

國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝暨景觀學系



碩士論文

Department of Horticulture and Landscape Architecture

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

重瓣懸垂日日春之育種

Breeding of Double-flowered and Trailing *Catharanthus*

roseus

林煥耿

Huan-Keng Lin

指導教授：葉德銘 教授

Advisor: Prof. Der-Ming Yeh

中華民國 105 年 6 月

June, 2016



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

重瓣懸垂日日春之育種
Breeding of Double-flowered and Trailing
Catharanthus roseus

本論文係林煥耿君 (R03628106) 在國立臺灣大學園藝暨景觀學
學系完成之碩士學位論文，於民國 105 年 6 月 23 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：

景德銘

(簽名)

(指導教授)

沈榮壽

陳香君

陳仁洽



中文摘要


日日春 [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] 為夏季重要花壇與盆花作物，目前已選育重瓣日日春‘桃園’系列，但尚未有重瓣懸垂型品種。本研究採用重瓣直立型‘桃園’系列與單瓣懸垂型‘Cora Cascade’系列、‘Mediterranean’系列及‘Boa’系列闡述 1) 懸垂特性原因、2) 懸垂與重瓣、花色等性狀遺傳模式與 3) 育成重瓣懸垂型新品種。

本研究以徒手切片法調查 5 種直立型日日春品種與懸垂型日日春‘Cora Cascade’系列、‘Mediterranean’系列及‘Boa’系列 19 品種莖部構造，結果顯示懸垂型品種韌皮纖維細胞無法合成次生細胞壁，停留於纖維始源細胞階段。另染色觀察直立型日日春‘Vitesse Pink’之莖部切片，顯示日日春韌皮纖維次生細胞壁木質素含量低、纖維素含量高，屬於膠質纖維。將‘Vitesse Pink’植株傾斜栽培 28 天後取彎曲部位莖段橫切面可觀察到張力側韌皮纖維細胞管徑與細胞壁厚度增加，顯示日日春纖維細胞具反應纖維特性，參與植株支持功能。

使用重瓣直立型‘桃園’系列三品種與單瓣懸垂型‘Cora Cascade’系列三品種及‘Mediterranean’系列兩品種雜交、自交與回交，並調查子代族群懸垂性狀，結果顯示 F₂ 族群直立型植株與懸垂型植株比例為 3:1 ($\chi^2 = 0-2.84$)，顯示直立型對於懸垂型為顯性，由一對主效基因控制。若同時觀察重瓣性狀。則 F₂ 族群單瓣直立型:單瓣懸垂型:重瓣直立型:重瓣懸垂型植株比例為 9:3:3:1 ($\chi^2 = 0.5-7.4$)，且回交結果也顯示懸垂基因座與重瓣基因座互相獨立不連鎖。

使用微強度試驗機檢測直立型‘Little Pinkie’、‘Vitesse Pink’與懸垂型品種‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’之莖部彈性係數，以彈性係數與各節位中不同組織做相關性分析。結果顯示日日春懸垂性狀主要受到韌皮纖維有無影響，無纖維組織之枝條彈性係數較低，較易彎曲，使植株在生長過程中較易倒伏，於移植 25 天即產生懸垂性狀。而木質部在組織中之比例與近基部較成熟節位之彈性係數呈正相關，無韌皮纖維且木質部含量較低之日日春品種，彈性係數下降，枝條易彎曲且產生最大的彎曲角度與懸垂程度。

本研究使用日日春‘Cora Cascade’系列 4 品種、‘Mediterranean’系列 2 品種與



‘桃園’系列3品種分析後代族群花色、無花粉雄不稔等性狀之遺傳模式。以帶有杏色花瓣基因之粉紅色花瓣‘Cora Cascade Strawberry’與白色花瓣‘Mediterranean Polka Dot’雜交，其子代粉紅色花瓣與杏色花瓣分離比為 1:1 ($\chi^2 = 0.3$)，因子代中無白色花瓣個體出現，顯示粉紅色花瓣對於杏色花瓣與白色花瓣為顯性，且粉紅色花瓣由一對基因控制。使用帶有粉色花瓣基因櫻桃紅花瓣單株與杏色‘Cora Cascade Apricot’雜交，其子代櫻桃紅色花瓣與粉紅色花瓣分離比為 1:1 ($\chi^2 = 2.37$)，顯示櫻桃紅色花瓣對於粉紅色花瓣與杏色花瓣為顯性，且櫻桃紅色花瓣由一對基因控制。紫紅色花瓣‘桃園五號-紅娘’與紫紅色花瓣‘Cora Cascade Magenta’雜交，F₂ 族群分離比紫紅色:粉紅色:白色為 12:3:1 ($\chi^2 = 0.01$)，顯示紫紅色花瓣對於粉紅色與白色花瓣為顯性，且由一對基因控制。

花冠筒上緣為紅色之‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Apricot’、‘Cora Cascade Strawberry’、‘Cora Cascade Magenta’自交後代皆分離出黃色花冠筒上緣植株，且紅色花冠筒上緣與黃色花冠筒上緣植株分離比為 3:1 ($\chi^2 = 0.11-3.25$)，顯示黃色花冠筒上緣對於紅色花冠筒上緣為隱性，由一對基因控制。

中型紅眼圈‘Cora Cascade Strawberry’自交後代分離出小型紅眼圈植株，中型紅眼圈與小型紅眼圈分離比為 3:1 ($\chi^2 = 0.35$)，顯示中型紅眼圈性狀相對於小型紅眼圈為顯性，也由一對基因控制。

一代雜交商業品種‘Cora Cascade Polka Dot’與‘Cora Cascade Strawberry’自交後代分離出無花粉雄不稔植株，花藥正常與無花粉雄不稔性狀分離比為 3:1 ($\chi^2 = 0.01-2$)，顯示日日春無花粉雄不稔性狀由一對隱性基因控制。

使用花瓣邊緣缺刻且呈波浪狀之‘Angel Tutu’與重瓣花型之‘桃園四號-夏雪’雜交，F₁ 自交分析花瓣邊緣缺刻性狀與無花柱之性狀遺傳模式。其 F₂ 族群花瓣全緣與花瓣缺刻分離比為 3:1 ($\chi^2 = 0.33-3.02$)，顯示花瓣邊緣缺刻性狀由一對隱性基因所控制，且與無花柱性狀連鎖，在重瓣性狀表現之遺傳背景下會增強花瓣邊緣缺刻性狀表現，於異結合植株就可觀察到花瓣邊緣缺刻性狀。

以阿拉伯芥 NAC Secondary wall thickening promoting factor 1 (*NST1*) 基因為模

板與日日春轉錄體做序列比對，顯示日日春有相似的基因序列表現。雖此基因之 CDS (coding DNA sequence) 序列於直立型‘Vitesse Pink’及懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’之間無差異，但表現量以‘Vitesse Pink’較‘Cora Cascade Polka Dot’高。

本研究由單瓣懸垂品種與重瓣直立品種雜交之 F₂ 族群中挑選植株強健、分支性佳之植株，選出 3 種常見花色單株營養繁殖固定，依日日春品種檢定方法及性狀調查表列之規定調查，選育出世界首見之重瓣懸垂日日春，並將申請品種權保護。



Abstract

Periwinkle [*Catharanthus roseus* (G.) Don] is an important summer bedding and potted plant species. Cultivar with both trailing and double-flower habits is presently limited. The study employs double-flowered and upright 'Taoyuan' series, and single-flowered and trailing 'Cora Cascade' series and 'Mediterranean' series to elucidate 1) mechanism of trailing habit, 2) inheritance of trailing and double-flower habits, and flower color, and 3) to breed new cultivars with both trailing and double-flower habits.

Free hand cross sections were made for upright and trailing cultivars at the first to the third internode above cotyledons. Results showed that all 5 upright cultivars had phloem fiber, but respective cells in trailing 'Cora Cascade' series, 'Mediterranean' series, and 'Boa' series did not have secondary wall. Internode below the second leaf pairs from top of upright 'Vitesse Pink' were also sectioned, and stained by phloroglucinol-HCl and iodine chloride to reveal lignin and cellulose. Results showed that secondary wall of phloem fiber had low lignin, and high cellulose content, and categorized as gelatinous fiber. Plants of 'Vitesse Pink' with 2-3 leaf pairs were tilted-cultivated for 28 days and cross sectioned at bending stems. Phloem fiber at tension side showed increased diameter and thickened secondary wall, indicating the phloem fiber is a reaction fiber and functions as upright growth support.

Self-pollination, F₁, F₂, and backcross generation of upright and double-flowered 'Taoyuan' series, and trailing and single-flowered 'Cora Cascade' series and 'Mediterranean' series were made. Results showed that F₁ population between upright and trailing cultivars were all upright, and the F₂ population showed 3 : 1 segregation ratio among upright and trailing progenies ($\chi^2 = 0 - 2.84$). Trailing habit in periwinkle is recessive to upright habit, and is controlled by a single major gene. In addition, the F₂ population showed 9 : 3 : 3 : 1 ratio among upright+single-flowered, trailing+single-flowered, upright+double-flowered, and trailing+double-flowered progenies ($\chi^2 = 0.5 -$

7.4). Loci responsible for upright/ trailing and single-/ double-flower habits in periwinkle are inherited independently.

Modulus of elasticity (MOE) of upright ‘Little Pinkie’, ‘Vitesse Pink’, and trailing ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Strawberry’, and ‘Cora Cascade Magenta’ were measured by microtester. Results of correlation coefficient analysis between MOE and tissue structure showed that trailing phenotype is governed by presence of phloem fiber. Plants that lack phloem fiber tend to have lower MOE and more likely to bend during growth and showed trailing phenotype of 25 days after potting. Moreover, xylem proportion of also contributed to MOE and trailing level, especially for basal stem and more mature position. Periwinkle cultivars without phloem fiber and lower xylem proportion had lower MOE, which had higher bending angle and more trailing level

Four ‘Cora Cascade’ series cultivars, two ‘Mediterranean’ series cultivars, and three ‘Taoyuan’ series cultivars were used to study inheritance of flower color and pollen-less male steriling. Flower color of progenies from self-pollination, F₁ and F₂ population segregated and followed one gene model of dominant rules as: violet > cherry > pink > apricot > white. Progenies from self-pollination of cultivars with red receptacle segregated for 3 : 1 ratio among red and yellow receptacle ($\chi^2 = 0.11 - 3.25$). Red receptacle in periwinkle is dominant to yellow receptacle, and is controlled by single gene. Progenies of self-pollinated red medium-eyed ‘Cora Cascade Strawberry’ segregated for small- and medium-sized eye in 3 : 1 ratio ($\chi^2 = 0.35$). Red medium-sized eye in periwinkle is dominant to red small-sized eye, and is also controlled by single gene. Male steriling in periwinkle is recessive to fertile male, and is controlled by single gene.

Lobules margined ‘Angel Tutu’ was pollinated with double-flowered ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’, and F₂ population was made to study petal margin and style-less. Results showed that F₁ population all had entire petal margin and style. Progenies of F₂ population segregated for entire petal margin and lobules margin in 3 : 1 ratio ($\chi^2 = 0.33-3.02$). And

style-less trait is linked with lobules margin. Double-flowered plants showed lobules margin even at heterozygous state.

NAC secondary wall promoting factor 1 of *Arabidopsis thaliana* (*AtNST1*) was blasted with gene sequence of transcriptome in periwinkle, and similar sequence was observed. However, coding DNA sequence of *CrNST1* in upright 'Vitesse Pink' and trailing 'Cora Cascade Polka Dot' did not showed difference. *CrNST1* expression level is more in 'Vitesse Pink' than in Cora Cascade Polka Dot' stem.

Three vigorous and well-branching double-flowered and trailing plants from F₂ population were selected and cutting-propagated. DUS test following announced methods was made to breed first double-flowered and trailing periwinkle in the world.

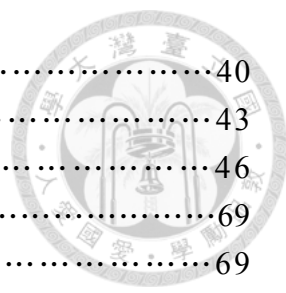


目錄



中文摘要	i
Abstract	vi
目錄	ix
表目錄	xi
圖目錄	xiii
第一章 前言	1
第二章 前人研究	3
一、日日春分類與形態特徵	3
二、日日春育種目標	4
三、重瓣花型遺傳模式	4
四、懸垂性狀遺傳模式	5
五、日日春花色遺傳模式	6
六、日日春雄不稔性狀遺傳式	8
七、植物厚壁組織	8
八、反應材與反應纖維	9
九、植物組織與形態、力學表現關係	10
十、纖維細胞發育模式	10
十一、纖維次生細胞壁形成主要基因	11
第三章 日日春懸垂型日日春之形態及莖解剖觀察	13
摘要	13
Abstract	13
前言(Introduction)	13
材料方法(Materials and Methods)	14
結果(Results)	17
討論(Dissussion)	18
第四章 日日春之懸垂性狀遺傳	27
摘要	27
Abstract	27
前言(Introduction)	28
材料方法(Materials and Methods)	28
結果(Results)	30
討論(Dissussion)	32
第五章 韌皮纖維與木質部對日日春懸垂性狀之貢獻	39
摘要	39
Abstract	39
前言(Introduction)	40

	材料方法(Materials and Methods).....	40
	結果(Results).....	43
	討論(Dissussion).....	46
第六章	日日春花色遺傳.....	69
	摘要.....	69
	Abstract.....	69
	前言(Introduction)	70
	材料方法(Materials and Methods).....	70
	結果(Results).....	73
	討論(Dissussion).....	80
第七章	日日春 <i>CrNST1</i> 基因選殖與表現量分析.....	97
	摘要.....	97
	Abstract.....	97
	前言(Introduction)	97
	材料方法(Materials and Methods).....	98
	結果(Results).....	99
	討論(Dissussion)	99
第八章	重瓣懸垂型日日春品種選育.....	105
	摘要.....	105
	Abstract.....	105
	前言(Introduction)	105
	材料方法(Materials and Methods).....	106
	結果(Results).....	107
	討論(Dissussion).....	108
第九章	綜合討論與結論.....	127
	參考文獻(References).....	131
	附錄(Appendix)	138



表目錄



	頁碼
表序	
表 3.1. 直立型與懸垂型日日春株高、展幅、韌皮部纖維之形態比較.....	20
表 3.2. 直立型日日春‘Vitesse Pink’彎曲部位橫切面壓力側與張力側韌皮纖維 細胞管徑大小、細胞壁厚度及木質部寬度比較.....	21
表 4.1. 日日春 17 組自交與雜交組合之子代株型分離比例.....	35
表 4.2. 日日春 16 組 F ₂ 與回交組合之子代株型分離比例.....	36
表 4.3. 日日春雜交組合之子代株型與花型分離比例.....	37
表 5.1. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 25 天時之生長參數 比較.....	50
表 5.2. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’、移植 25 天後生長參數 與彈性係數相關性分析.....	51
表 5.3. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天時之生長參數 比較.....	52
表 5.4. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天後生長參數與 彈性係數相關性分析.....	53
表 5.5. 日日春‘Little Pinkie’、‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Magenta’、‘Cora Cascade Strawberry’移植 25 天與 44 天後第 二對完全展開葉下節間組織結構與彈性係數相關性.....	54
表 5.6. 不同立支柱處理對日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天時生長參數之影響.....	55
表 5.7. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’、‘Cora Cascade Magenta’立支柱處理 44 天莖中段 彎曲角度比較.....	56
表 5.8. 日日春‘Vitesse Pink’(VP)、‘Cora Cascade Polka Dot’(CCP)與‘Cora Cascade Strawberry’(CCS)三品種不同節間組織面積比較.....	57
表 5.9. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’與‘Cora Cascade Strawberry’三品種不同節間組織面積比例與彈性係數比較.....	58
表 5.10. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’三品種不同節間各組織與彈性係數之相關性.....	59

表 5.11. 日日春 ‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’ 三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第四或五節節間組織面積差異.....	60
表 5.12. 日日春 ‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’ 三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第四或五節節間組織面積比例與彈性係數差異.....	61
表 5.13. 日日春 ‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’ 三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第一節節間組織面積差異.....	62
表 5.14. 日日春 ‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’ 三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第一節節間組織面積比例與彈性係數差異.....	63
表 6.1. 粉紅色系花瓣日日春 17 組自交與雜交組合之子代分離比例.....	84
表 6.2. 紫紅色花瓣日日春 11 組自交與雜交組合之子代分離比例.....	85
表 6.3. 日日春 18 組自交與雜交組合之子代花冠筒上緣顏色分離比例.....	86
表 6.4. 日日春 15 組自交與雜交組合之子代中型紅眼圈分離比例.....	87
表 6.5. 懸垂型日日春 ‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’ 與 ‘Cora Cascade Magenta’ 自交後代無花粉雄不稔分離比例.....	88
表 6.6. 日日春 ‘Angel TuTu’ 與 ‘桃園四號-夏雪’ 雜交子代花瓣邊緣缺刻性狀分離比例.....	89
表 6.7. 日日春 ‘Angel TuTu’ 與 ‘桃園四號-夏雪’ 雜交子代花瓣邊緣缺刻性狀與重瓣性狀分離比例.....	90
表 7.1. 聚合酶鏈鎖反應使用之引子對序列.....	101
表 8.1. 七優良重瓣懸垂日日春品系與商業品種株高、展幅、側枝數、花徑及扦插存活率園藝性狀比較.....	110
表 8.2. 重瓣懸垂日日春 TY4 × CCP F ₂ -6 與 ‘桃園四號-夏雪’、‘Cora Cascade Polka Dot’ 之性狀.....	111
表 8.3. 重瓣懸垂日日春 TY1 × CCS F ₂ -1 與 ‘桃園一號-玫瑰女孩’、‘Cora Cascade Strawberry’ 之性狀.....	116
表 8.4. 重瓣懸垂日日春 TY5 × CCM F ₂ -2 與 ‘桃園五號-紅娘’、‘Cora Cascade Magenta’ 之性狀.....	121

圖目錄



圖序	頁碼
圖 3.1. 日日春直立型‘Vitesse Pink’ (A、C、E)與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’ (B、D、F)莖部橫切面(A-D)與縱切面(E、F).....	24
圖 3.2. 日日春直立型‘Vitesse Pink’ (A)及懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’ (B)莖部斷面與解離之直立型‘Vitesse Pink’纖維細胞(C).....	25
圖 3.3. 莖部徒手切片觀察直立型日日春‘Vitesse Pink’ (A、C)與懸垂型日日春‘Cora Cascade Polka Dot’ (B、D).....	26
圖 3.4. 徒手切片觀察直立型日日春‘Vitesse Pink’彎曲莖部反應纖維.....	27
圖 4.1. 日日春雜交後代株型分布圖.....	39
圖 5.1. 日日春立支柱處理.....	64
圖 5.2. 日日春直立型‘Little Pinkie’、‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Magenta’、‘Cora Cascade Strawberry’移植 25 天與 44 天後第二對完全展開葉下節間各組織與彈性係數迴歸分析.....	65
圖 5.3. 日日春(A) ‘Vitesse Pink’、(B) ‘Cora Cascade Polka Dot’、(C) ‘Cora Cascade Strawberry’、(D) ‘Little Pinkie’與(E) ‘Cora Cascade Magenta’不同立支柱處理 44 天後之生長情形.....	66
圖 5.4. 日日春 ‘Cora Cascade Polka Dot’ (A)與‘Cora Cascade Strawberry’(B)前 25 天立支柱處理,後 19 天無立支柱處理.....	67
圖 5.5. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’與‘Cora Cascade Strawberry’三品種不同節位組織面積比例與彈性係數比較.....	68
圖 6.1. 日日春花冠顏色.....	91
圖 6.2. 日日春花色基因 <i>V</i> 、 <i>C</i> 、 <i>P</i> 與 <i>A</i> 之交感作用與花冠顏色.....	92
圖 6.3. 春雄蕊正常可稔花朵(A)、無花粉雄不稔花朵(B)與無花粉花藥(C)...	93
圖 6.4. 日日春‘Angel Tu Tu’×‘桃園四號-夏雪’之後代花型表現.....	94
圖 6.5. 日日春‘Angel Tu Tu’(A、D)‘桃園四號-夏雪’(C、F)與兩品種雜交 F_2 之花瓣嚴重皺縮植株(B、E)之後代花柱(A-C)與葉片(D-F)性狀表現.....	95
圖 7.1. <i>CrNSTI</i> 編碼區域序列.....	102
圖 7.2. 直立型日日春‘Vitesse Pink’與懸垂型日日春 ‘Cora Cascade Polka Dot’ 莖部 <i>CrNSTI</i> 基因表現量比較.....	103
圖 8.1. 重瓣懸垂型日日春 TY4×CCP F_2 -6 全株照(A)與花序特寫(B).....	113
圖 8.2. TY4×CCP F_2 -6、‘桃園四號-夏雪’與‘Cora Cascade Polka Dot’全株照 (A)與花序特寫(B).....	114
圖 8.3. TY4×CCP F_2 -6、‘桃園四號-夏雪’與‘Cora Cascade Polka Dot’花朵正面與側面(A)及葉片正面與背面(B).....	115

圖 8.4.重瓣懸垂型日日春 TY1 × CCS F ₂ -1 全株照(A)與花序特寫(B).....	118
圖 8.5.TY1 × CCS F ₂ -1、‘桃園一號-玫瑰女孩’與‘Cora Cascade Strawberry’ 全株照(A)與花序特寫(B).....	119
圖 8.6.TY1 × CCS F ₂ -1、‘桃園一號-玫瑰女孩’與‘Cora Cascade Polka Dot’花 朵正面與側面(A)及葉片正面與背面(B).....	120
圖 8.7.重瓣懸垂型日日春 TY5 × CCM F ₂ -2 全株照(A)與花序特寫(B).....	123
圖 8.8.TY5 × CCM F ₂ -2、‘桃園五號-紅娘’與‘Cora Cascade Magenta’全株照 (A)與花序特寫(B).....	124
圖 8.9.TY5 × CCM F ₂ -2、‘桃園五號-紅娘’與‘Cora Cascade Magenta’花朵正 面與側面(A)及葉片正面與背面(B).....	125

第一章 前言

Chapter 1. Introduction



日日春 [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] 為夾竹桃科 (Apocynaceae) 長春花屬多年生宿根草本植物，原產於馬達加斯加、斯里蘭卡等地區，花色鮮艷多樣、花期長，且耐熱性、耐旱性佳及栽培容易及適應性佳等優點，已成為全球重要的觀賞花卉 (Ball, 1998; Curry, 2012; van Bergen and Snoeijer, 1996)。近年來全球暖化，耐熱花卉種類與耐熱品種選育已成為趨勢 (Anderson, 2006)。日日春為台灣夏季最重要的草花之一，年產量達 230 萬盆，且市場需求逐漸增加 (陳等，2011)。

原生種日日春皆為高腳碟狀花之五瓣花 (van Bergen and Snoeijer, 1996)，長期以來缺乏重瓣品種 (National Garden Bureau Inc., 2002)，但於 2010 年首度出現花瓣排列緊密、內圈花瓣寬大美觀具商品價值之重瓣品種桃園系列 (陳，2013)，且此性狀為臺灣所獨有，具有新穎性。

育種者常將懸垂 (trailing) 或匍伏 (prostrate) 生長性狀導入花卉作物商業品種，以提高觀賞性、可應用性、生長勢及抑制雜草生長等優點 (Mirzaie-Nodoushan et al., 1999)。懸垂性品種適合做為吊盆栽培，近年來極受消費者喜愛，許多觀賞作物如矮牽牛 (*Petunia Xhybrida* Hort. ex E. Vilm.)、金魚草 (*Antirrhinum majus* L.) 及彩葉草 [*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd]、舞春花 (*Calibrachoa* Cerv.) 等。近年來也推出許多適合做為吊盆栽培的懸垂型品種，而日日春懸垂品種有 Cora Cascade Series (PanAmerican Seed Co., 1997)、Mediterranean Series (GoldSmith Seeds Co., 2010) 及 Boa Series (Floranova Co., 2009) 等品種 (陳，2013)。

植株形態一般被認為由多個基因控制的數量性狀，依 International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) 所描述金魚草、舞春花、玫瑰 (*Rosa* spp.) 與日日春之懸垂或匍匐植株形態表現為程度上的差異，屬於數量性狀。大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 之匍匐植株形態也被認為是數量性狀 (Zhu, 1884)，雖然日日春之懸垂性狀被認為是數量性狀，但尚無相關研究佐證，因此本研究擬分析日日春懸垂性狀遺傳模式。

植株形態受到組織結構影響，厚壁組織在植物體中產生與分佈方式非常多樣，且常具有力學上支持的功能 (Evert, 2006)。在藤本植物中，相較於灌叢植物莖部組

織會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織，且纖維組織所占比例較低(Crivellaro et al., 2012)。藤本鐵線蓮 *Clematis maritima* L.與 *C. vitalba* L.，莖中纖維比例會隨著枝條越成熟而降低，甚至失去纖維，因此使彈性係數(modulus of elasticity)下降，失去支持性，形成藤本之性狀(Rowe et al., 2004)。因此本研究擬藉由切片觀察懸垂型日日春之莖部組織結構，並討論其彈性係數與株型之關係。

阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana* L.)中，主要由 Secondary wall - associated NAC domain protein (*SND1*)與 NAC Secondary wall thickening promoting factor 1 (*NST1*)，兩基因直接控制合成次生細胞壁的下游基因，啟動纖維次生細胞壁合成(Gorshkova et al., 2012)，*SND1* 與 *NST1* 兩基因是調控纖維細胞次生細胞壁形成之主要開關，若兩基因同時失去功能，則阿拉伯芥纖維細胞喪失次生細胞壁，花梗便會產生彎曲倒伏之性狀(Zhong et al., 2007)。而日日春尚未有關於纖維細胞次生細胞壁合成基因之研究。

日日春為夏季重要花壇與盆花植物(Ball, 1998)，鮮豔多變的花形與花色也很重要，日日春花色多遵循一對基因之遺傳模式，但各基因間常有交感現象(Kulkarni et al., 2005a; Milo et al., 1985; Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)，瞭解日日春常見花色之遺傳模式，將助於選擇適當之育種方法。

不稔性狀為生產一代商業品種的重要性狀，可省略去雄步驟，節省授粉勞力，降低生產成本，且避免產生自交偽株，提升一代雜交品種種子純度，提升種子產量與品質(高，2006)，日日春品種多以種子流通，亦不少一代雜交商業品種，聊解日日春雄不稔性狀遺傳模式將有助於發展一代雜交品種。

本研究將育成重瓣懸垂日日春新品種，並分析多種具商業價值性狀之遺傳模式，如懸垂性、花色、雄不稔性狀與花瓣缺刻之特殊花形，期望未來在日日春育種上能有所參考，加速日日春品種育成。

本研究目的為

1. 育成重瓣懸垂型日日春品種
2. 瞭解日日春懸垂型狀與常見花色之遺傳模式
3. 瞭解纖維細胞與木質部兩種厚壁組織對於日日春懸垂程度之影響



第二章 前人研究

Chapter 2. Literature Review

一、日日春分類與形態特徵

(一)植物學分類

日日春又名為長春花，為夾竹桃科(Apocynaceae)多年生草本植物，原生於非洲馬達加斯加，1759年分類學家 Linnaeus 將日日春命名為 *Vinca rosea*。1838年英國植物分類學家 George Don 將日日春新成立長春花屬(*Catharanthus*)與 *Vinca* 分開，命名為 [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don](van Bergen and Snoeijer, 1996)。早期文獻記載中可能出現混淆的學名，如 *Vinca rosea* L.、*Pervinca rosea* L.、*Vinca speciosa* L.、*Lochnera rosea* L.、*Ammocallis rosea* L.等，因日日春過往長期使用 *Vinca rosea* 的學名，因此現今花卉商業目錄中日日春仍多以 *Vinca* 稱之，但可能容易和 *Vinca minor* L.與 *Vinca major* L.兩种植物混淆(Curry, 2012)。

由於日日春具有強健的風土適應性，自然受粉媒介為具有虹吸式(siphoning type)口器之蝶蛾類昆蟲，使日日春常成為溫暖地區的外來馴化植物(Levy, 1981)。日日春園藝品種多透過種子流通，已成為全球重要的花壇與盆花植物(Ball, 1998)。日日春除了觀賞價值之外，也是重要的藥用植物，全株含有超過 130 種以上的生物鹼(terpenoid indole alkaloids)，其中又以 Vinblastine 與 Vincristine 研究最多，可用於製作治療哺乳類動物腫瘤之藥物(Zhou et al., 2009)。

(二)外觀形態特徵

日日春葉對生，呈長橢圓形或窄卵形，紙質或稍革質，表面具蠟質，深綠色，主脈白色，莖圓柱狀，呈綠或淡灰色。花朵呈高腳碟狀，花瓣五枚，呈寬倒卵形，花瓣左旋，花朵中間花心部分稱為眼圈(eye)。花冠筒(corolla tube)細長圓柱形，上半部由花瓣基部邊緣融合而成，與花瓣連接處形成緊縮小孔(orifice)，下半部由花冠筒與花藥癒合處進行中間(intercalary)生長而形成，是花冠構造中最晚分化的部分，花冠筒上端膨大部分稱為喉部(throat)，喉部下方圓形凸起處內側著生雄蕊，每朵花具雄蕊五枚。雌蕊由兩個離生心皮構成單雌蕊，子房上位，頂部兩心皮合成花柱與柱頭(Boke, 1948)。蒴果細長，單邊開裂，種子黑色，低溫下具嫌光性，覆

蓋可提高發芽率。日日春營養生長期短，實生苗約 6 對葉時即可開花，莖頂通常為營養芽伴隨花芽(Pietsch et al., 1995)，頂芽呈合軸生長(sympodial growth pattern)之型態，花芽分化於對生葉一側之葉腋內，花朵成對且發育速度不一(Boke, 1947)。肉眼可見花苞至花朵開放約需兩周，授粉後至果莢成熟約需 30 天(呂，2010)，花冠筒脫落後，花萼與子房宿存，果實成熟後花萼與果柄才一起脫落。

二、日日春育種目標

花壇中的日日春易於雨後高濕及排水不良下發生嚴重病害，台灣在春夏秋三季，約於三到十月之間，可從病株分離出炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、疫病菌(*Phytophthora parasitica*)與立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)，其中又以疫病菌對日日春危害最嚴重，可造成根腐、莖腐與萎凋等病徵且會造成植株死亡(歐和吳，1998)，台灣穗耕種苗公司於 2002 年育出‘紅龍’系列與 PanAmerican 公司之‘Cora’系列皆以抗病性為育種目標，可見選育出耐濕熱抗病品種為日日春育種中最重要的目標。

日日春懸垂性品種適合做為吊盆栽培，近年來極受消費者喜愛，有 Cora Cascade Series (PanAmerican Seed Co., 1997)、Mediterranean Series (GoldSmith Seeds Co., 2010)及 Boa Series (Floranova Co., 2009)等品種(陳，2013)，於其他作物如矮牽牛(*Petunia* ×*hybrid* Hort. ex E. Vilm.)、金魚草(*Antirrhinum majus* L.)及彩葉草 [*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd]、舞春花(*Calibrachoa* Cerv.)等近年來也推出許多適合做為吊盆栽培的懸垂型品種，可見懸垂型育種目標的重要性。

花形上日日春除了傳統的高腳碟狀花形，在日本市場也出現一些新的花形品種，如迷你花形的‘小精靈’系列，花瓣細瘦的‘京風車’系列，花瓣呈魚尾形分岔的‘牛奶王冠’系列，與花瓣邊緣缺刻且呈波浪狀、花形立體的‘Angel Tutu’，以及於 2010 年所發表之重瓣品種‘桃園’系列，花形變化多樣，雖然上述特殊花型皆以扦插無性繁殖，與多數品種種子繁殖不同，但年來無性繁殖品種有增加的趨勢。

三、重瓣花型遺傳模式

不同作物重瓣花遺傳模式各異，如紫羅蘭(*Matthiola incana* L.)重瓣對於單瓣為隱性(Saunders, 1917);康乃馨(*Dianthus caryophyllus* L.)重瓣為不完全顯性(Scovel et al., 1998);而萬壽菊(*Tagetes erecta* L.)為數量遺傳(Serrato, 1990)。Chen 等人(2012)

取得重瓣日日春突變株 TYV1，為世界首見具有商業價值之日日春重瓣性狀，以同質重瓣植株與同質單瓣植株雜交產生 F₁ 世代皆為單瓣，F₂ 世代單瓣與重瓣外表形分離比為 3:1，可推測日日春重瓣性狀由一對隱性基因所控制。重瓣性狀與幼葉皺縮的性狀連鎖，在實生苗生長的前五對葉片，會呈現出皺縮的性狀，可做為苗期篩選日日春重瓣性狀的指標(Chen et al., 2012)。

四、懸垂性狀遺傳模式

日日春早期品種皆為直立型，之後才有懸垂型品種上市，若要育成的懸垂型新品種，須先了解懸垂性狀遺傳模式，然而不同作物株型與懸垂性狀遺傳模式皆有所不同。

(一)數量遺傳(quantitative inheritance)

植株形態一般被認為是由多個基因控制的數量性狀，依 International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV)所描述金魚草、舞春花、玫瑰(*Rosa* spp.)與日日春之懸垂或匍匐植株形態表現為程度上的差異，屬於數量性狀。大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.]之匍匐植株形態也被認為是數量性狀(Zhu, 1884)，而小麥 (*Triticum aestivum*)株高則由三對基因控制(Kato et al.,1999)。

(二)等位基因控制(allelic mode)

1. 顯性(dominance)

豇豆 [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]株型可分為橫臥型(decumbent)、攀藤形(climbing)與灌叢型(bushy)，其株型性狀由兩對基因座 A 與 B 控制，A 基因座對於 B 基因座具有顯性上位性，當 A 基因座出現顯性等位基因 A 時，株型為橫臥型，A 基因座基因型為 aa 時且 B 基因座具顯性等位基因 B 時株型為攀藤形，當 A 與 B 基因座皆為隱性同結合(homozygous)時，產生灌叢型植株(Uguru and Uzo, 1991)。

玄參科柳穿魚屬植物 *Linaria cymbalaria* (L.) Mill.之懸垂型品種與灌叢型品種雜交後子代均為懸垂型，顯示懸垂型相較於灌叢型為顯性(East, 1933)。

夏堇(*Torenia fournieri* Lind.)商業品種‘Clown Rose’為直立型，與匍匐型之毛葉蝴蝶草(*Torenia benthamiana* Hance)雜交，以夏堇為種子親，毛葉蝴蝶草為花粉親，



其胚拯救出之所有子代皆為匍匐型，因此推測匍匐型對於直立型為顯性(郭，2012)。

2. 隱性(recessiveness)

埃及三葉草(*Trifolium alexandrinum* L.) 株型為直立型，苜蓿(*Trifolium apertum* Bobrov)株型為匍匐型，以埃及三葉草做為種子親，苜蓿做為花粉親，其胚拯救出之所有雜交子代皆為直立型，因此推測匍匐型對於直立型為隱性(Malaviya et al., 2004)。

3. 不完全顯性

地被菊(*Dendranthema × morifolium* L.)依枝條與地面所夾之角度定義可分為直立型、中間型、匍匐性，直立型由 *CT* 基因控制，匍匐型由 *ct* 基因控制，地被菊的匍匐性狀由一對基因 *CT/ct* 所控制，*CT* 對 *ct* 為不完全顯性，植株為異質結合(heterozygous)時為中間型(趙等，2008)。


4. 加性作用

四倍體彩葉草(*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)之懸垂性狀(trailing) 依照不同懸垂程度分為懸垂型、半懸垂型、匍匐型、半直立型、直立型五種外表型。由遺傳分析結果顯示彩葉草的懸垂形狀由一個基因座上的 *U/u* 基因所控制，*U* 基因為加性作用基因，如基因座上 *U* 等位基因數量越多，則植株外表型越傾向直立型，不同外表型所對應的基因形如下，可產生懸垂型(*uuuu*)、半懸垂型(*Uuuu*)、匍匐型(*UUuu*)、半直立型(*UUUu*)、直立型(*UUUU*)五種外表型(Nguyen et al., 2008)。

五、日日春花色遺傳模式

日日春花瓣顏色多樣常見花色有白花紅眼圈、粉紅花、紫色花、紫紅色花等，花心處眼圈亦有大小之分，且顏色有紅色與白色等諸多變化，且多遵循一對基因之遺傳模式，但各基因間常有交感現象(Kulkarni et al., 2005a; Kulkarni et al., 2008b; Milo et al., 1985; Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)。

日日春花青素合成由一對基因 *R* 與 *r* 控制，*R* 基因控制花青素合成且累積於



眼圈處，產生紅眼圈白花瓣性狀， r 基因則不會有花青素合成，花朵呈純白色，有花青素合成對於無花青素合成為顯性(Flory, 1944)。但 Simmonds (1960)與 Milo 等人(1985)則指出花青素合成由兩對基因座 R 與 A 基因控制，且兩對基因為互補性交感基因，兩對基因座中，其中之一為隱性同結合時，花朵無花青素累積呈現純白色，需兩對基因座皆帶有至少一個顯性等位基因時，花朵中心眼圈處才会有花青素累積，表現出紅眼圈白花瓣性狀。

粉紅花瓣(pink)由一對基因 W 與 w 控制，花瓣有粉紅色花青素累積由 W 基因控制，無粉紅色花青素累積由 w 基因控制，因此粉紅色花瓣對於白色花瓣為顯性。紫色花瓣(violet)由一對基因 B 與 b 控制，花瓣有粉紅色花青素累積由 B 基因控制，無粉紅色花青素累積由 b 基因控制， B 基因功能可能使粉紅色花青素轉為紫色，因此粉紅色基因 W 對於紫紅色基因 B 具有上位性，當基因型為 ww 花瓣無粉紅色花青素累積時， B 基因則無法發揮功能，無法產生紫色花瓣(Simmonds, 1960)。

淡粉花瓣(pale pink)由一對基因 I 及 i 決定，花瓣有淡粉色花青素累積由 I 基因控制，無淡粉色花青素累積由 i 基因決定，淡粉色相對於白色為顯性。若粉紅色基因 W 表現時，花瓣顏色呈現粉紅色，淡粉色基因 I 不表現，需要隱性同結合 ww 基因與顯性的 I 基因才可表現出淡粉色花瓣， R 基因對於 I 基因具上位性，隱性基因 r 為同質結合時，花瓣無花青素累積，呈現純白色(Milo et al., 1985)。

橘紅色花瓣由一對基因 O 及 o 決定，花瓣有橘紅色花青素累積由基因 O 控制，無橘紅色花青素累積由 o 控制，橘紅色相對於白色花瓣為顯性，但粉紅色基因 W 表現時，橘紅色基因 O 不表現，粉紅色基因需為隱性同結合 ww 時， O 基因才可表現出橘紅色花色(Sreevalli et al., 2002)。

洋紅色(magenta)花瓣由一對基因 O^m 及 o 決定，花瓣有洋紅色花青素累積由基因 O^m 控制，無洋紅色花青素累積由 o 控制，洋紅色相對於白色花瓣為顯性， w 基因需為隱性同結合 ww 時， O^m 基因才可表現出洋紅色， O^m 基因與 O 基因為等位基因，當基因型為 OO^m 時花瓣為朱紅色(scarlet-red) (Kulkarni et al., 2005a)。

玫瑰紅花瓣由一對基因 J 及 j 決定，玫瑰紅相較於洋紅色為顯性， J 基因可能會部分抑制 O^m 基因表現，因此產生玫瑰紅的花色，而 J 基因本身不產生花瓣顏色(Kulkarni et al., 2005a)。

無 *R* 基因表現的個體中，只有 *O* 等位基因才可表現出橘紅色花瓣，其他等位基因如 *W*、*O^m* 和 *J* 基因在無 *R* 基因表現的個體中，皆只能表現純白色無紅眼圈之花色(Kulkarni et al., 2005a)。產生紫色花瓣之 *B* 基因只會影響到 *W* 基因與 *O* 基因的表現，當顯性 *B* 基因存在時，會將粉紅色花瓣或是橘紅色花瓣轉為紫色，但不影響 *O^m* 基因與 *J* 基因的表現，且以上所提及之 *B*、*R*、*W*、*O* 和 *J* 基因做互相獨立不連鎖(Kulkarni et al., 2008b)，以上花色遺傳結果整理如圖 2.1 與表 2.1。

眼圈(eye)顏色由一對基因 *E* 與 *e* 控制，*E* 基因控制紅色眼圈，*e* 基因控制白色眼圈，紅眼圈相較於白眼圈為顯性(Sreevalli et al., 2002)。

六、日日春雄不稔性狀遺傳模式

雄不稔性狀為生產一代商業品種的重要性狀，使用雄不稔植株可省略去雄步驟，節省授粉勞力，降低生產成本，且避免產生自交偽株，提升一代雜交品種種子純度，提升種子產量與品質，可知雄不稔性狀為對於生產一代雜交品種的重要性(高，2006)。Kulkarni 與 Baskaran(2008a)使用甲磺酸乙酯(ethylmethanesulphonate, EMS)誘變處理種子獲得無花粉雄不稔之日日春品系，其雄不稔突變株花藥較小且有 96%之花藥無花粉粒，另外 4%花藥內花粉稀少，雄不稔性狀由兩對隱性基因 *ms1* 與 *ms2* 控制，兩基因皆為隱性同質結合時才表現雄不稔性狀。

七、植物厚壁組織

植物細胞壁主要成分為纖維素(cellulose)、半纖維素(hemicellulose)與果膠層(pectins)。在支持或輸水組織中，細胞壁常含有木質素(lignin)，木質素由多酚類聚合物 phenylpropane with p-coumarylic 和 synaplyic acids 組成(Cosgrove, 2000; Cosgrove et al., 2002; Romberger et al., 1993)。可強化細胞壁機械強度，使細胞具有輸水或機械支持的功能(Sederoff and Chang, 1991)。

植物細胞壁可分為初生細胞壁與次生細胞壁，初生細胞壁之微絲排列方式較次生細胞壁隨機，次生細胞壁依微絲(microfibrils)排列方式可分三層，由外而內分別為 sublayer 1、2、3 (*S*₁、*S*₂、*S*₃)，一般而言微絲在不同層皆為螺旋狀排列，第一層微絲與頂端方向角度較大，第二層微絲與頂端方向角度較小，且為最厚的一層，第三層與第一層較相似(Frey-Wyssling, 1976)。

厚壁組織泛指由具有次生細胞壁細胞所組成的組織，常木質化且主要提供支

持功能，在植物體中產生與分布方式非常多樣，在組織中多以厚壁細胞(sclereids)或纖維(fibers)的形態存在(Evert, 2006)。纖維細胞為長纖狀細胞，且具有次生細胞壁，依纖維細胞分布位置可分為木質部纖維(xylary fibers)，與外木部纖維(extraxylary fibers)，外木部纖維又可依所在位置分為韌皮部纖維(phloem fibers)與皮層纖維(cortical fibers)。有些纖維細胞形態含有隔板構造(septate)，稱之為隔板纖維(septate fibers)，或是含有結晶化纖維素形成的膠質層(gelatinous layer, G-layer)，因此稱為膠質纖維(gelatinous fibers)。

八、反應材(reaction wood)與反應纖維(reaction fiber)

反應材主要發生於植株傾斜部位，以抵抗因傾斜而產生的力，裸子植物反應材多發生於受壓力側，又稱為壓力材(compression wood)，被子植物反應材多發生於受張力側，又稱為張力材(tension wood)，反應材與一般木材在解剖形態與化學組成皆有所不同(Wilson and Archer, 1977)，壓力材起因於該側形成層活性增加，使受壓力側產生較寬的年輪，一般而言壓力材之管胞無第三層次生細胞壁，且含有較多木質素與較少纖維素(Evert, 2006)。而當被子植物形成層受到張力刺激時，加速木質部的分化，並且在細胞壁內側累積多醣類形成膠質層(gelatinous layer, G layer)與膠質纖維，以增加強度對抗張力。但有些被子植物如 *Lagunaria patersonii* (Scurfield, 1964)、小葉椴(*Tilia cordata*)與北美鵝掌楸 *Liriodendron tulipifera* (Scurfield, 1965)，不產生膠質纖維，而是產生更多木質部和韌皮部增加強度。

膠質纖維常有反應纖維之特性，功能與張力材相似，主要發生在受張力側，增加彎曲或傾倒的枝條支持性(Fisher and Stevenson, 1981)，而位於木質部之外的韌皮纖維細胞同樣對於應力刺激也有反應現象(reaction phenomenon)。雙子葉韌皮纖維細胞的細胞壁類型分為 3 種類型，第一型為僅有第一層(sublayer1, S1)與第二層(sublayer2, S2)細胞壁(S₁ + S₂)，第二型為第一層與第二層細胞壁加上膠質層(S₁ + S₂ + G)，第三型為第一層與第二層細胞壁而內側則是膠質層與木質化之細胞壁多層次交錯出現[S₁ + S₂ + n(G + L)](Nanko, 1979)。在木本植物中瓜皮槭(*Acer rufinerve* Sieb. et Zucc.)、苦楝樹(*Melia azedarach* L.)、連香樹(*Cercidiphyllum japonicum* Sieb. et Zucc.)、柳葉木蘭(*Magnolia salicifolia* Maxim.)與毛榛(*Corylus sieboldiana* Blume)韌皮纖維細胞壁屬於第一型(S₁ + S₂)。受張力刺激後，瓜皮槭與野桐(*Mallotus japonicus*)韌皮纖維細胞壁內側會形成膠質層屬於第二型(S₁ + S₂ + G)，而連香樹張

力側纖維細胞中的木質素會累積更多的 syringyl unit，柳葉木蘭與毛榛細胞壁則不會有明顯構造上改變。糙葉樹(*Aphananthe aspera* Thunb.)與朴樹(*Celtis sinensis* Pers.) 韌皮纖維細胞壁屬於第二型($S_1 + S_2 + G$)，張力側細胞壁也不會有明顯構造上改變。野桐韌皮纖維細胞壁屬於第三型[$S_1 + S_2 + n(G + L)$]，受張力刺激後會產生更多層的膠質層與含木質素的次生細胞壁(Nakagawa et al., 2012)。

九、植物組織與形態、力學表現關係

植株組織結構會直接影響到植株形態表現，於藤本植物中，相較於灌叢植物莖部組織會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織，且纖維等支持組織所占比例較低(Crivellaro et al., 2012)。藤本鐵線蓮 *Clematis maritima* L.與 *C. vitalba* L.，莖中纖維比例會隨著枝條越成熟而降低，甚至因次級生長樹皮剝離而失去韌皮纖維，使彈性係數(modulus of elasticity)下降，失去支持性，形成藤本之性狀(Rowe et al., 2004)。夾竹桃科灌叢型的鯽魚藤屬植物 *Secamone sparsiflora* Klack.，在不同的枝條生長階段可分別產生較高密度與較低密度的木材，使年輕的枝條為直立型，但隨著較低密度木材的增生，使彈性係數下降，較老的枝條便會臥躺轉為匍匐的方式生長(Lahaye et al., 2005)。

十、纖維細胞發育模式

纖維細胞發育依序為細胞分化、細胞延長、次生細胞壁形成最終細胞凋亡(Gorshkova et al., 2012)。纖維細胞延長方式依其與周圍細胞的相對生長速度可分為共質體生長與侵入式生長，依細胞壁延長的部位又可分為頂端生長與擴散式生長，頂端生長只有尖端細胞壁延長，而擴散式為各部位細胞壁皆會延長，在纖維細胞延長停止之後，才開始次生細胞壁的加厚。次生細胞壁依組成成分可分為木聚醣型與膠質型，木聚醣型纖維細胞壁主要由纖維素、木聚醣與木質素 2:1:1 組成，其次生細胞壁成分與導管、管胞次生細胞壁成分相似，而膠質纖維細胞壁主要由纖維素組成，所占比例可高達 80-90%，且大多不具木聚醣與木質素。纖維細胞之次生細胞壁合成主要由 *NST1*(secondary wall thickening promoting factor 1)與 *SND1*(secondary wall - associated NAC domain protein)兩轉錄因子調控的下游負責次生細胞壁成分



的合成與累積之相關基因，是調控次生細胞壁形成的開關(Gorshkova et al., 2012)。

十一、纖維次生細胞壁形成主要基因

阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana* L.)控制纖維次生細胞壁生成的主要基因為 secondary wall – associated NAC domain protein (*SND1* 又稱為 *NST3* 與 *ANAC012*)與 NAC Secondary wall thickening promoting factor 1 (*NST1*)，兩基因分別都可以誘導薄壁細胞形成次生細胞壁，與導管中負責次生細胞壁合成的 NAC domain 轉錄因子如 *VND6* 與 *VND7* 功能相似(Gorshkova et al., 2012)。

SND1 與 *NST1* 直接與 secondary-wall NAC binding elements (SNBEs)結合，也會誘導產生其他與次生細胞壁相關的轉錄因子，像是與纖維素合成有關的 *KNAT7*；控制木聚醣合成之 *MYB46*；控制纖維素合成的 *MYB83*，甚是控制細胞骨架合成之 *MYB10* 與誘導細胞凋亡相關基因(Zhong et al., 2007)。

SND1 與 *NST1* 皆互為功能性互補基因，需要同時使兩個基因失去功能才可觀察到纖維細胞厚壁組織缺失之性狀，若只有其中之一失去功能並無法觀察到目標性狀表現(Mitsuda et al. 2007; Zhong et al., 2007)。但於蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula* Gaertn.)其 *NST1* 基因以轉位子 *Tnt1* 插入破壞後，即可觀察到纖維細胞缺少次生細胞壁之現象(Zhao et al., 2010)。

SND1 與 *NST1* 兩基因啟動子(promoter)序列分別接上報導基因 *GUS*(β -glucuronidase)，顯示兩基因皆會在阿拉伯芥莖中表現，仍在進行延長之部位表現量較低，當於停止延長之部位表現量最高(Mitsuda et al., 2007; Zhong et al., 2006)，而 *SND1* 表現量隨著發育越成熟越靠近莖基部位表現量又會逐漸下降(Zhong et al., 2006)。

SND1 基因僅於莖中表現(Zhong et al., 2006)，而 *NST1* 基因表現位置較廣，也會在花藥中表現，參與花藥與蒴果發育，顯示 *NST1* 基因不只參與纖維細胞次生細胞壁之合成，也會控制其他非導管細胞之次生細胞壁生合成(Mitsuda et al., 2005)。



第三章 懸垂型日日春之形態及莖解剖觀察

Chapter 3. Plant Morphology and Stem Anatomy of Trailing

Periwinkles



附加關鍵字：纖維發育、膠質纖維、韌皮部纖維、匍匐性、反應纖維

Additional index words: fiber development, gelatinous fiber, phloem fiber, prostrate, reaction fiber.

摘要

本研究調查 5 個直立型與 19 個懸垂型日日春品種之植株型態與莖部解剖構造，結果顯示直立型品種株高較懸垂型品種為高且幅寬較窄。莖部橫切面顯示直立型品種皆具有韌皮部纖維，而懸垂型品種不具韌皮部纖維，懸垂型品種莖部縱切仍可在韌皮部外圍觀察到長纖狀薄壁細胞，但無次生細胞壁加厚，無法形成韌皮部纖維，直立型品種之韌皮部纖維屬於膠質纖維(gelatinous fiber)且具有反應纖維(reaction fiber)之特性，於張力側纖維細胞管徑更寬，且細胞壁更厚，增強支持功能。

Abstract

Plant morphology and stem anatomy of five upright and 19 trailing periwinkle [*Catharanthus roseus* (L). G. Don] cultivars were studied. Results show that upright cultivars are higher and narrower than trailing cultivars. Stem anatomy revealed that trailing cultivars do not have phloem fiber. Vertical sections showed fiber-like parenchyma cell present but lack secondary cell wall thickening. Phloem fiber of upright periwinkle is characterized of gelatinous type and exhibits reaction phenomenon. Under mechanical stress, diameter of phloem fiber will become larger and cell wall become thicker at tension site to enhance supporting function.

前言(Introduction)

日日春[*Catharanthus roseus* (L). G. Don] 雖已有莖部解剖觀察研究，但僅限於一般直立型品種(Kartmazova, 1972)，至今尚未有懸垂型品種之莖部解剖觀察研究。

厚壁組織在植物體中產生與分布方式非常多樣，且常具有力學上支持的功能(Evert, 2006)。種子植物為增強支持功能，其厚壁組織中管胞演化出纖維細胞的構造(Bailey, 1953)，而莖部組織組成會直接影響株型表現，如藤本植物相較於灌叢植物，莖部組織橫切面會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織，且纖維組織所占比例較低(Crivellaro et al., 2012)。藤本鐵線蓮(*Clematis maritima* L. 與 *C. vitalba* L.)之莖橫切面纖維面積比例會隨著枝條次級生長而逐漸降低，甚至因樹皮剝落而失去韌皮纖維，因此使彈性係數(modulus of elasticity)下降，失去支持性，而呈藤本之形態(Isnard et al., 2003)。

當植株生長傾倒，其上側細胞會受到張力作用改變細胞壁結構產生張力材(tension wood)，以增加彎曲或傾倒的枝條支持性(Fisher and Stevenson, 1981)，木質部張力材已被廣泛的研究，但位於木質部之外的反應纖維(reaction fiber)相關研究仍然不多(Nakagawa et al., 2012)。本研究旨在比較日日春直立型與懸垂型品種在莖部組織解剖構造差異，與日日春纖維細胞形態對於張力的反應，供後續育種研究篩選懸垂型品種之參考。

材料與方法(Materials and Methods)

參試直立型日日春‘桃園一號-玫瑰女孩’、‘桃園四號-夏雪’、‘桃園五號-紅娘’植株，於 2013 年 12 月取自桃園改良場，直立型‘Jams 'N Jellies Blackberry’與‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Mix’、‘Mediterranean Mix’及‘Boa Mix’種子皆購自農友種苗公司。試驗於 2014 年 7 月至 2016 年 5 月間進行，因參試之‘桃園’系列為營養系品種，因此採收自交種子與種子系品種進行比較。所有參試品種種子播種於 288 格穴盤(2×2×2.5 cm)，介質為泥炭苔(Fafard No.1, Conrad Fafard, Agawarm, MA)，其上以蛭石(南海蛭石 2 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)覆蓋，置於國立臺灣大學人工氣候室日/夜溫 30/25°C 的自然光照室育苗。發芽後 3 至 4 周，當植株具有二對本葉時，移植到容積 250 mL、直徑 9 cm 的塑膠盆種植，每盆一株，介質為泥炭苔、蛭石(南海蛭石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)與珍珠石(南海珍珠石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)以 2:1:1 混合(體積比)，移植後種植於國立臺灣大學園藝分場，日間平均最大光度為 $1382 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長為 11.1-13.2 h，日夜溫 32/25°C，試驗期間每周施用一次含 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ N 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters

20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。視介質乾燥程度調整澆水頻率與給水量，定期實施病蟲害防治。

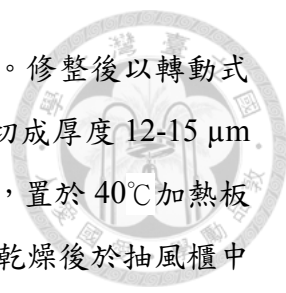
依 The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) 之規範於族群植株皆開兩朵花後，進行株型性狀調查，每株為一重複，每品種調查三株。調查項目為植株最高處之株高(plant height)與俯視植株枝條最寬處及與之垂直方向之寬度平均(幅寬, plant width)，並取主幹子葉節位以上第 1-3 節的節間進行切片觀察莖部組織構造差異，並徒手將莖部折斷，觀察斷面形態差異。

參考蔡(1990)之徒手切片法取植株節間以刮鬚刀片快速切取徒手切片，切片樣品先切入一次蒸餾水中，後以水彩筆自水中沾至載玻片上，接著以 0.5% safranin O (Sigma, USA) 染色 30 s，隨即以一次蒸餾水沖去多餘染劑，再用溶於 3% 醋酸(acetic acid)之 1% alcian blue (Sigma, USA) 染色 30s，後以一次蒸餾水沖去染劑退染，後滴加 1 滴一次蒸餾水並覆以蓋玻片於顯微鏡下觀察，厚壁細胞之細胞壁呈紅色，薄壁細胞之細胞壁則呈藍色。

依據 Yeung (1998)之 phloroglucinol-HCl 染色法觀察直立型‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’纖維細胞是否具有木質素，使用上述方式取第二對展開葉下節間進行徒手切片，接著使用溶於 20% 鹽酸與 16% 乙醇中之 2% phloroglucinol (Sigma, USA) 染色 3 min，直接置於顯微鏡下觀察，若細胞壁含木質素成分則呈紫紅色。

參考蔡(1990)之氯化鋅碘溶液(60% 氯化鋅、10% 碘化鉀與 2% 碘)染色方法觀察直立型‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’纖維細胞是否為累積大量結晶型纖維素的膠質纖維，使用上述方式與取樣部位進行徒手切片，滴上染劑後等待 1 min，直接置於顯微鏡下觀察，若細胞壁含有大量的纖維素呈現藍紫色，而澱粉粒同樣也會呈現藍紫色。

縱切直立型‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’莖部進行埋蠟切片，參考蔡(1992)之方法，莖部樣品浸入盛裝 FAA 固定液(50% 乙醇:冰醋酸:福馬林體積比 90:5:5)之固定瓶中，並抽氣至隔夜去除樣品中之氣泡，並將樣品以 20%、35%、55%、75% 第三級丁醇(tertiary-butyl alcohol, TBA)序列脫水，各濃度浸漬 2 h，再用 100% TBA 完全脫水兩次，每次 4 h。脫水後樣品連同固定瓶及 100% TBA 置入 65 °C 烘箱，每 2-3 小時於瓶中添加熔點 56-57°C 之石蠟(Tissue Prep®, FisherScientific Co., USA)，添蠟 2-3 次使樣品逐漸滲蠟，於第三次添蠟至原 TBA 體積兩倍，2 h 後



將瓶口打開使 TBA 揮發，隔夜後即可取出滲蠟之樣品製作蠟塊。修整後以轉動式切片機(Model MIC 505, Euromex Microscopen, Arnhem, Holland)切成厚度 12-15 μm 之蠟帶，取乾淨載玻片塗布微量 1 甘油:1 蛋白(體積比)之黏著劑，置於 40°C 加熱板上並滴上 3% 福馬林，將蠟帶漂浮於福馬林上，使其展開。黏著乾燥後於抽風櫃中進行脫蠟與染色，將附著樣品之載玻片浸於二甲苯(Xylene)中 20 min 脫蠟，再以 1 二甲苯:1 無水乙醇(體積比)之溶液及 100%、95%、80%、70%、50% (v/v dH₂O)乙醇序列復水，各濃度分別浸 3 min，於 1% safranin O (50% 乙醇配製)染色隔夜，再以 50%、70%、80% 及 90% 乙醇序列脫水，於 1% fast green (95% 乙醇配製)染色 10 s，再以 95% 與兩次 100% 乙醇脫水，置換於 1 二甲苯:1 乙醇(體積比)溶液 3 min，再以純二甲苯浸泡 10 min，最後於抽風櫃中風乾，再移至顯微鏡觀察。

參考蔡(1990)之解離法進一步確認木質部外側之厚壁細胞為韌皮纖維細胞。首先將直立型‘Vitesse Pink’之莖段進行解離，將莖段浸泡於過氧化氫溶液(30% H₂O₂: H₂O: 冰醋酸=1:4:5)中置於 60°C 烘箱中 3 天，後以一次蒸餾水清洗，並使用 1% safranin O (50% 乙醇配製)染色，再使用一次蒸餾水沖去多餘染劑，並將纖維細胞從組織中以鑷子分離，再移至顯微鏡觀察。

另外使用直立型‘Vitesse Pink’觀察反應纖維。於上盆 7 天後將盆子傾斜 50-60° 栽培 28 天後取樣，選取主幹子葉節位以上第 1-3 節節間彎曲部分進行切片，並於顯微鏡下觀察張力側與壓力側纖維細胞形態並測量韌皮纖維細胞管徑、細胞壁厚度與木質部的厚度，每株為一重複，每重複隨機調查 7 個韌皮纖維細胞與 5 個位置之木質部厚度取其平均，共調查三株。

切片觀察皆使用光學顯微鏡(Nikon E600, Nikon Co, Tokyo, Japan)觀察比較節間組織結構差異，並以顯微鏡照相系統(Optronics MicroFire True Color Firewire Digital CCD Camera, Meyer Instrument Inc., Houston, TX, USA)照相記錄，並使用 ImageJ (Wayne Rasband National Institutes of Health, USA)合併觀察照片與計算韌皮纖維細胞管徑、細胞壁厚度與木質部的厚度。

本試驗皆採完全逢機設計(Completely randomized design, CRD)。採用 CoStat 6.4 (CoHort Software, CA, USA)統計軟體進行最小顯著差異分析(least significant difference, LSD)，並以 Excel 軟體(Windows Inc., USA)進行 *t*-test，分析比較處理間是否有顯著差異($P < 0.05$)。

結果(Results)

本研究參試 5 個直立型品種於前述栽培環境種 60 天後，植株高為 11.7 至 16.6 cm，株寬為 4.7 至 6.7 cm，株高展幅比例為 2.51 至 2.82，另 19 個懸垂型品種株高為 4.0 至 8.3 cm，株寬為 11.5 至 18.8 cm，株高展幅比例為 0.2 至 0.58，顯示直立型品種有較高的株高，較窄的株寬與較高的株高展幅比(表 3.1)。

以直立型‘Vitesse Pink’進行莖部切片觀察，顯示在韌皮部外側，仍有厚壁細胞被 safranin O 染上紅色，可知在韌皮部之外，仍有厚壁細胞的分布(圖 3.1A、C)，將直立型‘Vitesse Pink’莖部縱切觀察，顯示出此木質部外側的厚壁細胞呈長纖狀，且位於韌皮部外側，推測此細胞類型為韌皮纖維細胞(圖 3.1E)。將 24 個參試品種皆進行莖部切片觀察，結果顯示直立型品種皆有韌皮纖維，懸垂型品種皆無韌皮纖維(表 3.1)。

以直立型‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’比較莖部橫切，結果顯示懸垂型品種中細胞壁較薄較透明之位置與直立型韌皮纖維分布位置相似(圖 3.1A、B)，且放大觀察可見懸垂型品種在皮層之內無纖維細胞分布(圖 3.1C、D)。縱切面觀察顯示懸垂型品種在原韌皮部纖維分部位置仍具有長條狀的薄壁細胞，可知該細胞仍有延長生長，但無次生細胞壁的形成(圖 3.1E、F)。直立型日日春莖折斷後斷面可觀察到白色絲狀物，因木質部外側僅有纖維細胞為長纖狀厚壁細胞，且經解離法進一步確認後，該白色絲狀物確實為韌皮纖維細胞，而懸垂型日日春莖部斷面則無韌皮纖維，可藉由莖部斷面由無白色絲狀物之性狀判斷日日春是否具有韌皮纖維(圖 3.2)。

直立型‘Vitesse Pink’之纖維細胞使用 phloroglucinol-HCl 染色法並不會呈現紫紅色(圖 3.3A)，若使用氯化鋅碘溶液染劑則可染上藍紫色(圖 3.3C)。而懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’應形成纖維細胞之位置使用 phloroglucinol-HCl 染色法與氯化鋅碘溶液染劑皆無法染色(圖 3.3B、D)。

直立型‘Vitesse Pink’經傾斜 50-60° 栽培 28 天後，可觀察到主幹彎曲部位節間莖部橫切面在張力側之韌皮纖維細胞較壓力側細胞有顯著更大的直徑與細胞壁厚度(圖 3.4；表 3.2)，且不同側之纖維細胞以氯化鋅碘溶液染色程度有差異(圖 3.4)，除在細胞壁組成成分上可能不同外，顯示日日春之韌皮纖維細胞具有反應纖維(reaction fiber)之特徵。而木質部厚度於張力側與壓力側無明顯差異(圖 3.4；表 3.2)。

討論(Discussion)


本研究參試之懸垂型品種相較於直立型品種有較矮的株高與較寬的展幅(表 3.1)。矮牽牛之原種[*Petunia axillaris* (Lam.) B.S.P.]定義之直立型植株較高且展幅較窄，匍匐型(prostrate)之株高較矮，且展幅較寬(Kokubun et al., 2002)。趙等人(2008)以枝條與地面所夾角度作為地被菊株型之分類依據，若枝條與地面所夾角度小於 30° 則定義為匍匐型。不同作物直立或懸垂型定義不同，本研究顯示日日春可以使用株高展幅比例區分直立型與懸垂型之品種。

懸垂型日日春主要是因主莖及較長的側枝無法向上挺直而側向倒伏，

在直立型日日春品種莖部橫切面，可觀察在韌皮部外側有厚壁組織分布，且由縱切面可看出，該細胞為長條形厚壁組織(圖 3.1)，此與 Kartmazova (1972)針對日日春莖部解剖觀察的韌皮部纖維細胞形態相同，而懸垂型日日春品種則無韌皮纖維細胞分布。纖維是植物重要的支持組織(Evert, 2006)，不同的組織結構也會影響到植株的形態，例如藤本植物相較於灌叢植物，莖部組織會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織(Crivellaro et al., 2007)，鐵線蓮屬植物 *Clematis flammula* L. 'Maritima' 枝條發育過程中會因次級生長，使外側樹皮脫落，因此失去韌皮纖維細胞，導致枝條變得較軟，失去自我支持功能(Rowe et al., 2004)。推測懸垂型日日春可能因無完整韌皮部纖維細胞產生，故枝條柔軟，形成矮、寬且懸垂之植株形態。

在懸垂型日日春莖縱切面，原韌皮部纖維細胞分佈之位置，仍可觀察到長條狀細胞(圖 3.1 F)。纖維細胞發育依序為細胞分化、細胞延長，接著形成次生細胞壁最後大多為細胞凋亡(Gorshkova et al., 2012)，推測懸垂型日日春之韌皮部纖維細胞之分化與細胞延長皆正常，因此才能在相同位置觀察到長條狀細胞，但可能在合成次生細胞壁時遇到障礙，因此無法形成次生細胞壁，而停留在纖維始原細胞之形態。

日日春之纖維細胞使用 phloroglucinol-HCl 染色法並不會呈現紫紅色(圖 3.3A)，顯示該細胞可能木質素含量低所致，而使用氯化鋅碘溶液染色則可以染上藍紫色(圖 3.3C)，顯示該纖維細胞次生細胞壁木質素含量低，但含有大量多醣類。纖維細胞依次生細胞壁組成，可分為木聚醣型與膠質型，木聚醣型纖維細胞壁主要由纖維素、木聚醣與木質素以 2:1:1 組成，其次生細胞壁成分與導管、管胞次生細胞壁成分相似。而膠質纖維細胞壁主要由纖維素組成，所佔比例可高達 80%-90%，且大多不具木聚醣與木質素(Gorshkova et al., 2012)。日日春纖維細胞次生細胞壁木質素含量低但含有大量纖維素，因此推測日日春之韌皮纖維細胞屬於膠質纖維細胞。



日日春莖張力側韌皮纖維細胞管徑較壓力側大，且張力側纖維細胞壁也較壓力側厚(圖 3.4)，顯示日日春纖維細胞對於張力刺激具有反應現象，參與日日春植株自體支持之功能。膠質纖維細胞多具有反應纖維之特性(Evert, 2006)，且反應纖維可加強張力側的材料強度，也能導正植株生長方向，維持植株向上生長(Fisher and Stevenson, 1981)。張力側為較容易受到拉力而被破壞的部位，在許多木本植物中，張力側部位的纖維細胞形態多會改變，以增加細胞強度、對抗張力，避免斷裂。毛榛(*Corylus sieboldiana* Blume)、連香樹(*Cercidiphyllum japonicum* Sieb. et Zucc.)、瓜皮槭(*Acer rufinerve* Sieb. et Zucc.)、野桐[*Mallotus japonicus* (L.f.) Müll.Arg.]、糙葉樹(*Aphananthe aspera* Thunb.)與朴樹(*Celtis sinensis* Pers.)張力側韌皮纖維束橫切面皆有寬度增加的現象(Nakagawa et al., 2012)。除此之外，瓜皮槭與苦楝樹(*Melia azedarach* L.)張力側纖維細胞會累積更多結晶狀纖維素(crystalline cellulose)，產生膠質層(Nakagawa et al., 2012)。而日日春張力側與壓力側韌皮部纖維使用氯化鋅碘溶液有染色程度上的差異(圖 3.4B、C)，顯示在細胞壁成分可能有差異，但尚須進一步確認。

綜上所述，日日春之韌皮纖維細胞屬於膠質纖維細胞，具有反應纖維之特性，參與植株支持與導正生長方向之功能，而懸垂型日日春之纖維細胞無次生細胞壁形成，推測不具上述纖維細胞之功能，可能因此主幹彎曲倒伏產生矮、寬且懸垂之性狀。

表 3.1. 直立型與懸垂型日日春株高、展幅、韌皮部纖維之形態比較

Table 3.1. Comparisons of plant height, plant width, and phloem fiber between upright and trailing periwinkle.

Cultivar	Height (cm)	Width (cm)	Height/ width	Growth type	Phloem fiber
Taoyuan No.1-Rose Girl⊗	14.0 ab ^z	5.1 d	2.72 ab	Upright	+
Taoyuan No.4-Summer Snow⊗	13.4 b	6.2 d	2.19 c	Upright	+
Taoyuan No.5-Red Lady⊗	14.3 ab	5.2 d	2.82 a	Upright	+
Jams 'N Jellies Blackberry	16.6 a	6.7 d	2.51 b	Upright	+
Vitesse Pink	11.7 bc	4.7 d	2.54 b	Upright	+
Cora Cascade Polka Dot	5.5 ef	14.7 abc	0.41 d	Trailing	-
Cora Cascade Strawberry	5.5 ef	18.6 a	0.33 de	Trailing	-
Cora Cascade Magenta	6.2 e	15.0 abc	0.43 d	Trailing	-
Cora Cascade Lilac	5.3 ef	14.0 abc	0.38 de	Trailing	-
Cora Cascade Peach Blush	5.0 ef	18.4 a	0.28 de	Trailing	-
Cora Cascade Cherry	8.3 cd	17.3 a	0.49 d	Trailing	-
Mediterranean Strawberry	3.5 fg	18.1 a	0.20 e	Trailing	-
Mediterranean Peach XP	3.4 g	17.0 a	0.20 e	Trailing	-
Mediterranean White	4.0 efg	11.5 c	0.36 de	Trailing	-
Mediterranean Red XP	4.3 efg	11.7 bc	0.37 de	Trailing	-
Mediterranean Deep Rose	4.4 efg	11.7 bc	0.37 de	Trailing	-
Mediterranean Rose XP	5.1 ef	14.6 abc	0.35 de	Trailing	-
Mediterranean Rose Halo XP	5.4 ef	13.6 bc	0.40 d	Trailing	-
Boa Peppermint	6.7 e	16.9 a	0.40 d	Trailing	-
Boa White	6.3 e	14.4 abc	0.45 d	Trailing	-
Boa Peach	8.0 cde	13.8 abc	0.58 d	Trailing	-
Boa Rose	6.8 de	18.8 a	0.36 de	Trailing	-
Boa Red	5.5 ef	14.3 abc	0.35 de	Trailing	-
Boa Burgundy	7.4 de	15.5 ab	0.48 d	Trailing	-
Significance	***	***	***		

^z Mean separation within columns by LSD at $P < 0.05$.

+ and - indicates with or without phloem fiber, respectively.

⊗ indicates selfing population.

表 3.2. 直立型日日春‘Vitesse Pink’彎曲部位橫切面壓力側與張力側韌皮纖維細胞管徑大小、細胞壁厚度及木質部寬度比較。

Table 3.2. Difference of phloem fiber diameter, width of fiber secondary wall and width of xylem between compression side and tension side in bending stem section of upright periwinkle ‘Vitesse Pink’.

Forcing side	Fiber diameter (μm)	Width of fiber secondary wall (μm)	Width of xylem (μm)
Compression side	22.3	4.79	776.6
Tension side	70.6	7.46	782.6
Significance	**	**	NS

NS, ** Nonsignificant or significant at $P < 0.01$ by *t*-test, respectively.

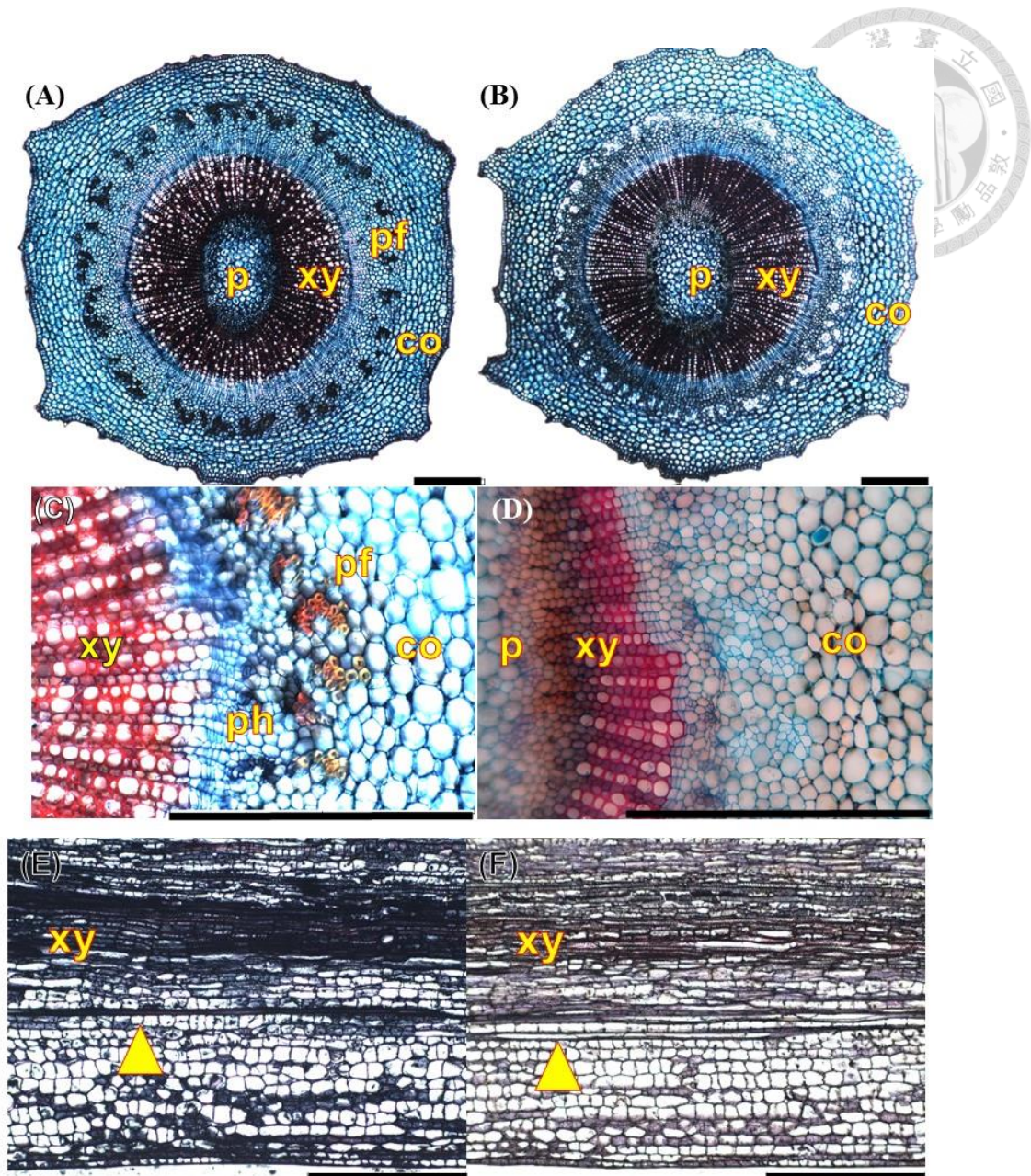


圖 3.1.日日春直立型‘Vitesse Pink’ (A、C、E)與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’ (B、D、F)莖部橫切面(A-D)與縱切面(E、F)。(A-E)使用 safranin O 和 alcian Blue 染色。(E、F)使用 safranin O 和 fast green 染色

Fig. 3.1. Stem section of upright periwinkle ‘Vitesse Pink’ (A, C, E) and trailing periwinkle ‘Cora Cascade Polka Dot’ (B, D, F). A-E sections stained with safranin O and alcian blue. E and F stained with safranin O and fast green. co, cortex; pf, phloem fiber; xy, xylem; p = pith, arrow head indicate phloem fiber and fiber initials. Bar = 500 μ m.

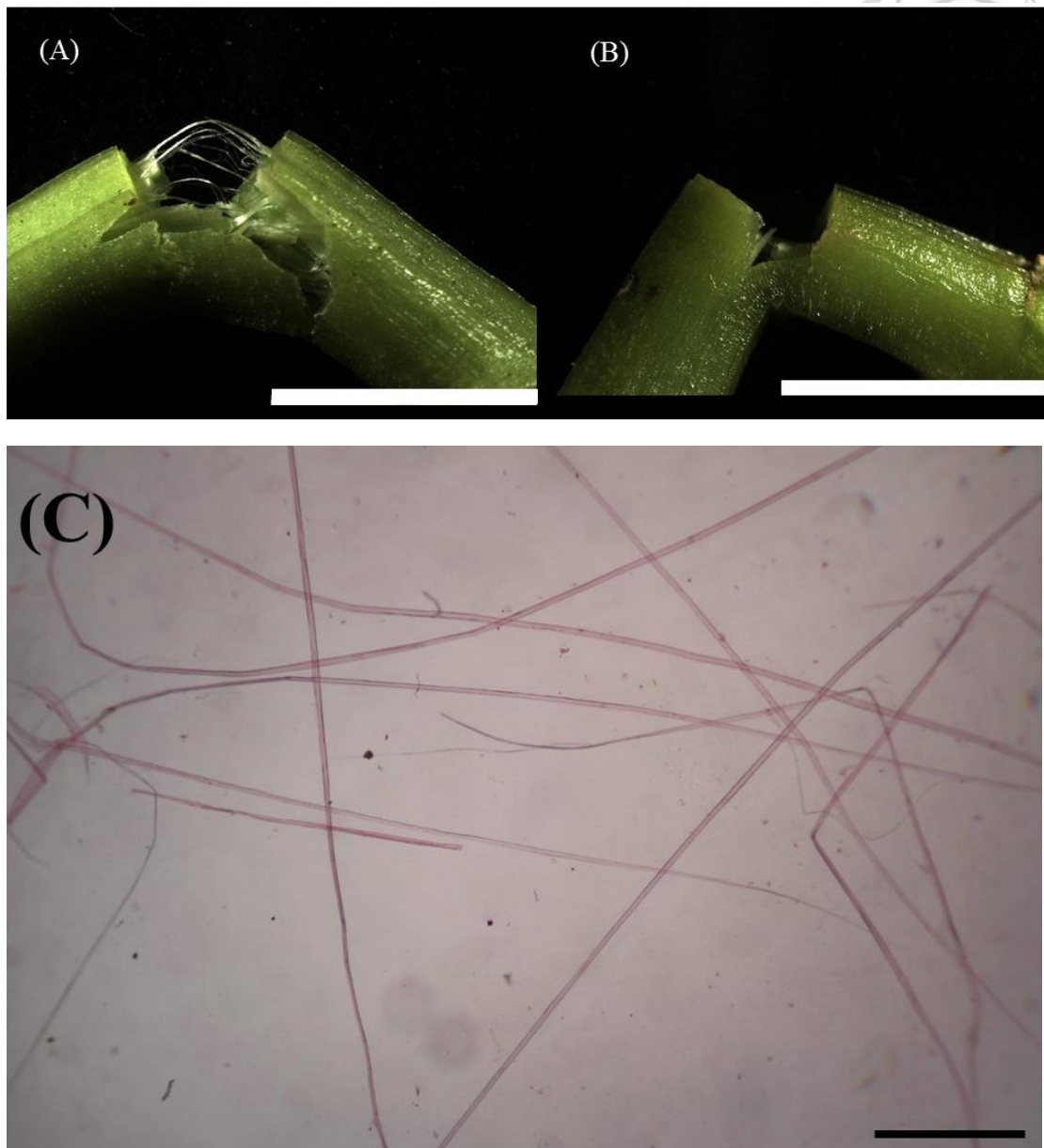


圖 3.2.日日春直立型‘Vitesse Pink’ (A)及懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’ (B)莖部斷面與解離之直立型‘Vitesse Pink’纖維細胞(C)。

Fig. 3.2. Stem frgment of upright periwinkle ‘Vitesse Pink’ (A) and trailing periwinkle ‘Cora Cascade Polka Dot’ (B), and maccration fiber of upright periwinkle ‘Vitesse Pink’ (C). Bar = 1 cm (A, B). Bar = 500 μ m (C).

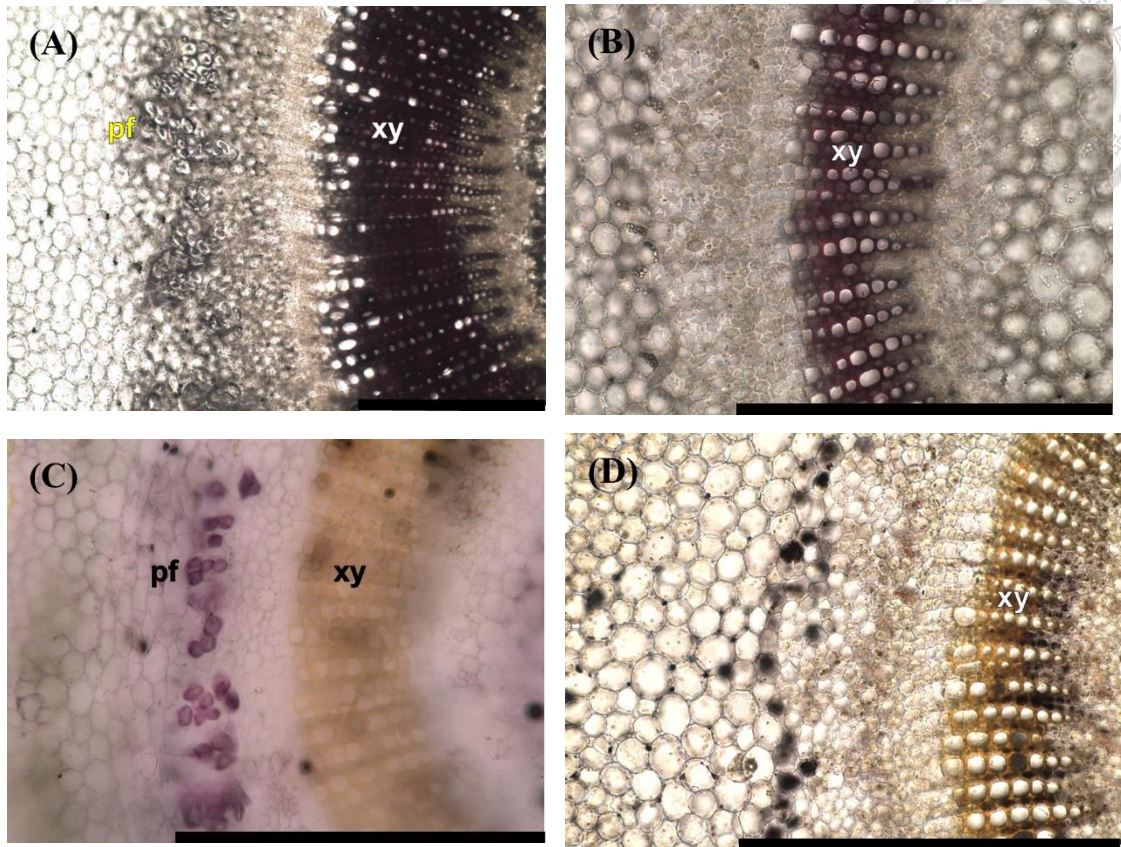


圖 3.3. 莖部徒手切片觀察直立型日日春‘Vitesse Pink’ (A、C)與懸垂型日日春‘Cora Cascade Polka Dot’ (B、D)。phloroglucinol-HCl染色(A、B)。氯化鋅碘溶液染色(C、D)。

Fig. 3.3. Stem free hand cross section of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (A and C) and ‘Cora Cascade Polka Dot’ (B and D) stained with phloroglucinol-HCl (A and B) and zinc chloride-iodine solution (C and D). Bar = 500 μ m. pf, phloem fiber; xy, xylem.

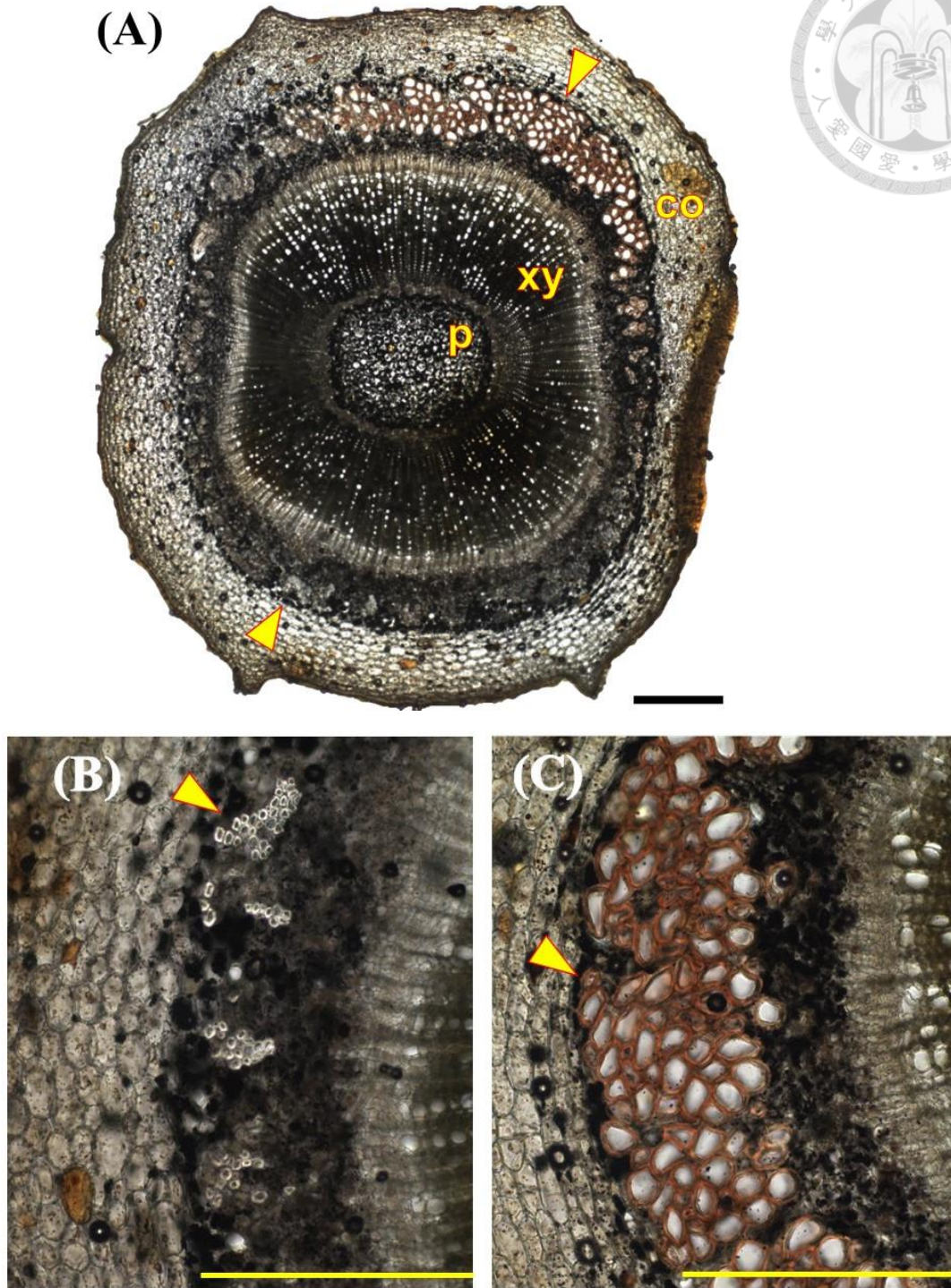


圖3.4. 徒手切片觀察直立型日日春‘Vitesse Pink’彎曲莖部反應纖維。使用氯化鋅碘溶液染色。全貌(A)、壓力側纖維細胞(B)與張力側纖維細胞(C)。

Fig. 3.4. Bending stem free hand cross section of upright periwinkle ‘Vitesse Pink’ stained with zinc chloride-iodine solution (A-C). Full vision (A), fiber at compression side (B) and fiber at tension side (C). co, cortex; xy, xylem; p = pith, arrow head indicate phloem fiber. Bar = 500 μ m.



第四章 日日春之懸垂性狀遺傳



Chapter 4. Inheritance of Trailing Phenotype in Periwinkle

附加關鍵字：蔓性、重瓣花性、韌皮纖維、匍匐性、長春花

Additional index words: cascade, double-floweredness, phloem fiber, prostrate, vinca.

摘要

重瓣花與懸垂性狀皆為日日春重要的育種目標，本研究以懸垂型日日春品種與直立型品種雜交，11 個雜交組合之 F_1 子代皆為直立型，其中 5 個雜交組合之 F_2 世代直立型與懸垂型分離比例為 3:1，且 2 組 F_1 與懸垂型回交世代直立型與懸垂型分離比例為 1:1，與直立型回交子代皆為直立型，可知直立型與懸垂型性狀由一對等位基因所控制，且直立型對於懸垂型為顯性。以單瓣懸垂型與重瓣直立型雜交之 4 組雜交組合 F_2 世代植株外表型可分為單瓣直立型、單瓣懸垂型、重瓣直立型與重瓣懸垂型，植株分離比例為 9:3:3:1，可推知此兩基因座獨立不連鎖，且無基因交互作用。

Abstract

Double floweredness and trailing phenotype are two important breeding objectives for periwinkle [*Catharanthus roseus* (L). G. Don]. All F_1 plants of 11 crosses between upright and trailing type were upright. Five F_2 populations fit 3 upright : 1 trailing segregation ratio. Progeny from backcrosses of F_1 generation to trailing type segregated 1 upright : 1 trailing and backcross population of F_1 cross to upright type produced all upright type progeny. Trailing habit of periwinkle is governed by a single locus, and upright type is dominant to trailing type. Four F_2 populations derived from crossing upright type with double-flower and trailing type with single-flower fit 9 single-flowered and upright: 3 double-flowered and upright: 3 single-flowered and trailing : 1 double-flowered and trailing segregation ratio. Results showed that characteristics of double-floweredness and trailing are inherited independently, without gene interaction.



前言(Introduction)

育種者常將懸垂(trailing)或匍匐(prostrate)生長性狀導入花卉作物商業品種，以提高觀賞性、可應用性、生長勢及抑制雜草生長等優點(Mirzaie-Nodoushan et al., 1999)。例如矮牽牛(*Petunia ×hybrida* Hort. ex E. Vilm.)、金魚草(*Antirrhinum majus* L.)及彩葉草[*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd]等(Ngyuen et al., 2008)。

直立或匍匐之株型性狀可能由多個基因或單一基因所控制，彩葉草直立型基因座上 *U* 等位基因數量越多，則植株外表型越傾向直立型，若是 *u* 等位基因越多則偏向懸垂型(Nguyen et al., 2008)；豇豆[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]株型由兩對基因控制，橫臥型對於灌叢株型為顯性，兩對基因皆為同質隱性時，灌叢株型才會表現(Uguru and Uzo, 1991)。而地被菊(*Dendranthema ×morifolium* L.)之匍匐性狀由一對基因 *CT/ct* 所控制，*CT* 對 *ct* 為不完全顯性，當 *CT* 基因為異質結合時株型為中間型(趙等, 2008)；紅花苜蓿(*Trifolium pratense* L.)中之匍匐型相對於直立型為不完全顯性，且具有基因上位性(Mirzaie-Nodoushan et al., 1999)；埃及三葉草(*Trifolium alexandrinum* L.) 與苜蓿(*Trifolium apertum* Bobrov)雜交，結果顯示直立型為顯性(Malaviya et al., 2004)。柳穿魚屬植物[*Linaria cymbalaria* (L.) Mill.]之匍匐性相較於直立型為顯性(East, 1933)。

日日春‘Cora Cascade’ (PanAmerican Seed Co., 1997) 、「Mediterranean’ (GoldSmith Seeds Co., 2010)及‘Boa’ (Floranova Co., 2009)等商業品種為懸垂品種，可見懸垂性是日日春重要的選育性狀之一，日日春懸垂性狀依 The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV)以不同表現程度之數量性狀評估，但尚無詳細之學術研究，因此本試驗目的為了解日日春懸垂性狀之遺傳模式，供育種之參考。

材料與方法(Materials and Methods)

參試日日春品種包括重瓣直立型‘桃園一號-玫瑰女孩’(TY1)、「桃園四號-夏雪’(TY4)、「桃園五號-紅娘’(TY5)，植株於 2013 年 12 月取自桃園改良場。單瓣懸垂型‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS)、「Cora Cascade Polka Dot’ (CCP)、「Cora Cascade Magenta’ (CCM)、「Mediterranean Strawberry’ (MedS)與‘Mediterranean Polka Dot’

(MedP)，植株於 2014 年 7 月購自臺北建國花市，CCS、CCP 與 CCM 為一代雜交品種。懸垂型一代雜交品種‘Cora Cascade Mix’與直立型‘Jams 'N Jellies Blackberry’種子購自農友種苗公司。

雜交授粉方式參考 Miyajima (2004) 之方法，於種子親花蕾未展開前兩天進行除雄，當花朵分泌出柱頭液時，使用直徑 0.37 mm、長度 3 cm 以上之釣魚線伸入花粉親已開放花朵之花冠筒中沾取花粉，再塗於已除雄之種子親柱頭。授粉時間為 1400-1700 HR，授粉期間平均最大光強度 $1382 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長 11.1-13.2 h，日夜溫 32/25°C。約授粉 30 天後果莢外觀開始轉黃，於果莢未開裂前人工採收，撥開果莢腹縫線取出種子並陰乾，收集於微量離心管並儲放於 6°C 冰箱等待播種。

調查懸垂型‘Cora Cascade Mix’與直立型‘Jams 'N Jellies Blackberry’植株之株高、株寬與纖維性狀作為外表型分群之參考，並與雜交、回交後裔族群比較推論懸垂性狀可能遺傳模式為數量遺傳或主效基因遺傳。

因參試植物材料 CCS、CCP 與 CCM 為 F₁ 雜交品種，且 TY1、TY4 與 TY5 是由分離世代固定的營養系品種，因此將 CCS、CCP、CCM、TY1、TY4、TY5 與 MedP 自交，以推測親本基因型。

以重瓣直立型品種為種子親，單瓣懸垂型品種為花粉親進行雜交，再以單瓣懸垂型品種為種子親，重瓣直立型品種為花粉親進行雜交，以觀察是否受細胞質遺傳或母系遺傳影響，且可由雜交 F₁ 族群調查顯隱性等等位基因間交感，詳細組合見表 4.1。

由懸垂型與直立型雜交組合中隨機挑選生長勢強的 F₁ 後裔，自交產生 F₂ 後裔，由族群外表型分離比分析懸垂性狀由多少對基因控制。另以 TY1 × CCS 與 TY5 × CCM 兩組合產生之 F₁ 後裔分別與兩組合之直立型親本與懸垂型親本回交產生 BCF₁ 後裔，由回交族群外表型分離比再確認懸垂性狀由多少對基因控制。

所有收集之商業品種及授粉獲得之種子皆於 2014 年 7 月至 2015 年 9 月間播種於 288 格穴盤(2×2×2.5 cm)，介質為泥炭苔(Fafard No.1, Conrad Fafard, Agawarm, MA)，其上以蛭石(南海蛭石 2 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)覆蓋，置於國立臺灣大學人工氣候室日/夜溫 30/25°C 的自然光照室育苗，約 4 天左右發芽。發芽後 3 至 4 周，當植株具有二對本葉時，移植到容積 250 mL、直徑 9 cm 的塑膠

盆種植，每盆一株，介質為泥炭苔、蛭石(南海蛭石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)與珍珠石(南海珍珠石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)以 2:1:1 混合(體積比)，移植後種植於國立臺灣大學園藝分場，調查期間日間平均最大光度為 $1382 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長為 11.1-13.2 h，日夜溫 32/25°C，試驗期間每周施用一次含 $200 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ N 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。視介質乾燥程度調整澆水頻率與給水量，定期實施病蟲害防治。

依 UPOV 之規範於族群植株皆開兩朵花之後，約上盆後 40 至 60 天進行性狀調查。調查項目為植株最高處之株高(plant height)；俯視植株枝條最寬處及與之垂直方向寬度之平均(幅寬，plant width)；並折斷第二對展開葉以下之枝條、調查斷面有無韌皮纖維，以卡方分析計算所有族群 χ^2 值及概率值以檢定性狀分離比。

結果(Results)

一、日日春懸垂性狀遺傳模式

調查懸垂型‘Cora Cascade Mix’植株 33 株，株高展幅比例分布範圍為 0.6~1.5，皆不具有韌皮纖維，直立型‘Jams 'N Jellies Blackberry’植株 9 株，株高展幅比例分布範圍為 2.4~3.3，皆具有韌皮纖維(圖 4.1A)。以 5 個懸垂型品種 CCP、CCS、CCM、MedP 與 MedS 為種子親與直立型 TY1 與 TY5 為花粉親的 8 個雜交組合產生之 F_1 後裔共 290 株(表 4.1)，株高展幅比例分布範圍為 0.9~4.5，呈常態分布，且皆具有韌皮纖維(圖 4.1B)。雜交組合 TY1 \times CCS 之 F_2 後裔 93 株與直 TY5 \times CCM 之 F_2 後裔 182 株，株高展幅比分布非呈現常態分布(圖 4.1C、D)，且分離出不具韌皮纖維之植株。TY1 \times CCS 與 TY5 \times CCM 兩雜交組合與懸垂型親本回交所得 BCF_1 後裔分別調查 196 株與 130 株，非呈常態分布，且分離出不具韌皮纖維之子代(圖 4.1E、F)。TY1 \times CCS 與 TY5 \times CCM 兩雜交組合之 F_1 後裔與直立型親本回交得到 BCF_1 後裔，分別調查 26 株與 99 株，亦非呈常態分布，但所有後裔皆有韌皮纖維(圖 4.1G、H)。由上述雜交族群顯示株高展幅比例受到少數主效因子影響，並非由多個微效因子組成，而韌皮部纖維有無之性狀大致可將族群中株高展幅分佈分為較高與較低兩大類，因此將具有韌皮纖維之植株定義為直立型，而無韌皮纖維之植株定義為懸垂型。

本研究直立型商業品種 TY1、TY4 與 TY5 自交子代皆為直立型，懸垂型商業品種 CCP、CCS 與 CCM 自交子代皆為懸垂型(表 4.1)，顯示參試品種在此控制直立/懸垂生長特性之基因座皆為同質結合。

以直立型品種為種子親與懸垂型品種為花粉親雜交，即 TY1 × CCS、TY4 × CCP 與 TY5 × CCM，其子代均為直立型(表 4.1)。以懸垂型為種子親與直立型為花粉親雜交，如 CCM × TY1、CCM × TY5、CCP × TY1、CCP × TY5、CCS × TY1、CCS × TY5、MedP × TY1 與 MedS × TY1，子代也均為直立型(表 4.1)。正反交結果相同，顯示此基因為核基因，非細胞質遺傳或母系遺傳。

取直立型與懸垂型雜交的 5 個組合 TY1 × CCS、TY4 × CCP、TY5 × CCM、CCP × TY1 與 CCP × TY5 之 F₁ 共 12 株自交，產生之 F₂ 世代中，直立型與懸垂型植株數比皆趨近於 3:1(表 4.2)，顯示此性狀由一對等位基因控制，且直立型對於懸垂型為顯性。

雜交 F₁ 植株與直立型親本回交組合，(TY1 × CCS F₁-1) × TY1 與 (TY5 × CCM F₁-1) × TY5，兩組合子代族群皆為直立型(表 4.2)，而雜交 F₁ 植株與直立型親本回交組合 CCS × (TY1 × CCS F₁-1) 與 CCM × (TY5 × CCM F₁-1)，子代族群直立型與懸垂型植株數比皆趨近於 1:1(表 4.2)，同樣顯示此性狀由一對等位基因控制，且直立型對於懸垂型為顯性。

以 *U* 表示日日春之直立型基因，*u* 表示日日春之懸垂型基因，則直立型品種 TY1、TY4 與 TY5 基因型應為 *UU*，以直立型:懸垂型=1:0 分離比對自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設。懸垂型品種 CCP、CCS、CCM 基因型應為 *uu*，以直立型:懸垂型=0:1 分離比對自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設。直立型品種與懸垂型商業品種雜交組合之 F₁ 世代基因型應為 *Uu*，以直立型:懸垂型=1:0 分離比對以直立型為花粉親與懸垂型為種子親及反交組合雜交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設。

直立型品種與懸垂型商業品種正交與反交後代之 F₂ 世代，以直立型:懸垂型=3:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設。直立型品種與懸垂型商業品種雜交組合之 F₁ 單株與直立型親本回交後代，以直立型:懸垂型=1:0 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為

3.84)，皆符合假設。直立型品種與懸垂型商業品種雜交組合之 F₁ 單株與懸垂型親本回交後代，以直立型:懸垂型=1:1 分離比對回交世代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設。由以上組合可知日日春株型由一對基因控制，且直立型對懸垂型為顯性。

二、日日春重瓣性狀與懸垂性狀之遺傳模式

同時考慮重瓣性狀基因，以 *D* 表示日日春之單瓣花型基因，*d* 表示日日春之重瓣花型基因(Chen et al., 2012)。重瓣直立型商業品種 TY1、TY4 與 TY5 基因型應為 *UUdd*，以直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣=0:0:1:0 分離比，對自交後代進行卡方檢定(自由度為 3，顯著水準為 0.05，臨界值為 7.81)，皆符合假設。單瓣懸垂型品種，CCS、CCP 與 CCM 基因型應為 *uuDD*，以直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣 =0:1:0:0 分離比，對自交後代進行卡方檢定(自由度為 3，顯著水準為 0.05，臨界值為 7.81)，皆符合假設。重瓣懸垂型與單瓣直立型參試品種雜交組合 TY1 × CCS、TY4 × CCP、TY5 × CCM 與 CCP × TY5，4 個組合產生之 F₁ 世代皆為單瓣直立型，可確認懸垂性狀與重瓣性狀皆為隱性。

以直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣=9:3:3:1 分離比，對上述 4 個雜交組合 F₁ 自交產生之 F₂ 世代進行卡方檢定(自由度為 3，顯著水準為 0.05，臨界值為 7.81)，皆符合假設。F₁ 後裔與重瓣直立型親本回交組合，如(TY1 × CCS F₁-1) × TY1 與(TY5 × CCM F₁-1) × TY5 以直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣 =1:0:1:0 分離比對自交後代進行卡方檢定(自由度為 3，顯著水準為 0.05，臨界值為 7.81)，皆符合假設。F₁ 後裔與單瓣懸垂型親本回交組合，如 CCS × (TY1 × CCS F₁-1) 與 CCM × (TY5 × CCM F₁-1) 以直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣=1:1:0:0 分離比進行卡方檢定(自由度為 3，顯著水準為 0.05，臨界值為 7.81)，皆符合假設。顯示控制花型單瓣、重瓣的基因座與控制株型懸垂型與直立型的基因座互相獨立不連鎖。

討論(Discussion)

以參試材料懸垂型商業品種與直立型雜交之 F₁ 後裔族群，植株株高展幅比皆大於 0.9，且呈常態分佈，株型偏向直立型，而 F₂ 後裔族群則分離出株高展幅比較小的株型，且不同株高展幅比累積植株數不為常態分佈，可推測有主效因子影響株

型性狀，且觀察到可依據韌皮纖維細胞之有無大致將株高展幅比分佈分為兩大類，推測韌皮纖維有無可能為影響株高展幅比之主要因子，因此依有無韌皮纖維將株高展幅比較低的族群訂為懸垂型，而株高展幅比較高的族群訂為直立型(圖 4.1)。植株之生長特型容易受到環境影響，若僅以株高展幅比作為遺傳分析區分株型性狀依據可能會不夠穩定與明確，以有無韌皮纖維則可視為質量性狀更容易調查。

經由直立型與懸垂型植株雜交、F₁ 自交所產生之 F₂、F₁ 與兩親本分別回交之族群分離比分析結果顯示，日日春直立型與懸垂型性狀由一對等位基因所控制，且直立型對於懸垂型為顯性(表 4.1、4.2)。相較之下，地被菊匍匐性定義為枝條與地平面所夾角度，依匍匐程度可分為直立型、中間型與匍匐型，三種株型由一對等位基因 *Ct* 與 *ct* 控制，為不完全顯性，顯性 *Ct* 基因同質結合時，產生直立型株型，當 *Ct* 與 *ct* 異質結合時會產生中間型(趙等，2008)。而本研究之日日春株型雖同樣由一對等位基因控制，但為完全顯性，遺傳行為較為單純。日日春懸垂性狀依 The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) 之定義是以不同表現程度之數量性狀評估，但本研究結果指出花壇與盆花常用之直立株型，例如 'Jams 'N Jellies Blackberry' 與桃園系列，與常見之懸垂株型，例如 'Cora Cascade' 系列等，此兩種株型之遺傳是由一對主效基因所控制，並非由多個效力相似之微效基因組成，與 UPOV 之定義不同，且此主效基因為控制有無韌皮纖維形成之基因，可以韌皮纖維有無之性狀作為確認株型性狀之指標。

日日春重瓣性狀由一對隱性基因控制，且與幼葉皺縮性狀連鎖，可做為苗期篩選重瓣性狀之指標(Chen et al., 2012)。本研究所有幼葉皺縮之植株皆為重瓣植株，在 F₂ 分離世代族群中以 TY5 × CCM F₁-9 之自交族群最大，共有 342 株個體，可推測重瓣性狀與幼葉皺縮性狀基因互換率小於 0.29，因此連鎖距離小於 0.29 cM。另外可能是由單一基因同時控制兩個性狀之基因多效性(pleiotropy)所導致。紫羅蘭 [*Matthiola incana* (L.) W.T. Aiton] 之重瓣性狀與波狀葉形(sinuate leaf) 緊密連鎖，且波狀葉形也是紫羅蘭重瓣花性狀在育種上的重要的早期篩選指標(Ecker et al., 1994)，而金露梅(*Potentilla fruticosa* L.) 之重瓣花性狀與自交不親合之性狀緊密連鎖，且可能為基因多效性之影響(Innes and Len, 1991)。

本研究中重瓣直立型與單瓣懸垂型雜交 F₁ 自交所產生之 F₂ 分離世代，其直立單瓣:懸垂單瓣:直立重瓣:懸垂重瓣分離比為=9:3:3:1，顯示重瓣性狀與懸垂性狀兩

基因座獨立不連鎖，且無基因交感，因此在 F₂ 分離世代篩選出重瓣懸垂型植株之機率為 1/16 (表 4.3)。

日日春重瓣性狀與幼葉皺縮性狀連鎖，可於第一對本葉展開後即進行重瓣性狀篩選，而株型性狀主要由韌皮纖維有無決定，可藉由強摘心方式判斷株型性狀，避免環境因子干擾株型判斷。重瓣與懸垂性狀皆為隱性性狀，於異形合子時會是單瓣或是直立型，因此於雜交授粉技術不夠熟練時可先以隱性性狀植株作為母本，用以判斷 F₁ 雜交子代中是否參雜自交偽株，以鑑別授粉時是否受到自體花粉污染，影響雜交之成功率。

表 4.1. 日日春 17 組自交與雜交組合之子代株型分離比例。U₋ = 直立型；uu = 懸垂型

Table 4.1. Segregation for growth type in progeny of 17 periwinkle crosses. U₋ = upright; uu = trailing.

Crosses (proposed genotype) ^z	Growth type		Test ratio ^y	χ^2	P
	Upright (U ₋)	Trailing (uu)			
TY1 (UU)⊗	3	0	1:0	0	1
TY4 (UU)⊗	55	0	1:0	0	1
TY5 (UU)⊗	62	0	1:0	0	1
CCP (uu)⊗	0	83	0:1	0	1
CCS (uu)⊗	0	34	0:1	0	1
CCM (uu)⊗	0	75	0:1	0	1
F ₁					
TY1 (UU) × CCS (uu)	12	0	1:0	0	1
TY4 (UU) × CCP (uu)	23	0	1:0	0	1
TY5 (UU) × CCM (uu)	14	0	1:0	0	1
CCM (uu) × TY1 (UU)	31	0	1:0	0	1
CCM (uu) × TY5 (UU)	13	0	1:0	0	1
CCP (uu) × TY1 (UU)	18	0	1:0	0	1
CCP (uu) × TY5 (UU)	38	0	1:0	0	1
CCS (uu) × TY1 (UU)	77	0	1:0	0	1
CCS (uu) × TY5 (UU)	13	0	1:0	0	1
MedP (uu) × TY1 (UU)	78	0	1:0	0	1
MedS (uu) × TY1 (UU)	22	0	1:0	0	1

TY1, TY4, TY5, CCP, CCS, CCM, MedP, and MedS are Taoyuan No.1-Rose Girl, Taoyuan No.4-Summer Snow, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, Cora Cascade Magenta, Mediterranean Polka Dot, and Mediterranean Strawberry, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for growth type.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

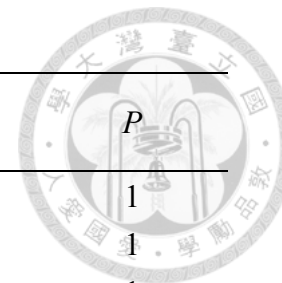


表 4.2. 日日春 16 組 F₂ 與回交組合之子代株型分離比例。U₋ = 直立型；uu = 懸垂型

Table 4.2. Segregation for growth type in progeny of 16 periwinkle crosses. U₋ = upright; uu = trailing.

Crosses (proposed genotype) ^z	Growth type		Test ratio ^y	χ ²	P
	Upright (U ₋)	Trailing (uu)			
F ₂					
TY1 × CCS F ₁ -1 (Uu)⊗	23	5	3:1	0.76	0.38
TY4 × CCP F ₁ -2 (Uu)⊗	40	12	3:1	0.10	0.75
TY4 × CCP F ₁ -4 (Uu)⊗	28	5	3:1	1.71	0.19
TY4 × CCP F ₁ -6 (Uu)⊗	51	10	3:1	2.41	0.12
TY4 × CCP F ₁ -15 (Uu)⊗	52	17	3:1	0	0.94
TY5 × CCM F ₁ -1 (Uu)⊗	138	45	3:1	0.02	0.90
TY5 × CCM F ₁ -2 (Uu)⊗	93	21	3:1	2.63	0.10
TY5 × CCM F ₁ -3 (Uu)⊗	152	57	3:1	0.58	0.45
TY5 × CCM F ₁ -9 (Uu)⊗	243	99	3:1	2.84	0.09
CCP × TY1 F ₁ -3 (Uu)⊗	31	5	3:1	2.37	0.12
CCP × TY5 F ₁ -24 (Uu)⊗	71	28	3:1	0.57	0.45
CCP × TY5 F ₁ -31 (Uu)⊗	136	33	3:1	2.70	0.10
Backcross					
TY1 × CCS F ₁ -1 (Uu) × TY1 (UU)	26	0	1:0	0	1
CCS (uu) × TY1 × CCSF ₁ -1 (Uu)	98	98	1:1	0	1
TY5 × CCM F ₁ -1 (Uu) × TY5 (UU)	99	0	1:0	0.12	0.73
CCM (uu) × TY5 × CCMF ₁ -1 (Uu)	67	63	1:1	0	1

TY1, TY4, TY5, CCP, CCS, and CCM are Taoyuan No.1- Rose Girl, Taoyuan No.4-Summer Snow, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, and Cora Cascade Magenta, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for growth type.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

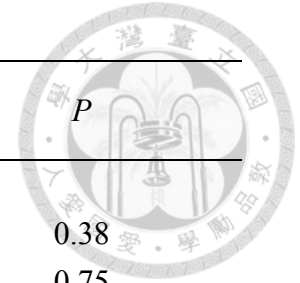


表 4.3. 日日春雜交組合之子代株型與花型分離比例。U₋ = 直立型；uu = 懸垂型；D₋ = 單瓣；dd = 重瓣。

Table 4.3. Periwinkle progeny growth type and flower form segregation ratios for tested crosses. U₋ = upright type; uu = trailing type; D₋ = single-flowered; dd = double-flowered.

Crosses (proposed genotype) ^z	Growth type and flower form				Test ratio ^y	χ^2	P
	U ₋ D ₋	uuD ₋	U ₋ dd	uudd			
TY1 (UUdd)⊗	0	0	3	0	0:0:1:0	0	1
TY4 (UUdd)⊗	0	0	55	0	0:0:1:0	0	1
TY5 (UUdd)⊗	0	0	62	0	0:0:1:0	0	1
CCP (uuDD)⊗	0	83	0	0	0:0:1:0	0	1
CCS (uuDD)⊗	0	34	0	0	0:1:0:0	0	1
CCM (uuDD)⊗	0	75	0	0	0:1:0:0	0	1
TY1 × CCS F ₁ -1 (UuDd)⊗	55	17	15	6	9:3:3:1	0.50	0.92
TY4 × CCP F ₁ -6 (UuDd)⊗	43	5	8	5	9:3:3:1	7.23	0.07
TY4 × CCP F ₁ -15 (UuDd)⊗	35	12	17	5	9:3:3:1	1.83	0.61
TY5 × CCM F ₁ -3 (UuDd)⊗	107	43	45	14	9:3:3:1	2.25	0.52
TY5 × CCM F ₁ -9 (UuDd)⊗	174	75	69	24	9:3:3:1	4.29	0.23
CCP × TY5 F ₁ -24 (UuDd)⊗	63	21	8	7	9:3:3:1	7.40	0.06
CCP × TY5 F ₁ -31 (UuDd)⊗	106	24	30	9	9:3:3:1	3.44	0.33
TY1 × CCS F ₁ -1 (UuDd) × TY1 (UUdd)	14	0	12	0	1:0:1:0	0.154	0.69
CCS (uuDD) × TY1 × CCSF ₁ -1 (UuDd)	98	98	0	0	1:1:0:0	0	1
TY5 × CCM F ₁ -1 (UuDd) × TY5 (UUdd)	58	0	41	0	1:0:1:0	2.919	0.08
CCM (uuDD) × TY5 × CCMF ₁ -1 (UuDd)	67	63	0	0	1:1:0:0	0.123	0.726

TY1, TY4, TY5, CCP, CCS, and CCM are Taoyuan No.1- Rose Girl, Taoyuan No.4-Summer Snow, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, and Cora Cascade Magenta, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for growth type and flower form.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by two dominant nuclear genes.

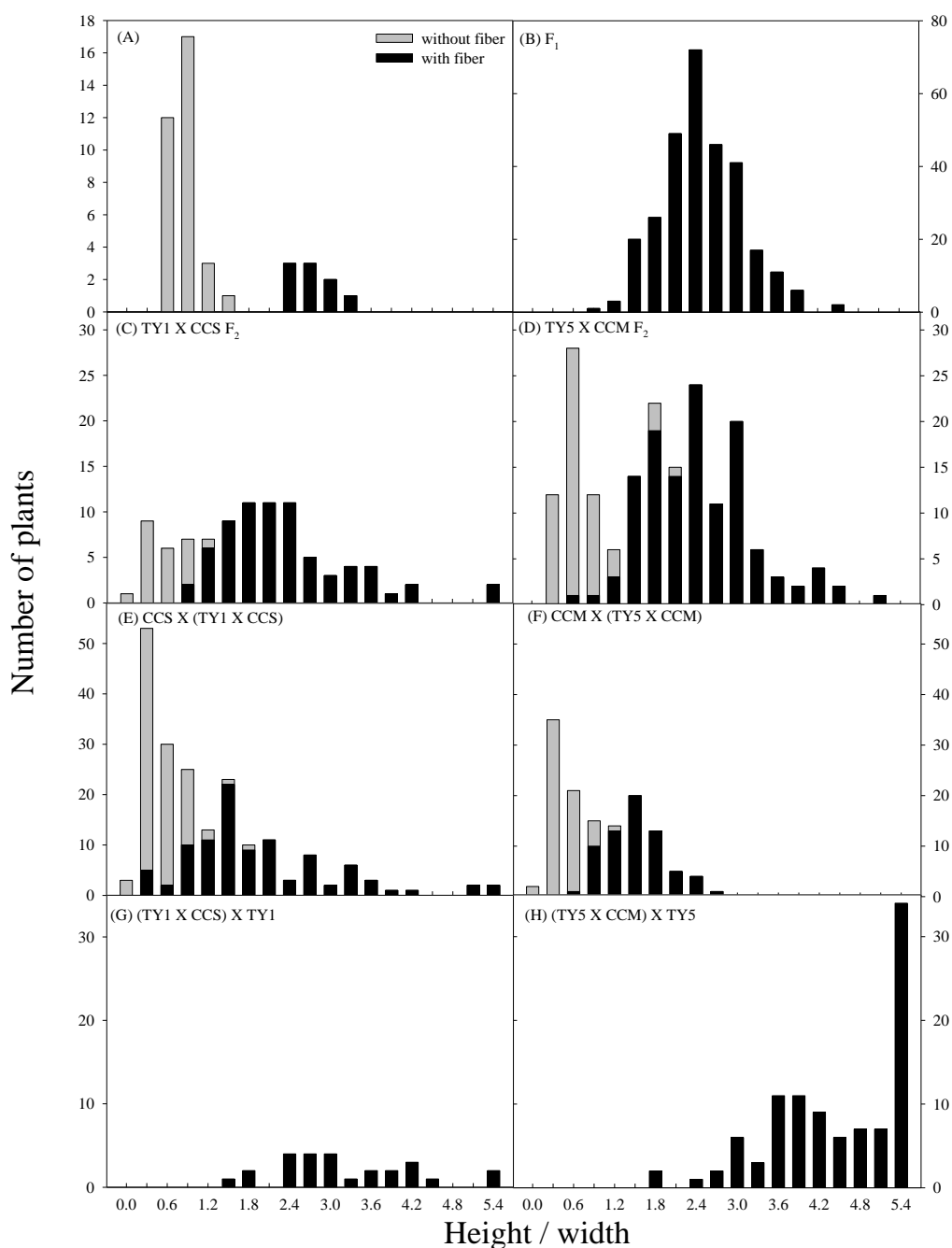
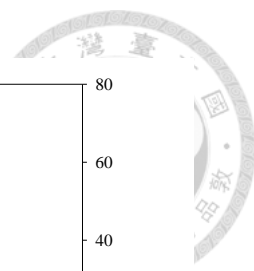


圖 4.1.日日春雜交後代株型累積植株數分布圖。懸垂型品種與直立型品種(A)，懸垂型與直立型雜交 F₁ 子代(B)，雜交 F₂ 子代(C、D)，F₁ 與懸垂型親本回交子代(E、F)，F₁ 與直立型親本回交子代(G、H)

Fig. 4.1. Distribution of progeny height to width ratio in periwinkle crosses. Trailing periwinkle ‘Cora Cascade’ series and ‘Jams ‘N Jellies Blackberry’(A), F₁ hybrid between upright and trailing type (B), F₂ progeny (C, D), BC with of trailing parent (E, F), BC of upright parent (G,H).TY1, TY5, CCS, CCM are ‘Taoyuan No.1-Rose Girl’, ‘Taoyuan No.5-Red Lady’, ‘Cora Cascade Strawberry’, and ‘Cora Cascade Magenta’, respectively.

第五章 韌皮纖維與木質部對日日春懸垂性狀之貢獻
Chapter 5. Contribution of Phloem Fiber and Xylem on Trailing
Characteristics of Periwinkle



附加關鍵字：生物力學、四點彎曲測試、彈性係數、匍匐性

Additional index words: Biomechanism, four point bending test, modulus of elasticity, prostrate.

摘要(Abstract)

懸垂日日春 [*Catharanthus roseus* (L). G. Don] 是近年生產者與育種者所追求的目標，而植物組織結構會影響到植株形態與株型結構。本研究主要觀察組織結構與彈性係數之關係，並討論組織對於株型的影響，結果顯示日日春懸垂性狀主要受到韌皮纖維有無影響，無纖維組織枝條彈性係數較低，較易彎曲，使植株在生長過程中較易倒伏，於移植 25 天即產生懸垂性狀。而木質部在組織中之比例會影響到近基部較成熟節位之彈性係數呈正相關，無韌皮纖維且木質部含量較低的日日春品種，彈性係數下降，枝條會產生最大的彎曲角度與懸垂程度。

Abstract

Trailing periwinkle [*Catharanthus roseus* (L). G. Don] is desirable for breeder and grower. Tissue structure affects morphology and architecture of plant. The study aimed to evaluate relation between tissue structure, modulus of elasticity (MOE) and plant type. Results showed trailing in periwinkle is governed by presence of phloem fiber. Plants that lack phloem fiber tend to have lower MOE, more likely to bend, and become prostrate, thus showing trailing at 25 days after transplanting. Moreover, proportion of xylem also contributed to MOE and trailing level, especially for basal stem and more mature position. Periwinkle cultivars without phloem fiber and lower xylem proportion had the lower MOE which had higher bending angle and more trailing level.



前言(Introduction)

厚壁組織在植物體之形成與分布方式非常多樣，常以厚壁細胞(sclereids)或纖維(fibers)的形態存在，通常具支持的功能(Evert, 2006)。種子植物為增強支持功能其厚壁組織中的管胞更演化出纖維細胞的構造(Bailey, 1953)。夾竹桃科灌叢型的鯽魚藤屬植物 *Secamone sparsiflora* Klack.，在不同的枝條生長階段可分別產生較高密度與較低密度的木材，使年輕的枝條為直立型，但隨著較低密度木材的增生，使彈性係數(modulus of elasticity, MOE)下降，較老的枝條便會臥躺轉為匍匐的方式生長(Lahaye et al., 2005)。在藤本植物中，相較於灌叢植物莖部組織會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織，且纖維組織所占比例較低(Crivellaro et al., 2012)。藤本鐵線蓮 *Clematis maritima* L.與 *C. vitalba* L.，莖中纖維比例會隨著枝條越成熟而降低，甚至因次級生長樹皮脫落，失去韌皮纖維，使彈性係數下降，失去支持性，形成藤本之性狀(Rowe et al., 2004)。因此本試驗旨在比較直立型日日春與懸垂型日日春在莖部組織解剖構造上的差異並討論韌皮纖維與木質部對於植株懸垂程度的影響，以期在日日春懸垂性狀選育上會有進一步的了解與掌握。

材料與方法(Materials and Methods)

一、懸垂性狀與生長參數之相關性分析

參試品種‘Vitesse Pink’ (VP)與‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS)種子自農友種苗公司購入，‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP)與‘Cora Cascade Magenta’ (CCM)種子自穗耕種苗公司購入，‘Little Pinkie’ (LP)自台和園藝公司購入。CCS、CCP、CCM 為懸垂型品種，VP 與 LP 為直立型品種，於 2015 年 4 月 27 日播種於 288 格穴盤(2×2×2.5)，於國立臺灣大學人工氣候室日夜溫 30/25°C 的自然光照室育苗，當植株具有二對本葉時，移植到容積 250 mL、直徑 9 cm 的塑膠盆種植，每盆一株，介質為泥炭苔(Fafard No.1, Conrad Fafard, Agawarm, MA)、蛭石(南海蛭石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)與珍珠石(南海珍珠石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)以 2:1:1 混合(體積比)。於 2015 年 5 月 24 日移植，移植後種植於國立臺灣大學園藝分場溫室中，試驗期間日間平均最大光度為 1382 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長為 11.1-13.2 h，日夜溫 32/25°C，每周施用一次含 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ N 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20,

The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。視介質乾燥程度調整澆水頻率與給水量，定期實施病蟲害防治。

生長參數調查包括介質表面到植株枝條最高處之株高(plant height)，俯視植株最寬處及與之垂直方向寬度之平均(幅寬，plant width)，分枝數(shoot number)為計算主幹上凡具有兩對展開葉且莖抽長超過 1 cm 之側枝數量，測量頂端向下第二對完全展開葉所在節間直徑(stem diameter)，節間長(internode length)為測量頂端第二對到第四對展開葉節間之平均長度，主幹彎曲角度(angle)為主幹中段在垂直方向與垂直線所夾最大角度。參考 Jacobsen 等人(2005)之方法，使用微強度試驗機(Microtest M200, East Grinstead, U.K.)做四點彎曲測試(four point bending test)已取得彈性係數(modulus of elasticity, MOE)，溫度 25°C，秤重傳感器為 20N，速度 1.5 mm/min，支撐端與最近加載點的距離為 8.495 mm (表示為 a)，為兩支撐點之間的距離為 22.995 mm (表示為 L)，試片橫切面面積為 I，MOE 表示為 E，應力與位移關係呈一次線性部分最大斜率表示為 F/V，計算公式為 $EI = (F/V)(a^2/12)(3L-4a)$ (modified from Gere and Timoshenko, 1997)，彈性係數取樣測量前一日充分澆水，當日早上所有待測植株以塑膠袋密封盡量避免水分蒸散，皆取頂端第二對完全展開葉到第四對展開葉間之莖段。第三章結果顯示日日春莖彎曲部分會有反應纖維(reaction fiber)產生，可能影響結果，因此皆取用無彎曲枝條。試片取下後於 20 min 內測量完畢。測完 MOE 之試片以夾鏈袋密封，待進行徒手切片觀察。將上述生長參數做相關性分析，以推測影響懸垂性狀之因子。

參考蔡(1990)之方法，將所有經應力測試之試片頂端下第二對完全展開葉下節間以刮鬍刀片快速切取徒手切片。切片樣品先切入一次蒸餾水中，後以水彩筆自水中沾至載玻片上，接著以 0.5% Safranin O (Sigma, USA)染色 30 s，隨即以一次蒸餾水沖去多餘染劑，再用 1% Alcian blue (Sigma, USA)染色 30 s，再以一次蒸餾水沖去染劑，後滴加 1 滴一次蒸餾水並覆以蓋玻片，即於光學顯微鏡(Nikon E600, Nikon Co, Tokyo, Japan)下觀察，並以顯微鏡照相系統(Optronics MicroFire True Color Firewire Digital CCD Camera, Meyer Instrument Inc., Houston, TX, USA)照相記錄。使用 ImageJ (Wayne Rasband National Institutes of Health, USA)合併觀察照片並計算皮層、韌皮部(含射髓)、木質部纖維、髓部面積。將彈性係數與莖部中皮層、韌皮部、木質部、髓與纖維所占莖橫切面面積比例做相關性分析，以推測個組織對彈性係數之貢獻。以上所有處理每品種三重複，每重複三到五株植株。並分別於上盆後

25 天(6 月 17 日)與 44 天(7 月 6 日)各調查一次。

二、立支柱處理與去側芽處理對於植株主幹生長與彎曲程度之影響

參試品種為直立型 LP 與 VP，懸垂型 CCP、CCM 與 CCS 五品種，栽培方式與環境如前述，為使不同懸垂程度品種之彎曲標準一致，且避免產生反應材與反應纖維影響彈性係數測量，因此人為立支柱處理，固定頂端下第二對展開葉下節間，始頂端生長方向為垂直向上，且隨植株生長而往上更動，且為避免植株因獲得充分支撐而使莖部變得更軟更細(Goodman and Ennos, 1997)，也避免可能產生其它趨觸反應，因此只使用鐵絲接觸單一位點，拉枝調整生長方向(圖 5.1)。為避免各品種側枝數目與生長量不同，產生不同的負重與力矩，影響主幹之生長狀況與彎曲程度因此每週一次將長達 1 cm 的側芽去除，做為去側芽處理。

處理方式分別為 1)對照組，不去側芽，不立支柱處理，為各品種自然株型，2) 去側芽處理，與對照組比較去側芽處理對於主幹生長量與彎曲程度的影響，3) 去側芽及全程立支柱處理，維持主幹朝向垂直方向生長，與去側芽組比較主幹彎曲程度與生長狀況，4) 去側芽，前 25 天立支柱，後 19 天只摘除側芽不立支柱處理(25S)，與立支柱處理組比較生長期間，長時間不立支柱，主幹彎曲的程度，與立支柱處理組比較主幹彎曲程度之差異，比較主幹經過 19 天生長後的彎曲程度。

於移植 44 天(7 月 6 日)時調查生長參數，包括頂端第一對完全展開葉至介質表面主幹長度(main shoot length)、主幹為植株底部第一對本葉節位至頂端第一對完全展開葉之間的節數(node number)，介質表面到植株枝條最高處之株高(plant height)、主幹彎曲角度(angle)為主幹中段在垂直方向所夾最大角度。直立型品種 LP 與 VP 去側芽組與去側芽全程支撐處理組，於節間數、株高與主幹彎曲角度無顯著差異，因此無去側芽，前 25 天立支柱後 19 天不立支柱之處理。另後續試驗只測量全程立支柱處理組彈性係數，故本試驗亦比較全程立支柱處理與對照組主幹生長狀況是否一致，以利之後推論自然外觀形態與其內部莖部組織結構功能之關係。每品種每處理三重複，每重複三到五株植株。

三、莖部組織結構與彈性係數之關係

彈性係數測量方式如前述，受限於測量時間較長，只調查直立型日日春 VP、與懸垂型品種 CCP、CCS 三品種，且為避免枝條彎曲，僅調查立支柱處理植株。

上盆 44 天後，調查頂端第 1 對完全展開葉上至下之節間、第二對完全展開葉到第四對展開葉之莖段、第五對到第七對完全展開葉之莖段、第八到第十對完全展開葉之莖段與子葉上節間之莖段(第 11 對至第 12 對葉下節間)，共五個部位。試片取下後 20 min 內測量完畢。測完之試片以夾鏈袋密封存放於 7°C，再進行徒手切片觀察。徒手切片與染色方式如上述，於 2015 年 6 月 20 日與 7 月 10 日進行，將所有經應力測試試片之節間以刮鬍刀片快速切取徒手切片，照相與合併相片方式如前述，觀察照片並計算皮層、韌皮部(含射髓)、木質部纖維、髓部與纖維面積，轉換成所佔比例後與彈性係數行相關性分析，以討論各種組織於不同節位分布狀況及彈性係數之關係，並配合先前立支柱試驗結果推論厚壁組織對於株型之貢獻。

另外，上盆 25 天時頂端第二對完全展開葉到第四對展開葉莖部節間與上盆 44 天後第五對到第七對完全展開葉之莖段為相同之部位，同屬於子葉以上第四節或第五節節間，而上盆後 44 天頂端第十一至第十二對展開葉下節間與上盆 25 天之子葉上第一節節間之莖段為相同部位，因此分別於上盆 25 天與上盆 44 天調查立支柱處理植株，子葉上第四節或第五節節間與子葉上第一節節間之組織構造與彈性係數，以討論此二節位各組織所佔比例之變化與彈性係數的相關性。

本試驗皆採完全逢機設計(Completely randomized design, CRD)，使用 ImageJ (Wayne Rasband National Institutes of Health, USA)計算主幹彎曲角度。採用 CoStat 6.4 (CoHort Software, CA, USA)統計軟體進行最小顯著差異分析(Least significant difference, LSD)與相關性分析，與 Excel 2016 軟體(Windows Inc., USA)進行 *t*-test，分析比較處理間是否有顯著差異($P < 0.05$)，且採用 SigmaPlot 10.0 (SPSS Inc., USA)軟體繪圖。

結果(Results)

一、生長參數調查與相關性分析

移植 25 天後直立型 LP 與 VP 相較於懸垂型 CCP、CCM 與 CCS 株高較高，而三懸垂型品種有較大的展幅(表 5.1)。分枝數以 VP 較多，懸垂型品種次之，LP 則無分枝產生，莖徑以 VP 其他品種僅多約 0.35mm 左右。節間長度品種間無顯著差異。懸垂型品種主幹彎曲角度約在 80 度，莖部大致平貼介質表面，直立型 LP 與 VP 莖彎曲角度顯著較懸垂型品種小，第二對展開葉下節間彈性係數以 LP 最高，VP 次之，懸垂型品種最低(表 5.1)。顯示上盆 25 天時懸垂型品種主幹枝條較軟且



已彎曲倒伏，產生懸垂性狀。

移植 25 天後各生長參數的相關性分析結果顯示，彈性係數與株寬、分枝數與彎曲角度呈現負相關；與株高、株高展幅比呈現正相關(表 5.2)。彎曲角度與株高、株高展幅比、莖徑呈現負相關；與展幅呈現正相關。分枝數與株高、株高展幅比呈現負相關，與展幅呈現正相關(表 5.2)。

移植 44 天後直立型 LP 與 VP 相較於懸垂型品種有較高的株高，較窄的植株展幅，因此有較高的株高展幅比，懸垂型品種中以 CCS 株高最矮，展幅最寬，因此有最低的株高展幅比(表 5.3)。分枝數目以 LP 最低其他品種無顯著差異，品種間莖徑與節間長無顯著差異。主幹彎曲角度由大到小依序為 CCS、CCM、CCP、LP、VP，其中 LP 與 VP 無顯著差異。彈性係數大小依序為 LP、VP、CCP、CCM、CCS，直立型品種莖偏硬且彎曲角度較小，而懸垂型品種莖偏軟且彎曲角度較大，其中以 CCS 最軟(表 5.3)。

移植 44 天的相關性分析結果顯示，彈性係數與展幅、分枝數與彎曲角度呈現負相關；與株高、株高展幅比呈現正相關(表 5.4)。彎曲角度與株高、株高展幅比呈現負相關；與展幅呈現正相關。分枝數則與株高、株高展幅比例呈現負相關；與展幅呈現正相關，以上趨勢皆與上盆 25 天時相似，唯節間長度與分枝數及莖徑呈現負相關(表 5.4)。

五參試品種移植 25 天後在第二對展開葉下節間各組織面積比例與彈性係數相關性分析結果顯示，皮層面積與彈性係數呈現負相關，木質部、髓及纖維面積比例與彈性係數皆呈正相關，且移植 44 天後相關性分析結果與移植 25 天後結果相似，亦以木質部、纖維面積比例與彈性係數呈正相關(表 5.5)，而回歸分析結果與相關性分析相似(圖 5.2)。

二、立支柱處理與去側芽處理對於植株主幹生長與彎曲程度之影響

移植 44 天後不同立支柱處理之植株外觀如圖 5.3 所示，在直立型品種中，除 VP 株高因處理略有差異外，其他生長參數在處理間皆無顯著差異(表 5.6)。顯示立支柱處理與去側芽處理對於直立型品種主幹生長無顯著影響。

移植 44 天後懸垂型品種 CCP、CCM 與 CCS 主幹長度於處理間無顯著差異。參試三懸垂型品種節位數雖以照組較少(表 5.6)，但外觀上不明顯(圖 5.3)。對照組植株高度較去側芽處理組高，係因對照組有尚未彎曲倒伏之側枝因此株高較高，立

支柱處理相對於去側芽處理可有效提高 CCP、與 CCS 之株高，而 CCM 則無顯著差異(表 5.6)。立支柱處理相對於去側芽處理可顯著減少 CCP 主幹彎曲角度，而 CCM 與 CCS 則不影響(表 5.6)。前 25 天立支柱後 19 天不立支柱處理(25S)之 CCP，主幹彎曲角度回復到與去側芽處理及對照組相同，而株高介於立支柱處理與去側芽處理之間(表 5.6C、5.4A)；25S 處理雖使 CCS 彎曲角度顯著較小但外觀於處理間差異不明顯(圖 5.3D、5.4B)，而株高與去側芽處理相同。結果顯示立支柱處理僅對 CCP 之株高與主幹彎曲角度有顯著影響，對 CCM 與 CCS 則影響不明顯(表 5.6)。

比較各品種移植後立支柱處理 44 天，顯示懸垂型 CCP 與直立型 VP 與 LP 彎曲角度最小，CCM 次之，CCS 有最大的莖彎曲角度(表 5.7)。顯示懸垂型 CCP 經立支柱處理後彎曲程度與直立型 VP、LP 相仿。

三、莖部組織結構與彈性係數之關係

觀察日日春 VP、CCP 與 CCS 三品種在移植 44 天各節間組織面積，結果顯示頂端第一對完全展開葉上節間皮層、韌皮部、木質部、髓及韌皮纖維面積，品種間沒有顯著差異，而頂端第 2 對完全展開葉下節間，VP 已分化韌皮纖維，其他組織面積沒有顯著差異。第 5 對展開葉下節間以 CCP 總面積、韌皮部與木質部面積最大，皮層與髓面積在三品種間無顯著差異。第 8 對展開葉下節間總面積以 VP 最大，CCP 次之，CCS 最小，皮層與木質部面積以 CCS 較小，韌皮部與髓面積三品種間無顯著差異。三品種第 11 或 12 對展開葉下節間皮層與髓面積無顯著差異，總面積以 VP 最大 CCP 次之，CCS 最小。韌皮部面積以 VP 最大，CCP 與 CCS 無顯著差異。木質部面積以 CCS 較小。結果顯示直立型品種 VP 自第二對展開葉下節間即有韌皮纖維分化，而懸垂型品種全株皆無韌皮纖維分布，自第 5 對展開葉下以下節間三品種組織結構始具差異，CCP 與 VP 組織結構相似，而 CCS 於各組織面積常較小或無差異(表 5.8)。

比較日日春 VP、CCP 與 CCS 三品種在移植 44 天各節間組織面積比例與彈性係數，結果顯示因直立型品種 VP 於第二對展開葉下節間已有韌皮纖維分化，因此三品種韌皮纖維所占面積比例於第二對展開葉下節間已有顯著差異(表 5.9)，其他組織至第 8 對展開葉以下節間品種間才顯著有差異。其中木質部所占比例於第 8 對展開葉下節間以 CCP 最大，VP 與 CCS 無顯著差異，第 11 至 12 對展開葉下節間 VP 與 CCP 無顯著差異，以 CCS 較小。彈性係數於第 2 對展開葉下節間以 CCS

顯著較低，第 5 對展開葉下節間趨勢相同。第 8 對展開葉下節間以 VP 之 MOE 最高，CCP 次之，CCS 最低，第 11 或 12 對展開葉下節間仍以 CCS 較低(表 5.9)。

三品種皮層與髓組織面積比例會隨節位降低而下降，韌皮部、木質部面積比例與彈性係數則隨節位降低而提升，另 CCP 之木質部所占比例與 VP 相似，僅於第 8 對開葉下節間較高。VP 韌皮纖維面積比例在第 8 對展開葉以上隨節位下降面積比例增加，但在第 11 或 12 對展開葉下節間則面積比例較小，CCP 與 CCS 皆無韌皮纖維，彈性係數以 CCS 於第 5 對展開葉以下節位較另外兩品種低，而 VP 與 CCP 僅地 8 對展開下節間 VP 顯著高於 CCP，於其他節位無顯著差異(圖 5.5)。

分析三品種各節位不同組織面積比例與彈性係數相關性結果顯示，於第 8 對展開葉下節間以上節位，僅韌皮纖維面積比例與彈性係數呈顯著正相關，至第 11 或 12 對展開葉下節間則木質部面積比例與彈性係數呈顯著正相關，皮層與髓面積比例呈負相關(表 5.10)。

日日春 VP、CCP 與 CCS 三品種在移植 25 天第二對展開葉下節間與移植 44 天第 8 對展開葉下節間都屬於子葉以上第四或五節節間，比較該節位組織面積於不同時間點之差異，結果顯示在此節間除了髓與韌皮纖維，其他組織面積皆有增加，在 VP 中韌皮纖維面積也有增加(表 5.11)。轉換為面積比例，VP、CCP 與 CCS 三品種該節位皮層組織與髓面積比例皆在移植 44 天後降低，在 CCP 與 CCS 兩品種中韌皮部面積比例增加，而 VP 韌皮部面積比例不變，VP 韌皮纖維面積比例增加，而三品種木質部面積比例與彈性係數皆有顯著增加(表 5.12)。

觀察日日春 VP、CCP 與 CCS 三品種在移植 25 天與移植 44 天子葉以上第一節節間組織面積，結果顯示三品種韌皮纖維面積皆無顯著變化，總面積、韌皮部與木質部面積皆增加，於 VP、CCP 兩品種皮層面積顯著增加，而 CCS 無顯著差異，VP 與 CCS 髓面積無顯著差異，而 CCP 髓面積降低(表 5.13)。轉換為面積比例三品種之韌皮部、木質部與彈性係數皆顯著增加，韌皮纖維面積比例無顯著變化，而皮層與髓面積比例皆顯著下降(表 5.14)。

討論(Discussion)

彈性係數為物體容易彎曲的程度，在移植後 25 天與移植後 45 天的相關性分析中，彈性係數與莖彎曲角度、株高和株高展幅比例都呈現負相關，與展幅呈現正相關(表 5.2、5.4)，可能因枝條較軟、彎曲倒伏，因此有較低的株高與較寬的展幅，

因此使株高展幅比降低，使植株更偏向懸垂型(圖 5.3)。枝條的彈性係數會受到內部各種組織結構的影響，若支持組織比例越高，則枝條越硬，彈性係數也越高(Rowe et al., 2004)。在第二對展開葉下節間莖部組織比例與彈性係數相關性分析結果顯示韌皮纖維與木質部與彈性係數呈現正相關(表 5.7)，顯示在日日春參試品種中彈性係數提升與木質部及韌皮纖維兩種厚壁組織有關係。Isnard 等人(2003)指出亞灌叢型鐵線蓮 *C. recta* L. 枝條具有初生纖維組織分布，具有支持性，因此產生灌叢株型，而藤本鐵線蓮 *C. maritima* L. 與 *C. vitalba* L. 莖中初生纖維比例則會隨著枝條成熟與次級生長而減少，甚至失去初生纖維，因此使彈性係數下降，失去支撐性，形成藤本之性狀(Isnard et al., 2003)。

除了彈性係數之外，側芽數目也與株高和株高展幅比例也呈現負相關，且與展幅呈現正相關(表 5.2、5.4)。匍匐型矮牽牛 [*Petunia axillaris* (Lam.) B.S.P.] 分枝數越多且橫向生長可使展幅增加，因此使植株株高展幅比下降(Kokubun et al., 2002)，因此推測除了組織結構之外側芽數也會影響日日春的株型性狀。

纖維細胞具有機械支持的功能，而初生纖維細胞主要負責幼嫩組織的支持功能(Evert, 2006)。日日春之韌皮纖維細胞，可能也屬於初生纖維，因此在移植後 25 天枝條中段，即第 2 對展開葉下節間，纖維細胞產次生細胞壁的節位，直立型品種 LP 與 VP 彈性係數較懸垂型品種 CCP、CCM 與 CCS 高，可能因懸垂型品種主幹彈性係數較低、枝條較軟而倒伏，因此彎曲角度較大產生懸垂型性狀(表 5.1)，而上盆 44 天後直立型品種第 2 對展開葉下節位彈性係數也較懸垂型品種高，雖然在統計上 VP 與 CCP、CCM 無顯著差異(表 5.3)。初生纖維主要負責幼嫩部位支持功能。於第 2 對展開葉下節間給予立支柱處理，使頂端朝上生長，則懸垂型 CCP 主幹彎曲角度與直立型品種相似(表 5.7)，可能立支柱處理可部份取代初生纖維的支持功能，因此與直立型 VP 組織結構相似的懸垂型 CCP(表 5.9)經立支柱處理後，其主幹彎曲角度與直立型 VP 相似(表 5.7、圖 5.3)，CCP 在第 8 對展開葉下節間的木質部比例雖然顯著較 VP 高，該節位彈性係數仍比 VP 低(表 5.9)，且分析結果顯示第八對展開葉以上的所有節間僅纖維面積比例與彈性係數具有顯著相關性(表 5.10)，可推測韌皮纖維對於較幼嫩節位彈性係數頗有貢獻。亞灌叢型鐵線蓮 *C. recta* L. 枝條也有初生纖維組織分布，提供支持性，相對於藤本型鐵線蓮，喪失初生纖維，*C. recta* L. 彈性係數較高可自體支持產生灌叢株型(Isnard et al., 2003)。

反應纖維可加強張力側的材料強度，也能協助導正植株生長方向，維持植株向

上生長(Fisher and Stevenson, 1981)。直立型日日春之韌皮纖維具有反應纖維特性，而懸垂型品種其纖維始原細胞則無法產生次生細胞壁(第三章)，因此不具纖維組織應有之支持與協助維持生長方向之功能，因此在生長期間，未給予立支柱處理其生長方向可能因缺少韌皮纖維細胞支持而彎曲，使 CCP 於全程立支柱處理時彎曲角度與直立型品種相似(表 5.7)，但於前 25 天立支柱後 19 天不立支柱處理組，CCP 枝主幹會因後續生長失去支撐，因此彎曲傾倒，無法順利向上生長(表 5.6、圖 5.4)。

木質部同時具備輸水與支持功能，且會隨形成層的分化增加面積(Evert, 2006)。木質部為懸垂型日日春莖部組織中唯一的厚壁組織，可能為懸垂型日日春主要負責支持的組織之一；在木質部比例較高之懸垂型品種 CCP 經立支柱處理後，其主幹彎曲角度與直立型 VP、LP 相似(圖 5.3)，而木質部比例較低之 CCS 即使立支柱處理，主幹仍會彎曲倒伏。隨著次級生長，木質部所佔比例也因此增加，從第 1 對展開葉上節間至第 11 至 12 對展開葉下節間其比例可從 8% 增加至約 30%(表 5.9)，在第 11 至 12 對展開葉下節間於上盆 25 天至 44 天期間，木質部比例於 VP、CCP 與 CCS 三品種中皆有顯著提升約 8%，而此節位的韌皮纖維面積卻沒有顯著增加，可能因此在近基部較成熟節位以木質部面積比例與彈性係數為顯著正相關而非韌皮纖維(表 5.10)，進而顯示在較成熟節位可能木質部對於支持性的貢獻較大。木質部次級生長也會影響植株形態，如夾竹桃科灌叢型的鯽魚藤屬植物 *Secamone sparsiflora* Klack.，較成熟枝條會產生較低密度的木材，使彈性係數下降，枝條由直立型逐漸臥躺轉為匍匐的方式生長(Lahaye et al., 2005)。Isnard 等人指出，藤本鐵線蓮 *C. maritima* L. 與 *C. vitalba* L.，莖中韌皮纖維比例會隨著枝條成熟與次級生長剝離而減少，並形成更多輸水組織，使彈性係數下降，形成藤本之性狀(Isnard et al., 2003)。而日日春木質部於移植 25 天與 44 天產生之組織無觀察到明顯差異，可能在密度或強度上不會有明顯差異，因此木質部所佔比例可能就直接影響到懸垂型日日春的支撐性。

日日春枝條的軟硬程度會影響到日後莖生長彎曲的角度，枝條較軟易使主幹彎曲進而使植株倒伏，產生懸垂性。在較幼嫩節位韌皮纖維面積比例與彈性係數為顯著正相關，在近基部節位，可能因韌皮纖維面積不再增加且面積比例較低，因此以所占面積比例較高的木質部與彈性係數為顯著正相關。纖維與木質部皆會影響植株外觀表現，木質部面積比例較高的 CCP 品種有與 VP 相似的主幹彈性係數，但因 CCP 無纖維分布，於生長過程中主幹易彎曲產生懸垂性，經立支柱處理後可

有與 VP 和 LP 相似的主幹彎曲程度表現；而沒有纖維分布、木質部面積比例又較低的 CCS 立支柱處理後仍會彎曲倒伏，產生懸垂性狀。韌皮纖維與木質部皆會影響到日日春的懸垂性，若無纖維組織，則主幹在生長過程中較易彎曲使植株倒伏，產生懸垂性，而木質部在組織中之比例則影響後期的支撐性與懸垂性狀的程度。

表 5.1. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 25 天時之生長參數比較。
Table 5.1. The growth characteristics of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Little Pinkie’ (LP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP), ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS) and ‘Cora Cascade Magenta’ (CCM) at 25 d after transplanting.

Cultivar	Height (cm)	Width (cm)	Height/Width	Lateral shoot number	Stem diameter (mm)	Internode length (mm)	Angle (°)	MOE ^y (N/mm ²)
VP	11.7 b ^z	4.7 c	2.55 b	8.6 a	3.87 a	19.71 a	9.6 b	81.3 b
LP	14.6 a	0.8 d	19.51 a	0 d	3.52 b	23.33 a	4.4 b	129.5 a
CCP	9.8 c	7.4 ab	1.33 b	7.5 ab	3.41 b	21.09 a	79.9 a	39.6 c
CCS	8.0 d	8.5 a	0.96 b	6.2 c	3.24 b	23.44 a	83.2 a	38.8 c
CCM	8.6 cd	6.7 b	1.28 b	6.7 bc	3.24 b	18.56 a	80.4 a	31.3 c
Significance	***	***	***	***	**	NS	***	***

^z Means separation within columns by LSD at $P < 0.05$.

^y MOE means modulus of elasticity.

NS, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.01, 0.001$, respectively.

表 5.2. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’、移植 25 天後生長參數與彈性係數相關性分析。

Table 5.2. Correlation coefficient between modulus of elasticity (MOE) and growth characteristics in periwinkle ‘Vitesse Pink’, ‘Little Pinkie’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Strawberry’, and ‘Cora Cascade Magenta’ at 25 d after transplanting.

	Width	Height/ Width	Shoot number	Stem diameter	Internode length	Angle	MOE
Height	-0.93***	0.83***	-0.64*	0.45	0.07	-0.88***	0.90***
Width		-0.89***	0.74**	-0.44	-0.11	0.87***	-0.90***
Height/ Width			-0.90***	0.22	0.37	-0.67**	0.80***
Shoot number				0.13	-0.22	0.44	-0.71**
Stem diameter					0.33	-0.68**	0.47
Internode length						-0.03	0.09
Angle							-0.90***

*, **, *** Significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$, respectively.

表 5.3. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天時之生長參數比較。

Table 5.3. The growth characteristics of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Little Pinkie’ (LP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP), ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS) and ‘Cora Cascade Magenta’ (CCM) at 44 d after transplanting.

Cultivar	Height (cm)	Width (cm)	Height/width	Lateral shoot number	Stem diameter (mm)	Internode length (mm)	Angle (°)	MOE (N/mm ²)
VP	23.0 b ^z	13.1 c	1.76 b	12.6 b	3.55 a	17.9 a	16.8 d	65.6 b
LP	33.6 a	10.8 c	3.12 a	4.6 a	3.49 a	34.0 a	29.5 d	98.3 a
CCP	10.1 c	16.6 b	0.62 c	10.5 b	3.92 a	17.4 a	92.9 c	50.9 bc
CCS	6.3 d	19.5 a	0.32 d	11.3 b	3.59 a	24.0 a	160.3 a	33.0 c
CCM	9.1 c	17.1 b	0.55 cd	11.1 b	3.54 a	27.5 a	118.0 b	44.1 bc
Significance	***	***	***	***	NS	NS	***	**

^zMeans separation within columns by LSD at $P < 0.05$.

NS, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.01, 0.001$, respectively.

表 5.4. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天後生長參數與彈性係數相關性分析。

Table 5.4. Correlation coefficient between modulus of elasticity and growth characteristics in Periwinkle ‘Vitesse Pink’, ‘Little Pinkie’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Strawberry’ and ‘Cora Cascade Magenta’ at 44 d after transplanting.

	Width	Height/ width	Shoot number	Stem diameter	Internode length	Angle	MOE
Height	-0.93***	0.99***	-0.65**	-0.33	0.33	-0.88***	0.86***
Width		-0.92***	0.53*	0.13	-0.14	0.92***	-0.82***
Height/ Width			-0.70**	-0.34	0.38	-0.83***	0.85***
Shoot number				0.16	-0.55*	0.30	-0.74**
Stem diameter					-0.54*	0.15	0.03
Internode length						-0.05	0.34
Angle							-0.73**

*, **, *** Significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$, respectively.

表 5.5. 日日春‘Little Pinkie’、‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Magenta’、‘Cora Cascade Strawberry’移植 25 天與 44 天後第二對完全展開葉下節間組織結構與彈性係數相關性。

Table 5.5. Correlation coefficient between modulus of elasticity (MOE) and internode tissue structure ratio in Periwinkle ‘Little Pinkie’, ‘Vitesse Pink’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Magenta’, and ‘Cora Cascade Strawberry’ at 25 and 24 after transplanting.

Sampling time	Cortex (%)	Phloem (%)	Xylem (%)	Pith area (%)	Fiber area (%)
25 d	-0.88***	-0.47	0.70**	0.80***	0.89***
44 d	-0.82***	-0.49	0.74**	0.46	0.86***

*, **, *** Significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$, respectively.

表 5.6. 不同立支柱處理對日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’移植 44 天時生長參數之影響。

Table 5.6. Effects of support treatments on growth characteristics of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Little Pinkie’ (LP), ‘Cora Cascade Polka Dot’(CCP), ‘Cora Cascade Strawberry’(CCS) and ‘Cora Cascade Magenta’(CCM) at 44 d after transplanting.

Cultivar and treatment		Main shoot length (cm)	Node number	Height (cm)	Angle (°)
VP	Control	23.3 a ^z	10.1 a	23.0 a	16.8 a
	Disbudded	19.9 b	10.6 a	21.5 a	14.6 a
	44S	21.1 ab	10.8 a	22.4 a	14.8 a
	Significance ^y	*	NS	NS	NS
LP	Control	33.8 a	10.2 a	33.6 a	29.5 a
	Disbudded	33.2 a	10.1 a	36.0 a	15.1 a
	44S	34.6 a	10.4 a	36.0 a	13.6 a
	Significance	NS	NS	NS	NS
CCP	Control	21.3 a	9.9 b	10.0 b	92.9 b
	Disbudded	21.5 a	11.1 a	5.9 c	108.7 a
	44S	22.6 a	11.1 a	17.6 a	36.9 d
	25S	20.5 a	11.0 a	11.4 b	97.5 ab
	Significance	NS	*	***	***
CCS	Control	26.8 a	9.9 c	6.3 a	160.3 a
	Disbudded	26.1 a	10.4 b	2.4 c	155.0 a
	44S	24.7 a	11.1 a	4.4 b	150.0 ab
	25S	27.6 a	11.2 a	2.2 c	139.9 b
	Significance	NS	***	***	*
CCM	Control	21.8 a	9.5 b	9.1 a	118.0 a
	Disbudded	21.9 a	10.4 a	2.9 b	129.4 a
	44S	21.5 a	10.7 a	11.0 ab	81.4 a
	Significance	NS	**	*	NS

^zMean separation within columns and cultivar by LSD at $P < 0.05$.

NS, *,*** Nonsignificant or significant at $P < 0.05$, 0.001, respectively.

Control plants were not artificial supported or disbudded. Disbudded plants had all lateral buds larger than 1 cm removed. 44S plants had main stem supported with iron pole and soft wire for 44 d and disbud. 25S plants had main stem supported with iron pole and soft wire for previous 25 d then remove iron pole for later 19 d and disbud.

表 5.7. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Little Pinkie’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’、‘Cora Cascade Magenta’立支柱處理 44 天莖中段彎曲角度比較。

Table 5.7. Stem bending angle in periwinkle ‘Vitesse Pink’, ‘Little Pinkie’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Strawberry’ and ‘Cora Cascade Magenta’ at 44 d after continuous supporting treatment.

Cultivar	Bending angle (°)
Vitesse Pink	14.8 c ^z
Little Pinkie	13.6 c
Cora Cascade Polka Dot	36.9 c
Cora Cascade Strawberry	150.0 a
Cora Cascade Magenta	81.4 b
Significance	***

^zMean separation within columns by LSD at $P < 0.05$

***Significant at $P < 0.001$.

表 5.8. 日日春‘Vitesse Pink’(VP)·‘Cora Cascade Polka Dot’(CCP)與‘Cora Cascade Strawberry’(CCS)三品種不同節間組織面積比較。

Table 5.8. The area of internode tissue structure in periwinkle of ‘Vitesse Pink’(VP)·‘Cora Cascade Polka Dot’(CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’(CCS).

Section position and cultivar	Total area (mm ²)	Cortex area (mm ²)	Phloem area (mm ²)	Xylem area (mm ²)	Pith area (mm ²)	Fiber area (mm ²)
-1						
VP	7.07 a ^z	3.68 a	1.32 a	0.62 a	1.42 a	0.02 a
CCP	9.32 a	4.73 a	1.66 a	0.80 a	2.12 a	0 a
CCS	7.11 a	3.71 a	1.29 a	0.59 a	1.52 a	0 a
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2						
VP	10.12 a	4.91 a	1.83 a	1.11 a	1.98 a	0.29 a
CCP	12.22 a	5.87 a	2.43 a	1.30 a	2.62 a	0 b
CCS	10.12 a	5.17 a	1.89 a	0.99 a	2.07 a	0 b
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	***
5						
VP	13.11 ab	5.97 a	2.66 b	1.82 b	2.11 a	0.54 a
CCP	14.88 a	6.83 a	3.28 a	2.40 a	2.37 a	0 b
CCS	11.84 b	5.79 a	2.62 b	1.60 b	1.83 a	0 b
Significance	*	NS	*	**	NS	***
8						
VP	19.15 a	8.02 a	4.14 a	3.27 a	2.65 a	1.06 a
CCP	17.58 ab	7.96 a	4.25 a	3.43 a	1.94 a	0 b
CCS	15.43 b	6.64 b	4.03 a	2.57 b	2.19 a	0 b
Significance	*	*	NS	*	NS	***
11-12						
VP	13.78 a	4.26 a	4.54 a	4.20 a	0.35 a	0.43 a
CCP	12.94 ab	4.59 a	3.73 b	4.31 a	0.31 a	0 b
CCS	10.77 b	3.98 a	3.39 b	2.96 b	0.44 a	0 b
Significance	*	NS	**	*	NS	**

^z Mean separation within columns and position by LSD at $P < 0.05$.

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05$, 0.01, 0.001, respectively.

Section position -1, 2, 5, 8, 11-12 means the internode above the first, below the second, fifth, eighth, eleventh or twelfth completely unfolded leaves from apex, respectively.

表. 5.9. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’與‘Cora Cascade Strawberry’三品種不同節間組織面積比例與彈性係數比較。

Table 5.9. The ratio of internode tissue structure and modulus of elasticity (MOE) in periwinkle stem of ‘Vitesse Pink’ (VP) 、‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS).

Section position and cultivar	Cortex area (%)	Phloem area (%)	Xylem area (%)	Pith area (%)	Fiber area (%)	MOE (N/mm ²)
-1						
VP	52.6 a ^z	18.4 a	8.6 a	20.2 a	0.2 a	24.01 a
CCP	50.7 a	17.8 a	8.5 a	23.0 a	0 a	25.61 a
CCS	52.3 a	18.1 a	8.3 a	21.4 a	0 a	18.93 a
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2						
VP	48.9 a	18.9 a	10.8 a	19.5 a	2.8 a	65.58 a
CCP	48.0 a	19.9 a	10.6 a	21.5 a	0 b	50.90 a
CCS	51.0 a	18.8 a	8.6 a	21.5 a	0 b	33.00 b
Significance	NS	NS	NS	NS	***	**
5						
VP	45.5 a	20.3 a	13.9 a	16.2 a	4.1 a	105.93 a
CCP	45.9 a	22.0 a	16.2 a	15.9 a	0 b	89.36 a
CCS	48.9 a	22.2 a	13.5 a	15.4 a	0 b	50.90 b
Significance	NS	NS	NS	NS	***	**
8						
VP	41.9 b	21.6 c	17.1 b	13.8 a	5.5 a	145.77 a
CCP	45.3 a	24.2 b	19.6 a	11.0 b	0 b	124.65 b
CCS	43.0 b	26.1 a	16.7 b	14.2 a	0 b	73.15 c
Significance	**	**	*	*	***	***
11-12						
VP	31.0 b	33.1 a	30.3 b	2.5 b	3 a	251.27 a
CCP	35.5 a	28.8 b	33.3 a	2.4 b	0 b	244.96 a
CCS	36.9 a	31.5 a	27.5 c	4.1 a	0 b	140.31 b
Significance	**	*	**	*	***	**

^z Mean separation within columns and position by LSD at $P < 0.05$.

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$, respectively.

Section position -1, 2, 5, 8, 11-12 means the internode above the first, below the second, fifth, eighth, eleventh or twelfth completely unfolded leaves from apex, respectively.

表 5.10. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’
三品種不同節間各組織與彈性係數之相關性。

Table 5.10. Correlation coefficient between modulus of elasticity and ratio of internode tissue area in periwinkle ‘Vitesse Pink’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, and ‘Cora Cascade Strawberry’ at different internodal position from apex.

Section position	Cortex area	Phloem area	Xylem area	Pith area	Fiber area
-1	-0.77*	0.53	0.14	0.10	0.67*
2	-0.58	0.12	0.44	-0.13	0.76*
5	-0.70*	-0.06	0.40	0.17	0.70*
8	-0.08	-0.57	0.34	-0.31	0.70*
11-12	-0.71*	0.08	0.79*	-0.72*	0.55

* Significant at $P < 0.05$

-1, 2, 5, 8, 11-12 Means the internode above the first completely unfolded leaves form apex, below the second, fifth, eighth, eleventh or twelfth completely unfolded leaves form apex, respectively.

表 5.11. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’
三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第四或五節節間組織
面積差異。

Table 5.11. Difference of the internode tissue structure below the fourth or fifth completely unfolded leaves from base of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS) between 25 and 44 d after transplanting with continuous supporting treatment.

Cultivar and sampling time	Total area (mm ²)	Cortex area (mm ²)	Phloem area (mm ²)	Xylem area (mm ²)	Pith area (mm ²)	Fiber area (mm ²)
VP						
25 d	12.61	6.07	2.35	1.29	2.56	0.35
44 d	19.15	8.02	4.14	3.27	2.65	1.06
Significance ^y	**	*	**	**	NS	**
CCP						
25 d	9.37	4.98	1.84	0.86	1.94	0
44 d	17.58	7.96	4.25	3.43	1.69	0
Significance	***	**	***	***	NS	NS
CCS						
25 d	9.13	4.78	1.69	0.79	1.87	0
44 d	15.43	6.64	4.03	2.57	2.19	0
Significance	**	**	***	***	NS	NS

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$ by t -test within cultivar, respectively.

表 5.12. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’
三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第四或五節節間組織
面積比例與彈性係數差異。

Table 5.12. Difference of the internode tissue structure ratio and modulus of elasticity (MOE) below the fourth or fifth completely unfolded leaves from base of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS) between 25 and 44 d after transplanting with continuous supporting treatment.

Cultivar and sampling time	Cortex area (%)	Phloem area (%)	Xylem area (%)	Pith area (%)	Fiber area (%)	MOE (N/mm ²)
VP						
25 d	48.1	18.7	10.2	20.3	2.8	81.3
44 d	41.9	23.6	17.1	13.8	5.5	145.8
Significance ^y	***	NS	***	**	*	***
CCP						
25 d	53.2	19.6	9.2	18.0	0	39.6
44 d	45.23	24.2	19.6	11.0	0	124.7
Significance	***	***	***	**	NS	***
CCS						
25 d	52.4	18.5	8.7	20.4	0	38.8
44 d	43.0	26.1	16.7	14.2	0	73.2
Significance	**	**	***	**	NS	**

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$ by t -test within cultivar, respectively.

表 5.13. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’
三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第一節節間組織面積
差異。

Table 5.13. Difference of the internode tissue structure above the cotyledon of
periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora
Cascade Strawberry’ (CCS) between 25 and 44 d after transplanting with
continuous supporting treatment.

Cultivar and sampling time	Total area (mm ²)	Cortex area (mm ²)	Phloem area (mm ²)	Xylem area (mm ²)	Pith area (mm ²)	Fiber area (mm ²)
VP						
25 d	8.02	2.97	2.31	1.82	0.49	0.43
44 d	13.78	4.26	4.54	4.20	0.34	0.43
Significance ^y	**	*	***	*	NS	NS
CCP						
25 d	0.76	3.25	2.06	1.80	0.48	0
44 d	12.94	4.59	3.73	4.31	0.32	0
Significance	***	***	***	***	**	NS
CCS						
25 d	7.17	3.24	2.04	1.42	0.47	0
44 d	10.77	3.98	3.39	2.96	0.44	0
Significance	*	NS	*	**	NS	NS

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$ by t -test within cultivar,
respectively.

表 5.14. 日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’
三品種在移植 25 天與 44 天立支柱處理植株子葉以上第一節節間組織面積
比例與彈性係數差異。

Table 5.14. Difference of the internode tissue structure ratio and modulus of elasticity (MOE) above the cotyledon of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP), ‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS) between 25 and 44 d after transplanting with continuous supporting treatment.

Cultivar and sampling time	Cortex area (%)	Phloem area (%)	Xylem area (%)	Pith area (%)	Fiber area (%)	MOE (N/mm ²)
VP						
25 d	37.0	28.9	22.8	6.0	5.31	151.8
44 d	31.0	33.1	30.3	2.5	3.05	251.3
Significance ^y	**	*	**	**	NS	*
CCP						
25 d	42.8	27.1	23.7	6.4	0	97.0
44 d	35.5	28.8	33.3	2.4	0	245.0
Significance	***	*	***	***	NS	***
CCS						
25 d	45.2	28.2	19.9	6.7	0	46.6
44 d	36.91	31.5	27.5	4.1	0	140.3
Significance	**	*	***	*	NS	**

NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$ by t -test within cultivar, respectively.



圖 5.1. 日日春立支柱處理

Fig. 5.1. Periwinkle supporting treatment. Bar = 5cm.

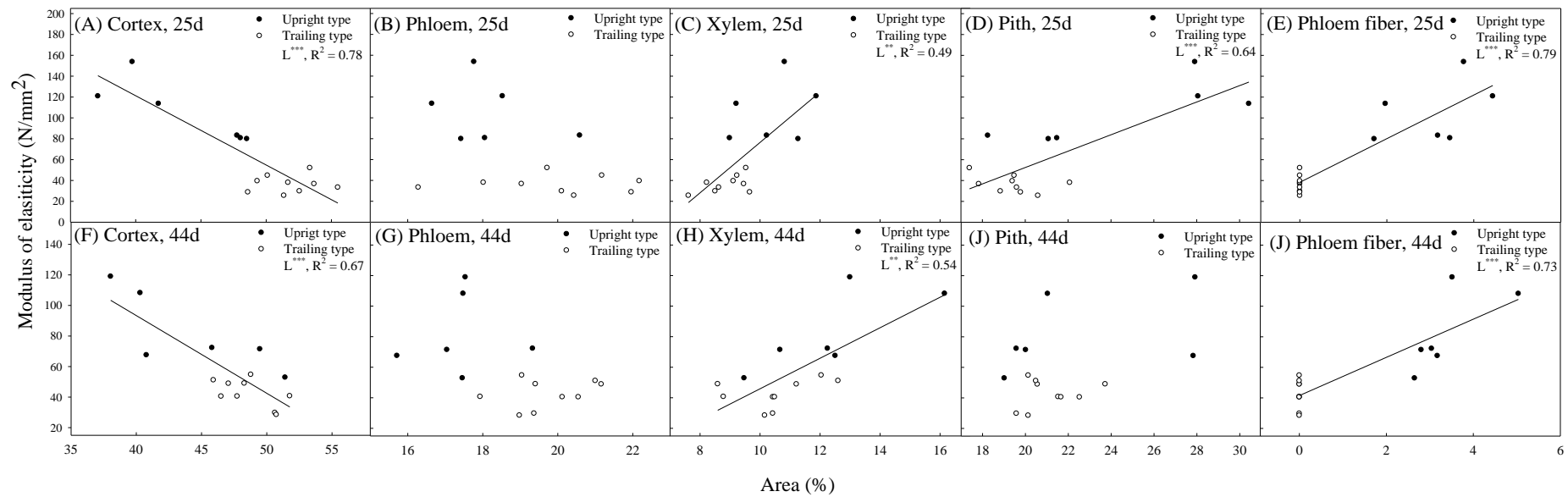


圖 5.2.日日春直立型‘Little Pinkie’、‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Magenta’、‘Cora Cascade Strawberry’移植 25 天與 44 天後第二對完全展開葉下節間各組織與彈性係數迴歸分析。

Fig. 5.2. Regression analysis between modulus of elasticity and internode tissue area ratio in periwinkle ‘Little Pinkie’, ‘Vitesse Pink’, ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Magenta’, ‘Cora Cascade Strawberry’ at 25 and 24 d after transplanting.

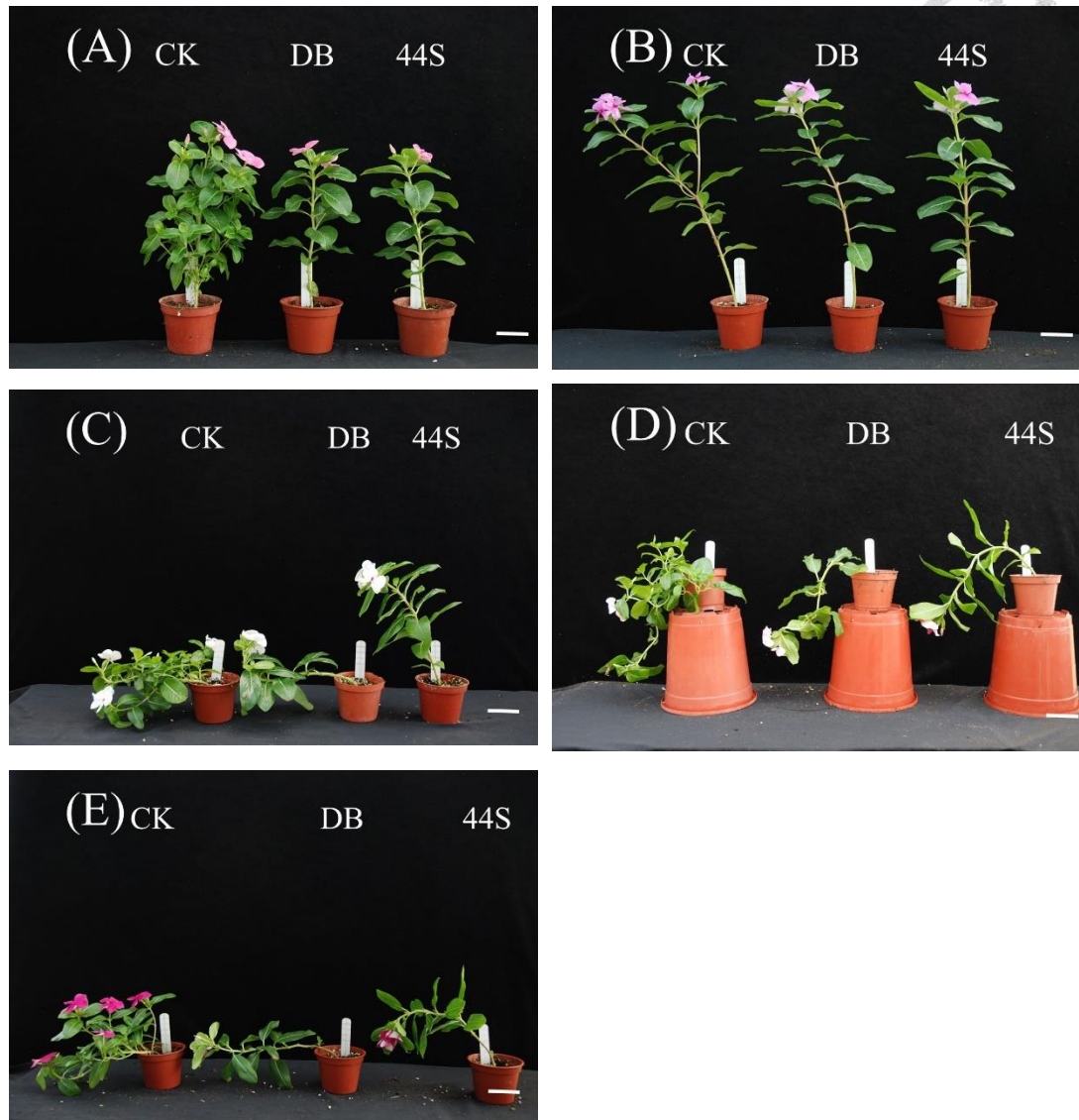


圖 5.3. 日日春(A) ‘Vitesse Pink’、(B) ‘Cora Cascade Polka Dot’、(C) ‘Cora Cascade Strawberry’、(D) ‘Little Pinkie’與(E) ‘Cora Cascade Magenta’不同立支柱處理 44 天後之生長情形。CK:對照組。DB:去側芽處理。44S:立支柱處理 44 天。

Fig. 5.3. Periwinkle (A) ‘Vitesse Pink’, (B) ‘Cora Cascade Polka Dot’, (C) ‘Cora Cascade Strawberry’, (D) ‘Little Pinkie’, and (E) ‘Cora Cascade Magenta’ after different support treatment for 44 d. CK: Control plants were not artificial supported or disbudded. DB: Disbudded plants had all lateral buds larger than 1 cm removed. 44S: 44S plants had main stem supported with iron pole and soft wire for 44 d and disbud. Bar = 5 cm.

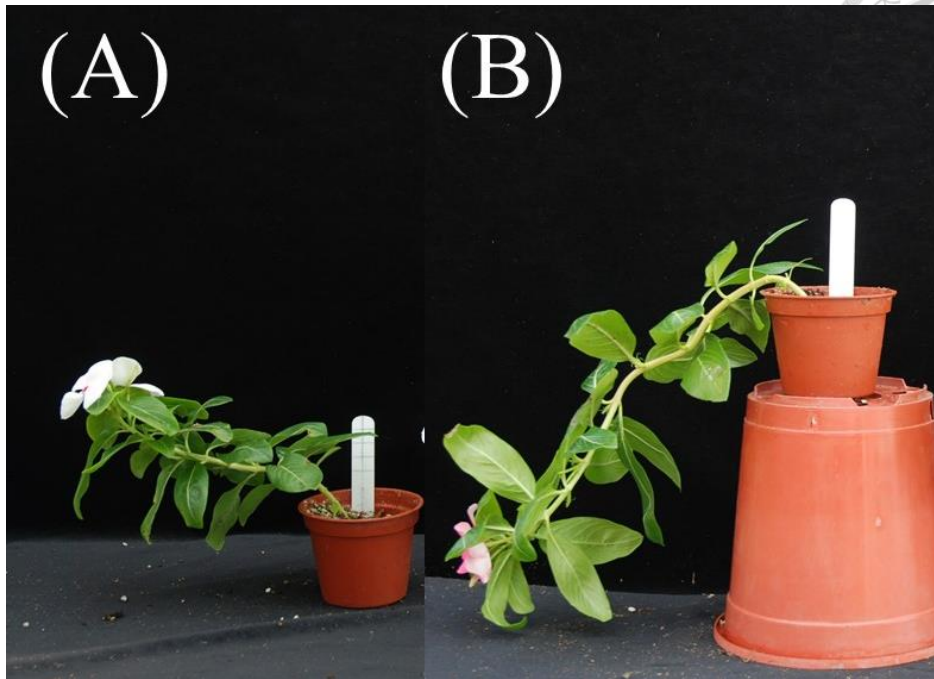


圖 5.4. 日日春‘Cora Cascade Polka Dot’ (A)與‘Cora Cascade Strawberry’(B)前 25 天立支柱處理，後 19 天無立支柱處理。

Fig. 5.4. Periwinkle ‘Cora Cascade Polka Dot’ (A) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (B) plants with main stem supported with iron pole and soft wire for previous 25 d and 19d without supporting for subsequent. Bar = 5cm.

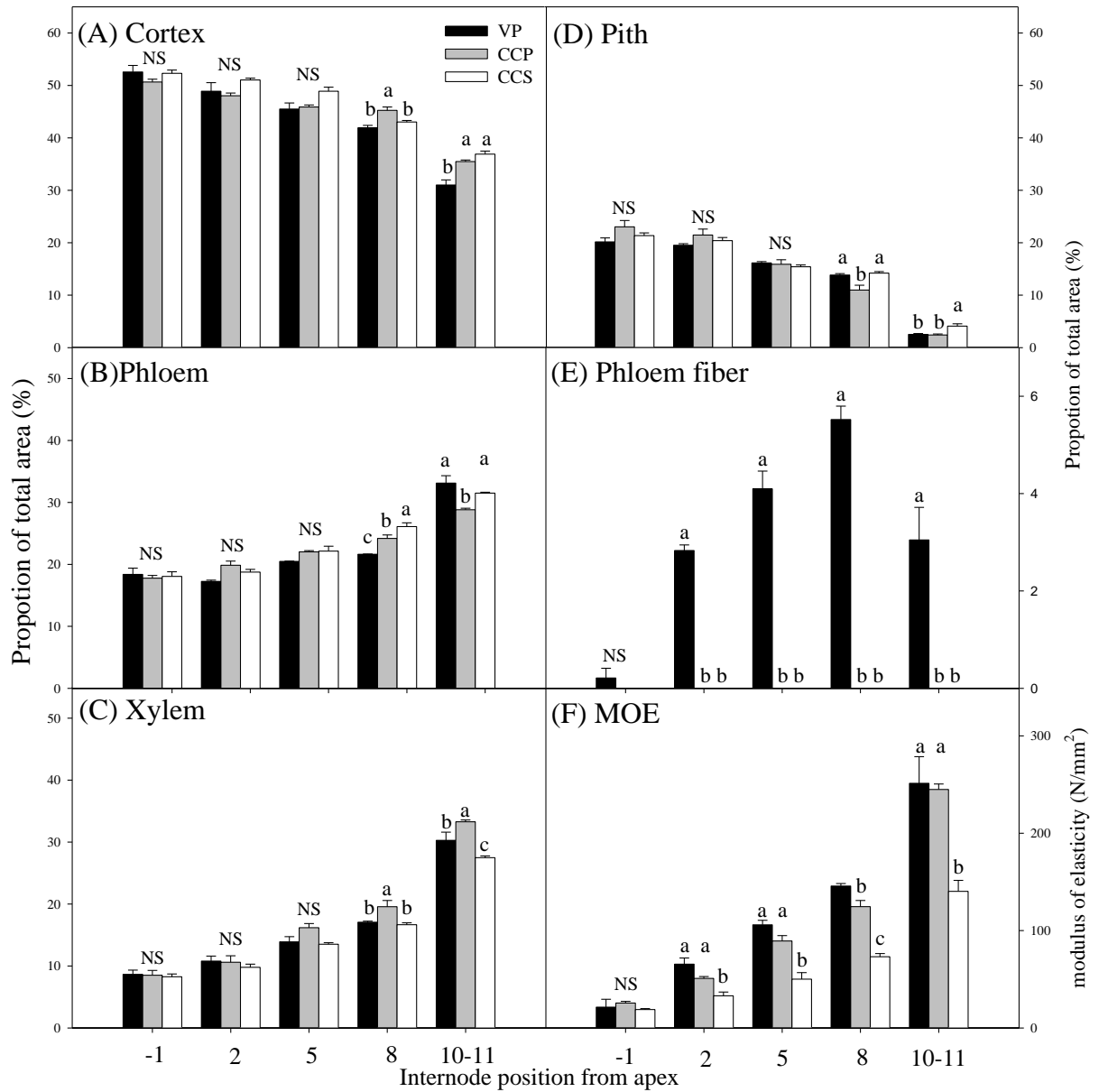


圖 5.5.日日春‘Vitesse Pink’、‘Cora Cascade Polka Dot’與‘Cora Cascade Strawberry’三品種不同節位組織面積比例與彈性係數比較。

Fig. 5.5 The ratio of different tissue area and modulus of elasticity (MOE) in stem of periwinkle ‘Vitesse Pink’ (VP)、‘Cora Cascade Polka Dot’ (CCP) and ‘Cora Cascade Strawberry’ (CCS). Mean separation by LSD test at $P < 0.05$. Bars indicate standard error of the means ($n=3$).

第六章 日日春花色遺傳

Chapter 6. Inheritance of Flower Color in Periwinkle



附加關鍵字：花瓣缺刻、中紅眼圈、雄不稔、粉紅花色、紫紅花色

Additional index words: Lobules flower margin, medium red eye, male sterile, pink corolla, Violet corolla

摘要

本研究探討日日春花冠主要顏色，黃色花冠筒上緣、中紅眼圈、無花粉、花瓣缺刻性狀遺傳模式。結果顯示花瓣顏色杏色對於白色為顯性，粉紅色對於白色與杏色皆為顯性，櫻桃紅對於杏色與粉紅色為顯性，紫紅色對於粉紅色與白色為顯性。黃色花冠筒上緣對於紅色花冠筒上緣為隱性。中紅眼圈對於小紅眼圈為顯性，而無花粉性狀對於雄可稔性狀為隱性。以上性狀皆由一對基因所控制。花瓣缺刻性狀與無花柱性狀連鎖，相對於花瓣全緣有花柱為隱性，也由一對基因所控制。重瓣花型可加強花瓣邊緣缺刻表現，使異結合植株也表現出花瓣缺刻性狀，但雌蕊正常且有花柱。

Abstract

This study including inheritance model of flower color, receptacle color, size of eye zone, pollen-less anther and petal margin of periwinkle. Results revealed that all traits are controlled by single gene. Apricot corolla is dominant to white corolla. Pink corolla is dominant to apricot and white corolla. Cherry corolla is dominant to apricot and pink corolla. And violet corolla is dominant to white and pink corolla. Yellow receptacle is recessive to red receptacle. Medium red eye is dominant to small red eye. Pollen-less anther is recessive to normal anther. Lobules flower margin is recessive to entire margin and linkage with style-less pistil, but heterozygous will reveal lobules flower margin under double flowered background.

前 言(Introduction)

日日春花色豐富多樣且鮮艷飽滿、花期長為夏季重要之花壇與盆花植物，新花形花色為重要育種目標性狀，故了解日日春花色遺傳將有助於育出新品種。

前人研究顯示日日春花瓣顏色白色(white)、淡粉色(pale pink)、粉紅色(pink)、橘紅色(orange-red)、紫色(violet)、洋紅色(magenta)、朱紅(scarlet-red)、玫瑰紅色(rose)與白色眼圈等變化，皆遵循一對基因之遺傳模式(Kulkarni et al., 2005a; Milo et al., 1985; Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)。粉紅色對於白色與淡粉色為顯性(Milo et al., 1985; Simmonds, 1960)，紫色對於粉紅色與橘紅色為顯性(Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)，橘紅色與洋紅色基因為等位基因，粉紅色基因表現時，橘紅色與洋紅色基因不表現，橘紅色與洋紅色基因同時存在時為朱紅色，此外玫瑰紅對於洋紅色為顯性(Kulkarni et al., 2005a)。而日日春白眼圈性狀由一對隱性基因控制(Sreevalli et al., 2002)。

雄不稔性狀為育種上重要的性狀，有助於生產一代雜交品種，避免自交偽株產生，也可節省人工授粉的勞力(高, 2006)。使用甲基磺酸乙酯(ethylmethanesulphonate, EMS)誘變，可獲得日日春出之無花粉性狀由兩對基因控制，兩基因皆為隱性同質結合時才表現出無花粉性狀(Kulkarni and Baskaran, 2008a)。

本研究以商業品種日日春進行自交與雜交，分析日日春杏色、粉紅色、櫻桃紅與紫紅色及黃色花冠筒上緣、中紅眼圈之花色遺傳模式，以及雄蕊無花粉不稔性狀、花瓣邊緣缺刻與無花柱性狀之遺傳模式，以做為選育新花型花色品種之參考。

材料與方法(Materials and Methods)

參試日日春品種包含重瓣直立型‘桃園一號-玫瑰女孩’(TY1)、『桃園四號-夏雪’(TY4)、『桃園五號-紅娘’(TY5) 植株於 2013 年 12 月取自桃園改良場，另取單瓣懸垂型‘Cora Cascade Strawberry’(CCS)、『Cora Cascade Polka Dot’(CCP)、『Cora Cascade Apricot’(CCA)、『Cora Cascade Strawberry’(CCS)、『Mediterranean Strawberry’(MedS)、『Mediterranean Polka Dot’(MedP)與皺瓣日日春‘Angel Tu Tu’(ATT)植株於 2014 年 7 月購自臺北建國花市。

試驗於 2014 年 7 月至 2015 年間在國立臺灣大學園藝分場溫室進行，雜交授粉方式參考 Miyajima (2004)之方法，於種子親花蕾未展開前兩天進行除雄，除雄後之花朵分泌出柱頭液時，使用直徑 0.37 mm、長度 3 cm 以上之釣魚線伸入花粉

親已開放花朵之花冠筒中沾取花粉，再塗於已除雄之種子親柱頭。授粉時間為 1400-1700 HR。授粉成功約 30 天後果莢外觀開始轉黃，於果莢未開裂前人工採收，撥開果莢腹縫線取出種子並陰乾，收集於微量離心管並儲放於 6°C 冰箱，授粉期間日間平均最大光度為 $1382 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長為 11.1-13.2 h，日夜溫 32/25°C。試驗期間每周施用一次含 $200 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{N}$ 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料 (Peters 20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。視介質乾燥程度調整澆水頻率與給水量，定期實施病蟲害防治。

因參試植物材料 CCS、CCP、CCA 與 CCM 為 F_1 品種，且 TY1 與 TY5 為從 F_2 分離世代固定的營養系品種，因此將 CCS、CCP、CCM、CCA、TY1、TY5 與 MedP 自交，以推測親本基因型(表 6.1、6.2、6.3)。

一、日日春花瓣顏色遺傳模式

(一)粉紅色系花瓣性狀遺傳模式

參試材料包含白花瓣品種 CCP 與 MedP，粉紅花瓣品種 TY1、CCS 及杏色花瓣品種 CCA，其中僅 CCS 自交後代會分離出杏色花瓣，推測 CCS 帶有杏色基因。

為觀察白花瓣與粉紅花瓣遺傳模式，設計白花瓣品種與粉紅花瓣品種雜交組合 CCP × TY1、MedP × TY1 與 CCP × CCS，並調查源自 MedP × TY1 與 TY5 × CCM 組合之粉紅色單株自交後代分離狀況。

為討論杏色花瓣與粉紅色花瓣遺傳模式，使用帶有杏色基因之粉紅花瓣品種與粉紅花瓣品種雜交，如 CCS × TY1，並使用雜交組合 MedP × CCS 討論杏色花瓣與白色花瓣之關係。

而櫻桃紅花瓣之遺傳模式使用源自 TY5 × CCM 之 F_1 櫻桃紅花瓣單株 TY5 × CCM F_1 -3 自交後代，及該單株與 CCA 雜交組合(TY5 × CCM F_1 -3) × CCA，以推測櫻桃紅花瓣與粉紅花瓣及杏色花瓣之關係。

(二)紫紅色花瓣性狀遺傳模式

參試品種 CCM 與 TY5 為紫紅色花瓣品種。因此設計紫紅色花瓣與粉紅花瓣雜交組合 CCS × TY5 與 CCM × TY1，與紫紅色花瓣與紫紅色花瓣雜交組合 CCM × TY5，以推論紫色花瓣與粉紅色花瓣之關係，另設計紫紅色花瓣與白色花瓣雜交組合 CCP × TY5，推測紫紅色花瓣與白色花瓣之關係，並調查源自 TY5 × CCM 之 F_1

紫紅花瓣單株 TY5 × CCM_{F1-1} 與 TY5 × CCM_{F1-9} 自交後代；源自 CCM × TY1 之 F₁ 紫紅花瓣單株 CCM × TY1 F₁₋₁₀ 自交後代；源自 CCP × TY5 之 F₁ 紫紅花瓣單株 CCP × TY5 F₁₋₂₄ 與 CCP × TY5 F₁₋₃₁ 自交後代，以推測紫紅花瓣遺傳模式。

(三)花冠筒上緣顏色性狀遺傳模式

本試驗中 CCA、CCP、CCS 與 CCM 皆為紅色花冠筒上緣品種，但自交後代均會出現黃色花冠筒上緣性狀，而重瓣品種黃色花冠筒性狀不易觀察，因此為確認黃色花冠筒上緣遺傳模式與重瓣品種 TY1、TY4 與 TY5 之基因型，因此將帶有黃色花冠筒上緣基因品種與重瓣品種雜交，組合為 CCM × TY1、CCM × TY5、CCP × TY1、CCP × TY5、CCS × TY1、CCS × TY5 與 TY4 × CCP 並調查部分上述組合之 F₂ 世代分離狀況，以及源自雜交組合 TY5 × CCM 紅色花冠筒上緣單株 TY5 × CCM_{F1-2}、TY5 × CCM_{F1-3} 與 TY5 × CCM_{F1-9} 之自交後代分離狀況，以觀察黃色花冠筒上緣性狀之遺傳模式。

(四)紅眼圈大小性狀遺傳模式

本試驗材料 TY1、CCS 與 MedS 具有中眼圈，CCP 與 MedP 為小紅眼圈，為調查中眼圈遺傳模式，設計中眼圈與小眼圈之雜交組合 MedP × TY1、CCP × TY1，並調查 CCP × TY1 之 F₂ 世代分離狀況，中眼圈與中眼圈雜交組合 MedS × TY1、CCS × TY1，與調查中眼圈單株 CCP × TY5 F₁₋₁₂ 與 TY1 × CCS F₁₋₁ 之自交後代，以推論 TY1 與 TY5 之基因型。

二、日日春無花粉不稔性狀遺傳模式

參試品種 CCP、CCS 與 CCM 為雄蕊正常可稔品種，但上述品種自交後代皆分離出雄蕊褐化無花粉之子代，因此調查上述商業品種之自交後代，計算分離比討論無花粉雄不稔性狀之遺傳模式。

三、日日春花瓣缺刻與無花柱性狀遺傳模式

本試驗中 ATT 為花瓣邊緣缺刻且無花柱品種，為觀察花瓣邊緣缺刻與無花柱性狀，將之與花瓣邊緣無缺刻、有花柱之重瓣品種 TY4 雜交，組合為 TY4 × ATT，

並調查 F₂ 世代分離狀況，以分析重瓣、花瓣缺刻與無花柱性狀之遺傳模式。

所有上述授粉採收之種子播種介質為泥炭苔 (Fafard No.1, Conrad Fafard, Agawarm, MA)，播種後介質表面以蛭石(南海蛭石 2 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)覆蓋，置於國立臺灣大學人工氣候室日/夜溫 30/25°C 的自然光照室育苗，發芽後 3 至 4 周，當植株具有二對本葉時，移植到容積 250 mL、直徑 9 cm 的塑膠盆種植，每盆一株，介質為泥炭苔、蛭石(南海蛭石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)與珍珠石(南海珍珠石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)以 2:1:1 混合(體積比)，移植後種植於國立臺灣大學園藝分場溫室中，栽培環境與方式與前述親本管理方法相同。依 The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV)之規範於族群植株皆開兩朵花之後，使用 RHS 色卡 (The Royal Horticultural Society, 2007)進行花色調查。調查性狀為花色：白色(white, RHS NN155D)、杏色(apricot, RHS 62D)、粉紅(pink, RHS 65A)、櫻桃紅(cherry, RHS N66B)、紫紅色(violet, RHS 64B、RHS 74B)，眼圈寬達花瓣長度五分之一定義為中型眼圈，未達者定義為小型眼圈，花冠筒上緣顏色，花瓣邊緣有無缺刻、雄蕊是否萎縮、有無花柱，並使用 Excel (Microsoft, USA)計算卡方值及概率值以檢定性狀分離比。

結果(Results)

一、日日春花瓣顏色遺傳模式

(一)粉紅色系花瓣性狀遺傳模式

本研究商業品種 CCS、MedS 與 TY1 花瓣顏色皆屬於粉紅色，CCA 為杏色(圖 6.1)，CCP 與 MedP 為白色(圖 6.1)。TY1、CCA、CCP 與 MedP 自交後代花色不分離，顯示此植物材料在該基因座基因為同質結合(表 6.1)。

粉紅花瓣商業品種 CCS 自交後代 34 株，分離出粉紅色植株 27 株，與杏色植株 7 株，以粉紅色:杏色=3:1 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值 0.35，小於臨界值，符合假設，顯示粉紅色對於杏色為顯性，且由一對基因控制。以 *P* 表示日日春花瓣有粉紅色花青素累積之基因，以 *p* 表示無粉紅色花素累積之基因，CCS 之基因型應為 *Pp*，且帶有產生杏色花青素之基因，以 *A* 表示。

粉紅花瓣與粉紅花瓣商業品種雜交組合，CCS × TY1 之 F₁ 族群 77 株均為粉紅色，無杏色植株出現，MedS × TY1 雜交組合之 F₁ 族群 25 株也均為粉紅色，以粉紅色:杏色=1:0 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0，小於臨界值，符合假設(表 6.1)，顯示粉紅色對於杏色為顯性，且 TY1 基因型應為 *PP*。

白花瓣與粉紅花瓣雜交之組合 MedP × TY1 與 CCP × TY1，雜交後代均為粉紅色，以粉紅色:白色=1:0 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0，小於臨界值，符合假設(表 6.1)，顯示粉紅色對於白色為顯性。

來自雜交組合 MedP × TY1 之粉紅色花瓣植株 MedP × TY1 F₁-47、MedP × TY1 F₁-55、MedP × TY1 F₁-64 與 MedP × TY1 F₁-67，以及來自雜交組合 TY5 × CCM 之 TY5 × CCM F₁-2，上述單株分別自交，其後代皆會分離出粉紅花瓣與白花瓣植株，以粉紅色:白色=3:1 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值依序為 0.88、1.17、0.06、0.89 與 0.44，均小於臨界值，符合假設，顯示粉紅色對於白色也為顯性(表 6.1)。

白花瓣與粉紅花瓣雜交組合 CCP × CCS，其後代出現粉紅色植株 63 株與杏色植株 57 株，以粉紅色:杏色=1:1 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0.3，小於臨界值，符合假設(表 6.1)，因族群中無白花瓣個體，顯示粉紅花瓣對於杏色花瓣與白花瓣皆為顯性，並推知杏色花瓣對於白花瓣為顯性。

櫻桃紅花瓣植株 TY5 × CCM F₁-3(圖 6.1)來自雜交組合 TY5 × CCM，其自交後代分離出櫻桃紅色與粉紅色，以櫻桃紅色:粉紅色=3:1 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0.4 小於臨界值，符合假設(表 6.1)。顯示櫻桃紅色對於粉紅色為顯性且由一對基因控制，以 *C* 表示日日春花瓣有櫻桃紅色花青素累積之基因，以 *c* 表示無桃紅色花素累積之基因，此單株 Ty5 × CCM F₁-3 之基因型應為 *CcPP*，且 *C* 基因對於 *P* 基因為顯性。

櫻桃紅花瓣與杏色花瓣雜交組合 TY5 × CCM F₁-3 × CCA，其雜交後代分離出櫻桃紅色 31 株與粉紅色 20 株，以櫻桃紅色:粉紅色=1:1 植株分離比例進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 2.37 小於臨界值，符

合假設(表 6.1)，同樣顯示櫻桃紅對於粉紅為顯性，且雜較後代無杏色植株，可推知櫻桃紅與粉紅對於杏色皆為顯性。



(二)紫紅色花瓣性狀遺傳模式

本研究商業品種 CCM 與 TY5 花瓣顏色屬於紫紅色(圖 6.1)。紫紅色商業品種 CCM 自交後代 75 株，分離出紫紅色植株 59 株，與粉紅色植株 16 株，趨近於 3:1 植株分離比。TY5 自交後代 33 株，分離出紫紅色植株 23 株，與粉色植株 10 株，也趨近於 3:1 植株分離比。以 3:1 分離比對上述族群進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，紫紅色與粉色之後裔個體數皆符合 3:1 分離比(表 6.2)，顯示此兩參試材料基因型應為異結合。

兩紫紅色參試商業品種雜交組合 CCM × TY5，雜交 F₁ 子代代 13 株，分離出紫紅色植株 9 株，與粉色植株 4 株，以 3:1 分離比對上述族群進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，紫紅色與粉色之後裔個體數皆符合 3:1 分離比(表 6.2)，同樣顯示紫紅色對於粉紅色為顯性，且由一對等位基因控制，以 *V* 表示日日春花瓣有紫紅色花青素累積之基因，以 *v* 表示無紫紅色花素累積之基因，CCM 與 TY5 基因型應為 *Vv*。

紫紅色與粉紅色花瓣植株雜交組合 CCS × TY5 與 CCM × TY1，皆分離出粉紅色植株。CCS × TY5 雜交後代 13 株，分離出紫紅色植株 3 株，與粉色植株 10 株，CCM × TY1 雜交後代 31 株，分離出紫紅色植株 18 株，與粉色植株 13 株，分離比例趨近於 1:1。以紫紅色:粉紅色=1:1 植株分離比對上述兩組群進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值分別為 0.37 與 3.77，符合假設(表 6.2)。顯示紫紅色對於粉紅色為顯性，且由一對等位基因 *V* 與 *v* 控制，而 TY1 基因型應為 *vvPP*。

紫紅色花瓣植株 CCM × TY1 F₁-10 來自雜交組合 CCM × TY1，其自交後代 42 株，分離出紫紅色 33 株，粉紅色 9 株，以紫紅色:粉紅色=3:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0.28，小於臨界值，符合假設(表 6.2)，同樣顯示紫紅色對於粉紅色由一對等位基因控制，紫紅色對於粉紅色為顯性。

白色花瓣與紫紅色雜交組合 CCP × TY5，雜交後代 38 株，分離出紫紅色植株 17 株，與粉紅色系植株 21 株，以紫紅色:粉紅色=1:1 分離比進行卡方檢定(自由度

為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0.42，小於臨界值，符合假設(表 6.2)，顯示紫紅色對於粉紅色系為顯性，且由一對等位基因控制，因為雜交後代沒有出現白色，也可推測紫紅色對於白色為顯性。

紫紅色花瓣植株 TY5 × CCM F₁-1 與 TY5 × CCM F₁-9 來自雜交組合 TY5 × CCP。TY5 × CCM F₁-1 其自交後代 183 株，花色皆為紫紅色，以紫紅色:粉紅色=1:0 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為 0，小於臨界值，符合假設(表 6.2)，因此推測此單株基因型為 VV。TY5 × CCM F₁-9 其自交後代 127 株，分離出紫紅色植株 95 株，與粉紅色植株 25 株，白色 7 株，以紫紅色:粉紅色:白色=12:3:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 2，顯著水準為 0.05，臨界值為 5.99)，卡方值為 0.01，小於臨界值，符合假設(表 6.2)，可推測此單株基因型為 VvPp，顯示紫紅色對於粉紅色與白色皆為顯性，且粉紅色對於白色為顯性，也由一對基因控制，且兩基因獨立不連鎖。

紫紅色花瓣植株 CCP × TY5 F₁-24 與 CCP × TY5 F₁-31 來自雜交組合 CCP × TY5。CCP × TY5 F₁-24 自交後代 76 株，分離出紫紅色 47 株，粉紅色 26 株，白色 3 株。CCP × TY5 F₁-31 自交後代 133 株，分離出紫紅色 61 株，粉紅色 54 株，白色 18 株。以紫紅色:粉紅色:白色=12:3:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 2，顯著水準為 0.05，臨界值為 5.99)，卡方值分別為 9.24 與 55.7，大於臨界值，不符合假設(表 6.2)

(三)花冠筒上緣顏色性狀遺傳模式

本研究使用之商業品種 CCA、CCP、CCS 與 CCM，皆為紅色花冠筒上緣(圖 6.2)。

CCA 自交後代 48 株，分離出紅色花冠筒上緣植株 37 株，與黃色花冠筒上緣植株 11 株，分離比趨近於 3:1。CCP 自交後代 83 株，分離出紅色花冠筒上緣植株 63 株，與黃色花冠筒上緣植株 20 株，分離比趨近於 3:1。CCS 自交後代 34 株，分離出紅色花冠筒上緣植株 28 株，與黃色花冠筒上緣植株 6 株，分離比趨近於 3:1。CCM 自交後代 75 株，分離出紅色花冠筒上緣植株 55 株，與黃色花冠筒上緣植株 20 株，分離比趨近於 3:1。以紅色花冠筒上緣:黃色花冠筒上緣=3:1 分離比對上述族群進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值為皆小於臨界值，符合假設(表 6.3)。顯示為紅色花冠筒上緣對於黃色為顯性，以 E 表示

日日春紅色花冠筒上緣基因型，*e* 表示黃色花冠筒上緣基因型，則紅色花冠筒上緣品種 CCA、CCP、CCS 與 CCM 基因型應為 *Ee*。

紅色花冠筒上緣雜交組合 TY1 × CCP、CCM × TY1、CCM × TY5、CCP × TY1、CCP × TY5、CCP × TY1 與 TY4 × CCP，此 7 雜組合之子代皆為紅色花冠筒上緣，無黃色花冠筒上緣之植株，以紅色花冠筒上緣:黃色花冠筒上緣=1:0 分離比對紅色花冠筒上緣品種自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值皆小於臨界值，符合此假設，因 CCA、CCP、CCS 與 CCM 帶有黃色花冠筒上緣基因 *e*，但雜交子代無黃色花冠筒上緣個體，同樣顯示為紅色花冠筒上緣對於黃色為顯性，TY1、TY4 與 TY5 基因型應為 *EE*。

紅色花冠筒上緣單株 CCP × TY5 F₁-31、CCP × TY5 F₁-24、CCM × TY1 F₁-10、CCP × TY1 F₁-11、TY5 × CCM F₁-2、TY5 × CCM F₁-3 與 TY5 × CCM F₁-9，此 8 植株自交後代紅色花冠筒上緣:黃色花冠筒上緣植株分離比趨近於 3:1，以紅色花冠筒上緣:黃色花冠筒上緣=3:1 分離比對紅色花冠筒上緣品種自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值皆小於臨界值，符合此假設。皆顯示紅色花冠筒上緣對於黃色為顯性，且由一對基因所控制。

(四)中紅眼圈性狀遺傳模式

本研究使用之商業品種 TY1 與 CCS 為中紅眼圈(圖 6.2 G)，MedP 與 CCP 為小紅眼圈(圖 6.2 A)，於此研究中並無大眼圈材料存在。

小型紅眼圈品種 MedP 與 CCP 自交後代均為小紅眼圈，以中紅眼圈:小紅眼圈=0:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值小於臨界值，符合此假設(表 6.4) 顯示 MedP 與 CCP 於此性狀基因為同結合。

中紅眼圈商業品種 TY1 與 CCS 自交，TY1 自交後代不分離，均為中紅眼圈，以中紅眼圈:小紅眼圈= 1:0 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值小於臨界值，符合此假設(表 6.4)，顯示 TY1 此性狀基因為同結合。而 CCS 自交後代 34 株，分離出中紅眼圈植株 27 株，與小紅眼圈植株 7 株，中紅眼圈與小紅眼圈分離比趨近於 3:1，以中紅眼圈:小紅眼圈=3:1 分離比進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值小於臨界值，

符合此假設(表 6.4)。以 B 表示日日春之中紅眼圈基因型， b 表示小紅眼圈基因型，則中紅眼圈基因型品種 CCS 基因型應為異結合。

中紅眼圈與中紅眼圈雜交組合 MedS \times TY1 與 CCS \times TY1，雜交子代分別為 25 株與 77 株，外表型皆為中紅眼圈，因 CCS 帶有小紅眼圈基因 b ，但無分離出小紅眼圈子代，可推測中紅眼圈對小紅眼圈為顯性。

中紅眼圈品種與小紅眼圈品種雜交組合 MedP \times TY1 與 CCP \times TY1，兩組合雜交子代分別為 78 株與 18 株，外表型也都是中紅眼圈，以中紅眼圈: 小紅眼圈=1:0 分離比對上述組合進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值小於臨界值，符合此假設(表 6.4)，顯示中紅眼圈對小紅眼圈為顯性。

來自中紅眼圈與小紅眼圈的雜交組合之 F_2 族群，如 MedP \times TY1 F_1 -41 自交後代 22 株分離出中紅眼圈植株 16 株，與小紅眼圈植株 6 株；CCP \times TY1 F_1 -3 自交後代 30 株，分離出中紅眼圈植株 21 株，與小紅眼圈植株 9 株；CCP \times TY1 F_1 -4 自交後代 20 株，分離出中紅眼圈植株 14 株，與小紅眼圈植株 6 株；Cora CCP \times TY1 F_1 -12 自交後代 17 株，分離出中紅眼圈植株 12 株，與小紅眼圈植株 5 株，上述族群分離比中紅眼圈與小紅眼圈分離比皆趨近於 3:1，顯示中紅眼圈性狀對於小紅眼圈性狀為顯性，且為一對等位基因控制。但 CCP \times TY1 F_1 -18 自交後代 20 株，分離出中紅眼圈植株 9 株，與小紅眼圈植株 11 株，以中紅眼圈: 小紅眼圈=3:1 分離比對自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值皆小於臨界值，不符合此假設(表 6.4)。

中紅眼圈於紫紅色花瓣植株不易觀察，但 CCP \times TY5 雜交組合產生之中紅眼圈單株 CCP \times TY5 F_1 -12 自交後代 66 株分離出中紅眼圈植株 52 株，與小紅眼圈植株 14 株，分離比中紅眼圈與小紅眼圈分離比皆趨近於 3:1，以中紅眼圈: 小紅眼圈=3:1 分離比對中紅眼圈品種自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，卡方值皆小於臨界值，符合此假設。可推測 TY5 帶有中紅眼圈基因。

二、日日春無花粉雄不稔性狀

本研究使用之商業品種 CCP、CCS 與 CCM，皆為花藥正常雄可稔植株(圖 6.2)。

雄可稔商業品種 CCP、CCS 與 CCM 自交，皆會分離出無花粉之後代，CCP 自交後代 74 株，分離出雄蕊正常植株 63 株，與無花粉植株 11 株；CCS 自交後代 24

株，分離出雄蕊正常植株 15 株，與無花粉植株 9 株；CCM 自交後代 73 株，分離出正常雄蕊植株 55 株，與無花粉雄不稔植株 18 株，分離比例雄蕊正常:無花粉皆趨近於 3:1，可推測花藥褐化無花粉之雄不稔性狀由一對等位基因所控制，且雄蕊正常對無花粉性狀為顯性，以雄蕊正常:無花粉 3:1 分離比對上述自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，僅 CCM 自交卡方值大於臨界值，另兩品種自交皆符合此假設(表 6.5)。以 F 表示日日春之雄蕊正常可稔基因型， f 表示無花粉雄不稔基因型，則推測商業品種 CCP、CCS 與 CCM 基因型應為 Ff 。

三、日日春花瓣邊緣缺刻性狀

本研究使用之商業品種 ATT 為花瓣邊緣缺刻品種，且雌蕊無花柱，與花瓣全緣有花柱之重瓣品種 TY4 進行雜交做遺傳分析，TY4 自交後代花瓣皆全緣，可知在此基因座為同質結合(表 6.6)，而 ATT 無花柱雌蕊不稔無法自交。ATT × TY4 之子代都為花瓣全緣，且均有花柱，僅少數花朵有時邊緣出現些微缺刻(圖 6.4)，顯示花瓣缺刻對於花瓣全緣性狀為隱性，且有花柱對於無花柱為顯性。

隨機挑選三株 F_1 單株自交建立 F_2 族群，先假設重瓣性狀與花瓣邊緣缺刻性狀獨立，則分離出花瓣全緣植株與花瓣邊緣缺刻植株，TY4 × ATT F_1 -8 自交後代分離出花瓣全緣植株 74 株，缺刻植株 28 株；TY4 × ATT F_1 -24 自交後代分離出花瓣全緣植株 50 株，缺刻植株 11 株；TY4 × ATT F_1 -27 自交後代分離出花瓣全緣植株 58 株，缺刻植株 11 株，上述族群分離比花瓣全緣與花瓣缺刻分離比皆趨近於 3:1，以花瓣全緣:缺刻植株 3:1 分離比對上述自交後代進行卡方檢定(自由度為 1，顯著水準為 0.05，臨界值為 3.84)，皆符合假設(表 6.6)，顯示花瓣邊緣缺刻由一對隱性基因 ll 所控制，另外所有單瓣且花瓣邊緣缺刻植株皆無花柱，顯示無花柱性狀可能與花瓣邊緣缺刻性狀連鎖。

同時考慮重瓣性狀基因，以 D 表示日日春之單瓣花型基因， d 表示重瓣花型基因(Chen et al., 2012)。花瓣全緣且重瓣之 TY4 基因型應為 $LLdd$ ，而花瓣邊緣缺刻單瓣之 ATT 基因型應為 $llDD$ ，兩品種雜交後代皆為花瓣全緣且單瓣，可確認花瓣邊緣缺刻性狀與重瓣性狀皆為隱性(表 6.6)。

由三株 F_1 單株自交建立三個 F_2 族群，產生全緣單瓣、缺刻單瓣、全緣重瓣、缺刻重瓣、花瓣嚴重皺縮五種外表型，其中邊緣缺刻單瓣與花瓣嚴重皺縮兩

外表型無花柱(圖 6.4、6.5)，全緣單瓣、全緣重瓣與邊緣缺刻重瓣有花柱，由先前的調查推測無花柱性狀與單瓣的邊緣缺刻性狀連鎖，且在邊緣缺刻基因座為異結合 Ll 時，有機會產生邊緣些微缺刻之單瓣花，因此推測有花柱之邊緣缺刻重瓣植株基因型可能為 $Lldd$ ，而無花柱花瓣嚴重皺縮植株基因型可能為 $lldd$ ，以全緣單瓣:缺刻單瓣:全緣重瓣:邊緣缺刻重瓣:花瓣嚴重皺縮 9:3:1:2:1 分離比對上述 F_2 族群進行卡方檢定(自由度為 4，顯著水準為 0.05，臨界值為 9.49)，皆符合假設(表 6.7)，可知花瓣邊緣缺刻基因座與重瓣基因座 d 互相獨立不連鎖，但重瓣基因因為 dd 時，可能增強 l 基因表現，使異結合 Ll 花瓣缺刻性狀更為明顯且較穩定，而 dd 與 ll 同時存在時則使花瓣嚴重皺縮(圖 6.4)。

討論(Discussion)

本研究粉紅色系花瓣顏色遺傳模式中，粉紅色花瓣親本有 CCS、MedS 與 TY1，白色花瓣親本有 CCP 與 MedP，杏色花瓣親本為 CCA。在粉紅色 CCS 自交後代中，分離出粉紅色與杏色植株，植株分離比為 3:1，顯示粉紅色對於杏色為顯性，且由一對等位基因 P 與 p 控制，控制粉紅色花青素累積基因為 P ，無粉色花青素為 p (表 6.1)。在前人研究中亦指出粉紅色對於淡粉紅色(pale pink)為顯性，同樣由一對等位基因所控制(Milo et al., 1985)。因此推測粉紅色花青素會蓋過較淺的花青素顏色，使粉紅色花瓣對於較淺的杏色與淡粉紅色為顯性。

粉紅花瓣與白花瓣雜交組合，MedP × TY1 與 CCP × TY1，雜交子代皆為粉紅色，顯示粉紅色對白色為顯性，且 MedP × TY1 組合之 F_2 世代與 CCM × TY5 組合之粉紅色 F_2 世代自交後植株分離比粉紅色:白色為 3:1，顯示粉紅色對白色為顯性，且由一對等位基因 P 與 p 控制，控制粉紅色基因型為 P ，白色為 p (表 6.1)。Milo 等人(1985)亦指出，粉紅色對於白色為顯性，且由一對等位基因 W 與 w 控制，控制粉紅色基因為 W ，白色基因為 w ，與本研究結果相同。另一組粉紅花瓣與白花瓣雜交組合 MedP × CCS 其子代粉紅色:杏色為 1:1，因 CCS 基因型為 $PpAA$ ，因此後代出現粉紅花瓣與杏色，而子代中無白花瓣個體產生，顯示杏色對於白色為顯性，前人亦指出淡粉紅色對於白色為顯性 (Milo et al., 1985)。

CCM × TY5 組合之櫻桃紅花瓣 F_1 單株自交後 F_2 世代植株分離比粉櫻桃紅色:粉紅色為 3:1，顯示櫻桃紅色對粉紅色為顯性，且由一對等位基因 C 與 c 所控制，控制櫻桃紅色基因為 C ，粉紅色基因為 c (表 6.1)。而此櫻桃紅花瓣單株與 CCA 雜

交之子代表型包含櫻桃紅與粉紅色，分離比為 1:1，因子代中無杏色花瓣出現，顯示櫻桃紅花瓣與粉紅色花瓣對於杏色花瓣為顯性。

本研究所使用之紫紅色親本為 CCM 與 TY5，兩紫紅色品種雜交子代植株分離必紫紅色:粉紅色為 3:1，顯示紫紅色對粉紅色為顯性，且由一對等位基因 V 與 v 所控制，控制紫紅色基因為 V ，粉紅色基因為 v ，且兩品種在此基因座皆為異結合(表 6.2)。Simmonds(1960)亦指出，紫色(violet)基因由一對等位基因 B 所控制，且紫色對於粉紅色為顯性。

紫紅色與白色雜交組合 CCP × TY5 雜交子代植株分離比為紫紅色:粉紅色為 1:1，無白色子代產生。且 CCM × TY5 組合之紫紅色子代自交後植株分離比為紫紅色:粉紅色:白色為 12:3:1，可知紫紅色對於白色為顯性，且紫紅色基因對於粉紅色與白色性狀皆為顯性(表 6.2)。

Kulkarni 等人(2008b)指出，紫色(violet)基因由一對等位基因 B 所控制，紫色對於粉紅色為顯性，紫色對於橘紅色(orange-red)也為顯性，但粉紅色基因 W 與橘紅色基因 O 對紫色具有隱性上位性交感，若粉紅色基因 W 或橘紅色基因 O 為皆不表現時，紫紅色基因 B 不表現，推測此基因可藍化粉紅色花青素與橘紅色花青素，但不影響洋紅(magenta)色基因 O^m 表現。而洋紅色基因 O^m 對於白色 o 為顯性，但洋紅色基因 O^m 表現會受粉紅色基因 W 影響，若粉紅色基因 W 表現則洋紅色基因不表現(Kulkarni et al., 2008b)。本研究所討論之紫紅色有可能不只受到一對基因座影響，包含了前人研究定義的洋紅色與紫色，洋紅色與紫色對白色皆為顯性與本研究結果相同，紫色對粉紅色為顯性也與本研究結果相同，洋紅色對粉紅色為隱性與本研究結果不同，可能因本研究所定義之紫紅色不只由一對等位基因控制有更多基因參與本研究之紫紅色花瓣外表型調控，因此有兩組紫紅色植株自交後代不符合紫色:粉紅色:白色 12:3:1 之分離比，而本研究所設計之雜交組合不夠全面，且有些族群大小不夠，因此無法清楚觀察到更多基因的分離，也可能因其他栽培管理或環境因素，使分離比偏斜而不符合預期分離比。本研究顯示花色遺傳模式如圖 6.2，深色花色對於淺色花色為顯性的趨勢與前人研究(圖 2.1)類似。


眼圈顏色性狀遺傳模式所使用之親本 CCA、CCP、CCS 與 CCM，皆為紅色花冠筒上緣，上述品種自交後代皆分離出黃色花冠筒上緣之植株，且紅色花冠筒上緣:黃色花冠筒上緣植株分離比為 3:1，顯示紅色花冠筒上緣對於黃色花冠筒上緣之性

狀為顯性，且由一對等位基因 E 與 e 所控制，另外帶有 e 基因之 CCP、CCS 與 CCM 與 TY1、TY4 與 TY5 雜交之子代皆為紅色花冠筒上緣，同樣顯示紅色花冠筒上緣對於黃色花冠筒上緣之性狀為顯性(表 6.3)。Sreevalli 等人(2002)亦指出白眼圈(white eye)之性狀由一對等位基因 E 與 e 所控制，且紅眼圈對於白眼圈為顯性，與本研究結果類似。

中型紅眼圈性狀遺傳模式使用之親本 CCS 為中紅眼圈性狀之植株(圖 6.1 G)，自交後代分離出小紅眼圈性狀，中紅眼圈:小紅眼圈且植株分離比例為 3:1，另外 6 株來自雜交組合 MedP×TY1 之中紅眼圈 F_1 單株自交產生之 F_2 族群，也分離出小紅眼圈植株，小紅眼圈:大紅眼圈植株分離比也為 3:1，顯示中紅眼圈對於小紅眼圈為顯性，且由一對等位基因 B 與 b 所控制，控制中紅眼圈基因為 B ，小紅眼圈基因為 b (表 6.4)。TY1 為粉紅色花瓣重瓣花，此性狀表現不易觀察，但 TY1 與小紅眼圈品種 CCP 與 MedP 雜交組合之子代性狀均為中紅眼圈，且與帶有小紅眼圈基因為 b 之品種 CCS 雜交子代也均為中紅眼圈，因此推測 TY1 帶有同結合中紅眼圈基因 B ，但可能因花瓣顏色與重瓣性狀使中紅眼圈不易觀察。TY5 為紫紅色花瓣重瓣花品種，TY5 與小紅眼圈品種 CCP 雜交也會產生中紅眼圈植株，因此推測 TY5 也帶有中紅眼圈基因 B (表 6.4)。Nugent 與 Snyder(1967)亦指出天竺葵(*Pelargonium ×hortorum*)花朵中心顏色與外圍顏色不同之性狀由一對隱性基因所控制，此中紅眼圈性狀於相異且較淺的花瓣顏色較易觀察，可能與天竺葵之花朵中心顏色與花瓣不同之雙色花性狀相似。

日日春無花粉性狀本使用之親本 CCP、CCS 與 CCM 皆為雄蕊正常可稔植株，自交後代皆分離出無花粉雄不稔植株(圖 6.3)，雄蕊正常:無花粉植株分離比為 3:1，顯示無花粉性狀由一對等位基因 F 與 f 所控制， F 基因控制雄可稔性狀， f 基因控制無花粉雄不稔性狀(表 6.5)。Kulkarni 與 Baskaran (2008a)使用甲磺酸乙酯(ethylmethanesulphonate, EMS)誘變處理種子獲得無花粉之日日春品系，雄不稔植株花藥內無花粉，且雄不稔性狀由兩對隱性基因 $ms1$ 與 $ms2$ 控制，兩基因皆為隱性同質結合時才表現無花粉性狀(Kulkarni and Baskaran. 2008a)，本研究結果亦有類似之性狀但僅觀察到單一基因座分離，另本研究所使用之親本為一代雜交商業品種，顯示此基因可能已應用於生產一代雜交品種之育種流程。

日日春商業品種 ATT 為花瓣邊緣缺刻品種，且雌蕊無花柱，無法做為種子親，



將其作為花粉親與作為種子親之花瓣全緣有花柱之重瓣品種 TY4 進行雜交，其 F₁ 子代花瓣全緣且有花柱，僅少數花朵有時邊緣出現些微缺刻(圖 6.4)，顯示花瓣缺刻對於花瓣全緣性狀為隱性，且有花柱對於無花柱為顯性。至 F₂ 子代花瓣全緣:花瓣缺刻植株為 3:1，顯示花瓣缺刻性狀由一對隱性基因控制，且花瓣缺刻植株皆無花柱，推測無花柱性狀與花瓣缺刻性狀連鎖。F₂ 子代中重瓣植株花瓣缺刻比例高於預期，且具有正常花柱，推測為 *L* 基因座異結合型植株，且出現嚴重皺縮之新性狀(圖 6.4)，嚴重皺縮植株花朵均無花柱，且葉片皺縮(圖 6.5)，因此推測為 *L* 基因座隱性同結合型植株，結果顯示，重瓣基因做可能會加強花瓣缺刻基因之表現，使 *L* 基因座在異結合時更容易表現出花瓣缺刻之性狀，但花柱仍正常，而 *L* 基因座為隱性同結合時，則出現花瓣嚴重皺縮之性狀，且該植株之葉片末端也會皺縮(圖 6.5)。

表 6.1. 粉紅色系花瓣日日春 17 組自交與雜交組合之子代分離比例。C₋ = 櫻桃紅；ccP₋ = 粉紅色；ccppA₋ = 杏色；ccppaa = 白色

Table 6.1. Seventeen crosses among periwinkle with petal color in pink series. C₋ = cherry; ccP₋ = pink; ccppA₋ = apricot; ccppaa = white

Cross combination (proposed genotype) ^z	Petal color				Test ratio ^y	χ^2	P
	Cherry (C ₋)	Pink (ccP ₋)	Apricot (ccppAA)	White (ccppaa)			
TY1 (ccPP)⊗	0	3	0	0	0:1:0:0	0	1
CCA (ccppAA)⊗	0	0	48	0	0:0:1:0	0	1
CCP (ccppaa)⊗	0	0	0	74	0:0:0:1	0	1
MedP (ccppaa)⊗	0	0	0	55	0:0:0:1	0	1
CCS (ccPpAA)⊗	0	27	7	0	0:3:1:0	0.35	0.55
MedS (ccP ₋ aa) × TY1 (ccPP)	0	25	0	0	0:1:0:0	0	1
CCS (ccPpAA) × TY1 (ccPP)	0	77	0	0	0:1:0:0	0	1
MedP (ccppaa) × TY1 (ccPP)	0	78	0	0	0:1:0:0	0	1
CCP (ccppaa) × TY1 (ccPP)	0	18	0	0	0:1:0:0	0	1
MedP × TY1 F ₁ -47 (ccPpaa)⊗	0	16	0	8	0:3:0:1	0.88	0.35
MedP × TY1 F ₁ -55(ccPpaa)⊗	0	15	0	8	0:3:0:1	1.17	0.28
MedP × TY1 F ₁ -64 (ccPpaa)⊗	0	17	0	5	0:3:0:1	0.06	0.81
MedP × TY1 F ₁ -67 (ccPpaa)⊗	0	16	0	8	0:3:0:1	0.89	0.34
TY5 × CCM F ₁ -2 (ccPpaa)⊗	0	75	0	26	0:3:0:1	0.44	0.59
MedP (ccppaa) × CCS (ccPpAA)	0	63	57	0	0:1:1:0	0.3	0.58
TY5 × CCM F ₁ -3 (CcPP)⊗	73	28	0	0	3:1:0:0	0.40	0.53
TY5 × CCM F ₁ -3 (CcPP) × CCA (ccppAA)	31	20	0	0	1:1:0:0	2.37	0.12

TY1, TY5, CCA, CCP, CCS, MedP and MedS are Taoyuan No.1-Rose Girl, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Apricot, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, Mediterranean Polka Dot, and Mediterranean Strawberry, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for pink series petal color.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

表 6.2. 紫紅色花瓣日日春 11 組自交與雜交組合之子代分離比例。 $V_ =$ 紫紅； $vvP_ =$ 粉紅； $vvpp =$ 白

Table 6.2. Eleven crosses among periwinkle with petal color in violet series. $V_ =$ violet; $vvP_ =$ pink; $vvpp =$ white

Cross combination (proposed genotype) ^z	Petal color			Test ratio ^y	χ^2	P
	Violet ($V_$)	Pink ($vvP_$)	White ($vvpp$)			
CCM ($VvPP$) ⊗	59	16	0	3:1:0	0.54	0.46
TY5 ($VvPp$) ⊗	23	10	0	3:1:0	4.54	0.1
CCM ($VvPP$) × Ty5 ($VvPp$)	9	4	0	3:1:0	0.23	0.63
CCS ($vvPp$) × Ty5 ($VvPp$)	3	10	0	1:1:0	3.77	0.05
CCM ($VvPP$) × Ty1 ($vvPP$)	18	13	0	1:1:0	0.37	0.81
CCP ($vvpp$) × Ty5 ($VvPp$)	17	21	0	1:1:0	0.42	0.52
CCM × Ty1 F ₁ -10 ($VvPP$) ⊗	33	9	0	3:1:0	0.28	0.59
Ty5 × CCM F ₁ -1 (VV) ⊗	183	0	0	1:0:0	0	1
Ty5 × CCM F ₁ -9 ($VvPp$) ⊗	95	25	7	12:3:1	0.01	0.92
CCP × Ty5 F ₁ -24 ($VvPp$) ⊗	47	26	3	12:3:1	9.24	0.002
CCP × Ty5 F ₁ -31 ($VvPp$) ⊗	61	54	18	12:3:1	55.7	0

TY1, TY5, CCP, CCS and CCM are Taoyuan No.1-Rose Girl, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, and Cora Cascade Magenta, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for violet petal color.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear genes and two-gene dominant epistasis models.

表 6.3. 日日春 18 組自交與雜交組合之子代花冠筒上緣顏色分離比例。E₋ = 紅花冠筒上緣；ee = 黃花冠筒上緣

Table 6.3. Segregation for receptacle color in progeny of 18 periwinkle crosses. E₋ = red receptacle; ee = yellow receptacle.

Cross combination (proposed genotype) ^z	Receptacle color		Test ratio ^y	χ^2	P
	Red receptacle (E ₋)	Yellow receptacle (ee)			
CCA (Ee)⊗	37	11	3:1	0.11	0.74
CCP (Ee)⊗	63	20	3:1	0.04	0.85
CCS (Ee)⊗	28	6	3:1	3.25	0.07
CCM (Ee)⊗	55	20	3:1	0.11	0.74
CCM (Ee) × TY1(EE)	31	0	1:0	0	1
CCM (Ee) × TY5(EE)	13	0	1:0	0	1
CCP (Ee) × TY1(EE)	18	0	1:0	0	1
CCP (Ee) × TY5(EE)	38	0	1:0	0	1
CCS (Ee) × TY1(EE)	77	0	1:0	0	1
CCS (Ee) × TY5(EE)	13	0	1:0	0	1
TY4 (EE) × CCP (Ee)	23	0	1:0	0	1
CCP × TY5 F ₁ -31(Ee)⊗	98	35	3:1	0.12	0.73
CCP × TY5 F ₁ -24(Ee)⊗	56	20	3:1	0.07	0.79
CCM × TY1 F ₁ -10(Ee)⊗	31	11	3:1	0.03	0.86
CCP × TY1 F ₁ -11(Ee)⊗	20	5	3:1	0.33	0.56
TY5 × CCM F ₁ -2(Ee)⊗	72	23	3:1	0.03	0.86
TY5 × CCM F ₁ -3(Ee)⊗	75	26	3:1	0.03	0.86
TY5 × CCM F ₁ -9(Ee)⊗	91	36	3:1	0.75	0.38

TY1, TY4, TY5, CCA, CCP, CCS and CCM are Taoyuan No.1- Rose Girl, Taoyuan No.4-Summer Snow, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Apricot, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, and Cora Cascade Magenta, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for receptacle color.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

表 6.4. 日日春 15 組自交與雜交組合之子代中型紅眼圈分離比例。B₋ = 中紅眼圈；bb = 小紅眼圈

Table 6.4. Segregation for medium red eye in progeny of 15 periwinkle crosses. B₋ = medium red eye; bb = small red eye.

Cross combination (proposed genotype) ^z	Size of eye zone		Test ratio ^y	χ^2	P
	Medium eye (B ₋)	Small eye (bb)			
MedP (bb)⊗	0	55	0:1	0	1
CCP (bb)⊗	0	74	0:1	0	1
TY1 (BB)⊗	3	0	1:0	0	1
CCS (Bb)⊗	27	7	3:1	0.35	0.55
MedS (B ₋) × TY1 (BB)	25	0	1:0	0	1
CCS (Bb) × TY1 (BB)	77	0	1:0	0	1
MedP (bb) × TY1 (BB)	78	0	1:0	0	1
CCP (bb) × TY1 (BB)	18	0	1:0	0	1
MedP × TY1 F ₁ -41 (Bb)⊗	16	6	3:1	0.06	0.81
CCP × TY1 F ₁ -3 (Bb)⊗	21	9	3:1	0.40	0.53
CCP × TY1 F ₁ -4 (Bb)⊗	14	6	3:1	0.27	0.61
CCP × TY1 F ₁ -12 (Bb)⊗	12	5	3:1	0.18	0.67
CCP × TY1 F ₁ -18 (Bb)⊗	9	11	3:1	9.60	0.001
TY1 × CCS F ₁ -1 (BB)⊗	115	0	1:0	0	1
CCP × Ty5 F ₁ -12 (Bb)⊗	52	14	3:1	0.50	0.48

TY1, TY5, MedP, MedS, CCP, CCS are Taoyuan No.1-Rose Girl, Taoyuan No.5-Red Lady, Mediterranean Polka Dot, Mediterranean Strawberry, Cora Cascade Polka Dot, and Cora Cascade Strawberry, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for medium red eye.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

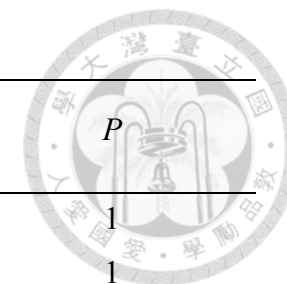


表 6.5. 懸垂型日日春‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’與‘Cora Cascade Magenta’自交後代無花粉雄不稔分離比例。

F_- = 雄可稔； ff = 雄不稔

Table 6.5. Segregation for pollen-less male sterile anthers in progeny of three periwinkle crosses. F_- = male fertile; ff = male sterile.

Crosses (proposed genotype) ^z	Normal (F_-)	Male sterile (ff)	Test ratio ^y	χ^2	P
CCP (Ff) ⊗	63	11	3:1	4.05	0.04
CCS (Ff) ⊗	15	9	3:1	2.0	0.16
CCM (Ff) ⊗	55	18	3:1	0.01	0.94

CCP, CCS and CCM are Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry and Cora Cascade Magenta, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for pollen-less male sterile anthers.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

表 6.6. 日日春‘Angel TuTu’與‘桃園四號-夏雪’雜交子代花瓣邊緣缺刻性狀分離比例。L₋ = 花瓣全緣；ll = 花瓣缺刻

Table 6.6. Segregation for petal margin in progeny of No.4-Summer Snow × Angel TuTu. L₋ = entire; ll = lobules

Cross combination (proposed genotype) ^z	Petal margin		Test ratio ^y	χ ²	P
	Entire (L ₋)	Lobules (ll)			
TY4 (LL)⊗	55	0	1:0	0	1
TY4 (LL) × ATT (ll)	56	0	1:0	0	1
F ₂					
TY4 × ATT F ₁ -8 (Ll)⊗	74	28	3:1	0.33	0.57
TY4 × ATT F ₁ -27 (Ll)⊗	50	11	3:1	1.58	0.21
TY4 × ATT F ₁ -24 (Ll)⊗	58	11	3:1	3.02	0.08

TY4 and ATT are Taoyuan No.4-Summer Snow and Angel TuTu, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for petal margin.

^ySegregation ratios expected for traits controlled by single dominant nuclear gene.

Lobules flower margin phenotype are linked with style-less phenotype.

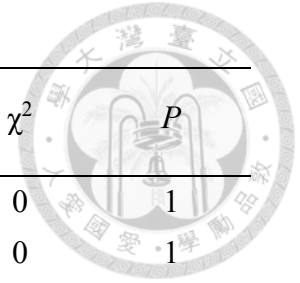


表 6.7. 日日春‘Angel TuTu’與‘桃園四號-夏雪’雜交子代花瓣邊緣缺刻性狀與重瓣性狀分離比例。 $L_$ = 全緣； ll = 缺刻； $D_$ = 單瓣； dd = 重瓣。

Table 6.7. Segregation for petal margin and double-flower in progeny of No.4-Summer Snow × Angel TuTu. $L_$ = entire; ll = lobules; $D_$ = single flower; dd = double-floweredness.

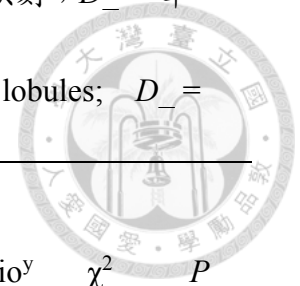
Cross combination (proposed genotype) ^z	Petal margin and flower form					Test ratio ^y	χ^2	P
	Entire margin single flower	Lobules margin single flower	Entire margin double flower	Lobules margin double flower	Severe distortion			
	($L_ D_$)	($ll D_$)	($LL dd$)	($Ll dd$)	($ll dd$)			
TY4($LL dd$) \otimes	0	0	55	0	0	0:0:1:0:0	0	1
TY4 ($LL dd$) × ATT ($ll DD$)	56	0	0	0	0	1:0:0:0:0	0	1
F ₂								
TY4 × ATT F ₁ -8 ($Dd Ll$) \otimes	47	23	6	21	5	9:3:1:2:1	8.32	0.08
TY4 × ATT F ₁ -27 ($Dd Ll$) \otimes	38	10	1	11	1	9:3:1:2:1	6.22	0.18
TY4 × ATT F ₁ -24 ($Dd Ll$) \otimes	41	9	4	13	2	9:3:1:2:1	4.8	0.31

TY4 and ATT are Taoyuan No.4-Summer Snow and Angel TuTu, respectively.

^zListed in the parenthesis is the inferred genotype for petal margin

^ySegregation ratios expected for traits controlled by two-gene model

Only lobules margin and severe distortion phenotype are style-less.



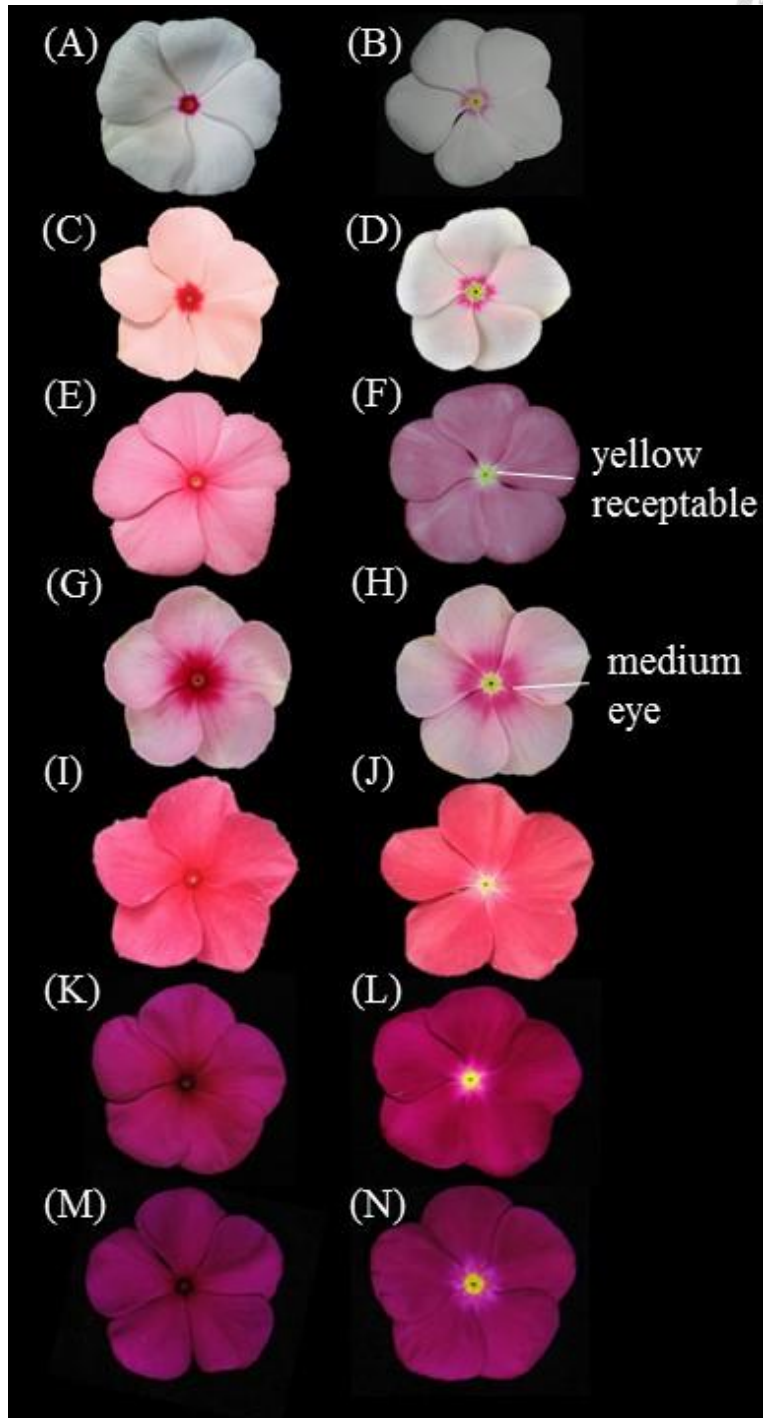


圖 6.1. 日日春花冠顏色。白色 RHS NN155D (A、B)；杏色 RHS 62D (C、D)；粉紅色 RHS 65A (E-H)；櫻桃紅色 RHS N66B (I、J)；紫紅色 RHS N74B (K、L)、RHS 64B (M、N)；紅色花冠筒上緣 (A、C、E、G、I、K、M)；黃色花冠筒上緣 (B、D、F、H、J、L、N)；中紅眼圈 (G、H)

Fig. 6.1. Periwinkle corolla color. White (A, B) ; apricot (C,D) ; pink (E-H) ; cherry (I, J) ; violet (K、L、M、N). Red receptacle (A、C、E、G、I、K、M); yellow receptacle (B、D、F、H、J、L、N); medium red eye (G, H).

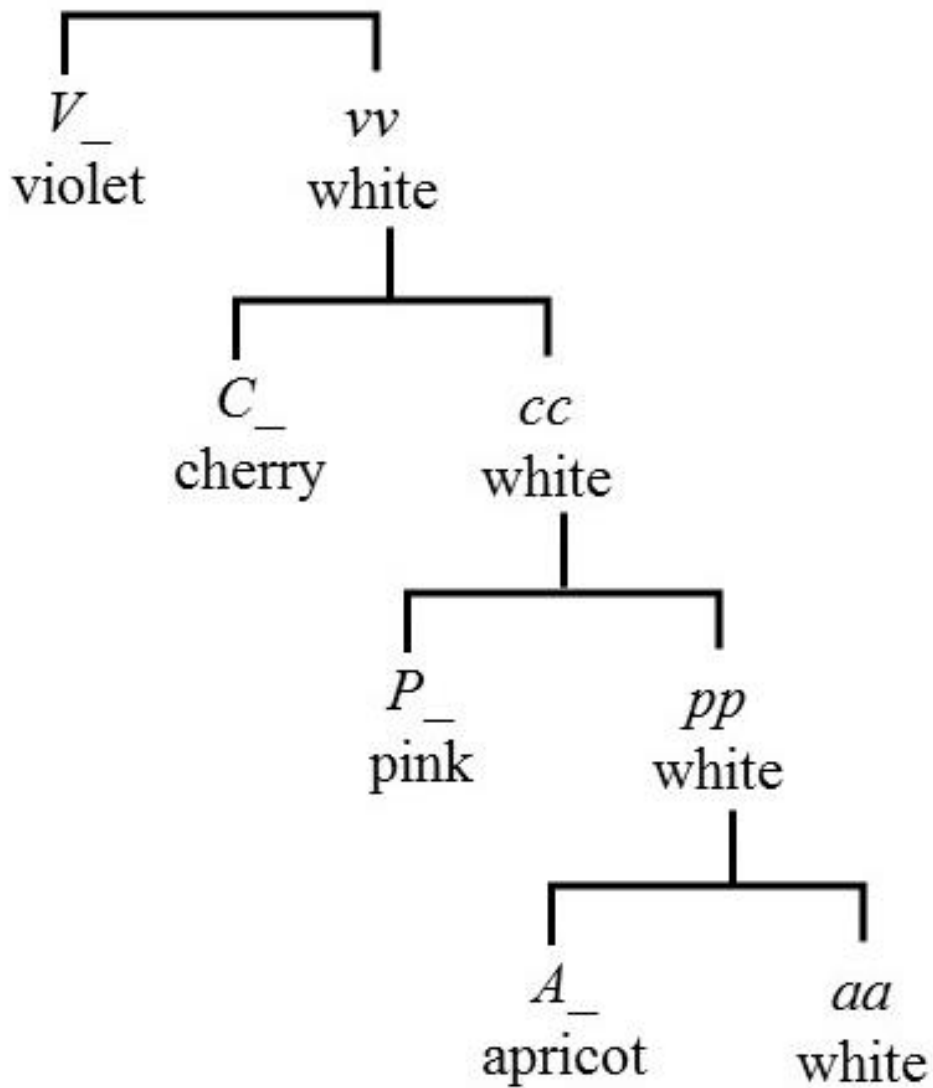


圖 6.2. 日日春花色基因 V 、 C 、 P 與 A 之交感作用與花冠顏色

Fig. 6.2. Corolla colours resulting from interaction between genes V , C , P , and A in periwinkle.

V : violet corolla

C : cherry corolla

P : pink corolla

A : apricot corolla



圖 6.3. 日日春雄蕊正常可稔花朵(A)、無花粉雄不稔花朵(B)與無花粉花藥(C)
Fig 6.3. Male fertile flower (A), male sterile flower (B) and male sterile anther(C).

Bar = 1 mm

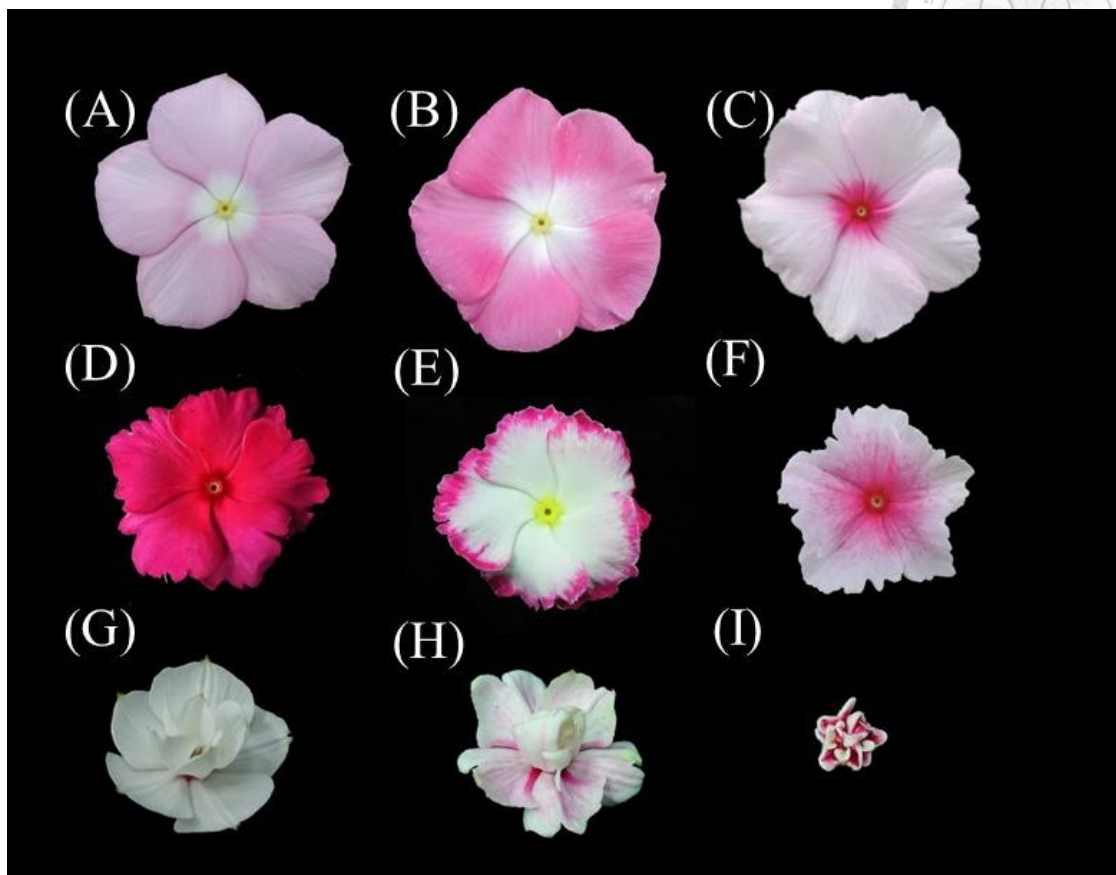


圖 6.4. 日日春‘Angel Tu Tu’ × ‘桃園四號-夏雪’之後代花型表現。全緣單瓣花 (A、B)，淺缺刻單瓣花(C)，缺刻單瓣花(D-F)，全緣重瓣花(G)，缺刻重瓣花(H)，嚴重皺縮花(I)

Fig. 6.4. Flower traits of progenies from periwinkle ‘Angel Tu Tu’ × ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’. Entire single flower (A, B), lightly lobules single flower (C), lobules single flower (C), Entire double-flower (G), lobules double-flower (H), severe distortion flower (I).

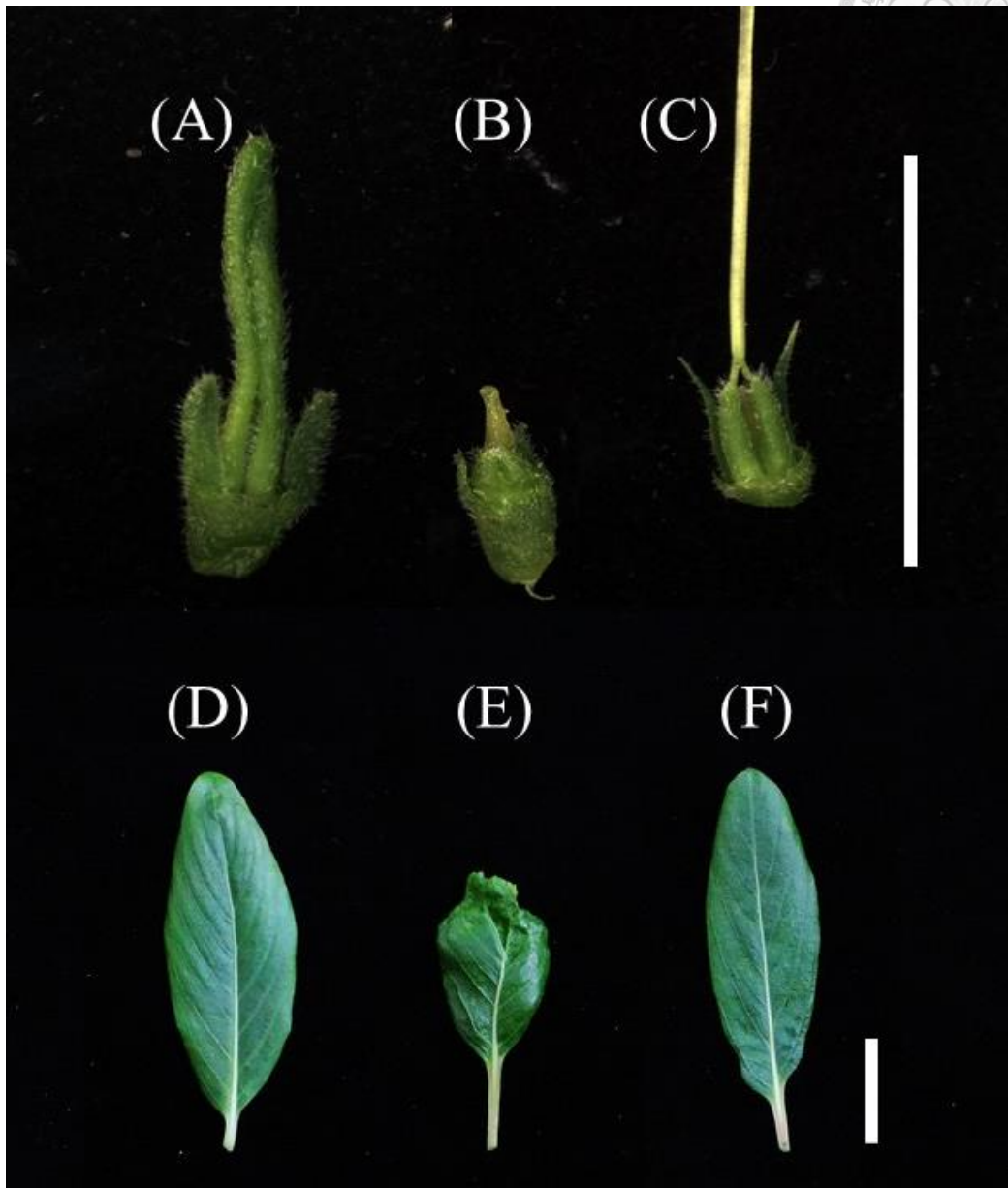


圖 6.5. 日日春‘Angel Tu Tu’(A、D)、『桃園四號-夏雪’(C、F)與兩品種雜交 F₂ 之花瓣嚴重皺縮植株(B、E)之後代花柱(A-C)與葉片(D-F)性狀表現。

Fig. 6.5. Style(A-C) and leaf traits (D-F) of periwinkle ‘Angel Tu Tu’ (A, D), ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’ (C, F) and ‘Angel Tu Tu’ × ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’ F₂ progeny with severe distortion flower (B, E). Bar = 1 cm.





Chapter 7. Cloning and Expression Analysis of *CrNST1* gene of Periwinkle

附加關鍵字：纖維細胞、NAC 結構域轉錄因子、次生細胞壁合成、長春花
Additional index words: Fiber cell, NAC domain transcription factor, secondary wall synthesis, vinca

摘要


為探討控制懸垂型日日春韌皮纖維細胞無法累積次生細胞壁之基因，根據阿拉伯芥 *nst1/snd1* 雙重突變株之纖維細胞型態，以調控莖部纖維次生細胞壁形成的主要轉錄因子 *NST1* (NAC secondary wall thickening promoting factor 1) 做為目標基因，使用阿拉伯芥 *AtNST1* 做為模板與日日春轉錄體做序列比對，結果顯示有一序列與 *AtNST1* 相似，暫名為 *CrNST1*，而懸垂型日日春‘Cora Cascade Polka Dot’莖部 *CrNST1* 基因表現量比直立型日日春‘Vitesse Pink’低，雖然 *CrNST1* 基因 CDS(coding DNA sequence) 序列無差異。

Abstract

To study gene which control phloem fiber of trailing periwinkle can not synthesis secondary wall. According to fiber cell morphology in Arabidopsis double mutant *nst1/snd1*, *NST1*(NAC secondary wall thickening promoting factor 1) which is one of major transcription factor to control fiber secondary wall synthesis of stem is selected as target gene. The other gene which is identified from transcriptome of *Catharanthus roseus* and similar to *AtNST1* named as *CrNST1*. *CrNST1* expression level of trailing periwinkle ‘Cora Cascade Polka Dot’ stem is lower than upright cultivar ‘Vitesse Pink’. Although CDS of *CrNST1* between ‘Cora Cascade Polka Dot’ and ‘Vitesse Pink’ are the same.

前言(Introduction)

纖維細胞發育過程在完成分化、延長之後即是次生細胞壁形成，而 *NST1*(NAC secondary wall thickening promoting factor 1) 與 *SND1* (Secondary wall - associated NAC domain protein) 基因是調控莖部纖維次生細胞壁形成的主要開關(Gorshkova et



al., 2012), *SND1* 與 *NST1* 直接與 secondary-wall NAC binding elements (SNBEs) 結合, 也會誘導產生其他與次生細胞壁相關的轉錄因子, 調控纖維細胞次生細胞壁之合成。阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana* L.) *SND1* 基因與 *NST1* 基因雙重突變株之花梗較軟且倒伏, 其纖維細胞無法產生細胞壁, 無木聚醣、木質素等次生細胞壁成分累積, 停留於纖維始源細胞之形態(Zhong et al., 2007), 第三章中觀察到懸垂型日日春韌皮纖維細胞有相似的細胞形態。序列比對已廣泛應用於尋找功能相似之基因, 如楊樹(*Populus trichocarpa* Torr. & A.Gray ex. Hook.)、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula* Gaertn.)與桃(*Prunus persica* L.) 控制次生細胞壁合成基因之序列分析皆有使用 *AtNST1* 基因做為模板(Zhong et al., 2010; Zaho et al., 2010; Hao et al., 2012)。本章節目的為 1) 調查日日春是否具有與 *SND1*、*NST1* 相似基因, 2) 比較直立型與懸垂型候選基因結構是否有差異與表現量差異。

材料與方法(Materials and Methods)

以 *AtSND1* 與 *AtNST1* 兩基因 CDS (coding DNA sequence) 序列作為模板, 與日日春轉錄體資料庫(Verma et al., 2014) 進行序列比對, 尋找與此兩基因相似之序列。

RNA 抽取使用 5PRIME Isol-RNA Lysis Reagent 套組(伯昂興業有限公司, 臺北, 台灣), 取直立型日日春 'Vitesse Pink' 與懸垂型日日春 'Cora Cascade Polka Dot' 第二對展開葉下節間 0.1 g 浸於液態氮中冷凍, 分別放入預冷之研鉢磨碎, 再加入 1 mL Trizol 充分均質於室溫放置 10 min, 移至微量離心管以 12000 g 於 4°C 離心 10 min, 取上清液至新的離心管, 加入 0.2 ml chloroform 震盪 15 s, 再以 12000 g 於 4°C 離心 15 min, 取上清液至新的離心管, 加入 0.5 mL isopropanol 倒轉混勻, 以 12000 g 於 4°C 離心 10 min 後去掉上清液, 加入 0.5 mL 75% 酒精以 12000 g 於 4°C 離心 5 min 清洗 RNA 沉澱物兩次, 倒除酒精, 於抽風櫃中風乾沉澱物, 最後加入無菌水即完成 RNA 抽取。以 1.5% agarose 膠體電泳確認 RNA 品質並使用超微量核酸定量光譜儀(博克科技有限公司, 臺北, 台灣) 測量抽取之 RNA 濃度後進行 cDNA (coding DNA) 合成。取 3 μg 之 RNA, 加入 0.5 μg 之 Oligo (dT)18 與 10 mM 之 dNTP 1 μl , 並以無菌水補至 13 μL , 加熱至 65°C 維持 15 min, 再移至 4°C, 於此溫度加入 5X first-stand buffer 4 μL 、0.1 M DTT 2 μL 與 M-MLVRtase 1 μL , 放入 37°C 乾浴槽維持 1 h, 後提高為 70°C 15 min, 最後回到 4°C 即完成 cDNA 合成, 並將 cDNA 濃度調整至 10 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 備用。

進行聚合酶鏈鎖反應，使用 Taq DNA Polymerase Master Mix Red (Ampliqon, 丹麥)與引子對 CrNST40、CrNST641(表 7.1)，取 2X premix 10 μ L、引子各 0.5 μ L、先前抽取之 cDNA 2 μ L，並以無菌水補至 20 μ L 進行聚合酶鏈鎖反應，共反應 35 個循環，以 1.5% agarose 膠體電泳確認產物是否專一，再送至基龍米克斯有限公司定序。另使用引子對 CrNST965 進行聚合酶鏈鎖反應不同循環數之反應，以推測候選基因於兩品種之間表現量是否有差異。

結果(Results)

以阿拉伯芥 *AtSND1* 與 *AtNST1* 基因 CDS 序列作為模板與日日春轉錄體資料庫進行序列比對，僅以 *AtNST1* 作為模板時有一條同樣具有 NAC domain 之相似序列，暫名為 *CrNST1* (圖 7.1)，而 *AtSND1* 基因則無相似序列。

以引子對 CrNST40、CrNST641 (表 7.1)與‘Vitesse Pink’及‘Cora Cascade Polka Dot’兩品種之莖部 cDNA 序列進行聚合酶連鎖反應，並將產物定序，結果顯示，兩品種 cDNA 自第 40 個鹼基至第 1166 個鹼基沒有差異。以 CrNST965 引子對做不同循環數之聚合酶連鎖反應，膠體電泳結果顯示兩品種莖部組織表現量可能略有差異(圖 7.2)。

討論(Dissussion)

在懸垂型日日春莖縱切面，原韌皮部纖維細胞分佈之位置，仍可觀察到長條狀細胞(圖 3.1 F)。纖維細胞發育依序為，細胞分化、細胞延長接著形成次生細胞壁最後大多為細胞凋亡(Gorshkova et al., 2012)，推測懸垂型日日春之韌皮部纖維細胞之分化與細胞延長皆正常，因此才能在相同位置觀察到長條狀纖維始原細胞，但可能在合成次生細胞壁時遇到障礙，因此無法形成次生細胞壁，而停留在長條狀薄壁細胞之形態。該細胞形態與阿拉伯芥 *SND1* 基因與 *NST1* 基因雙重突變株之纖維細胞形態相同(Zhong et al., 2007)，因此推測懸垂型日日春中與纖維細胞次生細胞壁合成之相關基因可能失去功能，因此產生懸垂性狀。以 *AtSND1* 基因與 *AtNST1* 基因做為模板與日日春轉錄體做序列比對，僅於 *AtNST1* 基因做為模板時可找到相似序列。*AtSND1* 基因與 *AtNST1* 基因為功能性互補基因，需要兩基因同時失去功能才可觀察到莖部纖維細胞無法形成次生細胞壁的性狀(Mitsuda et al., 2007; Zhong et al., 2007)，而蒺藜苜蓿只要 *MtNST1* 基因失去功能即可觀察到纖維細胞無法形成次生

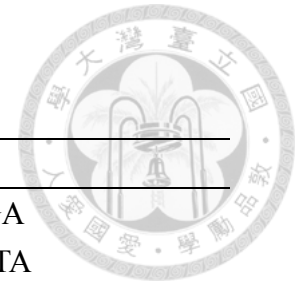
細胞壁的狀況(Zaho et al., 2010)，以 *AtSND1* 與 *AtNST1* 為模板序列比對結果，於日日春上轉錄體中僅有一條與 *AtNST1* 基因相似的序列(圖 7.1)，且古典遺傳分析結果顯示，日日春控制此性狀僅有一個基因(第四章)，可能為此基因或其他相關基因失去功能導致日日春纖維細胞無法合成次生細胞壁。


AtNST1 與 *MtNST1* 基因皆為轉錄因子，會直接調控許多下游合成次生細胞壁之基因，如合成纖維素、木聚醣等基因(Zhong et al., 2008)，而先前日日春解剖觀察中無觀察到任何次生細胞壁累積的情況(第三章)，且以不同循環數之聚合酶連鎖反應之結果顯示 *CrNST1* 基因於懸垂品種‘Cora Cascade Polka Dot’表現量可能較低(圖 7.2)，因此推測可能為 *CrNST1* 基因或其上游基因失去功能導致日日春纖維細胞無法合成次生細胞壁。由於直立型‘Vitesse Pink’與懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’之 *CrNST1* 基因 CDS 序列定序結果沒有差異，因此推測可能是 *CrNST1* 基因啟動子區域或是其他區域之序列突變，或是其上游基因之差異，使 *CrNST1* 基因之表現於兩品種不一樣，是哪個基因使日日春纖維細胞無法合成細胞壁需要進一步的試驗與確認。

表 7.1. 聚合酶鏈鎖反應使用之引子對序列

Table 7.1. Nucleotide sequence of primer used for PCR.

Oligonucleotide	T _m (°C)	Sequence: (5' to 3')
CrNST40L	50	AGCATAATCAATGGCACCAGA
CrNST40R	50	GTCGTCTTCGTCATGGATGTTA
CrNST641L	50	CTTCCGGAGGGAAGTCTAATTG
CrNST641R	50	ATACTGACAAGCGGCATAACG
CrNST965L	55	CTCTTGATAGACTCGTGGCTTCTCA
CrNST965R	55	GCAAAGGTCCAGAAGTCCAACCTC





5'AAATCTCTCTCTCTCTATCTCTCTAGTTTCTTTGCAAAGCATAATCAA
TGGCACCAGAGCAGATGAACCTTTGTGTAAATGGTCAATCTCAAGTGCC
TCCAGGATTCCGTTTCCATCCAACGGAGGAGGAGCTTCTGCATTATTATT
TGAGGAAGAAAGTTGCCTCCAAGAAAATTGATCTTGATGTAATCCGCGA
TGTTGATCTCAACAAGCTCGAACCTGGGATATTCAAGAAAAATGCAGA
ATTGGATCCACTCCGCAGAATGATTGGTACTTCTTTAGTCACAAAGATAA
AAAGTATCCAACAGGAACTAGAACAAACCGTGCAACTGCAGCTGGATTT
TGGAAGGCAACGGGTAGGGATAAAGTCATTTATAGCAACTCTAAAAGAA
TTGGAATGAGGAAAACCTAGTCTTCTATAAAGGGCGTGCCCCTCATGG
ACAGAAGTCAGATTGGATCATGCATGAGTACAGACTCGAAGACACCACC
CCGCCCCATGATGCATCATCTTTGCGTGCAGTATGGTAGGAGAGGGAA
ATTCTGAAGAAGGGTGGGTGTGTGTGCGAGTGTTCAAAAAGAAGAATTA
CCATAAAGCCCATGTGGATCAGAGTAACTCCCAAACTCAATGATGGAT
CTTCCGGAGGGAAGTCTAATTGGAACGTCCAAAGATGGTATTCTTGATA
GAATCCTTGTATACATGGGAAGATCCTCCTGCAAACAAGAAAACCCACC
AATTAATAACATCCATGACGAAGACGACGTGCGCCATGCAATTCATCAAC
AATAACCCAATTATGTCCGATGATAAATTCATGCATCTTCCTAGGCTGGA
GAATCCATTATTCAACCAACATGATTGTAGTAGTTTCAGCGCCTCGCAGC
CTTCAATGAATGATATAGCCGAACTAATTCAGCTTCATGCACCACCGA
AGCAGCCGCCGGGCTGAGTGAAGTGGTGGCTCTTGATAGACTCGTGGCT
TCTCAGCTAAATGGACAGGAAGAGGTTTTCTGCTTCCGGCGGGCGGCGG
GATCCATCAGATCACACGGCTACCATCATCAACCACCTCAAACCTCAAGC
GTACGAGGGTGCAGGCAGCGAGTTGGACTTCTGGACCTTTGCCAGGTCA
TCATCCTCCGATCCGTTATGCCGCTTGTCAGTATGAAGGGAACAAGTTAC
TATCACGAAAAATAAATAGTATAATATATAATAGTATATAGTCATGATA
TATATAGGAGGAATATGGTCAATATTTAATAATTCTGCCAAAGAAAATT
TAGTTATATATGTATAGGGGTCAAAAAGTCAAAAACAAGTTTGATTGAT
AGTGGTATAATACATATATACACAAATCATATATATATATAAATCTAA
ATCTGTTGAGAATCATATA3'

圖 7.1. *CrNSTI* 編碼區域序列

Fig. 7.1. Coding DNA sequence of *CrNSTI*.

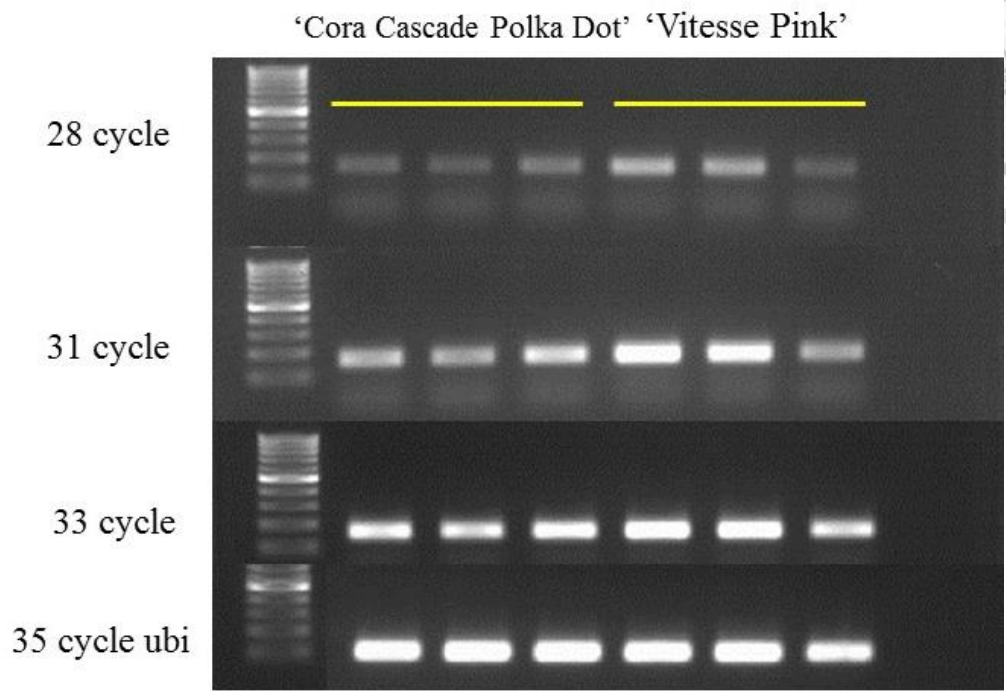


圖 7.2. 直立型日日春‘Vitesse Pink’與懸垂型日日春 ‘Cora Cascade Polka Dot’ 莖部 *CrNST1* 基因表現量比較

Fig. 7.2. *CrNST1* expression level of stem between upright periwinkle ‘Vitesse Pink’ and trailing type ‘Cora Cascade Polka Dot’.



第八章 重瓣懸垂型日日春品種選育

Chapter 8. Breeding of Double-Flowered and Trailing Type Periwinkle



附加關鍵字：蔓性、匍匐性、營養系品種、長春花

Additional index words: cascade, prostrate, vegetative cultivar, vinca

摘要

以重瓣直立型日日春‘桃園一號-玫瑰女孩’、‘桃園四號-夏雪’、‘桃園五號-紅娘’分別與單瓣懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’、‘Cora Cascade Strawberry’、‘Cora Cascade Magenta’雜交授粉，得單瓣直立型 F₁ 後裔，挑選生長勢強者自交得 F₂ 世代分離族群，自分離族群中篩選出 7 個重瓣懸垂優良品系再進行品系比較試驗，選出 3 個性狀優良之品系待命名申請品種權。重瓣懸垂日日春新品種之分枝數多，且可做為吊盆栽培。本研究首度選育出重瓣懸垂型之日日春品種。

Abstract

Double-flowered and upright periwinkle ‘Taoyuan No.1-Rose Girl’, ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’, ‘Taoyuan No.5-Red Lady’ were crossed with single-flowered and trailing periwinkles ‘Cora Cascade Polka Dot’, ‘Cora Cascade Strawberry’, ‘Cora Cascade Magenta’ respectively. Single-flowered and upright F₁ progenies were obtained. Then vigorous F₁ plants were selected and selfed to establish F₂ population. Seven double-flowered and trailing periwinkle were selected and mass-propagated from F₂ population for further comparisons. Three double-flowered and trailing lines were selected to apply for plant breeders’ right. New double-flowered and trailing periwinkle cultivars have branching habit, and are suitable for hanging pot. The three selected lines are the first report for double-flowered and trailing periwinkle cultivars.

前言(Introduction)

日日春花色鮮艷、花期長，且具耐熱性、耐旱性佳及適應性佳等優點，已成為全球重要的觀賞花卉(Ball, 1998；Curry, 2012；van Bergen and Snoeijer, 1996)。因應全球暖化，耐熱花卉種類與耐熱育種已成為全球之趨勢(Anderson, 2006)。原生種日

日日春皆為五片花瓣之高腳碟狀花(van Bergen and Snoeijer, 1996)，長期以來缺乏重瓣品種(National Garden Bureau Inc., 2002)，至 2010 年臺灣桃園改良場首度育成花瓣排列緊密、內圈花瓣寬大美觀具觀賞價值之重瓣日日春品種桃園系列(陳, 2013)，且此性狀為臺灣所獨有，具有新穎性，雖然是以扦插無性繁殖之營養系品種，有別於以往多以種子繁殖，但近年來無性繁殖品種有增加的趨勢。

另外育種者常將懸垂(trailing)或匍伏(prostrate)生長性狀導入花卉作物商業品種，以提高觀賞性、可應用性、生長勢及抑制雜草生長等優點(Mirzaie-Nodoushan et al., 1999)。懸垂性品種適合做為吊盆栽培，近年來極受消費者喜愛，許多觀賞作物如矮牽牛(*Petunia xhybrida* Hort. ex E. Vilm.)、金魚草(*Antirrhinum majus* L.)及彩葉草[*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd]、舞春花(*Calibrachoa* Cerv.)等已推出許多適合做為吊盆栽培的懸垂型品種，而日日春懸垂品種有 Cora Cascade Series (PanAmerican Seed Co., 1997)、Mediterranean Series (GoldSmith Seeds Co., 2010)及 Boa Series (Floranova Co., 2009)等，但皆為單瓣花(陳, 2013)。本章節敘述重瓣懸垂型日日春之育種過程，藉以建立重瓣懸垂型日日春之選育模式。

材料與方法(Materials and Methods)

參試重瓣直立型日日春‘桃園一號-玫瑰女孩’(TY1)、『桃園四號-夏雪’(TY4)、『桃園五號-紅娘’(TY5)植株於 2013 年 12 月取自桃園改良場，懸垂型品種‘Cora Cascade Polka Dot’(CCP)、『Cora Cascade Strawberry’(CCS)及‘Cora Cascade Magenta’(CCM)種子皆購自農友種苗公司。育種過程設計雜交組合 TY1×CCS、TY4×CCP、TY5×CCM 與 CCM×TY5，於 2014 年 7 月至 11 月進行雜交，授粉與種子採收方式參見第四章材料與方法。

自四組雜交組合中，選取強健之 F₁ 子代進行自交。當 F₂ 植株培育至開花後，出現單瓣及重瓣分離與直立型及懸垂型分離情形，選擇其中重瓣懸垂型植株進行優良單株選拔，選出之單株以扦插繁殖成品系，接續進行品系比較試驗，由試驗中選出具有商業潛力之品系進行詳細性狀調查、命名及申請品種保護。

品系比較試驗候選 7 優良品系為 TY4×CCP F₂-6、TY1×CCS F₂-1、TY1×CCS F₂-2、CCM×TY5 F₂-1、CCM×TY5 F₂-2、TY5×CCM F₂-1、TY5×CCM F₂-2，對照品種為重瓣直立型品種 TY1、TY4 與 TY5，懸垂型品種 CCP、CCS 及 CCM。試驗於 2016 年 5 月至 7 月間進行，桃園系列與候選品系取 4-6 公分之頂梢作為插穗，

扦插於 128 格穴盤，介質為泥炭苔(Fafard No.1, Conrad Fafard, Agawarm, MA)，扦插後 35 天，發根苗根團完整且株高約 3 到 6 公分時，移植到直徑 12 cm 的塑膠盆種植，每盆一株，介質為泥炭苔與珍珠石(南海珍珠石 3 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)以 3:1 混合(體積比)，移植後種植於國立臺灣大學園藝分場，日間平均最大光度為 $1463 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux (PPF)，平均日長為 12-13.2 h，日/夜溫 33/27°C，試驗期間每周施用一次含 $200 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ N 之 20N-8.6P-16.6K 可溶性速效完全肥料(Peters 20-20-20, The Scotts Co., Marysville, Ohio, USA)。視介質乾燥程度調整澆水頻率與給水量，定期實施病蟲害防治。

懸垂型對照品種播種於 288 格穴盤(2×2×2.5 cm)，介質為泥炭苔，其上以蛭石(南海蛭石 2 號，南海蛭石股份有限公司，臺北，臺灣)覆蓋，置於國立臺灣大學人工氣候室日夜溫 30/25°C 的自然光照室育苗，約 4-5 天發芽，當植株具有兩對本葉約 28 天後，移植至直徑 12 cm 的塑膠盆種植，每盆一株，與上述營養系品系同日移植，依上述方式栽培管理。

品系比較調查項目為株高、分枝數、花徑、扦插成活率。株高定義為介質表面至植株最高處；分枝數為計算長度大於 5 cm 之分枝；花徑則測量當天盛開花朵之直徑最寬處；扦插成活率為扦插 35 天後調查發根數超過 3 條之插穗百分比。性狀調查依日日春品種檢定方法所附之日日春品種性狀表所列之規定辦理，於上盆後植株皆開五朵花之後進行調查，以書面審查方式申請中華民國植物品種權。

本試驗皆採完全隨機設計(Completely randomized design, CRD)，採用 CoStat 6.4 (CoHort Software, CA, USA)統計軟體進行最小顯著差異分析(Least significant difference, LSD)，分析比較處理間是否有顯著差異($P < 0.05$)。

結果(Results)

四雜交組合 TY1×CCS、TY4×CCP、TY5×CCM 與 CCM×TY5 之 F₂ 子代共獲得 67 株重瓣懸垂型之植株，以生長勢、外觀品質與扦插成活率等性狀綜合考量選出較佳之 7 個候選品系，分別為 TY4×CCP F₂-6、TY1×CCS F₂-1、TY1×CCS F₂-2、CCM×TY5 F₂-1、CCM×TY5 F₂-2、TY5×CCM F₂-1、TY5×CCM F₂-2，與重瓣直立型商業品種 TY1、TY4、TY5 及單瓣懸垂型商業品種 CCP、CCS、CCM 進一步之品系比較試驗。結果顯示懸垂型品種株高較直立型品種略低，懸垂型品種普遍具有較大的株寬與較多的分枝數，考量花徑大小與扦插成活率從中選出 TY4×CCP F₂-

6、TY1×CCS F₂-1 與 TY5×CCM F₂-2 三品系以書面審查方式申請中華民國植物品種權(表 8.1)。

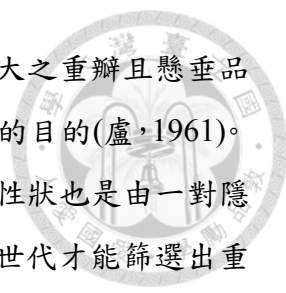
TY4×CCP F₂-6 株高矮，株寬寬、枝梢花青素呈色弱，葉形橢圓形，葉長中等，葉寬窄，葉無斑紋，葉身綠色程度中等，葉柄正面花青素呈色弱，花重瓣，花徑小，外瓣排列輕微覆蓋，外瓣形狀扇形，重瓣花品種內瓣形狀卷曲管狀形，花瓣正面顏色數一種，花瓣正面主要顏色白 RHS NN155D，有眼圈，眼圈相對於花朵小，眼圈顏色數一種，眼圈邊緣顏色呈現對比，眼圈內側呈紅色 RHS N57A，花托筒外側顏色淺綠，花柱分合情況為合，葉柄可區分為為兩段(表 8.2 圖 8.1-8.3)。

TY1×CCS F₂-1 株高矮，株寬寬、枝梢花青素呈色弱，葉形橢圓形，葉長中等，葉寬窄，葉無斑紋，葉身綠色程度中等，葉柄正面花青素呈色弱，花重瓣，花徑小，外瓣排列輕微覆蓋，外瓣形狀扇形，重瓣花品種內瓣形狀卷曲管狀形，花瓣正面顏色數一種，花瓣正面主要顏色粉紅 RHS 65D，有眼圈，眼圈相對於花朵中等，眼圈顏色數兩種，眼圈邊緣顏色呈現擴散，眼圈內側呈紅色 RHS 58B，眼圈外側呈色粉紅 RHS 65A，花托筒外側顏色淺綠，花柱分合情況為合，葉柄可區分為為兩段(表 8.3 圖 8.4-8.6)。

TY5×CCM F₂-2 株高矮，株寬寬、枝梢花青素呈色弱，葉形橢圓形，葉長中等，葉寬窄，葉無斑紋，葉身綠色程度中等，葉柄正面花青素呈色弱，花重瓣，花徑小，外瓣排列輕微覆蓋，外瓣形狀扇形，重瓣花品種內瓣形狀卷曲管狀形，花瓣正面顏色數一種，花瓣正面主要顏色紫 RHS 71C，有眼圈，眼圈相對於花朵小，眼圈顏色數一種，眼圈邊緣顏色呈現對比，眼圈內側呈紅色 RHS 61A，花托筒外側顏色淺綠，花柱分合情況為合，葉柄可區分為為兩段(表 8.4 圖 8.7-9)。

討論(Discussion)

日日春雖為可自花授粉之植物，但因柱頭與花藥空間上的隔離，通常可防止自花授粉發生，於露天環境中須依靠虹吸式口器昆蟲協助授粉形成果莢(Miyajima, 2004)，而重瓣日日春可能因內輪增生花瓣常呈直立狀，5 瓣緊密合生擋住花冠筒上端小孔，阻礙蝶蛾類昆蟲授粉，加上重瓣品種花粉與胚珠數明顯偏少，使重瓣品種不易自然形成種子(陳，2013)，重瓣懸垂品種具有相同特性，在商業生產上不利於以種子大量繁殖，應使用扦插方式供應，因此於品系比較試驗調查插穗成活百分比，以篩選容易扦插繁殖之品系(表 8.1)。



重瓣懸垂日日春育種目標為育成多樣花色、花形美觀及花徑大之重瓣且懸垂品種。透過雜交將兩親本理想性狀結合以符合人類需求是植物育種的目的(盧,1961)。日日春之重瓣性狀由一對隱性基因控制(Chen et al., 2012)，懸垂性狀也是由一對隱性基因控制(第四章)，因此將重瓣性狀與懸垂性狀結合需至 F₂ 世代才能篩選出重瓣懸垂型植株，於 F₂ 世代可先以幼葉皺縮性狀篩選重瓣植株，提高田間作業效率(Chen et al., 2012)，待上盆 25 天後由外觀篩選懸垂性狀(第五章)，或是藉由強摘心的方式確認是否為懸垂型植株(第三章)，其他外觀性狀以生長勢強、分枝數多做為考量，最後篩選出之優良品系各項性狀均達一定水準，但考量品種權管理與規費成本，先選 3 個常用之顏色品系申請品種權。

表8.1.七優良重瓣懸垂日日春品系與商業品種株高、展幅、側枝數、花徑及扦插存活率園藝性狀比較。

Table 8.1. Horticultural trait comparisons of plant height, plant width, lateral shoot number and cutting survival between 7 selected periwinkle lines and commercial cultivars.

Cultivar	Height (cm)	Width (cm)	Lateral shoot no.	Flower diameter (cm)	Cutting survival (%)
TY4×CCP F ₂ -6	12.7 cde ^z	26.6 abc	8.0 b	3.1 abc	79.2
TY1×CCS F ₂ -1	13.0 cde	24.1 bcd	4.8 c	3.0 abc	86.7
TY1×CCS F ₂ -2	12.2 de	27.6 abc	5.6 bc	2.4 c	69.2
CCM×TY5 F ₂ -1	16.1 bcd	25.2 bc	4.6 c	3.0 abc	26.7
CCM×TY5 F ₂ -2	17.1 bc	23.8 bcd	5.6 bc	2.6 bc	81.8
TY5×CCM F ₂ -1	16.4 bcd	23.4 bcd	5.4 c	2.9 abc	72.4
TY5×CCM F ₂ -2	13.7 cde	30.2 ab	6.2 bc	3.0 abc	91.7
Taoyuan No.1-Rose Girl	22.8 a	20.0 cd	6.8 bc	2.6 abc	82.7
Taoyuan No.4-Summer Snow	19.3 b	18.3 cd	6.0 bc	2.6 abc	43.7
Taoyuan No.5-Red Lady	15.6 bcd	15.8 d	4.4 c	2.6 abc	85.4
Cora Cascade Polka Dot	13.0 cde	34.2 a	10.2 a	3.6 a	–
Cora Cascade Strawberry	9.6 e	29.8 ab	10.6 a	3.4 ab	–
Cora Cascade Magenta	12.0 de	26.4 abc	10.2 a	3.5 ab	–
Significance	***	***	***	***	

TY1, TY4, TY5, CCP, CCS and CCM are Taoyuan No.1- Rose Girl, Taoyuan No.4-Summer Snow, Taoyuan No.5-Red Lady, Cora Cascade Polka Dot, Cora Cascade Strawberry, and Cora Cascade Magenta, respectively.

^z Mean separation within columns by LSD at $P < 0.05$ ($n=5$).

*** Significant at $P < 0.001$ by t -test within cultivar.

– indicates seed-raised cultivar.

表 8.2. 重瓣懸垂日日春TY4 × CCP F₂-6與‘桃園四號-夏雪’、‘Cora Cascade Polka Dot’之性狀。

Table 8.2. Characteristics of double-flowered and trailing periwinkle TY4 × CCP F₂-6, and its parents ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’ and ‘Cora Cascade Polka Dot’.

	序號	性狀	等級	TY4×CCP F ₂ -6	等級	桃園四號-夏雪	等級	Cora Cascade Polka Dot
	1	株型	3	水平	1	直立	3	水平
*	2	株高(cm)	3	14.0±2.9	3	19.3±0.6	3	11.4±2.3
*	3	株寬(cm)	7	25.7±3.6	3	18.3±3.8	7	27.4±8.2
*	4	花青素呈色	3	弱	1	無或極弱	1	無或極弱
	5	一次分枝數	3	5.1±1.5	3	3.7±1.1	5	6.4±0.8
	6	二次分枝數	3	2.5±1.1	3	2.3±1.1	3	2.6±1.0
+*	7	葉形	3	橢圓形	3	橢圓形	3	橢圓形
*	8	葉身長(cm)	3	5.6±0.4	3	4.6±0.3	3	4.5±0.9
*	9	葉身寬(cm)	3	2.3±0.3	3	2.2±0.2	3	2.3±0.5
	10	葉片長寬比	5	2.4±0.3	5	2.1±0.2	5	2.0±0.2
	11	葉身皺縮	9	有	9	有	1	無
	12	葉身皺縮品種-皺縮程度	5	中	5	中		
*	13	葉身斑紋	1	無	1	無	1	無
	14	斑紋呈色						
*	15	葉身綠色程度	5	中	5	中	5	中
	16	葉柄長(cm)	5	1.5±0.2	5	1.1±0.2	3	0.4±0.1
*	17	葉柄正面花青素呈色	3	弱	1	無或極弱	1	無或極弱
*	18	花朵型態	2	重瓣	2	重瓣	1	單瓣
+*	19	花徑(cm)	3	3.0±0.2	3	2.6±0.3	5	3.6±0.4
+*	20	外瓣排列	3	輕微覆蓋	3	輕微覆蓋	3	輕微覆蓋
+*	21	外瓣形狀	1	扇形	1	扇形	1	扇形
+*	22	重瓣花品種內瓣形狀	3	卷曲管狀形	3	卷曲管狀形		
	23	外瓣寬度	5	1.4±0.2	5	1.2±0.1	5	1.6±0.2
	24	重瓣花品種內瓣寬度	5	0.9±0.1	5	0.6±0.1		
*	25	花瓣正面顏色數	1	1	1	1	1	1

+*	26	複色品種斑紋 呈現狀況						
*	27	花瓣正面主要 顏色	1	RHS NN155D	1	RHS NN155D	1	RHS NN155D
*	28	花瓣正面斑紋 顏色						
+*	29	眼圈	9	有	9	有	9	有
*	30	眼圈相對於花 朵大小	3	小	3	小	3	小
*	31	眼圈顏色數	1	1	1	1	1	1
*	32	眼圈邊緣顏色 呈現	1	對比	1	對比	1	對比
*	33	眼圈內側呈色	4	RHS N57A	4	RHS N57A	4	RHS N57A
*	34	眼圈外側呈色						
+*	35	花托筒上緣呈 色					4	RHS61B
*	36	花托筒外側呈 色	1	淺綠	1	淺綠	1	淺綠
	37	花瓣外緣突起	9	有	9	有	9	有
	38	花瓣外緣缺刻	9	有	9	有	9	有
*	39	花柱分合情況	3	合	3	合	3	合
	40	種子繁殖品種 -定植到開花 日數					3	早
	41	其他可供辨識 之特徵及說明						



圖 8.1. 重瓣懸垂型日日春 TY4 × CCP F₂-6 全株照(A)與花序特寫(B)
Fig. 8.1. Whole picture (A) and inflorescence (B) of double-flowered and trailing periwinkle TY4 × CCP F₂-6.

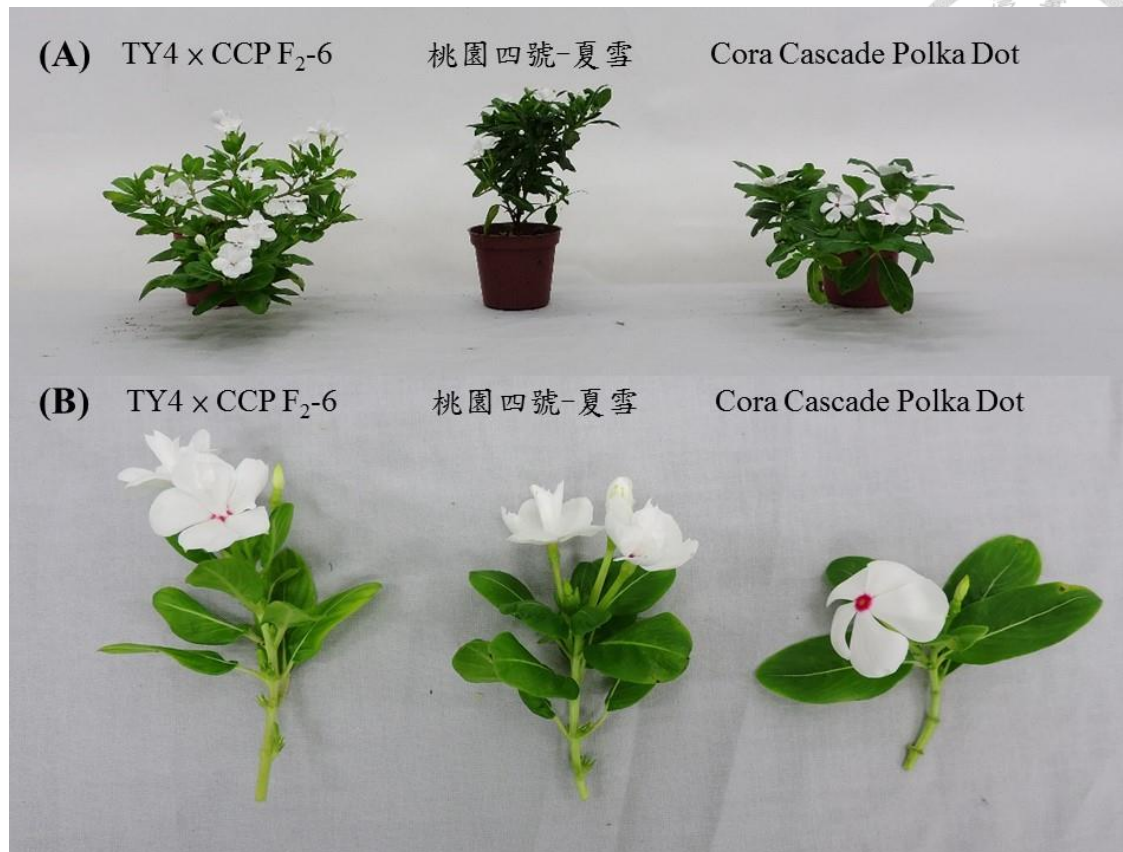


圖 8.2. TY4 × CCP F₂-6、‘桃園四號-夏雪’與‘Cora Cascade Polka Dot’全株照(A)與花序特寫(B)

Fig. 8.2. Whole picture (A) and inflorescence (B) of TY4 × CCP F₂-6, ‘Taoyuan No.4-Summer Snow’, and ‘Cora Cascade Polka Dot’.

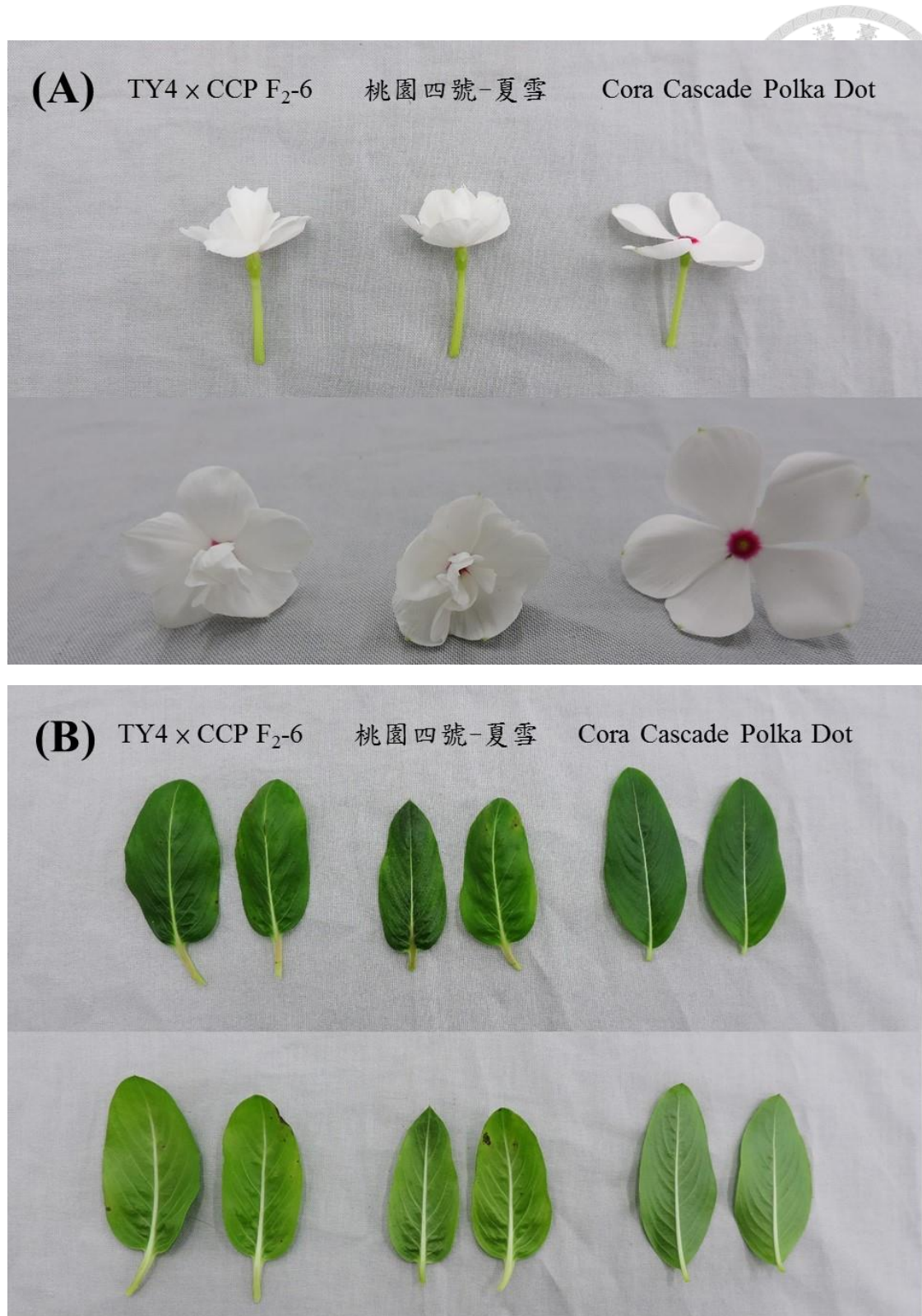


圖 8.3. TY4 × CCP F₂-6、'桃園四號-夏雪'與'Cora Cascade Polka Dot'花朵正面與側面(A)及葉片正面與背面(B)

Fig. 8.3. Front-views and side-views of flowers (A), and front-views and back-views of leaves (B) of TY4 × CCP F₂-6, 'Taoyuan No.4-Summer Snow' and 'Cora Cascade Polka Dot'.

表 8.3. 重瓣懸垂日日春TY1 × CCS F₂-1與‘桃園一號-玫瑰女孩’、‘Cora Cascade Strawberry’之性狀。

Table 8.3. Characteristics of double-flowered and trailing periwinkle TY1 × CCS F₂-1, and its parents ‘Taoyuan No.1-Rose Girl’ and ‘Cora Cascade Strawberry’.

	序號	性狀	等級	TY1×CCS F ₂ -1	等級	桃園一號-玫瑰女孩	等級	Cora Cascade Strawberry
	1	株型	3	水平	1	直立	3	水平
*	2	株高(cm)	3	12.9±2.0	3	16.6±2.5	3	11.1±2.3
*	3	株寬(cm)	7	25.1±5.5	3	16.4±3.2	7	29.3±3.2
*	4	花青素呈色	3	弱	3	弱	1	無或極弱
	5	一次分枝數	3	3.6±0.7	3	2.8±0.6	5	7.3±0.9
	6	二次分枝數	3	1.1±1.0	3	1.8±1.2	3	3.3±1
+	7	葉形	3	橢圓形	3	橢圓形	3	橢圓形
*	8	葉身長(cm)	3	5.6±0.6	3	4.7±0.7	3	5.6±0.5
*	9	葉身寬(cm)	5	2.1±0.4	5	1.8±0.3	5	2.4±0.3
	10	葉片長寬比	5	2.7±0.4	5	2.6±0.3	5	2.4±0.2
	11	葉身皺縮	9	有	9	有	1	無
	12	葉身皺縮品種-皺縮程度	5	中	5	中		
*	13	葉身斑紋	1	無	1	無	1	無
	14	斑紋呈色						
*	15	葉身綠色程度	5	中	5	中	5	中
	16	葉柄長(cm)	3	1.3±0.1	3	1.5±0.3	3	0.5±0.04
*	17	葉柄正面花青素呈色	3	弱	3	弱	1	無或極弱
*	18	花朵型態	2	重瓣	2	重瓣	1	單瓣
+	19	花徑(cm)	3	2.8±0.2	3	2.7±0.2	5	3.5±0.7
+	20	外瓣排列	3	輕微覆蓋	2	輕微覆蓋	3	輕微覆蓋
+	21	外瓣形狀	1	扇形	1	扇形	1	扇形
+	22	重瓣花品種內瓣形狀	3	卷曲管狀形	3	卷曲管狀形		
	23	外瓣寬度	3	1.2±0.2	3	1.0±0.1	5	1.7±0.2
	24	重瓣花品種內瓣寬度	3	0.8±0.2	3	0.6±0.1		
*	25	花瓣正面顏色數	1	1	1	1	1	1

+*	26	複色品種斑紋 呈現狀況						
*	27	花瓣正面主要 顏色	3	RHS65D	4	RHS68B	3	RHS65A
*	28	花瓣正面斑紋 顏色						
+*	29	眼圈	9	有	9	有	9	有
*	30	眼圈相對於花 朵大小	5	中等	3	小	3	小
*	31	眼圈顏色數	2	2	1	1	1	1
*	32	眼圈邊緣顏色 呈現	2	擴散	1	對比	2	擴散
*	33	眼圈內側呈色	4	RHS58B	4	RHS61C	4	RHS61B
*	34	眼圈外側呈色	3	RHS65A			3	RHS65A
+*	35	花托筒上緣呈 色					4	RHS60A
*	36	花托筒外側呈 色	1	淺綠	1	淺綠	1	淺綠
	37	花瓣外緣突起	9	有	9	有	9	有
	38	花瓣外緣缺刻	9	有	9	有	9	有
*	39	花柱分合情況	3	合	3	合	3	合
	40	種子繁殖品種 -定植到開花 日數					3	早
	41	其他可供辨識 之特徵及說明						



圖 8.4. 重瓣懸垂型日日春 TY1 × CCS F₂-1 全株照(A)與花序特寫(B)
Fig. 8.4. Whole picture (A) and inflorescence (B) of double-flowered and trailing periwinkle TY1 × CCS F₂-1.



圖 8.5. TY1 × CCS F₂-1、‘桃園一號-玫瑰女孩’與‘Cora Cascade Strawberry’全株照 (A)與花序特寫(B)

Fig. 8.5. Whole picture (A) and inflorescence (B) of TY1 × CCS F₂-1, ‘Taoyuan No.1-Rose Girl’, and ‘Cora Cascade Strawberry’.

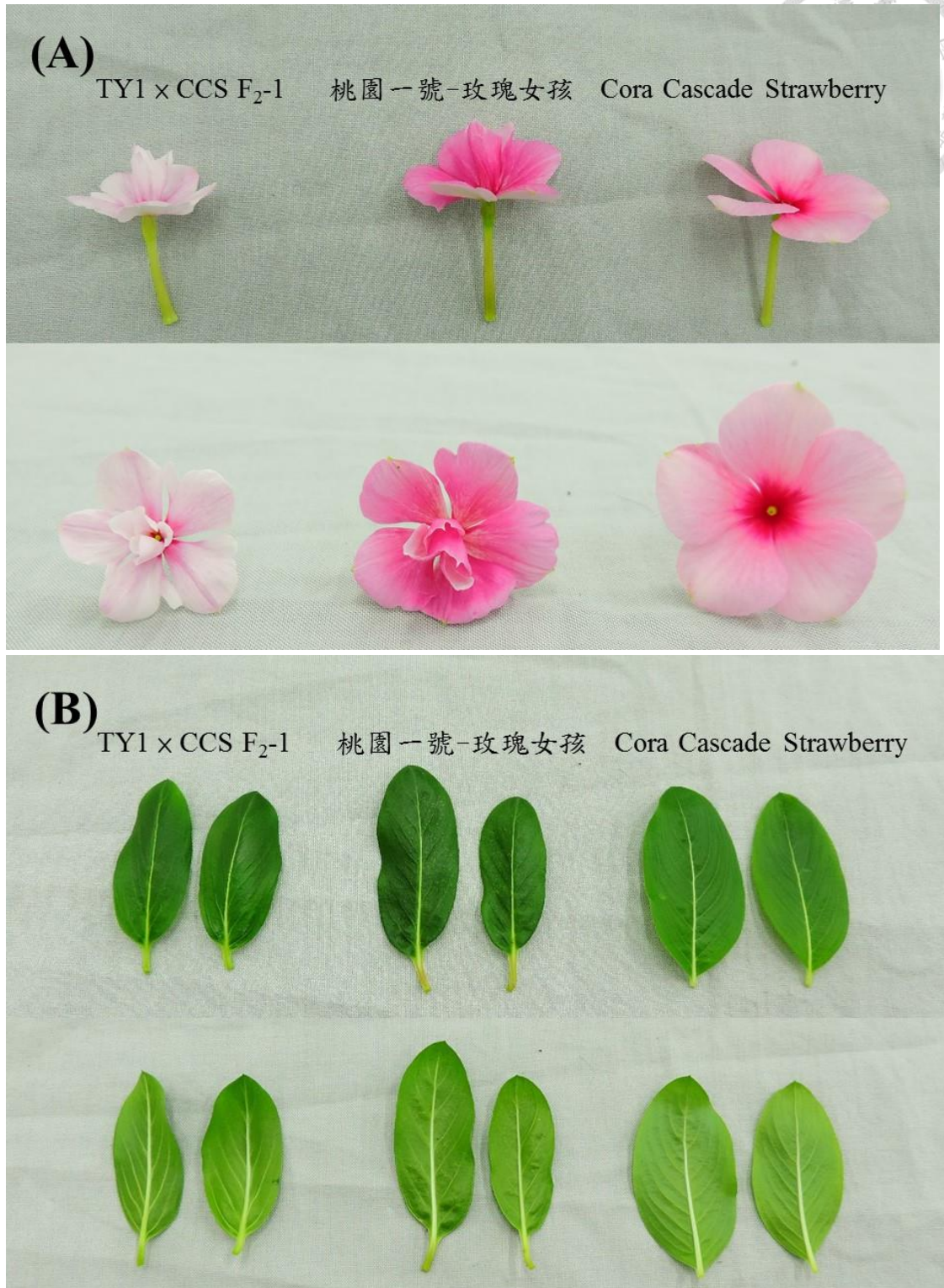


圖 8.6. TY1 × CCS F₂-1、'桃園一號-玫瑰女孩'與'Cora Cascade Polka Dot'花朵正面與側面(A)及葉片正面與背面(B)

Fig. 8.6. Front-views and side-views of flowers(A), and front-views and back-views of leaves (B) of TY1 × CCS F₂-1, 'Taoyuan No. 1-Rose Girl' and 'Cora Cascade Strawberry'.

表 8.4. 重瓣懸垂日日春TY5 × CCM F₂-2與‘桃園五號-紅娘’、‘Cora Cascade Magenta’之性狀。

Table 8.4. Characteristics of double-flowered and trailing periwinkle TY5 × CCM F₂-2, and its parents ‘Taoyuan No.5-Red Lady’ and ‘Cora Cascade Magenta’.

	序號	性狀	等級	TY5×CCM F ₂ -2	等級	桃園五號-紅娘	等級	Cora Cascade Magenta
	1	株型	3	水平	1	直立	3	水平
*	2	株高(cm)	3	14.8±2.3	5	16.6±2.5	3	11.3±1.6
*	3	株寬(cm)	7	28.7±3.9	3	16.4±3.2	7	27.1±3.0
*	4	花青素呈色	3	弱	3	弱	1	無或極弱
	5	一次分枝數	3	4.5±0.8	3	2.8±0.6	5	6.6±1.4
	6	二次分枝數	3	1.8±0.9	3	1.8±1.2	3	3.5±1.2
+*	7	葉形	3	橢圓形	3	橢圓形	3	橢圓形
*	8	葉身長(cm)	5	5.1±0.4	5	4.7±0.7	5	5.7±0.5
*	9	葉身寬(cm)	3	2.0±0.3	3	1.8±0.3	5	2.4±0.2
	10	葉片長寬比	5	2.6±0.3	5	2.6±0.3	5	2.4±0.1
	11	葉身皺縮	9	有	9	有	9	有
	12	葉身皺縮品種-皺縮程度	5	中	5	中	3	弱
*	13	葉身斑紋	1	無	1	無	1	無
	14	斑紋呈色						
*	15	葉身綠色程度	5	中	5	中	5	中
	16	葉柄長(cm)	5	1.1±0.2	5	0.9±0.2	3	0.5±0.1
*	17	葉柄正面花青素呈色	5	中	5	中	1	無或極弱
*	18	花朵型態	2	重瓣	2	重瓣	1	單瓣
+*	19	花徑(cm)	5	3.0±0.2	5	2.7±0.2	5	3.5±0.4
+*	20	外瓣排列	3	輕微覆蓋	3	輕微覆蓋	3	輕微覆蓋
+*	21	外瓣形狀	1	扇形	1	扇形	1	扇形
+*	22	重瓣花品種內瓣形狀	3	卷曲管狀形	3	卷曲管狀形		
	23	外瓣寬度	5	1.1±0.1	5	1.0±0.1	5	1.4±0.2
	24	重瓣花品種內瓣寬度	3	7.0±0.1	3	0.6±0.1		
*	25	花瓣正面顏色數	1	1	1	1	1	1

+*	26	複色品種斑紋 呈現狀況						
*	27	花瓣正面主要 顏色	5	RHS71C	5	RHS71C	5	RHSN74B
*	28	花瓣正面斑紋 顏色						
+*	29	眼圈	9	有	9	有	9	有
*	30	眼圈相對於花 朵大小	3	小	3	小	3	小
*	31	眼圈顏色數	1	1	1	1	1	1
*	32	眼圈邊緣顏色 呈現	1	對比	1	對比	1	對比
*	33	眼圈內側呈色	4	RHS61A	4	RHS61A	4	RHS61A
*	34	眼圈外側呈色						
+*	35	花托筒上緣呈 色					5	RHS61B
*	36	花托筒外側呈 色	1	淺綠	1	淺綠	1	淺綠
	37	花瓣外緣突起	9	有	9	有	9	有
	38	花瓣外緣缺刻	9	有	9	有	9	有
*	39	花柱分合情況	3	合	3	合	3	合
	40	種子繁殖品種 -定植到開花 日數					3	早
	41	其他可供辨識 之特徵及說明						

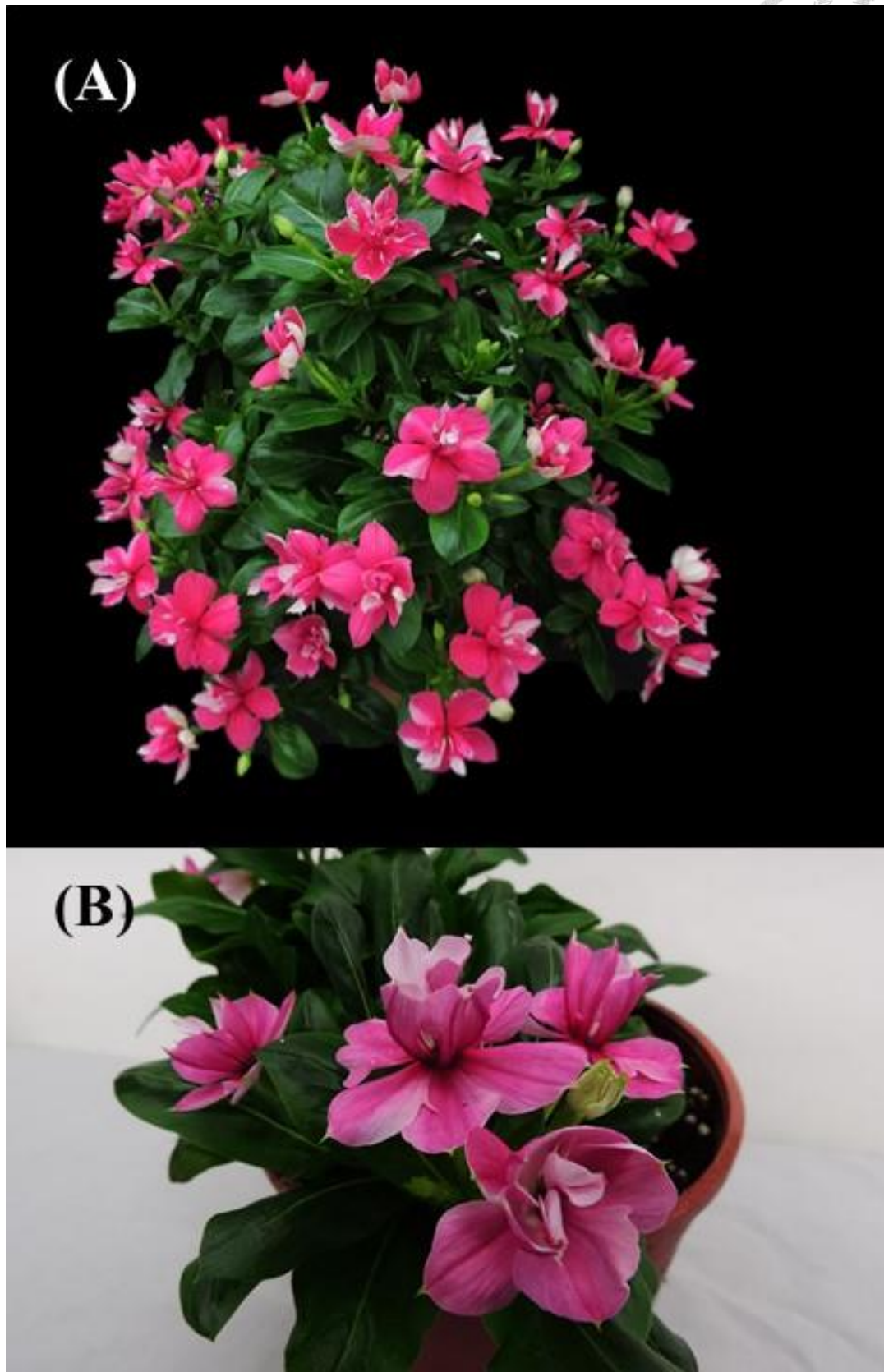


圖 8.7. 重瓣懸垂型日日春 TY5 × CCM F₂-2 全株照(A)與花序特寫(B)
Fig. 8.7. Whole picture (A) and inflorescence (B) of double-flowered and trailing periwinkle TY5 × CCM F₂-2.



圖 8.8. TY5 × CCM F₂-2、'桃園五號-紅娘'與'Cora Cascade Magenta'全株照(A)與花序特寫(B)
 Fig. 8.8. Whole picture (A) and inflorescence (B) of TY5 × CCM F₂-2, 'Taoyuan No.5-Red Lady', and 'Cora Cascade Magenta'.

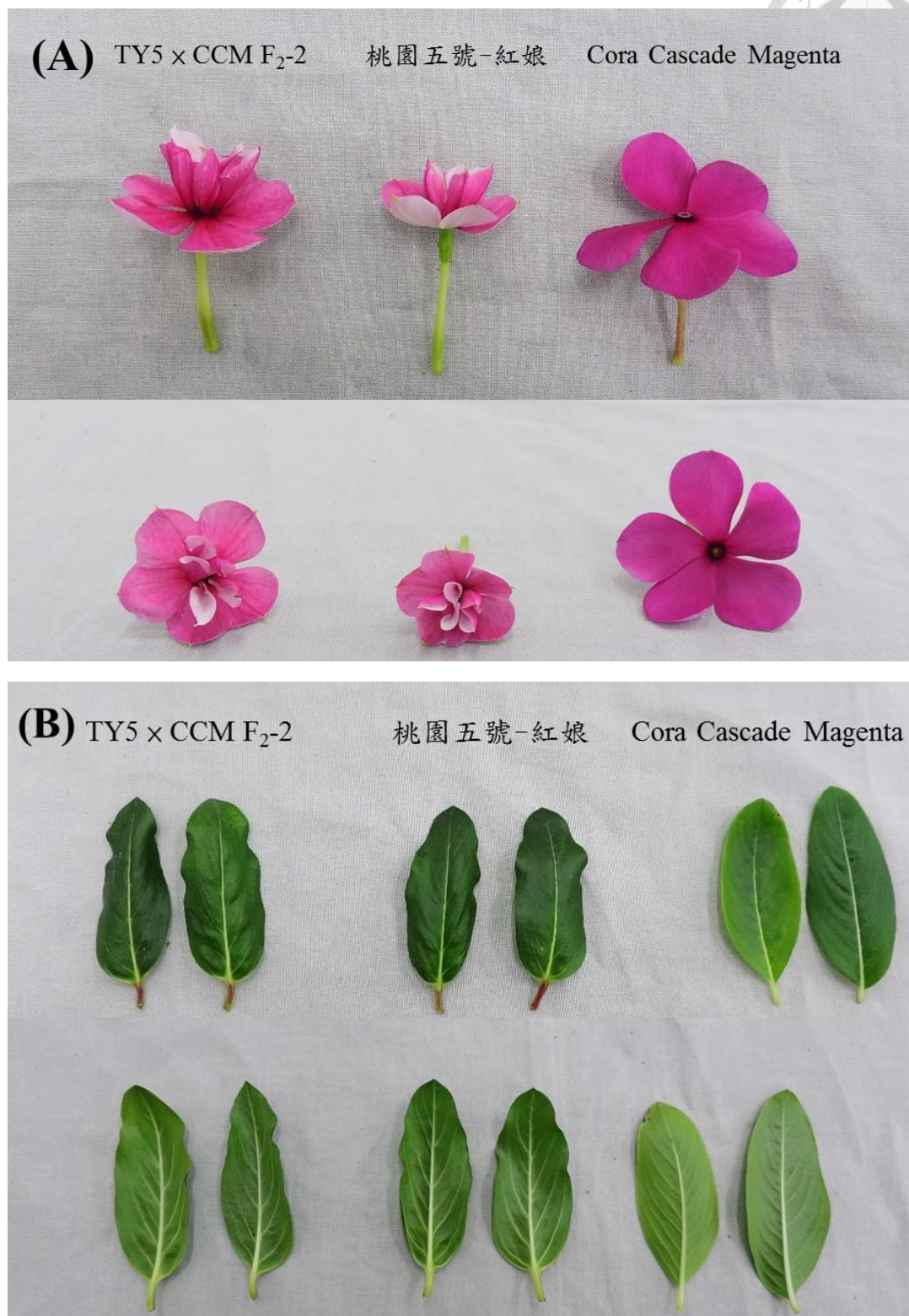


圖 8.9. TY5 × CCM F₂-2、‘桃園五號-紅娘’與‘Cora Cascade Magenta’花朵正面與側面(A)及葉片正面與背面(B)

Fig. 8.9. Front-views and side-views of flowers (A), and front-views and back-views of leaves (B) of TY5 × CCM F₂-2, ‘Taoyuan No.5-Red Lady’ and ‘Cora Cascade Magenta’.



第九章 綜合討論與結論

Chapter 9. General Discussion and Conclusion



日日春 [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] 懸垂性 (trailing) 品種適合做為吊盆栽培，近年來極受消費者喜愛，有 Cora Cascade Series (PanAmerican Seed Co., 1997)、Mediterranean Series (GoldSmith Seeds Co., 2010) 及 Boa Series (Floranova Co., 2009) 等品種 (陳, 2013)。於其他花卉作物中，育種者也常將懸垂或匍匐 (prostrate) 生長性狀導入作物商業品種，以提高觀賞性、可應用性、生長勢及抑制雜草生長等優點 (Mirzaie-Nodoushan et al., 1999)。如矮牽牛、金魚草及彩葉草、舞春花等近年來也推出許多適合做為吊盆栽培的懸垂型品種，可見懸垂型育種目標的重要性。

直立型日日春韌皮纖維屬於次生細胞壁木質素含量低，纖維素含量高之膠質纖維 (gelatinous fiber) (圖 3.3)，且具有反應纖維 (reaction fiber) 特性，於張力側韌皮纖維細胞會增大管徑與增厚細胞壁 (圖 3.4)，提升支持功能，與瓜皮槭 (*Acer rufinerve* Siebold & Zucc.) 張力側韌皮纖維反應相似 (Nakagawa et al., 2012)。懸垂型日日春不具有韌皮纖維，因此支持性較差，枝條易倒伏產生懸垂性狀 (第三章)。


日日春懸垂性狀依 The International Union for the Protection of New Varieties of Plants 以株型外觀認為是不同表現程度之數量性狀，但本研究依解剖性狀判定商業品種之直立型與懸垂型兩株型由一對主效基因所控制，且直立型對於懸垂型為顯性，此基因即為控制韌皮纖維有無之基因，直立型日日春具有韌皮纖維，而懸垂型日日春不具韌皮纖維，但除了韌皮纖維有無 (第四章)，仍有其他微效之因子會影響到株型性外觀狀表現 (第五章)。

莖部組織組成會直接影響株型表現，如藤本植物相較於灌叢植物，莖部組織會有更高比例的輸水組織與較低比例的支持組織，且纖維組織所占比例較低 (Crivellaro et al., 2012)。纖維細胞具有機械支持的功能，而初生纖維細胞主要負責幼嫩組織的支持功能 (Evert, 2006)，無韌皮纖維之懸垂型品種於上盆 25 天主幹彈性係數 (modulus of elasticity, MOE) 較低，因此支持性較差而產生懸垂性狀。於藤本鐵線蓮 (*Clematis maritima* L. 與 *C. vitalba* L.) 莖中纖維比例會隨著枝條次級生長而降低，甚至因樹皮剝離而失去韌皮纖維，使 MOE 下降，失去支持性，形成藤本之形態 (Isnard et al., 2003)。同為懸垂型品種之間，以 'Cora Cascade Strawberry' 比 'Cora

Cascade Polka Dot’枝條更軟更懸垂，具有程度上的差異，而‘Cora Cascade Strawberry’木質部所佔比例也比‘Cora Cascade Polka Dot’低，因此導致 MOE 下降，枝條更易彎曲更懸垂，顯示懸垂性狀主要由韌皮纖維有無決定，然而木質部佔莖部比例會影響到懸垂的程度，是其他影響懸垂性狀的遺傳因子之一(第五章)。

日日春懸垂性狀主要由控制韌皮纖維有無的一對主效基因決定(第四章)，懸垂型日日春無韌皮纖維，但仍可在韌皮纖維分布位置觀察到長條狀纖維始源細胞。纖維發育階段依序為細胞分化、細胞延長、累積次生細胞壁最後可能為細胞計畫性凋亡(Gorshkova et al., 2012)，故推測懸垂型日日春之纖維細胞仍有完成細胞分化與細胞延長，因此能看到長條狀細胞，但是在合成次生細胞壁時期碰到障礙，無法形成細胞壁(第三章)。NAC Secondary wall thickening promoting factor 1 (NST1) 與 Secondary wall - associated nac domain protein (SND1)，兩基因為直接控制次生細胞壁的合成之轉錄因子(Zhong et al., 2007)，且阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana* L.) *nst1/snd1* 雙重突變株之纖維細胞形態與懸垂型日日春之纖維始源細胞相似，因此以 *AtNST1* 與 *AtSND1* 基因 cDNA 序列做為模板，於日日春轉錄體(Verma et al. 2014) 進行序列比對，顯示於日日春僅有一相似的基因序列，暫名為 *CrNST1*，雖然此基因之 CDS (coding DNA sequence) 序列於直立型‘Vitesse Pink’及懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’間並無差異，但於懸垂型‘Cora Cascade Polka Dot’莖部表現量略低，需要進一步確認控制日日春次生細胞壁形成，造成現行商業品種懸垂性狀產生之基因是否為 *CrNST1* 或其他上游基因(第七章)。

日日春為夏季重要花壇與盆花植物(Ball, 1998)，鮮豔多變的花形與花色是重要的選育目標，日日春花色多遵循一對基因之遺傳模式，但各基因間常有交感現象(Kulkarni et al., 2005a; Milo et al., 1985; Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)。本研究指出紫紅色(violet)花瓣對於粉紅色(pink)及白色(white)花瓣為顯性，櫻桃紅(cherry)花瓣對於粉紅色與杏色(apricot)為顯性，粉紅色花瓣對於杏色花瓣與白色花瓣為顯性，而杏色花瓣對於白色花瓣為顯性，控制各顏色之基因皆符合一對基因分離之遺傳模式；深色花瓣對於淺色花瓣為顯性，與前人研究趨勢類似(Kulkarni et al., 2005a; Milo et al., 1985; Simmonds, 1960; Sreevalli et al., 2002)。黃色花冠筒上緣性狀由一對隱性基因控制，與 Sreevalli 等人(2002)觀察之白眼圈性狀類似。中型紅



眼圈性狀相對於小型紅眼圈則由一對顯性基因控制。而花瓣邊緣缺刻且呈波浪狀之特殊花型性狀由一對隱性基因所控制，且與無花柱性狀連鎖，在重瓣性狀表現之遺傳背景下會增強花瓣邊緣缺刻性狀表現，於異結合植株就可觀察到花瓣邊緣缺刻性狀(第六章)。

雄不稔性狀為生產一代商業品種的重要性狀(高，2006)。本研究顯示日日春無花粉雄不稔性狀由一對隱性基因控制，與 Kulkarni 與 Baskaran (2008a)使用甲基磺酸乙酯(ethylmethanesulphonate, EMS)誘變處理種子獲得無花粉雄不稔之日日春品系性狀相似，但 Kulkarni 等人獲得知突變性狀由兩對隱性基因 *ms1* 與 *ms2* 控制，兩基因皆為隱性同質結合時才表現無花粉雄不稔性狀，本研究使用之材料為一代雜交商業品種，顯示此基因可能已應用於商業生產上(第六章)。

日日春長期以來缺乏重瓣品種(National Garden Bureau Inc., 2002)，但於 2010 年首度出現花瓣排列緊密、內圈花瓣寬大美觀具商品價值之重瓣品種桃園系列(陳，2013)，且此性狀由一對隱性基因所控制(Chen et al., 2012)，因此本研究之首要目標為將日日春重瓣性狀導入懸垂型日日春中，增加日日春可利用性，提升商品價值，育成重瓣懸垂型日日春新品種(第八章)。

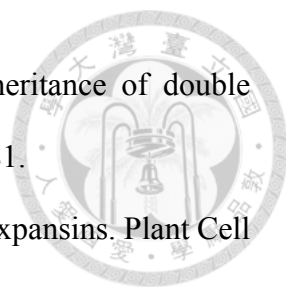
近年來全球暖化，耐熱花卉種類與耐熱品種選育已成為趨勢(Anderson, 2006)，本研究育成重瓣懸垂日日春新品種，並分析多種具商業價值性狀之遺傳模式，如懸垂性、花色、雄不稔性狀與花瓣缺刻之特殊花形，期望未來在日日春育種上能有所參考，使日日春之品種選育更為進步。

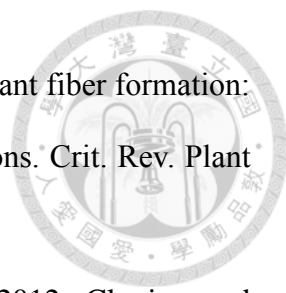


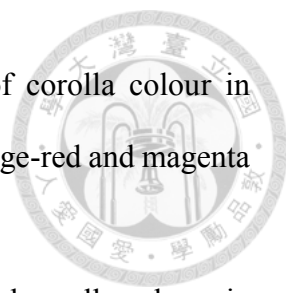
參考文獻(References)

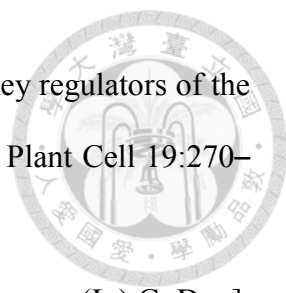


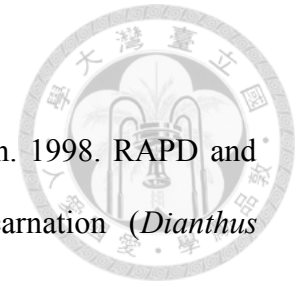
- 呂學義. 2010. 日日春花器構造、花粉活力與微體繁殖再生系統之建立. 國立嘉義大學農學研究所碩士論文.
- 高典林. 2006. 現代作物育種學. 藝軒圖書出版社. 臺灣.
- 郭孟樺. 2012. 夏堇與毛茛蝶草種間雜交胚之拯救與多倍體化. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系碩士論文.
- 陳錦木. 2013. 重瓣日日春之花芽型態、花型遺傳及育種. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系博士論文.
- 陳錦木、李憲明、葉德銘. 2011. 臺灣的花壇植物產業現況與展望, p154-167. 綠色城市與花卉產業國際研討會論文集. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系編印, 臺北, 臺灣.
- 趙靜媛、陳發棣、滕年軍、陳素梅. 2008. 地被菊匍匐性的遺傳分析與 RAPD 標記研究. 中國農業科學 42:734-741.
- 歐陽璋、吳文希. 1998. 臺灣長春花病害之調查. 植物病理學會刊 7:147-149.
- 蔡淑華. 1990. 植物解剖學. 世界書局. 臺灣.
- 蔡淑華. 1992. 植物組織切片技術綱要. 茂昌圖書有限公司. 臺北.
- 盧守耕. 1961. 現代植物育種學. 臺大農學院出版社.
- Anderson, N.O. 2006. Flower breeding and genetics: Issues, challenge and opportunities for the 21st Century. Springer, London.
- Bailey, I.W. 1953. Evolution of the tracheary tissue of land plants. Amer. J. Bot 40:4-8.
- Ball, V. 1998. Ball redbook. 16th ed. Ball Publ, Batavia, III.
- Boke, N.H. 1947. Development of the adult shoot apex and floral initiation in *Vinca rosea* L. Amer. J. Bot. 34:433-439.
- Boke, N.H. 1948. Development of the perianth in *Vinca rosea* L. Amer. J. Bot. 35:413-423.

- 
- Chen, C.M., T.Y. Wei, and D.M. Yeh 2012. Morphology and inheritance of double floweredness in *Catharanthus roseus*. HortScience 47:1679-1681.
- Cosgrove, D.J., L.C. Li, and H.T. Cho. 2002. The growing world of expansins. Plant Cell Physiol. 43: 1436–1444.
- Crivellaro, A., K. McCulloh, F.A. Jones, and B. Lachenbruch. 2012. Anatomy and mechanical and hydraulic needs of woody climbers contrasted with subshrubs on the island of Cyprus. IAWA J. 33:355–373.
- Cosgrove, D.J. 2000. Loosening of plant cell walls by expansins. Nature 407: 321–326.
- Curry, H.A. 2012. Naturalising the exotic and exoticising the Naturalised: Horticulture, natural history and the rosy periwinkle. Environ. History 18:243-365.
- East, E.M. 1933. Genetic observations on the genus *Linaria*. Genetics 18: 324-328.
- Ecker, R., A. Barzilay, and E. Osherenko. 1994. Linkage relationships of genes for leaf morphology and double flowering in *Matthiola incana*. Euphytica 74:133-136.
- Evert, R.F. 2006. Esau's plant anatomy. 3th. ed. John Wiley & Sons, NY, USA.
- Fisher, J.B. and J.W. Stevenson. 1981. Occurrence of reaction wood in branches of dicotyledons and its role in tree architecture. Bot. Gaz. 142:82-95.
- Flory, W.S. 1944. Inheritance studies of flower color in periwinkle. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 44: 525-526.
- Frey-Wyssling, A. 1976. The plant cell wall. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Band 3, Teil 4. Abt. Cytologie, 3rd rev. ed. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Gere, J.M., and S.P. Timoshenko. 1997. Mechanics of materials. Thomson, Boston, MA, USA.
- Goodman A.M., and A.R. Ennos. 1997. The responses of field-grown sunflower and maize to mechanical support. Ann. Bot. 79: 703-711.
- Gorshkova, T., N. Brutch, B. Chabbert, M. Deyholos, T. Hayashi, S.L. Yadun, E.J.


- 
- Mellerowicz, C. Morvan, G. Neutelings, and G. Pilate. 2012. Plant fiber formation: State of the art, recent and expected progress, and open questions. *Crit. Rev. Plant Sci.* 31:201-228.
- Hao H.U., Y. Liu, Y.P. Liu, R.J. Wu, B.G. Hua, Y.N. Wang. 2012. Cloning and expression analysis of *PpNST1* and *PpSND1* genes from *Prunus persica* L. *Plant Physiol. J.* 48: 589-596.
- Innes, R.L., and L.M. Len. 1991. A genetic analysis of self-incompatibility and double flowers in *Potentilla fruticosa* L. *Euphytica* 51:241-248.
- Isnard, S., T. Speck, and N.P. Rowe. 2003. Mechanical architecture and development in *Clematis*: Implications for canalised evolution of growth forms. *Phytologist* 158:543-559.
- Jacobsen A.L., F.W. Ewers, R.B. Pratt, W.A. Paddock III, and S.D. Davis. 2005. Do Xylem Fibers Affect Vessel Cavitation Resistance? *Plant Physiol.* 139:546-556.
- Kato, K., H. Miura, and S. Sawada. 1999. QTL mapping of genes controlling ear emergence time and plant height on chromosome 5A of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 98: 472-477.
- Kartmazova, L.S. 1972. Anatomical investigations on *Catharanthus roseus*. Part 1 The structure of the vegetative organs. *Rastitel'nye resursy* 8:263-274
- Kokubun, H., T. Ando, S. Kohyama, H. Watanabe, T. Tsukamoto, and E. Marchesi. 2002. Variation of several morphological characters of *Petunia axillaris* in Uruguay. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci* 71: 26-39.
- Kulkarni, R.N., K. Baskaran, and N. Suresh. 1999. Inheritance of characters in periwinkle: leaf pubescence and corolla colour. *J. Herbs Spices Med. Plants* 6: 85-88.
- Kulkarni, R.N., and K. Baskaran. 2008a. Inheritance of pollen-less anthers and 'thrum' and 'pin' flowers in periwinkle corolla. *J. Hered.* 99:426-431.

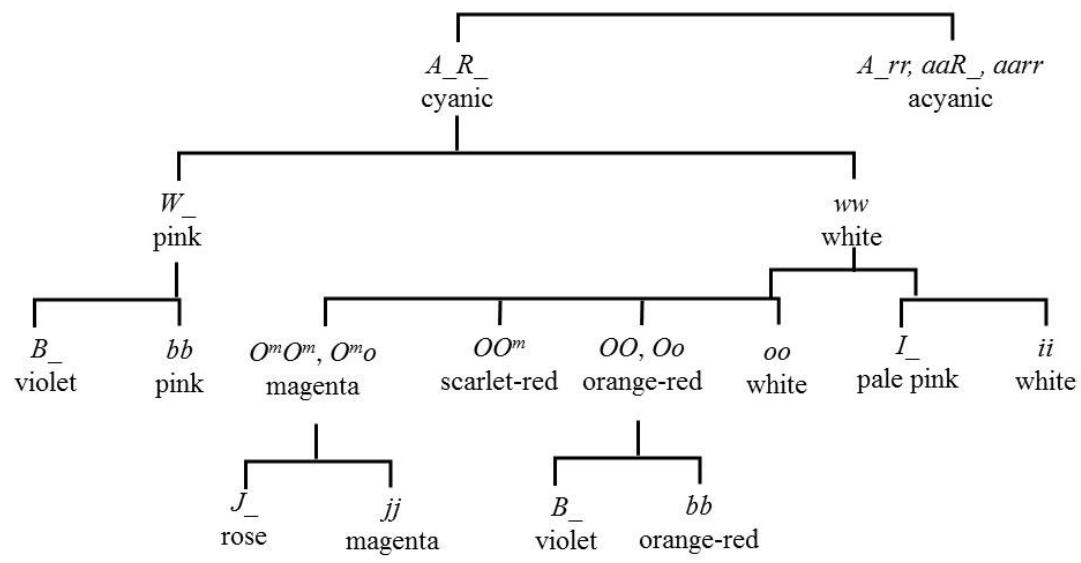
- 
- Kulkarni, R.N., K. Baskaran, and Y. Sreevalli. 2008b. Genetics of corolla colour in periwinkle: Relationship between genes determining violet, orange-red and magenta corolla. *J. Appl. Hort.* 10:20-23.
- Kulkarni, R.N., K. Baskaran, and Y. Sreevalli. 2005. Genetics of novel corolla colours in periwinkle. *Euphytica* 144:101-107.
- Kulkarni, R.N., Y. Sreevalli, K. Baskaran, and S. Kumar. 2005. The mechanism and inheritance of intraflower self-pollination in self-pollinating variant strains of periwinkle. *Plant Breeding* 120:247-250.
- Lahaye, R., L. Civeyrel, T. Speck, and N. Rowe. 2005. Evolution of shrub-like growth forms in the lianoid sub family *Secamoneas* (Apocynaceae S. L.) of Madagascar: Phylogeny, biomechanics and development. *Amer. J. Bot.* 92:1381-1396.
- Levy, A. 1981. *Catharanthus roseus*, p.166-168. In: Halevy, A.H. (ed.).CRC handbook of flowering Vol. II. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Malaviya, D. R., A. K. Roy, P. Kaushal, B. Kumar, and A. Tiwari. 2004. Development and characterization of interspecific hybrids of *Trifolium alexandrinum* × *T. apertum* using embryo rescue. *Plant Breed.* 123:536-542.
- Milo, J., A. Levy, N. Akavia, A. Ashri, and D. Palevitch. 1985. Inheritance of corolla colour and anthocyanin pigments in periwinkle (*Catharanthus roseus* [L.] G. Don). *ZPflanzenzuchtg* 95: 352-360.
- Mirzaie-Nodoushan, H., I.L. Gordon, and W.B. Rumball. 1999. Inheritance of growth habit-related attributes in red clover (*Trifolium pratense* L.). *J. Hered.* 90:550-553.
- Mitsuda, N., M. Seki, K. Shinozaki, and M. O. Takagi. 2005. The NAC transcription factors *NST1* and *NST2* of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence. *Plant Cell* 17:2993–3006.
- Mitsuda, N., A. Iwase, H. Yamamoto, M. Yoshida, M. Seki, K. Shinozaki, and M.O.

- 
- Takagi. 2007. NAC transcription factors, *NST1* and *NST3*, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19:270–280.
- Miyajima, D. 2004. Pollination and seed set in vinca [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 79:771-775.
- Nakagawa, K., A. Yoshinaga, and K. Takabe. 2012. Anatomy and lignin distribution in reaction phloem fibres of several Japanese hardwoods. *Ann. Bot.* 110: 897-904.
- Nanko, H. 1979. Studies on the development cell wall structure of sclerenchymatous elements in the secondary phloem of woody dicotyledons, conifers. Kyoto Univ., Japan. PhD Diss.
- Nguyen, P., K. Quesenberry, and D. Clark. 2008. Genetics of growth habit and development of new coleus [*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd] varieties with trailing habit and bright color. *J. Hered.* 99:573-580.
- 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.
- Pietsch, G.M., W.H. Carlson, R.D. Heins, and J.E. Faust. 1995. The effect of day and night temperature and irradiance on development of *Catharanthus roseus* ‘Grape Cooler’. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:877-881.
- Romberger, J. A., Z. Hejnowicz, and J.F. Hill. 1993. *Plant structure: Function and development: A treatise on anatomy and vegetative development, with special reference to woody plants.* Berlin: Springer-Verlag.
- Rowe, N., S. Isnard, and T. Speck. 2004. Diversity of mechanical architectures in climbing plants: An evolutionary perspective. *J. Plant Growth Regulat.* 23:108-128.
- Saunders, E.R. 1917. Studies in the inheritance of doubleness in flowers. II *Meconopsis*,



- Althaea* and *Dianthus*. *J. Genet.* 6:165-184.
- 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.
- Scurfield, G. 1964. The nature of reaction wood. IX. Anomalous cases of reaction anatomy. *Aust. J. Bot.* 12:173–184.
- Scurfield, G. 1965. The cankers of *Exocarpos cupressiformis* Labill. *Aust. J. Bot.* 13:235–243.
- Serrato, C.M.A. 1990. Contribution to study of marigold (*Tagetes* sp.) flower traits. *Revista Chapingo* 15:121-155.
- Sederoff, R., and H.M. Chang. 1991. Lignin biosynthesis, p. 263–285. In: M. Lewin and I. S. Goldstein (eds.). *Wood structure and composition*. Marcel Dekker, New York.
- Simmonds, N.W. 1960. Flower colour in *Lochnera rosea*. *Heredity* 14: 253-261.
- Sreevalli, Y., R.N. Kulkarni, and K. Baskaran. 2002. Inheritance of flower colour in periwinkle: Orange-red corolla and white eye. *J. Hered.* 93: 55-58.
- Uguru, M.I., and J. O. Uzo. 1991. Segregation pattern of decumbent, climbing and bushy growth habits in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Plant Breed.* 107:173-176
- Van Bergen, M., and Snoeijer. 1996. *Catharanthus* G. Don. The Madagascar periwinkle and related species. *Wagening Agr. Univ. Papers* 96:1-120.
- Verma, M., R. Ghangal, R. Sharma, A.K. Sinha, and M. Jain. 2014. Transcriptome analysis of *Catharanthus roseus* for gene discovery and expression profiling. *Plos One* 9: e103583.
- Wilson, B.F., and R.R. Archer. 1977. Reaction wood: Induction and mechanical action. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28:23-43.
- Yeung, E. 1998. A beginner's guide to the study of plant structure, p. 125-142. In: S. J.

- 
- Karcher, Editor. Tested studies for laboratory teaching. Univ. Calgary. Alberta, Canada.
- Zaho, Q., H. Wang, Y. Yin, Y. Xu, F. Chen, and R.A. Dixon. 2010. Syringyl lignin biosynthesis is directly regulated by a secondary cell wall master switch. PNAS 107:14496-14501.
- Zhu, Q. 1884. Studies on the growth habit of soybean 1. The substantial difference of different habits of soybean and their classification. Soybean Sci. 3:318-326.
- Zhong, R., C. Lee, and Z.H. Ye. 2010. Functional characterization of poplar wood-associated NAC domain transcription factors. Plant Physiol. 152:1044-1055.
- Zhong, R., C. Lee, J. Zhou, R.L. Mcarthy, and Z.H. Ye. 2008. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall Biosynthesis in *Arabidopsis*. Plant Cell 20:2763-2782.
- Zhong, R., E.A. Richardson, and Z.H. Ye. 2007. Two NAC domain transcription factors, *SND1* and *NST1*, function redundantly in regulation of secondary wall synthesis in wall of *Arabidopsis*. Planta 225:1603–1611.
- Zhong, R., T. Demura, and Z.H. Ye. 2006. *SND1*, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. Amer. Soc. Plant Biol. 18:3158–3170.
- Zhou, M.L., J.R. Shao, and Y.X. Tang. 2009. Production and metabolic engineering of terpenoid indole alkaloids in cell cultures of the medicinal plant *Catharanthus G. Don* (Madagascar periwinkle). Biotech. Appl. Biochem. 52:313-323.



附錄 1. 日日春花色基因 $A, R, W, O(O^m/o), I, B$ 與 J 之交感作用與花冠顏色。
 Appendix 1. Corolla colours resulting from interaction between genes A, R, W, O (with O^m/o alleles), I, B and J in periwinkle.

- A, R : cyanic
- W : pink
- O : orange-red
- O^m : magenta
- I : pale pink
- B : violet
- J : rose

(modified from Kulkarni et al., 2005a)

附錄 2. 日日春花色現有之基因型與外表形遺傳模式。

Appendix 2. Genotypes and phenotypes of flower colors in periwinkle according to existing models.

Genotype	Phenotype	Reference
$R_W_$	Pink corolla and red eye	Flory (1944)
R_ww	White corolla and red eye	
$rrww$	White corolla	
$A_R_W_B_$	Violet corolla and violet eye	Simmonds (1960)
$A_R_W_bb$	Pink corolla and red eye	
A_R_wwbb	White corolla and red eye	
aaR_-- , A_rr-- , $aarr--$	White corolla	
R_W_--	Pink corolla and red eye	Milo et al. (1985)
$R_wwI_$	Pale pink corolla and red eye	
R_wwii	White corolla and red eye	
$rr-----$	White corolla	
R_W_--	Pink corolla and red eye	Sreevalli et al.
$R_wwO_$, $rrww O_$	Orange-red corolla and red eye	(2002)
R_wwoo	White corolla and red eye	
$rr----oo$	White corolla	
R_W_----	Pink corolla and red eye	Kulkarni et al.
R_wwOO-- , R_wwOo--	Orange-red corolla and red eye	(2005a)
$R_wwO^mO^mjj$, R_wwO^mojj	Magenta corolla and red eye	
R_wwOO^m--	Scarlet-red corolla and red eye	
$R_wwO^mO^mJj$, R_wwO^moJj	Rose corolla and red eye	
$R_wwooJ_$	White corolla and red eye	
$rr----O^mo$, $rr----O^mO^m$, $rr----$	White corolla	
oo		
$R_W_--B_$, $R_wwO_B_$	Violet corolla and violet eye	Kulkarni et al.
$R_wwO^mO^mjjB_$	Magenta corolla and red eye	(2008b)
$R_wwO^mO^mJ_B_$	Rose corolla and red eye	

(modified from Kulkarni et al., 2005a)