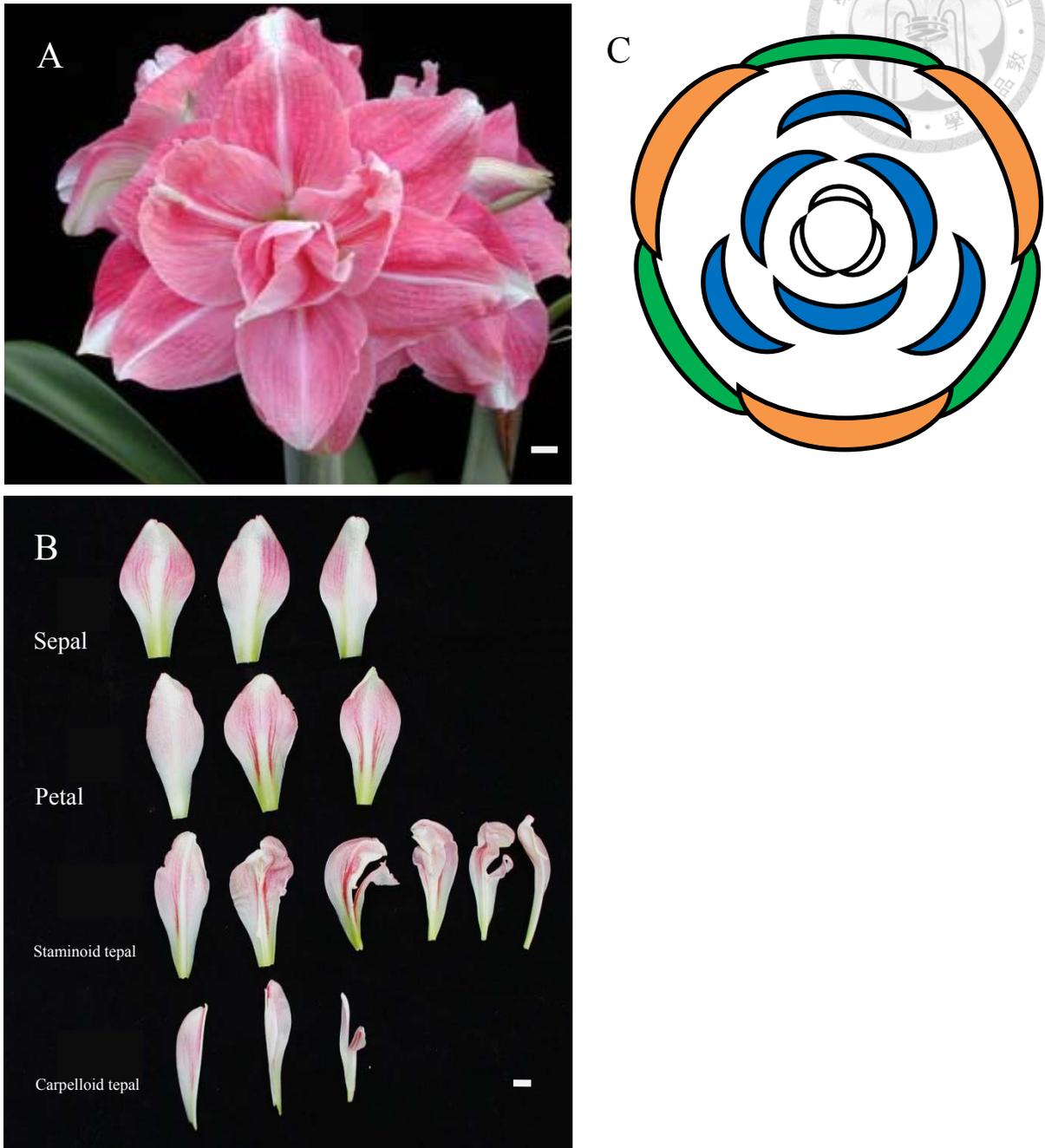


圖 3.8. 重瓣孤挺花‘Rozetta’ (I-3 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。

Fig. 3.8. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) of amaryllis ‘Rozetta’, classified as type I-3. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

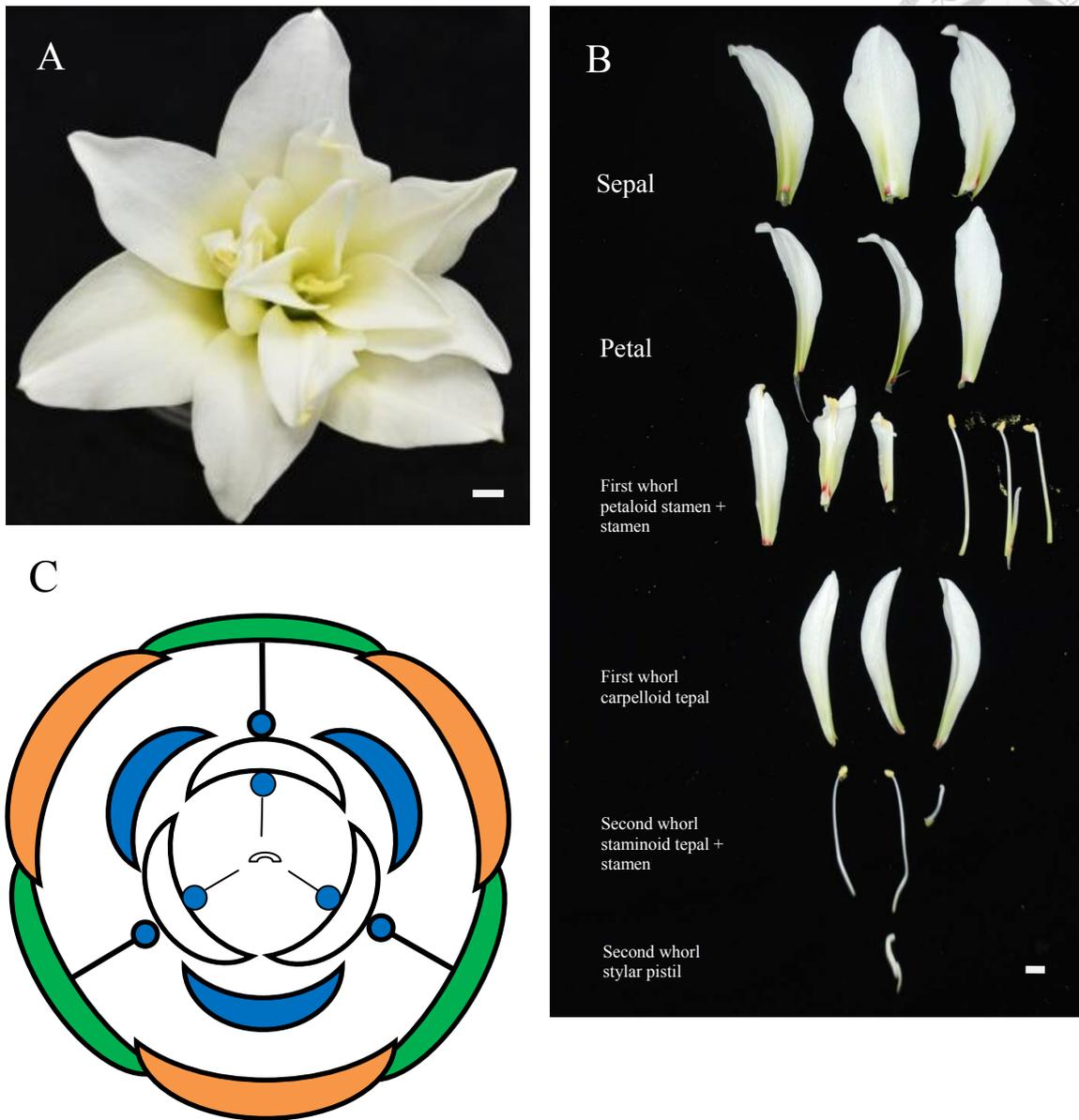


圖 3.9. 重瓣孤挺花‘Jewel’ (II-1 型)之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。

Fig. 3.9. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) in amaryllis ‘Jewel’, classified as type II-1. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

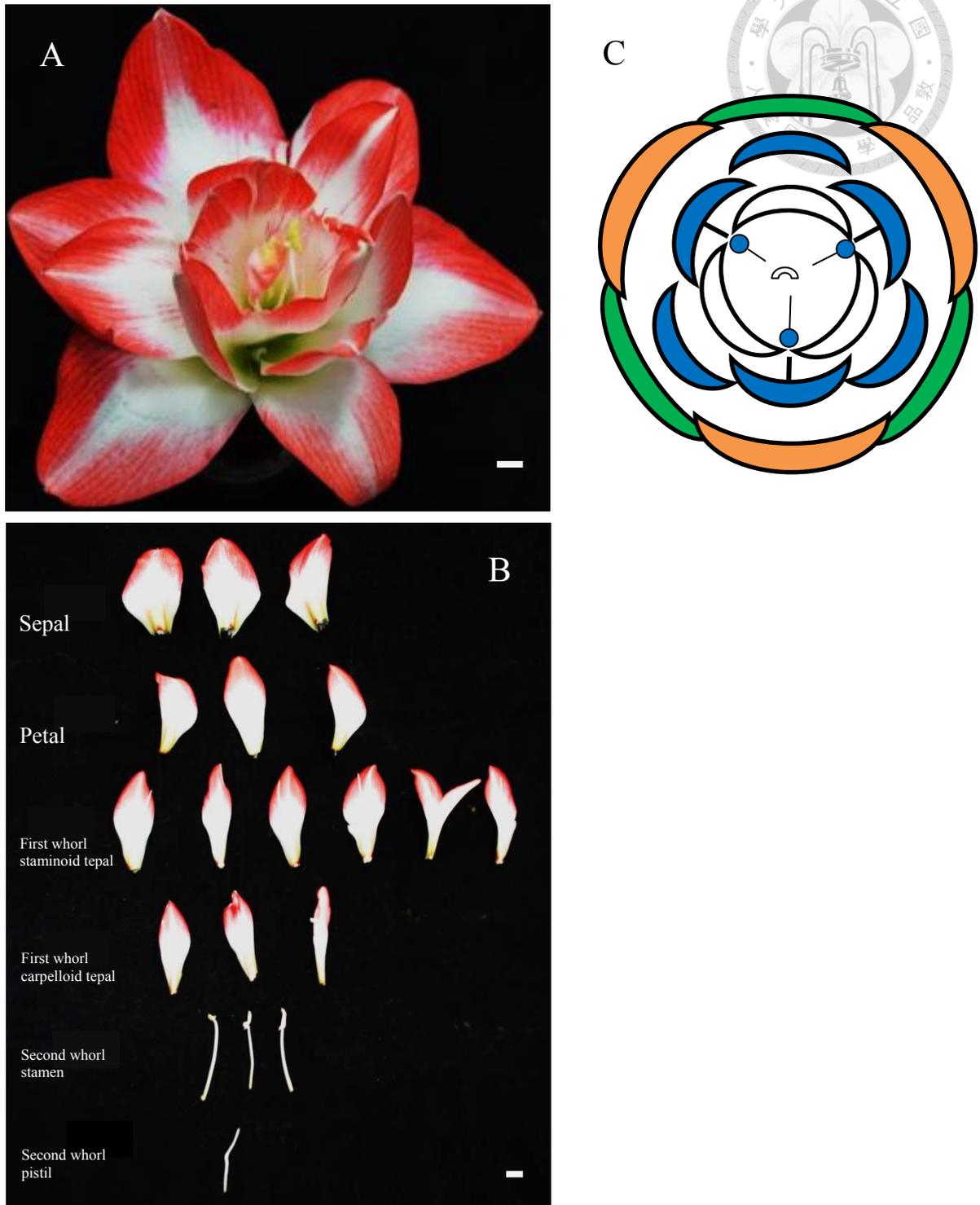


圖 3.10. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’ (II-2 型) 花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)  
 Fig. 3.10. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) in amaryllis ‘Blossom Peacock’, classified as type II-2. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

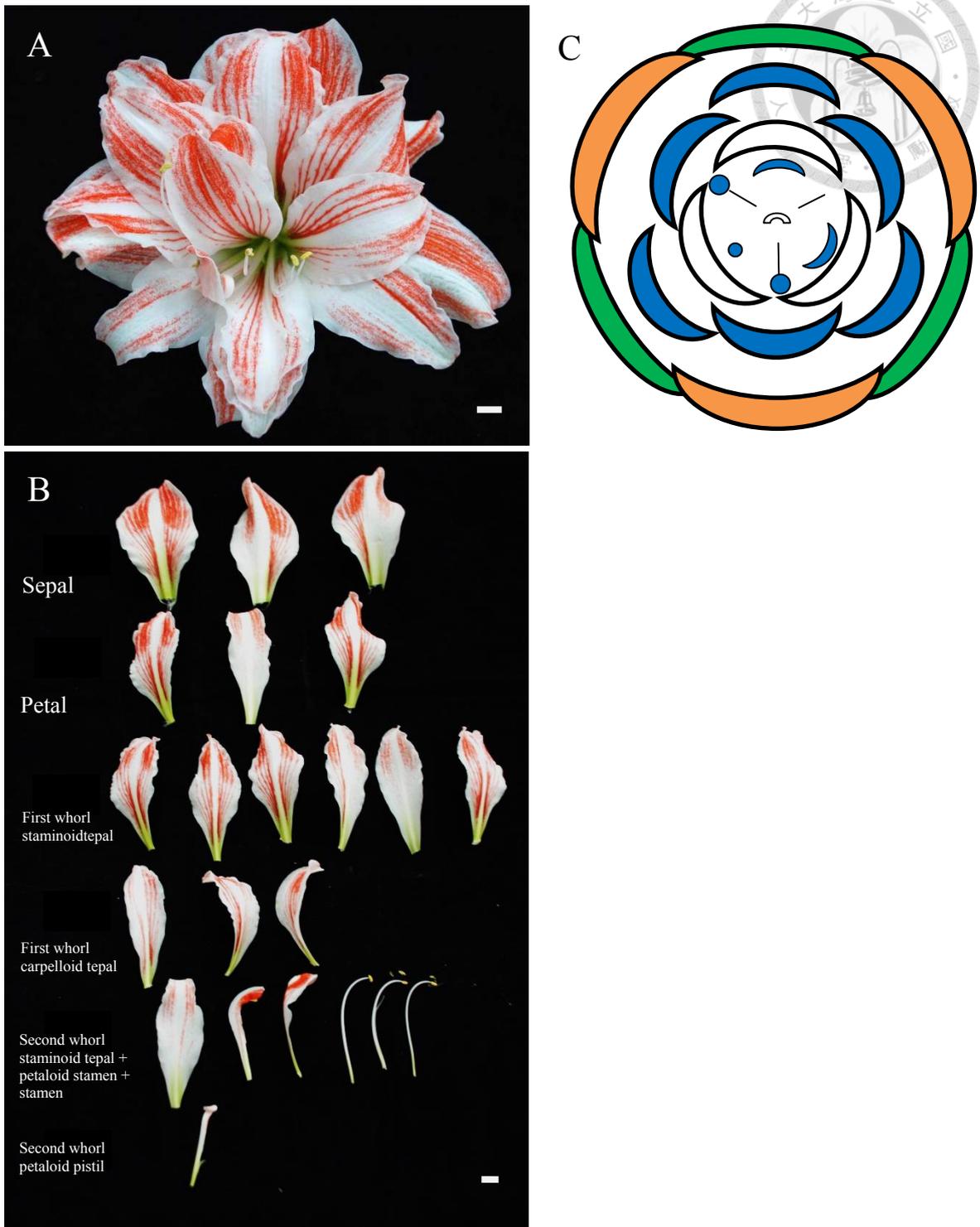


圖 3.11. 重瓣孤挺花‘Dancing Queen’ (II-3 型) 花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。  
 Fig. 3.11. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) in amaryllis ‘Dancing Queen’, classified as type II-3. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

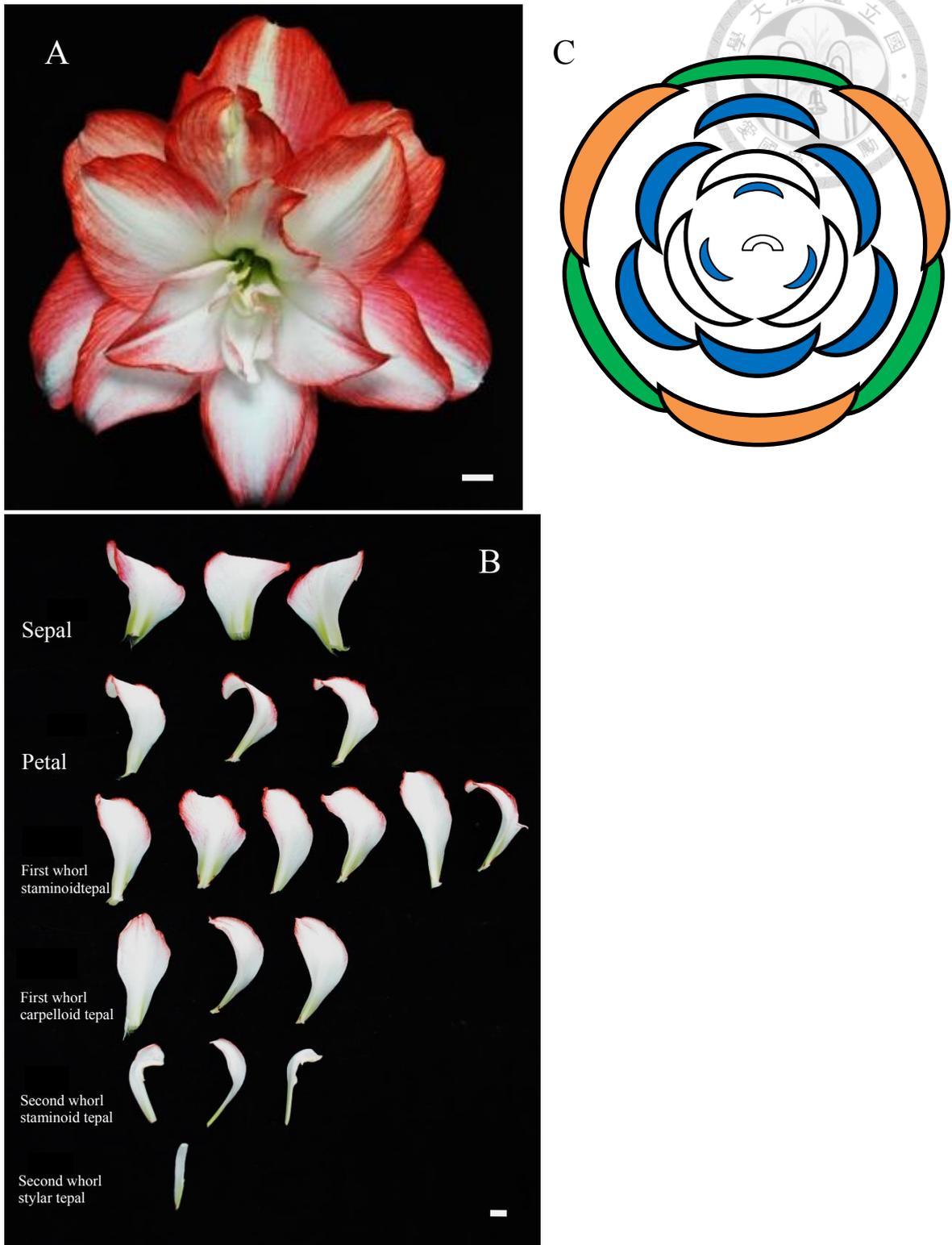


圖 3.12. 重瓣孤挺花‘種苗一號-粉珍珠’(II-4 型)花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)  
 Fig. 3.12. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) in amaryllis ‘Double Dragon’, classified as type II-4. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

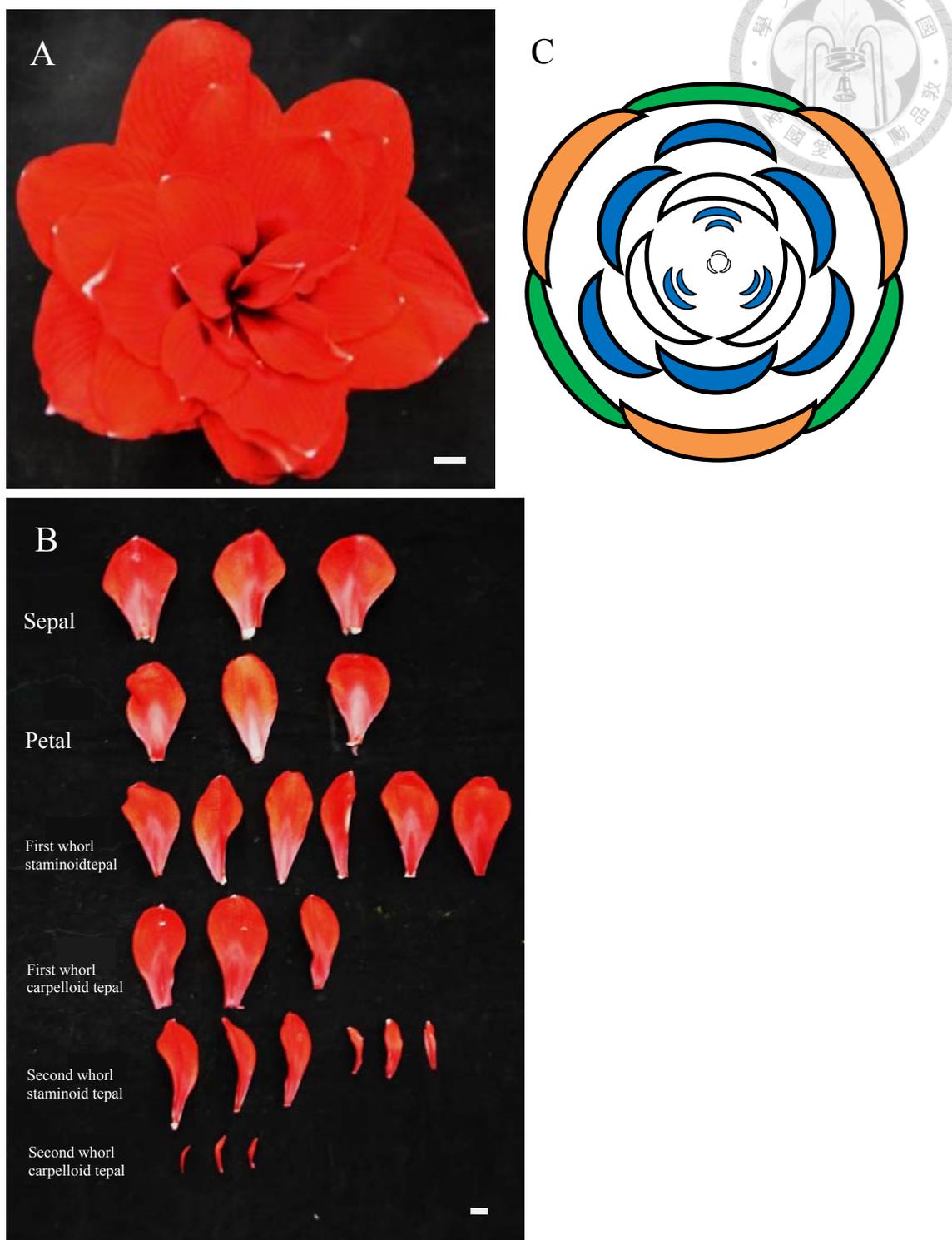


圖 3.13. 重瓣孤挺花‘Double Dragon’ (II-5 型) 之花朵(A)、花瓣解構(B)及花式圖(C)。  
 Fig. 3.13. The flower (A), flower dissection (B), and floral diagram (C) in amaryllis ‘Double Dragon’, classified as type II-5. Green, orange, blue, and white represent sepal, petal, anther, and carpel, respectively, from outer to inner whorl. Bars = 1 cm.

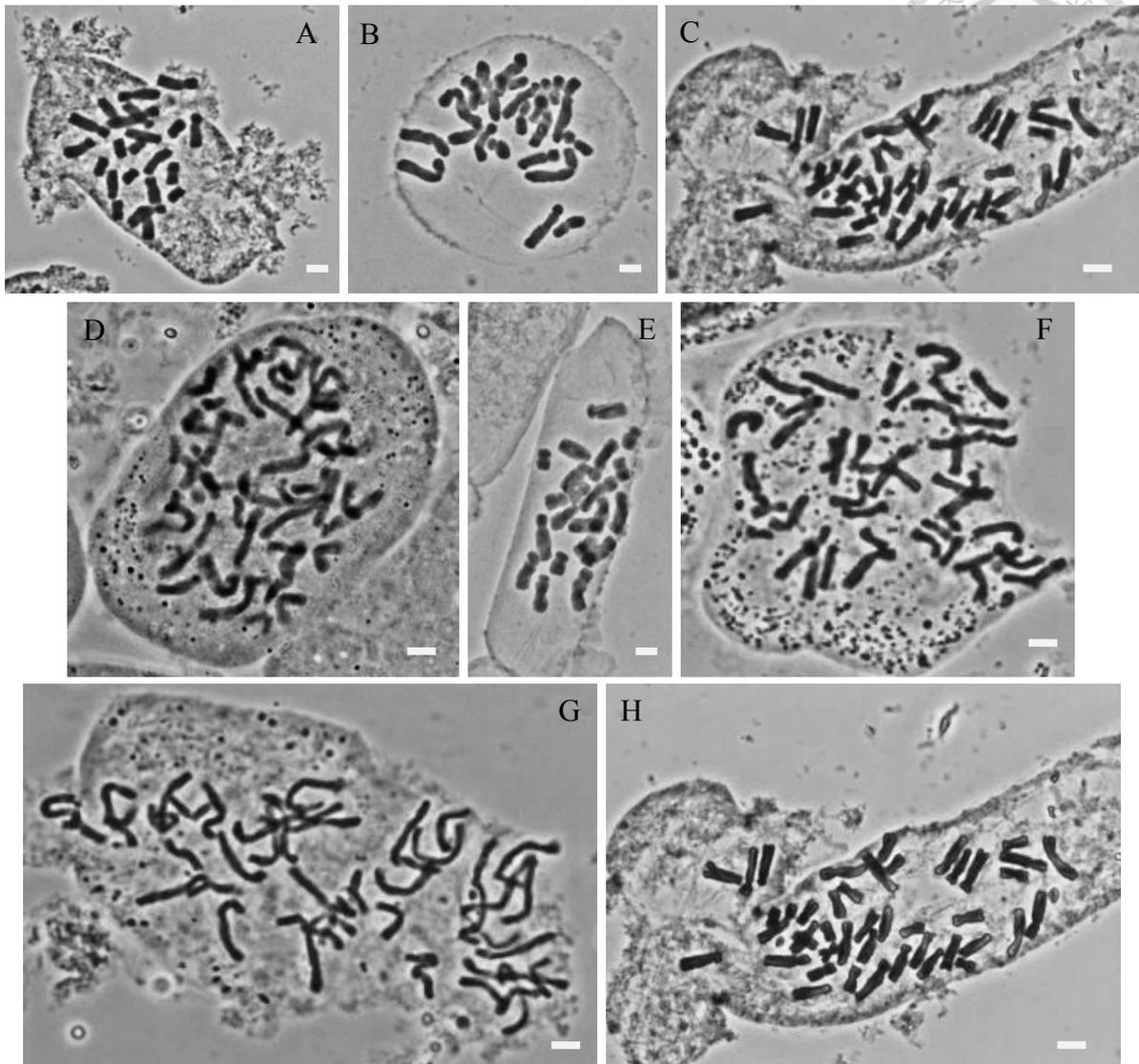


圖 3.14. 單瓣孤挺花及重瓣孤挺花之體染色體數觀察。單瓣型：‘Montevedio’ (A)、‘Estella’ (B)、‘Gervase’ (C)、‘Design’ (D)、‘Papillo Butterfly’ (E)、‘Fortune’ (F)；重瓣型：‘Blossom Peacock’ (G)、‘Razzmatazz’ (H)。Bars = 10  $\mu$ m.

Fig. 3.14. Observation for somatic chromosome number of single- and double- flowered amaryllis cultivars. Single-flowered: ‘Montevedio’ (A), ‘Estella’ (B), ‘Gervase’ (C), ‘Design’ (D), ‘Papillo Butterfly’ (E), ‘Fortune’ (F); double-flowered: ‘Blossom Peacock’ (G), ‘Razzmatazz’ (H).

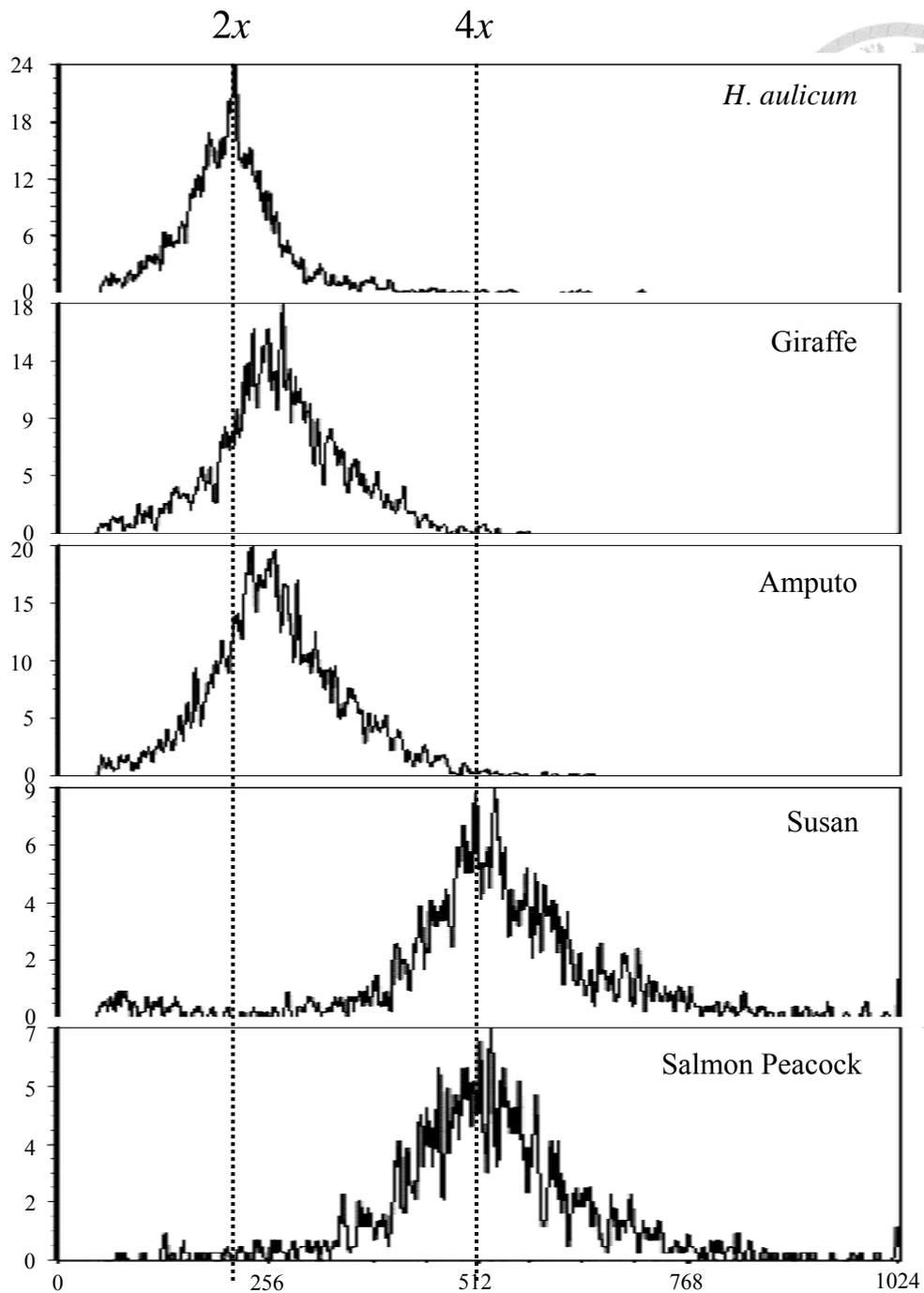


圖 3.15. 孤挺花二倍體原生種 *Hippeastrum aulicum*、二倍體‘Giraffe’、‘Amputo’及四倍體‘Susan’、‘Salmon Peacock’之 DNA 含量分析測定圖譜。

Fig. 3.15. Flow cytometry histogram of DNA content of diploid *Hippeastrum aulicum*, amaryllis ‘Giraffe’, ‘Amputo’ and tetraploid ‘Susan’, and ‘Salmon Peacock’.

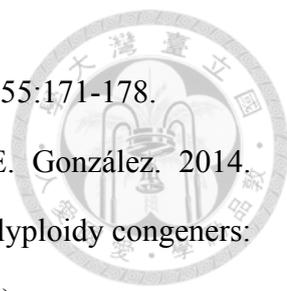
## 參考文獻(References)



- 財政部關稅總局. 2016. 24 Aug 2016. <<https://portal.sw.nat.gov.tw/APGA/GA01>>.
- 黃敏展. 1996. 亞熱帶花卉學總論. 國立中興大學園藝系. 臺中. 臺灣.
- 黃增泉. 1993. 植物分類學. 南天書局有限公司. 臺北. 臺灣.
- 農產品交易行情網. 2016. 24 Aug 2016. <<http://amis.afa.gov.tw/l-asp/top-v.asp>>.
- 農糧署植物品種權公告查詢系統 <http://newplant.afa.gov.tw/>
- 趙印泉、劉青林. 2009. 重瓣花的形成機理及遺傳特性研究進展. 西北植物學報 4:832-841.
- Arroyo, S. 1982. The chromosome of *Hippeastrum*, *Amaryllis* and *Phycella* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 37:211-216.
- Bell, W.D. 1973. New potentials in amaryllis breeding. Proc. Fla. State Hort. Soc. 86:462-466.
- Bell, W.D. 1977. Double flowered amaryllis. Proc. Fla. State Hort. Soc. 90:121-122.
- Blom, T. 1980. Rose research in Veinland, Canada. Bull. Roses Inc. June:45-46.
- Brandham, P.E. and P.S. Bhandol. 1997. Chromosomal relationships between the genera *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 52:973-980.
- Bryan, J. and M. Griffiths. 1995. Manual of bulbs. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Chung, M.C. and H.K. Wu. 1987. Karyotype analysis of IR36 and two trisomic lines of rice. Bot. Bull. Acad. Sin. 28:289-304.
- Coen, E.S. and E.M. Meyerowitz. 1991. The war of whorls: Genetic interactions controlling flower development. Nature 353:31-37.
- Cothran, C.D. 1979. Yellow-flowered and other amaryllis hybrids. Plant Life 35:61-65.
- Cothran, C.D. 1980. The request for a large yellow-flowering hybrid of amaryllis. Plant Life 36:19-23.
- Deme, J.W. 1978. Breeding double amaryllis. Plant Life 34:102-103.
- Dolezel, J., J. Greilhuber, and J. Suda. 2007. Estimation of nuclear DNA content in



- plants using flow cytometry. *Nat. Protoc.* 2:2233-2244.
- Dpooležel, J., P. Binarová, and S. Lcretti. 1989. Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. *Biol. Plant.* 31:113-120.
- Eyster, W.H. and D. Burpee. 1936. Inheritance of doubleness in the flowers of the nasturtium. *J. Hered.* 27:51-60.
- Golubeva, E.A. and A.S. Krotov. 1975. Flora of cultivated plants. Vol. 3. Grout Crops. Leningrad, Kolos. p. 90-93.
- Khaleel, T.F., S. Haven, and T. Gilg. 1991. Karyomorphology of *Amaryllis* hybrids. *Cytologia* 56:31-41.
- Krotov, A.S. and E.T. Golubeva. 1973. Cytological studies on an interspecific hybrid *Fagopyrum tataricum* × *F. cymosum*. *Proc. Appl. Bot. Genet. Breeding* 51:256-260.
- Latapie, W.R. 1980. Suggested standards for judging double amaryllis. *Plant Life* 36:41.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. *Herbertia* 4:185-186.
- McCann, J.J. 1950. McCann double amaryllis. *Plant Life* 6:107-108.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). *Breeding ornamental plants*. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Naranjo, C.A. and L. Poggio. 1988. A comparison of karyotype, Ag-NOR bands and DNA contents in *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Kew Bull.* 42:317-325.
- Ning, G.G., X.P. Shi, H.R. Hu, Y. Yan, and M.Z. Bao. 2009. Development of a range of polyploidy line in *Petunia hybrid* and relationship of ploidy with single-/double-flower trait. *HortScience* 44:250-255.
- Okubo, H. 1993. *Hippeastrum*, p. 321-334. In: A. De Hertogh and M. Le Nards (eds.). *The physiology of flower bulbs*. Elsevier Science, The Netherlands.
- Poggio, L.,G. González, and C.A. Naranjo. 2007. Chromosome studies in *Hippeastrum*

- 
- (Amaryllidaceae): Variation in genome size. Bot. J. Linn. Soc. 155:171-178.
- Poggio, L., M.F. Realini, M.F. Fourastié, A.M. García, and G.E. González. 2014. Genome downsizing and karyotype constancy in diploid and polyploidy congeners: A model of genome size variation. AoB Plants 6:plu029. (online)
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Reynolds, J. and J. Tampion. 1983. Double flowers: A scientific study. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.
- Theißen, G. 2011. Development of floral organ identity: Stories from the MADS house. Curr. Opin. Plant Biol. 4:75-85.
- Theißen, G. and H. Saedler. 2001. Floral quartets. Nature 409:469-471.
- Traub, H.P. 1934. The Nehrling hybrid amaryllis. Yrbk. Amer. Amaryllis Soc. 1:61.
- Traub, H.P. 1958. The amaryllis manual. MacMillan, New York, U.S.A.
- Zainol, R. and D.P. Stimart. 2001. A monogenic recessive gene, *fw*, conditions flower doubling in *Nicotiana alata*. HortScience 36:128-130.
- Zainol, R., D.P. Stimart, and R.F.E. Evert. 1998. Anatomical analysis of double flower morphogenesis in *Nicotiana alata* Link & Otto. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123:967-972.
- Zahn, L.M., J. Leebens-Mack, C.W. DePamphilis, H. Ma, and G. Theissen. 2005. To B or not to B a flower: The role of *DEFICIENS* and *GLOBOSA* orthologs in the evolution of the angiosperms. J. Hered. 96:225-240.



第四章 重瓣孤挺花之花藥類型、花粉發芽與結實率  
Chapter 4. Anther Type, Pollen Germination, and Fruit Sets of  
Double-flowered Amaryllis Cultivars



附加關鍵字：品種、畸形花藥、瓣化雄蕊、花粉培養

Additional index words: cultivar, defective anther, petal-like stamens, pollen incubation

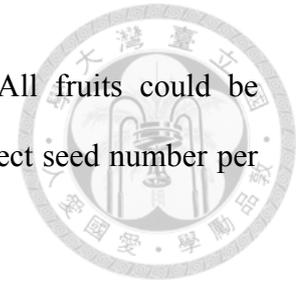
### 摘要

由六個重瓣孤挺花品種之不同類型花藥所取下花粉，以含 10%蔗糖之 B&K 培养基、於 25°C 培養 2 小時，結果顯示不論花粉來自正常花藥、畸形花藥及雄蕊瓣化殘存花藥皆可發芽。除重瓣孤挺花‘Splash’瓣化花藥產生之花粉發芽率較低外，其他五個參試重瓣孤挺花品種不論何種類型花藥產生之花粉發芽率皆大於 50%。重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥之花粉發芽適溫在 25-35°C，不論何種類型花藥產生之花粉皆在培養後 2 小時達最大發芽率，約 78%-91%。取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’三種類型花藥產生之花粉與單瓣孤挺花‘Design’雜交，在授粉 30 天後皆可收穫種子，花粉來源對每果實種子數及種子發芽率無顯著影響。

### Abstract

Pollen from normal, defective, and petaloid anthers of six double-flowered amaryllis cultivars were collected. Pollen were incubated on B&K medium containing 10% sucrose at 25°C for two hour. Results showed all pollen germinated irrespective of pollen sources. All pollen germination percentages were higher than 50%, except those from petaloid anthers of ‘Splash’. Optimum germination temperature was 25-35°C for pollen from normal anthers of double-flowered ‘Blossom Peacock’. Maximum germination percentage (ca. 78%-91%) was measured at 2 h after incubation irrespective of pollen source. Single-flowered ‘Design’ was pollinated with pollen from

normal, defective, and petaloid anthers of ‘Blossom Peacock’. All fruits could be harvested at 30 days after pollination, and pollen source did not affect seed number per fruit and seed germination percentage.



## 前言(Introduction)

利用人工授粉進行育種工作，為提高授粉效率，常會進行授粉前先進行花粉檢測(Stone et al., 1995)，花粉檢測可分為離體(in vitro)與體內(in vivo)發芽檢測等(Shivanna and Rangaswamy, 1992)。植物離體之花粉發芽與花粉管生長是研究環境因子對物種之受精作用與基因型差異之首要步驟，離體之花粉發芽測試所需培养基也因物種間不同也有些差異(Stanley and Linkskens, 1974; Shivanna and Johri, 1985)。前人研究指出，花粉體外發芽與植株孢子體世代對溫度之反應相似，因此花粉溫度篩選可應用於許多作物之育種研究，如扁桃與桃之花粉在 16°C 及 23°C 之花粉發芽率最高，可能因扁桃可於晚冬開花結果，其花粉於低溫發芽率高於桃(Weinbaum et al., 1984)；日日春‘Pacifica Polk Dot’花粉發芽適溫為 20-40°C，而品系 TYV1 僅在 25-30°C，這與‘Pacifica Polk Dot’栽培於日夜溫 30/25、25/20 與 20/15 °C 環境下之生育較佳有關，而品系 TYV1 僅在日夜溫 30/25 與 25/20 環境下生育較好(陳，2013)。花粉對高溫之敏感性會比雌生殖器官強，常導致在高溫逆境下受精作用不易成功(Weaver and Timm, 1988)，許多研究顯示高溫會對大、小孢子體產生傷害，導致降低著果率(Cross et al., 2003; Young et al., 2004)，而在高溫環境下，花粉之發芽力會影響著果，番茄若開花前 15 天，於 32/16°C(日/夜溫)環境會失去著果能力，主要是因高溫擾亂花藥之組成所致(Sato et al., 2002)。

孤挺花之重瓣花可能是由雄蕊和雌蕊等器官轉變而來(McCann, 1937)，當孤挺花之雄蕊或雌蕊完全轉換成似花瓣之構造時，也會完全或部分喪失原來的功能。雌蕊未瓣化完全的品種，會觀察到不具子房但扭曲、短縮或變形花柱之雌蕊；雄蕊未完全瓣化的品種，有時會產生完整正常之雄蕊、畸形花藥(defective anther)、缺乏花藥之花絲(filament)或有瓣化殘存之花藥構造(petaloid anther)，但這些花藥是



否可產生具發芽能力之花粉，則有待研究。

在孤挺花重瓣育種中，重瓣品種所產生之花粉是重瓣品種育種之重要親本來源(Meerow, 2000)。利用重瓣品種中所產生之正常花粉為花粉親，與單瓣品種為種子親，進行雜交，則在雜交後裔中可能會產生花被瓣多於六枚之新品系，可能成為重瓣孤挺花新品種。因此重瓣品種所產生之花粉是否正常發芽，則成為孤挺花重瓣品種選育之關鍵。本研究將探討孤挺花花粉發芽之適合溫度與培養時間，並由不同重瓣品種所收集之不同花藥類型所產生之花粉，觀察花粉之發芽情形及將取得之花粉與單瓣品種進行雜交授粉，以探討不同來源之花粉是否可成為未來重瓣孤挺花之育種材料。

## 材料與方法(Materials and Methods)

### 試驗一、溫度對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響

於2014年4月14日取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥所產生之花粉，測試花粉發芽之培養基是以Brewbaker和Kwack(1963)的基本配方(含 $1.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ 、 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $1.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KNO}_3$ )，加入10%蔗糖後，將培養基之pH值調整到6.0。於1000-1200 HR取下花粉。將培養基滴上200  $\mu\text{L}$  無菌水後，將所採集之花粉輕碰水珠，花粉即可自動散開。分別置於5、15、25、35 $^{\circ}\text{C}$ ，生長箱培養2小時後，以光學顯微鏡觀察，比較溫度對重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽的影響。每處理3重複，檢視視野內約100粒花粉，當花粉管長度超過花粉直徑時即視為發芽，並以顯微鏡數位相機(Micro Fire Optronics, Calif., USA)拍照記錄。觀察視野內發芽花粉管的花粉數占總花粉數的比例，計算花粉發芽率。

### 試驗二、花粉來源與培養時間對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響

於2014年3月25日取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’之正常花藥、畸形花藥與瓣化花藥(圖4.1)所產生花粉，測試花粉發芽之培養基與培養方法如同試驗一所述，



每處理 3 重複，將花粉置於 25°C 生長箱分別培養 0、0.5、1、1.5、2、3 及 4 小時後，取出以光學顯微鏡觀察並記錄花粉發芽率，檢視視野內約 100 粒花粉，當花粉管長度超過花粉直徑時即視為發芽，觀察視野內發芽花粉管的花粉數占總花粉數的比例，計算花粉發芽率，比較花藥構造與培養時間對花粉發芽之影響。

#### 試驗三、六個重瓣孤挺花品種之花藥類型與產生之花粉發芽比較

於 2014 年 3 月 25 日分別收集六個孤挺花商業重瓣品種 Blossom Peacock、Dancing Queen、Macarena、Flaming Peacock、Splash 與 Double Delicious 等(圖 4.2)。從這些商業重瓣品種中可觀察到產生花粉之正常花藥(normal anther)、畸形花藥(defective anther)與瓣化花藥(petaloid anther)。將這三種構造所產生之花粉取下，置於 25°C 生長箱培養 2 小時後，檢視視野內約 100 粒花粉，當花粉管長度超過花粉直徑時即視為發芽，觀察視野內發芽花粉管的花粉數占總花粉數的比例，計算花粉發芽率，每處理 3 重複，比較三種不同來源花粉與不同品種之花粉發芽率。

#### 試驗四、孤挺花‘Blossom Peacock’不同型花藥之花粉與‘Design’雜交之稔實率

於 2014 年 4 月 16 日取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’之正常花藥、畸形花藥與瓣化花藥所產生花粉，分別授於單瓣孤挺花‘Design’之柱頭上，完成雜交授粉。每一朵花為一重複，共三重複。授粉後 30 天，分別採收果莢，從果莢中取出種子，計算種子數量，並進行播種。播種於長、寬、高為 42×33×10 cm 之塑膠籃中，播種介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)= 4：1 (v/v)。播種後置於簡易網室中，平均溫度為 22±3 °C，平均中午光強度為 1300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (photosynthetic photon flux, PPF)，播種後 30 天計算種子發芽率。

#### 統計分析

以上試驗皆採完全隨機試驗設計(Completely randomized design, CRD)，試驗結

果以 SPSS (IBM, Armonk, U.S.A.)統計分析軟體，以最小顯著性差異法(Least significant difference test, LSD)比較各處理組合平均值間之差異顯著性，顯著水準為  $P < 0.05$ 。百分比數據於統計分析前先經 Bliss 轉換(Bliss transformation)。



## 結果(Results)

### 試驗一、溫度對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響

在四種溫度下培養重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥所產生之花粉，結果以 25°C 培養者發芽率最高，達 72.8%，其次是 35°C 培養者為 62.1%，15°C 培養者為 15.7%，於 5°C 環境下培養之花粉未發芽(圖 4.3)。不同溫度下培養之花粉發芽率具顯著性差異。

### 試驗二、花粉來源與培養時間對孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之影響

取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常、畸形及瓣化花藥之花粉，於培養後連續調查花粉發芽率，結果顯示不論何種花藥所產生之花粉均於 25°C 培養後 0.5 小時開始發芽，培養 3 小時後花粉發芽率已達飽和(圖 4.4)，正常、畸形及瓣化花藥之花粉發芽率分別為 77.9%、90.6%及 86.4%，在統計上並無顯著性差異，而正常花藥之花粉發芽率稍低。

### 試驗三、六個重瓣孤挺花品種之花藥類型與產生之花粉發芽比較

六個重瓣孤挺花品種之花粉不論來自正常、瓣化或畸形花藥，皆可觀察到花粉發芽(圖 4.5、4.6)。「Blossom Peacock」之三種不同來源花藥所產生之花粉發芽率為 64.4%-66.9%，「Flaming Peacock」之二種不同來源花藥所產生之花粉發芽率為 67.5%-69.2%。「Dancing Queen」、「Macarena」、「Splash」與「Double Delicious」各型花藥之花粉發芽率皆無顯著性差異。畸形或瓣化花藥之花粉較正常花藥之花粉之發芽率低之情形(圖 4.7)。尤其是「Splash」瓣化花藥的花粉發芽率僅有 14.1%。



#### 試驗四、孤挺花‘Blossom Peacock’不同花藥之花粉與孤挺花‘Design’雜交之稔實率

取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常、畸形及瓣化花藥之花粉授於單瓣孤挺花‘Design’柱頭 30 天後之結實情形如圖 4.8 所示。授粉後約 30 天採收果莢，平均每果莢種子數於不同形態花藥處理間無顯著差異，為 57-69 粒(表 4.1)。種子播種 30 天後調查發芽率，結果顯示於不同類型花藥處理間無顯著差異，種子發芽率約為 28%-36%。

### 討論(Discussion)

本試驗結果之孤挺花‘Blossom Peacock’花粉發芽之最佳溫度為 25°C，其次是 35°C(圖 4.3)，而高溫會傷害花粉，促進花粉老化(Buitink et al., 2000)，因此可能使 35°C 之孤挺花之花粉發芽率低於 25°C。低溫則花粉發芽率較差，在 5°C 環境下之花粉未發芽，此結果似與孤挺花原生在熱帶中南美洲有關(Okubo, 1993; Read, 2004)。溫度是限制植物種類地理分佈之主要氣候因子(Saxe et al., 2001)，所以植物物種之花粉發芽適宜溫度與原生地環境條件息息相關。花粉發芽及花粉管生長速率是影響雜交育種之重要關鍵。不同物種甚至種或品種之發芽最適溫度亦不相同。岩桐屬(*Sinningia*)之 6 原生種之花粉發芽適溫，以 *S. aggregata* 花粉發芽適溫為 30°C 最高，其次是斷崖女王、超迷岩普希拉、艷桐草、香岩桐及美花岩桐，依序為 29.5、28.3、25.8、25.5 及 25.2°C，發芽適溫介於 25-30°C(林，2010)。飛燕草之原生種花粉發芽適溫為 15-20°C，栽培品種則在 15-25°C，溫度超過 30°C 則花粉發芽顯著下降(Honda et al., 2002)，日日春 TYV1 及其親本‘Pacifica Polka Dot’在溫度 25 及 30°C 時其發芽率可達 92.4% 及 90.2% (陳，2013)，落花生耐熱品系 IGGV 1236 最適發芽溫度約為 36.5°C，不耐熱品系 ICGV 92116 約為 30.5°C，品系間花粉發芽適溫，可作為篩選耐熱性之參考(Kakani et al., 2002)。扁桃與桃的花粉發芽適溫分別是 16 及 23°C，花粉發芽率可達最高，可能是扁桃於晚冬亦可開花結果，因此花粉發芽適溫低於桃(Weinbaum et al., 1984)。

孤挺花‘Blossom Peacock’由三種不同花藥所產生之花粉，均於 25°C 培養 0.5 至

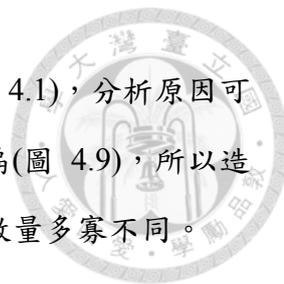


1.5 小時後發芽，培養 2 小時後發芽率已達穩定，花粉發芽率皆可達 70%以上(圖 4.4)。孤挺花為雄蕊先熟而雌蕊後熟，當柱頭上有粘液產生才是孤挺花授粉之最佳時機(Read, 2004)。

一般重瓣孤挺花主要是由雌蕊或雄蕊瓣化而來(McCann, 1937)，大多數重瓣品種之雌蕊皆已失去功能(Meerow, 2000)，若是雄蕊瓣化過程中，在轉化末期瓣化不完整，會產生一些具有花藥之少量具稔性之花粉，此花粉將可利用作為育種之重要親本來源(Meerow, 2000)。本研究先行觀察 6 個孤挺花重瓣品種親本，都具有雄蕊瓣化殘存之花藥存在，不論是從何種類型花藥，只要能從中取得花粉，都有 14%-90%花粉發芽率(圖 4.5、4.6、4.7)，結果與 Meerow (2000)之結論相符。而從觀察 6 個重瓣品種之重瓣瓣化歸類類型，其中僅'Macarena'(圖 4.2)之花藥器官排列仍為四輪，基本輪數不變，僅雄蕊有不同程度之瓣化，雌蕊未瓣化，為類型 IA(第三章；圖 3.6)，雄蕊有不同程度之瓣化即有可能產生花粉，作為育種重要親本；其他 5 個重瓣品種'Flaming Peacock'、'Blossom Peacock'、'Dancing Queen'、'Splash'及'Double Delicious'為再增加一輪雌、雄蕊之類型 II(第三章；圖 3.10、3.11)，'Splash'與'Double Delicious'之雄蕊瓣化程度高(圖 4.2)因此無法收集到畸形花藥(defective anther)。此外，'Splash'之瓣化花藥所產生之花粉形狀、大小與顏色與正常花藥之花粉略有不同(圖 4.6E)，發芽率亦較低(圖 4.7)。

花粉活力可作為雜交育種之參考，檢測花粉活力的方法可分為體內(in vivo)發芽測定法與體外(in vitro)發芽測定法(李, 1987)。孤挺花'Blossom Peacock'不同花藥之花粉在體外 25°C 環境培養其發芽率為 77.9%-90.6% (圖 4.4)；由孤挺花'Blossom Peacock'三種不同花藥所產生之花粉直接與孤挺花'Design'雜交，進行體內花粉發芽之實際授粉測試，三種不同花藥所產生花粉皆可使雜交之種子親'Design'產生種子(圖 4.8、4.9；表 4.1)，Meerow (2000)亦指出重瓣孤挺花之育種，可取重瓣品種之瓣化雄蕊之花粉，進行雜交育種，可獲得雜交後裔。重瓣孤挺花'Blossom Peacock'之正常花藥、畸形花藥與瓣化花藥所產生花粉，分別授於單瓣孤挺花'Design'之柱頭上，完成雜交授粉，授粉後 30 天，分別採收果莢，從果莢中取出種子，而平均

每果莢種子數為 57-69 粒。播種後種子發芽率僅為 28%-36% (表 4.1)，分析原因可能是有些種子之發育較差，從種子外觀可看出較薄且小甚至乾扁(圖 4.9)，所以造成播種後之種子發芽率較差，但是仍可順利產生雜交後裔，僅數量多寡不同。



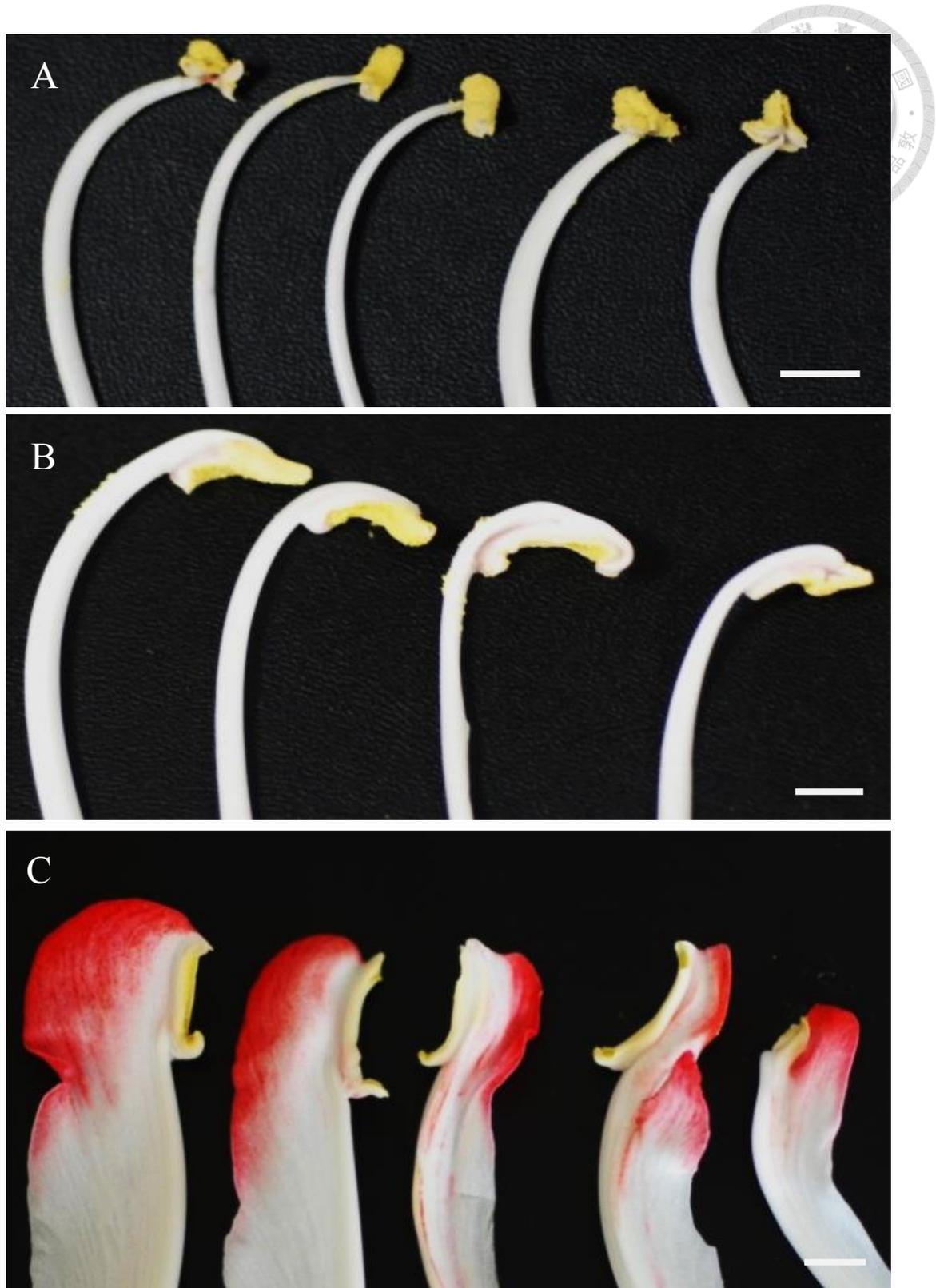


圖 4.1. 重瓣孤挺花 'Blossom Peacock' 之正常(A)、畸形(B)及瓣化(C)花藥  
Fig. 4.1. Normal (A), defective (B), and petaloid (C) anther of double-flowered  
amaryllis 'Blossom Peacock'. Bars = 1 cm.



圖 4.2. 參試之六個重瓣孤挺花品種

Fig. 4.2. Six double-flowered amaryllis cultivars used in this study. Bars = 1 cm.

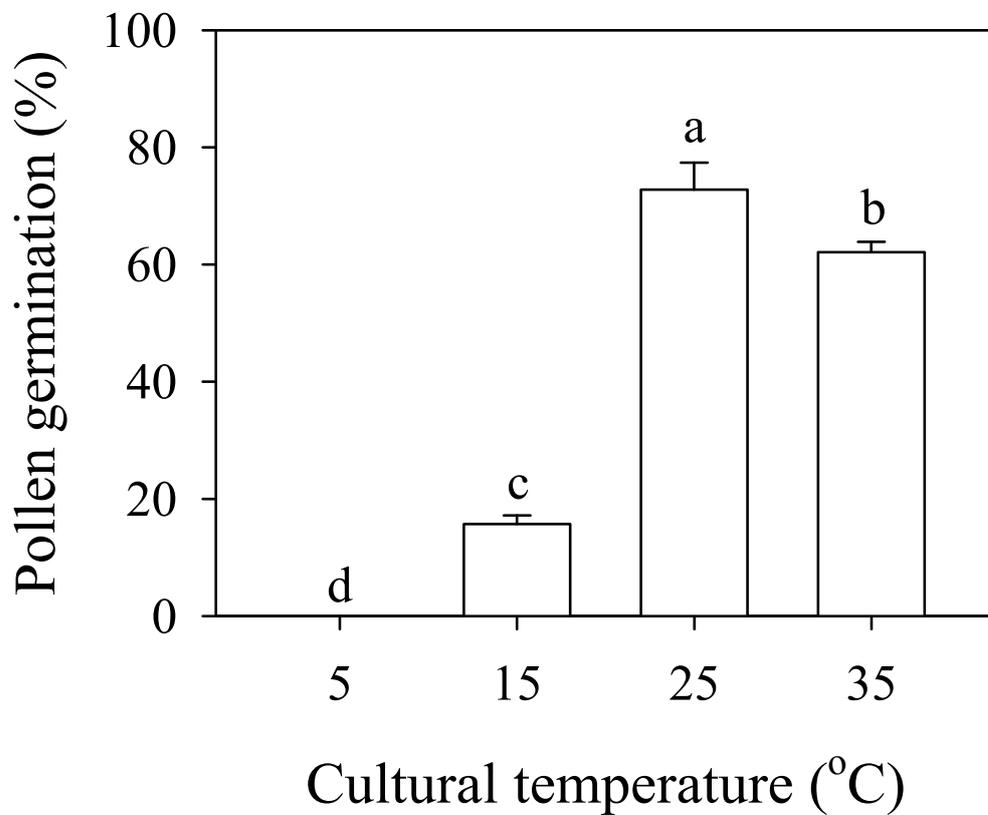


圖 4.3. 培養溫度對重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥之花粉發芽率之影響  
Fig. 4.3. Effect of cultural temperature on pollen germination from normal anther of double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’. Bars indicate standard error of the means (n=3). Data were Bliss-transformed before subjecting to statistical analysis. Mean separation by LSD test at  $P < 0.05$ .

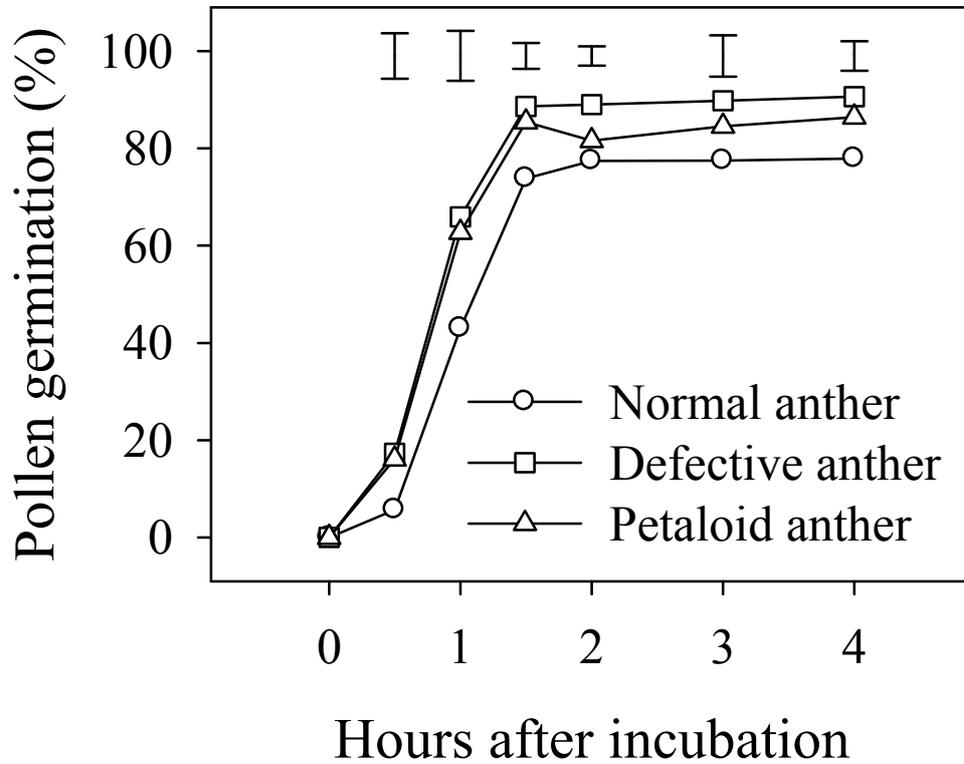


圖 4.4. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥、畸形花藥或瓣化花藥之花粉培養在 25°C 之發芽率變化

Fig. 4.4. Changes in germination percentage of pollen from normal, defective, or petaloid anther at 25°C in double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’. Bars indicate  $LSD_{0.05}$  at respective time after incubation.

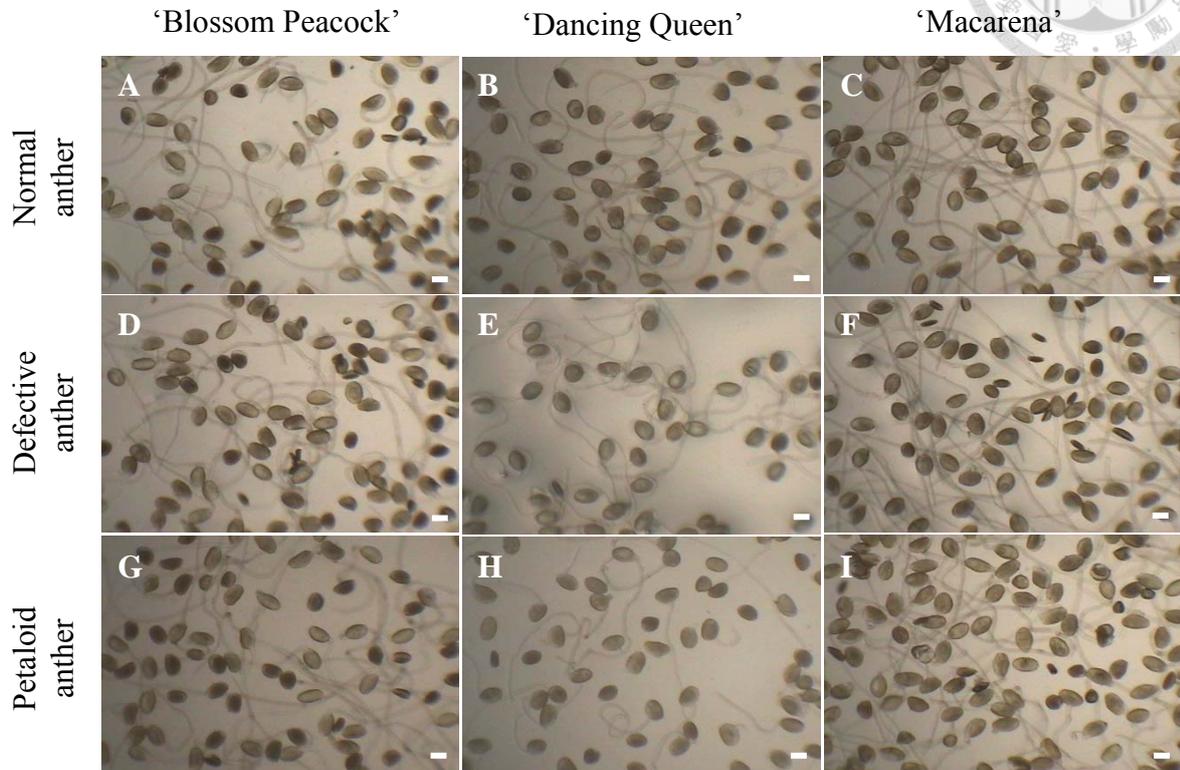


圖 4.5. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’、‘Dancing Queen’及‘Macarena’正常(A-C)、畸形(D-F)及瓣化(G-I)花藥之花粉發芽情形。

Fig. 4.5. Germination of pollen from normal (A-C), defective (D-F), and petaloid (G-I) anthers of double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’, ‘Dancing Queen’, and ‘Macarena’ after in vitro incubation for two hours. Bars = 0.1 mm.

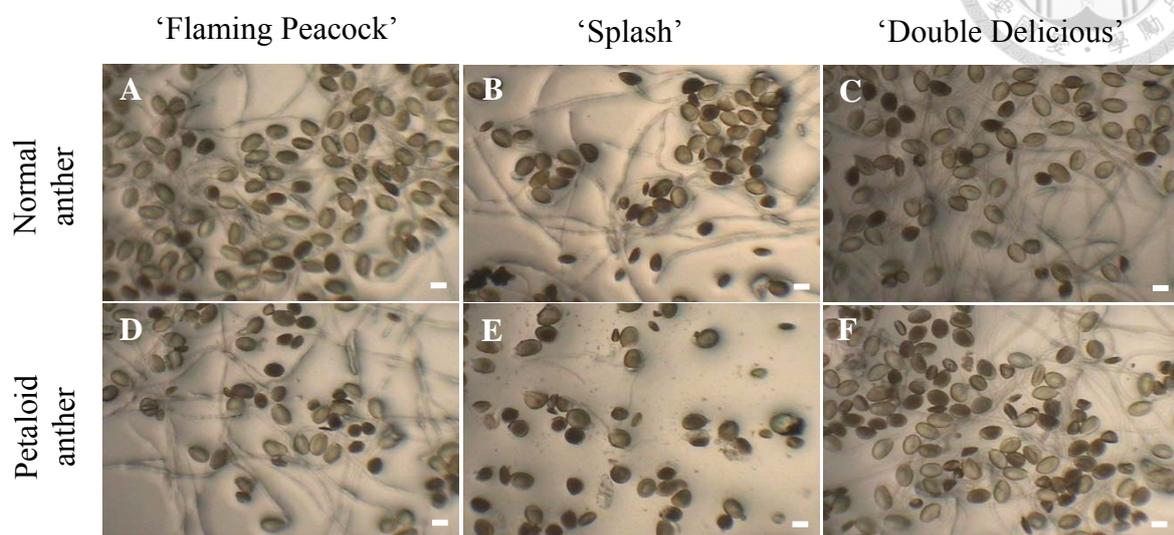


圖 4.6. 重瓣孤挺花‘Flaming Peacock’、‘Splash’及‘Double Delicious’正常(A-C)及瓣化(D-F)花藥之花粉發芽情形。

Fig. 4.6. Germination of pollen from normal (A-C) and petaloid (D-F) anthers of double-flowered amaryllis ‘Flaming Peacock’, ‘Splash’, and ‘Double Delicious’ after in vitro incubation for two hours. Bars = 0.1 mm.

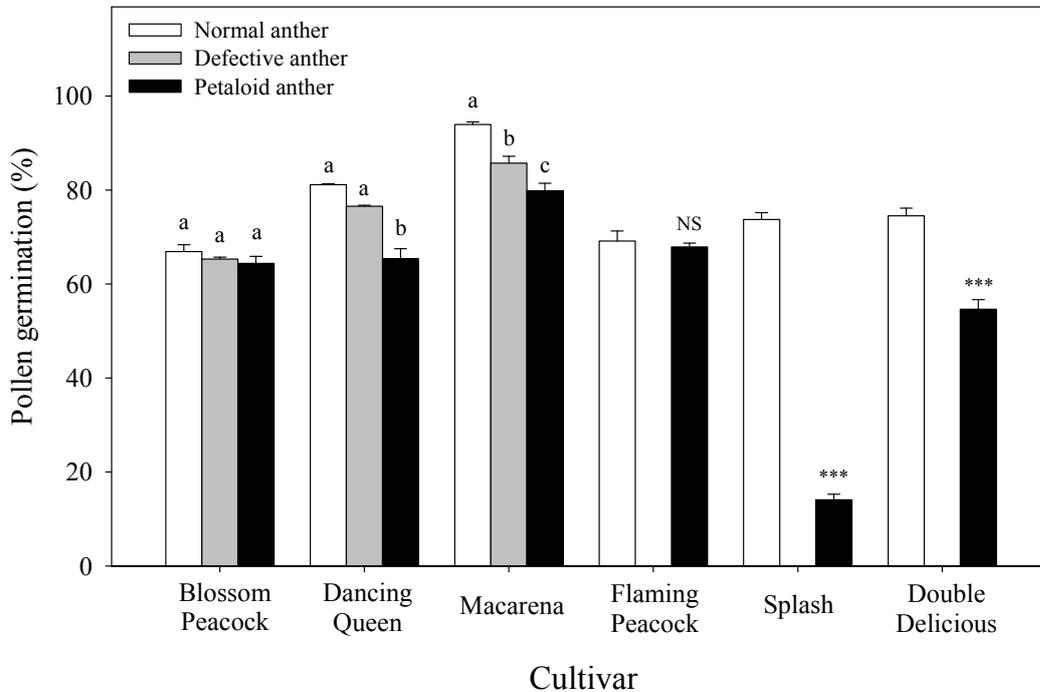


圖 4.7. 重瓣孤挺花品種之正常花藥、畸形花藥及瓣化花藥之花粉發芽率比較

Fig. 4.7. Comparison of pollen source, as from normal, defective, or petaloid anther, on pollen germination in double-flowered amaryllis cultivars. Bars indicate standard error of the means. Data were Bliss-transformed before subjecting to statistical analysis. Mean separation within cultivar by LSD test at  $P < 0.05$  for ‘Blossom Peacock’, ‘Dancing Queen’, and ‘Macarena’. No defective anther could be collected in ‘Flaming Peacock’, ‘Splash’, and ‘Double Delicious’.

NS, \*\*\* Nonsignificant of significant at  $P < 0.01$  by  $t$ -test for ‘Flaming Peacock’, ‘Splash’, and ‘Double Delicious’.

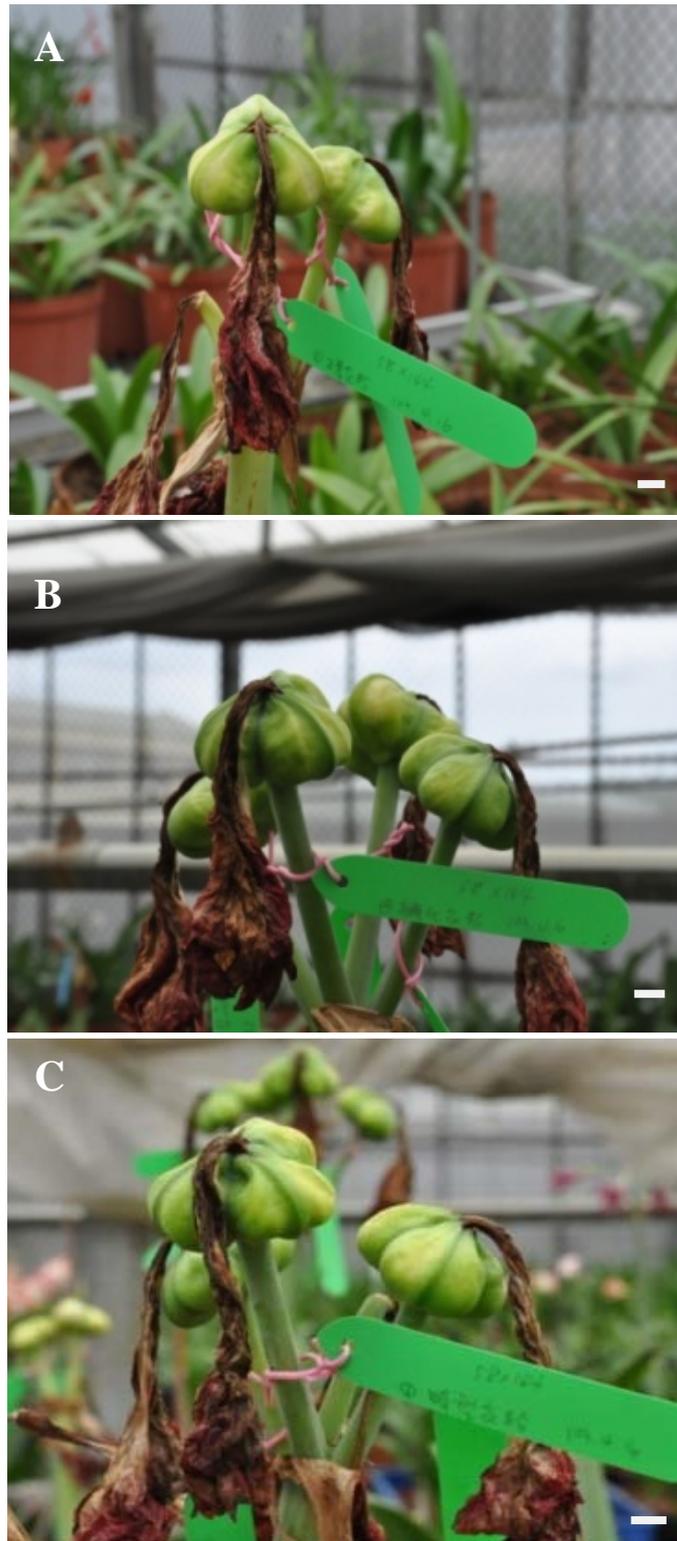


圖 4.8. 取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常(A)、畸形(B)及瓣化花藥之花粉授於單瓣孤挺花‘Design’柱頭 30 天後之結實情形。

Fig. 4.8. Fruit sets at 30 days after pollinating single-flowered amaryllis ‘Design’ with pollen from normal (A), defective (B), and petaloid (C) anthers of double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’. Bars = 1 cm.



圖 4.9. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’正常花藥之花粉與單瓣孤挺花‘Design’雜交，所獲得種子。

Fig. 4.9. Seeds of single-flowered amaryllis ‘Design’ pollinated with pollen from normal anther of double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’. Bar = 1cm.

表 4.1. 重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’之正常、畸形或瓣化花藥之花粉與單瓣孤挺花‘Design’雜交，所獲得種子數與發芽率

Table 4.1. Seed number and seed germination in single-flowered amaryllis ‘Design’ pollinated with pollen from normal, defective, or petaloid anther of double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’.

Anther type	Seed number per fruit	Seed germination (%) <sup>y</sup>
Normal	68.7 a <sup>z</sup>	30.3 a
Defective	56.7 a	28.3 a
Petaloid	66.0 a	36.3 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P < 0.05$ .

<sup>y</sup>Data were Bliss-transformed before subjecting to statistical analysis.

## 參考文獻(References)

- 李金龍. 1987. 園藝作物花粉活力測定與貯藏之研究. 科學農業 5:347-356.
- 林秉詩. 2000. 溫度對岩桐屬生長之影響及雜交後裔性狀表現. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文.
- 陳錦木. 2013. 重瓣日日春之花芽形態、花形遺傳及育種. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系博士論文.
- Brewbaker, J.L. and B.H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. J. Bot. 50:859-865.
- Buitink, J., O. Leprince, M.A. Hemminga, and F.A. Hoekstra. 2000. Effect of moisture and temperature on the aging kinetics of pollen: Interpretation based on cytoplasmic mobility. Plant Cell Environ. 23:967-974.
- Cross, R.H., S.A.B. McKay, A.G. McHughen and P.C. Bonham-Smith. 2003. Heat-stress effects on reproduction and seed set in *Linum usitatissimum* L. (flax). Plant Cell Environ. 26:1013-1020.
- Honda, K., H. Watanabe, and K. Tsutsui. 2002. Cryopreservation of *Delphinium* pollen at -30°C. Euphytica 126:315-320.
- Kakani, V.G., P.V.V. Prasad, P.Q. Craufurd, and T.R. Wheeler. 2002. Response of in vitro pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to temperature. Plant Cell Environ. 25:1651-1661.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. Herbertia 15:69.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). Breeding ornamental plants. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Okubo, H. 1993. *Hippeastrum*, p. 321-334. In: A. De Hertogh and M. Le Nards (eds.). The physiology of flower bulbs. Elsevier Science, The Netherlands.
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.

- 
- Sato, S., M.M. Peet, and J.F. Thomas. 2002. Determining critical pre- and post-anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. *J. Expt. Bot.* 53:1187-1195.
- Saxe, H., M.G.R. Cannel, O. Johnsen, M.G. Ryan, and G. Vourlitis. 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytol.* 149:369-400.
- Shivanna, K.R. and B.M. Johri. 1985. The angiosperm pollen structure and function. Wiley Eastern, New Delhi, India.
- Shivanna, K.R. and N.S. Rangaswamy. 1992. Pollen biology. Springer-Verlag, Germany.
- Stanley, R.G. and H.F. Linkskens. 1974. Pollen: Biology, biochemistry, management. Springer, New York, U.S.A.
- Stone, J.L., J.D. Thomson, and S.J. Dent. 1995. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: A review. *Amer. J. Bot.* 82:1186-1197.
- Weaver, M.L. and H. Timm. 1988. Influence of temperature and water status on pollen viability in bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113:13-15.
- Weinbaum, S.A., D.E. Parfitt, and V.S. Polito. 1984. Differential cold sensitivity of pollen grain germination in two *Prunus* species. *Euphytica* 33:419-426.
- Young, L.W., R.W. Wilen, and P.C. Bonham-Smith. 2004. High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. *J. Expt. Bot.* 55:485-495.

## 第五章 孤挺花重瓣性狀之遺傳

### Chapter 5. Inheritance of Double-floweredness in Amaryllis



附加關鍵字：卡方分析、顯性、雜交後裔、修飾基因

Additional index words : chi-square fit, dominance, progeny, modified gene

#### 摘要

本研究中參試單瓣孤挺花自交或雜交所得後代皆為單瓣。因重瓣品種雌不稔、無法獲得種子，故以孤挺花單瓣品種為種子親與重瓣品種為花粉親進行雜交，觀察 65 個雜交組合、共 3936 株後裔，並嘗試以雜交一代之後裔單瓣與重瓣株數，進行重瓣遺傳之推論。若以一雙基因顯性表現重瓣並受一隱性修飾基因調節之模式評估後代，結果有 45 組雜交組合後代分離比符合 1 重瓣: 3 單瓣( $\chi^2 = 0.00-7.68$ )，16 組雜交組合後代分離比符合 3 重瓣: 5 單瓣( $\chi^2 = 0.04-7.48$ )，2 組雜交組合後代分離比符合 1 重瓣: 1 單瓣( $\chi^2 = 0.00$ )。

#### Abstract

Single-flowered amaryllis cultivars were selfed or crossed and only single-flowered progenies were obtained. Since double-flowered cultivars are not able to set seeds, single-flowered amaryllis cultivars were used as female parents, and crossed with double-flowered cultivars which produce pollen. A total of 3936 progenies were created from 65 cross combinations and from the number of single-flowered and double-flowered progenies tried to deduce the inheritance of double-flowered. A model consists of two dominant genes expressed in the heterozygous or homozygous state causing double-flowered phenotype and modified by a recessive locus was proposed. Progenies of 45 cross combination segregated into 1 double : 3 single ratio ( $\chi^2 = 0.00-7.68$ ), 16 cross combinations segregated into 3 double : 5 single ( $\chi^2 = 0.04-7.48$ ) and 1 cross combination segregated into 1 double : 1 single ( $\chi^2 = 0$ ). However, three

cross combinations did not fit into the proposed model ( $\chi^2 = 8.64-27.78$ ).



## 前言(Introduction)

重瓣孤挺花育種的源起於 1866 年由 M. Albert Wagner 於古巴哈瓦那野外所發現的重瓣型 *Hippeastrum equestre* f. *albertii* (Read, 2004)，不過一直到 1930 年 McCann 才正式發表第一個重瓣孤挺花品種(McCann, 1937)。不同作物中重瓣性狀之遺傳行為多變(趙和劉，2009)，可分為等位基因控制之顯性遺傳，如早小菊 [*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat) Kit.] (林和李，2000)和萬壽菊(Horn, 2002)；隱性，如紫羅蘭[*Matthiola incana* (L.) R. Br.] (張和王，2006)、花煙草(*Nicotiana glauca* L.) (Zainol and Stimart, 2001)；不完全顯性，如香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.) (Scovel et al., 1998)；隱性上位性，如鳳仙花，單瓣相對於茶花型重瓣，為雙基因控制的隱性上位性(程和劉，2000)。或為多基因控制伴隨修飾基因作用，如天竺葵 (Almousslem et al., 1989)；微效多基因控制，如大理花(Crane and Lawrence, 1947)；數量遺傳，如杜鵑花(Heursel and Garretsen, 1989)。甚至與倍體性有關，如金蓮花 (*Tropaeolum majus* L.) (Eyster and Burpee, 1936)，或為細胞質遺傳，如耬斗菜 (*Aquilegia vulgaris* L.)。

重瓣花具有花色較深、美觀、花朵壽命長及香氣較濃等優點(Reynolds and Tampion, 1983)。參試之 39 個單瓣孤挺花品種自交、互相雜交或反交之後裔全為單瓣型，而 16 個重瓣品種則因器官瓣化或雖有柱頭，但授粉仍無法獲得種子。目前多數的花卉作物都有重瓣品種，但重瓣花起源與遺傳模性複雜，使得相關花卉作物研究資料缺少，且植物重瓣品種多數由突變產生並透過人為篩選育成，若在野外自然重瓣突變植物因生殖能力低弱常自然淘汰(Wang et al., 2011)。目前對孤挺花重瓣特性之遺傳資訊有限，本研究分析雜交後裔族群中單瓣及重瓣植株數量，探討孤挺花重瓣遺傳模式。

## 材料與方法(Materials and Methods)



於 2012 年 4 月以 39 個單瓣孤挺花品種為種子親，16 個重瓣孤挺花品種為花粉親進行雜交授粉。授粉後約 30 天採收種子，播種於長×寬×高為 42×33×10 cm 之塑膠籃中，播種介質為泥炭苔(OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4：1 (v/v)。育苗環境每日最強光強度平均約為 1300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，平均溫度約為 22±3°C。播種三個月後、植株 3-4 片葉，移植至長×寬×高為 60×40×20 cm 之塑膠籃中，栽培介質同前述。育苗期間每月施一次含 200 mg·L<sup>-1</sup> N 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20, Scotts Co., Marysville, Ohio, U.S.A.)，並視介質乾燥程度調整澆水頻率及給水量，定期實施病蟲害防治。當育苗六個月(播種後九個月)後，將植株定植至種苗改良繁殖場之簡易溫室內田間，栽培環境為每日最強光強度約為 1400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，平均溫度約為 22±3°C，進行開花球之養成，定植一年後採收種球，種球大小周徑約為 25-30 cm。採收之種球置於溫度 8±2°C、相對濕度 70%-80%之冷藏庫，黑暗貯藏 3 個月後，於 3 月中旬定植於簡易溫室內田間畦上，畦面寬 80-90 cm，株距 20-25 cm，栽培環境為每日最強光強度約為 1400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，平均溫度約為 22±3°C，種球定植後約一個月開花，進行雜交後裔植株性狀觀察並調查各授粉組合重瓣及單瓣株數，共計觀察 4288 株，並以卡方分析進行合適性評估。

## 結果與討論(Results and Discussion)

本研究中參試 39 個單瓣孤挺花品種之自交或品種間雜交所得後代皆為單瓣，而以重瓣品種為種子親授粉後，無法獲得種子。故以孤挺花單瓣品種為種子親與重瓣品種為花粉親進行雜交，並嘗試以雜交組合之雜交一代後裔單瓣與重瓣株數共 3936 株，進行孤挺花重瓣遺傳之可能推論。綜觀 65 個雜交組合雜交 F<sub>1</sub> 後裔即出現重瓣型(表 5.1)，顯示孤挺花重瓣性狀可能是屬於顯性遺傳，以重瓣相對於單瓣為顯性表現。前人亦指出孤挺花重瓣花為顯性遺傳(Latapie and Latapie, 1982；McCann, 1937, 1950)。其他花卉作物，如仙客來(*Cyclamen persicum* Mill.)、香石竹

(*Dianthus caryophyllus* L.)、非洲菊(*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook. f.)、矮牽牛(*Petunia ×hybrid* Hort. Ex Vilm.)、玫瑰(*Rosa ×hybrida* Hort)亦有重瓣性狀相對於單瓣性狀為顯性遺傳之行為(Horn, 2002)。由於孤挺花的重瓣可能是由顯性基因所控制，且 65 個組合中僅有 2 個組合重瓣與單瓣比約為 1:1，其餘 45 個組合為 1:3，18 個組合約為 3:5(表 5.1)，顯示其重瓣遺傳不可能為一對基因所控制。

天竺葵重瓣性狀遺傳模式為 Nugent 和 Snyder 於 1967 年提出，除 *D* 基因相對於 *d* 基因為顯性決定重瓣外，尚有 *M* 基因(修飾基因)決定天竺葵之花瓣數。當單瓣天竺葵(基因型是 *dd, M1M1* 或 *dd, M1m1*)與半重瓣天竺葵(*Dd, M1m1*)雜交，其後代單瓣:半重瓣之分離比為 1:1，若雜交一代單瓣再與半重瓣雜交(*dd, M1m1 × Dd, M1m1*)則後代分離比為 4 單瓣 : 3 半重瓣 : 1 重瓣，此結果可得知決定天竺葵之重瓣基因尚有修飾基因存在。天竺葵共有 3 個 *M* 基因(*M1/m1*、*M2/m2* 與 *M3/m3*)決定重瓣之花瓣數量，每增加一個隱性同質修飾基因(如 *m1m1*、*m2m2* 或 *m3m3*)則天竺葵花瓣數增加 5 瓣，可增加至 20 片花瓣數。本試驗調查孤挺花雜交後裔結果發現雜交後裔第一代即出現重瓣，代表為顯性基因控制但重瓣後代中以半重瓣型株數多於重瓣型(所有雜交組合合計 271 株重瓣、831 株半重瓣、2834 株單瓣)，此遺傳方式與天竺葵類似。若以天竺葵重瓣遺傳模式推測孤挺花重瓣遺傳模式，孤挺花控制重瓣遺傳基因為一雙顯性 *D* 基因座之模式，且又有修飾基因存在。故假設孤挺花重瓣型親本基因型為 *D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm*，單瓣型親本則可分為 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>MM*、*d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm* 及 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm*，此三種單瓣基因型不論自交或互相雜交皆無法產生重瓣型後代。又假設當僅一 *D* 基因座為顯性、*M* 基因座同質隱性結合時外表型為半重瓣(*D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm* 或 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm*)。則此三種雜交組合之後裔中重瓣(重瓣+半重瓣)相對於單瓣之預期分離比分別為 1:3、3:5 及 1:1。依此模型重新計算雜交後裔最適分離比，並以種子親(即單瓣)親本可能的基因型排序。結果顯示參試親本中，27 個單瓣親本基因型可能為 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>MM*，10 個單瓣親本基因型可能為 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm*，有兩個單瓣親本基因型可能為 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm* (表 5.1)。雖此模型指出當基因型為 *D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm* 或 *d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm* 時可能為半重瓣型，但雜交組合花粉親(即重瓣)親本原



則上不選擇半重瓣型品種，故應可排除此兩種基因型為重瓣親本之可能。此模型另一可能性為重瓣型親本基因型可能為  $D_1d_1D_2d_2mm$  而非假設中之  $D_1d_1D_2d_2Mm$ ，但推測此  $M$  基因座同質隱性結合之親本可能瓣化完整(如第三章提出之分類系統中 II-5 型)，多數情況下無法產生花粉而無法順利做為雜交組合之親本，故排除此種基因型為重瓣親本之可能。

本推論顯示以兩  $D$  基因座(顯性遺傳)及一  $M$  基因座(隱性遺傳)模式，確實可詮釋本試驗所得雜交後裔分離比，並可將單瓣種子親區分為三種基因型，且不會與單瓣親本自交或互相雜交無法獲得重瓣後代之觀察衝突。

重瓣花遺傳特性在許多花卉種類中皆有推論出重瓣遺傳模式(Horn, 2002; Craig, 1963; Crane and Lawrence, 1947; Heursel and Garretsen, 1989; Noack, 1962)，天竺葵之雜交後裔利用自交和互相雜交，由後裔之分離比率，可算出遺傳控制模式(Ballard, 1918)，天竺葵重瓣性狀遺傳則可藉由單瓣品種雜交後，雜交後裔可產生單瓣、半重瓣與重瓣之植株，並由雜交後裔回交單瓣親本，依孟德爾遺傳定率，可推得重瓣之遺傳模式(Nugent and Snyder, 1967)，但由於孤挺花所獲得之重瓣雜交後裔，無法再進行自交或雜交，僅能從雜交後裔之組合數與單瓣與重瓣株數推論。

表 5.1. 卡方檢定孤挺花品種雜交後代重瓣(含半重瓣)與單瓣花型之分離比

Table 5.1. Chi-square test for segregation ratio of double- (including semi-double) to single-flowered progenies from crossing single- (♀) to double-flowered (♂) amaryllis cultivars.

♀ (Single-flowered)	♂ (Double-flowered)	Phenotype		Proposed ratio	$\chi^2$
		Double	Single		
<i>d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>MM × D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm :</i>					
Susan	Rio (I-2)	3	19	1 : 3	1.52
Telstar	Double Picotee	20	57	1 : 3	0.04
Design	Blossom Peacock (II-2)	16	92	1 : 3	5.98
Amoretta	Salmon Peacock	9	24	1 : 3	0.09
Trendsetter	Lady Jane (II-5)	2	21	1 : 3	3.26
Trendsetter	Rozetta (I-3)	14	16	1 : 3	1.08
Trendsetter	Salmon Peacock	5	14	1 : 3	0.02
Trendsetter	Blossom Peacock (II-2)	35	63	1 : 3	0.13
Hermitage	Blossom Peacock (II-2)	10	59	1 : 3	4.06
Royal Velvet	Pasadena (II-3)	8	36	1 : 3	1.09
Royal Velvet	Jewel (II-1)	5	29	1 : 3	1.92
Royal Velvet	Double Picotee	6	26	1 : 3	0.67
Royal Velvet	Rio (I-2)	9	20	1 : 3	0.56
Royal Velvet	White Peacock (II-4)	13	41	1 : 3	0.02
Royal Velvet	Blossom Peacock (II-2)	39	123	1 : 3	0.07
Royal Velvet	Dancing Queen (II-3)	27	133	1 : 3	5.63
Basuto	Salmon Peacock	8	20	1 : 3	0.19
Blushing Bride	Rio (I-2)	7	36	1 : 3	1.74
Blushing Bride	Salmon Peacock	15	31	1 : 3	1.42
Blushing Bride	Blossom Peacock (II-2)	5	22	1 : 3	0.60
Double Six	Salmon Peacock	8	17	1 : 3	0.65
Pardina Cross	Dancing Queen (II-3)	25	69	1 : 3	0.13
Salmon Wonder	Rio (I-2)	4	20	1 : 3	0.89
White Striped	Blossom Peacock (II-2)	5	19	1 : 3	0.22
White Striped	Dancing Queen (II-3)	18	36	1 : 3	0.92
Fairytale	Ragtime (I-3)	29	128	1 : 3	3.57
Fairytale	Salmon Peacock	38	113	1 : 3	0
Fairytale	Dancing Queen (II-3)	16	29	1 : 3	2.67
Matterhorn	Salmon Peacock	26	73	1 : 3	0.08
Matterhorn	Elvas (II-4)	6	20	1 : 3	0.05
Tosto	Dancing Queen (II-3)	6	26	1 : 3	0.67
Minerva	Aphrodite (II-4)	1	17	1 : 3	3.63
Comtesse	Dancing Queen (II-3)	6	18	1 : 3	0
Athene	Rio (I-2)	8	29	1 : 3	0.23
La Paz	Jewel (II-1)	4	35	1 : 3	4.52
Grandeur	Rio (I-2)	14	34	1 : 3	0.44

表 5.1. 卡方檢定孤挺花品種雜交後代重瓣(含半重瓣)與單瓣花型之分離比

Table 5.1. Chi-square test for segregation ratio of double- (including semi-double) to single-flowered progenies from crossing single- (♀) to double-flowered (♂) amaryllis cultivars.

♀ (Single-flowered)	♂ (Double-flowered)	Phenotype		Proposed ratio	$\chi^2$
		Double	Single		
Santos	Jewel (II-1)	1	27	1 : 3	6.86
Macarena	Jewel (II-1)	3	18	1 : 3	1.29
Macarena	Rio (I-2)	13	37	1 : 3	0.03
Macarena	Limone	13	21	1 : 3	3.18
Pink Impression	Salmon Peacock	2	15	1 : 3	1.59
Pink Impression	Blossom Peacock (II-2)	8	65	1 : 3	7.68
Calgary	Double Picotee	1	20	1 : 3	4.59
Vivaldi	Rio (I-2)	6	19	1 : 3	0.01
Exposure	Cherry Nymph (II-4)	3	32	1 : 3	5.04
<i>d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm × D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm :</i>					
Orange Sovereign	Rozetta (I-3)	18	57	3 : 5	5.84
Orange Sovereign	Dancing Queen (II-3)	60	108	3 : 5	0.23
Orange Sovereign	Elvas (II-4)	19	50	3 : 5	2.92
Lucky Strike	Rozetta (I-3)	79	259	3 : 5	28.78 > 7.82 <sup>z</sup>
Lucky Strike	Philadelphia (II-5)	79	108	3 : 5	1.80
Lucky Strike	Cherry Nymph (II-4)	48	53	3 : 5	4.33
Yellow Goddess	Pasadena (II-3)	6	12	3 : 5	0.13
Yellow Goddess	Rio (I-2)	4	26	3 : 5	7.48
Yellow Goddess	Rozetta (I-3)	21	9	3 : 5	13.52 > 7.82
Yellow Goddess	Philadelphia (II-5)	15	21	3 : 5	0.27
Yellow Goddess	Dancing Queen (II-3)	15	34	3 : 5	0.99
Kalahari	Pasadena (II-3)	63	75	3 : 5	3.91
Kalahari	White Peacock (II-4)	26	72	3 : 5	5.03
Spring Time	Dancing Queen (II-3)	19	25	3 : 5	0.61
Wonderland	Blossom Peacock (II-2)	19	20	3 : 5	2.09
Hurricane	Blossom Peacock (II-2)	17	20	3 : 5	1.13
Faro	Salmon Peacock	16	25	3 : 5	0.04
Happiness	Rio (I-2)	10	12	3 : 5	0.59
<i>d<sub>1</sub>d<sub>1</sub>d<sub>2</sub>d<sub>2</sub>mm × D<sub>1</sub>d<sub>1</sub>D<sub>2</sub>d<sub>2</sub>Mm :</i>					
Sunny	Rio (I-2)	14	14	1 : 1	0.00
Pink Wonder	Dancing Queen (II-3)	36	15	1 : 1	8.64 > 7.82

<sup>z</sup>A calculated  $\chi^2$  value larger than table value was given.

## 參考文獻(References)

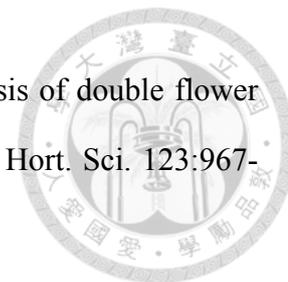


- 林功濤、李鳳宜. 2000. 北京小菊品種選育及遺傳規律探討. 中國花卉科技 20 年. 科學出版社. 北京. 中國.
- 張元聰、王裕權. 2006. 單重瓣蓮所遺傳在紫羅蘭育種上之應用. 植物種苗 8:1-15.
- 程金水、劉青林. 2000. 園林植物遺傳育種學. 中國林業出版社. 北京. 中國.
- 趙印泉、劉青林. 2009. 重瓣花的形成機理及遺傳特性研究進展. 西北植物學報 4:832-841.
- Almouslem, A.B. and R.A.E. Tilney-Bassett. 1989. The inheritance of flower doubleness and nectar spur in *Pelargonium ×hortorum* Bailey. Euphytica 41:23-29.
- Ballard, W.R. 1918. Notes on geranium breeding. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 15:62-65.
- Brandham, P.E. and P.S. Bhandol. 1997. Chromosomal relationships between the genera *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). Kew Bull. 52:973-980.
- Craig, R. 1963. The inheritance of several characters in the geranium, *Pelargonium hortorum* Baily. Penn. State Univ., State College, Penn., U.S.A., PhD. Diss.
- Crane, M.B. and J.C. Lawrence. 1947. The genetics of garden plants. MacMillan, London, U.K.
- Eyster, W.H. and D. Burpee. 1936. Inheritance of doubleness in the flowers of the nasturtium. J. Hered. 27:51-60.
- Heursel, J. and F. Garretsen. 1989. Inheritance of corolla size, number of stamens and plants with petaloid stamens in evergreen azaleas (*Rhododendron obtusa*). Plant Breeding 103:304-309.
- Horn, W. 2002. Breeding methods and breeding research, p. 47-83. In: A. Vainstein (ed.). Breeding for ornamental: Classical and molecular approaches. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Latapie, W.R. 1980. Suggested standards for judging double amaryllis. Plant Life 36:41.
- Latapie, W. and H. Latapie. 1982. Breeding hybrid amaryllis – a rewarding experience.



- Plant Life 38:15-18.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. *Herbertia* 15:69.
- McCann, J.J. 1950. McCann double amaryllis. *Plant Life* 6:107-108.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In : D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). *Breeding ornamental plants*. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Ning, G.G., X.P. Shi, H.R. Hu, Y. Yan, and M.Z. Bao. 2009. Development of a range of polyploid lines in *Petunia hybrida* and the relationship of ploidy with the single-/double-flower trait. *HortScience* 44:250-255.
- Noack, R. 1962. Plasmatische Vererbung in der Gattung Begonia. *Z. Botanik* 50:52-59.
- Nugent, P.E. and R.J. Snyder. 1967. The inheritance of floret doubleness, floret center color, and plant habit in *Pelargonium hortorum* Bailey. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 91:680-690.
- Poggio, L., G. González, and C.A. Naranjo. 2007. Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): Variation in genome size. *Bot. J. Linn. Soc.* 155:171-178.
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum* the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Reynolds, J. and J. Tampion 1983. *Double flowers: A scientific study*. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.
- Scovel, G., H. Ben-Meir, M. Ovadis, H. Itzhaki, and A. Vainstein. 1998. RAPD and RFLP markers tightly linked to the locus controlling carnation (*Dianthus caryophyllus*) flower type. *Theor. Appl. Genet.* 96:117-122.
- Wang, Y.Q., R. Melzer, and G. Theissen. 2011. A double-flowered variety of lesser periwinkle (*Vinca minor fl. pl.*) that has persisted in the wild for more than 160 years. *Ann. Bot.* 107:1445-1452.
- Zainol, R. and D.P. Stimart. 2001. A monogenic recessive gene, *fw*, conditions flower doubling in *Nicotiana glauca*. *HortScience* 36:128-130.

Zainol, R.D., P. Stimart, and R.F.E. Evert. 1998. Anatomical analysis of double flower morphogenesis in *Nicotiana alata* Link & Otto. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123:967-972.



## 第六章 重瓣具香氣之孤挺花品種選育

### Chapter 6. Breeding and Selection for Double-flowered and Fragrant

#### *Hippeastrum* Cultivars



附加關鍵字：性狀、花色、授粉、後裔

Additional index words: characteristics, flower color, pollination, progeny

#### 摘要

為選育出重瓣且具香氣之孤挺花切花新品種，從收集孤挺花種原中以單瓣‘San Remo’與重瓣‘Blossom Peacock’等孤挺花為親本，進行雜交，從雜交組合中選拔出重瓣‘種苗 1 號-粉珍珠’，植株性狀為葉狹長形，全緣，頂端鈍形，葉長 60-70 cm、葉寬 5.0-6.5 cm，葉面顏色綠色(RHS 146B)，葉背顏色綠色(RHS 137B)。花莖長 60-70 cm，花莖中空，花莖中間部位直徑約 2 cm，每花莖上有 4 朵花，小花梗長為 5.5-6.5 cm。花被瓣長 17.5-19.5 cm、寬為 17-19 cm，花瓣數 18-21 片，約有 0-2 個瓣化雄蕊產生。花瓣緣具輕微波浪狀，外花被瓣為寬橢圓形，長 10-11 cm，寬為 6-7 cm，具有紅色(RHS 50A)瓣緣和紅色(RHS 45B)斑點，內花被瓣為橢圓形，長 9-10 cm，寬為 3-5 cm。花色類型為鑲邊花型(picotee)，具淡香氣，子房為橢圓球形，長 1.8-2.4 cm，寬為 0.8-1.0 cm，顏色為綠色(RHS 141C)。

為選育出重瓣且具香氣之孤挺花盆花新品種，從收集孤挺花種原中以單瓣‘Design’與重瓣‘Blossom Peacock’為親本，進行雜交，從雜交組合中選拔出重瓣‘種苗 2 號-紅豔’，植株性狀為葉狹長形，全緣，頂端鈍形，葉長 60-70 cm、葉寬 5.5-7.0 cm，葉面顏色綠色(RHS 137B)，葉背顏色綠色(RHS 138A)。花莖長 35-45 cm，花莖中空，花莖中間部位直徑約 2.5 cm，每花莖上有 4 朵花，小花梗長為 6.5-7.5 cm。花被瓣長 17.5-19.5 cm、寬為 17-19 cm，花瓣數 13-16 片，約有 1-3 個瓣化雄蕊產生。花瓣緣具輕微波浪狀，外花被瓣為狹倒卵形，長 10-11 cm，寬為 7-8 cm，主要顏色紅色(RHS 44B+)，內花被瓣為橢圓形，長 9-10 cm，寬為 5-6 cm。花色類型為火燄花紋，具淡香氣，子房為橢圓球形，長 1.8-2.4 cm，寬為 1.0-1.2 cm，顏色

為綠色(RHS 141A)。

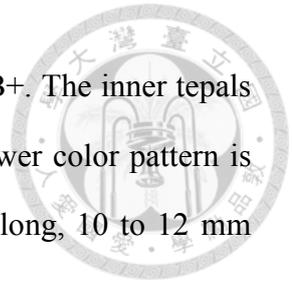


## Abstract

The first objective of this study was to breed new cut *Hippeastrum* cultivar with double-flowered and fragrance. The single-flowered of *H.* 'San Remo' was used as a seed parent and double-flowered of *H.* 'Blossom Peacock' as a pollen parent for crossing. 'T.S.S. No.1- Pink Peral' was bred. Characteristics of leaves are lorate with obtuse apices and entire margins, 60 to 70 cm long, and 5 to 6.5 cm wide. Coloration of the upper surface is RHS green 146B and the lower surface is RHS green 137B. Scapes are 60 to 70 cm tall, hollow, 2 cm in diameter, two to three per bulb, each bearing four flowers per scape; pedicels are 5.5 to 6.5 cm long. The tepal is 17.5 to 19.5 cm long, 17 to 19 cm wide laterally. The tepal number is 18 to 21 and with 0-2 petaloid stamens. The tepals are slightly undulate along their margins. The outer tepals are broadly elliptic, 10 to 11 cm long, and 6-7 cm wide at their broadest, with RHS red 50A margin and RHS red 45B spots. The inner tepals are elliptic, 9 to 10 cm, and 3-5 cm wide at their broadest. The flower color pattern is picotee with light fragrant. Ovary shape is ellipsoid, 18 to 24 mm long, 8 to 10 mm wide, RHS green 141C.

The second objective of this study was to breed new pot *Hippeastrum* cultivar. 'T.S.S. No.2- Red Splendor' was bred from *H.* 'Design' as a seed parent and *H.* 'Blossom Peacock' as a pollen parent crossing. Characteristics of leaves are lorate with obtuse apices and entire margins, 60 to 70 cm long, and 5.5 to 7 cm wide. Coloration of the upper surface is RHS green 137B and the lower surface is RHS green 138A. Scapes are 35 to 45 cm tall, hollow, 2.5 cm in diameter, two to three per bulb, each bearing four flowers per scape; pedicels are 6.5 to 7.5 cm long. The tepal is 17.5 to 19.5 cm long, 17 to 19 cm wide laterally. The tepal number is 18 to 21 and with 1-3 petaloid stamens. The tepals are slightly undulate along their margins. The outer tepals are narrow obovate, 10

to 11 cm long, and 7-8 cm wide at their broadest, with RHS red 44B+. The inner tepals are elliptic, 9 to 10 cm, and 5-6 cm wide at their broadest. The flower color pattern is flamed with light fragrant. Ovary shape is ellipsoid, 18 to 24 mm long, 10 to 12 mm wide, RHS green 141A.



## 前言(Introduction)

重瓣花具有花瓣數增加比單瓣花更具吸引力，觀賞價值通常高於單瓣品種且花朵壽命普遍較單瓣品種壽命長(Read, 2004)，重瓣孤挺花價格也較單瓣品種高。重瓣孤挺花育種發展歷史較單瓣品種短，McCann 於 1930 年才選育出第一個重瓣品種，因此選育重瓣孤挺花為現今孤挺花育種之主要目標，具有市場需求性。

大多數孤挺花原種或栽培品種之花朵並不具香氣(Merrow, 2000)，若花卉具香氣則可提高消費者購買意願，因此花香氣育種，亦是孤挺花育種者所追求之目標(Merrow, 2000)。

臺灣孤挺花品種主要由國外進口，由於品種育成國家之差異性，引進品種在臺灣氣候條件表現與植物性狀亦有差異(表 3.2-3.3)，常常無法達到業者或消費者之需求。為拓展我國孤挺花產業，選育出適合台灣氣候條件及我國消費者喜好之孤挺花新品種，可促進我國孤挺花產業，因此本研究以選育重瓣花且具香氣之孤挺花新品種為目標。

## 材料與方法(Materials and Methods)

國內消費者喜愛紅色、重瓣具香氣孤挺花，因此從孤挺花種原圃中篩選自荷蘭進口單瓣品種之商業品種‘San Remo’與‘Design’為種子親，與日本進口之商業重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’為花粉親。

於 2001 年 4 月進行雜交授粉工作，授粉後約 30 天採收種子進行播種，播種於長×寬×高為 42×33×10 cm 之塑膠籃中，播種介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland):3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4:1 (v/v)。



播種後植株生育至具 3-4 片葉後，移植至長×寬×高為 60×40×20 cm 之塑膠籃中，栽培介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4：1 (v/v)。進行小種球養成，栽種六個月後，於 2002 年 12 月植株移植至種苗改良繁殖場之簡易溫室內田間畦床上，栽培環境為每日最強光強度約為  $1400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，平均溫度約為  $22\pm 3^\circ\text{C}$ ，進行開花球之養成，定植一年後，2002 年 12 月採收種球，種球大小周徑約為 25-30 cm。採收之種球置於  $8\pm 2^\circ\text{C}$  之冷藏庫中 3 個月後，2003 年 4 月取出定植於簡易溫室內田間畦床上進行雜交後裔植株性狀觀察及單株選拔工作。選拔出具潛力單株後，於 2003 年 12 月進行單株種球量化繁殖工作，將種球依 Huang (1990) 等人之孤挺花雙鱗片法，進行種球量化繁殖。將切好之雙鱗片埋入 4 號蛭石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)介質中，置於  $25^\circ\text{C}$  環境下培育，經 5 個月後取出小鱗球。小鱗球定植於長×寬×高為 60×40×20 cm 黑色塑膠籃中，栽培介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4：1 (v/v)，試驗期間每月施一次含  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  N 之 20N-8.6P-16.6 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。並定期實施病蟲害防治。經二年培育後，種球周徑 25 cm 以上，定植於簡易溫室內田間畦床上，待植株抽梗開花時進行調查，每品系調查 20 株，性狀調查項目則以農糧署植物品種權公告查詢系統之孤挺花品種試驗檢定方法與品種性狀調查表進行調查。包含花莖長度、花莖花青素著色與否、小花梗長度、花正面型態、外花被形狀、花瓣內面主色、花色類型、花瓣皺摺程度、花被最大長度、寬度、花冠深度、花瓣外捲程度及花香氣等。花色是以 RHS 色卡(The Royal Horticultural Society, 2007)比對顏色；葉性狀則是以自基部向上第 3 葉片之完全展開葉為主，量測葉寬、葉面花青素著色等性狀。

香氣成分分析為上午 1000 HR 選取盛開孤挺花花朵，放入 6 號 PE 夾鏈袋 (170×120×0.035 mm)，於  $25^\circ\text{C}$  下平衡 1 小時後，以固相微量萃取針組(SPME, Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.) 吸附 5 分鐘，使用 Agilent 公司(CA, U.S.A.) Model 6890 氣相層析儀及 Model 5973N 四極桿質譜儀，分離管柱為 HP-5 (120×170×0.04 mm)，升

溫條件為初溫 40°C，維持 1 分鐘，以每分鐘 5°C 升溫至 150°C，維持 1 分鐘，再以每分鐘 10°C 升溫至 200°C，維持 11 分鐘，注射口溫度為 250°C，質譜儀之離子源溫度 230°C，遞送氣體為氦氣，質譜數據以 NIST8.0 質譜資料庫分析。



## 結果(Results)

於 2001 年 4 月進行‘San Remo’與‘Blossom Peacock’之雜交組合，共獲得 22 單株，於 2003 年雜交後裔開花。觀察各雜交後裔之花朵性狀，其中單瓣花有 18 株，重瓣花有 4 株，重瓣後裔單株編號為 D901001-D901004，花徑在 16-18 cm，花徑長在 58-66 cm，花被瓣數在 9-20 片，正常雄蕊數為 0-3，瓣化雄蕊在 1-3 (表 6.1)，從 4 株重瓣雜交後裔中挑選花被瓣數多、正常雄蕊少、且瓣化圓整之花，為白色底具紅色滾邊之單株，代號為 D90101 (圖 6.1)，進行無性繁殖量產植株。於 2005 年 4 月量產植株開花，經觀察植株各個性狀一致，且具穩定性。並命名為‘種苗 1 號-粉珍珠’ (Liu and Yeh, 2015)，於 2006 年 4 月提出植物品種權申請，2006 年 7 月獲得品種權。

孤挺花‘種苗 1 號-粉珍珠’ (表 6.3)之植株性狀為葉狹長形，全緣，頂端鈍形，葉長 60-70 cm、葉寬 5.0-6.5 cm，葉面顏色綠色(RHS 146B)，葉背顏色綠色(RHS 137B)。花莖長 60-70 cm，花莖中空，花莖中間部位直徑約 2 cm，每花莖上有 4 朵花，小花梗長為 5.5-6.5 cm。花被瓣長 17.5-19.5 cm、寬為 17-19 cm，花瓣數 18-21 片，約有 0-2 個瓣化雄蕊產生。花瓣緣具輕微波浪狀，外花被瓣為寬橢圓形，長 10-11 cm，寬為 6-7 cm，具有紅色(RHS 50A)瓣緣和紅色(RHS 45B)斑點，內花被瓣為橢圓形，長 9-10 cm，寬為 3-5 cm。花色類型為鑲邊花型(picotee)，具淡香氣，香氣主要成分是桉油醇(Cineole)、β-芳樟醇(β-Linalool)、羅勒烯(1,3,6-Octatriene)、Linalool oxide、環己烯甲醇(3-Cyclohexene-1-methanol)及金合歡烯(α-Farnesene)等 6 種香氣(圖 6.2)。子房為橢圓球形，長 1.8-2.4 cm，寬為 0.8-1 cm，顏色為綠色(RHS 141C)。

於 2001 年 4 月進行孤挺花‘Design’與‘Blossom Peacock’之雜交授粉，共獲得



108 雜交後裔單株，於 2003 年開花，觀察各雜交後裔之花朵性狀，其中單瓣花有 92 株，重瓣花有 16 株。重瓣後裔單株編號為 D904001-D904016，花徑在 12-18 cm，花莖長在 33-43 cm，花被瓣數在 10-14 片間，正常雄蕊數為 2-6，瓣化雄蕊在 1-4 (表 6.2)，從 16 株重瓣雜交後裔中挑選花被瓣數多、正常雄蕊少、且瓣化圓整之花朵，為白色底具紅色火焰花型之花朵，代號為 D904004，進行無性繁殖量產植株。於 2005 年 4 月量產植株開花，經觀察植株各個性狀一致，且具穩定性。並命名為‘種苗 2 號-紅豔’。於 2006 年 4 月提出植物品種權申請，2006 年 7 月獲得品種權。

孤挺花‘種苗 2 號-紅豔’ (表 6.4) 之植株性狀為葉狹長形，全緣，頂端鈍形，葉長 60-70 cm、葉寬 5.5-7.0 cm，葉面顏色綠色(RHS 137B)，葉背顏色綠色(RHS 138A)。花莖長 35-45 cm，花莖中空，花莖中間部位直徑約 2.5 cm，每花莖上有 4 朵花，小花梗長為 6.5-7.5 cm。花被瓣長 17.5-19.5 cm、寬為 17-19 cm，花瓣數 13-16 片，約有 1-3 個瓣化雄蕊產生。花瓣緣具輕微波浪狀，外花被瓣為狹倒卵形，長 10-11 cm，寬為 7-8 cm，主要顏色紅色(RHS 44B+)，內花被瓣為橢圓形，長 9-10 cm，寬為 5-6 cm。花色類型為火燄花紋，具淡香氣，子房為橢圓球形，長 1.8-2.4 cm，寬為 1.0-1.2 cm，顏色為綠色(RHS 141A)。具淡香氣。

## 討論(Discussion)

花色是花卉的重點，主要依花瓣所含色素之種類和量而顯出不同的花色。植物體所含之色素，依化學構造，大致可分為黃色素(flavonoid)、花青素(anthocyanin)、胡蘿蔔素(carotenoids)、單寧(tannins)及葉綠素等五大類(黃, 1996; Griesbach, 2005; Tanaka, 2008)。臺灣節慶傳統習俗喜歡紅色代表喜慶，Merrow (2000) 提出花青素如紅色，相對於以胡蘿蔔素為基礎之黃色是顯性，而綠色與白色花顯然是無色素之表現。因此本研究則選擇以紅色系列為親本(‘San Remo’、‘Design’與‘Blossom Peacock’)，因此在雜交後裔之花朵之花色表現，全部呈現紅色系列(圖 6.1)，只是花被瓣所呈現之顏色類型不同而已，基本上符合育種目標，選育紅色之新品種。選育孤挺花‘種苗 1 號-粉珍珠’之花莖長 60-70 cm，其實單瓣種子親‘San Remo’花莖



在所收集之單瓣品種中已較長，再與重瓣‘Blossom Peacock’進行雜交，所以雜交後裔可獲得較長之花莖長度，符合選育出具切花條件之新品種。

一般重瓣花具有花色較深、美觀、花朵壽命長及香氣較濃等優點(Reynolds and Tampion, 1983)，且重瓣花育種亦是全世界育種目標之一(Meerow, 2000)，重瓣孤挺花所增加花瓣數顯然是由雄蕊或雌蕊等生殖器官瓣化轉變而來(Bell, 1977)，因此重瓣花可能不具有任何生殖器官結構或在轉變過程中產生部分含花粉之花藥結構等，而子房等雌蕊瓣化後降低雌蕊功能，甚至柱頭扭曲變形或消失(Meerow, 2000)。本研究育種雖由‘Design’與‘Blossom Peacock’之雜交組合可獲得 108 株，但其中重瓣花有 16 株，重瓣植株比例僅 14.8%，且大部分重瓣植株之瓣化程度不佳，會有扭曲花瓣化，或是小片花瓣化情形產生，並不具商業價值，此與最初在 1866 年古巴哈瓦那發現重瓣孤挺花(*Hippeastrum equestre* f. *albertii*)原生種後，McCann 於 1930 年選育出第一個重瓣品種，由於花形差，此品種並不具商業價值，情形類似。

花香氣育種，是花卉育種者所追求目標之一。蝴蝶蘭原生種中約有三分之一具有濃或淡的香味，蝴蝶蘭香氣育種則常利用具香氣之原生種之親本進行(蔡，2014)。常綠型杜鵑較少具香氣，為進行常綠型杜鵑之香氣育種，則利用不同種之落葉型具香氣之杜鵑與具香氣之常綠型杜鵑進行雜交與正反交，成功創育出具香氣常綠型杜鵑品種(Kobayashi et al., 2008)。Meerow (2009)提出花朵具香氣之性狀在孤挺花中顯然是隱性之特性，因此本次香氣育種目標選擇具香氣之商業品種為親本(‘San Remo’、‘Design’與‘Blossom Peacock’)，其中所獲得‘種苗 1 號-粉珍珠’雜交後裔其香氣主要成分是桉油醇(Cineole)、羅勒烯(1,3,6-Octatriene)、Linalool oxide、芳樟醇( $\beta$ -Linalool)、環己烯甲醇(3-Cyclohexene-1-methanol)及金合歡烯( $\alpha$ -Farnesene)等(圖 6.2)，與親本‘Blossom Peacock’之香氣主要組成只差  $\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol 與各成分含量多寡差異而已。

表 6.1. 孤挺花 'San Remo' 與 'Blossom Peacock' 之雜交重瓣單株性狀比較

Table 6.1. Comparison of double-flowered progenies' characteristics from crossing amaryllis 'San Remo' with 'Blossom Peacock'.

Code	Flower diameter (cm)	Scape length (cm)	Tepal no.	Normal stamen no.	Petaloid stamen no.
D901001	17.8 a <sup>z</sup>	65.8 a	20.2 a	0 c	1.0 b
D901002	18.2 a	66.2 a	14.6 b	3.2 a	3.2 a
D901003	16.2 b	58.4 b	9.2 c	3.4 a	2.8 a
D901004	18.2 a	60.2 b	12.8 b	2.2 b	2.9 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P < 0.05$ .

表 6.2. 孤挺花 'Design' 與 'Blossom Peacock' 之雜交重瓣單株性狀比較

Table 6.2. Comparison of double-flowered progenies' characteristics from crossing amaryllis 'Design' with 'Blossom Peacock'.

Code	Flower diameter (cm)	Scape length (cm)	Tepal no.	Normal stamen no.	Petaloid stamen no.
D904001	16.2 b <sup>z</sup>	41.6 a	13.8 a	4.2 b	1.2 b
D904002	15.3 b	39.2 b	12.8 a	5.4 a	2.5 b
D904003	14.1 c	43.3 a	11.4 b	6.2 a	1.8 b
D904004	18.2 a	38.5 b	14.2 a	2.2 c	2.2 b
D904005	17.5 a	36.2 c	12.2 b	4.4 b	2.0 b
D904006	18.1 a	35.5 c	12.4 b	5.8 a	1.8 b
D904007	16.4 b	37.9 b	11.8 b	4.2 b	2.4 b
D904008	13.1 c	41.3 a	12.5 b	5.6 a	2.3 b
D904009	15.5 b	34.7 c	11.9 b	3.8 b	3.8 a
D904010	17.9 a	38.6 b	10.2 c	5.8 a	3.6 a
D904011	12.4 c	41.4 a	11.8 b	4.2 b	2.5 b
D904012	16.5 b	39.4 b	12.3 b	4.6 b	1.9 b
D904013	18.1 a	33.1 d	10.4 c	5.8 a	3.7a
D904014	17.6 a	42.2 a	10.2 c	4.4 b	4.2 a
D904015	16.2 b	35.4 c	11.8 b	3.9 b	3.8 a
D904016	18.3 a	36.1 c	12.9 a	4.3 b	3.6 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by LSD test at  $P < 0.05$ .

表 6.3. 孤挺花‘種苗 1 號-粉珍珠’植物品種特性表及照片

Table 6.3. Plant character list and photo of amaryllis ‘T.S.S. No.1-Pink Pearl’.

公告日期：96 年 6 月 27 日	
申請案編號：950029	申請日期：95 年 5 月 10 日
公開案號：519	公開日期：95 年 6 月 2 日
證書號碼：A00498	發證日期：96 年 6 月 27 日
植物種類：	中名：孤挺花
	英名：Amaryllis
	學名： <i>Hippeastrum hybridum</i> Hort.
品種名稱：種苗 1 號-粉珍珠(TSS No.1- Pink Pearl)	
權利期間：自中華民國 96 年 6 月 27 日至 116 年 6 月 26 日	
品種權人：農業委員會種苗改良繁殖場	代表人：陳國雄
地址：台中縣新社鄉大南村興中路 46 號	電話：04-25811311
<p>品種特性概要：</p> <p>一、葉：無花青素，寬度中等。</p> <p>二、花：花莖長度中等、無花青素、周徑中等；小花梗長度短，無花青素；重瓣，花瓣數中等；花正面型態星形。花被最大長度長、寬度寬，重疊弱。外花瓣橢圓形，花瓣內面主要顏色紅色(RHS 46B)，花色類型為星狀線條，瓣基具花青素，花冠深，具香氣。</p>	
 	

表 6.4. 孤挺花‘種苗 2 號-紅豔’植物品種特性表及照片

Table 6.4. Plant character list and photo of amaryllis ‘T.S.S. No.2-Red Splendor’.

公告日期：96 年 6 月 27 日	
申請案編號：950030	申請日期：95 年 5 月 10 日
公開案號：520	公開日期：95 年 6 月 2 日
證書號碼：A00499	發證日期：96 年 6 月 27 日
植物種類：	中名：孤挺花
	英名：Amaryllis
	學名： <i>Hippeastrum hybridum</i> Hort.
品種名稱：種苗 2 號-紅豔(TSS No.2- Red Splendor)	
權利期間：自中華民國 96 年 6 月 27 日至 116 年 6 月 26 日	
品種權人：農業委員會種苗改良繁殖場	代表人：陳國雄
地址：台中縣新社鄉大南村興中路 46 號	電話：04-25811311
<p>品種特性概要：</p> <p>一、葉：無花青素，寬度中等。</p> <p>二、花：花莖長度短、具花青素、周徑中等；小花梗長度中等，具花青素；花重瓣，花瓣數中等；花正面型態星形。花被最大長度長、寬度寬，重疊弱。外花瓣狹倒卵形，花瓣內面主要顏色紅色(RHS 44B+)，花色類型為火燄花紋，瓣基具花青素，花冠深，具香氣。</p>	
<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div>	



圖 6.1. 孤挺花‘San Remo’與‘Blossom Peacock’之雜交後裔重瓣單株花朵  
Fig. 6.1. The flower of the progeny from crossing amaryllis ‘San Remo’ with ‘Blossom Peacock’. Bars = 1 cm.

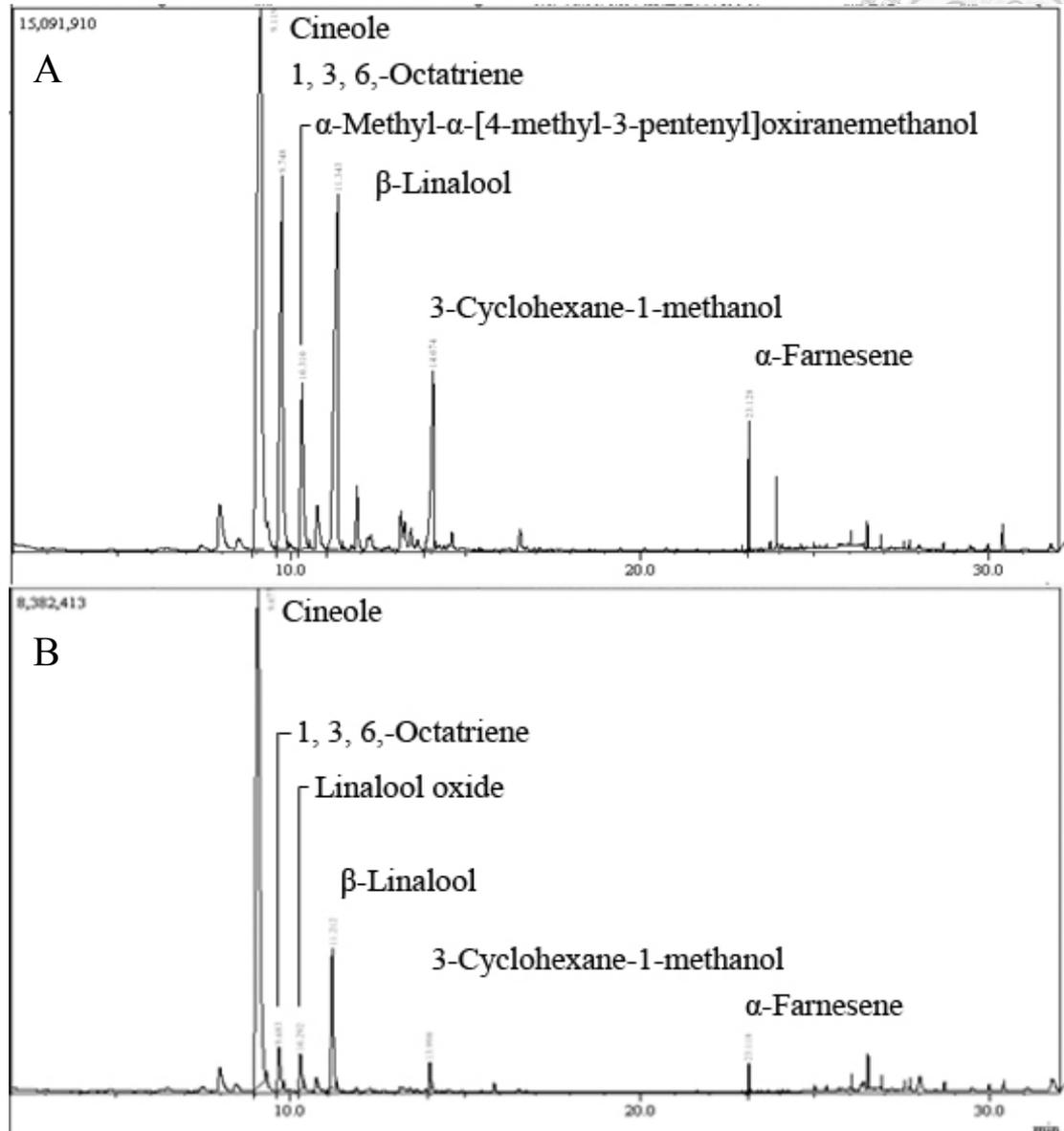


圖 6.2. 利用 GC-MS 分析重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’ (A)及其芳香重瓣後代‘種苗 1 號-粉珍珠’ (B)之香氣成分組成

Fig. 6.2. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile aroma compounds from double-flowered amaryllis ‘Blossom Peacock’ (A) and its double-flowered fragrant progeny ‘T.S.S. No.1- Pink Pearl’ (B).

## 參考文獻(References)

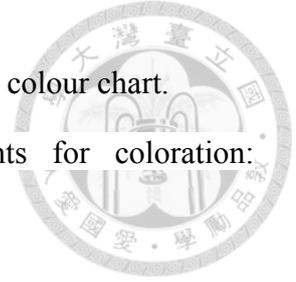


- 黃敏展. 1996. 亞熱帶花卉學總論. 國立中興大學園藝系. 臺中. 臺灣.
- 農糧署植物品種權公告查詢系統 <http://newplant.afa.gov.tw/>
- 蔡宛育. 2014. 蝴蝶蘭香氣化合物分析之研究. 中國醫藥大學藥用化妝品學系碩士論文.
- Bell, W.D. 1973. New potentials in amaryllis breeding. Proc. Fla. State Hort. Soc. 86:462-466.
- Bell, W.D. 1977. Double flowered amaryllis. Proc. Fla. State Hort. Soc. 90:121-122.
- Liu, M.C. and D.M. Yeh. 2015. 'T.S.S. No.1-Pink Pearl': A double-flowered and fragrant amaryllis cultivar. HortScience 50:1588-1590.
- Griesbach, R.J. 2005. Biochemistry and genetics of flower color, p. 89-99. In: J. Janick (ed.). Plant breeding reviews. Vol. 25. John Wiley & Sons, Oxford, U.K.
- Huang, C.W., H. Okubo, and S. Uemoto. 1990. Importance of two scales in propagation *Hippeastrum hybridum* by twin scaling. Scientia Hort. 42:141-149.
- Kobayashi, N., D. Mizuta, and A. Nakatsuka. 2008. Attaining inter-subgeneric hybrids in fragrant azalea breeding and the inheritance of organelle DNA. Euphytica 159:67-72.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. Herbertia 15:69.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In : D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). Breeding ornamental plants. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Meerow, A.W. 2009. Tilting at windmills: 20 years of *Hippeastrum* breeding. Israel J. Plant Sci. 57:303-313.
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum* the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Reynolds, J. and J. Tampion. 1983. Double flowers: A scientific study. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.

Royal Horticultural Society. 2007. The Royal Horticultural Society's colour chart.

Tanaka, Y., N. Sasaki, and A. Ohmiya. 2008. Plant pigments for coloration:

Anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54:733-749







## 第七章 應用胚珠培養獲得具香氣之孤挺花雜交後代

### Chapter 7. Fragrant Amaryllis Progenies Obtained through Ovule Culture

附加關鍵字：2n 配子、胚挽救、固相微萃取、三倍體

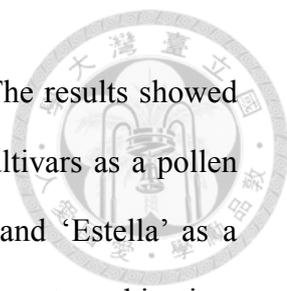
Additional index words: 2n gamete, embryo rescue, solid phase microextraction, triploid

#### 摘要

以香氣濃郁之二倍體品種與具香氣之四倍體進行雜交育種，可選育出具香氣的孤挺花新品系。本研究以香氣濃郁之二倍體 Estella 為親本與商業具香氣之四倍體品種進行雜交授粉，雜交授粉後 10-14 天採收果莢，並進行胚珠無菌培養，結果以 Estella 為種子親(seed parent)之雜交組合，播種後胚珠發芽率小於 18.2%，以 Estella 為花粉親(pollen parent)之雜交組合，播種後胚珠發芽率在 2.4%-100%。提高培養基內蔗糖濃度，可提高以 Estella 為種子親之大多數雜交組合的胚珠發芽率。如以 Estella 為花粉親，提高蔗糖濃度是否可提高胚珠發芽率，則視雜交組合不同而有差異。孤挺花‘Toronto’與‘Bold Leader’雜交或‘Trendsetter’與‘Estella’雜交組合，皆以授粉後 14 天胚珠培養之胚珠發芽率最高。以 Estella 品種為親本，與孤挺花四倍體 ‘Faro’、‘Trendsetter’、‘Christmas Star’等品種進行雜交，獲得雜交後裔 14 株開花，並以流式細胞儀分別測試染色體倍數性，結果有 12 株雜交後裔為三倍體，2 株雜交後裔為四倍體。分析雜交後裔單株之花朵香氣化學成分，有親本香氣組成。

#### Abstract

To breed cultivars with fragrance of amaryllis, we selected with rich fragrant diploid cultivars and crossed with tetraploid cultivars of amaryllis. Fragrant cultivar of amaryllis ‘Estella’ crossed with different commercial cultivars by embryo rescued



method for ovules incubation to compare the ovules germination. The results showed that ‘Estella’ as a seed parent crossed with different commercial cultivars as a pollen parent combination, the ovules germination rate is below 18.2% and ‘Estella’ as a pollen parent crossed with different commercial cultivars as a seed parent combination, the ovules germination rate is 2.4%-100%. ‘Estella’ as a seed parent crossed with different commercial cultivars and ovules incubated with increased sucrose concentration could promote ovules germination rate. However ‘Estella’ as a pollen parent crossed with different commercial cultivars the germination rate will depend on different crossed combination. Whether ‘Toronto’ was crossed with ‘Bold Leader’ or ‘Trendsetter’ was crossed with ‘Estella’, obtained the highest ovules germination rate after 14 days pollination. There were 12 triploid progenies were obtained that result from diploid ‘Estella’ crossed with 3 tetraploid commercial cultivars including ‘Faro’, ‘Trendsetter’, and ‘Christmas Star’. Progenies A3 and B3 flowers were analyzed by solid-phase microextraction (SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry. The main volatile aroma compounds were similar to both parents.

### 前言(Introduction)

現今商業用孤挺花育種，已經朝向大花、花對稱、花筒短及花莖多之特性，此遺傳貢獻主要源自 *Hippeastrum leopoldii* J. A. Hort 和 *H. pardinum* A.T. Hunziker&Cocucci (Shields, 1979；Traub, 1958)，由於商品種持續選育與改良，造成與最初運用之原生種差異愈來愈大。

二倍體孤挺花品種，大多數具有自交不親和性特性(Bell, 1973；1977)。大多數孤挺花商業品種，以四倍體為主。主要原因是四倍體之孤挺花具有花朵大、易栽培且易於自花授粉或雜交授粉，產生高比率具活力之種子；但是由於長期進行四倍體之雜交育種，有些二倍體品種或原生種之優良特性也會漸漸被稀釋(Meerow, 2000)，因此利用二倍體原生種或二倍體品種為親本，導入抗病性、早花



性、多花性、特殊花色與香氣(Meerow, 2000 ; Read, 2004)特性等，是重要育種策略。

以二倍體及四倍體為親本進行雜交，理論上即可產生三倍體之孤挺花雜交後裔。但是以二倍體為種子親與四倍體為花粉親，則通常不會產生種子。但若以四倍體為種子親(seed parent)與二倍體為花粉親進行雜交，則可產生少數具稔性之種子(Bell,1977)。在進行三倍體之育種過程中，常常發現授粉後子房會漸漸膨大，但是在生育後期，即會產生夭折(abortion)，無法獲得雜交後裔植株，因此必須胚珠拯救。胚培養可克服未成熟胚與其母體組織間的不親和性，此外由於胚與培養基直接接觸，因此可加速胚體成熟(Reed, 2004 ; Stewart, 1981)，而胚或種子較小之物種，為避免在切除胚過程中造成傷害，通常會連同胚珠一起進行培養，如百合水仙屬(*Alstroemeria*)、仙客來屬(*Cyclamen*)、百合屬(*Lilium*)、向日葵屬(*Helianthus*)及倒地蜈蚣屬(*Torenia*)等作物都有雜交成功例子(郭, 2012 ; Ishizaka, 2008 ; De Jeu and Jacobsen, 1995 ; Sukno et al., 1999)。

商業孤挺花品種中，有香氣濃郁之二倍體品種如 Estella 與具香氣之四倍體品種如 Trendsetter、Faro、Blossom Peacock 等。孤挺花之香氣顯然是隱性遺傳，當親本皆是香氣品種時，則雜交後裔一般具香氣，若不具香氣之親本與具香氣之親本雜交，則後裔不具香氣(Meerow, 2000)。因此本研究取具濃郁香氣之二倍體與具香氣的四倍體品種為親本，進行雜交授粉，並利用胚珠無菌培養與培養基內之蔗糖濃度，期望能選育出具香氣孤挺花新品系。

## 材料與方法(Materials and Methods)

### 試驗一、四倍體與二倍體孤挺花商業品種雜交之後裔數量

於 2009 年 4 月 1 日至 4 月 10 日，以自荷蘭進口商業品種為親本，各品種先以流式細胞儀測定孤挺花倍體性，其中商業品種 Trendsetter、Hermitage、Royal Velvet、Nymph、Liberty、Bolder Leader、Fairytale、Matterhorn、Salmon Peacock、Blossom Peacock 與 Faro 為四倍體，Estella 為二倍體(表 3.5;圖 3.14)。商業品種



Trendsetter、Hermitage、Royal Velvet、Nymph、Liberty、Bolder Leader、Fairytale、Matterhorn、Salmon Peacock、Blossom Peacock、Estella 與 Faro 等進行雜交，共 13 個雜交組合，每雜交組合有二朵花進行授粉。授粉後約 30 天採收種子播種於長×寬×高為 42×33×10 cm 之塑膠籃中，播種介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland):3 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4:1 (v/v)。調查生育至二片本葉之雜交後裔株數。

#### 試驗二、不同雜交組合之胚珠發芽比較

授粉工作為 2012 年 4 月 13 日至 4 月 20 日於種苗改良繁殖場之簡易溫室內進行，平均溫度約在  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，每日最強光強度平均約在  $1300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，以‘Estella’為種子親與商業品種 Trendsetter、Nymph、Salmon Peacock、Blossom Peacock、Samba、Faro 與 Estella 進行雜交授粉，另以‘Estella’為花粉親與商業品種 Rosario、Trendsetter、Hermitage、Christmas Star、Amico、Sparkled Red、Red Star、Athene、Amputo、Santa Crue 與 Faro 等品種進行雜交，共進行 19 雜交組合。雜交授粉後 10-14 天採收果莢，以進行胚珠培養。培養基鹽類濃度為 1/4MS (Murashige and Skoog,1962)並添加  $7.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  sucrose (Sigma)與  $7\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  gelrite (Sigma)，培養基以 pH meter (BOX398, Loveland, CO, USA)量測 pH 值，以 NaOH 和 HCl 將 pH 值調整至 5.7。分注於 500 mL 之廣口瓶中，每瓶添加 100 mL，置於壓力  $1.3\ \text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$  與  $121^{\circ}\text{C}$  之高溫高壓滅菌釜滅菌 20 分鐘。於 2012 年 4 月 20 日至 5 月 1 日採收果莢，以 0.6%的次氯酸鈉溶液進行表面消毒 20 分鐘，再以無菌水清洗 3-5 次後切開果莢取出未成熟胚珠，置於試驗培養基中，室內培養環境為溫度  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，先進行黑暗培養 4 週後再光照培養 4 週，光照環境為以日光燈(旭光牌省電型晝光色日光燈，FL20D/18，臺灣日光燈股份有限公司，臺灣)提供平均光強度為  $54.8\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，每日光照時間為 14 小時。培養 8 週後觀察，以胚根突破種皮或長出子葉視為發芽，並記錄統計胚珠發芽率。

2015 年 4 月 21-22 日於種苗改良繁殖場之簡易溫室內進行，以‘Estella’為種子



親與商業品種 Double Record、Bogota、Benfica、Smoked Salmon、Design、Nymph、Rio、Snow White、Spring Time、Rilona、Misty、Estella、Showmaster、Temptation 與桃之華等品種進行雜交授粉，共進行 15 個雜交組合，果莢殺菌、培養基、培養環境與無菌胚珠培養週數、觀察與調查胚珠發芽率等如同上述。每雜交組合從果莢中取出 25 粒胚珠置於 500 mL 廣口瓶為 1 重複，共 4 重複，培養 8 週。

### 試驗三、培養基蔗糖濃度對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響

於 2012 年 4 月 13 日至 4 月 20 日於種苗改良繁殖場之簡易溫室內進行授粉，平均溫度約在  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，每日最強光強度平均約在  $1300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF，分別以 'Estella' 為種子親與不同商業品種 Trendsetter、Nymph、Salmon Peacock、Blossom Peacock、Samba、Faro 與 Showmaster 進行雜交授粉，另以 'Estella' 為花粉親與不同商業品種 Rosario、Trendsetter、Hermitage、Christmas Star、Amico、Sparkled Red、Red Star、Athene、Amputo、Santa Crue 與 Faro 等品種進行雜交，每雜交組合授二朵花，雜交授粉後 10-14 天採收果莢，於 4 月 20 日至 5 月 1 日採收果莢，每雜交組合從果莢中取出胚珠置於 500 mL 廣口瓶內，培養基鹽類濃度為 1/4MS，分別添加  $7.5$  或  $30\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  sucrose (Sigma)，與  $7\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  gelrite (Sigma)，pH 值調整至 5.7。由於不同雜交組合所獲得的胚珠數不同，因此僅就所有雜交組合的胚珠分成二組，直接播於含  $7.5$  或  $30\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  sucrose 中，試驗結果並未作生物統計分析。果莢殺菌、培養環境與無菌胚珠培養週數、觀察與調查胚珠發芽率等如同試驗二所述。

### 試驗四、培養基蔗糖濃度、授粉天數與雜交組合對孤挺花雜交胚珠培養之影響

試驗 2015 年 4-5 月於種苗場簡易溫室內進行不同雜交組合之授粉工作。以 'Estella' × 'Trendsetter' 與 'Toronto' × 'Bold Leader' 組合，進行正反交，分別於雜交後 7、10 與 14 天採收果莢。培養基鹽類濃度為 1/4MS，分別添加  $7.5$ 、 $15$  或  $30\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  sucrose (Sigma)，與  $7\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  gelrite (Sigma)，pH 值調整至 5.7。以自動分注器分裝於試管中，每試管添加 10 mL。果莢殺菌、培養環境與無菌胚珠培養週數、觀察



與調查胚珠發芽率等如同試驗二所述。每一試管播種 10 粒胚珠為 1 重複，共 4 重複。

#### 試驗五、孤挺花香氣三倍體新品系育成與性狀調查

於 2014 年 4-5 月選取孤挺花具香氣之二倍體‘Estella’為親本，與具香氣之四倍體孤挺花‘Faro’、‘Trendsetter’、‘Christmas Star’等品種進行雜交，共進行‘Estella’×‘Faro’、‘Faro’×‘Estella’、‘Estella’×‘Trendsetter’、‘Trendsetter’×‘Estella’與‘Christmas Star’×‘Estella’等 5 個雜交組合。植株授粉後 10-14 天內，採收果莢並進行挑胚與胚珠培養，培養基鹽類濃度為 1/4MS 及添加  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  sucrose (Sigma) 與  $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  gelrite (Sigma)，pH 值調整至 5.7。待植株長出二葉片後，移置簡易溫室進行瓶苗出瓶定植，簡易溫室之平均溫度約在  $22\pm 3^\circ\text{C}$ ，每日最強光強度平均約在  $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPF。定植於直徑 11.0 cm 容積約為 500 mL 塑膠盆內，栽培介質為泥炭苔(Kekkila OPM 640W, Kekkila Oy, Finland)：4 號真珠石(南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)=4：1 (v/v)。半年後將植株移置容積約為 2300 mL、直徑 18 cm 塑膠盆內，進行開花球之養成，種植期間每月施用一次  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。以人工方式給水，每盆每次約澆水 120 mL；用藥參考植物保護手冊，定期實施病蟲害防治。

依農糧署植物品種權公告查詢系統之孤挺花品種試驗檢定方法與品種性狀調查表。並以流式細胞儀測試‘Estella’×‘Faro’、‘Faro’×‘Estella’、‘Trendsetter’×‘Estella’、‘Estella’×‘Trendsetter’與‘Christmas Star’×‘Estella’雜交後裔之染色體倍數。

另選取孤挺花 Estella 與 Faro 品種及其雜交後裔單株 A3 與 B3，於上午選取完全盛開花朵，將花朵個別放入 8 號 PE 夾鏈袋(170×120×0.035 mm)後，置於 25 °C 室內環境內，平衡 1 小時後，以固相微量萃取針組(SPME, Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.)進行香氣萃取，吸附時間 5 分鐘。使用 Agilent 公司(CA, U.S.A.) Model 6890 氣相層析儀及 Model 5973N 四極桿質譜儀，進行氣體分析。分離管柱為 HP-5



(120×170×0.04mm)，升溫條件：初溫 40℃，維持 1 分鐘，以 5℃/分升溫至 150℃，維持 1 分鐘，再以 10℃/分升溫至 200℃，維持 11 分鐘，注射口溫度為 250℃，質譜儀之離子源溫度 230℃，遞送氣體為氦氣，質譜數據以 NIST8.0 質譜資料庫分析。

### 統計分析

本研究皆採完全隨機試驗設計(Completely randomized design, CRD)，試驗結果以 SPSS (IBM, Armonk, U.S.A.)統計分析軟體，以最小顯著性差異法(Least significant difference test, LSD)比較各處理組合平均值間之差異顯著性，顯著水準為  $P < 0.05$ 。百分比數據於統計分析前先經 Bliss 轉換(Bliss transformation)。

## 結果(Results)

### 試驗一、孤挺花不同商業品種雜交對雜交後裔養成之影響

於 2005 年所進行孤挺花品種間雜交共 13 個組合，結果以‘Fairytale’×‘Salmon Peacock’之組合所獲得雜交後裔數有 68 株最多，其次是‘Trendsetter’×‘Royal Velvet’組合有 65 株，以‘Santa’×‘Liberty’之雜交組合獲得後裔株數較少，僅有 14 株(表 7.1)。而二倍體與四倍體之雜交如‘Trendsetter’×‘Estella’、‘Hermitage’×‘Estella’、‘Estella’×‘Trendsetter’、‘Estella’×‘Nymph’與‘Estella’×‘Salmon Peacock’等 5 個雜交組合，在授粉後 14 天後子房即黃化萎凋，皆無法獲得種子及雜交後裔。

### 試驗二、不同雜交組合之胚珠發芽比較

以孤挺花‘Estella’為親本與不同商業品種雜交授粉後 10-14 天採收果莢，進行胚珠無菌播種，結果如表 7.2 所示，以‘Estella’為種子親，共進行 8 個雜交組合，播種後以‘Estella’×‘Faro’之雜交組合胚珠發芽率為 18%最高，而有 5 個雜交組合胚珠無法發芽，分別是‘Estella’×‘Nymph’、‘Estella’×‘Blossom Peacock’、‘Estella’×‘Samba’、‘Estella’×‘Estella’與‘Estella’×‘Showmaster’，可見以‘Estella’為種子親



胚珠發芽率偏低；以‘Estella’為花粉親，共進行 11 個雜交組合，以‘Trendsetter’×‘Estella’之雜交組合胚珠發芽率為 100%最高，‘Amico’×‘Estella’雜交組合之胚珠發芽率為 2.4%最低。由於以‘Estella’為種子親之雜交組合播種後胚珠發芽率偏低，因此於 2015 年再以‘Estella’為種子親與其他商業品種進行雜交，結果如表 7.3 所示，共進行 15 個雜交組合，以‘Estella’×‘Spring Time’之雜交組合胚珠發芽率最高，為 11.0%，以‘Estella’×‘Estella’與‘Estella’×‘Showmaster’之雜交組合胚珠皆未發芽，可見以‘Estella’為種子親進行雜交育種較不易獲得雜交後裔。

### 試驗三、培養基蔗糖濃度對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響

以‘Estella’與不同商業品種雜交授粉後 10-14 天採收果莢進行胚珠無菌播種，取出胚珠進行胚珠培養，培養基分別含 7.5 或 30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖。結果大部分之組合以培養基含 30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖，較 7.5 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖之胚珠發芽率高，以‘Estella’×‘Showmaster’雜交組合之效果最佳，胚珠發芽率由 0 提昇至 4.8%，其次是‘Estella’×‘Trendsetter’之雜交組合胚珠發芽率由 1.8%提昇至 2.7%，但有些雜交組合則並不改變，如‘Estella’×‘Nymph’與‘Estella’×‘Samba’，胚珠發芽率仍維持在 0%，另外‘Estella’×‘Faro’之雜交組合反而胚珠發芽率因蔗糖提高而下降(表 7.4)。

另以‘Estella’為花粉親，與不同商業品種進行雜交，對於培養基內之蔗糖濃度 7.5 或 30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖是否可提高胚珠發芽率，則視雜交組合不同而有差異(表 7.5)。

### 試驗四、培養基蔗糖濃度與授粉天數對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響

以孤挺花‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’雜交授粉後 7 天與 10 天採收果莢，進行胚珠培養，結果胚珠皆未發芽，雜交授粉後 14 天採收果莢，其胚珠之發芽率為 2.5%-7.5%，以授粉 14 天所採收果莢並配合培養基內含蔗糖 15 g·L<sup>-1</sup> 之胚珠發芽率最佳(表 7.6)。以孤挺花‘Trendsetter’為種子親與‘Estella’雜交授粉，雜交授粉後 7 天採收果莢，進行胚珠培養，其胚珠未發芽，雜交授粉後 10 天採收果莢，胚珠之發芽率為 12.5%-30%，雜交授粉後 14 天採收果莢，胚珠之發芽率為



37.5%-68.8%，以授粉 14 天所採收果莢並配合培養基內含蔗糖  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  之胚珠發芽率最佳(表 7.6)。

孤挺花‘Toronto’為種子親與‘Bold Leader’雜交授粉後 7 天採收果莢，進行胚珠培養，結果胚珠皆未發芽，雜交授粉後 10 天採收果莢，結果胚珠之發芽率為 42.5%-60%，雜交授粉後 14 天採收果莢，結果胚珠之發芽率為 82.5%-97.5%，以授粉 14 天所採收果莢並配合培養基內含蔗糖  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  之胚珠發芽率最佳(表 7.7)。孤挺花‘Bold Leader’為種子親與‘Toronto’雜交授粉，雜交授粉後 7 天採收果莢，進行胚珠培養，結果胚珠皆未發芽，雜交授粉後 10 天採收果莢，結果胚珠之發芽率為 2.5%-12.5%，雜交授粉後 14 天採收果莢，結果胚珠之發芽率為 72.5%-87.2%，以授粉 14 天所採收果莢並配合培養基內含蔗糖  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖之胚珠發芽率最佳(表 7.7)。

#### 試驗五、孤挺花香氣三倍體新品系育成與性狀調查

以‘Estella’為種子親與‘Faro’為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 A1、A2 及 A3 三株雜交後裔(圖 7.2)；以‘Faro’為種子親與 Estella 品種為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 B1、B3、B4 與 B5 四雜交後裔單株(圖 7.4)；以‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 D1 與 D2 二株雜交後裔；以‘Trendsetter’為種子親與‘Estella’為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 C1、C2 與 C3 三雜交後裔單株；以‘Christmas Star’為種子親與‘Estella’為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 E1 與 E2 二株雜交後裔。利用流式細胞儀分別測試親本‘Estella’、‘Faro’、‘Trendsetter’、‘Christmas Star’等品種與雜交後裔 A1、A2、A3、B1、B2、B3、B5、C1、C2、C3、D1、D2、F1 與 F2 等單株，結果顯示‘Estella’ $\times$ ‘Faro’、‘Faro’ $\times$ ‘Estella’、‘Estella’ $\times$ ‘Trendsetter’與 ‘Christmas Star’ $\times$ ‘Estella’之雜交後裔單株皆為三倍體(圖 7.3、7.5、7.7、7.8)，但是‘Trendsetter’ $\times$ ‘Estella’之雜交組合僅 C3 為三倍體，而 C1 與 C2 則為四倍體(圖 7.6)。



雜交後裔植株中以 A3、B3、C2 與 F1 之植株最先開花，經植物性狀調查，結果雜交後裔單株性狀皆介於兩親本之間，且皆具香氣(表 7.9-7.11)。

孤挺花‘Estella’為種子親主要香氣成分為 3-香葉烯(3-Carene)、1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl、與  $\alpha$ -金合歡烯(alpha-Farnesene)，而香氣成分之化學物質含量較多(表 7.14)；孤挺花‘Faro’為花粉親，主要香氣成分為桉葉醇(Eucalyptol)、3-香葉烯(3-Carene)與 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl；其雜交後裔 A3 之香氣成份主要為 3-香葉烯(3-Carene)、桉葉醇(Eucalyptol)與 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl。

香氣孤挺花‘Faro’、‘Estella’及其雜交後裔 B3 之花朵香氣化學成分分析如表 7.15 所示，孤挺花‘Faro’為種子親主要香氣成分為桉葉醇(Eucalyptol)、3-香葉烯(3-Carene)與 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl；孤挺花 Estella 品種為花粉親，主要香氣為 3-香葉烯(3-Carene)、1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl、與  $\alpha$ -金合歡烯(alpha-Farnesene)，其雜交後裔 B3 之香氣成份主要為 3-香葉烯(3-Carene)、1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl 與  $\alpha$ -金合歡烯(alpha-Farnesene)。

## 討論(Discussion)

### 試驗一、孤挺花不同商業品種雜交對雜交後裔養成之影響

於 2005 年所進行孤挺花品種間之雜交共 13 個雜交組合，其中 8 個組合為四倍體品種間雜交，在授粉後子房可順利膨大，產生種子並可順利播種及獲得雜交後裔植株，另有 5 個雜交組合為二倍體與四倍體，在授粉後 14 天子房開始萎縮與黃化萎凋，無法順利獲得種子(表 7.1)。分析這 5 個雜交組合之親本中，不論種子親或花粉親，皆有‘Estella’在其中。‘Estella’之倍體性經染色體觀察(圖 3.14)與流式細胞儀測定(表 3.6)為二倍體。

植物雜交時可能發生受精前障礙或受精後障礙，受精前障礙可能由於花粉管不萌發、生長速度緩慢或在柱頭表面停止生長(Barone et al., 1992)，花粉管發芽到達子房但無法順利受精等原因所致(Kikuchi et al., 2007；Williams et al., 1982)，受精後障礙則是若精細胞與卵細胞雖順利受精，但由於胚或胚乳等組織敗育，以致

於無法順利形成種子。如仙客來種間雜交，於授粉後 35 天後，由於缺乏胚乳發育，導致胚敗育(Ishizaka, 2008)。以‘Estella’為親本之 5 個雜交組合，於授粉初期可見子房膨大，但授粉後 14 天即子房黃化萎凋脫落，顯示有可能具受精後障礙。

Khaleel 等人(1991)觀察 9 個孤挺花商業品種之雜交，發現雜交組合在發育至二或四核子期(nucleate stage)時，有 80%-95%之雜交組合即產生崩解，其中又以‘Apple Blossom’與‘Dutch Belle’最為明顯，著實率僅 2%。推測‘Estella’可能亦有此現象。

另 Bell (1973)提出孤挺花之二倍體為種子親與四倍體為花粉親雜交，通常不會產生種子，‘Estella’經染色體觀察或流式細胞儀測試，顯示‘Estella’為二倍體，其餘品種為四倍體(表 3.6)。此 5 個雜交組合無法產生種子，與 Bell (1973)提出之結論類似。

#### 試驗二、不同雜交組合之胚珠發芽比較

以‘Estella’為種子親，共進行 8 個雜交組合，播種後胚珠發芽率低於 18.2%，且有 5 個雜交組合胚珠無法發芽；以‘Estella’為花粉親，共進行 11 個雜交組合，播種後胚珠發芽率在 2.4%-100% (表 7.2)，顯然以‘Estella’為花粉親之雜交組合，胚珠無菌播種之發芽率較高。Bell (1977)指出孤挺花之二倍體為種子親與四倍體為花粉親雜交，通常不會產生種子，但以四倍體為種子親與二倍體為花粉親進行雜交，則可產生少數具稔性之種子。而孤挺花‘Estella’為二倍體(圖 3.14；表 3.6)為種子親，與其他四倍體進行雜交，播種後胚珠發芽率低，與 Bell (1977)提出結論類似，若以胚挽救技術則可以產生少量雜交後裔。若以四倍體為種子親與二倍體‘Estella’為花粉親進行雜交，則可產生少數具稔性之種子之結果類似，且若以胚挽救技術進行胚培養，可獲得較高胚珠發芽率，甚至可得 100%胚珠發芽率，增加雜交後裔達到育種目標之選拔機會。

而在以‘Estella’為花粉親雜交組合中，‘Amico’ × ‘Estella’ 與 ‘Red Star’ × ‘Estella’雜交組合之胚珠培養發芽率偏低，以流式細胞儀分析‘Amico’與‘Red Star’，



發現其染色體為二倍體(表 3.6)。而二倍體孤挺花品種，大多數具有自交不親和性(Bell, 1973；1977)或雜交不易特性，因此胚珠發芽率偏低。

#### 試驗三、培養基蔗糖濃度對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響

以‘Estella’與不同商業品種雜交授粉後 10-14 天進行胚珠無菌播種，取出胚珠進行胚珠培養，結果在有胚珠發芽之雜交組合中，以培養基含  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖，較  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖之胚珠發芽率高(表 7.4)。胚珠培養與培養基中之蔗糖濃度息息相關，蔗糖提供了碳源，一般而言，胚體成熟度愈低，培養基所需蔗糖濃度愈高(Reed, 2004；Sharma et al., 1996)，以‘Estella’×‘Showmaster’、‘Estella’×‘Trendsetter’、‘Estella’×‘Salmon Peacock’與‘Estella’×‘Blossom Peacock’之組合胚珠培養之培養基內若提高蔗糖濃度，可提高胚珠發芽率，顯示以‘Estella’為種子親所雜交組合之胚體發育成熟度低。以‘Estella’×‘Showmaster’雜交組合之效果最佳，胚珠發芽率由 0 提昇至 4.8%，其次是‘Estella’×‘Trendsetter’之雜交組合胚珠發芽率由 1.8%提昇 2.7%。

然而培養基蔗糖濃度對大豆屬種間雜交胚培養所獲得雜交植株比例有顯著差異，最適培養基蔗糖濃度為 3%，而培養基添加 12%蔗糖獲得植株的比例明顯較低(Coble and Schapaugh, 1990)，顯然植物種類亦會有差異。以孤挺花‘Estella’為花粉親，與商業品種進行雜交，因不同雜交組合其胚體發育可能有異，因此提高培養基蔗糖濃度對於胚珠發芽率並無絕對相關。

#### 試驗四、培養基蔗糖濃度與授粉天數對孤挺花雜交組合胚珠培養之影響

以孤挺花‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’雜交授粉後 14 天採收果莢，其胚珠之發芽率為 2.5%-7.5%，以培養基內含  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖之胚珠發芽率最佳(表 7.6)，提高蔗糖至  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  反而降低胚珠發芽率(表 7.6)，顯然提高蔗糖濃度，並不適合以‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’之雜交組合。夏堇‘Clown Rose’為種子親與毛葉蝴蝶草為花粉親於授粉 16 天後培養，添加 3%與 6%蔗糖於培養基內，胚珠發芽率為 36.5%與 29.9%，但當蔗糖濃度提高至 12%，胚珠發芽率下降僅剩 5.3% (郭，



2012)，此結果與以‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’進行雜交授粉，胚珠培養之培養基添加蔗糖濃度不宜太高類似。

一般而言胚體成熟度愈低，培養基所需蔗糖濃度愈高(Reed, 2004；Sharma et al., 1996)，以孤挺花‘Trendsetter’為種子親與‘Estella’為花粉親進行雜交，胚珠發芽率在 69.3%-82.7% (表 7.6)，提高胚珠培養之蔗糖濃度的確可提昇胚珠發芽率。

以孤挺花四倍體‘Toronto’為種子親與‘Bold Leader’雜交授粉，以授粉 14 天所採收果莢並配合培養基內含  $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖之胚珠發芽率最佳，可達 97.5% (表 7.7)；以孤挺花二倍體‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’雜交授粉，雜交授粉後 7、10 及 14 天採收果莢，結果胚珠之發芽在授粉後 7 與 10 天之胚珠發芽率為 0%，僅授粉後 14 天之胚珠發芽率 2.5%-7.5% (表 7.6)，顯然雜交後之胚體成熟度往往決定胚挽救成功與否，而授粉後天數則與胚體成熟度有關，郭(2012)以夏堇‘Clown Rose’為種子親與毛葉蝴蝶草為花粉親，在授粉後 16 與 18 天之胚珠發芽率較授粉後 12 與 14 天為佳。百合水仙(*Alstroemeria violacea* L.  $\times$  *A. pelegrina* alba L.)種間雜交在授粉後 4 天之胚珠發芽率較授粉後 7 天差(Lu and Bridgen, 1996)。Reed (2000)認為胚珠在早期分化時需要較高濃度的蔗糖以維持胚正常發育，隨著胚發育愈成熟，所需蔗糖濃度愈低，而此次孤挺花之雜交組合，隨蔗糖濃度愈高，胚珠發芽率愈高，顯現孤挺花之雜交胚，成熟度較低，且授粉後 14 天後，子房即會黃化皺縮且脫落，顯然胚發育很快受阻，因此必須立刻進行胚挽救方式，以確保獲得雜交後裔植株。

#### 試驗五、孤挺花香氣三倍體新品系育成與性狀調查

以‘Estella’為種子親與‘Faro’為花粉親進行雜交，以胚挽救技術獲得雜交後裔，獲得 A1、A2 及 A3，利用流式細胞儀測試為三倍體。其中雜交後裔 A3 較早開花，因此進行植株性狀調查，在植株性狀上，大部分性狀與種子親或花粉親相同，花瓣內面主色與外花被形狀則介於兩親本之間，與親本相同都具香氣，分析香氣成分則較‘Faro’花粉親豐富，有較多的香氣成分遺傳至種子親‘Estella’，而香氣成份



主要含量為 3- 香葉烯 (3-Carene)、桉葉醇 (Eucalyptol) 與 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl, 恰巧是父母本之含量綜合。以‘Faro’為種子親與‘Estella’為花粉親進行雜交, 以胚挽救技術獲得雜交後裔, 獲得 B1、B3、B4 與 B5 四雜交後裔單株, 利用流式細胞儀測試為三倍體。其中雜交後裔 B3 在植株性狀上, 大部分性狀與種子親或花粉親相同, 花瓣內面主色與外花被形狀則介於兩親本之間, 與親本相同都具香氣, 雜交後裔 B3 所測得之香氣化學物質較少, 但是在 3-香葉烯(3-Carene) 與 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl 含量則超過親本。本試驗以具香氣之親本進行雜交, 雜交後裔 A3 與 B3 經測試皆有香氣成分, 前人亦指出香氣之性狀在孤挺花中顯然是隱性之特性, 以具有香氣之二倍體與不具香氣之二倍體雜交所產生 F1 族群通常香氣性狀會分離, 若以具香氣親本進行雜交, 雜交後裔皆具香氣(Meerow, 2000)。但本研究所測得香氣物質含量, 有些含量超過親本, 推測可能香氣為數量遺傳, 具有累積性, 雖可測得香氣物質組成, 但若含量太少, 可能會在人為嗅覺上無法感應出香味。因此在香氣孤挺花品種選育上, 可能要連續雜交育種, 持續選拔具香氣之雜交後裔, 進行雜交, 才能選拔出香氣濃郁之孤挺花新品種。

表 7.1. 孤挺花二倍體與四倍體品種雜交組合之後裔數

Table 7.1. Number of progenies from crossing tetraploid amaryllis cultivars with either tetraploid or diploid cultivars.

Cross combination	Number of progenies
<u>Tetraploid × Tetraploid</u>	
Trendsetter × Royal Velvet	65
Trendsetter × Blossom Peacock	62
Hermitage × Blossom Peacock	33
Bold Leader × Salmon Peacock	41
Fairytale × Salmon Peacock	68
Matterhorn × Nymph	21
Santa × Liberty	14
Faro × Royal Velvet	22
<u>Tetraploid × Diploid</u>	
Trendsetter × Estella	0
Hermitage × Estella	0
<u>Diploid × Tetraploid</u>	
Estella × Trendsetter	0
Estella × Nymph	0
Estella × Salmon Peacock	0

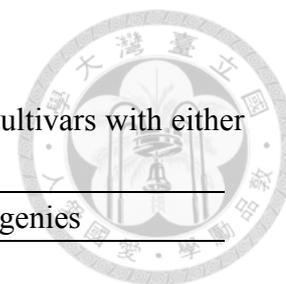


表 7.2.於 2012 年以二倍體孤挺花‘Estella’為種子親或花粉親與四倍體品種雜交所  
得胚珠培養之胚發芽率

Table 7.2. Effect of using diploid amaryllis ‘Estella’ as female or male parent in  
crossing with tetraploid cultivars on embryo germination after ovule culture in  
2012.

Cross combination	Days after pollination	No. of ovules cultured	No. of embryos germinated	Embryo germination (%)
Estella × Estella	14	20	0	0.0
<u>Estella as female parent</u>				
Nymph	10	45	0	0.0
Blossom Peacock	10	118	0	0.0
Samba	10	50	0	0.0
Showmaster	11	44	0	0.0
Salmon Peacock	11	130	1	0.8
Trendsetter	11	171	3	1.8
Faro	10	11	2	18.2
<u>Estella as male parent</u>				
Amico	14	42	1	2.4
Red Star	10	86	4	4.7
Sparkled Red	10	23	3	13.0
Santa Cruz	13	36	6	16.7
Hermitage	14	12	5	41.7
Christmas Star	14	50	28	56.0
Rosario	13	10	6	60.0
Faro	14	8	5	62.5
Athene	13	22	14	63.6
Amputo	13	11	7	63.6
Trendsetter	10	2	2	100.0

表 7.3. 於 2015 年以二倍體孤挺花‘Estella’為種子親與四倍體品種雜交所得胚珠  
培養之胚發芽率

Table 7.3. Effect of tetraploid amaryllis as male parent crossed with diploid ‘Estella’ on  
embryo germination after ovule culture in 2015.

Male parent	No. of ovules cultured	No. of embryos Germinated	Embryo germination (%)
Estella	100	0	0.0 c <sup>z</sup>
Rio	100	0	0.0 c
Showmaster	60	0	0.0 c
Smoked Salmon	99	1	1.0 bc
Snow White	100	1	1.0 bc
Nymph	100	2	2.0 bc
T.S.S. No.3-Elite Pink	100	2	2.0 bc
Design	105	3	2.9 bc
Rilona	101	3	3.0 bc
Temptation	100	3	3.0 bc
Double Record	100	5	4.0 abc
Bogota	100	5	5.0 abc
Benfica	100	5	5.0 abc
Misty	100	5	5.0 ab
Spring Time	100	11	11.0 a

<sup>z</sup>Mean separation within column by LSD test at  $P < 0.05$ .

表 7.4. 花粉親與培養基蔗糖濃度對以二倍體‘Estella’為種子親與四倍體品種雜交所得胚珠培養後胚發芽率之影響

Table 7.4. Effect of male parent and medium sucrose concentration on embryo germination after ovule culture from crossing diploid amaryllis ‘Estella’ with tetraploid cultivars.

Male parent	Sucrose concn. (g·L <sup>-1</sup> )	Days after pollination	No. of ovules cultured	No. of ovules germinated	Embryo germination (%)
Nymph	7.5	10	45	0	0.0
	30.0	10	45	0	0.0
Samba	7.5	10	50	0	0.0
	30.0	10	47	0	0.0
Blossom Peacock	7.5	10	118	0	0.0
	30.0	10	105	1	1.0
Salmon Peacock	7.5	11	130	1	0.8
	30.0	11	70	1	1.4
Trendsetter	7.5	11	171	3	1.8
	30.0	11	148	4	2.7
Showmaster	7.5	11	44	0	0.0
	30.0	11	21	1	4.8
Faro	7.5	10	11	2	18.2
	30.0	10	8	1	12.5

表 7.5. 種子親與培養基蔗糖濃度對以二倍體‘Estella’為花粉親與四倍體品種雜交所得胚珠培養後胚發芽率之影響

Table 7.5. Effect of female parent and medium sucrose concentration on embryo germination after ovule culture from crossing diploid amaryllis ‘Estella’ with tetraploid cultivars.

Female parent	Sucrose concn. (g·L <sup>-1</sup> )	Days after pollination	No. of ovules cultured	No. of ovules germinated	Embryo germination (%)
Amico	7.5	14	42	1	2.4
	30.0	14	58	0	0.0
Sparkled Red	7.5	10	23	3	13.0
	30.0	10	17	0	0.0
Red Star	7.5	10	86	4	4.7
	30.0	10	90	8	8.9
Santa Cruz	7.5	13	36	6	16.7
	30.0	13	31	8	25.8
Hermitage	7.5	14	12	5	41.7
	30.0	14	10	3	30.0
Faro	7.5	14	8	5	62.5
	30.0	14	8	2	25.0
Athene	7.5	13	22	14	63.6
	30.0	13	33	8	24.2
Christmas Star	7.5	14	50	28	56.0
	30.0	14	48	31	64.6
Trendsetter	7.5	10	2	2	100.0
	30.0	10	9	2	22.2
Amputo	7.5	13	11	7	63.6
	30.0	13	13	10	76.9
Rosario	7.5	13	10	6	60.0
	30.0	13	10	8	80.0

表 7.6. 授粉後天數與培養基蔗糖濃度對孤挺花二倍體‘Estella’與四倍體‘Trendsetter’正反雜交胚珠培養後胚發芽率之影響

Table 7.6. Effect of number of days after pollination and medium sucrose concentration on embryo germination after ovule culture from reciprocal crossing diploid amaryllis ‘Estella’ with tetraploid ‘Trendsetter’.

Days after pollination (DAP)	Sucrose concn. (g·L <sup>-1</sup> )	No. of ovules cultured	Embryo germination (%)
‘Estella’ (diploid) × ‘Trendsetter’ (tetraploid)			
7	7.5	40	0.0
	15.0	40	0.0
	30.0	40	0.0
10	7.5	40	0.0
	15.0	40	0.0
	30.0	40	0.0
14	7.5	16	2.5
	15.0	16	7.5
	30.0	16	0.0
‘Trendsetter’ (tetraploid) × ‘Estella’ (diploid)			
7	7.5	40	0.0
	15.0	40	0.0
	30.0	40	0.0
10	7.5	40	12.5
	15.0	40	15.0
	30.0	40	30.0
14	7.5	16	37.5
	15.0	16	50.0
	30.0	16	68.8
LSD <sub>(0.05)</sub>			3.59
DAP			***
Sucrose concn. (S)			NS
Reciprocal crosses (R)			***
DAP × S			NS
DAP × R			**
S × R			NS
DAP × S × R			NS

表 7.7. 授粉後天數與培養基蔗糖濃度對孤挺花四倍體‘Toronto’與‘Bold Leader’正反雜交胚珠培養後胚發芽率之影響

Table 7.7. Effect of number of days after pollination and medium sucrose concentration on embryo germination after ovule culture from reciprocal crossing tetraploid amaryllis ‘Toronto’ with ‘Bold Leader’.

Days after pollination (DAP)	Sucrose concn. (g·L <sup>-1</sup> )	No. of ovules cultured	Embryo germination (%)
‘Toronto’ (tetraploid) × ‘Bold Leader’ (tetraploid)			
7	7.5	40	0.0
	15.0	40	0.0
	30.0	40	0.0
10	7.5	40	42.5
	15.0	40	42.5
	30.0	40	60.0
14	7.5	40	82.5
	15.0	40	97.5
	30.0	40	97.5
‘Bold Leader’ (tetraploid) × ‘Toronto’ (tetraploid)			
7	7.5	40	0.0
	15.0	40	0.0
	30.0	40	0.0
10	7.5	40	12.5
	15.0	40	5.0
	30.0	40	2.5
14	7.5	40	72.5
	15.0	40	87.5
	30.0	39	87.2
LSD <sub>(0.05)</sub>			9.77
DAP			***
Sucrose concn. (S)			NS
Reciprocal crosses (R)			***
DAP × S			*
DAP × R			***
S × R			NS
DAP × S × R			NS

表 7.8. 二倍體孤挺花‘Estella’、四倍體‘Faro’與其胚珠培養所得雜交後裔 A3 之性狀比較

Table 7.8. A comparison of plant characteristics among diploid amaryllis ‘Estella’, tetraploid ‘Faro’, and their ovule-cultured derived hybrid progeny A3.

	性狀	種子親	等級	雜交後裔	等級	花粉親	等級
		Estella		A3		Faro	
*	1. 葉寬：	窄	3	窄	3	中	5
	2. 葉面花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	3. 花莖長度：	中	5	中	5	短	3
	4. 花莖花青素著色：	有	1	無	1	無	1
+*	5. 花莖長度 1/3 部分 (近基部) 周徑：	中	5	細	3	中	5
*	6. 花朵數：	中	5	中	5	多	7
*	7. 花類型：	單瓣	1	單瓣	1	單瓣	1
+*	8. 重瓣花之花瓣：	-		-		-	
	9. 重瓣花之花瓣數：	-		-		-	
+*	10. 小花梗長度：			短	3	短	3
	11. 小花梗花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	12. 花正面型態：	三角形	2	三角形	2	三角形	2
+*	13. 花被最大長度：	長	7	中	5	長	7
+*	14. 花被最大寬度：	中	5	中	5	寬	7
+*	15. 花被重疊程度：	強	7	強	7	強	7
+*	16. 外花被形狀：	狹倒卵形	7	寬卵形	6	寬倒卵形	9
*	17. 花瓣內面主色：	紅紫色	8	紅色	7	橘紅色	4
+*	18. 花色類型：	線條斑紋	5	脈紋	2	線條斑紋	5
	19. 花瓣內面中肋白 (綠) 色區域：	有	9	有	9	有	9
	20. 花瓣內面中肋白 (綠) 色區域分布長短：	長	7	長	7	長	7
	21. 花瓣基部花青素著色：	無	1	有	9	無	1
	22. 花瓣皺摺程度：	中	5	弱	3	弱	3
+	23. 花冠深度：	深	7	深	7	深	7
	24. 花瓣外捲程度：	強	7	弱	3	弱	3
	25. 花香氣：	有	9	有	9	有	9
	26. 雄蕊長度：	長	7			長	7
	27. 花絲顏色數：	三色	3	雙色	2	雙色	2
	28. 花絲主要顏色：	其它(紅紫色)	4	白色	1	白色	1
	29. 花粉顏色：	黃色	3	黃色	3	黃色	3
	30. 雌蕊長度：	長	7	長	7	長	7
	31. 花柱顏色數：	三色	3	雙色	2	雙色	2
	32. 花柱主要顏色：	其它(紅紫色)	4	白色	1	白色	1
	33. 柱頭分叉長短：	短	3	短	3	中	5

表 7.9. 四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交後裔 B3 之性狀比較

Table 7.9. A comparison of plant characteristics among tetraploid amaryllis ‘Faro’, diploid ‘Estella’, and their ovule-cultured derived hybrid progeny B3.

	性狀	種子親	等級	雜交後裔	等級	花粉親	等級
		Faro		B3		Estella	
*	1.葉寬：	中	5	窄	3	窄	3
	2.葉面花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	3.花莖長度：	短	3	短	3	中	5
	4.花莖花青素著色：	無	1	無	1	有	1
+*	5.花莖長度 1/3 部分 (近基部)周徑：	中	5	細	3	中	5
*	6.花朵數：	多	7	多	7	中	5
*	7.花類型：	單瓣	1	單瓣	1	單瓣	1
+*	8.重瓣花之花瓣：	-		-		-	
	9.重瓣花之花瓣數：	-		-		-	
+*	10.小花梗長度：	短	3	短	3	中	5
	11.小花梗花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	12.花正面型態：	三角形	2	三角形	2	三角形	2
+*	13.花被最大長度：	長	7	長	7	長	7
+*	14.花被最大寬度：	寬	7	中	5	中	5
+*	15.花被重疊程度：	強	7	強	7	強	7
+*	16.外花被形狀：	寬倒卵形	9	寬橢圓形	3	狹倒卵形	7
*	17.花瓣內面主色：	橘紅色	4	紅色	7	紅紫色	8
+*	18.花色類型：	線條斑紋	5	線條斑紋	5	線條斑紋	5
	19.花瓣內面中肋白 (綠)色區域：	有	9	有	9	有	9
	20.花瓣內面中肋白 (綠)色區域分布長短：	長	7	中	5	長	7
	21.花瓣基部花青素著色：	無	1	有	9	無	1
	22.花瓣皺摺程度：	弱	3	中	5	中	5
+	23.花冠深度：	深	7	深	7	深	7
	24.花瓣外捲程度：	弱	3	無或極弱	1	強	7
	25.花香氣：	有	9	有	9	有	9
	26.雄蕊長度：	長	7	長	7	長	7
	27.花絲顏色數：	雙色	2	雙色	2	三色	3
	28.花絲主要顏色：	白色	1	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	29.花粉顏色：	黃色	3	黃色	3	黃色	3
	30.雌蕊長度：	長	7	長	7	長	7
	31.花柱顏色數：	雙色	2	雙色	2	三色	3
	32.花柱主要顏色：	白色	1	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	33.柱頭分叉長短：	中	5	中	5	短	3

表 7.10. 四倍體孤挺花‘Trendsetter’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交後裔 C2 之性狀比較

Table 7.10. A comparison of plant characteristics among tetraploid amaryllis ‘Trendsetter’, diploid ‘Estella’, and their ovule-cultured derived hybrid progeny C2.

	性狀	種子親	等級	雜交後裔	等級	花粉親	等級
		Trendsetter		C2		Estella	
*	1.葉寬：	中	5	窄	3	窄	3
	2.葉面花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	3.花莖長度：	短	3	短	3	中	5
	4.花莖花青素著色：	無	1	無	1	有	1
+*	5.花莖長度 1/3 部分 (近基部)周徑：	中	5	細	3	中	5
*	6.花朵數：	多	7	中	5	中	5
*	7.花類型：	單瓣	1	單瓣	1	單瓣	1
+*	8.重瓣花之花瓣：	-		-		-	
	9.重瓣花之花瓣數：	-		-		-	
+*	10.小花梗長度：	中	5	短	3		
	11.小花梗花青素著色：	無	1	無	1	無	1
+*	12.花正面型態：	圓形	1	三角形	2	三角形	2
+*	13.花被最大長度：	長	7	中	5	長	7
+*	14.花被最大寬度：	長	7	中	5	中	5
+*	15.花被重疊程度：	強	7	中	5	強	7
+*	16.外花被形狀：	倒卵形	8	倒卵形	8	狹倒卵形	7
*	17.花瓣內面主色：	橘紅色	4	紅色	7	紅紫色	8
+*	18.花色類型：	星狀線條	6	線條斑紋	5	線條斑紋	5
	19.花瓣內面中肋白 (綠)色區域：	有	9	有	9	有	9
	20.花瓣內面中肋白 (綠)色區域分布長短：			中	5	長	7
	21.花瓣基部花青素著色：	無	1	有	9	無	1
	22.花瓣皺摺程度：	無或極弱	1	無或極弱	1	中	5
+	23.花冠深度：	深	7	深	7	深	7
	24.花瓣外捲程度：	無或極弱	1	無或極弱	1	強	7
	25.花香氣：	有	9	有	9	有	9
	26.雄蕊長度：	長	7	中	5	長	7
	27.花絲顏色數：	雙色	2	雙色	2	三色	3
	28.花絲主要顏色：	白色	1	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	29.花粉顏色：	黃色	3	黃色	3	黃色	3
	30.雌蕊長度：	長	7	長	7	長	7
	31.花柱顏色數：	三色	3	雙色	2	三色	3
	32.花柱主要顏色：	白色	1	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	33.柱頭分叉長短：	中	5	中	5	短	3

表 7.11. 四倍體孤挺花‘Christmas Star’、二倍體‘Estella’與其胚珠培養所得雜交後裔 F1 之性狀比較

Table 7.11. A comparison of plant characteristics among tetraploid amaryllis ‘Christmas Star’, diploid ‘Estella’, and their ovule-cultured derived hybrid progeny F1.

	性狀	種子親	等級	雜交後裔	等級	花粉親	等級
		Christmas Star		F1		Estella	
*	1.葉寬：	窄	3	窄	3	窄	3
	2.葉面花青素著色：	無	1	無	1	無	1
†*	3.花莖長度：	中	5	中	5	中	5
	4.花莖花青素著色：	有	9	有	9	有	1
†*	5.花莖長度 1/3 部分 (近基部)周徑：	細	3	細	3	中	5
*	6.花朵數：	多	7	中	5	中	5
*	7.花類型：	單瓣	1	單瓣	1	單瓣	1
†*	8.重瓣花之花瓣：	-		-		-	
	9.重瓣花之花瓣數：	-		-		-	
†*	10.小花梗長度：	短	3	短	3		
	11.小花梗花青素著色：	有	9	有	9	無	1
†*	12.花正面型態：	星形	3	三角形	2	三角形	2
†*	13.花被最大長度：	中	5	中	5	長	7
†*	14.花被最大寬度：	中	5	中	5	中	5
†*	15.花被重疊程度：	中	5	中	5	強	7
†*	16.外花被形狀：	橢圓形	2	橢圓形	2	狹倒卵形	7
*	17.花瓣內面主色：	橘紅色	4	紅色	7	紅紫色	8
†*	18.花色類型：	火焰花紋	3	線條斑紋	5	線條斑紋	5
	19.花瓣內面中肋白 (綠)色區域：	有	9	有	9	有	9
	20.花瓣內面中肋白 (綠)色區域分布長短：	長	7	長	7	長	7
	21.花瓣基部花青素著色：	有	9	無	1	無	1
	22.花瓣皺摺程度：	弱	3	中	5	中	5
+	23.花冠深度：	深	7	深	7	深	7
	24.花瓣外捲程度：	強	7	中	5	強	7
	25.花香氣：	有	9	有	9	有	9
	26.雄蕊長度：	中	5	中	5	長	7
	27.花絲顏色數：	三色	3	四色	3	三色	3
	28.花絲主要顏色：	紅色	2	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	29.花粉顏色：	黃色	3	黃色	3	黃色	3
	30.雌蕊長度：	短	3	長	7	長	7
	31.花柱顏色數：	三色	3	四色	3	三色	3
	32.花柱主要顏色：	紅色	2	紅色	2	其它(紅紫色)	4
	33.柱頭分叉長短：	短	3	中	5	短	3

表 7.12. 具香氣四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’及其正反交後裔於 25°C 釋放之揮發性成分分析

Table 7.12. Volatile compounds analysis for both scented tetraploid amaryllis ‘Faro’, diploid ‘Estella’, and their reciprocal hybrid progenies released at 25°C.

Retention time	Compound	Compound area (%)			
		Cultivar/ progeny			
		Estella (E)	Faro (F)	E×F (A3)	F×E (B3)
9.768	beta-myrcene	2.04	2.18	1.94	2.25
10.880	D-Limonene	0.70			0.62
10.945	Eucalyptol	1.23	46.93	36.30	
11.447	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-	26.09	4.25	13.96	30.47
12.666	cis-linalool oxide		0.61	0.45	
12.995	3-Carene	41.73	38.60	41.17	60.18
13.453	Furan, 3-(4-methyl-3-pentenyl)-	0.69	0.77		
13.845	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	0.88		0.29	0.52
15.641	Limonene		1.54	3.60	
15.866	Dodecane	6.84	1.99		
17.042	Cyclopentane, nonyl-	1.00			0.16
17.505	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	1.00		0.14	
18.643	Tridecane	4.66	2.61		
24.069	alpha-Farnesene	3.31		1.07	2.72
27.599	Naphthalene, 1,2,3-trimethyl-4-propenyl-, (E)-	0.49			
30.591	Undecanoic acid propyl ester, 10-hydroxy-11-morpholin-4-yl-	3.94			



圖 7.1. 以胚挽救技術所得雜交後裔定植六個月(A)與定植一年半(B)後生育情形  
Fig. 7.1. Embryo-rescued seedlings at 6 (A) and 18 (B) months after ex vitro culture.  
Bars = 1 cm.

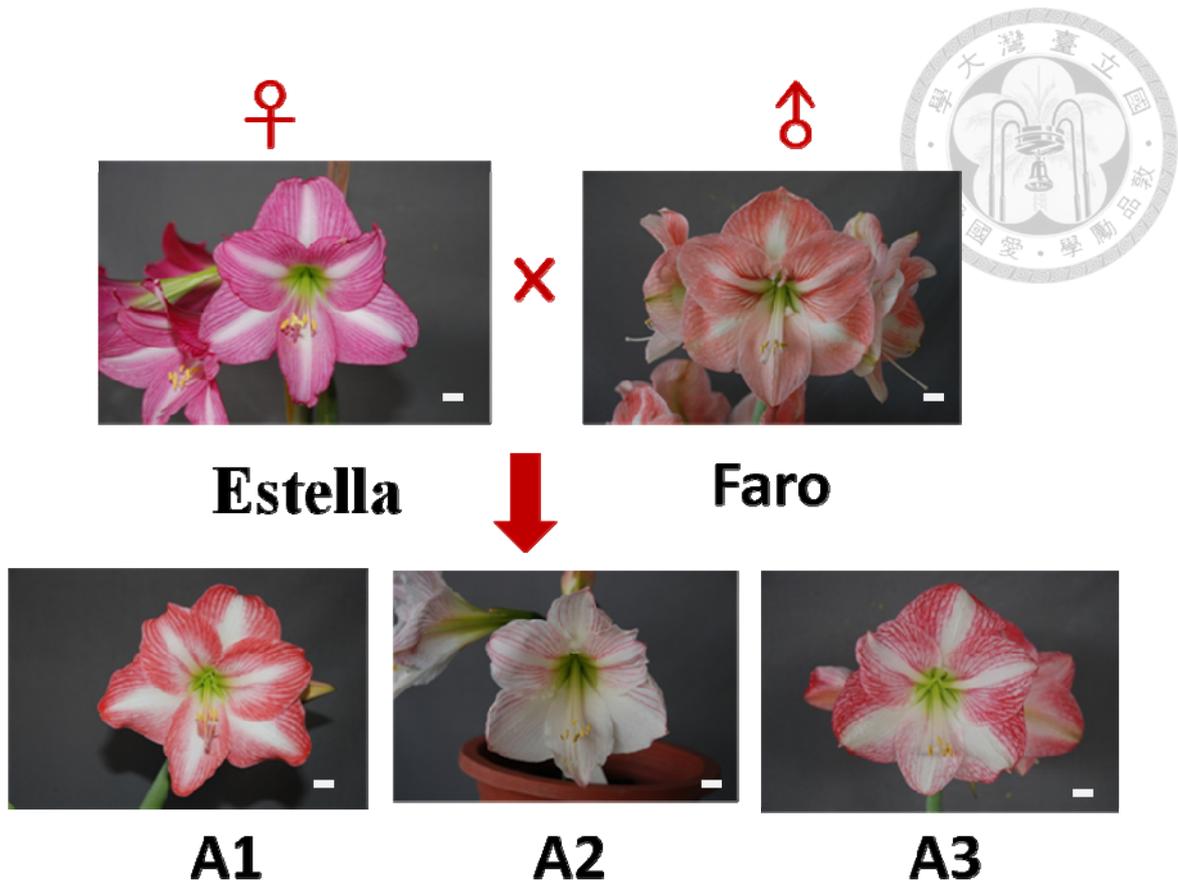


圖 7.2. 以具香氣二倍體孤挺花‘Estella’為種子親與具香氣四倍體‘Faro’為花粉親所得雜交後裔 A1、A2 與 A3 之花朵性狀

Fig. 7.2. Flowers of the progenies A1, A2, A3 from crossing both scented diploid amaryllis ‘Estella’ as seed parent with tetraploid ‘Faro’. Bars = 1 cm.

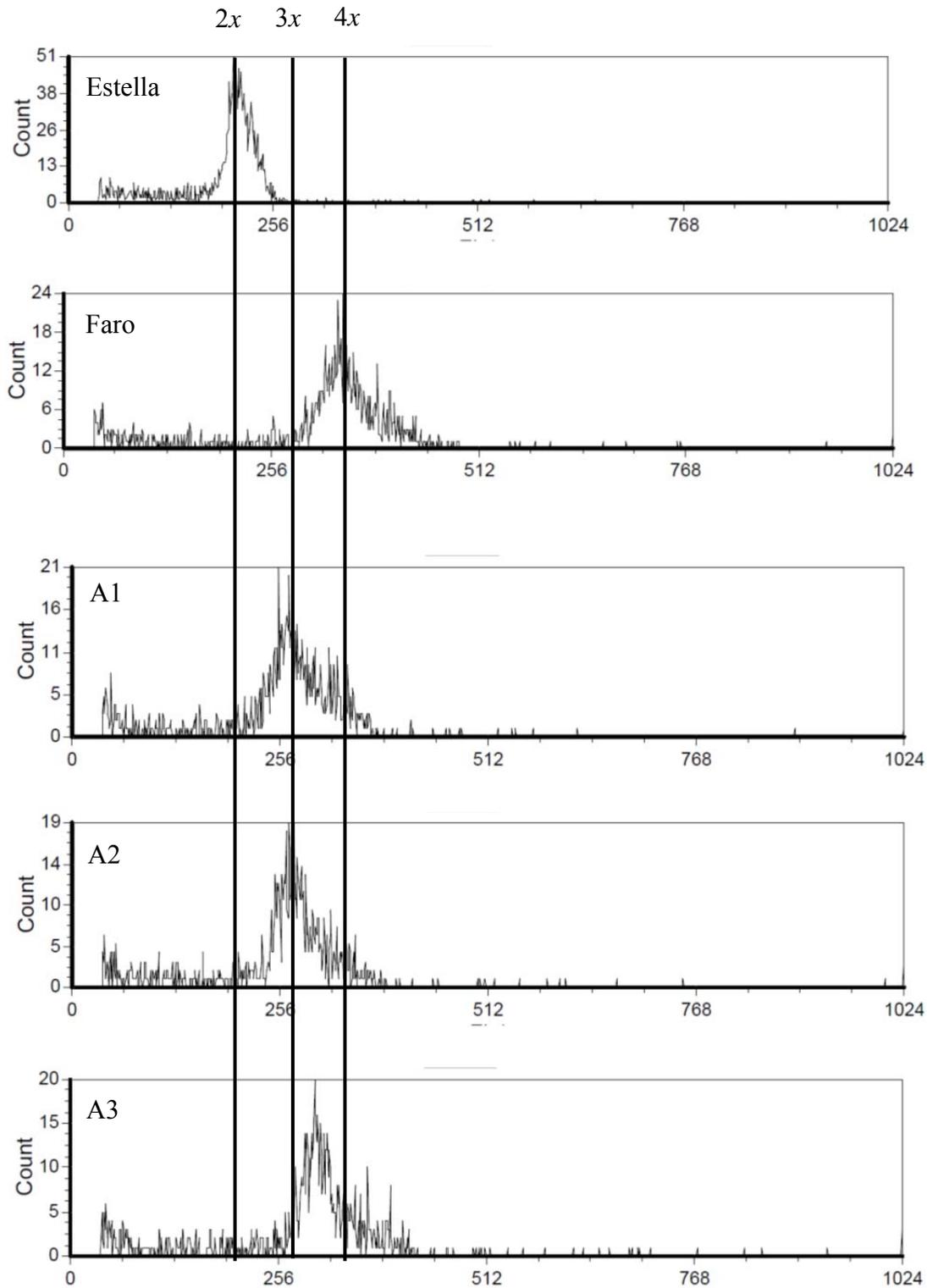


圖 7.3. 具香氣二倍體孤挺花‘Estella’、四倍體‘Faro’及其雜交後裔(A1、A2、A3)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜

Fig. 7.3. Flow cytometry histogram of genome size determination for both scented diploid amaryllis ‘Estella’, tetraploid ‘Faro’, and their hybrid progenies A1, A2, and A3.

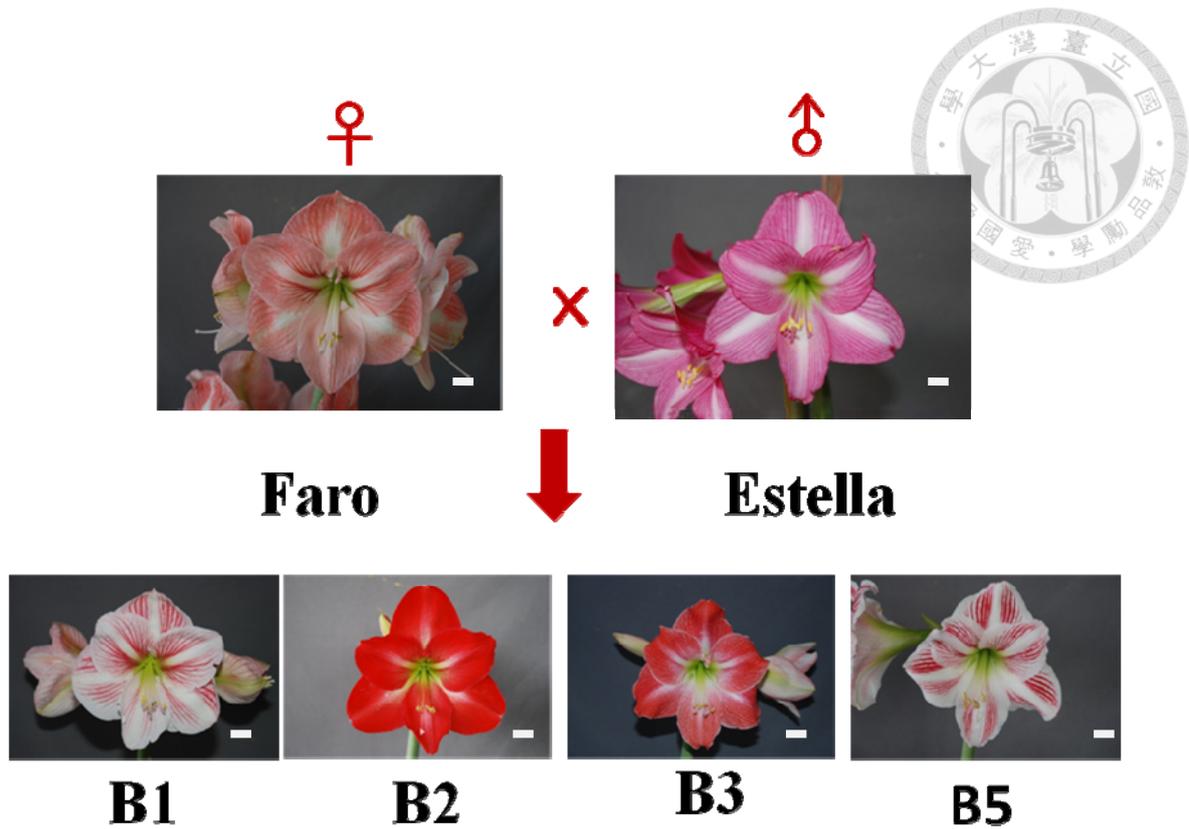


圖 7.4. 以具香氣四倍體孤挺花‘Faro’為種子親與二倍體‘Estella’為花粉親所得雜交後裔 B1、B2、B3 與 B5 之花朵性狀

Fig. 7.4. Flowers of the progenies B1, B2, B3, and B5 from crossing both scented tetraploid amaryllis ‘Faro’ as seed parent with diploid ‘Estella’. Bars = 1 cm.

2x 3x 4x

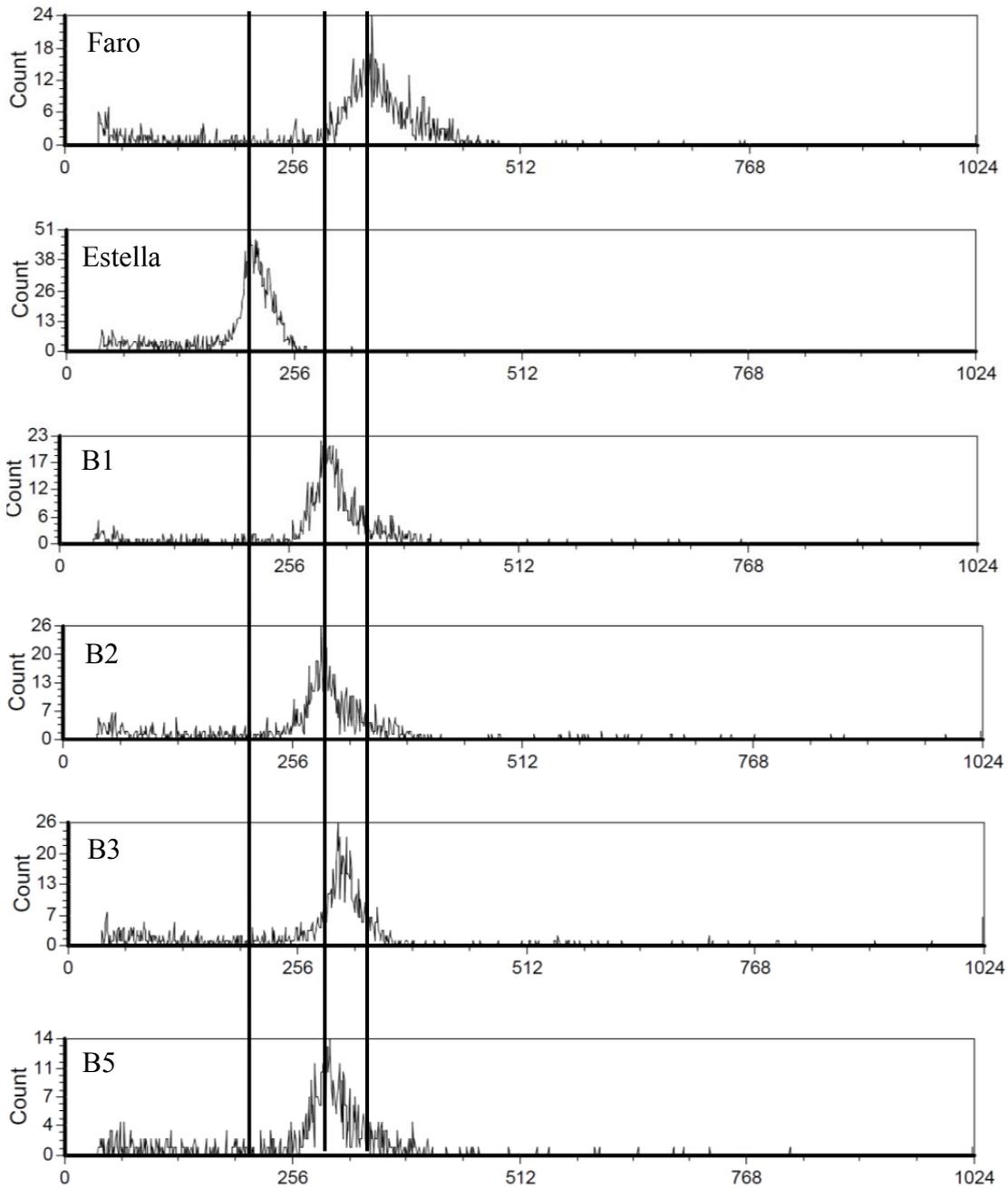
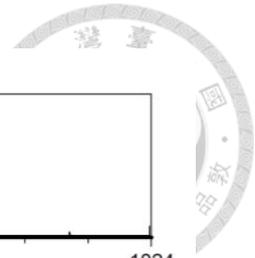


圖 7.5. 具香氣四倍體孤挺花‘Faro’、二倍體‘Estella’及其雜交後裔(B1、B2、B3、B5)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜

Fig. 7.5. Flow cytometry histogram of genome size determination for both scented tetraploid ‘Faro’, diploid ‘Estella’, and their hybrid progenies B1, B2, B3, and B5.

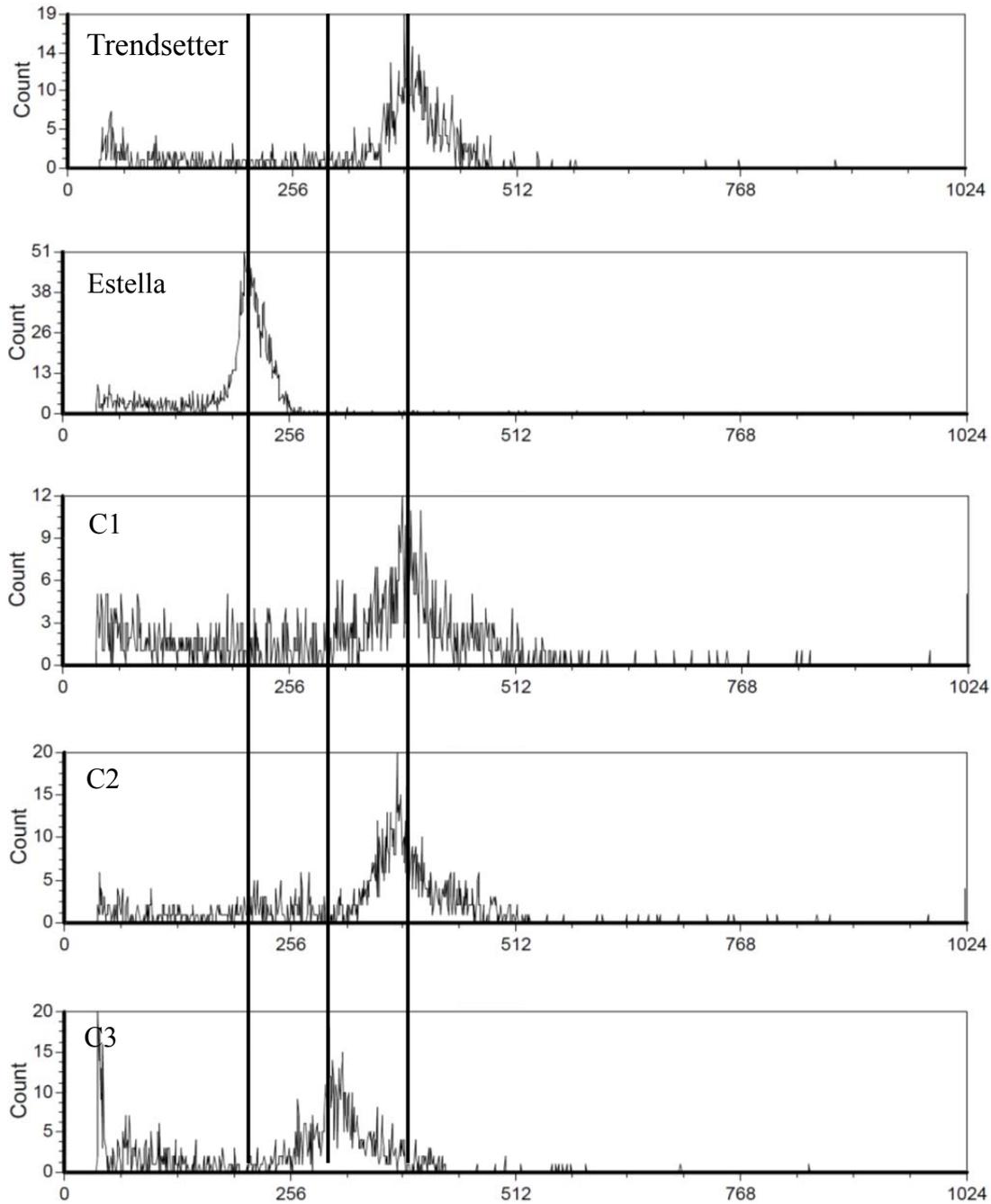


圖 7.6. 具香氣四倍體孤挺花‘Trendsetter’與二倍體‘Estella’及其雜交後裔(C1、C2、C3)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜

Fig. 7.6. Flow cytometry histogram of genome size determination for both scented tetraploid amaryllis ‘Trendsetter’, diploid ‘Estella’, and their hybrid progenies C1, C2, and C3.

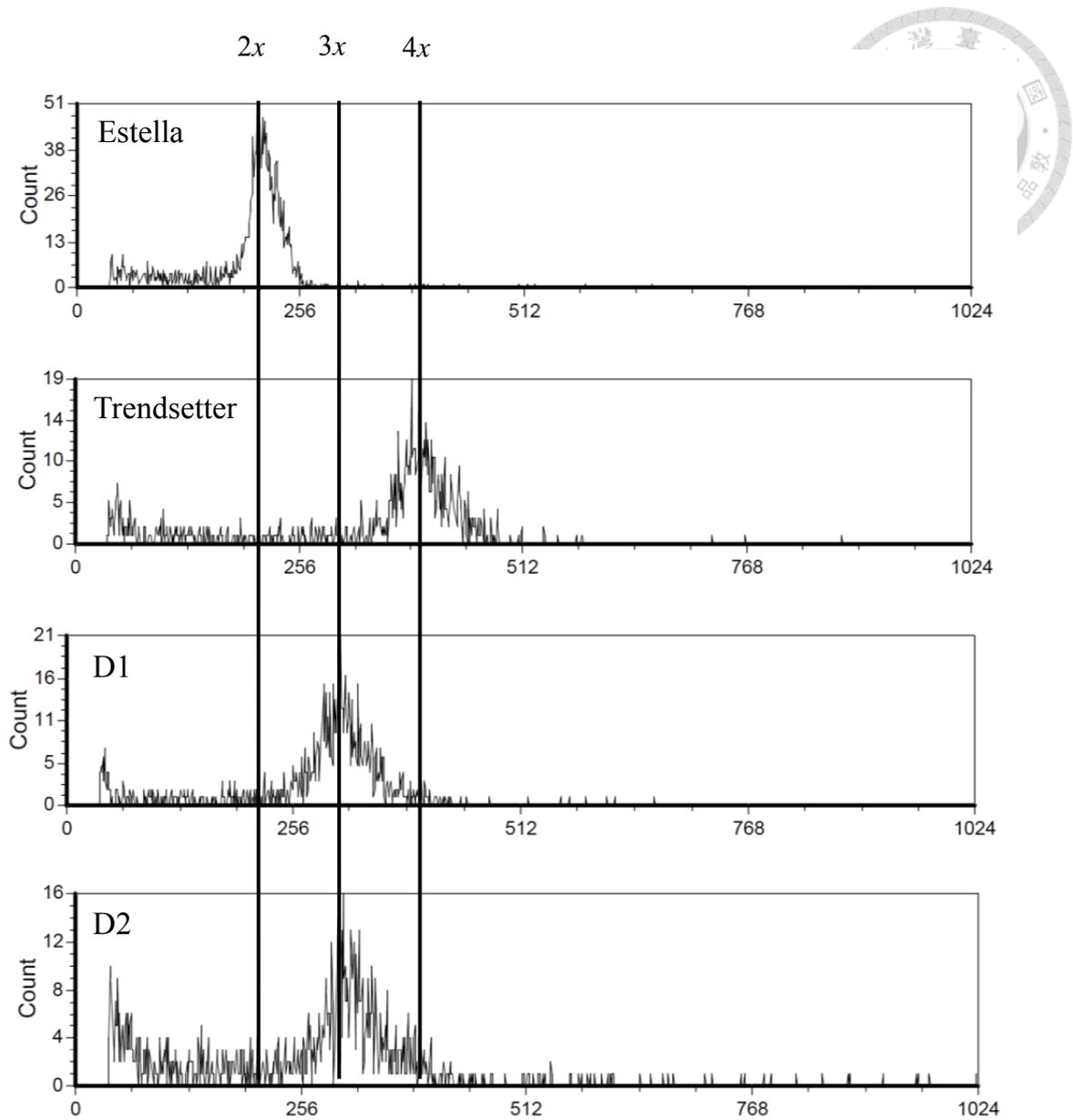


圖 7.7. 具香氣二倍體孤挺花‘Estella’與四倍體‘Trendsetter’及其雜交後裔(D1、D2)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜

Fig. 7.7. Flow cytometry histogram of genome size determination for both scented diploid amaryllis ‘Estella’, tetraploid ‘Trendsetter’, and their hybrid progenies D1 and D2.

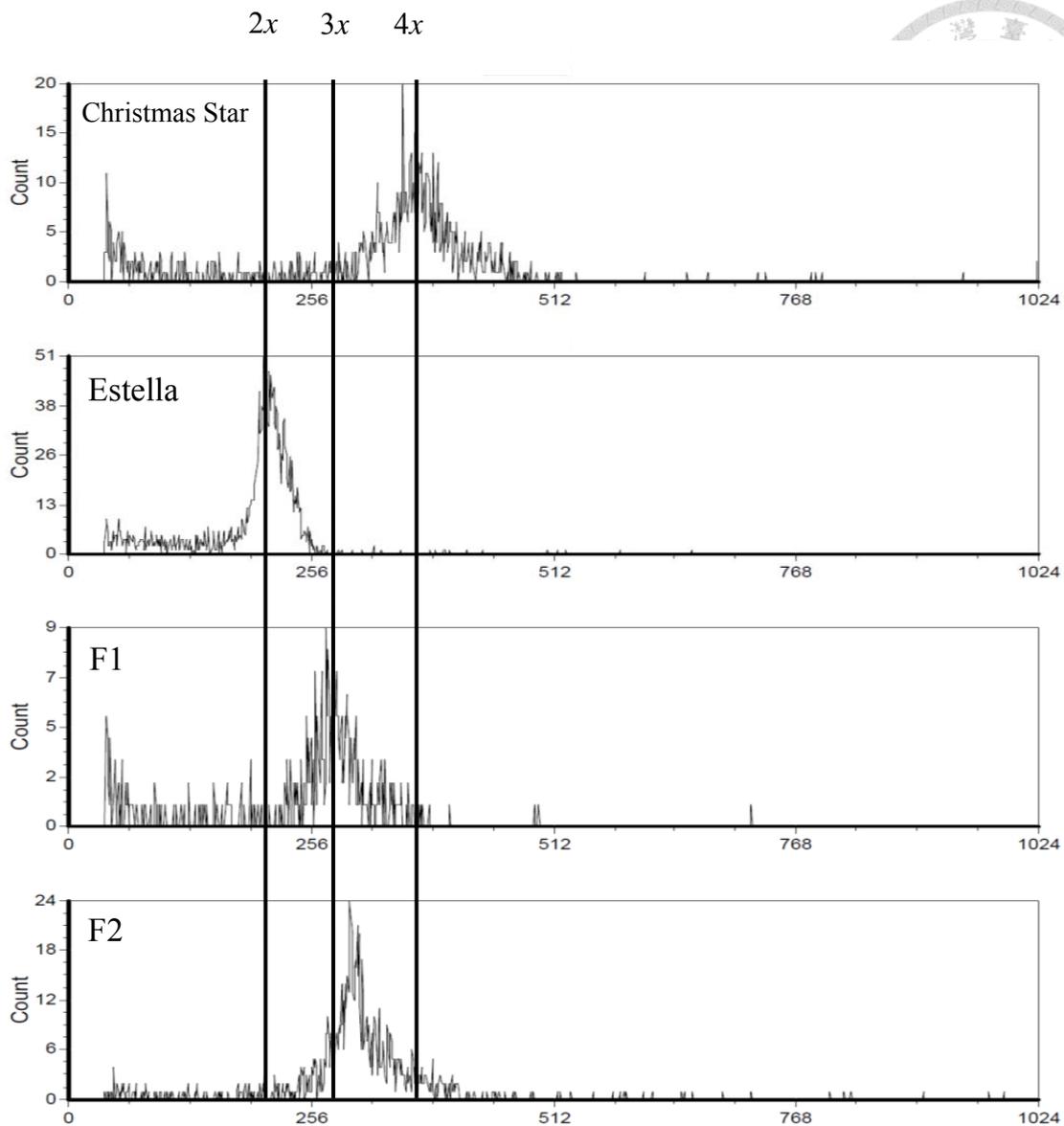


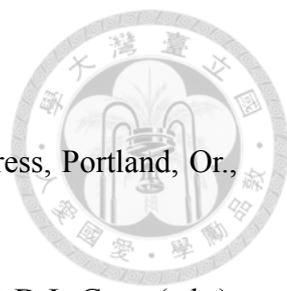
圖 7.8. 具香氣四倍體孤挺花‘Christmas Star’與二倍體‘Estella’及其雜交後裔(F1、F2)之細胞核 DNA 含量定量分析測定圖譜

Fig. 7.8. Flow cytometry histogram of genome size determination for both scented tetraploid amaryllis ‘Christmas Star’, diploid ‘Estella’, and their hybrid progenies F1 and F2.

## 參考文獻(References)



- 郭孟樺. 2012. 夏堇與毛葉蝴蝶草種間雜交胚之胚拯救與多倍體化. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系碩士論文.
- Barone, A., A.D. Giudice, and N.Q. Ng. 1992. Barrier to interspecific hybridization between *Vigna unguiculata* and *Vigna vexillata*. *Sex. Plant Reprod.* 5:195-200.
- Bell, W.D. 1973. New potentials in amaryllis breeding. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 86:462-466.
- Bell, W.D. 1977. Double flowered amaryllis. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 90:121-122.
- Coble, C.J. and W.T. Schapaugh, Jr. 1990. Nutrient culture medium components affecting plant recovery from immature embryos of three *Glycine* genotypes and an interspecific hybrids grown in vitro. *Euphytica* 50:127-133.
- De Jeu, M.J. and E. Jacobsen. 1995. Early postfertilization ovule culture in *Alstroemeria* L. and barriers to interspecific hybridization. *Euphytica* 86:15-23.
- Ishizaka, H. 2008. Interspecific hybridization by embryo rescue in the genus *Cyclamen*. *Plant Biotechnol.* 25:511-519.
- Khaleel, T.F., S. Haven, and T. Gilg. 1991. Karyomorphology of *Amaryllis* hybrids. *Cytologia* 56:31-41.
- Kikuchi, S., H. Tanaka, and H. Tsujimoto. 2007. Pollen tube growth in cross combination between *Torenia fournieri* and fourteen related species. *Breed. Sci.* 57:117-122.
- Lu, C. and M.P. Bridgen. 1996. Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the in vitro responses from ovule cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Sci.* 116:205-212.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). *Breeding ornamental plants*. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Read, V.M. 2000. Development of an in ovule embryo culture procedure for

- 
- Hydrangea*. J. Environ. Hort. 18:34-39.
- Read, V.M. 2004. *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Reed, S. 2004. Embryo rescue, p. 235-239. In: R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.). Plant development and biotechnology. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Sharma, D.R., R. Kaur, and K. Kumar. 1996. Embryo rescue in plants – A review. Euphytica 89:325-337.
- Shields, J.E. 1979. The ancestors of the amaryllis. Amaryllis Bull. 1:2-6.
- Stewart, J.M. 1981. In vitro fertilization and embryo rescue. Environ. Expt. Bot. 21:301-315.
- Sukno, S., J. Ruso, C.C. Jan, J.M. Melero-Vara, and J.M. Fernandez-Martinez. 1999. Interspecific hybridization between sunflower and wild perennial *Helianthus* species via embryo rescue. Euphytica 106:69-78.
- Traub, H.P. 1934. The Nehrling hybrid amaryllis. Yrbk. Amer. Amaryllis Soc. 1:61.
- Traub, H.P. 1958. The amaryllis manual. MacMillan, New York, U.S.A.
- Williams, E.G., B.R. Knox, and J.L. Rouse. 1982. Pollination sub-systems distinguished by pollen tube arrest after incompatible interspecific crosses in *Rhododendron* (Ericaceae). J. Cell Sci. 53:255-277.

## 第八章 綜合討論與結論

### Chapter 8. General Discussion and Conclusion

臺灣孤挺花是由日本鈴木三郎首先自新加坡引入，以庭園栽培為主(邱和張，1995)，後於 1960 年代從英國引進大花雜交品種是現今商業栽培主流(王，1995)。目前在臺灣仍以國外進口之商業品種為主。本研究主要是選育孤挺花新品種，瞭解植物主要性狀並進行雜交育種。收集之孤挺花計有單瓣品種 41 個與重瓣品種 33 個，在臺灣種苗改良繁殖場網室環境栽培，單瓣品種之花莖長介於 22.5-55.1 cm (表 3.2)，重瓣品種之花莖長介於 22.9-66.2 cm (表 3.3)，理想孤挺花切花花莖長度約 60 - 70 cm (Read, 2004)。臺灣在 2007 至 2015 年間，每年孤挺花切花總交易量約為 3 萬 5 千支，而進口切花數量約為 1 萬 9 千支，佔 54%，交易額更佔全部之 80% (圖 1.1)，可見選育適合臺灣之孤挺花切花新品種，有其需求性。

重瓣品種比單瓣品種具更多的花瓣，通常花朵較大，顏色較深或較亮麗，也可能具較濃郁之香氣(Reynolds and Tampion, 1983)，故觀賞價值較高。觀察 35 個重瓣孤挺花品種，從花朵器官排列上，大致可分為二大類(表 3.4)，類型 I 為花朵器官排列為四輪，僅雌、雄蕊瓣化程度差異，類型 II 為花器官輪數增加，各增加一輪雌、雄蕊，增加之雌或雄蕊瓣化、部分瓣化或無瓣化。其中類型 I 又可依雌雄蕊瓣化程度細分成三群(圖 3.6-3.8)，類型 II 增加輪數後所有雌雄蕊又因瓣化程度差異可細分為五群(圖 3.9-3.13)。Latapie(1980)將孤挺花之花被瓣(tepal)數為 6 定義為單瓣花，花被瓣數 7-11 為半重瓣花(semidouble)，花被瓣數 12-17 為重瓣花(double)，花被瓣數 18 以上為超重瓣花(superdouble)，可產生重瓣花主要為類型 II，其中又以類型 II-3、II-4 及 II-5 可產生花被瓣數較多之超重瓣。

多數孤挺花原生種為二倍體( $2n = 2x = 22$ ) (Naranjo and Poggio, 1988)，染色體數為  $2n = 22$ ，基本染色體為  $X = 11$ ，由四條短的中位中節(metacentric)染色體及七條長的近端中節(acrocentric)染色體組成 (Arroyo, 1982；Brandham and Bhandol, 1997；Naranjo and Poggio, 1988；Poggio et al., 2007)。本研究觀察八個孤挺花品種之染色體(圖 3.14)，顯示‘Montevedio’、‘Estella’及‘Papillo Butterfly’屬於較接近原生



種之品種，染色體數為 22 條( $2n = 2x = 22$ )，且植株之性狀較小，而‘Gervase’、‘Design’、‘Fortune’、‘Blossom Peacock’及‘Razzmatazz’之染色體數 44 條( $2n = 4x = 44$ )，植株之性狀較大。二倍體孤挺花之種或品種，常無法雜交育種成功且大多數具有自交不親和性(Bell, 1973; 1977)，將二倍體孤挺花多倍體化成四倍體後，則可除去不稔性障礙(Meerow, 2000)；19-20 世紀期間孤挺花育種者持續挑選大花、硬挺、大植株等性狀，配合多倍體育種及天然多倍體之存在，因此現今商業孤挺花品種多為四倍體。

McCann (1937)指出重瓣孤挺花超出 6 瓣以上之花瓣來源，可能是雄蕊和雌蕊等花器官轉變而來。孤挺花之雄蕊或雌蕊完全轉換成似花瓣之構造時，此時雌蕊或雄蕊之功能也會完全或部分喪失，若是雄蕊瓣化過程中，在轉化末期瓣化不完整，會產生一些具有花藥之少量具稔性之花粉，此花粉將可利用作為育種之重要親本來源(Meerow, 2000)。本研究觀察顯示六個重瓣孤挺花品種之正常花藥、畸形花藥(defective anther)與瓣化後殘存在花瓣邊緣之花藥構造(petaloid anther)皆可產生花粉，且培養 2 小時後都有 14%-90%萌芽率(圖 4.5-4.7)，此與 Meerow (2000)之推論相同。在重瓣花菸草(*Nicotiana alata* Link & Otto)中，雄蕊的花絲上會產生似花瓣構造，部分甚至使花藥囊變形，但仍可做為花粉親(Zainol and Stimart, 2001; Zainol et al., 1998)，此與孤挺花之情形類似，即重瓣化未使花粉失去功能。

取重瓣孤挺花‘Blossom Peacock’三種形態花藥所產生之花粉與單瓣孤挺花‘Design’雜交，授粉 30 天後皆可收穫種子，花粉來源對每果實種子數及種子發芽率無顯著影響(表 4.1)。重瓣花是孤挺花育種之主要目標(Read, 2004)，具有市場需求性。觀察歸類之重瓣孤挺花類型 I-3 與 II-5，所有雌雄蕊瓣化(圖 3.8、3.13；表 3.4)，不易獲得花粉，較不適合做為育種之花粉親。溫度會影響玫瑰花朵之瓣化程度；夏季高溫下，重瓣玫瑰花之花瓣減少，且葉片乾重明顯降低，呼吸作用大量消耗葉片累積的光合產物(Blom, 1980)。Deme (1978)亦指出有些重瓣孤挺花品種在 32°C 下會形成單瓣花，但隔年逆境不強時仍會形成重瓣花。因此重瓣孤挺花類型



I-3 與 II-5 之品種，有待研究溫度或其他逆境對花朵、花藥構造及花粉形成之影響，以期將來可應用於重瓣孤挺花之育種中。

以孤挺花‘Blossom Peacock’為花粉親，其重瓣品種歸類為類型 II 之花器官輪數增加，各增加一輪雌、雄蕊(表 3.4)，與單瓣品種進行雜交所選育出‘種苗 1 號-粉珍珠’及‘種苗 2 號-紅豔’，此二新品種在重瓣歸類上同樣為類型 II，只是所增加之雌、雄蕊輪之瓣化程度不同差異而已(表 3.4、6.1、6.2)，因此若利用花被瓣數較多之重瓣品種，如歸類之 I-3、II-2、II-3、II-4 與 II-5(表 3.4)等品種為花粉親與單瓣品種雜交，是否會產生花被瓣數較多之雜交後裔，則需進一步試驗研究。

重瓣孤挺花育種的源起於 1866 年由 M. Albert Wagner 於古巴哈瓦那野外所發現的重瓣型 *Hippeastrum equestre* f. *albertii*，不過一直到 1930 年才正式發表第一個重瓣孤挺花品種(McCann, 1937)。重瓣孤挺花種球價格常較單瓣品種高，且花朵壽命普遍較單瓣品種壽命長(Read, 2004)。本研究以 39 個單瓣孤挺花品種為種子親，16 個重瓣孤挺花品種為花粉親進行雜交授粉，雜交後裔共計觀察 70 個雜交組合，4288 植株。參試之 39 個單瓣孤挺花品種自交、互相雜交或反交之後裔全為單瓣型，而 16 個重瓣品種則因器官瓣化或可見柱頭之構造即使授粉亦無法獲得種子。綜觀 70 個雜交組合雜交 F<sub>1</sub> 後裔即出現重瓣型(表 5.1)，顯示孤挺花重瓣相對於單瓣為顯性表現。據此，單瓣型品種之基因型可推定為隱性同質結合，而重瓣型品種因無法自交純化，推定為顯性異質結合。其中 301 株為完全重瓣型，924 株為半重瓣型，3063 株為單瓣型。14 組之雜交後代重瓣：單瓣為 1：1 ( $\chi^2 = 0.00\sim 3.24$ )，有 49 組之重瓣：單瓣為 1：3 ( $\chi^2 = 0.00\sim 5.98$ )。仙客來(*Cyclamen persicum* Mill.)、石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)、非洲菊(*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook. f.)、矮牽牛(*Petunia* × *hybrid* Hort. Ex Vilm.)、玫瑰花(*Rosa hybrida* Hort)亦有重瓣性狀相對於單瓣性狀為顯性遺傳之行為(Horn, 2002)。天竺葵重瓣性狀遺傳除 D 基因決定重瓣外，尚有 M 基因決定重瓣之花瓣數量，當 D 基因座為隱性同質結合時則不表現重瓣。當欲直接套用該模型時，則顯示 M 基因座之遺傳行為應為隱性遺傳，以符合重瓣相對於半重瓣數量較少之觀察。結果顯示以兩 D 基因座(顯性遺傳)及一 M 基因座



(隱性遺傳)模式，確實可詮釋本試驗所得雜交後裔分離比，並可將單瓣種子親區分為三種基因型，且不會與單瓣親本自交或互相雜交無法獲得重瓣後代之觀察衝突(Nugent and Snyder, 1967)。

以單瓣孤挺花‘San Remo’為種子親與重瓣‘Blossom Peacock’為花粉親，進行雜交，已選拔出重瓣‘種苗 1 號-粉珍珠’，並已獲得品種權(Liu and Yeh, 2015)。花色類型為石竹花型(picotee)，具淡香氣。香氣主要成分是桉油醇(Cineole)、羅勒烯(1,3,6-Octatriene)、Linalool oxide、芳樟醇( $\beta$ -Linalool)、環己烯甲醇(3-Cyclohexene-1-methanol)及金合歡烯( $\alpha$ -Farnesene)等，與親本‘Blossom Peacock’之香氣主要組成桉油醇(Cineole)、羅勒烯(1,3,6-Octatriene)、芳樟醇( $\beta$ -Linalool)、Linalool oxide、環己烯甲醇(3-Cyclohexene-1-methanol)及金合歡烯( $\alpha$ -Farnesene)類似(圖 6.2)，本研究雜交組合之親本‘San Remo’與‘Blossom Peacock’皆具香氣，雜交後裔之‘種苗 1 號-粉珍珠’亦具香氣，Meerow (2000)亦指出以皆具有香氣之親本進行雜交，後裔較有機會具有香氣性狀。

為選育出具香氣的孤挺花新品種，選擇香氣濃郁之孤挺花二倍體品種 Estella 為親本與具香氣之四倍體進行雜交育種，授粉後 10-14 天採收果莢進行胚珠無菌播種，結果以 Estella 為種子親與四倍體具香氣之商業品種為花粉親雜交，共進行 8 個雜交組合，其中有 5 個雜交組合胚珠無法發芽，胚珠發芽率為 0%，整體而言以 Estella 為種子親胚珠發芽率偏低，以 Estella 為花粉親與四倍體具香氣之商業品種為種子親共進行 11 個雜交組合，整體而言以 Estella 為花粉親之胚珠發芽率較高(表 7.2)，Bell (1977)指出孤挺花之二倍體為種子親與四倍體為花粉親雜交，通常不會產生種子，但以四倍體為種子親與二倍體為花粉親進行雜交，則可產生少數具稔性之種子，此結論似乎與本次試驗相符。在授粉天數上，以孤挺花‘Toronto’為種子親與‘Bold Leader’雜交授粉，雜交授粉後 7、10 及 14 天採收果莢，進行胚珠培養，以授粉 14 天所採收果莢並配合內含蔗糖  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  之胚珠發芽率最佳，可達 97.5%；以孤挺花‘Estella’為種子親與‘Trendsetter’雜交授粉，雜交授粉後 7、10 及 14 天採收果莢，結果胚珠之發芽在授粉後 7 與 10 天之胚珠發芽率為 0%，僅授粉後 14 天



之胚珠發芽率 2.5%-7.5%。胚體成熟度往往決定胚挽救成功與否，而授粉後天數則與胚體成熟度有關，郭(2012)以夏堇‘Clown Rose’為種子親與毛葉蝴蝶草為花粉親，在授粉後 16 與 18 天之胚珠發芽率較授粉後 12 與 14 天為佳。百合水仙(*Alstroemeria violacea* L. × *A. pelegrina alba* L.)種間雜交在授粉後 4 天之胚珠發芽率較授粉後 7 天差(Lu and Bridgen, 1996)。

以‘Estella’為親本，與四倍體‘Faro’、‘Trendsetter’、‘Christmas Star’等進行雜交，已成功獲得雜交後裔，並有 14 株開花，以流式細胞儀分別測試染色體倍數性，結果其中有 12 株雜交後裔為三倍體，2 株雜交後裔為四倍體。分析雜交後裔 A3 與 B3 之花朵香氣化學成分，皆有親本香氣組成(表 7.12)。

重瓣與香氣品種是目前孤挺花新品種選育之重要目標之一，重瓣品種的獲得主要是以重瓣品種為花粉親，選取具花粉活力的花粉授於單瓣品種，再從雜交後裔中選拔出優良單株。而香氣品種則以具香氣的品種為親本，進行雜交，從雜交後裔中選拔具香氣濃郁之優良單株。而雜交育種過程中，若雜交組合不易產生種子，則可在雜交授粉後 10-14 天，取胚珠培養於含 1/4 MS 鹽類、15-30 g·L<sup>-1</sup> sucrose 與 7 g·L<sup>-1</sup> gelrite 之培養基，可獲得雜交後裔。利用此方式即可選育出符合育種目標之孤挺花新品種。

## 參考文獻(References)

- 王才義. 1995. 孤挺花. 台灣農家要覽. 農作物篇(二). 財團法人豐年社出版. 臺北.
- 邱年永、張光雄. 1995. 原色台灣藥用植物圖鑑(4). 南天書局. 臺北. p. 273.
- 郭孟樺. 2012. 夏堇與毛葉蝴蝶草種間雜交胚之胚拯救與多倍體化. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系碩士論文.
- Arroyo, S. 1982. The chromosome of *Hippeastrum*, *Amaryllis* and *Phycella* (Amaryllidaceae). *Kew Bull.* 37:211-216.
- Bell, W.D. 1973. New potentials in amaryllis breeding. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 86:462-466.
- Bell, W.D. 1977. Double flowered amaryllis. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 90:121-122.
- Blom, T. 1980. Rose research in Veinland, Canada. *Bull. Roses Inc.* June:45-46.
- Brandham, P.E. and P.S. Bhandol. 1997. Chromosomal relationships between the genera *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Kew Bull.* 52:973-980.
- Deme, J.W. 1978. Breeding double amaryllis. *Plant Life* 34:102-103.
- Latapie, W.R. 1980. Suggested standards for judging double amaryllis. *Plant Life* 36:41.
- Liu, M.C. and D.M. Yeh. 2015. 'T.S.S. No.1-Pink Pearl': A double-flowered and fragrant amaryllis cultivar. *HortScience* 50:1588-1590.
- Lu, C. and M.P. Bridgen. 1996. Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the in vitro responses from ovule cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Sci.* 116:205-212.
- McCann, J.J. 1937. New double hybrid amaryllis. *Herbertia* 4:185-186.
- Meerow, A.W. 2000. Breeding amaryllis, p. 174-195. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.). *Breeding ornamental plants*. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.
- Naranjo, C.A. and L. Poggio. 1988. A comparison of karyotype, Ag-NOR bands and DNA contents in *Amaryllis* and *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Kew Bull.* 42:317-325.

Nugent, P.E. and R.J. Snyder. 1967. The inheritance of floret doubleness, floret center color, and plant habit in *Pelargonium hortorum* Bailey. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 91:680-690.

Poggio, L., G. González, and C.A. Naranjo. 2007. Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): Variation in genome size. Bot. J. Linn. Soc. 155:171-178.

Read, V.M. 2004. *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Timber Press, Portland, Or., U.S.A.

Reynolds, J. and J. Tampion. 1983. Double flowers: A scientific study. Scientific and Academic Editions, New York, U.S.A.

Zainol, R. and D.P. Stimart. 2001. A monogenic recessive gene, *fw*, conditions flower doubling in *Nicotiana glauca*. HortScience 36:128-130.

Zainol, R., D.P. Stimart, and R.F. Evert. 1998. Anatomical analysis of double-flower morphogenesis in a *Nicotiana glauca* mutant. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123:967-972.

