

聖誕紅種間雜交之初探

陸 雅 芬¹⁾ 陳 彥 銘²⁾

關鍵字：聖誕紅、大戟屬物種、花粉管螢光觀察、種間雜交

摘要：本研究針對聖誕紅近緣種如猩猩草、台灣大戟、羽毛花、岩大戟及白雪木等大戟屬物種其開花生理及花粉活力進行調查，並與聖誕紅進行雜交評估進行種間雜交可能性及釐清造成雜交障礙之可能因素。試驗調查大戟屬原生物種自然花期，結果顯示猩猩草為周年開花；台灣大戟花期為3月到10月；羽毛花之花期為11月至隔年4月；岩大戟花期為2月至7月；而白雪木之花期為10月至隔年4月。以上大戟屬原生物種花粉培養於Brewbaker和Kwack(1963)培養基中，其最適蔗糖濃度範圍為15%~20%，花粉發芽適宜溫度為25°C。聖誕紅與花期相近之羽毛花進行雜交，並無法獲得成熟種子。經花粉管螢光顯微鏡觀察，羽毛花之花粉管能順利抵達聖誕紅胚珠，顯示聖誕紅種間雜交障礙非合子前障礙所造成。

前 言

聖誕紅(*Euphorbia pulcherrima* Willd.ex Klotzsch.)為大戟科(Euphorbiaceae)大戟屬(*Euphorbia*)之花卉作物，苞葉具有亮麗花色深受消費者喜愛。聖誕紅主要消費市場為歐洲及美國(Taylor *et al.*, 2011; <http://www.nass.usda.gov/>, 2014)，台灣聖誕紅盆花之年產量達130萬盆以上，產值約2億元新台幣(鄭，2009)。由於多數栽培品種由國外引進，需支付高額品種權費，不僅產業發展受制他國，且進口品種也並非完全適應本土氣候條件，故於台灣進行聖誕紅新品種之選育有其必要性。

由於聖誕紅商業育種方式多採用種內雜交(楊，1998)與誘變育種(Kleffel *et al.*, 1986)，為創造新型態聖誕紅新品種，美國Ecke公司2003年首度以*E. cornstra*作為親本進行種間雜交，育成聖誕紅種間雜交新品種Eckespoint ‘Dulce Rosa’TM，開啟聖誕紅育種之新紀元(Ecke *et al.*, 2004)。因此本篇研究主旨於將聖誕紅育種親源擴增至相關大戟屬近緣種，並針對收

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。

集之大戟屬物種進行育種所需之基礎相關研究，及探討進行聖誕紅種間雜交時雜交障礙發生之可能原因。

材料與方法

一、植物材料

試驗材料使用大戟屬物種如台灣原生物種之台灣大戟(*E. formosana*; 張等, 2006a) 及岩大戟(*E. jolkinii* Boiss; 張等, 2006b)。國外原生物種猩猩草(*E. cyathophora*; 張等, 2006b)、羽毛花-Orange(*E. fulgens*; 章, 2004)與白雪木(*E. leucocephala*; Bailey, 2006)。以及由中興大學朱建鏞教授所育成之商業品種聖誕紅'月光' (<http://newplant.afa.gov.tw/>, 2015)、'紅輝' (<http://newplant.afa.gov.tw/>, 2015)及'閃亮之星'(93 農-4.2.1-技-a1(2), 2004)。

二、自然花期調查

自西元 2013 年 7 月至西元 2014 年 6 月於台中霧峰試驗農場(海拔 50 公尺; 24°04'43.9"N 120°43'19.7"E)自然環境下調查大戟屬試驗材料之自然花期。花期調查以該物種大戟花序總苞抽出雄蕊為始期，全株大戟花序停止分化及小花脫落為終期。

三、花粉活力測定

試驗方法參考楊(1998)方法檢測試驗材料花粉活力。花粉活力測定培養基以 Brewbaker 和 Kwack (1963)為基本配方，培養基每公升含有 0.3 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、0.1 g H_3BO_3 、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 及 0.1 g KNO_3 ，另添加 0、5、10、15、20、25、30 及 35% 之蔗糖，並將培養基 pH 值調整至 6.0。花粉培養將採取當日花藥開放之新鮮花粉，以具培養基之雙凹槽載玻片作為載具進行培養。花粉發芽培養環境於黑暗環境之加濕保鮮盒中進行培養，培養溫度為室溫(25°C)之恆溫箱(RI80, Firstek Scientific, Taiwan)。10 小時後於光學顯微鏡(ZEISS HBO 50/AC, Zeiss Axiolab, Germany)下進行觀察，當花粉管長度超過花粉直徑兩倍即視為發芽，即可進行花粉發芽率計算並進行拍照。試驗每處理調查 200 粒花粉，每處理 3 重複。溫度試驗以該物種最適蔗糖濃度，分別培養於 15°C、20°C、25°C、30°C、35°C 及 40°C 人工梯度氣候生長箱(TG-5, Temperature Gradient Incubator, Firstek Scientific Co., Ltd, Taiwan)，培養條件亦同上述。

四、雜交授粉

自西元 2014 年 11 月至西元 2015 年 4 月分別於國立中興大學霧峰區園藝試驗場防雨網室內以人工搭設之授粉網室(網目為 1.0 mm)，及國立中興大學花卉室網室之人工氣候生長箱中(恆溫 21°C 光週期 8 小時)進行授粉。育種親本使用聖誕紅商業品種'月光'、'紅輝'和'閃亮之星'與大戟屬原生物種羽毛花(橘)進行雜交。授粉方法以鑷子夾取父本花粉，輕授於母本柱頭。試驗結果於授粉 4 週後調查著果率、並持續記錄後續收穫種子數及種子發芽率。

五、體內花粉管螢光觀察

大戟花序總苞柱頭伸出至完全開放反捲，授予異種花粉後 1、3、5 天進行採樣(授粉當日為授粉後 0 天)，將柱頭取下浸置於 F.A.A. 固定液【Formalin-acetic acid-alcohol, 福馬林：醋酸：50% 酒精 = 1:1:18 (v:v:v)】，固定 24 小時後以 50% 酒精淋洗三次，每次 10 分鐘。爾後以浸置於 1 N NaOH 溶液中於 60°C 下進行軟化至組織呈黃橙色。軟化後樣品以蒸餾水清洗。清洗後樣品靜置於含 0.2 g L⁻¹ 苯胺藍之 0.1 N 磷酸鉀(K₃PO₄)溶液，進行染色 6 小時以上。染色完全之樣品置在載玻片上以蓋玻片平均施力壓平(Kho and Baer, 1968)，並利用螢光顯微鏡(ZEISS HBO 50/AC, Zeiss Axiolab, Germany)觀察柱頭體內花粉管發芽與生長情況，並拍照記錄。

結 果

結果指出大戟屬原生物種如猩猩草(*E. cyathophora*)花期為全年開花；台灣大戟(*E. formosana*)之花期為 3 月至 10 月；羽毛花(*E. fulgens*)花期為 11 月至隔年 4 月；岩大戟(*E. jolkini*)之花期為 1 月至 7 月；而白雪木(*E. leucocephala*)則為 10 月至隔年 4 月(表 1)。

表 1. 大戟屬原生物種與聖誕紅商業品種之自然花期調查^z。

Table 1. Anthesis of *E.* endemic species and Poinsettia commercial cultivars.

| 試驗材料 Materials | 月份 Month ^y | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|-----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| 大戟屬原生物種(Endemic species) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 猩猩草 <i>E. cyathophora</i> | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| 台灣大戟 <i>E. formosana</i> | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | |
| 羽毛花 <i>E. fulgens</i> | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | ■ | ■ |
| 岩大戟 <i>E. jolkini</i> | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | |
| 白雪木 <i>E. leucocephala</i> | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | ■ | ■ | ■ |

^z: 調查期間自西元 2013 年 7 月起至 2014 年 6 月。

^y: 深色標註為花期。

大戟科原生物種花粉培養於不同蔗糖濃度條件下(圖 1),以岩大戟具最高花粉發芽率,可達 96%,其次分別為台灣大戟(89.5%)、白雪木(45%)、羽毛花(31%)及猩猩草(2.2%),最適蔗糖濃度分別為 20%、20%、15%、20%及 15%。岩大戟花粉培養於其他不同蔗糖濃度如 5%、10%、15%、25%、30%與 35%,其發芽率為 4.5%、48%、92%、92%、36%及 29%,於無含糖之培養基則花粉無法發芽。台灣大戟花粉培養於不同蔗糖濃度如 5%、10%、15%、25%與 30%時,其發芽率分別為 18%、67%、86%、58%及 25%,於無含糖與蔗糖濃度 40%之培養基則花粉僅有 1%發芽。白雪木於不同蔗糖濃度如無糖、5%、10%、20%、25%與 30%之培養基培養,其花粉發芽率各為 3%、7%、33%、36%、16%、及 2%,當蔗糖濃度為 35%時則花粉無法發芽。羽毛花花粉培養於不同蔗糖濃度如 5%、10%、15%、25%、30%和 35%之培養基,其發芽率分別為 0.5%、4%、15%、31%、16%及 5%,於無含糖之培養基則花粉無法發芽。猩猩草花粉僅於蔗糖濃度 20%時花粉發芽率為 0.5%,其餘蔗糖濃度之培養基其花粉均無法萌發。

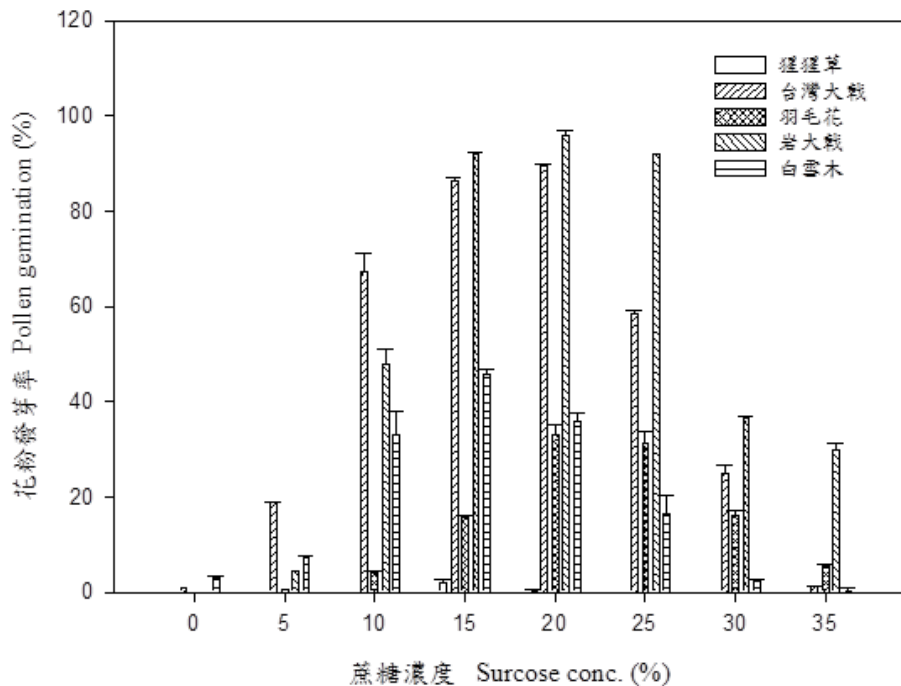


圖 1. 蔗糖濃度對大戟屬物種花粉發芽率之影響。

Fig. 1. Effect of different sucrose concentration on the pollen germination of *Euphorbia* endemic species.

根據上述蔗糖濃度試驗結果，針對試驗植物材料挑選最適蔗糖濃度配合不同人工控制溫度進行花粉培養以瞭解環境溫度對花粉發芽率之影響。大戟屬物種如岩大戟培養於最適蔗糖濃度 20% 之花粉培養基，培養溫度為 25°C 具最高花粉發芽率為 93.3%。於培養溫度 15°C、20°C、30°C、35°C 及 40°C，其花粉發芽率分別為 76%、87%、89%、50% 和 16%。台灣大戟培養於最適蔗糖濃度 20% 之花粉培養基，培養溫度 30°C 時具最高花粉發芽率 89%。於培養溫度 15°C、20°C、25°C、35°C 及 40°C，花粉發芽率各為 15%、64%、87%、80% 及 4.8%。白雪木培養於最適蔗糖濃度 15% 之花粉培養基，培養溫度為 25°C 具最高花粉發芽率為 39%。於培養溫度 30°C 及 35°C，花粉發芽率分別為 13% 和 3.1%，當環境溫度為 15°C、20°C 與 40°C 時，花粉萌發率極低小於 1%。羽毛花於最適蔗糖濃度 20% 花粉培養基進行培養，培養溫度為 25°C 具最高花粉發芽率為 31%。於培養溫度 15°C、20°C、30°C、35°C 和 40°C，其花粉發芽率分別為 25%、29%、14%、6% 及 0.3%。猩猩草培養於最適蔗糖濃度 15% 之花粉培養基，培養溫度於 25°C 具最高花粉發芽率為 1.8%。其餘培養溫度 30°C 和 20°C，其花粉發芽率分別為 0.3% 和 0.1%。當培養溫度為 15°C、35°C 及 40°C 時，花粉萌發率皆低於 1% (圖 2)。

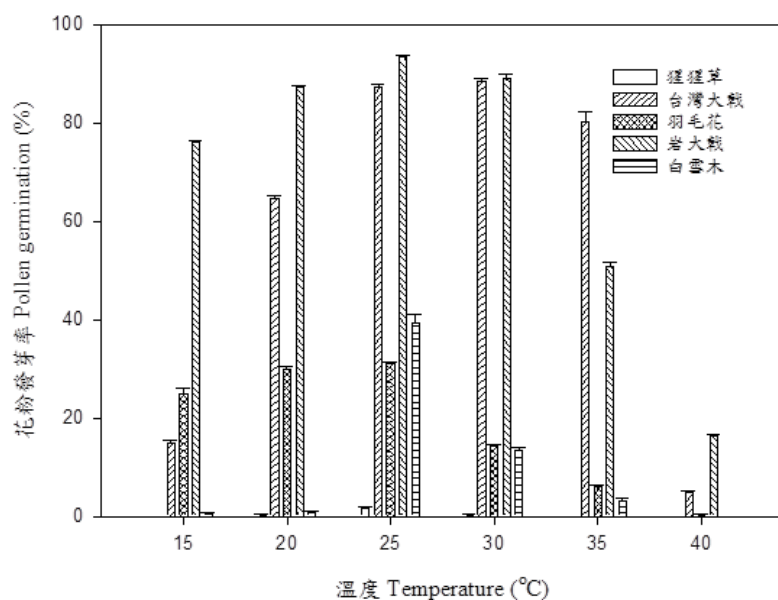


圖 2. 不同培養溫度對大戟屬物種花粉發芽率之影響。

Fig. 2. Effect of different culture temperature on the pollen germination of *Euphorbia* species.

種間雜交試驗以聖誕紅商業品種與羽毛花進行雜交。結果顯示以聖誕紅'月光'× 羽毛花之雜交組合具最高蒴果膨大率 39.4%，其次為聖誕紅'紅輝'× 羽毛花之雜交組合，蒴果膨大率為 9.4%；聖誕紅'閃亮之星'× 羽毛花於授粉後四週調查時蒴果全數掉落。此外於著果成功之雜交組合內，採收成熟果莢後發現無成熟種子存在(表 2)。

表 2. 不同雜交組合對聖誕紅種間雜交獲種率之影響。

Table 2. The efficiency of progeny production among different cross combinations between *Euphorbia* species and *E. pulcherrima*.

| 雜交組合 Cross combinations | 授粉數 Pollinated flowers (No.) | 蒴果膨大率 ^z Enlarged capsule ratio (%) | 成熟種子數 Mature seeds (No.) |
|----------------------------|---------------------------------------|--|-----------------------------------|
| '月光' × 羽毛花(橘) | 193 | 39.4 (76/193) | 0 |
| '紅輝' × 羽毛花(橘) | 192 | 9.4 (18/192) | 0 |
| '閃亮之星' × 羽毛花(橘) | 44 | 0.0 (0/44) | 0 |

^z: 授粉後 4 週調查蒴果飽滿之數目。

由於雜交後可觀察到蒴果膨大之現象，卻無法獲得成熟種子，為了解授粉後雜交障礙之原因，因此以聖誕紅'月光'為母本與羽毛花為父本進行雜交，觀察體內花粉管生長情況。試驗結果觀察到羽毛花花粉於授粉後 1 天附著於柱頭上並未萌發(圖 3A)，需至授粉後 3 天可見少量花粉管深入花柱(圖 3B)，而授粉後 5 天花粉管已伸長進入子房部位並抵達胚珠(圖 3C、D)，顯示聖誕紅與羽毛花不具合子前障礙。

討 論

多數植物開花時受到光週期所影響，因此以臨界日長(最高開花率 50%之日照時間)為基準，藉由植物於不同光週期之開花比例，臨界日照之長短，藉以判斷植物之生殖反應為長日、短日或日長中性植物(黃，1996)。本研究於台中霧峰區調查大戟屬物種自然花期，以花期與生育習性推測岩大戟與台灣大戟為相對性長日植物，而猩猩草為日長中性植物。另外國外之大戟屬物種白雪木與羽毛花之自然花期於 10 月底或 11 月初至隔年三月，其花期與商業聖誕紅相近，推測兩者與聖誕紅相同為短日植物。

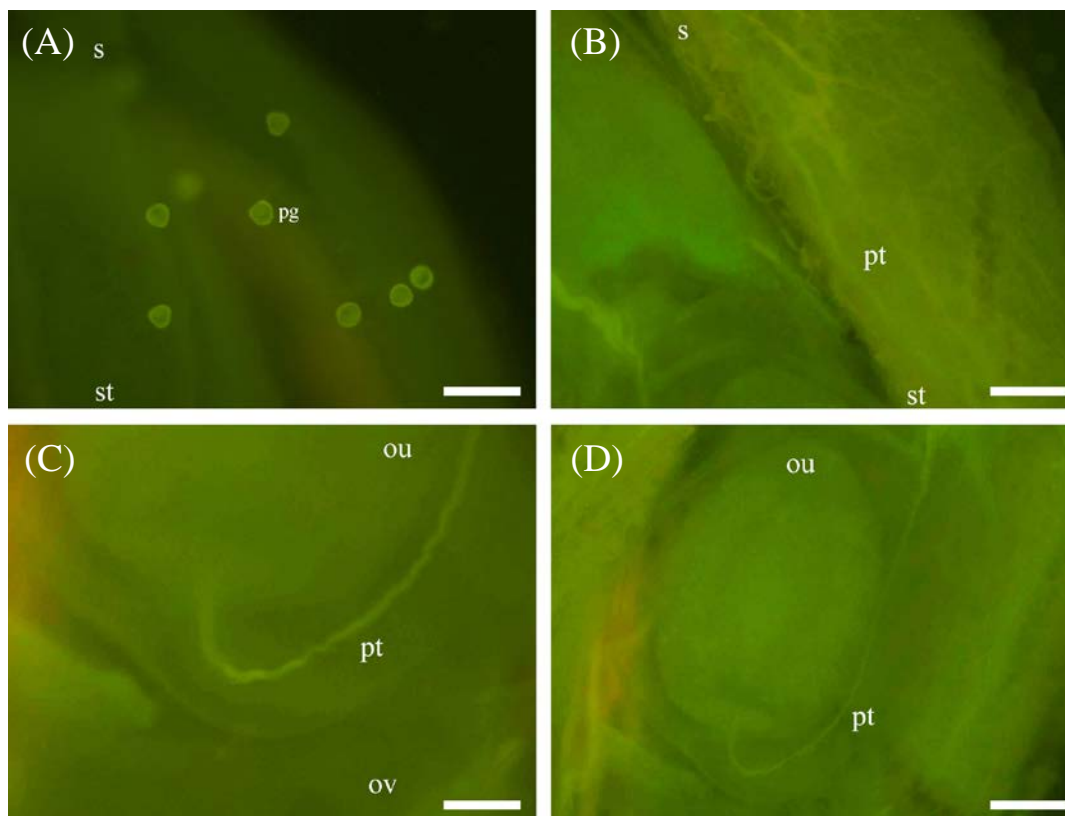


圖 3. 聖誕紅'月光'× 羽毛花之體內(*in vivo*)花粉管螢光觀察。

Fig. 3. Observation of *in vivo* pollen tube among Poinsettia 'Moon Light' × *E. fulgens* by fluorescence microscope.

(A)授粉後第 1 天花粉附著於柱頭。(B)授粉後第 3 天花粉管伸長，進入花柱。(C&D)授粉後第 5 天花粉管進入胚珠。ov：子房；ou：胚珠；pg：花粉粒；pt：花粉管；s：柱頭；st：花柱。Bar=(A-C)100 μm, (D)150 μm。

花粉培養基添加蔗糖除供應花粉管生長所需養分外，亦扮演調節滲透壓之關鍵角色。過高或過低之蔗糖濃度皆不利於花粉管生長，可能產生花粉粒與花粉管破裂等現象 (Adhikari and Campbell, 1998)。本研究調查大戟屬原生物種，結果指出羽毛花、台灣大戟及岩大戟之最適蔗糖濃度為 20%，猩猩草與白雪木蔗糖最合適之濃度為 15%(圖 1)。此外亦觀察到大戟屬物種花粉培養於蔗糖濃度過低培養基情況下會導致花粉細胞質滲漏，而蔗糖濃度過高時花粉管則無法伸長。花粉體外培養之最適蔗糖濃度則隨著植物物種而不同，如長壽花(侯，2003)及飛燕草屬物種 5% (Honda *et al.*, 2002)，高山紅景天為 10% (金等，

2007)，清水山石竹為 20% (褚，2012)、朱槿為 28% (丁，2004)，而木槿和木芙蓉則 40% 之蔗糖濃度(李等，2015)。而同為大戟屬物種之麒麟花 *E. milii* 'Olympus'和 *Euphorbia* sp. 'Thornless'之最適蔗糖濃度 10%，而其近緣種 *E. geroldii* 最適蔗糖濃度為 20%(吳，2009)。

培養溫度亦會影響花粉管萌發，過低溫環境會降低花粉及花粉管膜之完整性(Weinbaum, 1984)，而過高溫之環境則會導致花粉管分叉、扭曲或脹破之情況發生(Loupassaki *et al.*, 1997)。目前已被證實花粉於適溫下培養時，其內部酵素活性提高，使得花粉發芽率與花粉管生長速率較佳(Margaret, 1977)。物種最適合花粉萌發的溫度範圍，通常會與開花期間的平均溫度或是原生地溫度相仿(Sedgley and Annells, 1981; Weinbaum *et al.*, 1984)。因此熱帶及亞熱帶作物其花粉萌發與花粉管生長的適溫介於 20-30°C 範圍之間。熱帶作物如觀賞鳳梨(Parson *et al.*, 2002)、木槿與木芙蓉為 25°C (李等，2015)。溫帶作物主要發芽適溫在 15°C 附近，如飛燕草(*Delphinium*)花粉萌芽最適溫度為 15°C (Honda *et al.*, 2002)。本試驗結果指出歸化物種猩猩草於 25°C 時，具最高之花粉發芽能力 2%，其主要分布在臺灣西半部平地與低海拔山區，周年生長環境均溫約為 25.1°C (<http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>, 2014)，且該物種原生地位在墨西哥東部，年均溫約 22-26°C (Améndola *et al.*, 2006)，故最適花粉發芽溫度與台灣歸化地區及原生地氣溫具相關性。岩大戟於 25°C 時有最佳花粉發芽能力(93.3%)，廣泛分佈於北部濱海地區及海拔 1000 公尺山區，花期為春季至夏季(3-7 月)(張等，2006b)，調查其花期平均溫度約 23.7°C (<http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>, 2014)；此外台灣大戟於 30°C 培養具最高花粉發芽能力為 89%，其分佈地(低海拔 500 公尺以下之山區與平地)及開花季節(3-10 月)(張等，2006b)，花期平均溫度約為 25.7°C (<http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>, 2014)。此外國外原生物種羽毛花於 25°C 具最高花粉活力(31%)。由於原生墨西哥近美國地區，花期為冬季(章，2004)，於試驗期間其調查於台中地區花期均溫約為 21.6°C；白雪木之花粉活力在 25°C 培養時可達最高花粉發芽能力(39%)。其原生於墨西哥或薩爾瓦多(El Salvador)，花期為冬季，於試驗期間台中地區花期平均溫度約 20.9°C (<http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>, 2014)。顯示大戟屬物種之生長環境與花粉萌發適溫有所關聯，且部分物種花粉發芽適溫與原生地氣溫具些微差異，推測可能也與環境馴化相關。

進行跨種屬之雜交為將遺傳質較遠之染色體導入需求作物，因此易有雜交不親和與雜種不稔性(hybrid sterility)等障礙，導致雜交成功率低，並因雜交障礙無法獲得後代，依據發生時期多以雙重受精為界分為合子前與合子後障礙(邱和王，2011；Hom, 2002)。合子前障礙常於授粉時發生不親合現象，其主要原因可能親本間花柱親和性不佳(Ascher and Peloquin, 1966)，乃至於不親和之花粉授粉後花柱通道泌液分泌量不足，使得花粉管於發育時無法獲得充足養分，以及花柱組織分泌胼胝質阻擋花粉管生長(Ichimura and Yamamoto 1991；1992；Afkhami-Sarvestani *et al.*, 2012)。本研究以聖誕紅授予異種花粉(羽毛花)，藉由觀察聖誕紅柱頭體內花粉管生長情況，發現羽毛花花粉管能順利萌發，伸入聖誕紅花柱到達胚珠(圖 3)，顯示聖誕紅與羽毛花並無合子前障礙問題，因此推測聖誕紅與羽毛花雜

交未能獲得成熟種子，可能為合子後障礙所造成。合子後障礙為精細胞與卵細胞及極核行雙重受精後，發生胚和胚乳發育異常(Mont *et al.*, 1993)，如胚乳發育畸型造成養份之供應與輸送被影響(Zhou *et al.*, 2013)，進而影響後續胚發育產生停滯現象或種子發芽產生異常如胚無法生長、雜交種子近成熟時胚敗育(Raghavan and Torrey, 1963)、形成胚但無法發芽，抑或是種子雖能發芽但苗期容易死亡(邱與王，2011)。

參 考 文 獻

- 丁川翊。2003。朱槿雜交育種之改進。國立中興大學園藝系碩士論文。95pp。
- 朱建鏞。2004。農業生物國家型計畫-應用生物技術於聖誕紅育種(二)93農-4.2.1-技-a1(2)。農糧署。
- 吳俊瑤。2008。無刺麒麟花雜交育種。國立中興大學園藝系碩士論文。58pp。
- 李玉萍、湯庚國、羅鳳霞。2015。木槿屬 4 種植物花粉活力和雜交親合性研究。南京林業大學學報。39: 183-186。
- 邱金春、王三太。2011。遠緣雜交育種障礙及克服策略。農業試驗所技術服務 85: 19-22。
- 金鑫、許明子、李美善、劉憲虎、張雪蓮。2007。不同蔗糖濃度對高山紅景天花粉發芽率及花粉管生長的影響。29: 37-39。
- 侯宇龍。2003。鵝鸞鼻燈籠草與長壽花之種間雜交育種。國立中興大學園藝系碩士論文。90pp。
- 黃敏展。1996。亞熱帶花卉學總論。中興大學園藝系。台中。367pp。
- 張蕙芬、張碧員、呂勝由、陳一銘、傅蕙苓。2006a。台灣野花 365 天 春夏篇。天下遠見股份有限公司。台北。223pp。
- 張蕙芬、張碧員、呂勝由、陳一銘、傅蕙苓。2006b。台灣野花 365 天 秋冬篇。天下遠見股份有限公司。台北。223pp。
- 章錦瑜。2004。灌木賞花圖鑑。晨星出版有限公司。台北。352pp。
- 楊梨玲。1998。聖誕紅實生育種之研究。國立中興大學園藝系碩士論文。100pp。
- 褚哲維。2012。台灣原生石竹新品種之開發。國立中興大學園藝系碩士論文 67pp。
- 鄭隨和。2009。超有愛心的聖誕紅神仙伴侶-莊瀛正夫婦。桃園區農業專訊。桃園區農業改良場編印。17pp。
- Adhikari, K. N. and C. G. Campbell. 1998. *In vitro* germination and viability of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) pollen. *Euphytica* 102(1): 87-92.
- Afkhami-Sarvestani, R., M. Serek, and T. Winkelmann. 2012. Interspecific crosses within the *Streptocarpus* subgenus *Streptocarpella* and intergeneric crosses between *Streptocarpella* and *Saintpaulia ionantha* genotypes. *Sci. Hort.* 148: 215-222.

- Améndola, R., E. Castillo, and P. A. Martínez. 2006. Country pasture/forage resource profiles Mexico. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 14 pp.
- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin. 1966. Effect of floral aging on the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum*. Amer. J. Bot. 53: 99-102.
- Bailey, C. C. 2006. Plant Profile - Snowflake *Euphorbia*. PBCC Department of Environmental Horticulture. Florida. USA.
- Brewbaker, J. L. and B. H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Am. J. Bot. 50: 859-865.
- Ecke, P. III, J. Williams, A. Higgins, and J.E. Faust. 2004. The Ecke Poinsettia Manual. Ball Publi. Batavia, Illinois.
- Hartley, D. E. 1992. Poinsettias. In: R.A. Larson (ed.). Introduction to floriculture. Academic, San Diego. p. 305-331.
- Honda, K., H. Watanabe, and K. Tsutsui. 2002. Cryopreservation of *delphinium* pollen at -30°C. Euphytica 126(3): 315-320.
- Hom, J. W., B. W. van Ee, J. J. Morawetz, R. Riina, V. W. Steinmann, P. E. Berry, and K. J. Wurdack. 2012. Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). Molecular Phylogenetics Evolution 63(2): 305-326.
- Ichimura, K. and Y. Yamamoto. 1991. Effects of the quantity and composition of stylar canal exudate on *in vitro* and *in vivo* growth of pollen tubes in self-incompatible *Lilium longiflorum*. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 60(1):659-668.
- Ichimura, K. and Y. Yamamoto. 1992. Changes in the amount and composition of stylar canal exudate after self- and cross-pollination in self-incompatible *Lilium longiflorum* Thunb. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 61(3):609-617.
- Kho, Y. O. and J. Baer. 1968. Observing pollen tubes by means of fluorescence. Euphytica 17: 298-302.

- Kleffel, B., F. Walther, and W. Preil. 1986. X-ray-induced mutability in embryogenic suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima*. Nuclear Techniques and *In Vitro* Culture for Plant Improvement. Intl Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 113-120.
- Loupassaki, M., M. Vasilakakis, and I. Androulakis. 1997. Effect of pre-incubation humidity and temperature treatment on the *in vitro* germination of avocado pollen grains. *Euphytica* 94(2): 247-251.
- Margaret, S. 1977. The effect of temperature on floral behavior, pollen tube growth and fruit set in avocado. *J. Hort. Sci.* 52: 135-141.
- Mont, J., M. Iwanaga, G. Orjeda, and K. Watanabe. 1993. Abortion and determination of stages for embryo rescue in crosses between sweet-potato, *Ipomoea batatas* Lam. ($2n=6x=90$) and its wild relative, *I. trifida* (H. B. K) G. Don. ($2n=2x=30$). *Sex Plant Reprod* 6(3): 176-182.
- Parton, E., I. Vervaeke, R. Delen, R. Deroose, and M. De Proft. 2002. Viability and storage of bromeliad pollen. *Euphytica* 125(2): 155-161.
- Piña-Escutia, J. L., L. M. Vázquez-García, and A. M. rzate-Fernández. 2013. Interspecific hybridization between *Tigridia pavonia* and *T. augusta* through ovary slice culture. *Genet. Mol. Res.* 12(1): 15-22.
- Raghavan, V. and J. G. Torrey. 1963. Growth and morphogenesis of globular and older embryos of *Capsella* in culture. *Amer. Jour. Bot.* 50(6): 540-551.
- Sedgley, M. and C. M. Annells. 1981. Flowering and fruit-set response to temperature in the avocado cultivar 'Hass'. *Sci. Hort.* 14: 27-33.
- Taylor, J. M., R. G. Lopez, C. J. Currey, and J. Janick. 2011. The poinsettia: history and transformation. *Chronica Hort.* 51(3): 23-27.
- Weinbaum, S. A., D. E. Parfitt, and V. S. Polito. 1984. Differential cold sensitivity of pollen grain germination in two *Prunus* species. *Euphytica* 33(2): 419-426.
- Zhou, X., M. Gui, D. Zhao, M. Chen, S. Ju, S. Li, Z. Lu, X. Mo, and J. Wang. 2013. Study on reproductive barriers in $4x-2x$ crosses in *Dianthus caryophyllus* L. *Euphytica* 189(3): 471-483.
- <http://newplant.afa.gov.tw/>。2015年6月。植物品種權公告查詢系統。農糧署全球資訊網。
- <http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>。2015年5月。地區年均溫。中央氣象局全球資訊網。
- <http://www.nass.usda.gov/>。June 2014. Floriculture Crops 2013 Summary. U.S. Department of Agriculture.

A Preliminary Study of Interspecific Hybridization of Poinsettia

Ya-Fen Lu ¹⁾ Yen-Ming Chen ²⁾

Key words: *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch, *Euphorbia* species, pollen tube observation by Fluorescence microscope, interspecific hybridization

Summary

The present research aims to investigate the flowering physiology and pollen germination in endemic relatives ex. *E. cyathophora*, *E. formosana*, *E. fulgens*, *E. jolkini*, and *E. leucocephala*. This research also assesses the possibility of hybridization and the factors of cross barriers in the collection of *Euphorbia* species with *E. pulcherrima*. The result of this research shows that the anthesis of *Euphorbia* endemic species is as follows: *E. cyathophora* blossomed all year-round; *E. formosana* blossomed from March to October; *E. fulgens* blossomed from October to April of next year; *E. jolkini* blossomed from February to July; *E. leucocephala* blossomed from October to April of next year. The optimal sucrose concentration in Brewbaker and Kwack (1963) medium for pollen germination of *Euphorbia* species were 15%~20%. Moreover, the optimum temperature for pollen germination of *Euphorbia* species was 25°C. Observation of *in vivo* pollen tube by fluorescence microscope, the pollen tube could enter into ovule when the crosses between *E. pulcherrima* with *E. fulgens*. However, we can't obtained mature seeds. In addition, the poinsettia interspecific hybridization barriers are not caused by the pre-zygotic barrier.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Assistant professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Corresponding author.