



國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝暨景觀學系

博士論文

Department of Horticulture and Landscape Architecture

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

補血草屬植物之低春化需求選育與指標、
開花度積值及親緣關係

Breeding of Low Vernalization-requiring Cultivars/Lines,
Selection Indices, Thermal Time of Flowering, and
Phylogenetic Relationship in *Limonium*

張元聰

Yuan-Tsung Chang

指導教授：楊雯如 博士、葉德銘 博士

Advisor: Wen-Ju Yang, Ph. D.

Der-Ming Yeh, Ph. D.

中華民國 103 年 1 月

Jan., 2014



誌謝(Acknowledgement)

本論文的完成感謝恩師葉德銘老師及楊雯如老師，葉老師的指導使我彌補本身不足之處及做學問的態度，楊老師之指導使我對於表達能力及修辭有所進步，這些都是我學習之前所欠缺的能力，謝謝老師。論文初成，感謝林瑞松老師、沈榮壽老師、郭華仁老師及羅筱鳳老師之指正，研究期間承蒙沈再木老師及林宗賢老師之指導，花卉館李咩老師、張育森老師及張耀乾老師之授業，老師們的教導讓我如沐春風，在此表達由衷謝意。

謝謝工作單位臺南區農業改良場王仕賢場長、林棟樑祕書、楊藹華課長之支持，使我有機會來到學校進修，提昇本職學能。同仁王裕權站長、張錦興先生、王聖善先生、張嵐雁小姐、陳俊仁先生、胡文若小姐、張嘉滿小姐的幫忙，陳世郎先生、鄭錦容小姐、黃英足小姐、王林素真小姐協助田間管理及調查，讓我能順利完成研究，非常感謝。

在校期間謝謝進學、小范、昱均、韶妤、蕙心、群健、葦玲、美蘭、嘉雲、俞葳、子瑄、俊偉、明治、永良及花卉館的學弟妹，特別感謝子耀在撰寫論文期間大力協助，沒有大家的幫忙，我無法完成學業，謝謝大家。

感謝父母及內人盈靜，讓我能無後顧之憂的學習，您們的支持是我前進的動力。

再回到學校學習之後，深刻瞭解園藝科學之廣博，即使過程辛苦，我也甘之如飴，所有的成果均來自於良師益友，讓我有如得到天助的僥倖，謝謝大家讓我學習及感受到的，遠遠超過我所預期，在此致上最深謝忱。



目錄



目錄.....	i
表目錄.....	iii
圖目錄.....	iv
摘要.....	vii
Abstract.....	xi
第一章前言.....	1
第二章前人研究.....	5
一、主要園藝品種.....	5
二、影響補血草屬植物開花之環境因子.....	6
(一)、低溫.....	6
(二)、日長.....	8
(三)、激勃素.....	8
三、補血草屬植物之育種.....	8
(一)、育種障礙.....	9
(二)、育種現況.....	10
四、高溫對植物生長發育之影響.....	11
(一)、植物在高溫下之表現.....	11
(二)、作物耐熱性篩選指標.....	13
五、植物生長發育之溫度三基點及溫度積值.....	14
六、補血草屬植物之分類.....	16
(一)、分類的方法.....	16
(二)、補血草屬植物之傳統分類.....	17
(三)、補血草屬植物之分子標誌親緣分析.....	18
(四)、臺灣原生補血草屬植物之分類.....	18
第三章星辰花早花品種/系選育.....	29
摘要.....	29
Abstract.....	30
前言(Introduction).....	31
材料與方法(Materials and Methods).....	32
試驗一、星辰花早花選種之開花性狀比較試驗.....	33
試驗二、星辰花早花單株選拔品種組培苗之開花性狀比較試驗.....	33
試驗三、星辰花早花品種‘臺南 1 號’之開花性狀比較試驗.....	34
結果(Results).....	34
討論(Discussion).....	36
第四章生理指標測定探討星辰花之耐熱性與開花時間之關係.....	49
摘要.....	49
Abstract.....	50

前言(Introduction).....	51
材料與方法(Materials and Methods).....	54
試驗一、溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片細胞膜熱穩定性、丙二 醛濃度及葉綠素螢光參數之影響.....	54
試驗二、星辰花早花選育品種/系及商業品種耐熱生理指標與其到開花天 數之相關性.....	56
結果(Results).....	57
討論(Discussion).....	61
第五章星辰花之花芽創始及發育之度積值模式.....	81
摘要.....	81
Abstract.....	82
前言(Introduction).....	83
材料與方法(Materials and Methods).....	84
試驗一、建立星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’春化溫度三基點及度積值模式	84
試驗二、建立星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花芽發育溫度三基點及度積值 模式.....	86
結果(Results).....	86
討論(Discussion).....	90
第六章低春化需求之水晶花品種/系選育.....	115
摘要.....	115
Abstract.....	116
前言(Introduction).....	117
材料與方法(Materials and Methods).....	118
結果(Results).....	120
討論(Discussion).....	121
第七章以 ISSR 標誌及形態比較探討臺灣地區補血草屬植物遺傳歧異度.....	131
摘要.....	131
Abstract.....	132
前言(Introduction).....	133
材料與方法(Materials and Methods).....	134
結果(Results).....	137
討論(Discussion).....	138
第八章綜合討論及結論.....	157
附錄.....	166

表目錄

表序	頁碼
表 3.1. 星辰花早花實生苗優良選系與未選拔之原始品種到開花天數、花莖數、花莖長度及第一小花序長度比較.....	39
表 3.2. 定植前溫度處理 4 週對星辰花早花選系與商業品種到開花天數、花莖數及花莖長度之影響.....	42
表 3.3. 定植前溫度處理 4 週對星辰花‘臺南 1 號’和對照品種‘百萬紫’到開花天數、花莖數及花莖長度之影響.....	43
表 4.1. 定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片相對熱傷害、丙二醛濃度、葉綠素螢光參數 Fv/Fm 和 Fo 值之影響.....	70
表 4.2. 定植前溫度(35/30°C 和 20/15°C)處理 30 天對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’地上部及地下部乾重之影響.....	72
表 5.1. 不同溫度及處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉片數之影響.....	96
表 5.2. 不同溫度及處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數之影響.....	102
表 6.1. 定植塑膠布溫室前日夜溫 35/30 或 15/10°C 處理 4 週對水晶花‘臺南 2 號’和商業品種‘黃鑽’到花日數、花莖數及花莖長度之影響.....	123
表 6.2. 定植前溫度處理 4 週對水晶花早花選拔品種/系與商業品種之開花天數、花莖數及花莖長度之影響.....	125
表 7.1. 試驗所用之 23 個不同補血草屬植物品種及其來源.....	141
表 7.2. 補血草屬植物依外形所調查的數量性狀及質量性狀.....	142
表 7.3. 本試驗所使用之 16 條 ISSR 引子及其產生的多型性條帶.....	143

圖目錄



圖序	頁碼
圖 3.1.	星辰花早花選系於 2006 年 4 月在台南農業改良場之田間表現，小圖之左側為早花選種後代、右側為未選拔原種..... 40
圖 3.2.	星辰花早花選系及商業品種之花形及花色..... 41
圖 3.3.	星辰花‘臺南 1 號’(左)與對照品種‘百萬紫’(右)於 2010 年 3 月在臺南改良場塑膠布溫室開花情形..... 44
圖 3.4.	星辰花‘臺南 1 號’之植株形態..... 45
圖 4.1.	水浴溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’栽培於 24°C 下 14 天時葉片相對熱傷害值之影響..... 67
圖 4.2.	定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’於 48°C 水浴 30 分鐘之葉片熱相對傷害值及葉片丙二醛濃度變化之影響..... 68
圖 4.3.	定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片葉綠素螢光 Fv/Fm 及 Fo 值變化之影響..... 69
圖 4.4.	定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C)處理 30 天對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’地上部及地下部外觀之影響..... 71
圖 4.5.	星辰花早花選拔品種/系及商業品種在定植前 35/30°C 處理第 18 天相較處理當天(第 0 天)之葉片相對熱傷害比值、丙二醛濃度比值、葉綠素螢光參數 Fv/Fm 比值及 Fo 比值與定植前日/夜溫 35/30°C 處理 4 週後定植於田間至開花天數之關係..... 73
圖 5.1.	春化溫度(3、7 與 12°C)處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數之影響..... 95
圖 5.2.	不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之影響。Y 軸底線暫以本試驗所得最大花下葉數之倒數決定..... 97
圖 5.3.	度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之關係..... 98
圖 5.4.	不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之影響。Y 軸底線以未經春化植株之花下葉數倒數決定..... 99
圖 5.5.	春化度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之關係 100
圖 5.6.	春化溫度(3、7 與 12°C)處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數之影響..... 101
圖 5.7.	不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之影響。Y 軸底線暫以本試驗所得最大到花芽可見天數之倒數決定..... 103
圖 5.8.	度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之關係..... 104



	頁碼
圖序	
圖 5.9. 不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之影響。Y 軸底線以未經春化植株之到花芽可見天數倒數決定.....	105
圖 5.10. 花芽發育度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之關係.....	106
圖 5.11. 溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花莖長度之影響.....	107
圖 5.12. 星辰花不同花芽發育階段之外觀形態.....	108
圖 5.13. 花芽創始後不同溫度處理對星辰花‘臺南 1 號’花芽發育階段之影響	109
圖 5.14. 花芽創始後不同溫度處理對星辰花‘百萬紫’花芽發育階段之影響	110
圖 5.15. 花芽創始後不同溫處處處理對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花芽發育速率之影響.....	111
圖 5.16. 花芽創始後度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花芽發育階段之關係.....	112
圖 6.1. 水晶花‘臺南 2 號’(右)與商業品種‘黃鑽’(左)於 2010 年 3 月在台南改良場簡易設施內開花情形.....	124
圖 6.2. 水晶花早花選系及商業品種花部形態及花色.....	126
圖 6.3. 水晶花‘臺南 2 號’之植株形態.....	127
圖 7.1. 臺灣原產石菘蓉花粉及柱頭電顯照.....	144
圖 7.2. 臺灣各原產石菘蓉之外形.....	145-147
圖 7.3. 臺灣原生烏芙蓉形態.....	148
圖 7.4. 23 個補血草屬植物種(品種)以不同引子增幅後之 ISSR 電泳圖...	149-151
圖 7.5. 23 個補血草屬植物種(品種)以 ISSR 分子標誌經群集分析之聚樹狀圖.....	152
圖 7.6. 23 個補血草屬植物種(品種)以 ISSR 分子標誌經主成份分析之立體圖.....	153




摘要

本論文旨在選育低春化需求之補血草屬(*Limonium*)品種/系，使其更適合在臺灣平地栽培，採用耐熱性指標比較育成之早花品種和商業品種之差異，以度積值模式建立開花之溫度條件，並探討臺灣不同產地原生種之歧異度。

採用星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill.]‘超群’、‘福神’及‘達摩’等混色系列，以標定早花植株收取種子，將早花植株混合選種，並持續選拔四至五代後，其花期均較原始族群提早 70-80 天左右，顯示早花選種的育種策略有效。所選得之‘臺南 1 號’及商業品種‘百萬紫’以組織培養繁殖，進行開花比較試驗，‘臺南 1 號’經 35/30°C 處理 4 週後，定植於塑膠布溫室之到花天數為 82.7 天，‘百萬紫’為 102.7 天，顯示‘臺南 1 號’之開花需冷性較低，因而早花。選育之‘臺南 1 號’是針對亞熱帶氣候條件下選育的品種，花萼紫色，可在臺灣平地 10 月定植，1 月自然開花，能在價格最好的冬季採收切花供應市場需求。


對栽培於 35/30 及 20/15°C 下的‘臺南 1 號’及‘百萬紫’植株調查葉片細胞膜熱相對傷害值(relative injury, RI)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)濃度及葉綠素螢光值(Fv/Fm、Fo)變化，結果顯示兩品種於 35/30°C 處理之 RI 值較 20/15°C 處理者低。在 35/30°C 處理 6-12 天內，‘臺南 1 號’之 RI 值持續下降，MDA 濃度持續上升至約 64-86 nmol·g⁻¹，12 天後之 RI 值及 MDA 濃度皆維持穩定不再變動。而‘百萬紫’在 35/30°C 處理 6-15 天內，MDA 濃度持續上升至約 154 nmol·g⁻¹，之後 RI 值才穩定降低。兩品種 Fv/Fm 及 Fo 值之表現趨勢類似，品種間以‘百萬紫’Fo 值明顯較高，在 35/30°C 處理之 Fv/Fm 值下降及 Fo 值上升幅度皆以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為高。以選育之早花品系和商業品種為材料，調查定植前處理 35/30°C 當日及第 18 天時之上述耐熱性生理指標，以第 18 天與處理當日之測量值比值與定植至開花之日數進行迴歸分析，較晚開花的品種/系有較高之 RI 值比值、MDA 濃度比值及 Fo 值比值，與較低之 Fv/Fm 值比值。顯示在高溫下測量葉片 RI 值、丙二醛濃度及葉綠素螢光值，可檢測星辰花品種之耐熱性與開花時間。



建立溫度對兩星辰花品種花芽創始及發育之基礎溫度(base temperature, T_b)、最適溫度(optimum temperature, T_{opt})及最大溫度(maximum temperature, T_{max})，並以此三基點建立度積值(thermal time, $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$)。取具 10-15 片葉之植株置於 3-21 $^{\circ}\text{C}$ 分別處理 14-28 天，再移至 24 $^{\circ}\text{C}$ 生長箱環境後，調查花下葉片數及到花芽可見天數。以花下葉片數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，結果顯示‘臺南 1 號’之 T_b 為 -3.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為 12.3 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為 22.1 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘百萬紫’之 T_b 為 -5.2 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為 11.3 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為 24.7 $^{\circ}\text{C}$ 。以到花芽可見天數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，結果顯示‘臺南 1 號’之 T_b 為 -1.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為 12.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為 27.2 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘百萬紫’之 T_b 為 -0.9 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為 10.9 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為 23.4 $^{\circ}\text{C}$ 。‘臺南 1 號’之花芽創始或到可見花芽之速率約在 230 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ 時達到飽和春化反應，而‘百萬紫’在給予之春化處理範圍內尚未飽和，顯示‘臺南 1 號’春化所需度積值較‘百萬紫’少。將花芽已創始之星辰花植株置於 15-36 $^{\circ}\text{C}$ 下，並調查其花芽發育階段。取創始至盛花(第一花穗花朵全數開放)天數之倒數，計算其花芽發育速率，結果顯示‘臺南 1 號’花芽發育 T_b 為 10.7 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘百萬紫’為 10.1 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘臺南 1 號’從花芽創始至盛花之度積值為 373.8 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ ，‘百萬紫’則為 407.2 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ ，顯示‘臺南 1 號’花芽發育速度較‘百萬紫’稍快。所建立模式未來可應用在實際栽培生產時，控制環境溫度以調節春化種苗生產或切花出貨時間。

為選育早花水晶花(*L. hybrids*)品種/系以適合亞熱帶地區栽培，將其與臺灣原生且能週年開花之石菘蓉[*L. sinense* (Girard) Kuntze]雜交，選拔開花品質優良之早花後代和商業品種進行性狀與開花之比較試驗。將具 10-15 片葉之‘臺南 2 號’及‘黃鑽’組培苗於定植前在 15/10 $^{\circ}\text{C}$ 處理 4 週後定植於溫室，結果以‘臺南 2 號’較‘黃鑽’早 10 天開花，花莖亦較長。而定植前 35/30 $^{\circ}\text{C}$ 處理會使‘臺南 2 號’到開花時間較 15/10 $^{\circ}\text{C}$ 處理者晚約 10 天，然‘黃鑽’經高溫處理者至定植 150 天時仍未開花。選育品種‘臺南 2 號’花萼黃色且到開花時間早，適合在亞熱帶氣候條件下生產切花，臺灣平地可在 10 月種植而於冬季價格最好的時候開花，供應市場需求。

收集 13 個不同原生地石菘蓉族群及 4 個不同原生地烏芙蓉[*L. wrightii* (Hance) Kuntze]族群之種子，於同一環境下播種栽培後調查分析。以 ISSR 分子標誌分析結



果顯示，共有 16 條引子、220 個條帶具有多形性，臺灣地區原生石菘蓉可分為四群，分別為馬祖及金門一群，屏東龍坑獨自一群，臺北及基隆嶼為第三群，第四群為本島西岸及鄰近外島族群。外表性狀差異和地理位置之相關性較差，顯示以 ISSR 分析之結果較符合地理位置之遠近。原生於屏東佳樂水及南仁港之烏芙蓉雖花色或外形有些微差異，但外表性狀及 ISSR 分析結果顯示為同一族群，而原生於蘭嶼者花色及形態和原生本島者具有差異，原生於綠島者外形較接近蘭嶼族群，但具有多種花色。

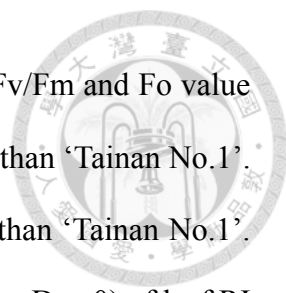


Abstract

The objectives of this study were to select *Limonium* cultivars/lines with low vernalization requirement, which are suitable for lowland production in Taiwan. Heat-tolerance-related physiological indices of early-flowering selected *Limonium* cultivars/lines were compared with commercial cultivars, and cardinal temperatures and thermal times model of flower initiation and development were established. Genetic diversity of Taiwan-native *Limonium* species from different habitats was also analyzed.

Plants of *L. sinuatum* ‘Excellent Mix’, ‘Turbo Mix’, and ‘Fortress Mix’ were used for selection. The early-flowering individual plants were labelled for mass selection. After selection for 4 to 5 generations, the selected plants flowered 70 to 80 days earlier than the parent populations. The selected ‘Tainan No.1’ and the commercial cultivar Million Purple were mass-propagated by tissue culture. After treated at pre-planting temperature of 35/30°C for 4 weeks, the average time from planting to flowering of ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’ were 82.7 and 102.7 days, respectively. Results showed that ‘Tainan No.1’ had lower low temperature requirement and subsequently flowered earlier. ‘Tainan No.1’ has purple calyx and is selected for cut flower production in sub-tropical climates. In the lowland area of Taiwan, ‘Tainan No. 1’ can be planted in October and flowers naturally starting from December with peaked flowering in January and February when the price is high.

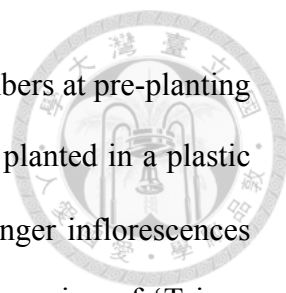
Plants of ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’ were grown under day/night temperature of 35/30°C, and measured for leaf relative injury (RI), malondialdehyde (MDA) concentration, and chlorophyll fluorescence. For both cultivars, leaf RI values were lower in plants at 35/30°C than at 20/15°C. Leaf RI decreased and MDA concentration increased to 64-86 nmol·g⁻¹ in ‘Tainan No.1’ at 35/30°C during 6 to 12 days, and both leaf RI and MDA remained unchanged thereafter. In contrast, leaf MDA increased from 59 to 154 nmol·g⁻¹ in ‘Million Purple’ when treated at 35/30°C from 6



to 15 days, and leaf RI decreased gradually afterwards. Changes of Fv/Fm and Fo value were similar in both cultivars. ‘Million Purple’ had higher Fo values than ‘Tainan No.1’. ‘Million Purple’ exhibited more decreased Fv/Fm and increased Fo than ‘Tainan No.1’. Late flowering cultivars/lines were those with higher ratios (Day 18 vs Day 0) of leaf RI value, MDA concentration, and Fo value, and lower ratio of Fv/Fm value.

The base (T_b), optimum (T_{opt}), and maximum (T_{max}) temperatures were determined and the thermal times required for flower initiation and development were calculated in *Limonium* cultivars ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’. Plants with 10 to 15 leaves were treated under 3 to 21°C for 14 to 28 days, and these plants were then placed to 24°C growth room conditions for further growth. Leaf number below the flower and days to visible flower bud were recorded. Rate of progress to flower initiation was calculated as the reciprocal of leaf number below the flower. The estimated T_b , T_{opt} , and T_{max} were -3.0, 12.3, and 22.1°C in ‘Tainan No.1’, and -5.2, 11.3, and 24.7°C in ‘Million Purple’. Rate of progress to flower bud visibility was calculated as reciprocal of days to visible flower bud. The estimated T_b , T_{opt} , and T_{max} were -1.0, 12.0, and 27.2°C in ‘Tainan No.1’, and -0.9, 10.9, and 23.4°C in ‘Million Purple’. ‘Tainan No.1’ had saturated vernalization response with vernalizing thermal time of ca. 230°Cd, whereas ‘Million Purple’ did not reach saturated response under the conditions constructed. Post-initiation development was studied in plants placed under 15 to 36°C, and floral developmental stage was recorded. The estimated T_b for flower development were 10.7 and 10.1°C in ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’, respectively. The thermal times required from flower initiation to anthesis were estimated as 373.8°Cd in ‘Tainan No.1’, and 407.2°Cd in ‘Million Purple’.

High vernalization-requiring ‘Yellow Diamond’ was crossed with *L. sinense* (Girard) Kuntze, a Taiwan-native species, with year-round flowering characteristics. Tissue cultured plants of selected early-flowering ‘Tainan No.2’ and ‘Yellow Diamond’



were used. Plants with 10-15 leaves were transferred to growth chambers at pre-planting day/night temperatures of 15/10 and 35/30°C for 4 weeks and then planted in a plastic house. Plants of ‘Tainan No.2’ flowered 10 days earlier and had longer inflorescences than ‘Yellow Diamond’ for the 15/10°C pre-planting treatment. Flowering of ‘Tainan No.2’ at 35/30°C was delayed by 10 days compared with those at 15/10°C. In contrast, ‘Yellow Diamond’ plants did not flower after 150 days of cultivation after the 35/30°C treatment. ‘Tainan No.2’ has yellow calyx and is selected for cut flower production in subtropical climates. In the lowland area of Taiwan, ‘Tainan No.2’ can be planted in October and flowers naturally in winter when the price is high.

Seeds of *L. sinense* from 13 habitats and *L. wrightii* (Hance) Kuntze from 4 habitats were collected and grown in Tainan under the same conditions for investigation. Results showed that 16 ISSR primers and 220 induced bands were polymorphic. *Limonium sinense* accessions could be divided into four groups. Group 1 included those from Jinmen and Mazu, and those from Longkeng, Bingdong forms a single group. Group 3 included those from Taipei and Jilong, and Group 4 included those from western seashore and near islands of Taiwan. Relationship between morphological traits and originate habitats was poor. Results showed that ISSR marker could be used for distinguishing Taiwan-native *L. sinense* plants from different habitat. *Limonium wrightii* derived from Nanrengang and Jialeshui, Bingdong were not different based on morphological traits and ISSR marker, despite of slight difference in flower color and other morphologies. Plants derived from Lanyu island, Taidong were different with those from Taiwan island in flower color and other morphologies. Plants derived from Ludao, Taidong were similar to those from Lanyu, but had more flower color variation.



第一章 前言

Chapter 1. Introduction



補血草屬(*Limonium*)植物在園藝上以星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill.]之切花利用為主，星辰花花萼顏色明顯，有藍、紫、黃、白、粉紅及橙色等，且色澤不隨著花謝而褪色，為天然的乾燥花(Whipker and Hammer, 1994)。在臺灣近年的種植面積約 20 公頃，產量約 25 萬把(張等，2004)。現有品種多來自於歐美及日本等冷涼氣候下所育成，開花的春化需求性高(Cohen et al., 1995)，小苗須於人工低溫春化處理或是在七至八月時利用高冷地涼溫培育至花芽出現後，在臺灣平地栽培於十至十一月定植，隔年一至二月開始採收切花。未經春化處理之植株，定植後須經過冬季自然低溫後才會開花，花期延後到隔年三至四月，此時價格較低，不符合栽培成本。因此農民有種植春化苗的需求，無論是人工春化處理或是高冷地育苗，每株價格約在 25-40 元，增加栽培成本。在育種方法中，以混合選種法重複選拔早花植株，使族群表現朝向育種目標進行，如早花性、產量及花色，適合用在異交的補血草屬植物(Tsurushima, 1992)。在以色列改良星辰花之早花性，經過 5 代選拔之植株，其花期可提早 3 個月(Cohen et al., 1995)。因此以混合選種的方式減少星辰花的開花春化需求，希望育成的品種在初冬的天然溫度下就能夠開花，以減少涼溫育苗的成本。

星辰花喜好冷涼氣候，需春化以利開花(Semeniuk and Krizek, 1972; Shillo and Zamski, 1985)。低溫(11-13°C)可促進星辰花花芽創始，而較高溫度促進花芽發育(Shillo, 1976)。高溫不利於補血草屬植物花芽創始，亦是一種環境逆境(沈和李，1982; Shillo, 1976)。植物對高溫的生理異常反應可能導致形態及產量受到影響，因此高溫下生理異常的程度可用以判斷植物的耐熱性(Leong and Ong, 1983)。然而早花品種與其耐熱性之關連，以至於耐熱性生理指標是否可作為苗期早花選種之依據，仍有待研究。因此，本論文取選育之早花品種和國外育成春化需求性高之商業品種為材料，測量高溫環境下之生理指標變化及生物量變化，與到花日數變

化進行迴歸分析，了解早花與耐熱性之關連，此項技術若建立也可做為快速評估新品種/系在高溫下的表現，以做為新品種選育與引種之參考。

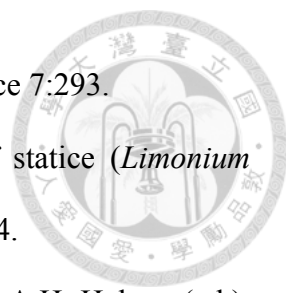
以溫度處理時間對照植物發育速率，可推算特定發育階段之基礎(base temperature, T_b)、最適(optimum temperature, T_{opt})及最高溫度(maximum temperature, T_{max})，並建立度積值(thermal time)模式(Craigon et al., 1990；1995)，此模式可藉由監測環境溫度變化，而預測到達某一生長階段所需之時間，而能根據環境條件來預測收穫時程，已應用在數種花卉作物上(Funnell, 2008；Oh et al., 2009)。為探討早花品種的花期預測，由育成之星辰花早花品種與國外引進春化需求較高之商業品種為研究材料，估算花芽創始及花芽發育所需之度積值，擬以度積值模式詮釋早花品種之開花低春化需求性，並應用到栽培生產曆之預測。

水晶花(*L. hybrids*)由荷蘭引進栽培，為數個原產於中國大陸之原生種雜交改良而得(Harada, 1998)，其春化需求高，在臺灣平地冬季栽培時，即使種植先完成春化處理的植株，開花數量及品質依然未達商業要求。本研究以雜交育種方法試圖導入原生種可四季開花的習性，以降低春化需求，使其可在臺灣平地冬季環境下開花。補血草屬在臺灣有兩個原生種，分別為石薺蓉[*L. sinense* (Girard) Kuntze]及烏芙蓉[*L. wrightii* (Hance) Kuntze]，均具有四季開花之特性。在本地進行早花選種，有機會從後代中獲得適合在亞熱帶地區栽培之低春化需求性品種(Cohen, 1995)。石薺蓉遍佈於臺灣北海岸、中南部沿岸及各外島，烏芙蓉則分佈於恆春半島東岸及蘭嶼綠島(Li, 1998)，各地收集之種原，具形態上差異，開花期也不同，因此將所有材料種植於台南改良場，調查其植物性狀進行主成份分析，並萃取其DNA 進行分子標記分析，以探討其遺傳歧異度。

參考文獻(References)



- 沈碧君、李晔. 1982. 星辰花之生長與開花習性. 中國園藝 28:20-35.
- 張元聰、王裕權、張錦興、王仕賢、林棟樑. 2004. 遮陰處理避免星辰花離春化之研究. 臺南區農業改良場研究彙報 44:59-66.
- Cohen, A., A. Harazy., H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early flowering in blue statice. Acta Hort. 420:118-124.
- Funnell, K.A. 2008. Growing degree-day requirements for scheduling flowering of *Scadoxus multiflorus* subsp. *katharinae* (Baker) Friis & Nordal. HortScience 43:166-169.
- Craigon, J., J.G. Atherton, and E.A. Basher. 1990. Flowering and bolting in carrot. II. Prediction in growth room, glasshouse and field environments. J. Hort. Sci. 65:547-554.
- Craigon, J., J.G. Atherton, and N. Sweet. 1995. Modelling the effects of vernalization on progress to final leaf appearance in winter wheat. J. Agr. Sci. 124:369-377.
- Harada, D. 1998. *Limonium*, p.630-633. In: V. Ball (ed.). Ball RedBook. 16th ed. Ball Publishing, Batavia, IL, USA.
- Leong, S.K. and C.K. Ong. 1983. The influence of temperature and soil water deficit on the development and morphology of peanuts (*Arachis hypogaea* L.). J. Expt. Bot. 34:1551-1561.
- Li, H.L. 1998. Plumbaginaceae, p.79-82. In: T.C. Huang (ed.). Flora of Taiwan. Vol. IV. 2nd. ed. Department of Botany, Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan.
- Oh, W., I.H. Cheon, K.S. Kim, and E.S. Runkle. 2009. Photosynthetic daily light integral influences flowering time and crop characteristics of *Cyclamen persicum*. HortScience 44:341-344.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1972. Long days and cool night temperature increase

- 
- flowering of greenhouse grown *Limonium* cultivars. HortScience 7:293.
- Shillo, R. 1976. Control of flower initiation and development of statice (*Limonium sinuatum*) by temperature and daylength. Acta Hort. 64:197-204.
- Shillo, R. and E. Zamski. 1985. *Limonium sinuatum*, p.292-301. In: A.H. Halevy (ed.). CRC Handbook of Flowering. Vol. III. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Tsurushima, H. 1992. Problems in the production of statice type cut flowers (3). Problems in the breeding of *Limonium* species (2). Agr. Hort. 67:395-400. (in Japanese)
- Whipker, B.E. and P.A. Hammer 1994. Growth and yield characteristics of field-grown *Limonium sinuatum* (L.). HortScience 29:638-640.

第二章 前人研究

Chapter 2. Literature Review



補血草屬(*Limonium*)為藍雪花科(Plumbaginaceae)一年生或多年生草本或小灌木，約有 300 多種(Burchi et al., 2006)，廣泛分佈於世界各地，又以北非及南歐為主。*Limonium* 一詞來自於舊希臘名，原意為草原，以植株多見於海岸荒地而名之(楊，1984)，其中文譯名有很多，如源自中藥名稱之石菘蓉與補血草，臺灣分類書籍多採用石菘蓉(Li, 1998)，而其他華人地區多採用補血草。其他較非正式的名稱，如源自日本名的磯松屬及花卉名的星辰花屬。本論文則採多數華人常用之補血草屬稱之。

本屬外形特徵為主根軸根，少有分叉，深入岩縫或砂地，耐旱性強。莖短縮，葉著生於上且平鋪於地面呈簇生狀(rosette)，葉長披針形至卵圓形，葉面具絨毛或平滑，葉緣全緣或波浪狀缺刻，多年生株老葉脫落時才會露出短縮莖。花序自簇生葉叢中央抽出，多分枝呈圓錐花序、總狀花序或聚繖花序，花萼為紙質或膜質，5 片合生成圓筒形或漏斗形，有些種具有色彩，在花瓣掉落後萼片仍留於花序上，色澤不隨著花謝而褪色，為觀賞之主要部位。小花 5 瓣著生於花萼筒中，白、淡黃、淡紫或紫色，僅有一天之壽命，每朵花種子 1 枚(楊，1984；Lledó et al., 2003)。園藝上以鮮花或乾燥花供應市場(王，1989)。

一、主要園藝品種

本屬之種原中心在地中海地區至亞洲中部，其次為世界之地中海型氣候之區域，包括南非、美洲東西岸部份地區、澳洲東岸以及亞洲東岸(Baker, 1948)，原生地為草原或海岸地帶之鹽分地(Karis, 2004)。在臺灣栽培的本屬植物中，具有觀賞價值且可當切花用的種類，主要有以下幾種：

(一)、星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill]

一年生植物，原生於地中海沿岸，又名不凋花。品種改良後具有多種鮮艷顏色之花萼，為本屬栽培最多的種類，在臺灣分為冬季平地和夏季高冷地栽培(沈和李，1982)，在臺灣平地栽培以每年十月份定植已完成春化之小苗，隔年一至四月開花採收，高冷地於四至六月定植，七至十二月採收供應夏秋季市場需求。

(二)、雜交種水晶花(*L. hybrids*)

本種為 2001 年由荷蘭引進，為數個原生於中國大陸的原種雜交而得(Harada, 1998)，葉片長橢圓形，花萼顏色有白、黃、紅、橙等色。本種因春化需求性高，在臺灣因低溫不足使栽培受到限制，須選育低春化需求之品種以符合產業需求。

(三)、補血草類

包括數個原種，如匙葉星辰花[*L. bellidifolium* (Gouan) Dumont.]、闊葉石菘蓉[*L. latifolium* (Sm.) Kuntze.]、綿毛石菘蓉[*L. tataricum* (L.) Mill]等及其雜交種之統稱(Burchi et al., 2006)，多以卡斯匹亞為商品名。本類之商業品種開花春化需求性少，在臺灣可在平地週年栽培，是僅次於星辰花栽培最多的種類。

(四)、其他少數原種

如貝利星辰[*L. perezii* (Stapf) Hubb.]、穗花星辰(*L. suwarowii* Kuntze.)等，國外以少見的特用切花(speciality cut flowers)供應市場(Morgan et al., 2001)，在臺灣因只能於冬季栽培，生育期短，切花長度不足而沒有商業化生產。

二、影響補血草屬植物開花之環境因子

(一)、低溫

補血草屬植物均需經過一段低溫，才會有利日後開花，依品種或種而有不同的春化需求(Armitage and Laushman, 2003; Dole and Wilkins, 2005)。Harada (1998)將補血草屬植物依開花對低溫的需求分為 Type I 和 Type II 兩種，Type I 需低溫完成春化後才會開花，為絕對春化作用型，在臺灣自然花期在晚春及夏季，但常因冬季低溫不足而不開花；Type II 只要在適當的溫度及光照下就會開花，為相對春化作用型，在溫帶地區為四季開花型，具有週年開花的潛力，但以涼溫環境下才



能順利開花且具有商業品質。

補血草屬低溫之需求因種類或品種而有差異，在美國中部五月中旬種植 6 個星辰花品種，因品種低溫需求之不同，每週每品種的切花採收量變化趨勢不同，在六月底時黃色系產量最高，而深藍色系產量最低(Whipker and Hammer, 1994)。沈和李(1982)將 4 個星辰花品種於二月份種植於日/夜溫 15/13、20/15 及 25/20°C 下，結果顯示低溫有利於開花，依品種對低溫的需求程度不同可區分為早、中及晚生品種，早生品種春化需求較晚生品種少，開花較早使得產量相對較高。

乾燥種子無低溫感應能力，但發芽中之種子則能感應低溫，春化溫度以 1-2°C 效果較佳，5°C 以上則效果較低(Azuma et al., 1983)。星辰花植株至少具六片以上展開葉，低溫處理的效果才會顯著(沈和李，1982)。星辰花'Midnight Blue'栽培於日/夜溫 16/13°C，開花率可達 100%，而栽培於 27/24°C 者則完全不開花(Krizek and Semeniuk, 1972)。Semeniuk 和 Krizek (1973)將 6 個星辰花品種播種後 1 個月期間以 16/13、21/18 及 27/24°C 三種日夜溫處理，之後再移至 24/16 及 26/24°C 兩種日夜溫栽培，結果顯示不論播種期的溫度，成長期以 24/16°C 處理者開花率均顯著較 26/24°C 處理者高。溫度對植株之發育也有相關性，在 16/13、21/18 及 27/24°C 三種日夜溫下，較低溫度促進抽苔，相對抑制植株生長，較高溫度有利植株發育，但開花較慢(Semeniuk and Krizek, 1972)。Shillo (1976)在以色列的試驗將'Midnight Blue'置於 13°C 生長箱內至花芽創始後，分別栽培於 18°C 的溫室或 6-14°C 的陰棚，結果顯示在 18°C 的溫室，在隔年一至二月就可以採收切花，而栽培在 6-14°C 的陰棚者則需在隔年三至四月才能採收切花，表示較溫暖的氣溫促進花芽發育。而補血草雜交群 Misty series 在 15-18°C 環境下較早開花，產量在 4 個月的栽培期平均可採收 20 枝切花(Armitage and Laushman, 2003)。春化的效果會因後來的高溫而失效之現象稱為去春化(devernalization)，例如星辰花'Early Blue'、'Midnight Blue'及'Super Blue'種子吸水後以 2-3°C 處理 30 天，會因之後在 30°C 溫室內處理 5 天而失去春化效果(Azuma et al., 1983)。但處理後在冷涼條件下達飽和程度，再遭受高溫就不會發生去春化，例如在星辰花'Early Blue'種子吸水後以 2-3



°C處理 30 天，再於 27/17°C 下生長至展開葉 8-10 枚以上，即使再定植到氣溫 24-32°C 環境很快就抽苔、開花，春化效果穩定(Azuma and Inubushi, 1986)。

(二)、日長

星辰花為相對性長日植物，長日處理可促進開花(Raulston, 1970)。Semeniuk 和 Krizek (1972)在生長箱中以長日 16 h 和短日 8 h 處理後，於自然低溫下栽培的結果與短日相比，長日處理之開花率較高且到花日數較短，顯示長日處理有明顯促進星辰花開花之效果。沈和李(1982)以 3 個星辰花品種於九月播種、自然溫度下生長，以自然日長及人工長日(自然日長+人工光照 4 h)處理，結果亦指出長日處理可取代早生品系之部分春化作用，但對中晚生品種無效。

(三)、激勃素

激勃素(gibberellins, GAs)可促進本屬植物開花及增加產量，星辰花是否經過苗期低溫處理再施用激勃素的效果不同(沈和李，1982)；以星辰花‘Iceberg’及‘Kampf’s Blue Improvement’苗期經低溫處理後再噴 GA₃ 並無提早花期之效，但在自然溫度下再噴 GA₃ 卻可提早花期，顯示 GA₃ 有代替低溫的效果，但和低溫無加乘的作用。

種植後 80 天施用 500 mg·L⁻¹ GA₃ 可縮短星辰花到達開花之時間，越晚施用則花期越晚。施用 GA₃ 縮短到花日數的效果在第一次施用時即有作用，後續增加施用次數，到開花時間反而更晚(Wilfret and Raulston, 1975)。補血草‘Misty Blue’在種植後 33 天開始施用 400 mg·L⁻¹ GA₃ 對切花產量增加效果最好(Garner and Armitage, 1996)。

三、補血草屬植物之育種

本屬雖原生種很多，但原種普遍花朵小、植株矮、顏色不夠豐富，缺乏良好之園藝性狀，需要經過品種改良及雜交育種之後，提昇園藝品質才能成為花卉栽培的主要品目之一(王，1989)。現代栽培之本屬植物商業品種均由種內選拔及種間雜交之研究而來(Burchi et al., 2006；Burge et al., 1995)。Burchi 等人(2006)指出



本屬植物之發展優勢為 1.可在鹽分地等其它花卉不適合的環境下栽培，2.種原豐富，許多有用的花卉特性尚待利用，3.和大部分花卉相比，種間雜交尚屬容易，4.育成之新品種容易藉由組織培養增殖供商業栽培。

(一)、育種障礙

補血草屬原生種雖然豐富，但並不是每一物種都可以自交或雜交，例如卡斯匹亞(*L. caspia*)具有多年生且四季開花之特性，而星辰花具有萼色眾多之優點，但兩者至今仍未雜交成功，其中牽涉到幾項因素：

1. 異型性不親和(heteromorphic incompatibility)

本屬植物之花粉及柱頭有特殊之異型構造(Baker, 1953, 1966; Lewis, 1979)，花粉與柱頭可分為二型：(1) A 型：粗孔花粉粒表面孔隙較大且深呈粗糙狀，柱頭依外形又稱為玉米穗型(cob)；(2) B 型：細孔花粉粒表面孔隙較小而淺較細緻，柱頭依外形又稱為乳突型(papillate)。同型花粉和柱頭具有不親和性，在授粉時必須是異型組合才可成功。

藍雪花科植物有許多屬均具有異型性不親和之特性，包括海石竹屬(*Armeria*) (Richards, 1986)。對於不親和之機制，有假說指出兩型花粉表面會分泌一種具黏性的脂質(lipid)，而粗孔花粉粒表面之孔隙(apertures)較大，脂質位於孔隙深處，剛好能容納乳突型之尖端刺入而黏住；而細孔花粉粒表面孔隙較細緻，脂質分佈於表面，接觸到玉米穗型柱頭時即黏附而完成授粉(Richards, 1986)。

2. 染色體數(chromosome number)

本屬植物大部分的物種為 $2n = 16$ 或 18 ，單套染色體基本數(X)為 8 或 9 ，也有 $X = 7$ 或 12 的物種(Brullo and Pavone, 1981)。不同種但有相同染色體數者雜交後，其後代可繼續自交產生種子，並可回交以改良特定性狀。某些原生種由染色體數可判斷其為天然雜交種，如大葉星辰 [*L. gmelinii* (Willd.) Kuntze] 同時具有 $2n = 18(2X)$ 、 $27(3X)$ 、 $36(4X)$ 條染色體之植株，中亞補血草 (*L. vulgare* Mill.) 染色體數為 $2n = 4X = 36$ (鶴島, 1993)。染色體數不同的種雜交子代染色體配對異常，不能產生種子僅能以人工無性繁殖。



(二)、育種現況

1. 種內選拔(intraspecific selection)

原生種之園藝性狀通常較差，利用播種選育後代的方式可得到優良品種供商業栽培之用，如貝利星辰由淺藍色的原種選出早生、高產量及深紫色萼片之‘Violet’ (Morgan et al., 1998)，以萼色淡的阿爾泰補血草(*L. altaica*)原種改良出具深色萼片的‘Emille’ (Burchi et al., 2006)，都是以種內選拔方式進行育種。星辰花是本屬中最具觀賞價值的種，需要低溫春化後才會開花，除了改良萼色外，在亞熱帶地區以早花選種的方式能選得春化需求較少的品種(Cohen et al., 1995)；將 5000 株星辰花實生苗以 11°C 處理 1 週後種植，從中選出 2%-5% 之早花株，將這些早花株採種，在絕對異交的情形下，這些種子僅為母本確定之半血親(half-sib)，重複以上早花選種 5 個世代，到第 6 代時，在沒有春化處理的狀況下，選種族群比未選族群提早 3 個月開花，而在有春化處理的情形下，選種族群也比未選族群提早 2 個月開花，此早生性狀可使星辰花更適合在偏熱的環境下栽培。

2. 種間雜交(interspecific hybridization)

在補血草屬中，只要是染色體數相同且形態相近的物種，種間雜交並不困難，例如由卡斯匹亞和蘇聯補血草[*L. latifolium* (Sm.) Kuntze.]雜交而成的雜交補血草‘Beltlaard’及‘Saint Pierre’，結合卡斯匹亞大花、花莖長及蘇聯補血草花序密、萼色深之特性而成為重要的栽培品種(Burge et al., 1995；Harada, 1998)。在義大利 Istituto Sperimentale per la Floricoltura 所進行的品種改良工作，已育成許多新的種間雜交品種，改善以往產量較低及抗病性較差的問題(Burchi et al., 2006)。有時種間雜交會遭遇花粉不發芽或胚夭折等障礙，其克服方式包括將花粉不發芽的物種作為種子親以完成種間雜交，而胚夭折則以胚拯救方式獲得後代。例如，在 *L. perigrinum* Bergius 和 *L. purpuratum* L. 互交中，僅有以前者為種子親才能產生胚，再藉由胚拯救得到後代，後代之 DNA 含量介於兩親本之間，且染色體數相同，確認為雜交種，而後代之葉形及花莖長度與 *L. purpuratum* 較為相似，花序類型及萼片顏色則與 *L. perigrinum* 較為類似，葉質地則介於兩親本之間(Morgan et al.,

1995；2001)。另外為結合星辰花($2n = 16$)萼片顏色多及貝利星辰($2n = 14$)多年生之優點，將兩者進行雜交，須以貝利星辰為種子親才能受精，且需胚拯救才能得到雜交種，而後代葉形為兩親本之中間型，花莖長度及花莖翼片構造較似星辰花，而不論以何種萼片顏色星辰花為親本與貝利星辰雜交，其後代之萼片顏色均為與貝利星辰相似的紫藍色系，未能達到雜交育種目標，且後代染色體數 $2n = 15$ ，無法正常減數分裂而不稔，不能以回交方式繼續進行品種改良(Morgan et al., 1998；2001)。

四、高溫對植物生長發育之影響

(一)、植物在高溫下之表現


高溫是一種環境逆境，在合理的高溫環境下作物能快速的適應或馴化的能力代表它的耐熱性，作物對高溫的反應可分為以下層次：

1. 對形態上的影響

在高溫下表現異常的情形，包括葉形改變，組織結構變化，葉綠素濃度，氣孔大小及密度，開花能力及產量等。結球白菜(*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) 幼苗期在 32°C 的高溫下葉片皺縮反捲的程度可代表其耐熱性(Wu et al., 1995)，蘿蔔(*Raphanus sativus* L.)耐熱品種在高溫下葉形完整無缺刻、葉面積大、葉色深綠，是衡量品種耐熱性的重要指標，因其葉肉具有發達的厚壁組織，有助於保持水份，避免高溫失水傷害，甘藍的耐熱品種在 38°C 的高溫下葉肉細胞結構仍保持正常狀態，不耐熱品種葉肉組織鬆散紊亂(Miao et al., 1994)，甘藍耐熱性和葉表蠟粉的結構和數量具有相關性(Welker and Furuya, 1994)，可強化反射光線的程度。肯塔基藍草(*Poa pratensis* L.)耐熱品系於高溫下葉片日燒的比例較不耐熱品系低(Marcum, 1998)。

2. 對生理上的影響

在高溫下能很快恢復正常的生理機能，包括呼吸率、光合作用、細胞膜結構、碳水化合物、活性氧代謝等。菜豆 6 品系在 42°C 環境下光合作用受到抑制，氧氣



釋出量降低 50%-95%，為品種耐熱性之差異(Chaisompongpan et al., 1990)，皮馬棉(*Gossypium barbadense* L.)耐熱品種於 26-35°C 高溫下其淨光合作用速率隨細胞間隙二氧化碳濃度上升之斜率較不耐熱品種高，因淨光合作用速率及氣孔導度可作為耐熱品系之篩選指標(Cornish et al., 1991)，鼠尾草(*Salvia*)原生種依原生地不同其耐熱性亦有差異，在 20-40°C 的條件下，耐熱品種淨光合作用速率無顯著差異，熱敏感品種隨溫度升高而明顯降低，和高溫造成地上部乾重下降的情形相同(Lasseigne et al., 2007)，萬壽菊(*Tagetes patula* L.)於 20 及 30°C 下，維持性呼吸作用之溫度係數(Q₁₀)隨高溫而升高(van Iersel, 2006)，天竺葵(*Pelargonium ×hortorum* L.H. Bail.)、三色堇(*Viola ×wittrockiana* Gams.)、萬壽菊及矮牽牛(*Petunia ×hybrida* Hort. Vilm.-Andr.)高溫處理 3 h 後，其呼吸熵與 25°C 時之相對生長速率呈高度負相關(van Iersel, 2003)，蘿蔔高溫處理後，子葉內之可溶性糖含量較正常溫度下少(Kaneko and Suzuki, 2006)，甘藍、結球白菜及芥藍等芸苔屬(*Brassica*)植物內之脯胺酸(proline)含量於高溫逆境時增加，且呈現品種耐熱差異性，顯示脯胺酸增加量較高者較具有耐熱性(Takeda et al., 1999)。

3. 對分子層次的影響

生物在高溫下能合成熱休克蛋白(heat shock protein, HSP)，此蛋白質的作用在保護細胞內的重要蛋白質避免高溫造成變性，以及促進受到熱傷害的蛋白質重新摺疊構造以維持正常功能(Zhang and Glaser, 2002)。水稻(*Oryza sativa* L.)熱處理 20 min 就可檢測到轉譯 HSP 的 mRNA (Lee et al., 2000)，甘藍高溫處理後依品種在 4-24 h 後轉譯 HSP 之 mRNA 大量累積(Annamalai and Yanaghiara, 1999)，大豆(*Glycine max* L.)於高溫下其 HSP 含量和耐熱性有關(Jinn et al., 1997)。使阿拉伯芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 轉錄熱休克蛋白之基因大量表達，可提高植株的耐熱性(Lee et al., 1995)，若將反義股轉入阿拉伯芥中降低 HSP 的表達，其耐熱能力也隨之降低(Queitsch et al., 2000)。



(二)、作物耐熱性篩選指標

高溫會引起植物的熱傷害現象，此傷害會因適應而復原，是否具有耐熱性和復原的速度有關，而偵測生理表現的變化不僅即時且相關性高，逐漸應用在篩選或證明耐熱性，其中較可靠且常用的檢測技術有：

1.細胞膜熱穩定性(cell membrane thermostability)

細胞膜遭遇高溫時會增加膜上疏水鍵的結合及親水鍵的分離(Wu and Wallner, 1983)，造成細胞膜內電解質的滲漏，再以公式求得熱傷害值(relative injury, RI)可代表植物耐熱性之高低。耐熱性可由一定時間內 RI 值達到 50%的溫度或同一溫度下達到 50%傷害的時間來決定(Takeda et al., 1999)。評估耐熱性時以不同溫度處理得到 RI 值的相關曲線呈 S 型，可區別不同品種間之耐熱性差異(Ismail and Hall, 1999)。

2.丙二醛含量(malondialdehyde, MDA)

丙二醛為細胞膜受到高溫時所生成活性氧(active oxygen species)產生過氧化反應之二級代謝物，逆境下生成的自由基使膜層磷脂質不飽和脂肪酸過氧化造成膜的破壞(Hallivell and Gutteridge, 1989)，會與細胞內之核酸、蛋白質連結反應使細胞功能受損(Winston, 1990)。MDA 的生成量和耐熱性呈負相關(Yao et al., 2000)，在高溫下越耐熱的品種 MDA 生成量越少。

3.葉綠素螢光值(chlorophyll fluorescence)

植物接受光線經葉綠素光合作用產生化學能，並以熱能消散或螢光散失(Sauer et al., 1996)，三者此消彼長的關係可透過螢光探測光合作用的變化(Krause and Weis, 1991)，可由葉綠素螢光值 F_v/F_m 來表示， F_v 由葉綠素最大螢光量(F_m)減去最小螢光量(F_o)而得。當遭遇高溫逆境時會破壞光合作用 PS II 的電子傳遞，而使 F_o 增加， F_v/F_m 值下降(Mohanty et al., 1989)，下降的程度和耐熱性成反比。

4.葉綠素含量(chlorophyll content)

高溫會降低葉綠素的合成及加速葉綠素的降解，包括小麥(*Triticum aestivum* L.)、花椰菜、黃瓜(*Cucumis sativus* L.)在高溫逆境下葉綠素明顯下降(Sun et al.,

2006；Tewan and Tripathy, 1998；Wang et al., 2004)，辣椒(*Capsicum annuum* L.) 苗葉片在 40°C 高溫下葉綠素的總量先上升後下降，耐熱品種葉綠素變化的幅度小於不耐熱品種(Pan et al., 2006)，在熱逆境下葉綠素含量高者和耐熱性不一定呈現相關性，但耐熱品種的確有較高的葉綠素含量(Reynolds et al., 1998)。

五、植物生長發育之溫度三基點及溫度積值

植物的生長與發育和環境因子息息相關，包含溫度、光強度、光週期等，其中又以溫度為主要因子(Summerfield, 1999)，溫度影響植物的發育包括種子發芽、植株乾重、葉片開展、莖的長度、花芽創始等。植物發育速率和溫度具有線性關係，即在一定範圍內隨著溫度增加，發育因此而加快或變慢，由此衍生出量測生長速率的方法。以溫度處理時間對照植物發育的程度，可推算花芽創始或發育之基礎溫度(base temperature, T_b)、最適溫度(optimum temperature, T_{opt})及最高溫度(maximum temperature, T_{max})之三基點(cardinal temperatures)，並建立到達特定發育階段之溫度積值(thermal time) (Trudgill et al., 2005；Yeh et al., 1997)，方法是在人為固定溫度條件下，以到達特定發育階段所需之時間為指標，此時間之倒數($1/\text{time}$, $1/t$)與溫度呈現直線關係，方程式可表示為： $1/t = a + b \times T$ ，其中 a 為直線方程式之截距， b 為斜率， T 為溫度，發育速率的基礎溫度為 $-a/b$ ，度積值為 $1/b$ (Roberts and Summerfield, 1987)。當溫度一直升高，發育速率會逐漸下降，此時進行相同的運算，其斜率呈現相反的趨勢，直線方程式為： $1/t = a' - b' \times T$ ，發育速率的最高溫度為 $-a'/-b'$ ，兩條直線交點為所有溫度範圍內發育速率最高點，也就是最適溫度，發育速率最快。溫度低於基礎溫度或高於最高溫度之發育速率為0，當溫度介於基礎溫度和最適溫度之間時(低於最適溫的sub-optimum temperature)，隨著溫度升高，發育速率會加快，而在最適溫度和最高溫度之間時(高於最適溫的supra-optimum temperature)，發育速率會隨溫度升高而減緩。

在計算度積值時應注意溫度的有效性(effective)，尤其是生育和低溫有關者如春化作用，當溫度介於基礎溫度和最適溫度之間以日均溫減去基礎溫度，當溫度

介於最適溫度和最高溫度之間時，溫度的有效性須以基礎溫度和最適溫度之間的比值來計算(Craigon et al., 1990)。以此計算溫度三基點的優點是可由線性關係迴歸到處理溫度以外的範圍，且低於最適溫度呈現生長速率遞減的現象，較符合實際生長的情形。

溫度三基點及度積值模式已應用於各種植物對溫度的反應上，大理花(*Dahlia pinnata* Cv. 'Roual Dahlietta Yellow')葉片展開之三基點溫度分別為5.5、24.6和34.9°C，摘心至花芽出現為2.4、22.4及31.1°C，由花芽出現至開花為5.2、24.4及31.1°C(Brøndum and Heins, 1993)。在瓜葉菊(*Senecio ×hybrida* L. 'Cindy Blue')之葉片創始速度之三基點溫度為3.6、19.7及37.8°C，由溫度減去基礎溫度再乘上處理天數，可得到創始一片葉片所需之度積值為47.8°C d (Atherton et al., 1998)。瓜葉菊自花芽創始至花苞出現之三基點溫度分別為1.6、19.3及39.8°C，自花芽創始到花苞出現之度積值為130°C d (Yeh et al., 1999)。

玫瑰(*Rosa ×hybrida* L. 'Cara Mia')枝條發育之基礎溫度為5.2°C，芽由生長至花苞可見之度積值為260°C d，到開花之度積值為545°C d，在溫室穩定溫度條件下生長，可以藉此準確預測切花採收的時間(Pasian and Lieth, 1994)。火球花[*Scadoxus multiflorus* subsp. *katharinae* (Baker) Friis & Nordal]之花莖發育在基礎溫度為5°C時，萌芽到開花之度積值為144GDD (growing degree-days)，在10-22°C的環境下可由市場需求進行溫度處理來調節開花時間(Funnell, 2008)。輓瓣蘭(*Zygopetalum Redvale* 'Fire Kiss')葉片開展、花序出現到開花時間和第一朵花壽命之基礎溫度分別為6.2、3.5和3.7°C，發育1片葉片之度積值為357°C d，由花序可見到開花之度積值為667°C d，第一朵花壽命之度積值為370°C d，在實際栽培時由環境的溫度條件來預測花芽創始或發育的時間，或是控制環境溫度以調節出貨時間(Lopez and Runkle, 2004)。雜交星辰花(*L. sinuatum* × *L. perezii*)在固定溫度的溫室中調查其花芽出現時間，再以環境之光線及溫度分析的結果，影響花芽出現的因子為光強度，溫度則影響花芽創始後到開花所需的時間，其建立的數學模式可採用栽培地點往年的環境資料，應用於預測開花及採收的時間(Chen and Funnell, 2010)。




六、補血草屬植物之分類

(一)、分類的方法

傳統植物的分類法以外表形態為主，然而以外表做為分類的依據易受主觀的認定影響，生長的環境也會造成形態上的改變，增加鑑識的困難。隨著生物技術的發展，廣泛採用分子標記作為種原間遺傳差異的研究工具，包括RAPD (random amplified polymorphic DNA)、RFLP (restriction fragment length polymorphism)、AFLP (amplified fragment length polymorphism)、SSR (simple sequence repeat)及ISSR (inter-sequence simple repeat)等，其中簡單序列間重覆(ISSR)是利用DNA中保守性高的重複序列發展出的共通序列特性，優點為操作簡單快速，只需少量樣本，不需事先知道基因順序，再現性高而廣泛應用在作物的親緣鑑定(Thul et al., 2011)。

為克服植物外表型易受環境的影響，將可區別的外表性狀使用數學方式計算其相關性，加以歸類分群之數量分類學(numerical taxonomy)為種原鑑定的方法(Sneath, 1995)。數值分類的第一步驟是決定分類單位(operational taxonomic units, OTUs)，OTUs的選擇應儘量完整且避免偏見，分類單位的依據為該性狀(characters)可區別分類群之間的特性。數值分類中性狀數目應該是越多越好，依特徵可分為數量性狀(quantitative traits)及質量性狀(qualitative traits)，數量性狀為連續性，例如株高、葉長、花徑等數值資料(quantitative data)，質量性狀如顏色、花期、葉形等，依性質而有不同的分級資料(multi-state data)，或是特定性狀的有或無，分子標記條帶的有無等，以二元資料(binary data)加以處理(徐，1996)。

數量分析主要有分群法(clustering analysis)及排列法(ordination analysis)，分群法根據分類單位的相似或相異性歸類成一群，每個分類單位為一點，同質性最高的兩點形成一群集，逐漸加入最接近的點，直到所有的點均納入某一群集。再以最短距離法(single linkage method)、最長距離法(complete linkage method)、平均分群法(average linkage method)等，其中平均分群法中的非加權配對演算法(unweighted pair group method with arithmetic analysis, UPGMA)，按照配對序列的




最大相似性先合併成一類群，重新計算和其它分類單位的相似或相異係數，反覆此步驟而形成聚類樹狀圖。分群法可明顯區別分類群，但難以判斷性狀與分類群的相關性。排列法則將分類單位依彼此的相似或相異程度排列於三維空間，其中主成份分析(principal component analysis, PCA)是最常用的方法，原理是將所有分類單位依某一個性狀以線性排列位置，分析計算性狀向量，以最顯著變異(variance)為第一主成份(first principal component, PC1)並做為第一條軸線，有最大解釋變異的能力，第二主成份形成第二條軸線，依此類推，各主成份相互獨立且在空間上相互垂直，主成份數目的設立以總變異解釋能力達60%-80%以上為宜(Rohlf, 2000)。排列法可彌補分群法的缺點，可探討解釋變數間的關係。

(二)、補血草屬植物之傳統分類

本屬原名為星辰花屬(*Statice*)，以蓮座狀叢生之株形為主要特徵，後因本屬物種複雜，於是將星辰花屬提升至星辰花族(Staliceae)之分類地位，其下再分為三個屬，分別為彩花屬(*Acantholimon*)、海石竹屬(*Armeria*)及補血草屬(*Limonium*)，以花萼膜質乾燥且具色彩的種類歸到補血草屬，約有350種(Lledó et al., 2003)。由於本屬成員眾多，其下又設立節(section)的分類地位，共有14個節，均以花萼形態為分類特徵，其中種類較多且當觀賞植物栽培的有美萼節(Sect. *Pteroclados*)，花萼呈漏斗形且具有色彩，星辰花、貝利星辰即屬於此節。寬萼節(Sect. *Plathymentum*)花萼呈開放鐘形，水晶花、石菘蓉即屬於此節。小花節(Sect. *Limonium*)花萼呈不開放狀為節之主要特徵，市面上稱卡斯匹亞的切花為本節之代表。由於早期之分類研究缺乏全球性，以歐洲地中海地區為主，在加入亞洲、美洲及非洲南部的物種之後，補血草屬之下的亞屬(subgenera)或節(section)，部份又提升成立新的屬，直至今日，本屬之分類仍在修正之中(Lledó et al., 2005)。

除了傳統形態上的比較外，細胞核型分析(karyology)、繁育系統(breeding system)、植物化合物(phytochemical system)和生態學(ecology)也常做為補血草屬品種分類的依據(Roselló et al., 1998)。本屬植物大部分的物種單套染色體基本數為 $X=8$ 或 $X=9$ (Brullo and Pavone, 1981)，但產於南非的*L. perigrinum*及*L. purpuratum*




染色體數為 $X=12$ ，且花粉柱頭型為單型性，不同於本屬其它種為二型性，加上原生地南非和其它補血草屬植物地理位置不同，因此將原生於南非的補血草植物成立新屬為南非補血草屬(*Afrolimon*) (Lledó et al., 2003)。星辰花族中補血草屬植物根部含有楊梅黃酮(myricetin)及無色飛燕草素(leucodelphinidin)兩種化合物，彩花屬及海石竹屬只含有一種，這個特性也可以做為分類的依據(Harborne, 1967)。除了傳統以外形特徵做成檢索表的方法外，Ingrouille (1984)以數值分類法調查69個歐洲原生補血草共200個外表性狀，樹狀圖分群的結果與傳統形態分類結果一致。Karis (2004)調查31個形態數值，樹狀圖分群的結果顯示補血草美萼節18個種可再分成兩個亞節。

(三)、補血草屬植物之分子標誌親緣分析

使用分子標誌受外在因素的影響較小，作為評估物種之差異較形態分類法為可靠(Andersen and Fairbanks, 1990)。在補血草屬植物之親緣鑑定研究上，本屬13個商業品種採用RAPD分析後可明確分群，其中3個外型相近的栽培種以分子變成分分析不顯著而視為同源(Bruna et al., 2004)。以RAPD分析原生於西班牙西南海岸之*L. dufourii*，可明確分為四個族群，且和地理位置有相關性(Palacios and Gonzalez-Candelas, 1997a)。同地區的原種*L. cavanillesii*以RAPD分析後顯示其差異性很低(Palacios and Gonzalez-Candelas, 1997b)，以AFLP 分析的結果也一樣(Palacios and Gonzalez-Candelas, 1999)，此與*L. cavanillesii*為三倍體，自然狀態下採孤雌生殖(apomictic)拓展族群，故其遺傳質相同有關。以葉綠體DNA標誌(*rbcL*、*trnL*插入子、*trnL-trnF*的屬間距離)分析66個補血草屬植物及近緣種，可明確將星辰花族分為兩大群，即補血草屬及其它屬，補血草屬中又可分出美萼組、寬萼組及小花組(Lledó et al., 2001)。配合原生地之地理分佈可判斷品種之演化及擴散遷移時間(Lledó et al., 2005)。分子標誌作為物種相關性及多樣性之發展已成為輔助育種工作的方法(Souframanien and Gopalakrishna, 2004)。

(四)、臺灣原生補血草屬植物之分類

臺灣原生之補血草屬植物有兩種，分別為石菘蓉及烏芙蓉，石菘蓉廣泛分佈



於亞洲東部沿海地區及島嶼，植物分類系統均將本種處理為一個種。烏芙蓉分佈於西太平洋之島嶼地區，臺灣植物誌將其處理為一個種(Li, 1998)，中國植物誌處理為花冠黃色的黃花海芙蓉[*L. wrightii* var. *luteum* (H. Hara) H. Hara]及花冠藍紫色的海芙蓉[*L. wrightii* var. *wrightii* (Hance) Kuntze] (Peng and Kamelin, 1996)。然而，石苳蓉在臺灣各原生地所取得的植株在外形就有明顯差異，烏芙蓉在日本產地尚有白花、紫花及橙色花的個體(Matsumura et al., 2006)。在分類上這些收集的地方植株，是否可視為同種或變種需進一步討論。

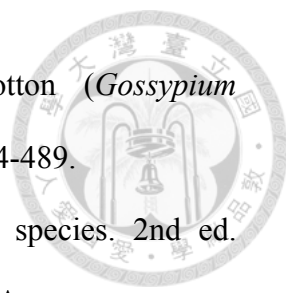
參考文獻(References)

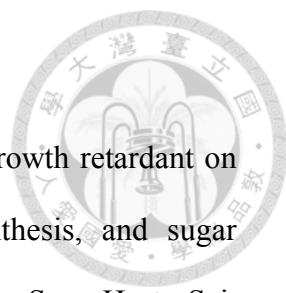


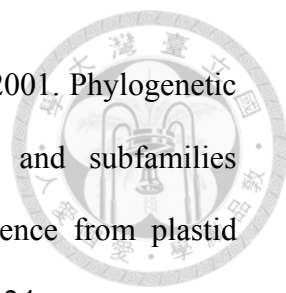
- 王昭月譯. 1989. 星辰花. 設施花卉開花調節技術. 臺南區農業改良場編印. 臺南. 臺灣. p.328-336.
- 沈碧君、李晔. 1982. 星辰花之生長與開花習性. 中國園藝 28:20-35.
- 徐克學. 1996. 數量分類學. 水產出版社. 基隆市. 臺灣
- 楊恭毅. 1984. *Limonium*. p.4549-4600. 楊氏園藝植物大名典VI. 中國花卉雜誌社編印. 臺北. 臺灣.
- 鶴島久男. 1993. スターチスの種類と育種. p. 24-26. 刊於：藤田政良編著. 花專科*育種と栽培 *Limonium*. 誠文堂新光社. 東京都. 日本.
- Andersen, W.R. and D.J. Fairbanks. 1990. Molecular markers: Important tools for plant genetic resource characterization. *Diversity* 6:51-53.
- Annamalai, P. and S. Yanaghiara. 1999. Identification and characterization of a heat stress induced gene in cabbage encodes a kunitz type protease inhibitor. *J. Plant Physiol* 155:226-233.
- Armitage, A.M. and J.M. Laushman. 2003. *Limonium*, p.387-403. In: A.M. Armitage and J.M. Laushman (eds.). *Specialty Cut Flowers*. 2nd. ed. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Atherton, J.G., D.M. Yeh, J. Craigon, and G.A. Tucker. 1998. Leaf initiation and shoot apical diameter in relation to phase transition in cineraria. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 74:45-51.
- Azuma, A. and S. Inubushi. 1986. The effect of high temperature on the devernialization of seed-vernalized static *Limonium sinuatum* plants with varying growth stage. *J. Japan. Soc. Hort. Sc.* 55: 221-227.
- Azuma, A., J. Shimasaki, and S. Inubushi. 1983. Acceleration of flowering of static (*Limonium sinuatum* Mill.) by seed vernalization. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*

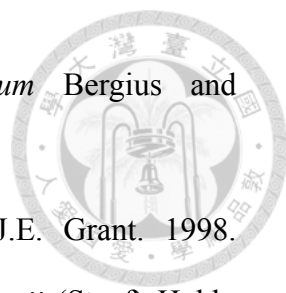


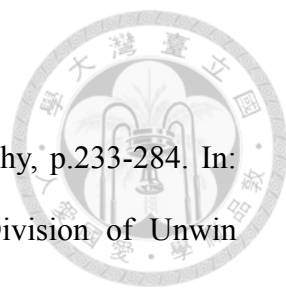
- 51:466-474.
- Baker, H.G. 1948. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. I. A survey of the family. *Ann. Bot.* 107:207-219.
- Baker, H.G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae: II. Pollen and stigmata in the genus *Limonium*. *Ann. Bot.* 17:433-446.
- Baker, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution* 20:349-368.
- Brøndum, J.J. and R.D. Heins. 1993. Modeling temperature and photoperiod effects on growth and development of *Dahlia*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118:36-42.
- Brullo, S. and P. Pavone. 1981. Chromosome numbers in the Sicilian species of *Limonium* Miller (Plumbaginaceae). *Anales Jard. Bot. Madrid* 37:335-355.
- Bruna, S., L.D. Benedetti, A. Mercuri, T. Schiva, G. Burchi, N. Pecchioni, and C. Agrimonti. 2004. Use of RAPD markers for the genetic characterization of *Limonium* species. *Acta Hort.* 651:155-160.
- Burchi, G., A. Mercuri, C. Bianchini, E. Mercatelli, M. Maletta, and T. Schiva. 2006. Results of a breeding activity on *Limonium* spp. *Acta Hort.* 714:43-49.
- Burge, G.K., E.R. Morgan, J.F. Seelye, J.E. Grant, C. Zhang, and M.E. Hopping. 1995. Generation of novel forms of *Limonium*. *Acta Hort.* 420:78-80.
- Chaisompongpan, N., P.H. Li, D.W. Davis, and A.H. Markhart. 1990. Photosynthetic responses to heat stress in common bean genotypes differing in heat acclimation potential. *Crop Sci.* 30:100-104.
- Chen, J. and K.A. Funnell. 2010. A model for scheduling flowering of a *Limonium sinuatum* × *Limonium perezii* hybrid. *HortScience* 45:1441-1446.
- Cohen, A., A. Harazy, H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early flowering in blue statice (*Limonium sinuatum* Mill.). *Acta Hort.* 420:118-124.
- Cornish, K., J.W. Radin, E.L. Turcotte, Z. Lu, and E. Zeiger. 1991. Enhanced

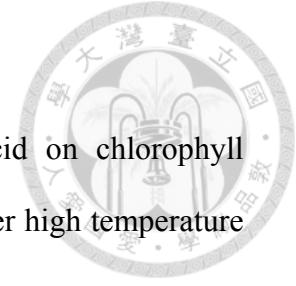
- 
- photosynthesis and stomatal conductance of Pima cotton (*Gossypium barbadense* L.) bred for increased yield. *Plant Physiol.* 97:484-489.
- Dole, J.M. and H.F. Wilkins. 2005. *Floriculture: Principles and species*. 2nd ed. Pearson Education Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA.
- Funnell, K.A. 2008. Growing degree-day requirements for scheduling flowering of *Scadoxus multiflorus* subsp. *katharinae* (Baker) Friis & Nordal. *HortScience* 43:166-169.
- Garner, J.M. and A.M. Armitage. 1996. Gibberellin applications influence the scheduling and flowering of *Limonium* ×‘Misty Blue’. *HortScience* 31:247-248.
- Craigon, J., J.G. Atherton, and E.A. Basher. 1990. Flowering and bolting in carrot. II. Prediction in growth room, glasshouse and field environments. *J. Hort. Sci.* 65:547-554.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Harada, D. 1998. *Limonium*, p.630-633. In: V. Ball (ed.). *Ball RedBook*. 16th. ed. Ball Publishing, Batavia, IL, USA.
- Harborne, J.B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. IV. Correlations between chemistry, pollen morphology and systematics in the family Plumbaginaceae. *Phytochemistry* 6:1415-1428.
- Ingrouille, M.J. 1984. A taxometric analysis of *Limonium* (Plumbaginaceae) in Western Europe. *Plant Syst. Evol.* 147:103-118.
- Ismail, A.M. and A.E. Hall. 1999. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Sci.* 39:1762-1768.
- Jinn, T.L., P. Chang, Y.M. Chen, J.L. Key, and C.Y. Lin. 1997. Tissue type specific heat shock response and immunolocalization of class I low molecular weight heat

- 
- shock proteins in soybean. *Plant Physiol.* 114:429-438.
- Kaneko, T. and S. Suzuki. 2006. Effects of high temperature and growth retardant on dry matter accumulation, hypocotyl thickening, photosynthesis, and sugar content in radish (*Raphanus sativus* L.) plants. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75:231-235.
- Karis, R.O. 2004. Taxonomy, phylogeny and biogeography of *Limonium* sect. *Pteroclados* (Plumbaginaceae), based on morphological data. *Bot. J. Linn. Soc.* 144:461-482.
- Krause G.H. and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:313-349.
- Krizek, D.T. and P. Semeniuk. 1972. Influence of day/night temperature under controlled environments on the growth and flowering of *Limonium* 'Midnight Blue'. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:597-599.
- Lasseigne, F.T., S.L. Warren, F.A. Blazich, and T.G. Ranney. 2007. Day/night temperature affects growth and photosynthesis of cultivated *Salvia* taxa. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132:492-500.
- Lee, J.H., A. Hubel, and F. Schoffl. 1995. Derepression of the activity of genetically engineered heat shock factor causes constitutive synthesis of heat shock proteins and increased thermotolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant J.* 8:603-612.
- Lee, B.H., S.H. Won, H.S. Lee, M. Miyao, W.I. Chung, I.J. Kim, and J. Jo. 2000. Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice. *Gene* 245:283-290.
- Lewis, D. 1979. Sexual incompatibility in plants. Edward Arnold, London.
- Li, H.L. 1998. Plumbaginaceae, p.79-82. In: T.C. Huang (ed.). *Flora of Taiwan*. Vol. IV. 2nd. ed. Department of Botany, Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan.

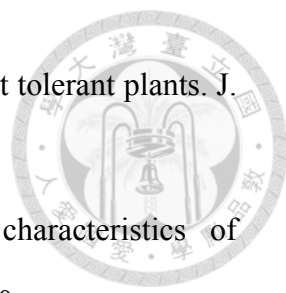
- 
- Lledó, M.D., P.O. Karis, M.B. Crespo, M.F. Fay, and M.W. Chase. 2001. Phylogenetic position and taxonomic status of the genus *Aegiailis* and subfamilies Staticoideae and Plumbaginoideae (Plumbaginaceae): Evidence from plastid DNA sequences and morphology. *Plant Syst. Evol.* 229:107-124.
- Lledó, M.D., M. Erben, and M.B. Crespo. 2003. *Myriolepis*, a new genus segregated from *Limonium* (Plumbaginaceae). *Taxon* 52:67-73.
- Lledó, M.D., M.B. Crespo, M.F. Fay, and M.W. Chase. 2005. Molecular phylogenetics of *Limonium* and related genera (Plumbaginaceae): Biogeographical and systematic implications. *Amer. J. Bot.* 92:1189-1198.
- Lopez, R.G. and E.S. Runkle. 2004. The effect of temperature on leaf and flower development and flower longevity of *Zygopetalum* Redvale 'Fire Kiss' orchid. *HortScience* 39:1630-1634.
- Marcum, K.B. 1998. Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. *Crop Sci.* 38:1214-1218.
- Matsumura, S., J. Yokoyama, Y. Tateishi, and M. Maki. 2006. Intraspecific variation of flower colour and its distribution within a sea lavender, *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae), in the northwestern pacific islands. *J. Plant Res.* 119:625-632
- Miao, C., R.Q. Li, and J.B. Wang. 1994. Ultrastructural study in leaf cell of *Brassica oleracea* var. *capitata* under heat stress. *Acta Bot. Sinica* 36:730-732.
- Mohanty, N., J. Vass, and S. Demeter. 1989. Impairment of photosystem 2 activity at the level of secondary quinone electron acceptor in chloroplasts treated with cobalt, nickel and zinc ions. *Physiol. Plant.* 76:386-390.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, and J.F. Seelye. 2001. *Limonium* breeding: New options for a well known genus. *Acta Hort.* 552:39-42.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, J.F. Seelye, J.E. Grant, and M.E. Hopping. 1995.

- 
- Interspecific hybridisation between *Limonium perigrinum* Bergius and *Limonium purpuratum* L. Euphytica 83:215-224.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, J.E. Seelye., M.E. Hopping, and J.E. Grant. 1998. Production of inter-specific hybrids between *Limonium perezii* (Stapf) Hubb. and *Limonium sinuatum* (L.) Mill. Euphytica 102:109-115.
- Palacios, C. and F. Gonzalez-Candelas. 1997a. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae). Mol. Ecol. 6:1107-1121.
- Palacios, C. and F. Gonzalez-Candelas. 1997b. Lack of genetic variability markers in the rare and endangered *Limonium cavanillesii* (Plumbaginaceae) using RAPD markers. Mol. Ecol. 6:671-675.
- Palacios, C. and F. Gonzalez-Candelas. 1999. AFLP analysis of the critically endangered *Limonium cavanillesii* (Plumbaginaceae). J. Hered. 90:485-493.
- Pan, B.G., S.B. Wang, J.B. Liu, B.S. Cao, and X.H. Yuan. 2006. Effect of heat stress on photosynthesis of pepper cultivars at seedling stage. Jiangsu J. Agr. Sci. 22:137-140.
- Pasian, C.C. and J.H. Lieth. 1994. Prediction of flowering rose shoot development based on air temperature and thermal units. Scientia Hort. 59:131-145.
- Peng, Z.X. and R.V. Kamelin. 1996. Plumbaginaceae, p.190-204. In: Z.Y. Wu and P.H. Raven (eds.). Flora of China. Vol. 15. Science Press, Beijing.
- Queitsch, C., S.W. Hong, E. Vierling, and S. Lindquist. 2000. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. Plant Cell 12:479-492.
- Raulston, J.C. 1970. Influence of photoperiod and nutrition on flowering of annual statice (*Limonium sinuata*). HortScience 5:345. (abstract)
- Reynolds, M.P., R.P. Singh, A. Ibrahim, O.A. Ageeb, A. Larqué-Saavedra, and J.S. Quick. 1998. Evaluating physiological traits to complement empirical selection

- 
- for wheat in warm environments. *Euphytica* 100:85-94.
- Richards, A.J. 1986. Di-allelic self-incompatibility and heteromorphy, p.233-284. In: A.J. Richards (ed.). *Plant breeding systems*. Academic Division of Unwin Hyman Ltd., London.
- Roberts, E.H. and R.J. Summerfield. 1987. Measurement and prediction of flowering in annual crops, p.17-50. In: J.G. Atherton (ed.). *Manipulation of flowering*. Butterworths, London, UK.
- Rohlf, F.J. 1997. NTSYS. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.00. User guide. Setauket, New York, USA.
- Roselló, J.A., L. Sáez, and A.C. Carvalho. 1998. *Limonium carvarlhoi* (Plumbaginaceae) a new endemic species from the Balearic Islands. *Anales. Jard. Bot. Madrid*. 56:23-31.
- Sauer, M., K.H. Drexhage, C. Zander, and J. Wolfrum. 1996. Diode laser based detection of single molecules in solutions. *Chem. Phys. Lett.* 254:223-228.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1972. Long days and cool night temperature increase flowering of greenhouse grown *Limonium* cultivars. *HortScience* 7:293.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1973. Influence of germination and growing temperature on flowering of six cultivars of annual statice. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:140-142.
- Shillo, R. 1976. Control of flower initiation and development of statice (*Limonium sinuatum*) by temperature and daylength. *Acta Hort.* 64:197-204.
- Sneath, P.H.A. 1995. Thirty years of numerical taxonomy. *Syst. Biol.* 44:281-298.
- Souframanien, J. and T. Gopalakrishna. 2004. A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 109:1687-1693.
- Summerfield, R.J. 1999. Timing it right: The measurement and prediction of flowering.



- Acta Agron. Hung. 47:203-213.
- Sun, Y., W.J. Xu, and A.L. Fan. 2006. Effects of salicylic acid on chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle in cucumber leaves under high temperature and strong light. Chinese J. Appl. Ecol. 17:399-402.
- Takeda, H., T.U. Cenpukdee, Y.S. Chauhan, S. Ancha, M.M. Hossain, M.H. Rashad, L. Baiqing, H.S. Talwer, T.Senboku, S. Yashima, S. Yanagihara, and M. Shono. 1999. Studies in heat tolerance of *Brassica* vegetables and legumes at the international collaboration research section from 1992 to 1996. JIRCAS Working Rpt. 14:17-29.
- Tewan, A.K. and B.C. Tripathy. 1998. Temperature stress induced impaired of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. Plant Physiol. 117:851-858.
- Thul, S.T., A.K. Srivastava, S.C. Singh, and K. Shanker. 2011. Genetic and chemical diversity of high mucilaginous plants of *Sida* complex by ISSR markers and chemical fingerprinting. Mol. Biotechnol. 49:77-81.
- Trudgill, D.L., A. Honek, D. Li, and N.M. van Straalen. 2005. Thermal time - Concepts and utility. Ann. Appl. Biol. 146:1-14.
- van Iersel, M.W. 2003. Short-term temperature change affects the carbon exchange characteristics and growth of four bedding plant species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 128:100-106.
- van Iersel, M.W. 2006. Respiratory Q_{10} of marigold (*Tagetes patula*) in response to long-term temperature differences and its relationship to growth and maintenance respiration. Physiol. Plant. 128:289-301.
- Wang, B.L., M. Xu, Q.H. Shi, and J.S. Cao. 2004. Effects of high temperature stress on antioxidant systems, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in early cauliflower leaves. Scientia Agr. Sinica 37:1245-1250.

- 
- Welker, O.A. and S. Furuya. 1994. Surface structure of leaves in heat tolerant plants. *J. Agron. Crop Sci.* 173:279-288.
- Whipker, B.E. and P.A. Hammer. 1994. Growth and yield characteristics of field-grown *Limonium sinuatum* (L.). *HortScience* 29:638-640.
- Wilfret, G.J. and J.C. Raulston. 1975. Acceleration of flowering of statice (*Limonium sinuatum*) by gibberellic acid (GA₃). *HortScience* 10:37-38.
- Winston, G.W. 1990. Physiochemical basis for free radical formation in cells: Production and defenses, p.57-86. In: R.G. Alscher and J.R. Cumming (eds.). *Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms*. Wiley-Liss, New York, USA.
- Wu, M.T. and S.J. Wallner. 1983. Heat stress responses in cultured plant cells: Development and comparison of viability tests. *Plant Physiol.* 72:817-820.
- Wu, G.S., Y.J. Wang, W.H. Cao, Y.W. Jiang, and L.R. Zhang. 1995. Studies on mode of high temperature injury and screening method for heat tolerant Chinese cabbage. *Acta Agr. Boreall Sinica* 10:111-115.
- Yao, Y.G., X.H. Shi, J.G. Yang, and S.Y. Wang. 2000. Relations of the permeability of plasma membrane of leaves and the contents of several biochemical matter to heat tolerance of pepper. *J. Hunan Agr. Univ.* 26:97-99.
- Yeh, D.M., J.G. Atherton, and J. Craigon. 1997. Manipulation of flowering in cineraria. III. Cardinal temperatures and thermal times for vernalization. *J. Hort. Sci.* 72:379-387.
- Yeh, D.M. and J.G. Atherton. 1999. A thermal time model of post-initiation flower development in the shade plant, cineraria. *Ann. Appl. Biol.* 134:335-340.
- Zhang, X.P. and E. Glaser. 2002. Interaction of plant mitochondrial and chloroplast signal peptides with Hsp70 molecular chaperone. *Trends Plant Sci.* 7:14-21.

第三章 星辰花早花品種/系選育

Chapter 3. Selection of Early Flowering Statice Cultivar/Lines




附加關鍵字：切花、早花選種、星辰花、植物育種、春化作用

Additional index words: cut flower, early-flowering selection, *Limonium sinuatum*,
plant breeding, vernalization

摘要

本研究旨在選育早花之星辰花[*Limonium sinuatum* (L.) Mill.]，使其更適合臺灣平地等亞熱帶地區栽培。採用‘超群’、‘福神’及‘達摩’等混色系列，標定早花植株，採混合選種持續選拔早花植株，經早花選育四至五代後，於冬春季種植於臺南地區之花期均較原始族群提早 70-80 天左右，顯示早生選種的育種策略有效。所選得之‘臺南 1 號’及商業品種‘百萬紫’以組織培養繁殖，當植株具 10-15 片葉時，移植並置於日/夜溫 15/10 或 35/30°C 下之生長箱，每日光照 12 小時，光強度為 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，處理 4 週後再定植於溫室，定植期間為 2008 年 12 月至 2009 年 4 月，氣溫為 15-28°C，自然日長 10.5-12.5 小時，進行性狀與開花之比較試驗。結果顯示‘臺南 1 號’定植前置於 35/30°C 處理者，其定植後之到花天數為 82.7 天，‘百萬紫’為 102.7 天。‘臺南 1 號’與‘百萬紫’定植前置於 15/10°C 者較置於 35/30°C 處理之到花天數分別減少 12.4 及 22.4 天，顯示‘臺南 1 號’之開花需冷性較低，因而早花。‘臺南 1 號’是針對亞熱帶氣候條件下選育的品種，花萼紫色，可在臺灣平地 10 月定植，12 月至隔年 2 月自然開花，能在價格最好的冬季採收切花供應市場需求。

Abstract



The objective of this study was to select early-flowering statics [*Limonium sinuatum* (L.) Mill.] cultivar/lines for the lowland production in Taiwan. Plants of ‘Excellent Mix’, ‘Turbo Mix’, and ‘Fortress Mix’ were used for selection. The early-flowering individual plants were labelled for mass selection. After selection for 4 to 5 generations, the selected plants flowered consistently earlier than the parent populations. The selected ‘Tainan No.1’ and the commercial cultivar Million Purple were mass-propagated by tissue culture. When the plants had 10 to 15 leaves, they were transferred to the growth chambers at pre-planting day/night temperatures of 15/10 and 35/30°C, under a 12-h photoperiod with 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF for 4 weeks. The plants were then planted in a plastic house from December 2008 to April 2009 under 10.5- to 12.5-h natural daylengths at 15 to 28°C for further growth. Time elapsed from planting to flowering was recorded. The average time to flowering of ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’ was 82.7 and 102.7 d, respectively. Plants of ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’ at pre-planting temperature of 15/10°C flowered earlier than 35/30°C by 12.4 and 22.4 days, respectively. Results showed that ‘Tainan No.1’ had lower low temperature requirement and subsequently flowered earlier. ‘Tainan No.1’ has purple calyx and is selected for cut flower production in sub-tropical climates. In the lowland area of Taiwan, ‘Tainan No.1’ can be planted in October and flowers naturally starting from December with peaked flowering in January and February when the price is high.



前言(Introduction)

星辰花[*Limonium sinuatum* (L.) Mill.]，英名 statice，為藍雪花科多年生草本植物，葉片叢生於短縮莖上。花莖由腋芽抽出，小花具 5 黃白色花瓣，呈星形排列，花瓣外具顏色鮮明的紙質萼片。在開花後花冠隨即掉落，宿存萼片顏色有藍、紫、黃、白、粉紅或橙色等，色澤不隨著花謝而退，為天然的乾燥花(Whipker, 1994)，故中名又稱為不凋花、磯松，常做為花藝設計的配材。在臺灣種植面積約 20 公頃，產量約 25 萬把。

非幼年期之星辰花在營養生長階段，接受 $11\pm 2^{\circ}\text{C}$ 之低溫春化有利於提早開花，春化需求可能依品種或同一族群內的單株而異(Semeniuk and Krizek, 1973; Shillo and Zamski, 1985)。在臺灣，星辰花平地栽培須在 10-11 月定植已於高冷地完成春化之植株，方可於隔年 1-2 月採收切花，由於現有的流通品種均來自於歐美、日本等溫帶國家育成，春化需求高(Cohen et al., 1995)。未經春化處理之植株，在臺灣平地 10-11 月定植，經過冬季自然低溫，花期延後到隔年 3-4 月，此時價格較低、不敷成本(沈和李，1982)。自種子系選拔春化需求少且開花品質良好之品種/系，為熱帶、亞熱帶地區之重要育種目標。

星辰花為絕對異交植物，花粉和柱頭呈現二型性，分別為 A 型花粉/玉米穗型柱頭及 B 型花粉/乳突型柱頭，因此無法自交，自然狀態下有性生殖僅能藉由授粉昆蟲攜帶花粉至異型柱頭，而達成授粉、受精(Baker, 1953, 1966)。以集團選種法重覆選拔，可使族群表現朝向早花、高產量及花色符合市場需求等育種目標進行(Tsurushima, 1992; Wilfret and Raulston, 1975)。Cohen 等人(1995)在以色列改良星辰花之早花性，經過 5 代選拔之植株，其花期可提早 3 個月。育種所得之優良單株，必須採用組織培養繁殖，否則會為會異交而失去優良特性，且後代表現也會不整齊(Baker, 1953, 1966)。

本研究在臺灣臺南亞熱帶地區以集團選種的方式進行早花性改良，選育開花春化需求較少的品種，可在 10 月份平地種植時不需先於高冷地育苗催花，直接種

植後之環境溫度條件可完成春化，於隔年 1-2 月時採收切花，降低星辰花之栽培成本。



材料與方法(Materials and Methods)

星辰花早花選育工作於臺南區農業改良場(臺灣臺南新化，北緯 23°03'，東經 120°20')進行，包含‘超群-混合’(Excellent Mix)、‘福神-混合’(Fortress Mix)及‘達摩-混合’(Turbo Mix)等三個混色品種系列。其中‘超群-混合’為日本 Sakata 公司出品，具有極早花，花莖翼片小，花期一致等特性；‘福神-混合’為美國 PanAmerican 公司出品，具有開花整齊，早花，花莖強壯且粗細適中等優點；‘達摩-混合’為美國 Bodger 公司推出，具有早花，花莖長，耐病性佳等特性。

選種工作自 2000 年 9 月開始，將上述品種系列之種子播種於 128 格黑色穴盤(穴盤長寬為 55×29 cm，每穴格直徑 3 cm，深 3 cm)，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann Select, Geeste, Germany)。當本葉長出 5-6 枚，約 10 月時取 1000 株定植於面積 1000 m² 試驗田，作畦栽培，畦高 20 cm，畦面寬 60 cm，畦溝中線相距 1 m，種植株距 50 cm，以寬 60 cm，內含 3 格，每格為 20*20 cm 之鐵網為支撐以防止花莖倒伏。當肉眼可見花芽時標定田間最早開花之單株。第一年因植株之早花性不明顯，故將所有植株之種子混合，2002 年 9 月再播種，依前一年之栽培條件進行選拔工作，標定早花植株約 50-80 株，當進入盛花期時再檢查開花品質，淘汰品質不良者，再將所選拔的單株編號，由蜜蜂進行傳粉工作，在 2003 年 3 月從標定的單株進行採種，並僅收取各單株前一年 10-12 月開花的花莖，採收後剝除花萼收取種子。於 2003 年 9 月時再開始下一年度選拔工作，從第 2 年起不再將種子混合，而是以單株採種並編號，下一年度再單株播種選拔早花單株，持續進行數代。



試驗一、星辰花早花選種之開花性狀比較試驗

於 2005 年 9 月取選拔的早生實生後代，並分別以此三個原始混色品種系列之實生苗為對照，育苗方式、種植方法和每年早花選種採用的步驟如上述，每品系與原始混色品種系列各種植 50 株。實生苗於 2005 年 10 月定植於田間，栽培時期平均溫度介於 18 到 28°C，自然日長為 11 到 12 小時。於盛花期調查自定植到花日數、總花莖數、花莖長度及第一小花序長度。調查時逢機選取 5 株，每株為 1 重複。

試驗二、星辰花早花單株選拔品種組培苗之開花性狀比較試驗

為調查定植前不同溫度處理對所選拔之早生實生單株開花表現之影響，於 2011 年 3 月將早花優良單株 95SA、95SB、97SS2、100SS2、100SS4 及商業品種 'Million Purple'、'Velvet Wings' 及 'Strawberry Jam' (Miyoshi & Co., Tokyo, Japan) 進行組織培養。取長約 5 cm 之幼花莖為培植體，初代培養為全量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 鹽類，內含 0.1 mg·L⁻¹ 菸鹼酸 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 及 5 mg·L⁻¹ 螯合鐵 (FeSO₄·7H₂O/Na₂-EDTA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)，並添加 30 g·L⁻¹ 蔗糖、0.5 mg·L⁻¹ BA 及 1 mg·L⁻¹ NAA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)，繼代培養使用上述 MS 培養基添加 30 g·L⁻¹ 蔗糖、1 mg·L⁻¹ BA 及 2 mg·L⁻¹ NAA，每 30 天繼代 1 次。於 2011 年 9 月 13 日，當植株具 5-10 片葉時出瓶至 50 格穴盤 (穴盤為 53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm) 種植，栽培介質採用泥炭苔 (TS 1 medium, Klasmann, Geeste, Germany)。於 2011 年 10 月 18 日當植株具 10-15 片時置於日/夜溫 15/10 或 35/30°C 之生長箱，每日光照 12 小時，光強度為 150 μmol·m⁻²·s⁻¹ (Photosynthetic photon flux, PPF)，進行定植前溫度處理 4 週後，於 2011 年 11 月 15 日於 20-32°C 育苗室中馴化 2 週，於 2011 年 12 月 1 日，將每品種每處理定植 15 株於試驗田，生長期之日溫為 20-28°C，夜溫 15-20°C。調查自定植到開花日數、花莖數及花莖長度，每品種每處理逢機調查 5 株。



試驗三、星辰花早花品種‘臺南 1 號’之開花性狀比較試驗

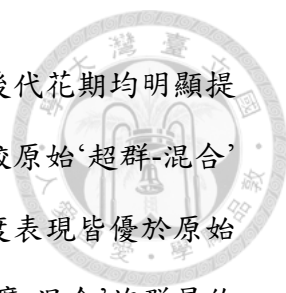
於 2008 年由種子系‘福神-混合’經早花選種第八代後裔中獲得單株 (89F1-2-2-1-1-1-1)，具自然花期早、花莖數多，花萼紫色、花瓣白色之特性，進行組織培養，繁殖成代號為 97SS2 之營養系，具一致性及穩定性，命名為‘臺南 1 號’ (Tainan No.1)。為比較‘臺南 1 號’和商業品種之差異，以花色最接近之商業品種‘百萬紫’(Million Purple, Miyoshi & Co., Tokyo, Japan)為對照，進行定植前溫度處理以瞭解其對開花時間之影響。於 2008 年 3 月起開始進行組織培養，繁殖條件及栽培方法同試驗二所述。於 2008 年 9 月 8 日當植株具 5-10 片葉時出瓶至 50 格穴盤(穴盤為 53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm)種植，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann, Geeste, Germany)。於 2008 年 10 月 18 日當植株具 10-15 片時，置於日/夜溫 15/10 或 35/30°C 之生長箱，每日光照 12 小時，光強度為 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPF)，處理 4 週後，於 2008 年 11 月 22 日於 20-32°C 育苗室中馴化兩週，於 2008 年 12 月 6 日定植於塑膠布溫室。每品種每處理 15 株，定植期間之日溫為 20-28°C，夜溫 15-20°C。調查自定植到開花日數、花莖數及花莖長度，每品種每處理逢機調查 5 株。並依照星辰花品種性狀表調查‘臺南 1 號’性狀。

上述試驗之調查項目中以定植後至第一枝花顯現花色時為到花日數，小花顯色之總花莖數，第一小花序全開時之花莖長度，第一枝花之第一小花序盛開時長度。試驗皆採完全逢機試驗設計，所調查資料採用 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)統計軟體分析，並以 *t*-test 或最小顯著差異(Least significant difference, LSD)進行處理間平均值比較。

結果(Results)

試驗一、星辰花早花實生苗選種之開花性狀比較試驗

星辰花以混合種植、開放授粉，每代選拔早生單株，重覆進行至第 4 至第 5



代，其田間表現與原始品種系列具顯著差異(表 3.1)。三個選種後代花期均明顯提早，尤其以 90E2-1-1-4 最早花，定植後平均 35.5 天即開花，較原始‘超群-混合’族群之 115.5 天提早甚多，90E2-1-1-4 花莖數及第一小花序長度表現皆優於原始族群。選拔後之 89T2-1-1-3-4 在定植後 80.5 天開花，較原始‘達摩-混合’族群早約 70 天開花，但花莖數及花莖長和原始族群無顯著差異，89T-2-1-1-3-4 之第一小花序長度較原始族群長($P < 0.05$)。經選拔後之 89F1-2-2-3-1 於定植後 69.8 天即開花，較原始‘福神-混合’族群提早約 80 天開花($P < 0.01$)，花莖數及第一小花序長度也較佳($P < 0.05$)。‘超群-混合’、‘福神-混合’及‘達摩-混合’品種系列早花選育第五或六代之田間表現與原始族群有顯著差異，在 2006 年 4 月三個品種系列原始族群才開始抽花梗，但早花選拔族群則已經進入盛花期(圖 3.1)。

試驗二、星辰花早花單株選拔品種組培苗之開花性狀比較試驗

取所選拔早花優良單株 95SA、95SB、97SS2、100SS2、100SS4 (圖 3.2)與商業品種之組培苗，進行定植前日/夜溫 35/30 或 15/10°C 處理 4 週，之後再定植於田間。結果顯示定植前 35/30°C 處理會延遲多數參試品種/系之到花日數，但對 95SA 及 95SB 無影響(表 3.2)，定植前 35/30°C 處理亦會降低商業品種‘Million Purple’和‘Strawberry Jam’的花莖數，但對所選拔早花品系及‘Velvet Wings’則無顯著影響。定植前溫度處理對所有參試品種/系之花莖長無顯著影響。

試驗三、星辰花早花品種‘臺南 1 號’之開花性狀比較試驗

因 97SS2 具有早花、萼片顏色較濃、切花產量高等特性，因此命名為‘臺南 1 號’，將其與對照品種‘百萬紫’進行品種比較試驗，評估定植前高溫處理對開花時間及開花品質的影響。星辰花‘臺南 1 號’定植前在 35/30°C 處理 4 週後定植於塑膠布溫室後 82.7 天開花，而‘百萬紫’則是 102.7 天。‘臺南 1 號’定植前以 15/10°C 處理者於定植後 70.3 天開花，而‘百萬紫’則為 80.3 天，定植前溫度處理對各品種定植至開花日數具顯著影響(表 3.3)。定植前溫度處理對各品種花莖數及第一小花序

長度無顯著影響(表 3.3)。「臺南 1 號」每株平均約有 50 枝切花，顯著較「百萬紫」平均 25 枝為多。花莖長度以「臺南 1 號」較「百萬紫」長約 11 cm。以上結果顯示選育品種「臺南 1 號」之早花性及切花數目均優於商業品種「百萬紫」(圖 3.3)。

討論(Discussion)


三個星辰花混色品種系列經早花選育 4 至 5 代後，其花期均較原始族群提早約 70-80 天左右，顯示早生選種的育種策略效果卓著(表 3.1)。Cohen 等人(1995)指出星辰花'Eilat'經 5 代選種，不經春化處理於 8 月份種植在以色列 Bet-Dagan 地區，選拔後之族群花期較原始族群提早 3 個月，早花選種效果明確。利用選種的方法可使作物後代偏向選拔的目標(Conner, 2003)，例如美國風鈴草(*Campanula americana* L.)經早花選拔三代可使花期提早 25 天(Burgess et al., 2007)，甜玉米(*Zea mays* L.)經過 10 代選種，其開花之熱單位(heat units)可由 720 減少至 657 (Rubino and Davis, 1990)。本試驗中「超群-混合」及「福神-混合」選拔後族群不僅種植後到開花時間較早，花莖數亦有顯著提升，顯示在每個選拔世代，除針對早花特性外，亦對開花品質進行選拔、剔除品質差之單株，可同時提升早花特性並改善切花品質。

星辰花五個早花選拔品系及三個商業品種定植前給予 4 週 15/10 或 35/30°C 處理，於 12 月時定植於田間(日溫 20-28°C、夜溫 15-20°C)，結果除 95SA 及 95SB 之到花日數未因定植前低溫處理而縮短或高溫處理而延長，其他參試品種/系皆以 15/10°C 處理者開花時間較 35/30°C 處理者早(表 3.2)。Shillo (1976)指出溫度會影響星辰花之花芽分化及發育，11°C 處理 3 週即可滿足星辰花'Midnight Blue'之春化需求，將其播種及栽培於 27/22°C 下，則會持續營養生長，即使 9 週後再移到日溫 25 至 30°C、夜溫 20°C 的自然短日環境，也只會形成許多營養生長側枝。本試驗所選拔出的早花品系 95SA 及 95SB 對種植前溫度處理較為鈍感(表 3.2)，相較於 Shillo (1976)所敘述星辰花需要一定時間低溫處理才能開花之特性完全不同，是未

來繼續育成可在熱帶、亞熱帶地區種植且早花的星辰花新品種之重要材料。

參試的 8 個星辰花品種/系中，以‘百萬紫’及‘Strawberry Jam’會因定植前高溫處理而有花莖數減少之情形，而本研究育成之星辰花品系及商業品種‘Velvet Wings’則無顯著差異(表 3.2)。Shillo (1976)在星辰花‘Dunkelblau’定植前置於日/夜溫介於 20-40°C 溫室或 13°C 生長箱育苗 6 週，再移至夜溫最低為 18°C 的加溫溫室中，結果在溫度較高環境育苗者不僅開花率較低、開花時間較晚，花莖數亦明顯少於低溫育苗者。Cohen 等人(1995)對星辰花進行早花選拔，顯示選拔族群相較未選拔族群在定植前經 11°C 處理相同週數後，於定植後 4 個月至 8 個月期間可以有較多花莖數。然而，Cohen 等人(1995)在進行早花選拔時仍然依賴人工 11°C 處理 1 週再定植於田間，而輪迴選拔 5 代之族群未經低溫處理者於 8 月定植田間 4 個月後仍未有切花產出，即使是定植前經過 6 週低溫處理者，定植 4 個月後平均也僅採得 11 枝切花。反觀本研究中即使是早花選系中較晚開花的 97SS2 在定植前經 35/30°C 高溫處理，於 12 月定植後僅需 80.2 天即開花，且定植後 4 個月時已可收得 25 至 26 枝切花(表 3.2)，顯示本研究在選拔過程中未倚賴定植前人工低溫處理，可以選拔出開花表現優秀的早花後代，使星辰花更適合在亞熱帶地區栽培。

將星辰花‘臺南 1 號’及其對照品種‘百萬紫’於定植前處理 35/30°C 4 週之到開花時間皆明顯較處理 15/10°C 者晚(表 3.3)，此結果可能為高溫前去春化(high temperature pre-devernalization)之效應，春化作用前如經高溫處理，會降低其後之春化作用效果，使抽苔時間較晚。例如芹菜(*Apium graveolens* L.)在種植至田間前以 30°C 處理 20 天可使抽苔時間延後(Benoit et al., 1978; Sachs and Rylski, 1980)，延後的原因和碳水化合物累積有關(Brewster, 1985)。星辰花最適栽培於日溫 16-18°C、夜溫 10-13°C 環境(Auman, 1980)，溫度過高不利生長、開花。植物乾重之分布會受環境溫度之影響，如花椰菜(*Brassica oleracea* L.)給予 5°C 誘導春化及 20°C 處理，則 20°C 處理者葉片乾物累積速率明顯較 5°C 處理者高，而 5°C 處理者葉片乾物累積較少，莖頂則有明顯乾物累積(Williams and Atherton, 1990)。在菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)中，耐熱的‘Haibushi’雖然在日/夜溫 30/26°C 下根、莖及葉乾



重累積較‘Kentucky Wonder’低，但較‘Kentucky Wonder’有更高結莢率及豆莢重 (Omae et al., 2007)。推測本研究所選拔的早花‘臺南 1 號’較商業品種‘百萬紫’即使經過定植前 35/30°C 處理，仍能持續將乾物運往生殖生長處運用，因而能較商業品種更早開花(表 3.3)。

Cohen 等人(1995)認為以栽培地點之溫度條件進行星辰花早花選拔，可選得開花較早的品種。星辰花目前在臺灣平地栽培，由於使用溫帶國家選育之商業品種，需在 10 月定植已春化處理之植株，方可促使種植後較早開花，在切花價格較高的隔年 1 至 2 月間採收銷售。所以本研究於南臺灣進行星辰花早花選育，獲選之早花單株開花時間較原始族群提前許多，同時淘汰開花品質不良的早生植株，在‘福神-混合’選拔第八代後裔中即選出優良單株，其組織培養之營養系植株，表現穩定，成為一個新品種，命名為‘臺南 1 號’。

表 3.1. 星辰花早花實生苗優良選系與未選拔之原始品種到開花天數、花莖數、花莖長度及第一小花序長度比較

Table 3.1. Flowering characteristics of selected early-flowering with high quality *Limonium sinuatum* lines and their parental cultivars grown in the field at Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Oct. 2005 to Apr. 2006 (18 to 28°C, 11- to 12-h natural daylengths).

Line/Cultivar	Days to flowering	Number of flower stems per plant	Length of flower stem (cm)	Length of first corymb (cm)
90E2-1-1-4	35.5	44.8	79.1	6.6
Excellent Mix	115.5	39.0	91.5	4.2
<i>t</i> -test	**	**	NS	**
89T2-1-1-3-4	80.5	28.1	82.5	5.2
Turbo Mix	150.8	26.5	81.3	4.0
<i>t</i> -test	**	NS	NS	*
89F1-2-2-3-1	69.8	53.2	92.8	6.1
Fortress Mix	150.3	29.2	99.8	4.9
<i>t</i> -test	**	*	NS	*

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



圖 3.1. 星辰花早花選系於 2006 年 4 月在台南農業改良場之田間表現，小圖之左側為早花選種後代、右側為未選拔原種。(A)超群品種選拔第 5 代。(B)達摩品種選拔第 6 代。(C)福神品種選拔第 6 代。實生苗於 2005 年 10 月定植於田間，栽培時期平均溫度介於 18 到 28°C，日長介於 11 到 12 小時。

Fig. 3.1. Flowering performance of selected early-flowering *Limonium sinuatum* lines (left) and the parental cultivars (right) in the field at Tainan District Agricultural Research and Extension Station in Apr. 2006. A, The fifth generation of line selected from 'Excellent Mix'. B, The sixth generation of line selected from 'Turbo Mix'. C, The sixth generation of line selected from 'Fortress Mix'. The seedlings were planted in Oct. 2005, under 18 to 28°C and 11- to 12-h natural daylengths field conditions.



圖 3.2. 星辰花早花選系及商業品種之花形及花色。組培苗於 2011 年 12 月定植於田間，栽培時期平均溫度介於 15 到 28°C，日長介於 11 到 13 小時。

Fig. 3.2. Flower characteristics of selected early-flowering *Limonium sinuatum* lines and commercial cultivars grown in the field of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2011 to Apr. 2012 (15-28°C, 11- to 13-h natural daylengths).

表 3.2. 定植前溫度處理 4 週對星辰花早花選系與商業品種到開花天數、花莖數及花莖長度之影響

Table 3.2. Effects of pre-planting temperature treatments for 4 weeks on days to flowering, number of flower stems per plant, and length of flower stem of selected early-flowering *Limonium sinuatum* lines and commercial cultivars planted in the field of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2011 to Apr. 2012 (15-28°C, 11- to 13-h natural daylengths).

Line/Cultivar	Day/night temp.(°C)	Days to flowering	Number of flower stems per plant	Length of flower stem (cm)
95SA	35/30	71.4	15.0	86.7
	15/10	68.5	19.5	88.0
	<i>t</i> -test	NS	NS	NS
95SB	35/30	66.5	22.3	65.5
	15/10	64.2	24.0	70.2
	<i>t</i> -test	NS	NS	NS
97SS2	35/30	80.2	25.2	80.0
	15/10	76.3	26.4	80.3
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
100SS2	35/30	72.7	24.0	90.5
	15/10	68.7	26.3	92.2
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
100SS4	35/30	69.0	22.0	58.7
	15/10	66.1	22.6	58.3
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
Million Purple	35/30	87.3	8.3	72.3
	15/10	70.0	14.6	76.0
	<i>t</i> -test	*	*	NS
Velvet Wings	35/30	97.8	15.7	94.0
	15/10	86.4	18.3	95.3
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
Strawberry Jam	35/30	116.2	8.3	60.0
	15/10	99.0	12.3	63.7
	<i>t</i> -test	*	*	NS

NS, * Nonsignificant or significant at $P < 0.05$ by *t*-test.

表 3.3. 定植前溫度處理 4 週對星辰花‘臺南 1 號’和對照品種‘百萬紫’到開花天數、花莖數及花莖長度之影響

Table 3.3. Effects of pre-planting temperature treatments for 4 weeks on days to flowering, number of flower stems per plant, and length of flower stem of *Limonium* ‘Tainan No.1’ and the comparable cultivar ‘Million Purple’ planted in a plastic house of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2008 to Apr. 2009 (15-28°C, 10.5- to 12.5-h natural daylengths).

Cultivar	Day/night temp. (°C)	Days to flowering	Number of flower stems per plant	Length of flower stem (cm)
Tainan No.1	35/30	82.7 b ^z	49.7 a	80.3 ab
	15/10	70.3 a	51.0 a	86.5 a
Million Purple	35/30	102.7 c	22.3 b	70.3 b
	15/10	80.3 b	27.7 b	74.0 ab
Significance				
Cultivar (C)		**	**	**
Temp. (T)		**	NS	NS
C × T		NS	NS	NS

^zMean separation within columns by least significant difference test at $P < 0.05$.

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



圖 3.3. 星辰花'臺南 1 號'(左)與對照品種'百萬紫'(右)於 2010 年 3 月在臺南改良場塑膠布溫室開花情形。兩品種之組織培養苗於 2009 年 11 月 12 日定植(溫度：17-30°C、日長 10.5 至 12.5 小時)。

Fig. 3.3. Flowering performance of *Limonium sinuatum* 'Tainan No.1' (left) and the comparable cultivar Million Purple (right) in the plastic house of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from 12 Nov. 2009 to Mar. 2010 (17 to 30°C, 10.5- to 12.5-h natural daylengths).

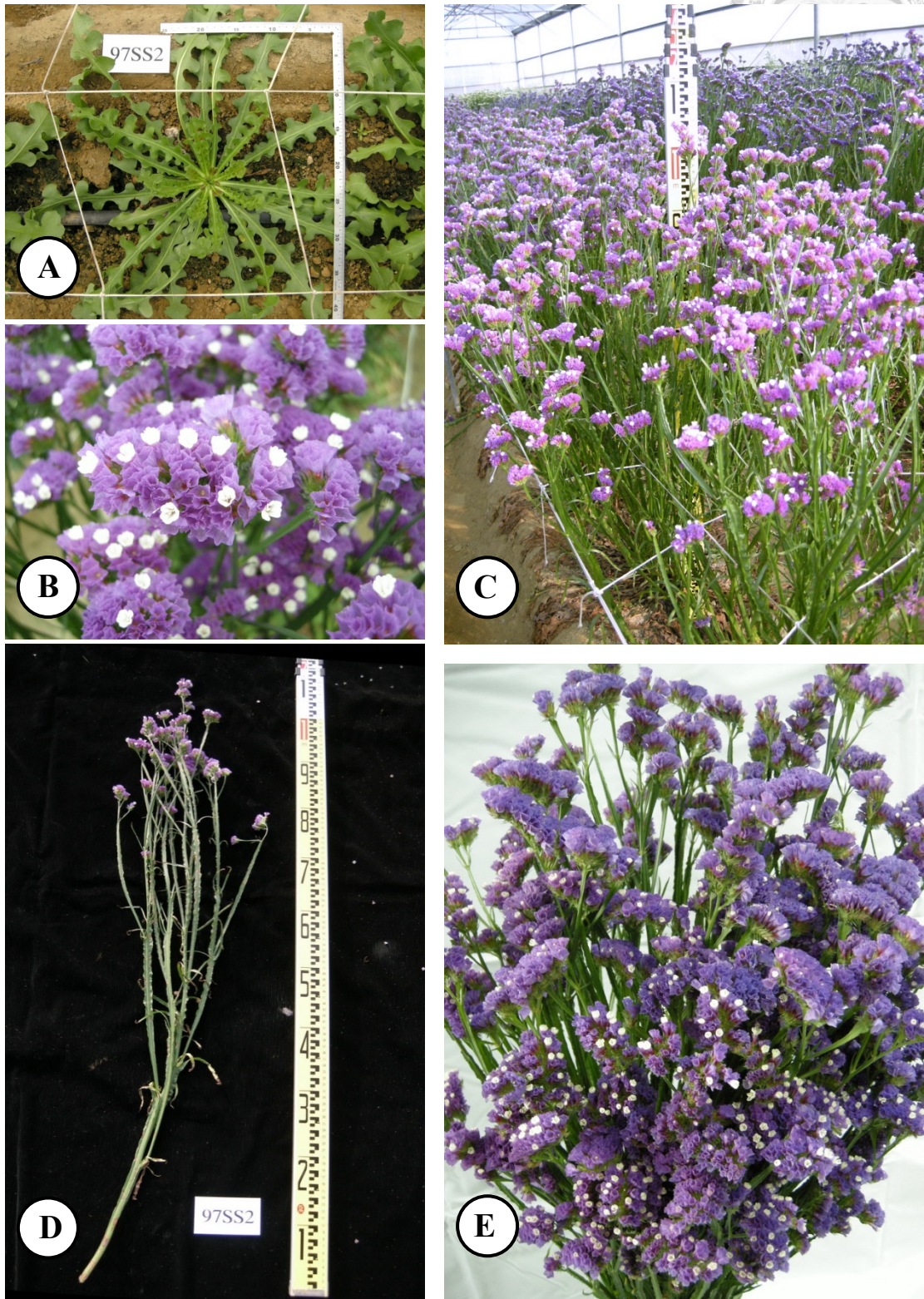
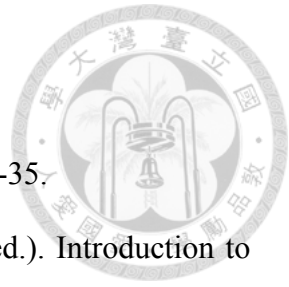


圖 3.4. 星辰花‘臺南 1 號’之植株形態。(A)幼株、(B)花穗、(C)開花表現、(D)花莖及(E)花束。

Fig. 3.4. Plant characteristics of *Limonium sinuatum* ‘Tainan No.1’. A, Young plant, B, Flower spikes, C, Flowering performance, D, Inflorescence, and E, Bouquet.

參考文獻(References)

- 沈碧君、李晔. 1982. 星辰花之生長與開花習性. 中國園藝 28:20-35.
- Auman, C.W. 1980. Minor cut crops, p.183-211. In: R.A. Larson (ed.). Introduction to floriculture. Academic Press, New York, NY, USA.
- Baker, H.G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. II. Pollen and stigate in the genus *Limonium*. Ann. Bot. 107:433-445.
- Baker, H.G. 1966. The evolution, functioning, and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. Evolution 20:349-368.
- Benoit, F., N. Ceustermans, and J.M. Kinet. 1978. Induction, suppression or prevention of vernalisation in self-blanching celery (*Apium graveolens* L. var. Dulce). Agricultura 26:163-182.
- Brewster, J.L. 1985. The influence of seedling size and carbohydrate status and of photon flux density during vernalization on inflorescence initiation in onion (*Allium cepa* L.). Ann. Bot. 55:403-414.
- Burgess, K.S., J.R. Ettersonl, and L.F. Galloway. 2007. Artificial selection shifts flowering phenology and other correlated traits in an autotetraploid herb. Heredity 99:641-648.
- Cohen, A., A. Harazy., H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early flowering in blue statice. Acta Hort. 420:118-124.
- Conner, J.K. 2003. Artificial selection: A powerful tool for ecologists. Ecology 84:1650-1660.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 65:427-432.
- Omae, H., A. Kumar, K. Kashiwaba, and M. Shono. 2006. Influence of high temperature on morphological characters, biomass allocation, and yield components in snap bean



(*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Prod. Sci. 9:200-205.

Royal Horticultural Society. 2007. The Royal Horticultural Society's colour chart. 5th ed.

Royal Hort. Soc., London.

Rubino, D.B. and D.W. Davis. 1990. Response of a sweet corn × tropical maize composite to mass selection for temperature-zone adaptation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115:848-853.

Sachs, M. and I. Rylski. 1980. The effects of temperature and daylength during the seedling stage on flower-stalk formation in field-grown celery. Scientia Hort. 12:231-242.

Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1973. Influence of germination and growing temperature on flowering of six cultivars of annual statice. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98:140-142.

Shillo, R. 1976. Control of flower initiation and development of statice (*Limonium sinuatum*) by temperature and daylength. Acta Hort. 64:197-204.

Shillo, R. and E. Zamski. 1985. *Limonium sinuatum*, p.292-301. In: A.H. Halevy (ed.). CRC Handbook of Flowering Vol. III. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Tsurushima, H. 1992. Problems in the production of statice type cut flowers (3). Problems in the breeding of *Limonium* species (2). Agr. Hort. 67:395-400.

Whipker, B.E. and P.A. Hammer 1994. Growth and yield characteristics of field-grown *Limonium sinuatum* (L.). HortScience 29:638-640.

Wilfret, G.J. and J.C. Raulston. 1975. Acceleration of flowering of statice (*Limonium sinuatum*) by gibberellic acid (GA₃). HortScience 10:37-38.

Williams, C.A. and J.G. Atherton. 1990. A role for young leaves in vernalization of cauliflower: I. Analysis of leaf development during curd induction. Physiol. Plant. 78:61-66.





第四章 生理指標測定探討星辰花之耐熱性與開花時間之關係

Chapter 4. Physiological Indices as Measures of Heat Tolerance and Relationship to Flowering Time in *Limonium*



附加關鍵字：丙二醛、光系統 II 最大光子利用效率、最小螢光值、相對傷害值

Additional index words: malondialdehyde, maximum quantum efficiency of PS II, minimal fluorescence, relative injury

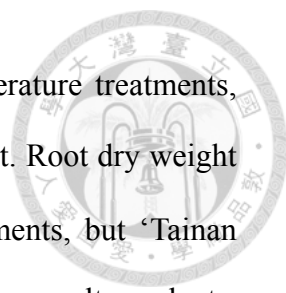
摘要

本研究旨在檢測所育成的星辰花早花品種和商業品種之細胞膜熱穩定性與葉綠素螢光參數，以測定耐熱性與開花時間之相關性。以栽培於 24°C 之‘臺南 1 號’(早花品種)及‘百萬紫’(商業品種)葉片為材料，探討水浴溫度對星辰花葉片細胞膜熱相對傷害(relative injury, RI)值之影響。將兩品種葉圓片以水浴 25-70°C 處理 30 min，測量其電解質滲漏，結果顯示水浴溫度與葉片 RI 值呈 S 曲線關係，約以水浴溫度 48°C 較能鑑別品種間熱穩定度之差異。將兩品種星辰花栽培於日夜溫 35/30 及 20/15°C 環境下，並每隔 3 天調查一次葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數。結果顯示兩品種於 35/30°C 處理之 RI 值較 20/15°C 處理者低。在 35/30°C 處理 6-12 天內，‘臺南 1 號’之 RI 值持續下降，MDA 濃度持續上升至約 64-86 nmol·g⁻¹，12 天後之 RI 值及 MDA 濃度皆維持穩定不再變動。而‘百萬紫’在 35/30°C 處理 6-15 天內，MDA 濃度持續上升至約 154 nmol·g⁻¹，之後 RI 值才穩定降低。兩品種 Fv/Fm 及 Fo 值之表現趨勢類似，品種間以‘百萬紫’Fo 值明顯較高，在 35/30°C 處理之 Fv/Fm 值下降及 Fo 值上升幅度皆以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為高。處理 30 天後，‘臺南 1 號’地上部乾重於溫度處理間無顯著差異，而‘百萬紫’則以 20/15°C 處理者顯著高於 35/30°C 處理，‘臺南 1 號’地下部乾重以 20/15°C 處理顯著高於 35/30°C 處理，而‘百萬紫’地下部乾重於處理間無顯著差異。以選育之星

辰花‘臺南 1 號’、95SA、95SB、100SS2、100SS4 品系及商業品種‘Million Purple’、‘Velvet Wings’、‘Strawberry Jam’為材料，調查定植前處理 35/30°C 當日及第 18 天時之葉片細胞膜熱穩定、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數，以第 18 天與處理當日之測值比值與定植至開花之日數進行迴歸分析，較晚開花的品種/系有較高之 RI 值比值、MDA 濃度比值及 Fo 值比值，與較低之 Fv/Fm 值比值。

Abstract

Cell membrane thermostability and chlorophyll fluorescence techniques were used to measure heat tolerance and relationship to flowering in cultivars/lines of *Limonium sinuatum*. Plants of early-flowering ‘Tainan No.1’ and comparable cultivar Million Purple were grown under 24°C for 14 days, and their recently developed leaves were sampled for cell membrane thermostability (CMT), measured as electrolyte leakage and calculated as relative injury (RI). The relationship between the RI value occurring in leaf tissue discs and water bath temperature (25-70°C) was sigmoidal for both cultivars. A single temperature treatment at 48°C resulted in RI values near midpoint of the sigmoidal response curve and showed the greatest sensitivity in detecting genotypic differences in heat tolerance. Both cultivars were grown under day/night temperatures of 35/30 and 20/15°C, and their leaf CMT, malondialdehyde (MDA) concentration, and chlorophyll fluorescence were measured at 3-d intervals. For both cultivars, leaf RI values were lower in plants at 35/30°C than at 20/15°C. Leaf RI decreased and MDA concentration increased to 64-86 nmol·g⁻¹ in ‘Tainan No.1’ at 35/30°C during 6 to 12 days, and both leaf RI and MDA remained unchanged thereafter. In contrast, leaf MDA increased from 59 to 154 nmol·g⁻¹ in ‘Million Purple’ when treated at 35/30°C from 6 to 15 days, and leaf RI decreased gradually afterwards. Changes of Fv/Fm and Fo value were similar in both cultivars. ‘Million Purple’ had higher Fo values than ‘Tainan No.1’. After 30 days, shoot dry



weight of ‘Tainan No.1’ did not differ between pre-planting temperature treatments, whereas ‘Million Purple’ at 35/30°C had decreased shoot dry weight. Root dry weight of ‘Million Purple’ were not significantly different between treatments, but ‘Tainan No.1’ had decreased root dry weight when grown under 35/30°C. Tissue culture plants, with 20-25 leaves, of selected early-flowering *Limonium* ‘Tainan No.1’, 95SA, 95SB, 100SS2, 100SS4, and commercial cultivars Million Purple, Velvet Wings, Strawberry Jam received pre-planting temperatures of 35/30°C for four weeks and then grown under field conditions. Leaf RI, MDA concentration, Fv/Fm, and Fo values were measured at start of 35/30°C treatment (day 0) and day 18 after treatment. Ratios of day 18 to day 0 were calculated and relationships between these ratios and days from planting to flowering were determined by regression analysis. Results showed that late flowering cultivars/lines were those with high ratios of leaf RI value, MDA concentration, and Fo value, and low Fv/Fm value ratio.

前言(Introduction)


地球暖化是近年熱門的話題(Smit et al., 1988)，高溫環境常造成作物生育不良、減產或開花延遲(flowering-heat-delay)等現象，以育種來改良作物的耐熱性為有效且直接的方法(Hall, 1992)。補血草屬(*Limonium*)為藍雪花科(Plumbaginaceae)一年生或多年生植物，約有 300 多個物種(Burchi et al., 2006)。其中星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill.]為本屬植物中觀賞價值最高的種類，喜好冷涼氣候，需春化以利開花(Semeniuk and Krizek, 1972, 1973; Shillo and Zamski, 1985)。在日/夜溫 16/13°C處理，促進抽苔，但不利植株營養生長，27/24°C有利於植株營養生長發育，但開花較慢(Semeniuk and Krizek, 1972)。Shillo (1976)在以色列將‘Midnight Blue’種植於生長箱(13/13°C)處理俟花芽創始之後，分別栽培於 18°C的溫室或 6-14°C的陰棚，結果顯示在 18°C溫室，於一至二月就可以採收切花，6-14°C的陰棚則需在三



至四月才有切花，顯示溫暖的氣溫促進花芽發育。

作物在高溫下的生理表現，可用來評估不同基因型的耐熱能力(Chen et al., 1982)，在高溫下生理活性受影響的程度小或是回復的能力快，可視為較具有耐熱性。高溫下，植物細胞膜層結構容易受損，因此會有細胞電解質滲漏(electrolyte leakage) (Raison et al., 1980；Wu and Wallner, 1983)，藉由鑽取葉圓片再以水浴方式給予短暫高溫處理後測量電解質滲漏情形，能計算出葉片之相對傷害值(relative injury, RI)，可判斷植物細胞膜熱穩定性(cell membrane thermostability, CMT) (Martineau et al., 1979；Wahid et al., 2007)。CMT 測量技術具快速、敏感、不需大型儀器操作等優點，為評估許多作物在高溫逆境下細胞膜層穩定性之可靠指標(Wahid et al., 2007；Wu and Wallner, 1983)。花卉作物中，如菊花[*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] (Wang et al., 2008；Yeh and Lin, 2003)、常春藤(*Hedera helix* L.) (Yeh and Hsu, 2004)、矮牽牛(*Petunia hybrids*) (林，2006；劉，2008)，皆有可利用 CMT 技術區分耐熱及不耐熱品種。七個夏菊品種於臺灣夏季種植時之開花熱延遲天數與該品種之細胞膜熱穩定性有關，細胞膜熱穩定性越低者，其開花熱延遲情形越嚴重(Yeh and Lin, 2003)。而 Wang 等人(2008)並指出四個菊花品種於日/夜溫 30/25°C 較 20/15°C 延遲之開花日數與該品種葉圓片經 50°C 水浴 30 min 之 RI 值呈正相關($R^2 = 0.83$)。

細胞膜層結構完整性不僅可以 RI 值變化判斷；高溫下會因細胞生成自由基而使膜層磷脂質不飽和脂肪酸過氧化而破損，並生成丙二醛(malondialdehyde, MDA)，因而能藉由測量MDA濃度做為細胞膜層過氧化或受傷害的指標(Anderson and Padhye, 2004；Halliwell and Gutteridge, 1989)。例如，耐寒的鷹嘴豆‘ICC16348’及‘ICC16349’較不耐寒的‘GPF2’及‘PBG1’在平均氣溫最低期間之葉片 MDA 濃度明顯較低(Kumar et al., 2011)，在菊花‘鐘山金桂’與細裂亞菊(*Ajania przewalskii* Poljakov)的屬間雜交研究中，也可以觀察到耐寒的親本細裂亞菊及屬間雜交後代在-5~-25°C 下葉片 MDA 濃度皆顯著較不耐寒親本菊花‘鐘山金桂’為低(Deng et al., 2011)。而 Wang 等人(2008)對耐熱及不耐熱的菊花品種 MDA 濃度進行連續測量，



結果顯示兩品種葉片 MDA 濃度都會在 30/25°C 處理後上升，但是耐熱品種 MDA 濃度上升幅度較小，且耐熱品種葉片 RI 值在 MDA 濃度達最高後即逐漸下降並回復到與處理當日類似值，但不耐熱品種 RI 值下降明顯較慢，在相同調查時間尚未回到與處理當日相似值。目前尚未有對補血草屬物種進行耐熱性檢測之報告，仍待進行相關研究。

葉綠素螢光參數可用於評估植物光系統 II (photosystem II, PS II) 之效率，因其具有非破壞性、測量時間短且在逆境傷害徵狀未顯現前即測得其變化等優點 (DeEll et al., 1999)，因此已被廣泛應用於作物逆境生理變化之偵測中 (Baker and Tosensqvist, 2004)。植物經過黑暗馴化後，PS II 中心打開時釋放之螢光量為最小螢光值 (minimal fluorescence, F_0)，而最大螢光值 (maximal fluorescence, F_m) 則是黑暗馴化後 PS II 經光能激發後將 Q_A ($Quinone_A$) 完全還原且排除所有淬熄 (quenching) 時釋放之螢光量，激發後 PS II 中心回到關閉狀態。PS II 最大光化學潛能 (F_v/F_m , $F_v = F_m - F_0$) 是最常用的葉綠素螢光參數，其代表 PS II 反應中心與光捕捉複合物 (light harvesting complex) 完整性 (DeEll et al., 1999)，可反映植物是否遭遇逆境。植物於高溫逆境中膜層受傷害，抑制 PS II 之作用能力，造成葉綠素螢光反應差異 (Yamane et al., 1997)，高溫可能會使 PS II 反應中心與光捕捉複合物分離 (Schreiber and Armond, 1978)， Q_A 至 Q_B 之間的電子傳遞速率下降 (Cao and Govindjee, 1990)， Q_A 的光還原能力下降 (Fork et al., 1985)，PS II 的電荷分離活性下降 (Klimov and Kransnovskii, 1981)，葉綠餅堆疊受影響、PS II 中心和/或光捕捉複合物失去活性 (Shutilova et al., 1995)。例如，番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 葉片 F_v/F_m 值隨葉溫上升而下降 (Willits and Peet, 2001)；連續監測耐熱蔓越莓 (*Rubus* L. subgenus *Idaeobatus*) ‘Mandarin’ 離體葉片在 45°C 黑暗下 F_v/F_m 值，其下降幅度較不耐熱的 ‘Qualicum’ 小，而在耐熱親本 NC497 與不耐熱親本 ‘Quliacum’ 的雜交後代族群中，20% 的後代較 NC497 於 45°C 處理 40 min 後 F_v/F_m 值為高 (Molina-Bravo et al., 2011)。將 F_v/F_m 值分別設定為 0.600 和 0.680 則蔓越莓耐熱後代選拔強度分別為 52% 及 4% (Molina-Bravo et al., 2011)，Molina-Bravo 等人 (2011) 並指出蔓越莓族群

中耐熱特性呈常態分布，因此可以藉由選拔數量性狀方式進行耐熱性育種改良。

本研究為調查選育之星辰花早花品種/系和商業品種之耐熱性及開花表現差異，在人工控溫環境下，測量細胞膜熱穩定性、葉綠素螢光參數與開花時間。並將高溫處理第 18 天與處理當日之測值比值與早花品種/系和商業品種定植至開花之日數進行迴歸分析，期望能找出可做為早期選拔使用之生理指標，以加速星辰花品種之育成。

材料與方法(Materials and Methods)

試驗一、溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數之影響

(一)、植物材料

取‘臺南 1 號’和花色最接近之商業品種‘百萬紫’為材料進行組織培養。取長約 5 cm 之幼花梗為培植體，初代培養為全量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 鹽類，內含 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 菸鹼酸(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)及 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 螯合鐵($\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{Na-EDTA}$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)，並添加 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA 及 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)，繼代培養使用上述 MS 培養基添加 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA 及 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA，每 30 天繼代 1 次。於 2011 年 5 月，當植株具 5-10 片葉時出瓶至 50 格穴盤(穴盤為 $53.0\times 27.5 \text{ cm}$ ，圓形穴格，每穴格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm)種植，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann, Geeste, Germany)。於 2011 年 6 月 8 日，當植株具 10-15 片葉時移植至 15 cm 盆內，介質採用泥炭苔(Base Substrate 1, Klasmann, Geeste, Germany)、真珠石(3 號，南海水蛭石股份有限公司，新北市，臺灣)及有機肥(臺糖田寶 11 號，臺灣糖業公司，臺南，臺灣)以 3:1:1 (v/v)混合，並於每盆介質表面施用 3 g 緩釋肥(Hi-Control 14-11-13, 旭化成ケミカルズ株式会社, Tokyo, Japan)。當植株具 20-25 片葉時，於 2011 年 8 月 19 日自育苗室移入生長箱，每日



光照 12 h，光強度為 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Photosynthetic photon flux, *PPF*)，以日/夜溫 24/24°C 馴化 2 週。


(二)、星辰花品種細胞膜熱穩定性鑑別溫度之建立

細胞膜熱穩定性之量測方法係參考 Yeh 與 Lin (2003)，植株於日/夜溫 24/24°C 處理 14 天時，逢機取各溫度各品種完全展開葉為材料，在清水下輕輕沖洗後，以直徑 6 mm 打孔器鑽取葉圓片，混合盛裝於有一次蒸餾水的量杯中漂洗，每枝裝有 1 mL 去離子水之試管放置 5 個葉圓片為 1 重複，每處理 3 重複。以 25、30、35、40、42、44、45、46、48、50、52、54、56、55、60、65 及 70°C 處理 30 min，待冷卻後再添加 15 mL 去離子水，以矽膠透氣塞封口，於 5°C 下靜置 24 h，取出回復至室溫後以電導度計 (Model SC-2300, Suntex instruments Co., Taipei, Taiwan) 測定溶液 EC 值為 I 值，隨後將葉圓片連同溶液以高溫高壓 (121°C 、 $1.2 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$) 進行破壞 15 min，待冷卻至室溫時量測組織細胞內全部電解質之滲漏值，為 F 值。參考 Martineau 等人 (1979) 計算熱相對傷害值 (Relative injury, RI)。公式： $\text{RI} (\%) = \{1 - [1 - (T_i/T_F)] / [1 - (C_i/C_F)]\} \times 100$ ，T 和 C 分別表示水浴溫度處理組和對照組 (室溫 25°C)，I 和 F 表示第一次和第二次量測之 EC 值。將各水浴溫度與其對應之葉片 RI 值進行迴歸分析，並由方程式計算 RI 值達 50% 之熱致死溫度 ($T_{50\%}$)。

(三)、溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數之影響

於 2011 年 9 月 2 日將生長箱日/夜溫分別調整為 35/30 及 20/15°C，每品種每處理 16 盆，於處理當日 (day 0)、第 3、6、9、12、15、18、21、24 及 27 天量測熱相對傷害值，測量條件為 48°C 水浴 30 min，並測量丙二醛濃度與葉綠素螢光參數。

丙二醛測量參考 Heath 和 Packer (1968) 測量丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 之方法並進行修改。取完全展開葉鮮重約 0.45 g 之葉片組織，置於 2 mL 離心管加鋼珠以均質機 (MAGNA Lyser Instrument, Roche Diagnostics Ltd., Mannheim, Germany) 5000 rpm 研磨 30 s，加入 1.8 mL TCA (Trichloroacetic acid, 5 % w/v) 再研



磨 30 s，用離心機(Avanti J-25, Beckman Coulter Inc., Brea, USA)以 12096 g_n 離心 5 min，取上清液 1 mL 加入 4 mL TBA (Thiobarbituric acid, 0.5% w/v 溶於 TCA 20% w/v)，置於 95°C 水浴 30 min，後迅速插入碎冰中以停止反應，再以超音波震盪器去除溶液中之氣泡，於 4°C 以 2080 g_n 離心(Allegra 6R, Beckman Coulter Inc., Brea, USA) 15 min，取上清液以全波長分光光度計(DU®800 UV/Vis Spectrophotometer Wavelength Scan II, Beckman Coulter Inc., Brea, USA)測定波長 532 及 600 nm 之吸光值(A_{532} 、 A_{600})，並以測定 1 mL TCA(5%,w/v)為空白對照組，每品種每處理 6 重複。每克樣品中 MDA 濃度($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)為 $(A_{532}-A_{600})\div 155(\text{消光係數, } \text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})\times 5(\text{反應體積, mL})\times 1.8(\text{稀釋倍數})\times 1000\div \text{樣品鮮重(g)}$ 。

葉綠素螢光值測量取完全展開葉避開中脈部份，先以自製黑絨紙遮覆葉片，進行暗馴化 30 min 後，以可攜式葉綠素螢光測定儀(Mini-PAM, Walz GmbH, Effeltrich, Germany)，於該溫度生長箱中直接測量最新完全展開葉先端之最小螢光值(minimal fluorescence, F_0)與光系統 II 最大光子利用效率(maximum quantum efficiency of photosystem II photochemistry, F_v/F_m , $F_v = F_m - F_0$)，其中 F_m 為最大螢光值。每品種每處理測量 9 片葉，且固定每次量測葉片。

於 2011 年 10 月 2 日結束試驗，並將植株分為地上部及地下部，洗淨後於 65 °C 烘箱烘乾至重量不再減少後秤量乾重。

試驗二、星辰花早花選育品種/系及商業品種耐熱生理指標與其到開花天數之相關性

以育成之星辰花‘臺南 1 號’、95SA、95SB、100SS2、100SS4 及商業品種‘Million Purple’、‘Velvet Wings’、‘Strawberry Jam’為材料。組織培養繁殖條件及栽培方法同試驗一所述。於 2012 年 8 月 11 日當植株具 20-25 片葉時移入日/夜溫為 24/24 °C 生長箱馴化 2 週。於 2012 年 8 月 25 日將日夜溫調整為 35/30°C，並在處理當日(第 0 天，day 0)及處理後第 18 天(day 18)量測葉片細胞膜熱穩定性、葉綠素螢光參數及 MDA 濃度，每品種每處理調查 16 盆。將處理第 18 天之值減去第 0 天之值再除以第 0 天之值，以消除個體間差異，其公式如下：



$$\text{Ratio} = (\text{Day 18} - \text{Day 0}) / \text{Day 0}$$

經日/夜溫 35/30°C 處理 4 週後定植於田間，調查自定植到開花日數(詳如第三章試驗二)，和相對葉片細胞膜熱穩定性、葉綠素螢光參數及 MDA 濃度進行迴歸分析。

以上試驗皆採完全逢機試驗設計，採用 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)統計軟體分析，並以最小顯著差異(Least significant difference, LSD)進行處理間平均值比較，以 SigmaPlot 10.0(Systat Software Inc., Chicago, IL, USA)進行繪圖。

結果(Results)

試驗一、溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數之影響

(一)、星辰花品種細胞膜熱穩定性鑑別溫度之建立

取栽培於 24°C 生長箱的星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片鑽取葉圓片，並以不同水浴溫度處理 30 min 後，檢測細胞電解質滲漏，經計算得到葉片相對傷害值(relative injury, RI)。結果顯示兩星辰花品種之葉片 RI 值隨水浴溫度增加而呈 S 型曲線變化，曲線轉折範圍在 45-53°C 之間(圖 4.1)，‘臺南 1 號’及‘百萬紫’之 T_{50%}分別為 47.4 及 47.9°C，曲線中點之相對傷害值分別為 48.2%及 49.6%，約以 48°C 較能區分星辰花品種葉片膜熱穩定性。

(二)、溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數之影響


兩參試星辰花品種在 24°C 生長箱內馴化 2 週後，將日/夜溫度分別調整為 35/30 及 20/15°C，自處理當日(第 0 天)開始每隔 3 天測量一次葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數。結果顯示栽培於 35/30°C 下之‘臺南 1 號’ RI 值在處理後持續下降，第 12 天至第 27 天間無顯著變化，而栽培於 20/15°C 者雖

於處理第 3 天 RI 值較低，但之後上升，至處理第 15 天後再明顯下降(圖 4.2)。

栽培於 35/30°C 之‘百萬紫’RI 值雖於處理當日至第 6 天期間明顯下降，但第 6 天至第 12 天期間再度升高，而於處理第 12 天至第 18 天再次下降後不再顯著變化；栽培在 20/15°C 者 RI 值變化趨勢與栽培於 35/30°C 者類似，但 RI 值於第 15 天至第 18 天才開始下降，較 35/30°C 處理者晚 3 天，但同樣於第 18 天開始 RI 值不再顯著變化(圖 4.2)。整體而言，星辰花‘百萬紫’葉片 RI 值不論在 35/30 或 20/15 °C，其下降時間皆較‘臺南 1 號’晚 3 天，而 RI 值達穩定狀態時間亦較‘臺南 1 號’晚。品種間以‘臺南 1 號’之平均 RI 值較‘百萬紫’為高，兩品種栽培在 35/30°C 者 RI 值皆較栽培於 20/15°C 者為低(表 4.1)。

星辰花‘臺南 1 號’於 35/30°C 處理當日至第 12 天期間，葉片 MDA 濃度持續上升至 64-86 nmol·g⁻¹，處理第 12 天至第 21 天之間 MDA 濃度維持穩定。‘臺南 1 號’栽培於 20/15°C 者，MDA 濃度變化趨勢與栽培於 35/30°C 者相似，但較 20/15 °C 處理者早 3 天達穩定狀態，並於第 18 天至第 24 天之間呈下降趨勢(圖 4.2)。星辰花‘百萬紫’於 35/30°C 處理第 6 天至第 15 天期間 MDA 濃度顯著自 59 nmol·g⁻¹ 上升至 142-154 nmol·g⁻¹，於處理第 21 天至第 27 天期間呈下降趨勢。而‘百萬紫’栽培於 20/15°C 者，於處理第 6 天至第 12 天 MDA 濃度顯著上升，於第 15 天至第 18 天濃度下降，之後 MDA 濃度維持穩定(圖 4.2)。整體而言，星辰花‘百萬紫’葉片 MDA 濃度較‘臺南 1 號’晚達到穩定狀態，且於 35/30°C 下 MDA 濃度明顯較‘臺南 1 號’為高(表 4.1)。

綜合比較葉片 RI 值及 MDA 濃度變化結果，在 35/30°C 下，‘臺南 1 號’葉片 MDA 濃度於處理第 3 天即顯著較處理當日高，其葉片 RI 值亦顯著下降，第 3 天至第 12 天期間 MDA 濃度持續上升，而 RI 值則明顯下降，之後 MDA 濃度及 RI 值皆無顯著變化(圖 4.2)。反觀‘百萬紫’於 35/30°C 處理當日至第 6 天期間 RI 值明顯下降，但 MDA 濃度無顯著變化，而處理第 6 天開始 RI 值顯著上升，MDA 濃度亦隨之升高，且濃度增加幅度較‘臺南 1 號’為明顯。雖然‘百萬紫’葉片 MDA 濃度於處理第 6 天至第 12 天期間持續升高，但並未如‘臺南 1 號’於處理第 3 天至第



12 天有葉片 RI 值隨 MDA 濃度增加而隨之下降的表現，而需遲至處理第 15 天 MDA 濃度達最高時，RI 值才明顯下降，而 MDA 濃度於處理第 21 天至第 27 天期間，當 RI 值已穩定不再變化時才顯著下降(圖 4.2)。在 20/15°C 下，‘臺南 1 號’ RI 值於處理第 3 天至第 12 天期間逐漸上升，而 MDA 濃度於第 12 天達最高，第 12 天至第 15 天期間 RI 值明顯下降，MDA 濃度亦隨之明顯下降，之後 MDA 濃度不再顯著變化，而 RI 值則持續下降(圖 4.2)。「百萬紫」於 20/15°C 處理者和‘臺南 1 號’有類似反應，但 MDA 濃度於處理後第 12 天及第 15 天皆較高，而 RI 值亦於第 15 天達最高，處理第 18 天時 MDA 濃度下降，其後不再顯著變化，而 RI 值亦於第 18 天開始不再顯著變化(圖 4.2)。

星辰花‘臺南 1 號’ Fv/Fm 及 Fo 值在 20/15°C 下均無顯著變化，而其於 35/30°C 下以處理當日 Fv/Fm 值最高，之後 Fv/Fm 值雖上下波動，但無顯著差異，Fo 值則於處理後逐漸上升，至處理第 12 天時最高，之後上下波動並有下降趨勢(圖 4.3)。「百萬紫」Fv/Fm 值在 20/15°C 下處理第 15 天及第 24 天略高，同時 Fo 值亦較低，然整個測量期間無明顯差異，而其於 35/30°C 下 Fv/Fm 值於處理第 6 天及第 12 天顯著較低，至處理第 21 天才回復至於處理當日相當，但處理第 21 天至第 27 天有下降趨勢，Fo 值於處理第 3 天至第 12 天上升，至處理第 18 天都顯著較高，於處理第 18 天至第 21 天顯著下降，處理第 21 天至第 27 天又有上升趨勢(圖 4.3)。整體而言，品種間 Fv/Fm 值沒有顯著差異，而 Fo 值則以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為高，兩品種栽培在 35/30°C 時皆有 Fv/Fm 值下降，Fo 值上升之情形(表 4.1)，但 Fv/Fm 值下降及 Fo 值上升幅度皆以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為大。

兩參試星辰花品種於兩種日/夜溫度處理 30 天之地上部及地下部清洗後外觀如圖 4.4 所示，其中葉色表現以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為濃綠，而‘臺南 1 號’栽培於 20/15°C 下葉色較淺。地下部清洗後可觀察到在 35/30°C 下‘百萬紫’根明顯較栽培於 20/15°C 者少，而‘臺南 1 號’以 20/15°C 處理者根明顯較‘百萬紫’為多，但栽培在 35/30°C 時亦有根較少之情形。植株乾重方面，地上部乾重以栽培於 20/15°C 之‘百萬紫’最重，然‘百萬紫’栽培於 35/30°C 時乾重顯著較低，而‘臺南 1 號’於處理

間無顯著差異(表 4.1)。地下部乾重以栽培於 20/15°C 之‘臺南 1 號’最重，其於 35/30°C 栽培時顯著較低，但皆顯著高於‘百萬紫’，而‘百萬紫’兩種溫度處理之地下部乾重無顯著差異(表 4.1)。



試驗二、星辰花早花選育品種/系及商業品種耐熱生理指標與其到開花天數之相關性

為檢測試驗一所使用的耐熱相關生理指標是否可做為星辰花早期選拔指標或輔助早花選拔工作進行，以所選拔早花品種/系及商業品種為材料，測量日/夜溫 35/30°C 處理當日及第 18 天之葉片細胞膜熱穩定性、葉綠素螢光參數及丙二醛濃度，並以第 18 天相較於處理當日之比值與各品種/系經定植前 35/30°C 處理 4 週，定植於田間到開花之日數進行迴歸分析。結果顯示所檢測的 4 個耐熱相關生理指標中，以葉片丙二醛濃度、葉綠素螢光參數 Fv/Fm 值及 Fo 值有較高決定係數(R^2)，分別為 0.99、0.91 及 0.95，而葉片相對熱傷害之 R^2 則較低，為 0.71 (圖 4.5)。

葉片 RI 值比值與定植後之到開花日數迴歸結果顯示，較晚花的‘Strawberry Jam’ RI 值比值明顯較高(0.79)，而參試早花品種/系及其他兩個商業品種之 RI 值比值則皆為負值(-0.19 ~ -0.78)，其中又以 100SS4 之比值最小(圖 4.5)。

葉片丙二醛濃度比值與定植後到開花日數迴歸結果顯示，隨丙二醛濃度比值增加，定植後到開花日數則較晚，早花品種/系之比值介於-0.53 ~ -0.31，到開花天數介於較晚開花商業品種及早花品種/系間的‘百萬紫’，其比值為 0，而定植後較晚開花的‘Velvet Wings’及‘Strawberry Jam’其丙二醛濃度比值分別為 4.2 及 10.5 (圖 4.5)。


在 35/30°C 處理第 18 天 Fv/Fm 值相較於處理當日 Fv/Fm 值之比值與到開花日數之迴歸分析中，定植後到開花日數越晚者，其 Fv/Fm 比值越小，尤以‘Velvet Wings’及‘Strawberry Jam’兩商業品種之 Fv/Fm 比值為負，商業品種‘百萬紫’到開花日數約介於定植後較晚開花的商業品種及所選育早花品種/系間，其 Fv/Fm 比值(0.014)較接近‘臺南 1 號’及早花選系 95SA，而所選育之早花品種/系其 Fv/Fm 比值皆為正值，並介於 0.016-0.025 (圖 4.5)。

將 35/30°C 處理第 18 天 Fo 值與處理當日 Fo 值比值與到開花日數進行迴歸，其趨勢與 Fv/Fm 值相反，隨 Fo 比值增加則定植後到開花日數較晚，並以較晚開花的商業品種之 Fo 比值較高，而‘百萬紫’介於較晚開花的商業品種及早花品種/系間，其 Fo 比值較接近‘Velvet Wings’及早花選系 95SA，而所選育之早花品種/系，除 95SA 外，介於-0.152 ~ -0.239 (圖 4.5)。

討論(Discussion)

兩參試星辰花品種葉圓片經 25-70°C 水浴處理後，其電解質滲漏率與水浴溫度呈 S 曲線變化(圖 4.1)。此趨勢與其他作物相似，如菊花(Wang et al., 2008; Yeh and Lin, 2003)、日日春及香豌豆(Anderson and Padhye, 2004)、常春藤(Yeh and Hsu, 2004)、矮牽牛(劉, 2008)、非洲菊(*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook f.) (陳, 2007)、番茄和馬鈴薯(*Solanum tuberosum* L.) (Chen et al., 1982)等類似，其葉片電解質滲漏率對水浴溫度之反應皆為 S 型曲線變化。若要在大量種質(germplasm)中選拔出具耐熱性的植株時，藉由單一溫度處理比較品系間細胞膜層熱穩定性之差別，能加速選拔工作之進行，而此溫度必須接近 S 型曲線中點溫度，且須能鑑別品種間差異(Martineau et al., 1979)。本試驗指出兩參試品種細胞膜熱相對傷害值達 50% ($T_{50\%}$)之溫度分別為 47.4 及 47.9°C，約以 48°C 可做為代表星辰花品種/系 $T_{50\%}$ 之鑑別溫度(圖 4.1)。其他作物中，鑑別耐熱及不耐熱品種之 $T_{50\%}$ 溫度，菊花為 50°C (Wang et al., 2008; Yeh and Lin, 2003)，矮牽牛為 48°C (劉, 2008)，非洲菊為 53°C (陳, 2007)，常春藤為 50°C (Yeh and Hsu, 2004)。

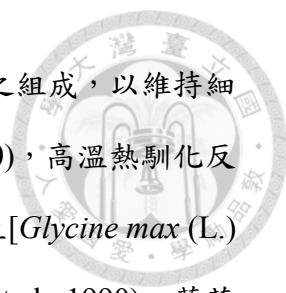
取兩星辰花品種葉圓片於 48°C 水浴 30 min，並每隔 3 天即取樣調查一次，結果顯示早花的‘臺南 1 號’在日/夜溫 35/30°C 處理第 3 天及第 12 天，RI 值皆較前一次取樣顯著為低，而‘百萬紫’在相同日夜溫下，雖然處理後 RI 值持續下降，但第 6 天至第 12 天 RI 值又再度升高，並於第 12 天至第 18 天再次下降，反應與‘臺南 1 號’略有不同(圖 4.2)。兩參試品種葉片 RI 值變化與其 MDA 濃度變化趨勢有關



聯；其中‘臺南 1 號’於處理後 MDA 濃度即持續上升，至第 12 天時濃度不再顯著變化，而此時 RI 值亦明顯下降，另一方面，‘百萬紫’葉片 MDA 濃度於處理後沒有立刻顯著上升，而此時 RI 值持續下降，第 6 天時 RI 值開始持續上升，而 MDA 濃度亦開始顯著增加，第 15 天 RI 值下降時，MDA 濃度達高峰，第 24 天開始 RI 值及 MDA 濃度皆有下降趨勢(圖 4.2)。MDA 濃度可做為膜脂質過氧化受損程度之指標，其濃度愈高，則意謂膜脂質受到較多過氧化損傷(Anderson and Padhye, 2004; Halliwell and Gutteridge, 1989)。星辰花‘百萬紫’在 35/30°C 處理後 MDA 濃度較‘臺南 1 號’晚到達平衡，且上升幅度較高(圖 4.2)，顯示‘百萬紫’在此溫度下有較多膜脂質過氧化傷害，無法維持較高膜穩定度；RI 值變化趨勢亦顯示‘百萬紫’細胞膜滲漏較‘臺南 1 號’晚修復完成(圖 4.2)。


植物為適應高溫逆境而發展出一些機制以維持正常代謝反應，其中包括改變生物膜穩定性，以抵抗或減少高溫造成的損害(Wahid et al., 2007)，一般又以熱休克蛋白質合成量增加(Rajeev et al., 1998)及抗氧化相關酵素活性上升(Bailey et al., 1996; Hall, 1992)較常見於報導。例如，將高粱(*Sorghum bicolor* L. Moench)和珍珠粟[*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.]品系在 43°C 馴化 2 h 後給予 35-55°C 處理，耐熱品系葉片中熱休克蛋白質合成量明顯較不耐熱品系增加(Howarth et al., 1997)；在 37/26°C 下，較耐熱的草坪草(*Poa pratensis* L.)品種其於逆境處理第 21 天時細胞電解質滲漏、MDA 濃度較低，過氧化氫酶(catalase)及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)比活性較不耐熱品種為高，可減少活性氧族(active oxygen species)對膜脂質造成過氧化傷害(Liu et al., 2008)。推測‘臺南 1 號’在 35/30°C 下較‘百萬紫’早開始合成熱休克蛋白質或抗氧化相關酵素活性較快上升，因此其膜脂質過氧化逆境較‘百萬紫’早穩定，因而其細胞電解質滲漏率下降幅度及下降時間皆小於‘百萬紫’，而‘百萬紫’在高溫下與修復細胞膜層相關之生理生化反應可能較慢或修復能力較差，因此在修復過程中，MDA 濃度會持續上升而較晚達平衡。

統計顯示兩參試品種栽培於較高溫度時，葉片 RI 值皆有下降趨勢，但以‘臺南 1 號’下降較‘百萬紫’較多，顯示兩品種皆有熱馴化之生理反應，但以‘臺南 1 號’




熱馴化效果較佳(表 4.1)。作物會因遭遇高溫而改變細胞膜結構之組成，以維持細胞膜的正常通透性，使細胞質的滲漏程度降低(Raison et al., 1980)，高溫熱馴化反應可見於許多作物，如高粱和珍珠粟(Howarth et al., 1997)、大豆[*Glycine max* (L.) Merr.] (Chen et al., 1982)、番椒(*Capsicum annuum* L.) (Anderson et al., 1990)、菊花(王和葉，2013)、矮牽牛(劉，2008)及非洲菊(陳，2007)等。其中又以耐熱品種熱馴化反應較不耐熱品種為明顯，如開花熱延遲鈍感的菊花‘卡若里’栽培於較高溫時，其相對傷害值 S 曲線中點溫度較栽培於涼溫時升高，而開花熱延遲敏感的‘金風車’則 S 曲線中點溫度未明顯升高(王，2013)，耐熱非洲菊‘Monte Crysto’亦較不耐熱的‘Rosalin’有明顯 T_{50} 溫度升高之表現(陳，2007)，種子系矮牽牛‘PrimeTime Carmine’較‘Tidal Wave Silver’不耐熱，亦缺乏 T_{50} 因栽培在較高溫度環境而升高之表現(劉，2008)，而高粱和珍珠粟亦是以耐熱品系可以經由 43°C 馴化 2 h 處理達到在高溫下仍有較高地上部生長及較少細胞膜電解質滲漏，而不耐熱品系則缺乏耐熱性提高表現(Howarth et al., 1998)。

星辰花‘百萬紫’ Fv/Fm 值於 35/30°C 處理第 6 天及第 12 天顯著較低，且需至第 21 天才回復至與處理當日相當，而‘臺南 1 號’於處理期間 Fv/Fm 值無顯著差異，品種間 Fo 值以‘百萬紫’較高(表 4.1；圖 4.3)。非洲菊耐熱品種於 33°C 處理 14 天之 Fv/Fm 值無顯著差異，而不耐熱品種在 33°C 下 Fv/Fm 值仍持續下降(陳，2007)，耐熱蔓越莓之‘Mandarin’ Fv/Fm 值下降幅度較不耐熱‘Qualicum’小。當環境條件改變時，植物體內葉綠素螢光值的變化可反應環境對植物之影響(Jiang et al., 2003)，高溫會破壞 PS II 的電子傳遞使 Fo 增加，Fv/Fm 下降(Mohanty et al., 1989)，Fo 和 Fv/Fm 二項數值與作物之耐熱性相關性高(Yamada et al., 1996)。「百萬紫」於較高溫度下 Fv/Fm 顯著下降，且較‘臺南 1 號’晚回復至與處理當日相當值(圖 4.3)，顯示高溫使‘百萬紫’PS II 受到較‘臺南 1 號’更多損害，而有電子傳遞效率下降之情形，且‘百萬紫’MDA 濃度上升幅度較高亦較晚下降(圖 4.2)，可能 PS II 與膜不穩定和/或抗氧化酵素活性上升較慢，使還原電子傳遞鏈中間受質之效率下降，而致整體電子傳遞效率下降。



於溫度處理 30 天後，地上部乾重以栽培於涼溫下之‘百萬紫’最重，但溫度提高時‘百萬紫’地上部乾重則顯著下降，而‘臺南 1 號’則無顯著差異(表 4.2)；地下部乾重對溫度反應則與地上部相反，以‘百萬紫’於溫度處理間無顯著差異，而‘臺南 1 號’於高溫處理後地下部乾重顯著降低(表 4.2)。補血草屬植物之生育及開花和溫度有關(Burchi et al., 2006；Harada,1998)，Auman (1980)指出星辰花最適栽培於日溫 16-18°C、夜溫 10-13°C 環境，溫度過高較不利生長、開花。耐熱的菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.) ‘Haibushi’雖然在日/夜溫 30/26°C 下根、莖及葉乾重累積較‘Kentucky Wonder’低，但較‘Kentucky Wonder’有更高結莢率及豆莢重(Omae et al., 2007)。第三章中因而推測早花的‘臺南 1 號’較商業品種‘百萬紫’即使經過定植前 35/30°C 處理，仍能持續將乾物運往生殖生長處運用，因而能較商業品種更早開花(表 3.3)。而本章試驗結果顯示‘臺南 1 號’在涼溫下本來就較‘百萬紫’可累積更多根乾重，其於高溫下栽培雖然根乾重較少，但地上部乾重則未顯著變化，可能是較多乾重分配給地上部供營養生長及生殖生長所需；相較之下，‘百萬紫’在高溫下雖然也有地下部乾重下降之趨勢，但並未達到顯著差異，可能其地上部於高溫下消耗乾重即較多，地下部無法明顯累積乾物，或地下部為累積足量乾物而與地上部競爭乾物消耗。Whealy 等人(1987)推論菊花在高溫下發生開花熱延遲，與高溫干擾同化物運輸而發生營養與生殖生長間競爭碳同化物有關，而 Williams 和 Atherton (1990) 將花椰菜置於可誘導開花之 5°C 及較不利花芽創始的 20°C 中，結果 20°C 下葉片乾物重累積較 5°C 者明顯，不利莖頂乾物累積及供花芽創始所需。推測本試驗中星辰花‘臺南 1 號’與耐熱菜豆‘Haibushi’類似(Omae et al., 2007)，高溫下根部乾物累積減少，以維持地上部乾物累積供後續花芽創始及發育使用，而‘百萬紫’為維持根部乾物有一定累積，而使地上部乾物累積受影響而減少，因而使花芽創始時間延後。


本研究為克服星辰花品種/系本身的基礎差異，以計算比值方式客觀比較高溫對耐熱相關生理指標之影響(圖 4.5)。此外，試驗一中植株於 24°C 栽培 14 天時檢測細胞膜熱穩定性，‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉圓片於 48°C 水浴 30 min 之 RI 值分別



為 68.0%及 52.3% (圖 4.1)，但當試驗二中植株栽培於 35/30°C 時，兩品種 RI 值隨栽培日數而下降，無法訂立可公平判斷兩品種 RI 值之取樣時間點，而第 18 天時兩品種 RI 值雖皆已趨穩定，但兩品種 RI 值分別為 6.9%及 5.3% (圖 4.2)，顯著較試驗一中低，亦不能區分品種之差異。在其他作物的耐熱性檢測中亦有相似的作法，如落花生(*Arachis hypogaea* L.) (Craufurd et al., 2003)、食用豆莢類(Srinivasan et al., 1996)、鼠尾草(*Salvia* sp.) (Lasseigne et al., 2007)等。

以五個選育之早花品種/系和三個商業品種為材料，將高溫處理第 18 天相較於處理當日之耐熱相關生理指標比值與第三章中各品種/系經定植前 35/30°C 處理 4 週後之到開花日數進行迴歸。結果顯示所檢測的四個耐熱相關生理指標中，以葉片丙二醛濃度與到開花天數間之決定係數最高，為 0.99，其次為葉綠素螢光參數 Fv/Fm 及 Fo 值，其 R² 分別為 0.91 及 0.95，而熱相對傷害值之 R² 最低，為 0.71 (圖 4.5)。耐熱菊花‘卡若里’及不耐熱的‘金風車’可以用葉片 MDA 濃度表現區分品種差異(王, 2013)，草坪草品種中也可應用 MDA 濃度表現差異選出較耐熱品種(Liu et al., 2008)，而細胞膜熱穩定性技術則已應用於許多作物耐熱品種之鑑別與選拔(王和葉, 2013；劉, 2008；Wang et al., 2008；Yeh and Hsu, 2004；Yeh and Lin, 2003；)。葉片 MDA 濃度及 RI 值皆著眼於高溫對細胞膜層傷害之生理反應，兩項生理指標之在高溫處理後的反應理應相似，但可觀察到本研究中參試的早花品系 100SS4 及商業品種‘Velvet Wings’之 RI 值表現和 MDA 濃度表現較不吻合，100SS4 之 RI 值顯著較其他早花品種/系低，而‘Velvet Wings’的 RI 值則與所選育的早花品種/系相似(圖 4.5)。本研究除‘臺南 1 號’及‘百萬紫’外(圖 4.2)，未對其他參試品種之各項耐熱生理指標進行連續測量，推測以比值方式評估品種/系之早花性雖合理(Craufurd et al., 2003；Lasseigne et al., 2007；Srinivasan et al., 1996)，但適當的比較時間點還有待進一步測試更多品種以確立之，且建議在運用膜層熱穩定性生理指標篩選星辰花早花品種/系時，以葉片 MDA 濃度會較 RI 值有更高的可信度。

另一方面，葉綠素螢光參數 Fv/Fm 值及 Fo 值與定植前經 35/30°C 處理 4 週後



之到開花日數相關性亦高(圖 4.5)。王和曾(2010)將 12 個甜椒品種栽培於日/夜溫 33/22°C 下,並調查其葉綠素螢光參數,其中耐熱品系之 PSII 效能顯著較高,Nyarko 等人(2008)指出甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)品系在經 30-45°C 處理 3 h 後,比在 23-26°C 下可檢驗出耐熱品種之差異,且葉綠素螢光的檢驗效果較熱相對傷害值佳,此與本試驗以葉綠素螢光值之決定係數較熱相對傷害值高的結果(圖 4.5)相同。此外,Molina-Bravo 等人(2011)並依照大量調查雜交後代葉片經 45°C 處理 40 min 之葉綠素螢光參數,進一步建立可篩選出較具耐熱特性蔓越莓後代的 Fv/Fm 門檻值。綜合以上,在高溫下測量星辰花葉片丙二醛濃度、葉綠素螢光值及熱相對傷害值,可篩選出較有可能具早花性之品種/系,做為新品種/系是否適合在臺灣亞熱帶氣候條件下栽培之初步評估方法。

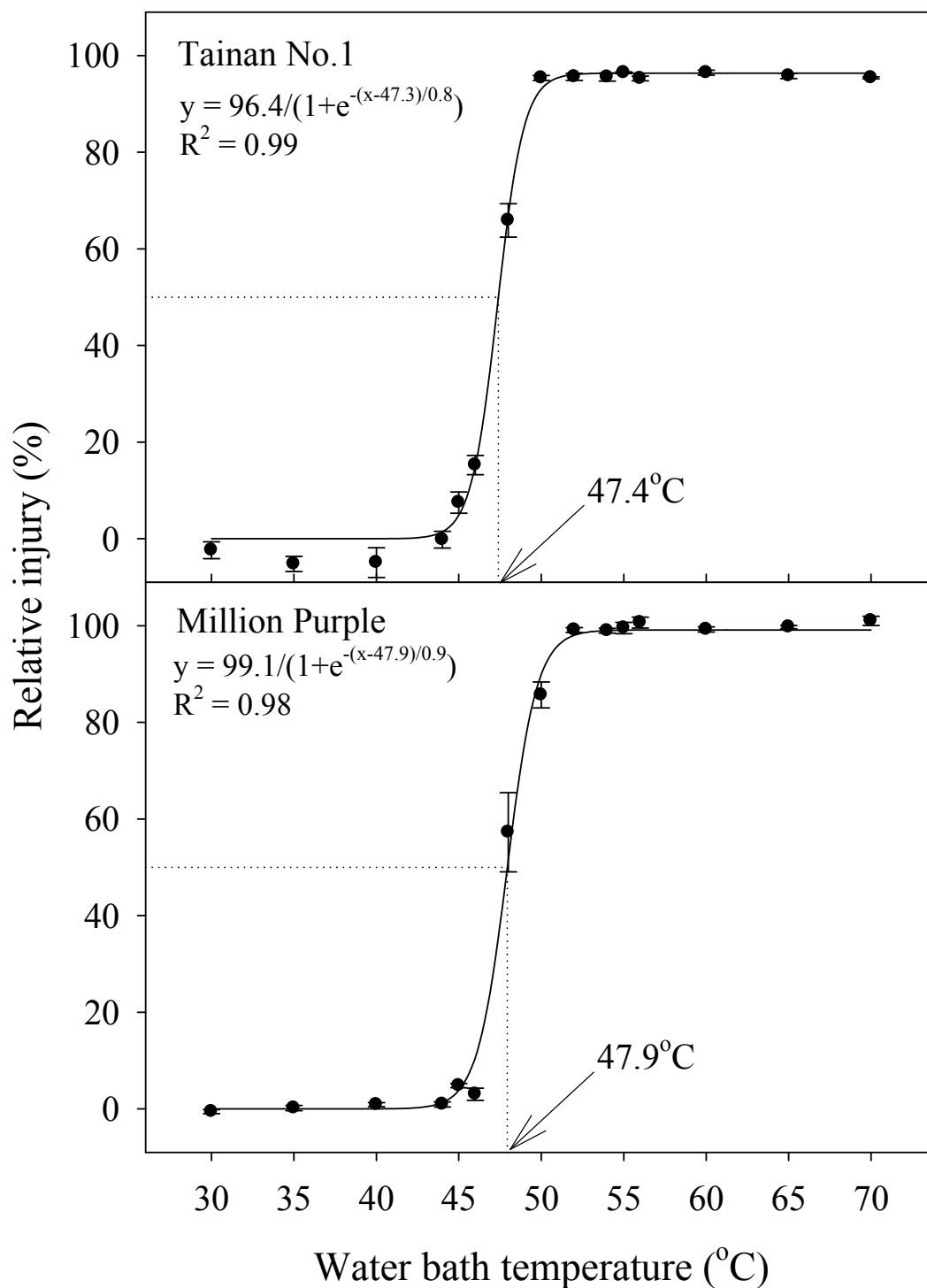


圖 4.1. 水浴溫度對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’栽培於 24°C 下 14 天時葉片相對熱傷害值之影響

Fig. 4.1. Effect of water bath temperature on relative injury of leaves in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple grown at 24°C for 14 days. Bars represent the SE and are not visible if smaller than the symbol (n=5).

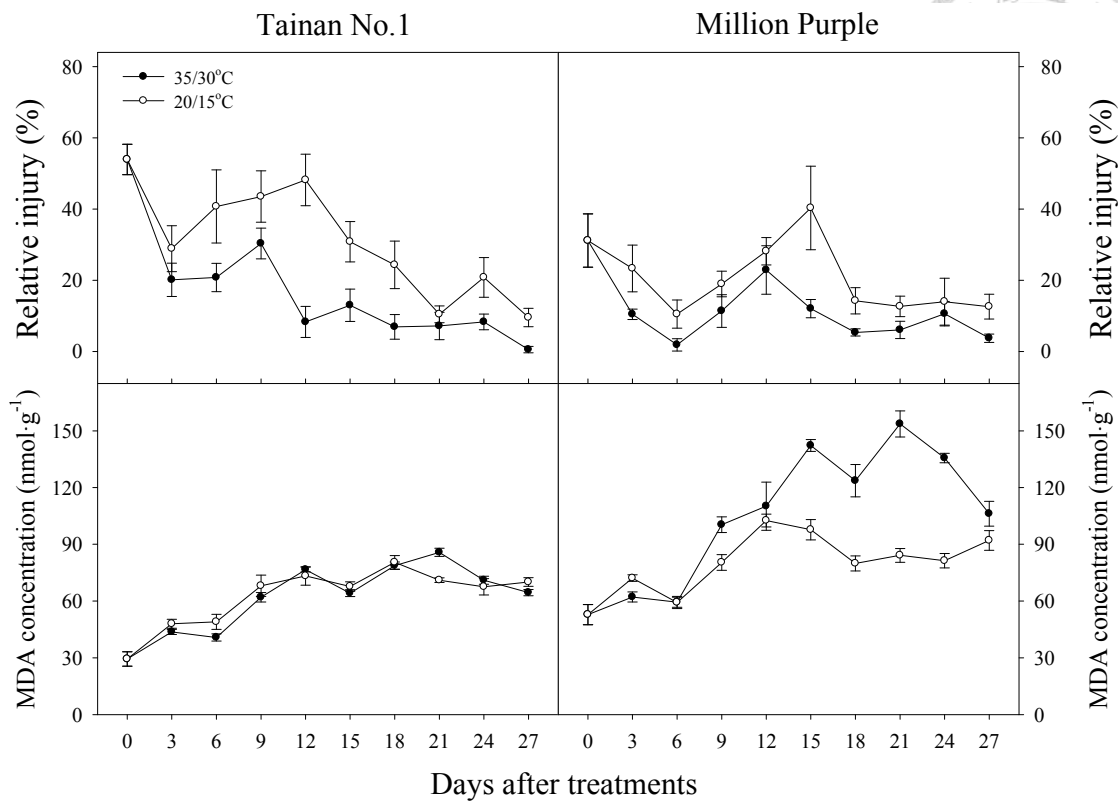


圖 4.2. 定植前溫度處理(35/30°C和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’於 48°C 水浴 30 分鐘之葉片熱相對傷害值及葉片丙二醛濃度變化之影響

Fig. 4.2. Changes in relative injury at 48°C water bath temperature for 30 minutes and malondialdehyde concentration of leaves in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple after pre-planting temperatures treatments of 35/30 and 20/15°C. Bars represent the SE and are not visible if smaller than the symbol (n=5).

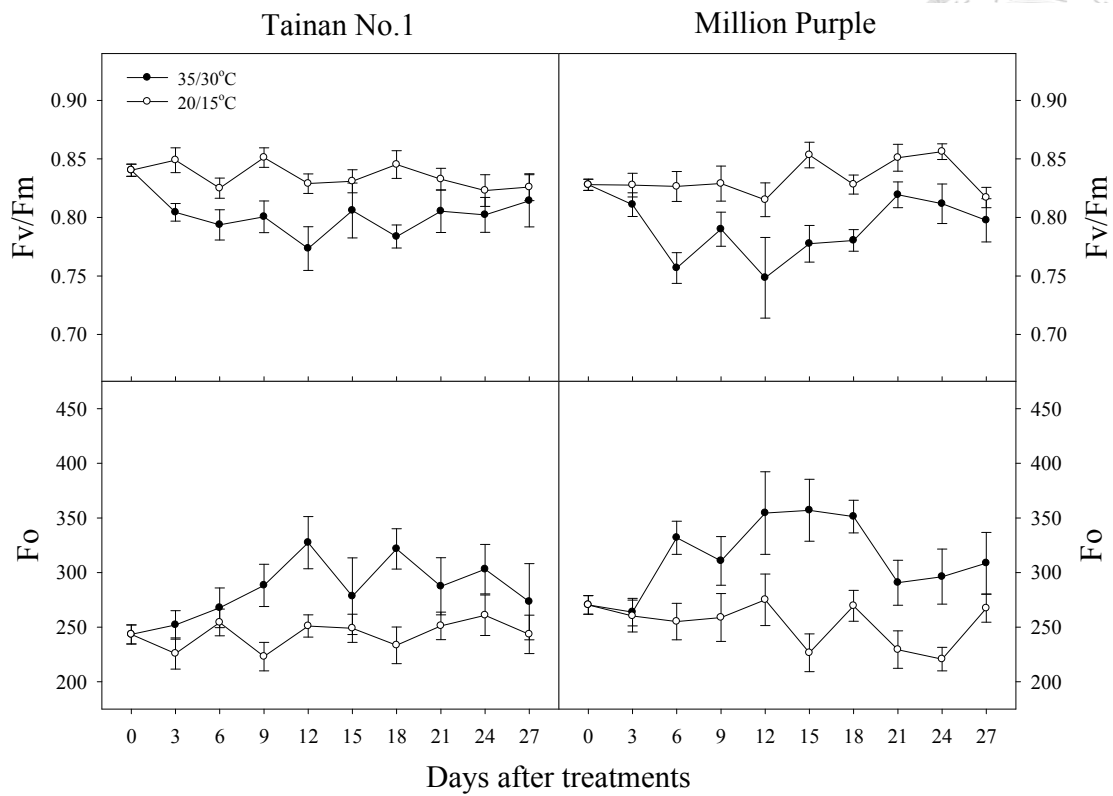


圖 4.3. 定植前溫度處理(35/30°C和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片葉綠素螢光 Fv/Fm 及 Fo 值變化之影響

Fig. 4.3. Changes in leaf Fv/Fm and Fo value of *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple after pre-planting temperature treatments of 35/30 and 20/15°C. Bars represent the SE and are not visible if smaller than the symbol (n=9).

表 4.1. 定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C)對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’葉片相對熱傷害、丙二醛濃度、葉綠素螢光參數 Fv/Fm 和 Fo 值之影響

Table 4.1. Effects of pre-planting day/night temperature treatments (35/30 and 20/15 °C) on leaf relative injury, malondialdehyde concentration, Fv/Fm, and Fo value in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple.

Cultivar	Day/night temp (°C)	RI (%)	MDA concn. (nmol·g ⁻¹)	Fv/Fm	Fo
Tainan No.1	35/30	16.9 bc ^z	61.7 c	0.806 b	280.5 b
	20/15	31.1 a	62.5 c	0.836 a	243.6 c
Million Purple	35/30	11.5 c	104.6 a	0.795 b	309.6 a
	20/15	20.6 b	80.2 b	0.833 a	254.9 c
Significance					
Cultivar (C)		***	***	NS	***
Temperature (T)		***	***	***	***
C × T		NS	***	NS	NS

^zMean separation within columns by least significant difference at $P < 0.05$.

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

Measurements were taken at 3-days intervals and 27-days data were pooled.

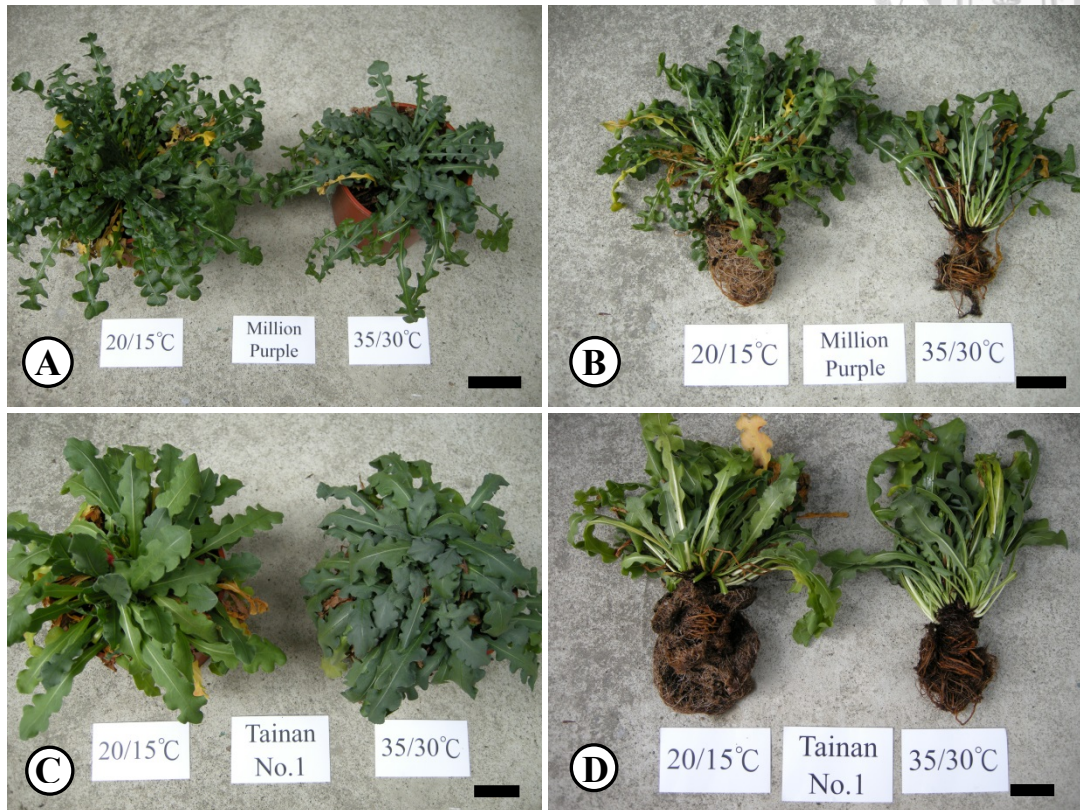


圖 4.4. 定植前溫度處理(35/30°C 和 20/15°C) 30 天對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’地上部及地下部外觀之影響

Fig 4.4. Effects of pre-planting day/night temperature treatments (35/30 and 20/15°C) on shoot and root appearance of *Limonium* cultivars Tainan No. 1 and Million Purple at 30 d after treatments. Bars = 5 cm.

表 4.2. 定植前溫度(35/30°C 和 20/15°C)處理 30 天對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’
地上部及地下部乾重之影響

Table 4.2. Effects of pre-planting day/night temperature treatments (35/30 and 20/15°C)
on shoot and root dry weights in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million
Purple at 30 d after treatments.

Treatment		Dry weight (g)	
Cultivar	Day/night temp. (°C)	Shoot	Root
Tainan No.1	35/30	8.7 b ^z	6.2 b
	20/15	10.1 b	9.5 a
Million Purple	35/30	10.4 b	3.2 c
	20/15	12.1 a	3.7 c
Significance			
Cultivar (C)		NS	***
Temp (T)		NS	*
C×T		NS	NS

^zMean separation within columns by least significant difference test at $P < 0.05$.

NS, *, *** Nonsignificant or significant at $P < 0.05$ or 0.001 by ANOVA test.

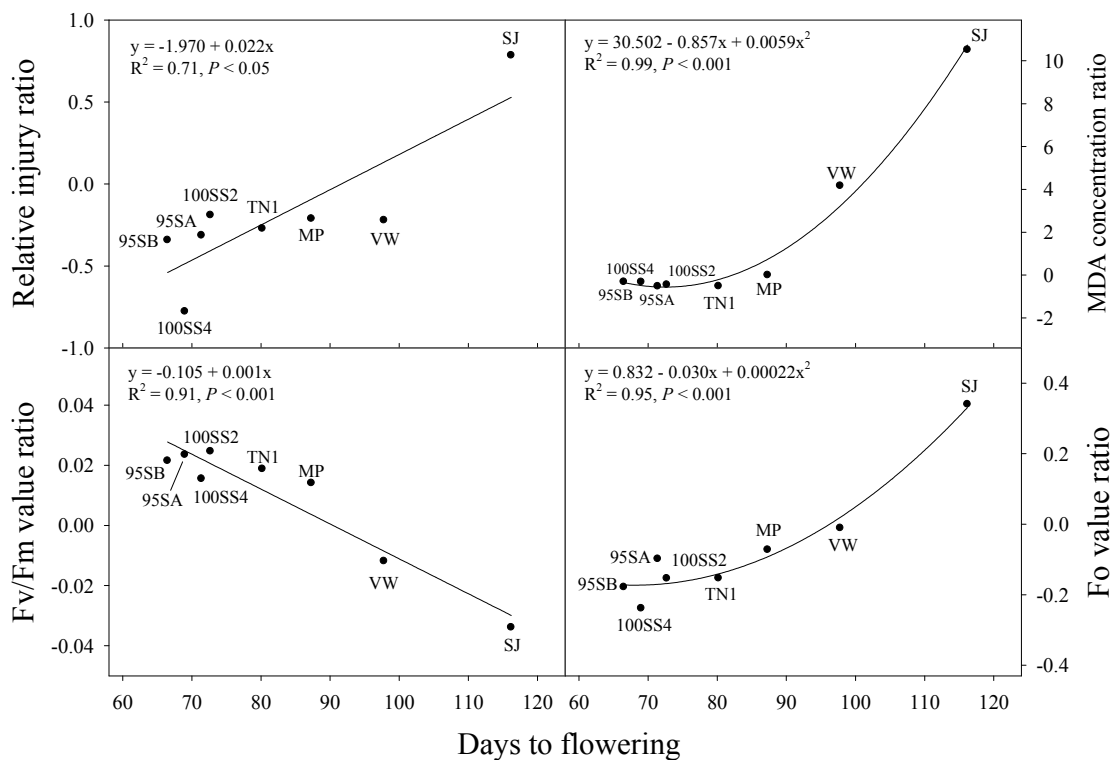


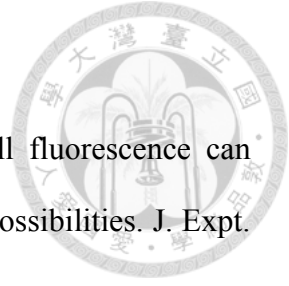
圖 4.5. 星辰花早花選拔品種/系及商業品種在定植前 35/30°C 處理第 18 天相較處理當天(第 0 天)之葉片相對熱傷害比值、丙二醛濃度比值、葉綠素螢光參數 Fv/Fm 比值及 Fo 比值與定植前日/夜溫 35/30°C 處理 4 週後定植於田間至開花天數之關係。

Fig. 4.5. Relationship between ratios of relative injury, malondialdehyde concentration, Fv/Fm, and Fo value of leaves in early-flowering selected *Limonium* cultivar/lines (TN1, Tainan No.1, 95SA, 95SB, 100SS2, 100SS4) and commercial cultivars (MP, 'Million Purple', SJ, 'Strawberry Jam', VW, 'Velvet Wings'). Ratios were calculated with plants grown under field conditions (15-28°C, 11- to 13-h natural daylengths) after pre-planting treatment at 35/30 °C for 4 weeks. Data measured at day 18 and the start of 35/30°C treatment (day 0) were used for calculation of ratio as: (Day18 – Day 0) / Day 0.

參考文獻(References)

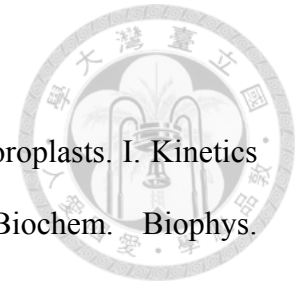


- 王昭月、曾夢蛟. 2010. 利用葉綠素螢光與有效授粉估測甜椒之耐熱性. 臺灣農業研究 59:237-248.
- 王進學. 2005. 以膜熱穩定性技術評估菊花開花之熱延遲. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文. 臺北. 臺灣.
- 王進學. 2013. 不同開花熱延遲菊花品種之形態及生理研究. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系博士論文. 臺北. 臺灣.
- 王進學、葉德銘. 2013. 菊花之細胞膜熱穩定性檢測及其應用於篩選耐熱實生苗. 臺灣園藝 59:153-166.
- 林嘉洋. 2006. 耐熱矮牽牛之耐熱性與耐熱指標. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文. 臺北. 臺灣.
- 陳思如. 2007. 非洲菊耐熱指標與切花生理. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文. 臺北. 臺灣.
- 劉子瑄. 2008. 矮牽牛品種及其自交或雜交後代之耐熱性與花朵性狀表現. 國立臺灣大學園藝學系碩士論文. 臺北. 臺灣.
- Anderson, J., G. McCollum, and W. Roberts. 1990. High temperature acclimation in pepper leaves. HortScience 25:1272-1274.
- Anderson, J.A. and S.R. Padhye. 2004. Protein aggregation, radical scavenging capacity, and stability of hydrogen peroxide defense systems in heat-stressed vinca and sweet pea. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 129:54-59.
- Auman, C.W. 1980. Minor cut crops, p.183-211. In: R.A. Larson (ed.). Introduction to floriculture. Academic Press, New York, NY, USA.
- Bailly, C., A. Benamar, F. Corbineau, and D. Come. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. Physiol.



- Plant. 97:104-110.
- Baker, N.R. and E. Rosenqvist. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *J. Expt. Bot.* 55:1607-1621.
- Burchi, G., A. Mercuri, C. Bianchini, E. Mercatelli, M. Maletta, and T. Schiva. 2006. Results of a breeding activity on *Limonium* spp. *Acta Hort.* 714:43-49.
- Cao, J. and Govindjee. 1990. Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1015:180-188.
- Chen, H.H., Z.Y. Shen, and P.H. Li. 1982. Adaptability of crop plants to high temperatures stress. *Crop Sci.* 22:719-725.
- Craufurd, P.Q., P.V.V. Prasad, V.G. Kakani, T.R. Wheeler, and S.N. Nigam. 2003. Heat tolerance in groundnut. *Field Crops Res.* 80:63-77.
- DeEll, J.R., O. van Kooten, R.K. Prange, and D.P. Murr. 1999. Application of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. *Hort. Rev.* 23:69-197.
- Deng, Y.M., S.M. Chen, F.D. Chen, X. Cheng, and F. Zhang. 2011. The embryo rescue derived intergeneric hybrid between chrysanthemum and *Ajania przewalskii* shows enhanced cold tolerance. *Plant Cell Rpt.* 30:2177-2186.
- Fork, D.C., P. Mohanty, and S. Hoshina. 1985. The detection of early events in heat disruption of thylakoid membranes by delayed light emission. *Physiol. Veg.* 23:511-521.
- Hall, A.E. 1992. Breeding for heat tolerance. *Plant Breed Rev.* 10:129-168.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Harada, D. 1998. *Limonium*, p.630-633. In: V. Ball (ed.). *Ball redbook*. 16th ed. Ball

Publishing, Batavia, IL, USA.



Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125:189-198.

Howarth, C.J., C.J. Pollock, and J.M. Peacock. 1997. Development of laboratory-based methods for assessing seedling thermotolerance in pearl millet. *New Phytol.* 137:129-139.

Jiang, C.D., H.Y. Gao, and Q. Zou. 2003. Changes of donor and acceptor side in photosystem II complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves. *Photosynthetica* 41:267-271.

Klimov, V.V. and A.A. Kransnovskii. 1981. Pheophytin as the primary electron acceptor in photosystem II reaction centres. *Photosynthetica* 15:592-602.

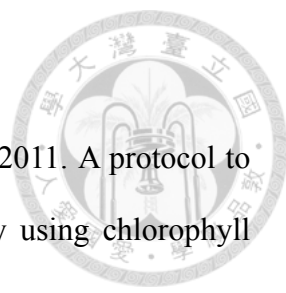
Kumar, S., J. Malik, P. Thakur, S. Kaistha, K.D. Sharma, H.D. Upadhyaya, J.D. Berger, and H. Nayyar. 2011. Growth and metabolic responses of contrasting chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes to chilling stress at reproductive phase. *Acta Physiol. Plant.* 33:779-787.

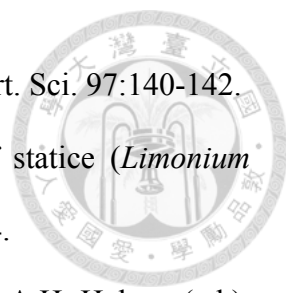
Lasseigne, F.T., S.L. Warren, F.A. Blazich, and T.G. Ranney. 2007. Day/night temperature affects growth and photosynthesis of cultivated *Salvia* taxa. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132:492-500.

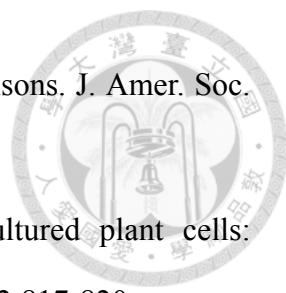
Liu, J.R., X.R. Xie, J.X. Du, J.X. Sun, and X.M. Bai. 2008. Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Hort.* 115:190-195.

Martineau, J.R., J.E. Specht, J.H. Williams, and C.Y. Sullivan. 1979. Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Sci.* 19:75-78.

Mohanty, N., J. Vass, and S. Demeter. 1989. Impairment of photosystem 2 activity at the level of secondary quinone electron acceptor in chloroplasts treated with cobalt,

- 
- nickel and zinc ions. *Physiol. Plant.* 76:386-390.
- Molina-Bravo, R., C. Arellano, B.R. Sosinski, and G.E. Fernandez. 2011. A protocol to assess heat tolerance in a segregating population of raspberry using chlorophyll fluorescence. *Scientia Hort.* 130:524-530.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 65:427-432.
- Nyarko, G., P.G. Alderson, J. Craigon, E. Murchie, and D.L. Sparkes. 2008. Comparison of cell membrane thermostability and chlorophyll fluorescence parameters for the determination of heat tolerance in ten cabbage lines. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 83:678-682.
- Omae, H., A. Kumar, K. Kashiwaba, and M. Shono. 2006. Influence of high temperature on morphological characters, biomass allocation, and yield components in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Prod. Sci.* 9:200-205.
- Raison, J.K., J.A. Berry, P.A. Armond, and C.S. Pike. 1980. Membrane properties in relation to the adaptation of plants to temperature stress, p.261-273. In: N.C. Turner and P.J. Kramer (eds.). *Adaptation of plant to water and high temperature stress.* Wiley, New York.
- Rajeev, A., D.S. Pitchay, B.C. Bearce. 1998. Water-stress-induced heat tolerance in geranium leaf tissues: A possible linkage through stress proteins? *Physiol. Plant.* 103:24-34.
- Schreiber, U. and P.A. Armond. 1978. Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level. *Biochim. Biophysic. Acta* 502:138-151.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1972. Long days and cool night temperature increase flowering of greenhouse grown *Limonium* cultivars. *HortScience* 7:293.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1973. Influence of germination and growing temperature

- 
- on flowering of six cultivars of annual statice. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:140-142.
- Shillo, R. 1976. Control of flower initiation and development of statice (*Limonium sinuatum*) by temperature and daylength. *Acta Hort.* 64:197-204.
- Shillo, R. and E. Zamski. 1985. *Limonium sinuatum*, p.292-301. In: A.H. Halevy (ed.). *CRC Handbook of Flowering Vol. III.* CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Shutilova, N., G. Semenova, V. Klimov, and V. Shnyrov. 1995. Temperature-induced functional and structural transformation of the photosystem II oxygen-evolving complex in spinach subchloroplast preparations. *Biochem. Mol. Biol.* 35:1233-1243.
- Smit, B., L. Ludlow, and M. Brklacich. 1988. Implications of a global climatic warming for agriculture: A review and appraisal. *J. Environ. Qual.* 17:519-527.
- Srinivasan, A., H. Takeda, and T. Senboku. 1996. Heat tolerance in food legumes as evaluated by cell membrane thremostability and chlorophyll fluorescence techniques. *Euphytica* 88:35-45.
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf, and M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plant: An overview. *Environ. Expt. Bot.* 61:199-223.
- Wang, C.H., D.M. Yeh, and C.S. Sheu. 2008. Heat tolerance and flowering-heat-delay sensitivity in relation to cell membrane thermostability in chrysanthemum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133:754-759.
- Whealy, C.A., T.A. Nell, J.E. Barret, and R.A. Larson. 1987. High temperature effects on growth and floral development of chrysanthemum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112:464-468.
- Williams, C.A. and J.G. Atherton. 1990. A role for young leaves in vernalization of cauliflower: I. Analysis of leaf development during curd induction. *Physiol. Plant.* 78:61-66.
- Willits, D.H. and M.M. Peet. 2001. Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat

- 
- stress inducator in tomato: Laboratory and greenhouse comparisons. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126:188-194.
- Wu, M.T. and S.J. Wallner. 1983. Heat stress responses in cultured plant cells: Development and comparison of viability tests. *Plant Physiol.* 72:817-820.
- Yamada, M., T. Hidaka, and H. Fukamachi. 1996. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Scientia Hort.* 67:39-48.
- Yamane, T., Y. Kashino, H. Koike, and J. Satoh. 1997. Increases in the fluorescence F_o level and reversible inhibition of photosystem II reaction center by high-temperature in higher plants. *Photosyn. Res.* 52:57-64.
- Yeh, D.M. and H.F. Lin. 2003. Thermostability of cell membranes as a measure of heat tolerance and relationship to flowering delay in chrysanthemum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128:656-660.
- Yeh, D.M. and P.Y. Hsu. 2004. Heat tolerance in English ivy as measured by an electrolyte leakage technique. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79:298-302.





第五章 星辰花之花芽創始及發育之度積值模式

Chapter 5. A Thermal Time Model of Flower Initiation and Development in *Statice*


附加關鍵字：溫度三基點、品種、溫度、度積值

Additional index words: cardinal temperatures, cultivar, temperature, thermal time

摘要

本研究以星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’為材料，建立溫度對花芽創始及發育之基礎溫度(base temperature, T_b)、最適溫度(optimum temperature, T_{opt})及最大溫度(maximum temperature, T_{max})，並以此三基點建立度積值(thermal time, $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$)。取具10-15片葉之植株置於3、5、7、9、12、15、18及21 $^{\circ}\text{C}$ 分別處理14、21及28天，再移至24 $^{\circ}\text{C}$ 生長箱環境後，調查花下葉片數及到花芽可見天數。以花下葉片數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，結果顯示‘臺南1號’之 T_b 為-3.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為12.3 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為22.1 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘百萬紫’之 T_b 為-5.2 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為11.3 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為24.7 $^{\circ}\text{C}$ 。以到花芽可見天數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，結果顯示‘臺南1號’之 T_b 為-1.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為12.0 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為27.2 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘百萬紫’之 T_b 為-0.9 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{opt} 為10.9 $^{\circ}\text{C}$ ， T_{max} 為23.4 $^{\circ}\text{C}$ 。‘臺南1號’之花芽創始或到可見花芽之速率約在230 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ 時達到飽和春化反應，而‘百萬紫’在給予之春化處理範圍內尚未飽和，顯示‘臺南1號’春化所需度積值較‘百萬紫’少。將花芽已創始之星辰花植株置於15、18、21、24、27、30、33、36 $^{\circ}\text{C}$ 下，並調查其花芽發育階段。取創始至(第一花穗花朵全數開放)盛花天數之倒數，計算花芽發育速率，結果顯示‘臺南1號’花芽發育 T_b 為10.7 $^{\circ}\text{C}$ ，‘百萬紫’為10.1 $^{\circ}\text{C}$ ，而‘臺南1號’從花芽創始至第一花穗花朵全數開放之度積值為373.8 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ ，‘百萬紫’則為407.2 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ ，顯示‘臺南1號’花芽發育速度較‘百萬紫’稍快。本研究所建立模式未來可應用在實際栽培生產時，控制環境溫度以調節春化種苗生產或切花出貨時間。

Abstract



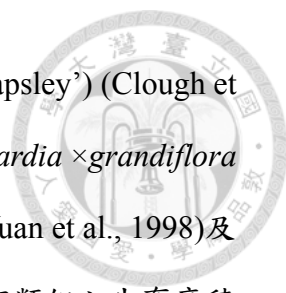
This study aimed to determine the base (T_b), optimum (T_{opt}), and maximum (T_{max}) temperatures and to calculate the thermal times required for flower initiation and development in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. Plants with 10 to 15 leaves were treated under 3, 5, 7, 9, 12, 15, 18, and 21°C for 14, 21, and 28 days, respectively, and these plants were then placed to 24°C growth room conditions for further growth. Leaf number below the flower and days to visible flower bud were recorded. Rate of progress to flower initiation was calculated as the reciprocal of leaf number below the flower. The estimated T_b , T_{opt} , and T_{max} for ‘Tainan No.1’ were estimated as -3.0, 12.3, and 22.1°C, and as -5.2, 11.3, and 24.7°C for ‘Million Purple’. Rate of progress to flower bud visibility was calculated as reciprocal of days to visible flower bud. The estimated T_b , T_{opt} , and T_{max} for ‘Tainan No.1’ were -1.0, 12.0, and 27.2°C, and -0.9, 10.9 and 23.4°C for ‘Million Purple’. ‘Tainan No.1’ had saturated vernalization response with vernalizing thermal time of ca. 230 °Cd, whereas ‘Million Purple’ did not reach saturated response under the conditions constructed. Results showed that ‘Tainan No.1’ had lower vernalization requirement than ‘Million Purple’. Post-initiation development was studied in plants placed under 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, and 36°C, and floral developmental stage was recorded. The T_b for flower development was estimated as 10.7°C in ‘Tainan No.1’, and 10.1°C in ‘Million Purple’. The thermal times required from flower initiation to anthesis were estimated as 373.8°Cd in ‘Tainan No.1’, and 407.2°Cd in ‘Million Purple’. Results showed that the flower developmental rate of ‘Tainan No.1’ was slightly faster than ‘Million Purple’. The established model could be applied for both nursery and cut flower production.

前言(Introduction)



星辰花[*Limonium sinuatum* (L) Mill.]為補血草屬切花作物，喜好冷涼氣候，需春化以利開花(Semeniuk and Krizek, 1972, 1973; Shillo and Zamski, 1985)。日/夜溫16/13°C處理可促進星辰花抽苔，但不利植株營養生長，而27/24°C雖有利植株營養生長發育，但開花較晚(Semeniuk and Krizek, 1972)。Shillo (1976)亦指出11-13°C可促進星辰花花芽創始，而日/夜溫22-27/12-16°C則可促進花芽發育。Auman (1980)指出星辰花最適栽培於日溫16-18°C、夜溫10-13°C環境，溫度過高較不利生長、開花。

Roberts和Summerfield (1987)指出在最適溫度(optimum temperature, T_{opt})下植物生長發育或開花最早，而在低於基礎溫度(base temperature, T_b)或高於最高溫度(maximum temperature, T_{max})之生長發育或開花速率理論上為0。開花速率(rate of progress to flowering)一般以開花天數(days to flowering)之倒數評估之。介於 T_b 和 T_{opt} 之間的溫度稱為sub-optimum temperature，在此範圍內，隨溫度上升，則植物越早開花。而當溫度介於 T_{opt} 和 T_{max} 之間，則稱為supra-optimum temperature，此時隨溫度提高，植物越晚開花。植物生長或開花的最適溫度、基礎溫度及最高溫度又被合稱為溫度三基點(cardinal temperatures)。例如，瓜葉菊(*Senecio ×hybrida* L. 'Cindy Blue')的到開花天數隨春化溫度自3°C提高至6°C而減少，但當溫度自6°C再逐漸增加至24°C，則到開花天數又逐漸增加，依到開花天數倒數與春化處理期間之溫度進行迴歸分析，則可得知其春化期間之三基點溫度約為-0.3、5.9及15.8°C (Yeh et al., 1997)。依三基點溫度可推算植物為滿足特定發育階段所需要的度積值(thermal time, °Cd)，建立各植物之度積值模式後，可由環境的溫度累積而預測到達某一生長階段所需之時間(Atherton et al., 1998)，有利生產者規劃栽培曆。例如已知瓜葉菊'Cindy Blue'春化三基點溫度為-0.3、5.9及15.8°C，且春化需求為150°Cd時，可以推算如在4和6°C進行春化處理，則分別需要約35及23天才能滿足瓜葉菊'Cindy Blue'的春化需求(Yeh et al., 1997)。其他作物如玫瑰(*Rosa ×hybrida* L.)



(Pasian and Lieth, 1994)、月見草(*Oenothera fruticosa* L. ‘Youngii-lapsley’) (Clough et al., 2001)、金雞菊(*Coreopsis grandiflora* ‘Sunray’)、金光菊(*Gaillardia* × *grandiflora* ‘Goldsturm’)、西洋濱菊(*Leucanthemum* × *superbum* ‘Snowcap’) (Yuan et al., 1998)及星辰花雜交種[*L. sinuatum* (L.) Mill. × *L. perezii* (Stapf) Hubb.]皆有類似之生育度積值模式(Chen et al., 2010)。前人研究已確立涼溫有利星辰花花芽創始，而花芽創始後溫暖溫度有利花芽發育(Auman, 1980; Semeniuk and Krizek, 1972, 1973; Shillo, 1976; Shillo and Zamski, 1985)，但尚未建立花芽創始及發育的度積值模式，在預測星辰花產期方面尚未臻精準。

早花品種‘臺南1號’開花需冷性較少，和國外育成之商業品種相比開花時間明顯較早(詳見第三章)。本研究為探討溫度對育成之早花品種和晚花品種誘導花芽創始及花芽發育之影響，於營養生長期以不同溫度處理，記錄花下葉數及到花芽可見時間，並於花芽創始後以不同溫度處理，調查花芽發育階段，並以溫度、花下葉數、到花芽可見時間、花芽發育階段等資訊建立星辰花度積值模式，以供實際栽培時藉由監測環境溫度預測開花時間或控制環境溫度以調節出貨時間。

材料與方法(Materials and Methods)

試驗一、建立星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’春化溫度三基點及度積值模式

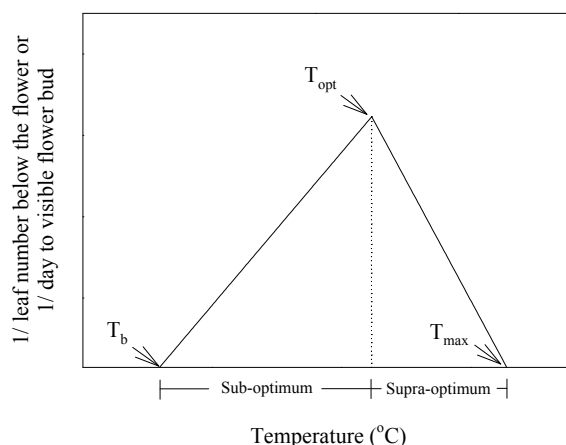
以育成之星辰花‘臺南1號’及商業品種‘百萬紫’為材料進行組織培養。詳細組織培養條件參見第三章。參考Yeh等人(1997)之方法，於2012年8月31日，當植株具5-10片葉時出瓶至50格穴盤(穴盤為53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑4.5 cm，深4.5 cm)種植，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann, Geeste, Germany)。於2012年9月25日，當植株具10-15片葉時，移植至9 cm盆中，移入走入式生長箱，每日光照12 h，光強度為 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Photosynthetic photon flux, PPF)，以24°C馴化2週並維持其營養生長狀態。於2012年10月9日開始逐批移至四室型生長箱進行處理，生長箱內每日光照12 h，光強度為 $125 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF，溫

度處理包括3、5、7、9、12、15、18及21°C，處理時間為14、21及28天，其中3、7及12°C額外處理3、7及10天以探討短期低溫之效果。所有處理統一於2012年11月8日移回24°C的走入式生長箱，另有一組則持續放於24°C走入式生長箱不經四室型生長箱溫度處理。每株視為1重複，每品種每處理6重複，調查主莖之花芽可見天數及花下葉片數。

參考Atherton等人(1998)之方法，以迴歸分析探討處理溫度與花芽創始速率之相關性，其中花芽創始速率係取花下葉數之倒數代表之。初步以持續於24°C處理植株之花下葉數之倒數求得誘導花芽創始之基礎(T_b)、最適(T_{opt})及最大溫度(T_{max})後，進而以sub-optimum溫度處理結果建立度積值(thermal time)模式，以求得較為合理的未經春化效應植株的花下葉數或到花芽可見天數之倒數，修正誘導花芽創始之基礎、最適及最大溫度，並檢視所有處理溫度之結果與度積值模式線之吻合度。當處理溫度高於最適溫度時，需先經有效溫度之換算再行計算度積值。度積值及有效溫度計算方式參考Craigon等人(1990)之做法，如下：

$$\text{Thermal time } (^{\circ}\text{C d}) = (T - T_b) (^{\circ}\text{C}) \times \text{Duration (days)}$$

$$T_{\text{effective}} = [(T_{\text{max}} - T_{\text{supra}}) \times (T_{\text{opt}} - T_b) \div (T_{\text{max}} - T_{\text{opt}})]$$



試驗二、建立星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’花芽發育溫度三基點及度積值模式

參考Yeh等人(1999)之方法，以選育之‘臺南1號’及商業品種‘百萬紫’為材料，組織培養條件詳見第三章，出瓶馴化栽培方法同試驗一所述。將在24°C花芽創始至米粒大小(Stage 0.0)的植株移入四室型生長箱，設定每日光照12 h，光強度為125 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF，溫度處理包括15、18、21、24、27、30、33及36°C。每株視為1重複，每品種每溫度處理10重複。自處理當日開始，每三天調查1次花芽發育階段及花莖長度，花芽發育階段參考沈和李(1982)、吾妻等人(1983)及Semeniuk和Krizek (1973)之定義，並加以修正。將處理溫度和到達花序上花朵全部開放(Stage 1.0)天數之倒數進行迴歸分析，得到花芽發育之基礎溫度(T_b)，再計算度積值，與對應之花芽發育階段進行迴歸分析，以求得自花芽創始至花序上花朵全部開放所需之度積值。

以上試驗皆採完全逢機試驗設計，採用CoStat 6.4 (CoHort Software, Monterey, CA, USA)統計軟體進行線性迴歸，以SigmaPlot 10.0 (Systat Software Inc., Chicago, IL, USA)進行繪圖。

結果(Results)

試驗一、建立星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’春化溫度三基點及度積值模式

將兩參試星辰花品種於3、7及12°C處理3-28天再置於24°C繼續生長，結果顯示‘臺南1號’在7及12°C下，隨處理天數自3天到14天時，花下葉片數從70-73片葉減少為51-55片葉，且花下葉片數約於處理14天即不再顯著減少，而於3°C處理3及7天者花下葉片數明顯較7及12°C處理相同天數者多，隨處理天數自3天增加至28天，花下葉片數從101片葉減少為57片葉，花下葉片數約於處理21天不再顯著減少，花下葉片數對處理溫度之反應皆呈二次曲線(圖5.1)。「百萬紫」於3-12°C處理，隨處理天數自3天增加為28天，花下葉片數自73-77片葉減少為40-48片葉，且花下葉片數在處理14-21天時已不再顯著減少，花下葉片數對處理溫度之反應亦呈二次



曲線(圖5.1)。在7及12°C下，‘臺南1號’及‘百萬紫’的花下葉片數減少幅度分別為23.7%-27.0%及40.4%-45.2%，顯示‘百萬紫’對春化的反應較‘臺南1號’明顯，並且在7及12°C下達飽和春化反應的處理時間約為14天。

兩參試品種於3-21°C處理14-28天再回到24°C繼續生長，皆有隨溫度處理時間增加而花下葉片數減少之趨勢，兩品種皆以12°C處理28天者花下葉片數最少，其次為7及9°C處理者，而較7-12°C高或低之溫度處理者花下葉片數皆明顯較多(表5.1)。「臺南1號」及「百萬紫」持續置於24°C處理者花下葉片數分別為81及83.5片葉。

Semeniuk和Krizek (1973)指出具誘導星辰花花芽創始效果之臨界溫度約為24°C，由試驗結果以各溫度處理14天之花下葉片數倒數和溫度進行線性迴歸，並將x軸設定為24°C處理者之花下葉片數倒數(圖5.2)。結果顯示兩品種隨溫度自3°C增加為12°C時，花芽創始速率逐漸增加，而隨溫度自12°C增加為24°C，花芽創始速率又逐漸下降。兩條一次線性迴歸線之交點為最適溫度(T_{opt})，和x軸之交點分別為基礎溫度(T_b)及最高溫度(T_{max})，‘臺南1號’之三基點溫度分別為-3.9、12.3及22.7°C，而‘百萬紫’則分別為-7.3、11.3及26.4°C(圖5.2)。

然而，上述係根據推測24°C為具誘導星辰花花芽創始效果之臨界溫度，而非真正未感應春化植株之花下葉片數，為將三基點溫度更為合理化，取suboptimum溫度之結果計算度積值並進行迴歸。取‘臺南1號’在3°C處理10-28天、7、12°C處理3-28天及9°C處理14-28天之度積值與花下葉片數倒數迴歸。結果顯示‘臺南1號’在5-12°C處理28天及9-12°C處理21天時春化反應已達飽和，故此6個處理未列入直線迴歸，線性迴歸方程式顯示‘臺南1號’未感應春化(春化度積值為0)之植株花下葉片數倒數約為0.0127，而達飽和春化反應之度積值約為250°Cd(圖5.3)。取‘百萬紫’在3-9°C處理之度積值與花下葉片數倒數迴歸，則結果顯示參試處理溫度及時間範圍內‘百萬紫’尚未達飽和春化反應，其未感應春化(度積值為0)之植株花下葉片數倒數約為0.0130(圖5.3)。

以上述未感應春化植株之花下葉片數倒數修正圖5.2中之 T_b 及 T_{max} 溫度，則‘臺南1號’分別為-3.0及22.1°C，而‘百萬紫’則分別為-5.2及24.7°C(圖5.4)。以修正後之

T_b 重新計算度積值，並將新的數據點投影於圖5.3之迴歸線。結果顯示‘臺南1號’達飽和春化反應之度積值約為 230°C d ，而‘百萬紫’在參試處理溫度及時間範圍內尚未達飽和春化反應，隨著春化度積值增加，花芽創始速率持續增加(圖5.5)。

‘臺南1號’在 7 及 12°C 下，隨處理天數自 3 天增加為 28 天，到花芽可見天數從 $40-50$ 天減少為 $18-20$ 天，且約於處理 14 天即不再顯著減少，而 3°C 處理者之到花芽可見天數明顯較 7 及 12°C 處理者多，隨處理天數自 3 天增加至 28 天，到花芽可見天數從 94 減少為 37 天，亦約以處理 14 天即不再顯著減少，到花芽可見天數對處理溫度之反應皆呈二次曲線(圖5.6)。「百萬紫」於 $3-12^{\circ}\text{C}$ 處理，隨處理天數自 3 天增加為 28 天，到花芽可見天數自 $87-102$ 天減少為 $21-47$ 天，且到花芽可見天數約在處理 $14-21$ 天時已不再顯著減少，到花芽可見天數對處理溫度之反應亦呈二次曲線(圖5.6)。在 7 及 12°C 下，‘臺南1號’及‘百萬紫’的到花芽可見天數減少幅度分別為 $54.8\%-60.4\%$ 及 $70.3\%-75.8\%$ ，也顯示‘百萬紫’對春化的反應較‘臺南1號’明顯，並且在 7 及 12°C 下達飽和春化反應的處理時間約為 14 天。

兩品種到花芽可見天數皆有隨溫度處理時間增加而減少之趨勢，並皆以 12°C 處理 28 天者到花芽可見天數最少，其次為 7 及 9°C 處理者，而較 $7-12^{\circ}\text{C}$ 高或低之溫度處理者到花芽可見天數皆明顯較多(表5.2)。「臺南1號」及‘百萬紫’持續置於 24°C 處理者到花芽可見天數皆為 81 天。

以各溫度處理 14 天之到花芽可見天數倒數和溫度進行線性迴歸，並將x軸設定為 24°C 處理者之到花芽可見天數倒數(圖5.7)。結果顯示兩品種隨溫度自 3°C 增加為 12°C 時，到花芽可見速率逐漸增加，而隨溫度自 12°C 增加為 24°C ，到花芽可見速率又逐漸下降。「臺南1號」到花芽可見天數之三基點溫度分別為 -1.7 、 12.0 及 27.9°C ，而‘百萬紫’則分別為 0.2 、 10.9 及 22.2°C (圖5.7)。

取suboptimum溫度之結果計算度積值並進行迴歸，以求得未感應春化植株之到花芽可見天數。取‘臺南1號’在 3°C 處理 $7-28$ 天、 7 、 12°C 處理 $3-28$ 天及 9°C 處理 $14-28$ 天之度積值與到花芽可見天數倒數迴歸。結果顯示‘臺南1號’在 $5-12^{\circ}\text{C}$ 處理 28 天及 $9-12^{\circ}\text{C}$ 處理 21 天時春化反應已達飽和，故此 6 個處理未列入直線迴歸，線性迴

歸方程式顯示‘臺南1號’未感應春化(度積值為0)之到花芽可見天數倒數約為0.0139，而達飽和春化反應之度積值約為240°Cd (圖5.8)。取‘百萬紫’在3°C處理10-28天及5-9°C處理之度積值與到花芽可見天數倒數迴歸，則結果顯示參試處理溫度及時間範圍內‘百萬紫’尚未達飽和春化反應，其未感應春化(度積值為0)之到花芽可見天數倒數約為0.0107 (圖5.8)。

以上述未感應春化植株之到花芽可見天數倒數修正圖5.7中之 T_b 及 T_{max} 溫度，則‘臺南1號’分別為-1.0及27.2°C，而‘百萬紫’則分別為-0.9及23.4°C(圖5.9)。以修正後之 T_b 重新計算度積值，並將新的數據點投影於圖5.8之迴歸線。結果顯示‘臺南1號’達飽和春化反應之度積值約為230°Cd，而‘百萬紫’在參試處理溫度及時間範圍內尚未達飽和春化反應，隨著春化度積值增加，到花芽可見天數速率持續增加(圖5.10)。

試驗二、建立星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’花芽發育溫度三基點及度積值模式

將已花芽創始之‘臺南1號’及‘百萬紫’置於15-36°C生長，並調查花莖長度及花芽發育階段。結果顯示兩品種在低溫下達最大花莖長度所需日數較長，‘百萬紫’在15°C下90天時花莖可達25-30 cm，‘臺南1號’需100天才能達最大花莖長度20 cm，在18-36°C兩品種達最大花莖長度所需日數及花莖長度無顯著差異，約需30天達最大花莖長度約20 cm，而在36°C下‘臺南1號’花莖較‘百萬紫’長(圖5.11)。

參考沈和李(1982)、吾妻等人(1983)及Semeniuk和Krizek (1973)對星辰花花芽發育/開花階段之分類，將星辰花花芽發育階段分為8階段，Stage 0.0為花芽達肉眼可見大小，Stage 0.2為花序略為抽長，此時已可見花莖上側枝，Stage 0.4為花莖長度達5 cm，Stage 0.6為花莖長度達12 cm，Stage 0.7為花序中第一花穗(spike)上花萼顯色但尚未開展，Stage 0.8為第一花穗第一朵花花萼開展但小花尚未開放，Stage 0.9為第一花穗上半數花朵之花萼已展開，Stage 1.0為第一花穗所有花朵皆開放(圖5.12)。

調查於各溫度下之‘臺南1號’及‘百萬紫’花芽發育階段並進行線性迴歸，結果

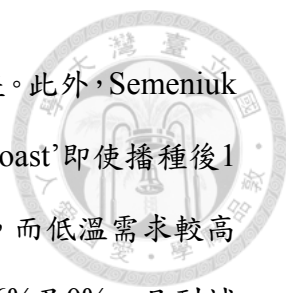
顯示兩品種在15°C下花芽發育緩慢，隨溫度逐漸提高，花芽發育較快，在24-36°C間花芽發育最快且相似(圖5.13, 5.14)。

將花芽發育速率，即花芽發育階段與天數線性迴歸之斜率，與溫度進行迴歸分析。結果顯示兩品種在15°C下花芽發育速率最慢，隨溫度自15提高至24°C逐漸增加，而24至36°C間花芽發育速率無顯著差異(圖5.15)。取15至24°C之花芽發育速率進行線性迴歸，則‘臺南1號’及‘百萬紫’花芽發育之基礎溫度分別為10.8及10.1°C (圖5.15)。

以上述基礎溫度計算15-24°C處理之度積值，並與花芽發育速率進行直線迴歸分析，結果顯示‘臺南1號’到達盛花期(Stage 1.0)之度積值為373.8°Cd，‘百萬紫’之度積值為407.2°Cd (圖5.16)，顯示育成之早花品種‘臺南1號’從花芽可見至開花所需度積值較商業品種‘百萬紫’少。

討論(Discussion)

將星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’置於3、7及12°C下3-28天，結果隨溫度處理時間增加，兩品種花下葉片數及到花芽可見天數皆減少(圖5.1, 5.6)。前人研究指出星辰花需要一段時間之低溫處理才能順利開花(沈和李, 1982; Semeniuk and Krizek, 1972, 1973; Shillo and Zamski, 1985)，與本試驗結果相符。吾妻等人(1983)將置於田間自然低溫之星辰花‘Early Blue’(早花品種)及‘Super Blue’(晚花品種)植株每隔30天一批移入日溫25-30°C、夜溫10°C的溫室中，結果兩星辰花品種自移入溫室到抽苔的時間隨移入溫室時間延後而提早，且抽苔率較高，顯示至少需要3個月的自然低溫才能滿足低溫需求。而Shillo (1976)的試驗結果則指出星辰花‘Midnight Blue’在植株具6片葉時進行11°C處理，僅需3週即可滿足低溫需求。而本研究結果指出星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’在12°C處理14天或7-9°C處理14-21天即可滿足其低溫需求(表5.1, 5.2, 圖5.1, 5.6)，與Shillo (1976)之敘述較為接近，推測此係因吾妻等人(1983)採用自然田間溫度進行春化處理較不易維持在最有效春化溫度，且



10月至11月時溫室內平均溫度約在17-19°C，春化誘導效果亦較差。此外，Semeniuk和Krizek (1973)指出星辰花品種間低溫需求不太一致，如‘Gold Coast’即使播種後1個月置於27/24°C再移至26/24°C繼續生長，其開花率也可達89%，而低溫需求較高的‘Blue Bonnet’及‘Midnight Blue’則開花率明顯較低，分別僅有6%及0%，且到試驗結束、自播種開始167天時仍未開花。本試驗中即使兩品种植株持續置於24°C環境下，也有少量植株達花芽可見階段(表5.1, 5.2)，但花芽可見率較低，‘臺南1號’及‘百萬紫’分別為23.8%及28.6%，此與Semeniuk和Krizek (1973)研究中參試的‘American Beauty’及‘Twilight Lavender’置於27/24°C再移至26/24°C繼續生長之結果類似，但到花芽可見天數明顯較‘American Beauty’及‘Twilight Lavender’早約29天。

本試驗以持續置於24°C是最高的春化溫度處理，而‘臺南1號’及‘百萬紫’在此溫度下之花下葉片數最多且到花芽可見天數較晚(表5.1, 5.2)，顯示24°C的春化作用效率較低，但3°C短期處理3天或7天再移到24°C者較持續24°C處理者還晚花(圖5.1, 5.6)。Ratcliffe等人(2003)以4°C處理阿拉伯芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 3-21天，會使野生型植株表現 $MAF2$ ，而抑制春化作用，使到花天數及花下葉數較不具 $MAF2$ 的突變種多，Ratcliffe等人(2003)並推測此為阿拉伯芥避免短期低溫後立刻於冬季開花之保護機制。推測星辰花也有此種保護植株不在短暫低溫後立刻開花，反而使花芽創始時間延後之機制，以利植株在野外溫度回暖、授粉者開始活動時才開花。


一般建議星辰花需先經10-13°C處理一段時間再定植於田間(沈和李，1982；Cohen et al., 1995；Semeniuk and Krizek, 1973；Shillo, 1976)，但並未明確指出10-13°C即是最適春化溫度，而本研究則以迴歸方式計算出兩參試星辰花品種之春化最適溫度為10.9-12.3°C(圖5.2, 5.7)。各種作物春化作用所要求的低溫及處理時間不盡相同，商業生產上常用-5至15°C處理誘導有春化需求植物開花，其中又以1-7°C為較適合溫度(Lang, 1965)。其他花卉作物，如婆婆納(*Veronica spicata* L. ‘Red Fox’)為-2.5至0°C，同瓣草[*Laurentia axillaris* (Lindl.) E. Wimm.]為5-10°C(Fausey and

Cameron, 2007)，瓜葉菊‘Cindy Blue’為 6°C (Yeh et al., 1997)。

本研究顯示‘臺南1號’及‘百萬紫’在低溫處理14天時春化需求已達飽和(圖5.1, 5.6)，進而以溫度處理14天之花下葉片數或到花芽可見天數之倒數與處理溫度進行直線迴歸，再以試驗所得之最大花下葉片數及到花芽可見天數之倒數為x軸，並能以交點之 T_b 計算度積值(圖5.2, 5.7)，以求得未接受春化(度積值為0時)植株之花下葉片數及到花芽可見天數之倒數(圖5.3, 5.8)，以此為依據調整三基點溫度至合理範圍(圖5.4, 5.9)。在瓜葉菊中也採用相同方式求得合理的春化三基點溫度(Yeh et al., 1997)。

以花下葉片數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，顯示星辰花‘臺南1號’花芽創始之 T_b 為 -3.0°C 、 T_{opt} 為 12.3°C 、 T_{max} 為 22.1°C ，而‘百萬紫’分別是 T_b 為 -5.2°C 、 T_{opt} 為 11.3°C 、 T_{max} 為 24.7°C (圖5.4)，而以到花芽可見天數之倒數與處理溫度進行迴歸分析，則‘臺南1號’到花芽可見天數之三基點溫度分別是 T_b 為 -1.0°C 、 T_{opt} 為 12.0°C 、 T_{max} 為 27.2°C ，而‘百萬紫’之 T_b 為 -0.9°C 、 T_{opt} 為 10.9°C 、 T_{max} 為 23.4°C (圖5.9)。在其他作物中，大理花(*Dahlia hybrids*)摘心至花芽出現 T_b 為 2.4°C 、 T_{opt} 為 22.4°C 、 T_{max} 為 31.1°C (Brøndum and Heins, 1993)和本試驗結果較為不同，而瓜葉菊自營養生長至花芽創始之三基點溫度 T_b 為 -0.3°C 、 T_{opt} 為 5.9°C 及 T_{max} 為 15.8°C (Yeh et al., 1997)，冬小麥‘Norin 27’春化之 T_b 為 -4.8°C 、 T_{opt} 為 5.2°C 、 T_{max} 為 26.6°C (Craigon et al., 1995)，則與本試驗成果相似。

‘臺南1號’和‘百萬紫’花芽創始最適溫度皆接近 12°C ，而到花芽可見最適溫度則以‘臺南1號’較‘百萬紫’高(圖5.4, 5.9)，‘臺南1號’花芽創始最高溫度為 22.1°C ，而‘百萬紫’為 24.7°C ，到花芽可見最高溫度‘臺南1號’為 27.2°C ，而‘百萬紫’為 23.4°C 。一般趨勢上，低春化需求或較早開花之植物，其花下葉片數應當較高春化需求或較晚開花的植物為少(Clough et al., 2001；Niu et al., 2004；Padhye and Cameron, 2009；Runkle et al., 1998；Suzuki and Metzger, 2000；Whitman et al., 1996)。但在本試驗中早花的‘臺南1號’花下葉片數明顯較花芽可見時間較晚的‘百萬紫’為多(表5.1, 5.2, 圖5.2, 5.4, 5.7, 5.9)，和一般情況恰好相反。‘臺南1號’較‘百萬紫’較早




花芽可見，但花下葉片數較多，顯示‘臺南1號’於相同時間內葉片生長量較‘百萬紫’為多，亦即葉片分化、生長速率較快。Williams和Atherton (1990)以花椰菜(*Brassica oleracea* L.)為材料，也指出年輕葉片與頂端分生組織互相競爭乾物是決定其花芽創始之關鍵因素。‘臺南1號’可以在快速分化葉片之情形下仍較‘百萬紫’早達花芽可見，顯示其植體乾物分配模式可能與耐熱菜豆‘Haibushi’類似(Omae et al., 2007)，傾向將乾物分配給生殖生長而非營養生長器官，因此能較早達花芽可見階段。

另一方面，‘臺南1號’在春化度積值或度積值達230°Cd時，已達飽和春化反應，而‘百萬紫’在給予之春化處理溫度範圍內尚未飽和(圖5.5, 5.10)，顯示育成之早花‘臺南1號’之春化及到花芽可見需求皆較‘百萬紫’少。其他具春化需求植物中，如冬小麥‘Norin 27’之春化溫度積值為275°Cd (Craigon et al., 1995)，瓜葉菊‘Cindy Blue’為150°Cd (Yeh et al., 1997)，而‘臺南1號’大約介於二者之間。

綜合以上，以到花可見天數建立之模式較能直接反映‘臺南1號’之早花特性，而以花下葉片數建立之模式則顯示‘臺南1號’較‘百萬紫’之春化需求性較低，並可以‘臺南1號’ T_b 為-1.0°C， T_{opt} 為12.0°C， T_{max} 為27.2°C，‘百萬紫’之 T_b 為-0.9°C， T_{opt} 為10.9°C， T_{max} 為23.4°C，進行兩品種自定植到花芽可見天數之推算。

在星辰花的花芽發育方面，在15°C下‘百萬紫’最大花莖長度約為25 cm，由花芽創始到盛開(第一小花穗完全開放)的時間約需80-90天，而‘臺南1號’在15°C需將近100天才到盛開，時間較‘百萬紫’久且花莖長度約為20 cm，顯示在較低溫度下‘臺南1號’的花莖發育較‘百萬紫’緩慢(圖5.11)。兩品種在溫度超過24°C時，由花芽創始到盛開均在25天完成，‘百萬紫’在超過30°C下稍有延遲，而‘臺南1號’在24-36°C間其花莖發育速率無顯著差異，並沒有因溫度越高而有減緩的現象(圖5.11)，在花芽發育階段方面也有類似的情形(圖5.13, 5.14)，因此本試驗中只能算出星辰花花芽發育之 T_b ，未能求得 T_{opt} 及 T_{max} 。以花芽創始到盛花天數之倒數與處理溫度進行的迴歸分析中，24°C以上溫度處理者之花芽發育速率亦無顯著差異，因此以15、18、21及24°C之花芽發育速率進行直線迴歸，計算得‘臺南1號’及‘百萬紫’花芽發



育的基礎溫度分別為 10.8 及 10.1°C ，以‘臺南1號’較‘百萬紫’高(圖5.15)。在其他作物中也有類似的花芽發育試驗，如在瓜葉菊自花苞可見至開花之 T_b 值為 1.6°C (Yeh et al., 1999)。以此基礎溫度計算花芽發育sub-optimum溫度的度積值並與花芽發育階段進行迴歸，則‘臺南1號’自花芽創始至盛花之度積值為 373.8°C d ，而‘百萬紫’為 407.2°C d (圖5.16)，以‘臺南1號’自花芽創始至盛花所需之度積值較‘百萬紫’為低，顯示‘臺南1號’花芽發育速率較‘百萬紫’稍快。

綜上所述，以不同溫度及處理時間處理‘臺南1號’及‘百萬紫’之結果，推算花芽創始或發育三基點溫度及度積值，結果‘臺南1號’到花芽可見天數最適溫度較高，花芽創始速率較快(圖5.9)，花芽發育速率也稍高(圖5.16)，因此選種得到之早花品種‘臺南1號’確實較商業品種‘百萬紫’具有早花性。此模式之建立將來可應用在實際栽培生產時，控制環境溫度以調節春化種苗生產或切花出貨時間。

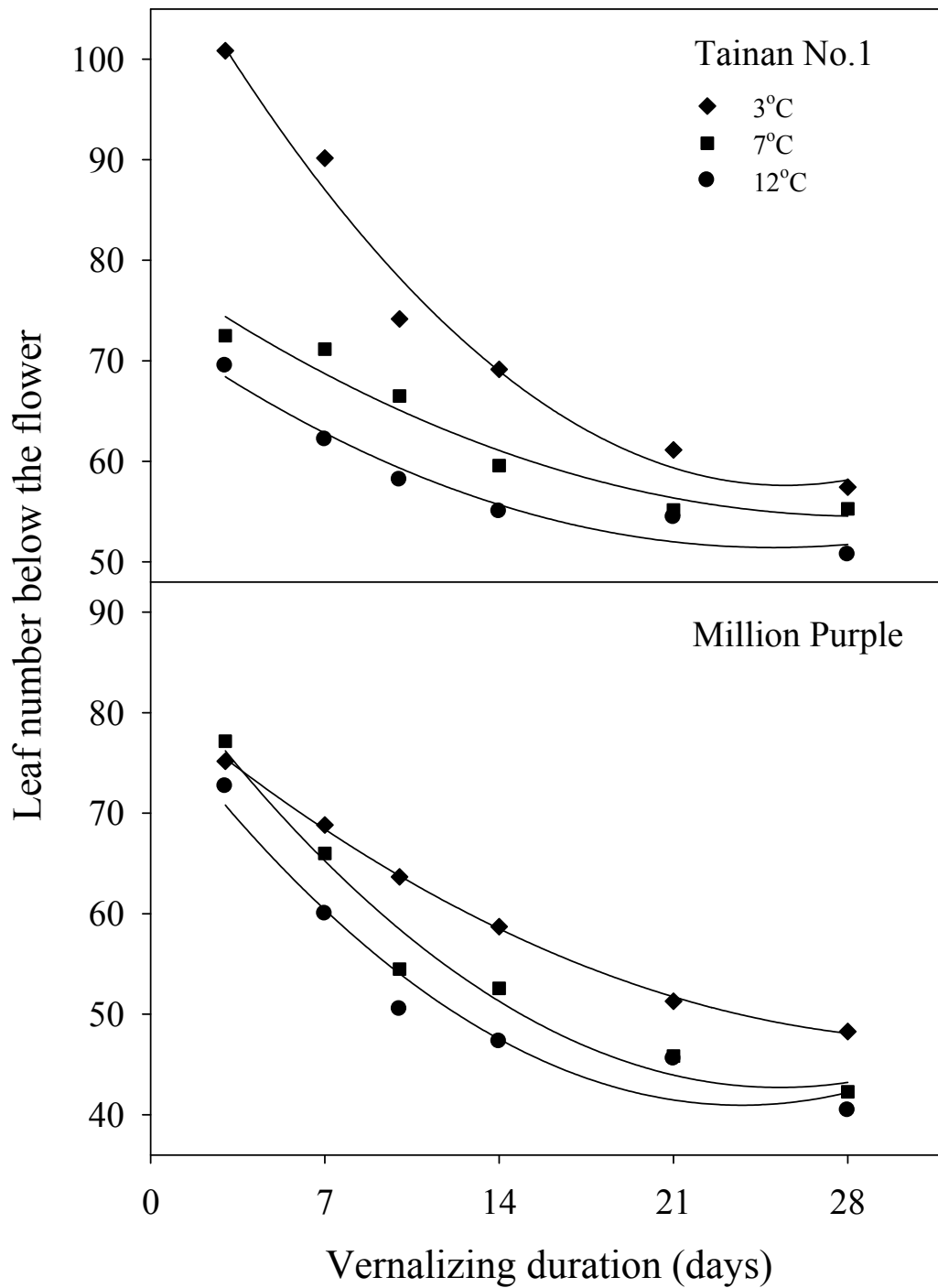


圖 5.1. 春化溫度(3、7 與 12°C)處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數之影響

Fig. 5.1. Effects of different durations of vernalizing temperatures (3, 7, and 12°C) on leaf number below the flower in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple.

表 5.1. 不同溫度及處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉片數之影響
 Table 5.1. Leaf number below the flower in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple following exposure to different constant temperatures and durations of temperature treatments.

Temp (°C)	Duration (days)	Leaf number below the flower	
		Tainan No.1	Million Purple
3	14	69.1	58.7
	21	61.1	51.3
	28	57.4	48.3
5	14	61.9	56.7
	21	60.4	53.6
	28	56.6	43.4
7	14	59.6	52.6
	21	55.2	45.8
	28	55.3	42.3
9	14	58.6	49.4
	21	55.4	45.1
	28	52.7	42.9
12	14	55.0	47.3
	21	54.4	45.6
	28	50.7	40.4
15	14	57.7	56.1
	21	57.7	49.9
	28	56.2	43.7
18	14	64.0	57.6
	21	58.1	51.6
	28	53.6	44.4
21	14	77.9	65.3
	21	69.6	54.9
	28	52.1	47.1
24	—	81.0	83.5

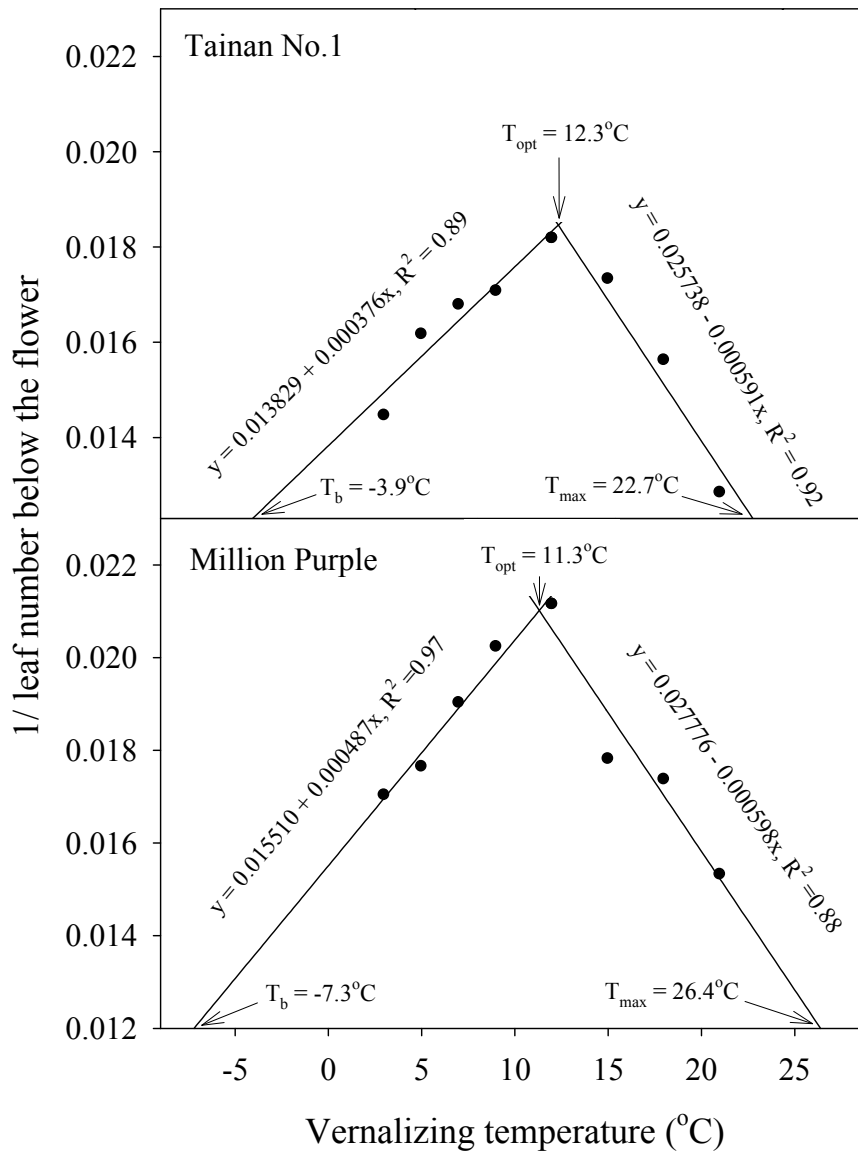


圖 5.2. 不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之影響。Y 軸底線暫以本試驗所得最大花下葉數之倒數決定。

Fig. 5.2. Relationship between different temperature treatments for two weeks and the corresponding reciprocal of leaf number below the flower in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. The base line of Y axis was set to the reciprocal of the maximum final leaf number recorded in this experiment.

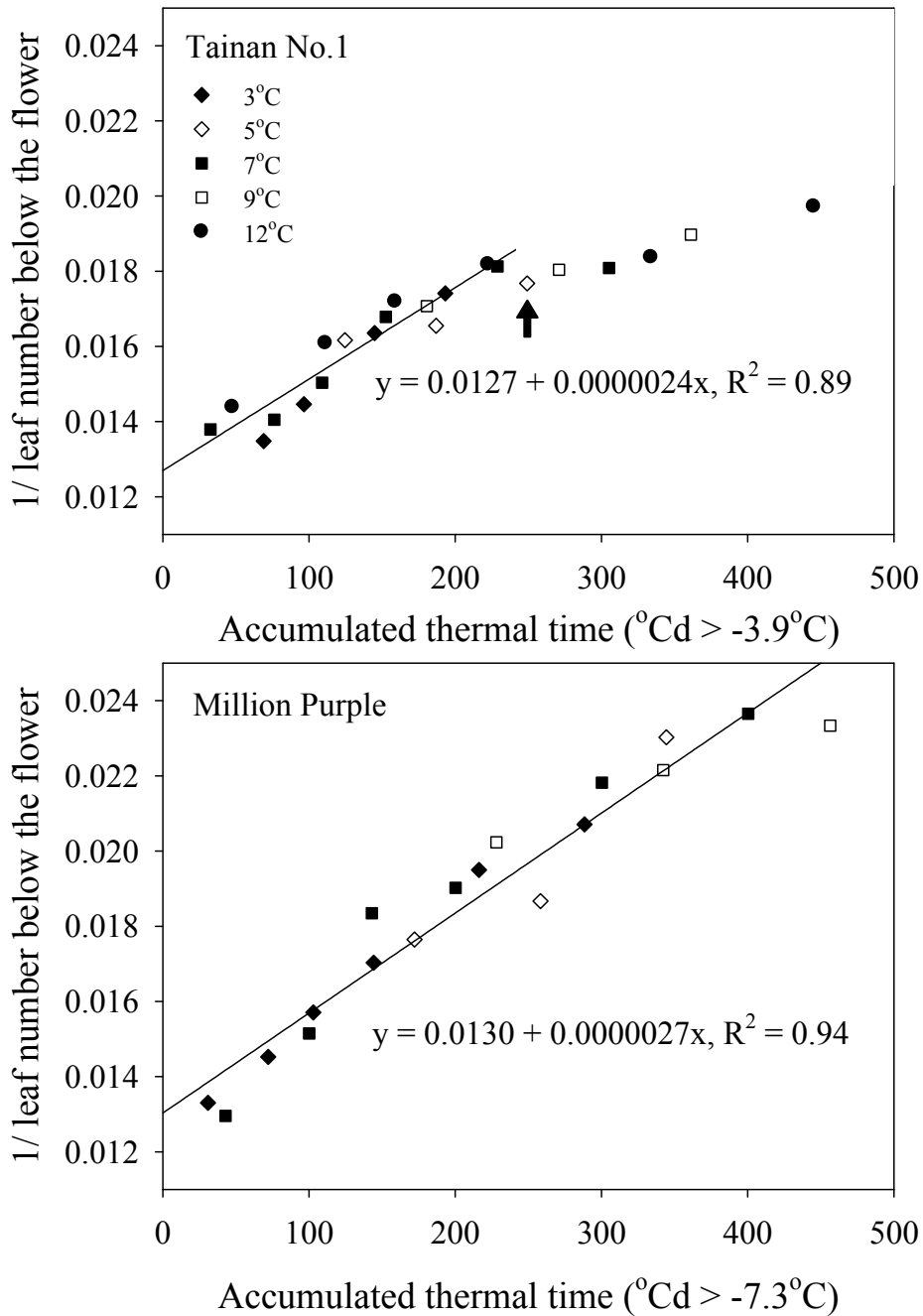


圖 5.3. 度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之關係。‘臺南 1 號’在 5-12°C 處理 28 天及 9-12°C 處理 21 天已花芽創始(↑)，未納入迴歸。

Fig. 5.3. Relationship between accumulated thermal time and the corresponding reciprocal of leaf number below the flower in *Limonium* cultivars Tainan No.1 (°Cd > -3.9°C) and Million Purple (°Cd > -7.3°C). Plants of ‘Tainan No.1’ received 5 to 12°C for 28 d and 9 to 12°C for 21 d had apparently initiated flowers (↑) and thus these data were not included for regression.

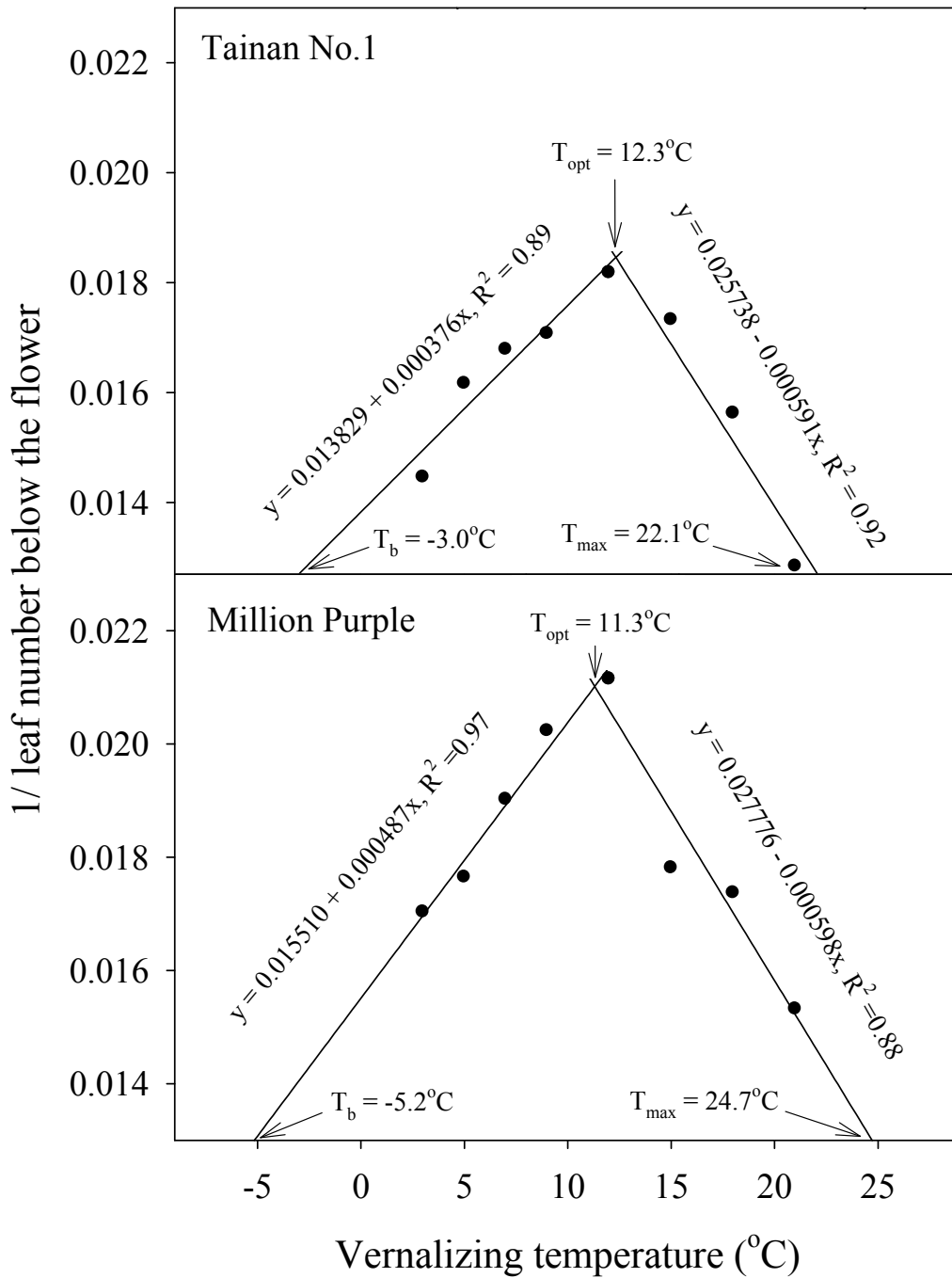


圖 5.4. 不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之影響。Y 軸底線以未經春化植株之花下葉數倒數決定。

Fig. 5.4. Relationship between various temperature treatments for two weeks and the corresponding reciprocal of leaf number below the flower in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. The base line of Y axis was set to the reciprocal of the final leaf number which unvernalsed plants (0 vernalizing thermal time) would produce.

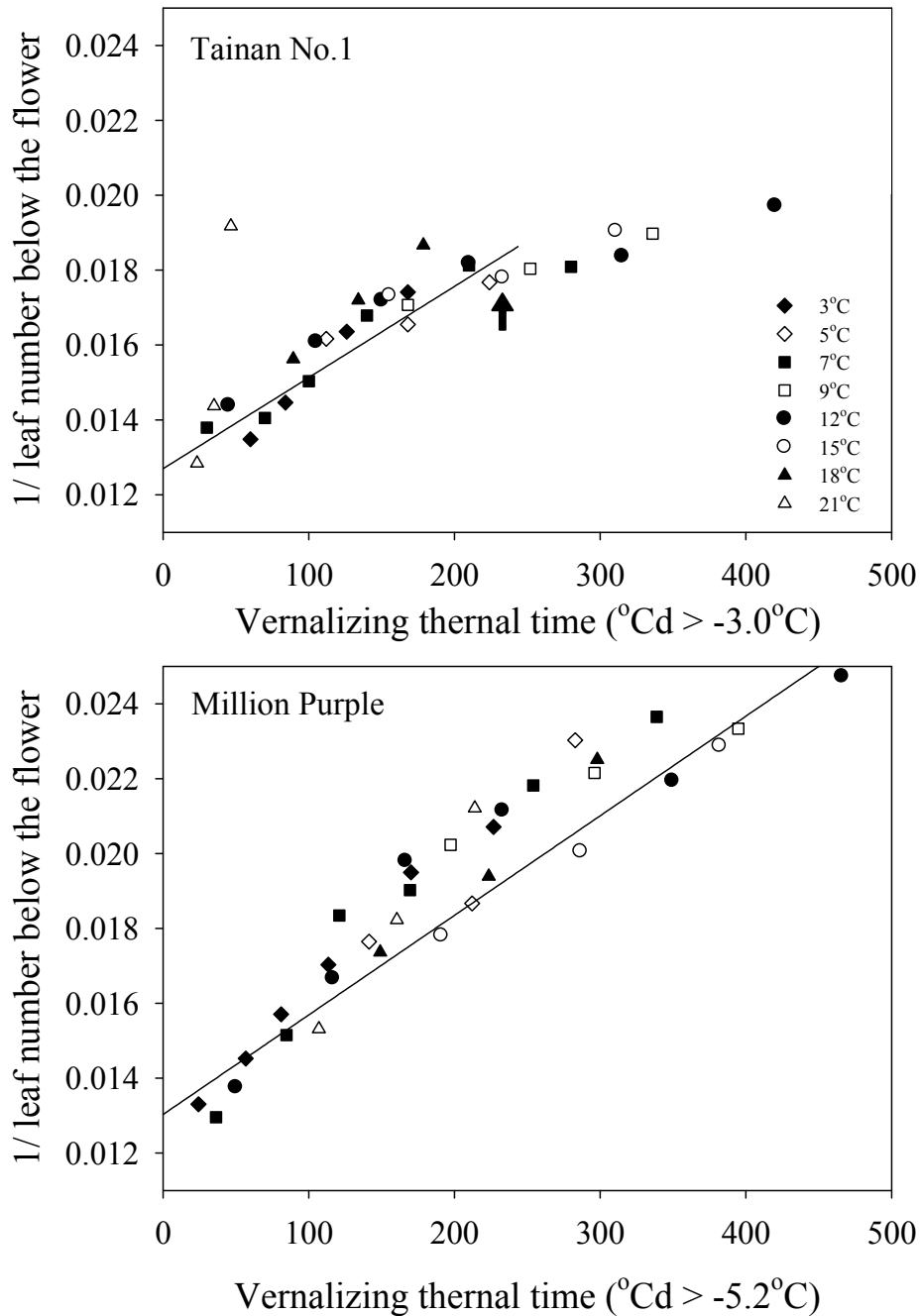


圖 5.5. 春化度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花下葉數倒數之關係。所有點係投影於圖 5.3 所得之迴歸線。↑表示已花芽創始。

Fig. 5.5. Relationship between the reciprocal of leaf number below the flower and vernalizing thermal time in *Limonium* cultivars Tainan No.1 ($^{\circ}\text{C d} > -3.0^{\circ}\text{C}$) and Million Purple ($^{\circ}\text{C d} > -5.2^{\circ}\text{C}$) accumulated for the full durations of the temperature treatments. The results from all treatments are superimposed on the regression line as shown in Fig. 5.3. ↑ indicates plants had apparently reached flower initiation.

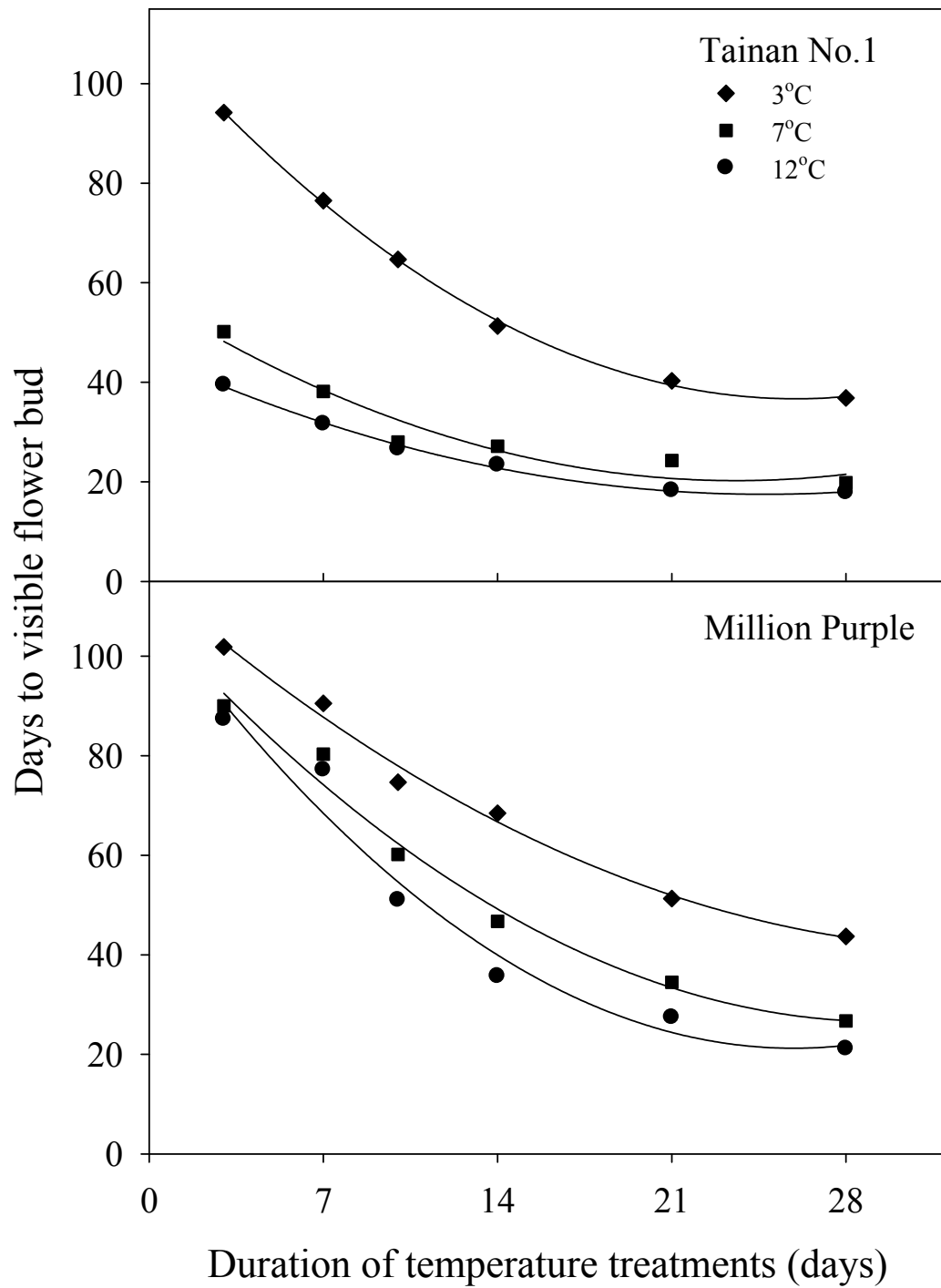
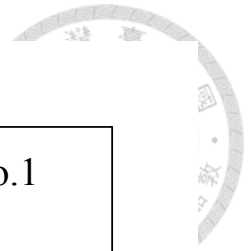


圖 5.6. 春化溫度(3、7 與 12°C)處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數之影響

Fig. 5.6. Effects of different durations of low temperatures (3, 7, and 12°C) on days to visible flower bud in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple.

表 5.2. 不同溫度及處理時間對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數之影響
 Table 5.2. Days to visible flower bud in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple following exposure to different constant temperatures and durations of temperature treatments.

Temp (°C)	Duration (days)	Days to visible flower bud	
		Tainan No.1	Million Purple
3	14	51.3	68.4
	21	40.3	51.3
	28	36.9	43.7
5	14	32.9	46.8
	21	25.6	35.9
	28	24.0	27.9
7	14	27.1	46.7
	21	24.3	34.5
	28	19.9	26.7
9	14	27.3	35.1
	21	19.1	31.9
	28	19.1	24.9
12	14	23.4	35.7
	21	18.3	27.4
	28	17.9	21.1
15	14	24.1	49.1
	21	24.1	31.1
	28	22.0	25.3
18	14	30.9	52.7
	21	25.0	35.3
	28	21.1	29.6
21	14	39.3	69.6
	21	28.6	49.1
	28	21.9	42.0
24	—	81.0	81.0

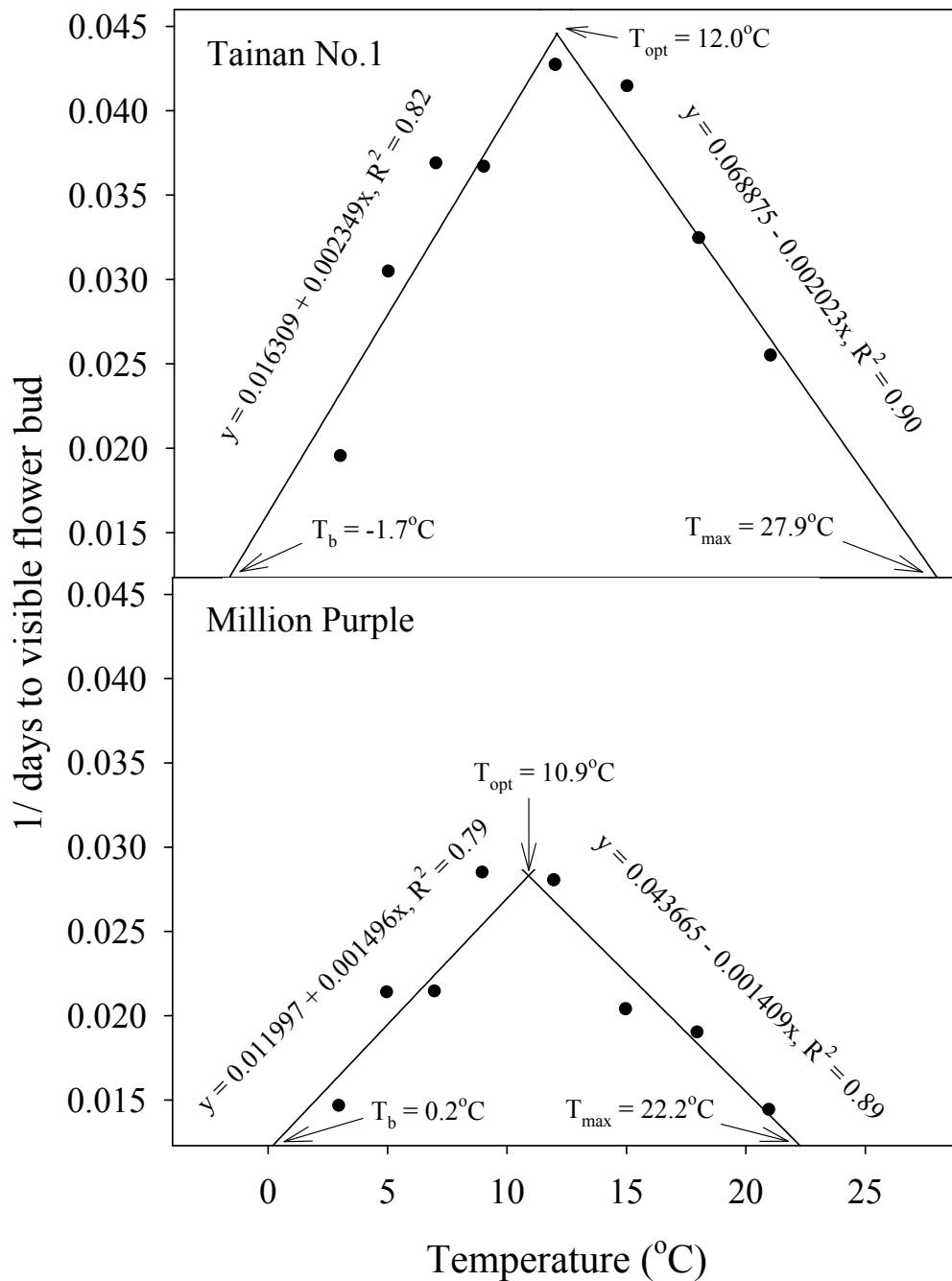
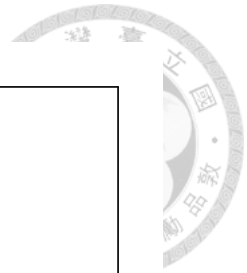


圖 5.7. 不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之影響。Y 軸底線暫以本試驗所得最大到花芽可見天數之倒數決定。

Fig. 5.7. Relationship between different temperature treatments for two weeks and the corresponding reciprocal of days to visible flower bud in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. The base line of Y axis was set to the reciprocal of the maximum days to visible flower bud recorded in this experiment.

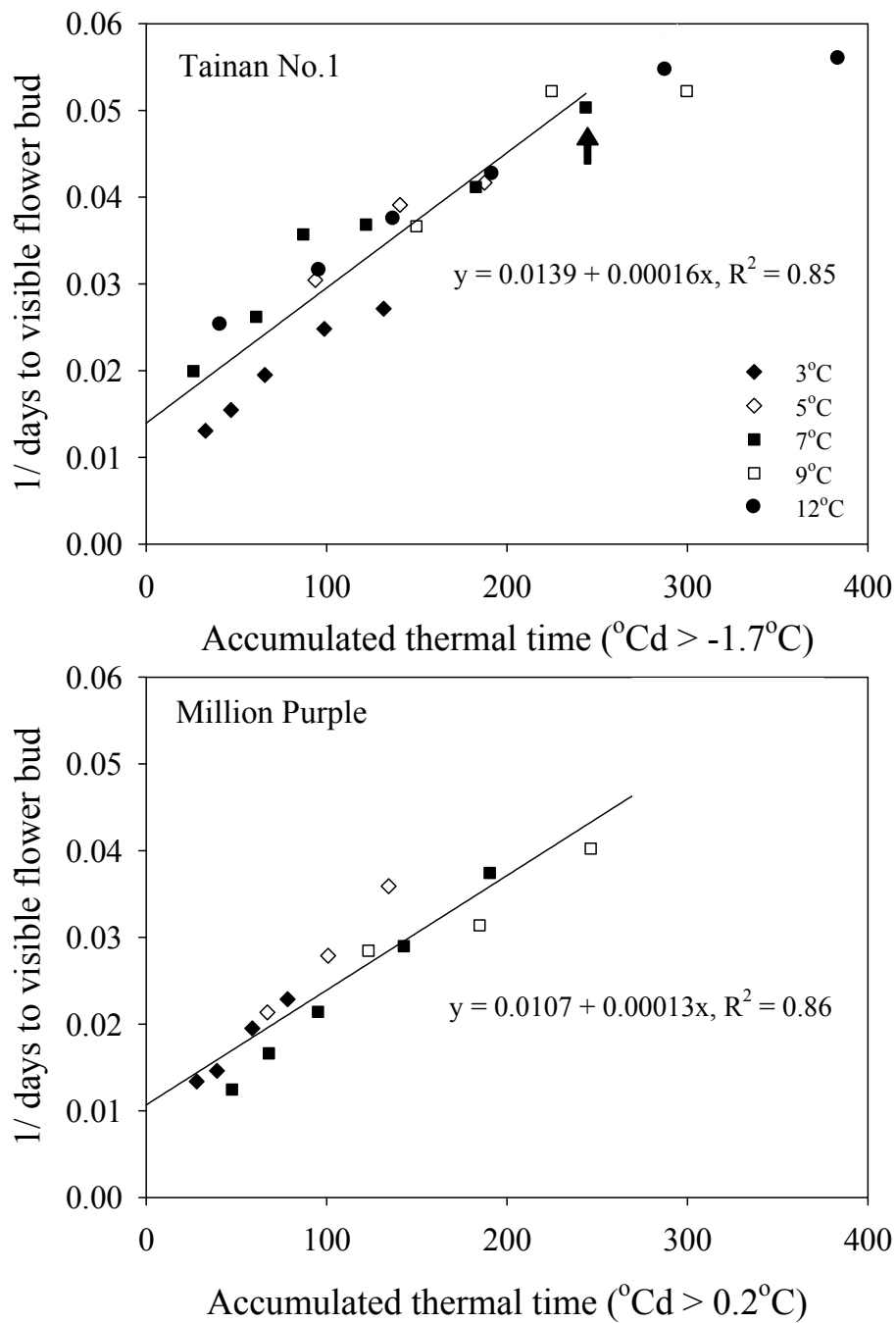


圖 5.8. 度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之關係。‘臺南 1 號’在 9-12°C 處理 28 天及 12°C 處理 21 天已達最大春化反應(↑)，未納入迴歸。

Fig. 5.8. Relationship between accumulated thermal time and the corresponding reciprocal of days to visible flower bud in *Limonium* cultivars Tainan No.1 ($^{\circ}\text{Cd} > -1.7^{\circ}\text{C}$) and Million Purple ($^{\circ}\text{Cd} > 0.2^{\circ}\text{C}$). Plants of ‘Tainan No.1’ received 9 to 12°C for 28 d and 12°C for 21 d had apparently reached maximum vernalization response (↑) and thus these data were not included for regression.

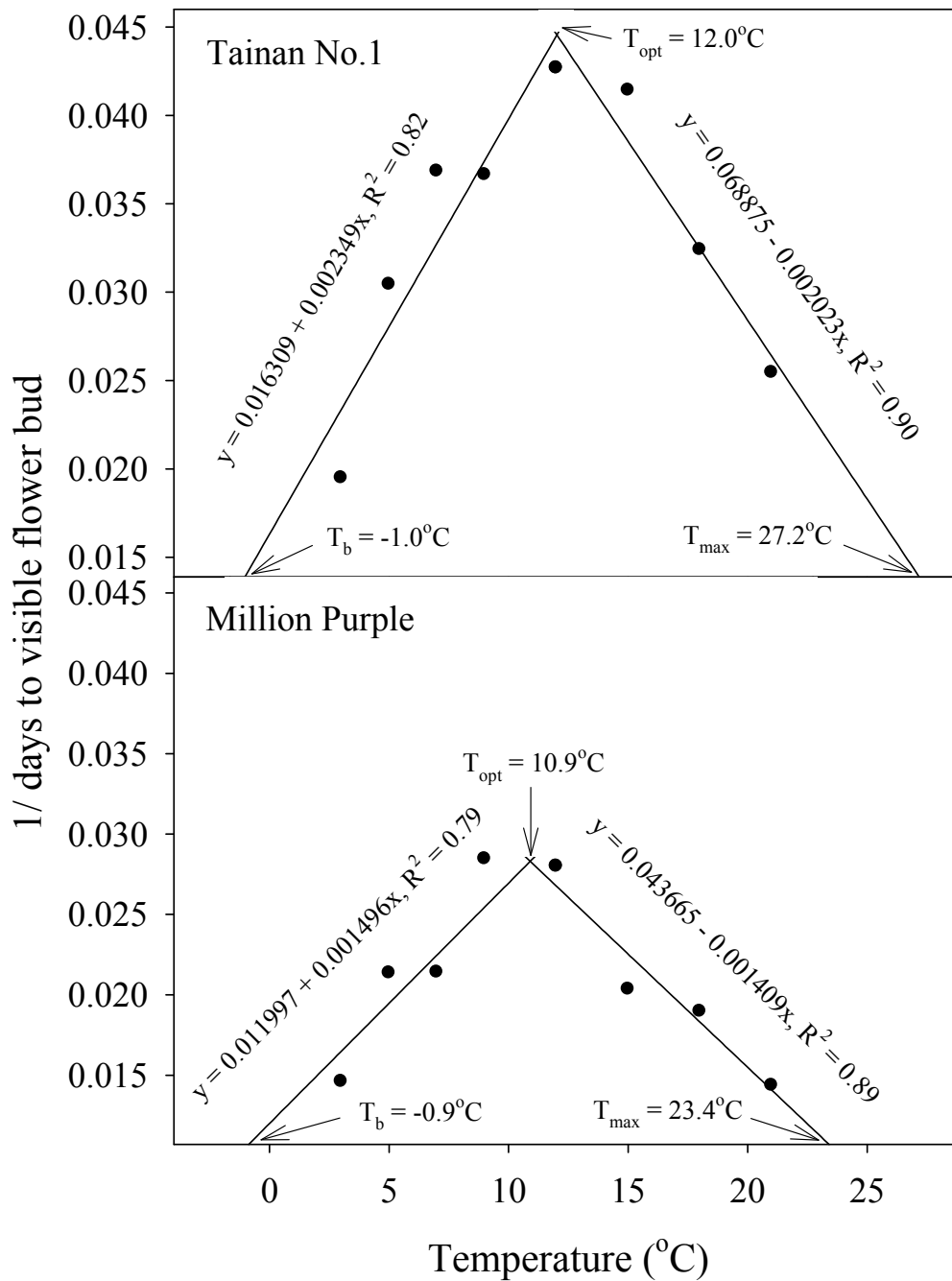
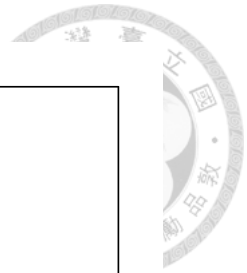


圖 5.9. 不同溫度處理兩週對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之影響。Y 軸底線以未經春化植株之到花芽可見天數倒數決定。

Fig. 5.9. Relationship between various temperature treatments for two weeks and the corresponding reciprocal of days to visible flower bud in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. The base line of Y axis was set to the reciprocal of the maximum days to visible flower bud which unvernalsing plants (0 vernalizing thermal time) would require.

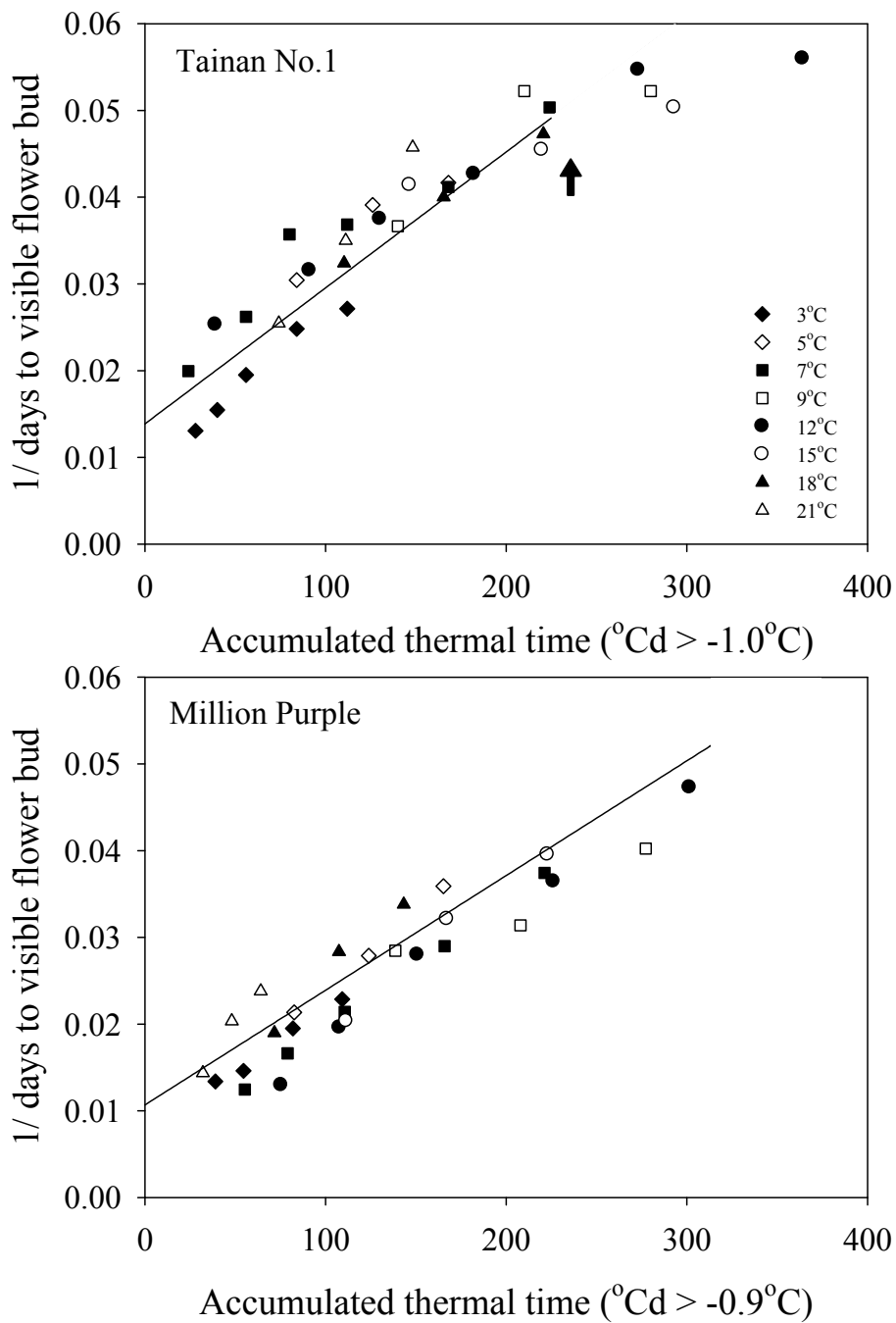


圖 5.10. 花芽發育度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’到花芽可見天數倒數之關係。所有點係投影於圖 5.8 所得之迴歸線。↑表示已達最大春化反應時間。

Fig. 5.10. Relationship between the reciprocal of days to visible flower bud and accumulated thermal time in *Limonium* cultivars Tainan No.1 ($^{\circ}\text{Cd} > -1.0^{\circ}\text{C}$) and Million Purple ($^{\circ}\text{Cd} > -0.9^{\circ}\text{C}$) accumulated for the full durations of the temperature treatments. The results from all treatments are superimposed on the regression line as shown in Fig. 5.8. ↑ indicates plants had apparently reached maximum vernalization response.

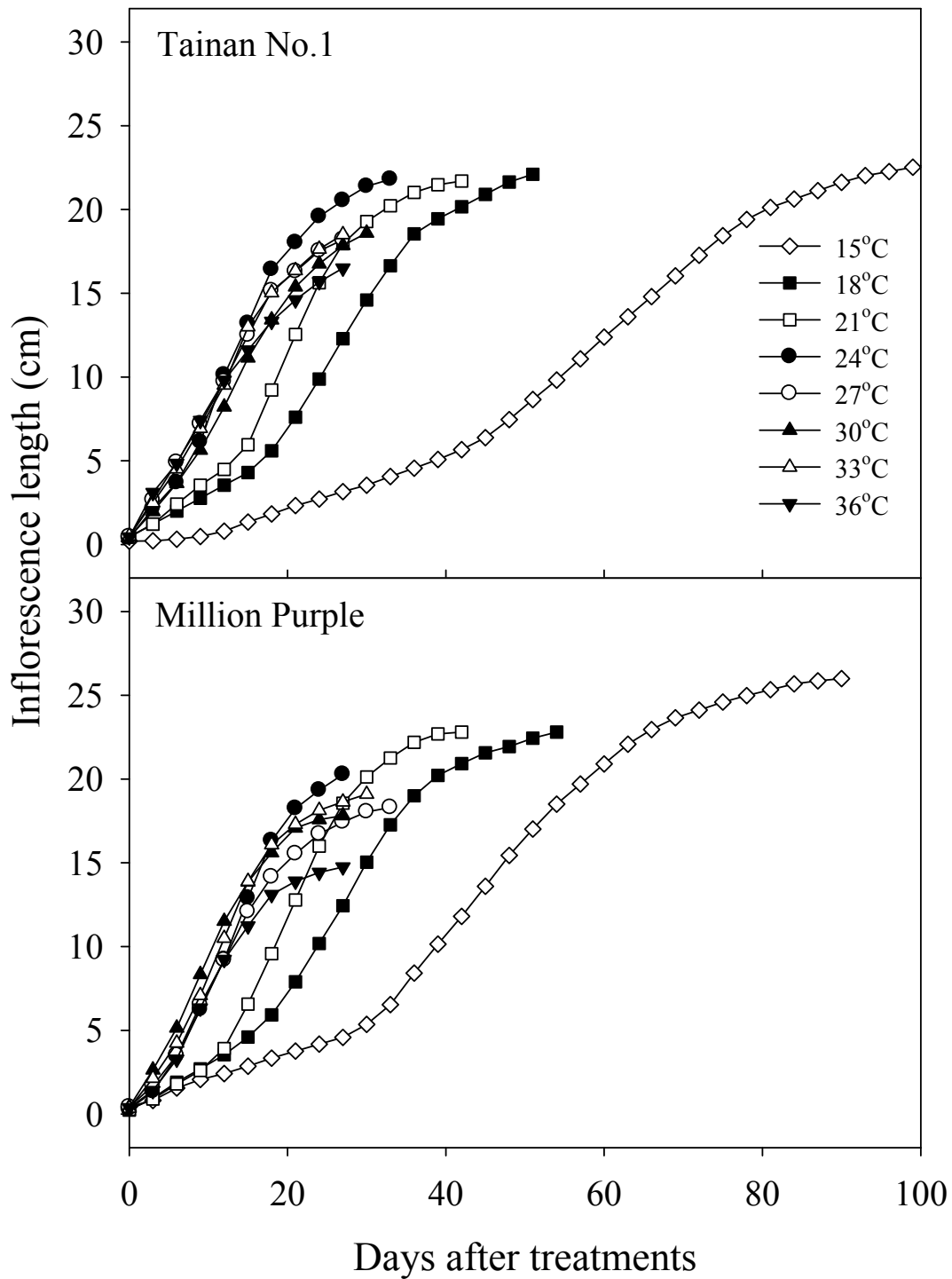


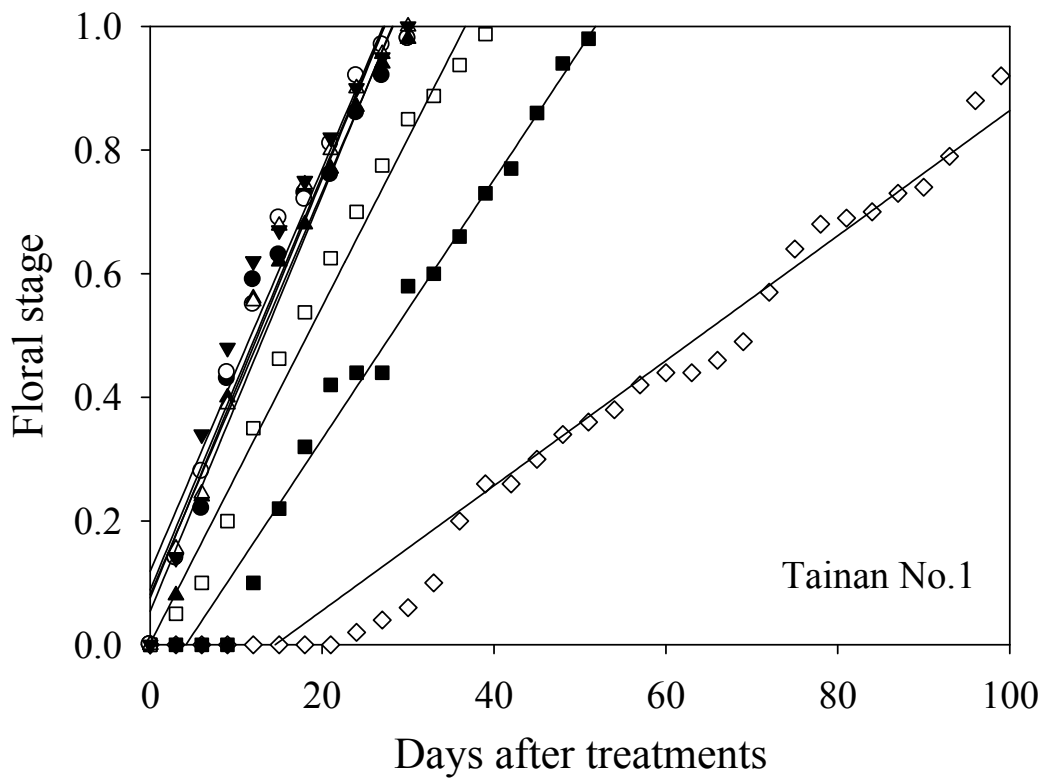
圖 5.11. 溫度對星辰花‘臺南1號’及‘百萬紫’花莖長度之影響

Fig. 5.11. Effect of temperature on inflorescence length in *Limonium* ‘Tainan No.1’ and ‘Million Purple’.



圖 5.12. 星辰花不同花芽發育階段之外觀形態。Stage 0.0：花芽已肉眼可見，約2 mm長。Stage 0.2：花莖第1側枝可見，約10-20 mm長。Stage 0.4：花莖生長達5 cm。Stage 0.6：花莖生長達12公分。Stage 0.7：第一花穗花萼顏色顯現。Stage 0.8：第一花穗第一朵花花萼開放。Stage 0.9：第一花穗半數花朵開放。Stage 1.0：第一花穗花朵全數開放。

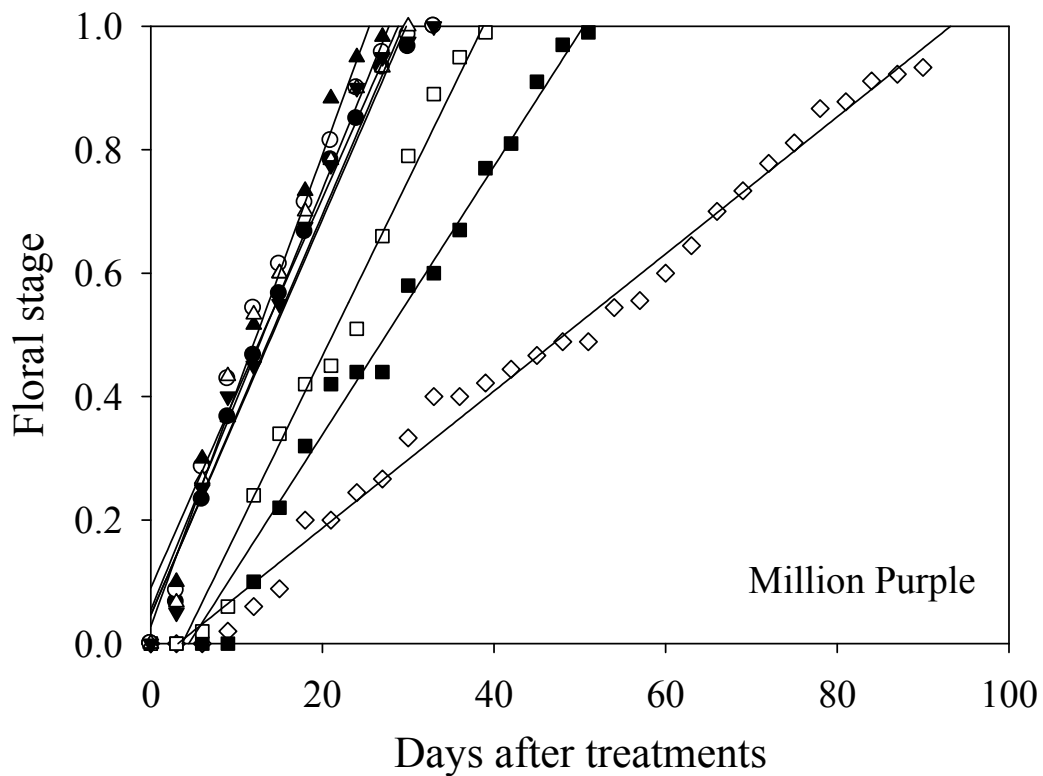
Fig. 5.12. Appearance of floral development in *Limonium* at different developmental stages. Stage 0.0: \approx 2 mm long, visible flower bud. Stage 0.2: \approx 10 to 20 mm long, first visible lateral inflorescence. Stage 0.4: Inflorescence 5 cm long. Stage 0.6: Inflorescence 12 cm long. Stage 0.7: Calyx of first flower spike showing color. Stage 0.8: First anthesis of first flower spike. Stage 0.9: First flower spike reached 1/2 anthesis. Stage 1.0: All flowers on first flower spike reached anthesis. Bars = 1.0 cm.



- ◇ 15°C $y = -0.147 + 0.010x, R^2 = 0.97$
- 18°C $y = -0.088 + 0.021x, R^2 = 0.98$
- 21°C $y = 0.002 + 0.027x, R^2 = 0.98$
- 24°C $y = 0.081 + 0.033x, R^2 = 0.96$
- 27°C $y = 0.089 + 0.033x, R^2 = 0.96$
- ▲ 30°C $y = 0.054 + 0.034x, R^2 = 0.97$
- △ 33°C $y = 0.076 + 0.034x, R^2 = 0.97$
- ▼ 36°C $y = 0.119 + 0.033x, R^2 = 0.94$

圖 5.13. 花芽創始後不同溫度處理對星辰花‘臺南 1 號’花芽發育階段之影響

Fig. 5.13. Effects of different temperature treatments on post-initiation floral developmental stage in *Limonium* ‘Tainan No.1’.



- ◇ 15°C $y = -0.035 + 0.011x$, $R^2 = 0.99$
- 18°C $y = -0.096 + 0.022x$, $R^2 = 0.98$
- 21°C $y = -0.104 + 0.028x$, $R^2 = 0.98$
- 24°C $y = 0.047 + 0.032x$, $R^2 = 0.97$
- 27°C $y = 0.090 + 0.032x$, $R^2 = 0.95$
- ▲ 30°C $y = 0.028 + 0.038x$, $R^2 = 0.99$
- △ 33°C $y = 0.055 + 0.034x$, $R^2 = 0.97$
- ▼ 36°C $y = 0.046 + 0.032x$, $R^2 = 0.97$

圖 5.14. 花芽創始後不同溫度處理對星辰花‘百萬紫’花芽發育階段之影響

Fig. 5.14. Effects of different temperature treatments on post-initiation floral developmental stage in *Limonium* ‘Million Purple’.

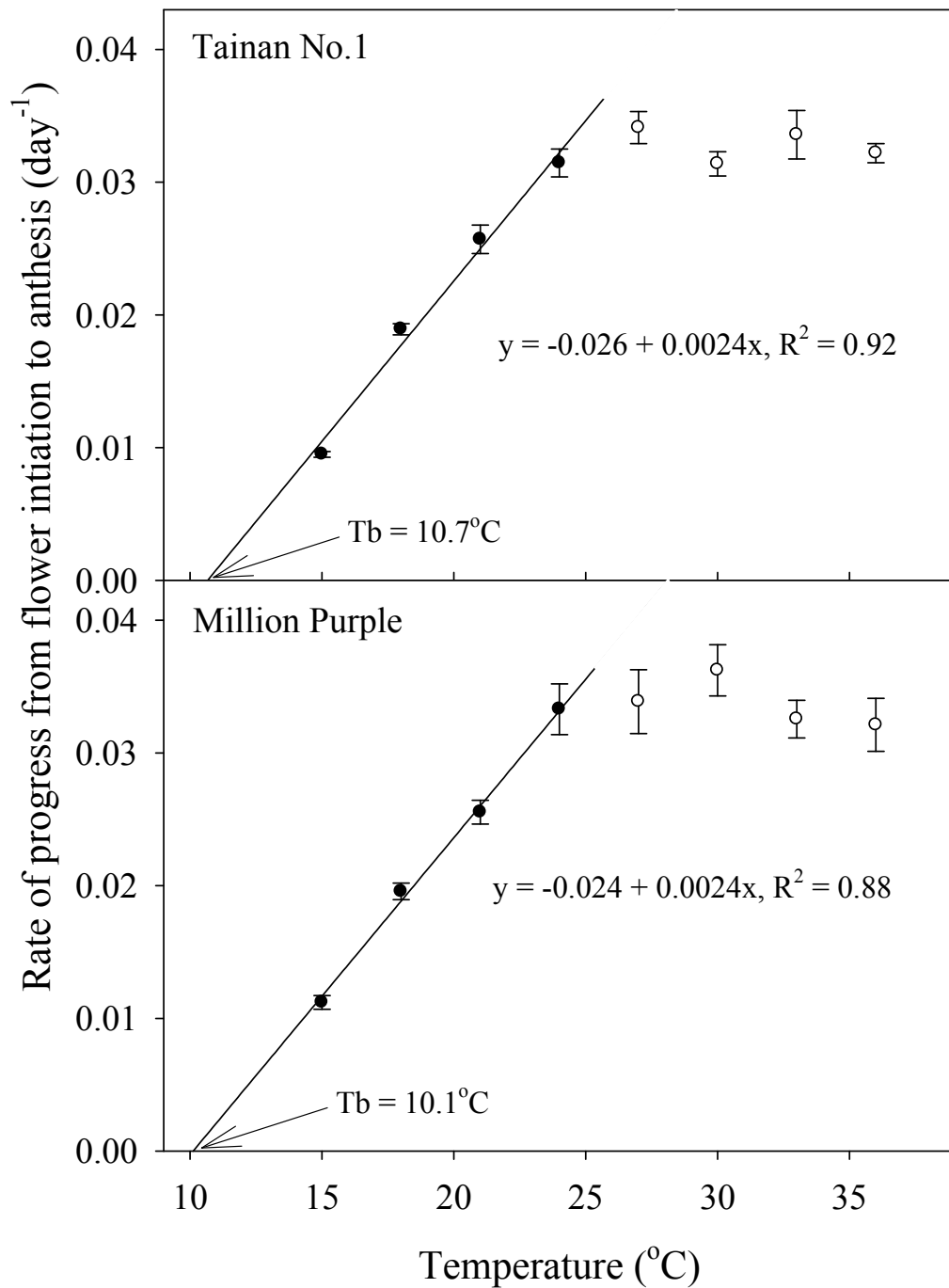


圖 5.15. 花芽創始後不同溫處處理對星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花芽發育速率之影響

Fig. 5.15. Relationship between different temperature treatments and the corresponding rates of progress from flower initiation to anthesis in *Limonium* cultivars Tainan No.1 and Million Purple. Plants of both cultivars received 27 to 36°C had apparently reached maximum floral developmental rate, respectively, and were not included for regression.

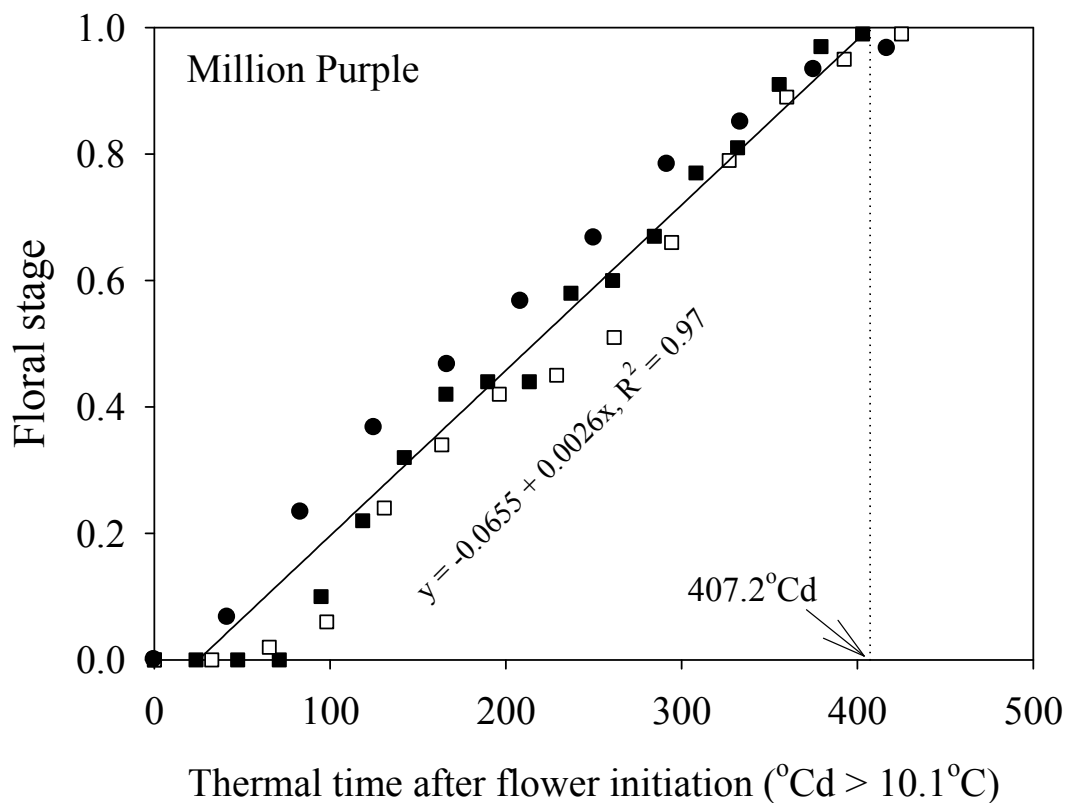
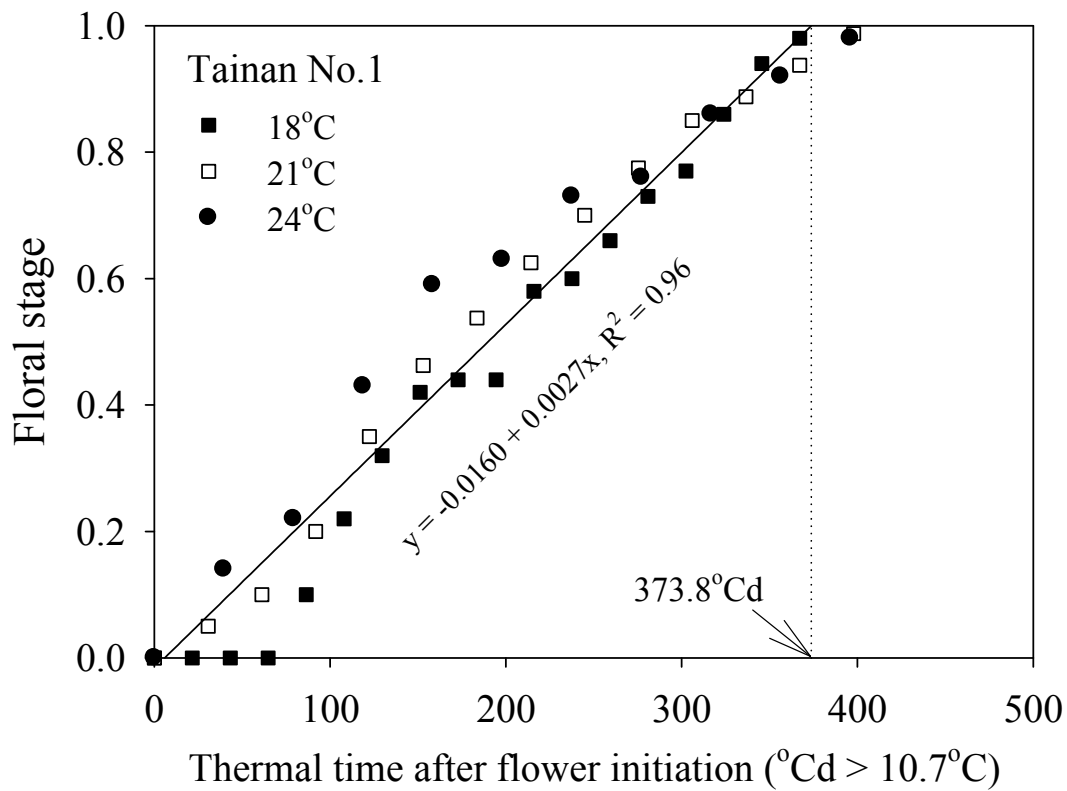


圖 5.16. 花芽創始後度積值與星辰花‘臺南 1 號’及‘百萬紫’花芽發育階段之關係
 Fig. 5.16. Relationship between thermal time and the corresponding floral developmental stage in *Limonium* cultivars Tainan No.1 (°Cd > 10.7°C) and Million Purple (°Cd > 10.1°C).

参考文献(References)



- 沈碧君、李晔. 1982. 星辰花之生長與開花習性. 中國園藝 28:20-35.
- 吾妻淺男、島崎純一、犬伏貞明. 1983. 種子の低溫処理によるスターチス・シヌ
アータ. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51:46-474. (in Japanese)
- Atherton, J.G., D.M. Yeh, J. Craigon, and G.A. Tucker. 1998. Leaf initiation and shoot
apical diameter in relation to phase transition in cineraria. J. Hort. Sci. Biotechnol.
74:45-51.
- Auman, C.W. 1980. Minor cut crops, p.183-211. In: R.A. Larson (ed.). Introduction to
floriculture. Academic Press, New York.
- Brøndum, J.J. and R.D. Heins. 1993. Modeling temperature and photoperiod effects on
growth and development of dahlia. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 118:36-42.
- Chen, J., K.A. Funnell, and E.R. Morgan. 2010. A model for scheduling flowering of a
Limonium sinuatum × *Limonium perezii* hybrid. HortScience 45:1441-1446.
- Clough, E.A., A.C. Cameron, R.D. Heins, and W.H. Carlson. 2001. Growth and
development of *Oenothera fruticosa* is influenced by vernalization duration,
photoperiod, forcing temperature, and plant growth regulators. J. Amer. Soc. Hort.
Sci. 126:269-274.
- Cohen, A., A. Harazy., H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early
flowering in blue statice. Acta Hort. 420:118-124.
- Craigon, J., J.G. Atherton, and E.A. Basher. 1990. Flowering and bolting in carrot. II.
Prediction in growth room, glasshouse and field environments. J. Hort. Sci.
65:547-554.
- Craigon, J., J.G. Atherton, and N. Sweet. 1995. Modelling the effects of vernalization on
progress to final leaf appearance in winter wheat. J. Agr. Sci. 124:369-377.
- Fausey, B.A. and A.C. Cameron. 2007. Differing vernalization responses of *Veronica*
spicata L. 'Red Fox' and *Laurentia axillaris*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 132:751-757.
- Lang, A. 1965. Physiology of flower initiation, p.1371-1576. In: W. Ruhland (ed.).
Encyclopedia of plant physiology. Vol. 15 (1). Springer-Verlag, Berlin.
- Niu, G., R. Heins, A. Cameron, and W. Carlson. 2004. Vernalization and devernialization
of *Campanula* 'Birch Hybrid' and *Leucanthemum* × *superbum* 'Snowcap'.
HortScience 39:1647-1649.
- Omae, H., A. Kumar, K. Kashiwaba, and M. Shono. 2006. Influence of high
temperature on morphological characters, biomass allocation, and yield

- components in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Prod. Sci.* 9:200-205.
- Pasian, C.C. and J.H. Lieth. 1994. Prediction of flowering rose shoot development based on air temperature and thermal units. *Scientia Hort.* 59:131-145.
- Ratcliffe, O.J., R.W. Kumimoto, B.J. Wong, and J.L. Riechmann. 2003. Analysis of the *Arabidopsis* MADS affecting flowering gene family: MAF2 prevents vernalization by short periods of cold. *Plant Cell.* 15:1159-1169.
- Roberts, E.H. and R.J. Summerfield. 1987. Measurement and prediction of flowering in annual crops, p.17-50. In: J.G. Atherton (ed.). *Manipulation of flowering.* Butterworths, London, UK.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1972. Long days and cool night temperature increase flowering of greenhouse grown *Limonium* cultivars. *HortScience* 7:293.
- Semeniuk, P. and D.T. Krizek. 1973. Influence of germination and growing temperature on flowering of six cultivars of annual statice. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:140-142.
- Shillo, R. 1976. Control of flower initiation and development of statice (*Limonium sinuatum*) by temperature and daylength. *Acta Hort.* 64:197-204.
- Shillo, R. and E. Zamski. 1985. *Limonium sinuatum*, p.292-301. In: A.H. Halevy (ed.). *CRC Handbook of Flowering Vol. III.* CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Suzuki, A. and J.D. Metzger. 2000. Vernalization in a greenhouse promotes and synchronizes flowering of *Osteospermum ecklonis* Norl. *HortScience* 36:658-660.
- Whitman, C.M., R.D. Heins, A.C. Cameron, and W.H. Carlson. 1997. Cold treatment and forcing temperature influence flowering of *Campanula carpatica* 'Blue Clips'. *HortScience* 32:861-865.
- Williams, C.A. and J.G. Atherton. 1990. A role for young leaves in vernalization of cauliflower: I. Analysis of leaf development during curd induction. *Physiol. Plant.* 78:61-66.
- Yeh, D.M. and J.G. Atherton. 1999. A thermal time model of post-initiation flower development in the shade plant, cineraria. *Ann. Appl. Biol.* 134:335-340.
- Yeh, D.M., J.G. Atherton, and J. Craigon. 1997. Manipulation of flowering in cineraria. III. Cardinal temperatures and thermal times for vernalization. *J. Hort. Sci.* 72:379-387.
- Yuan, M., W.H. Carlson, R.D. Heins, and A.C. Cameron. 1998. Effect of forcing temperature on time to flower of *Coreopsis grandiflora*, *Gaillardia × grandiflora*, *Leucanthemum × superbum*, and *Rudbeckia fulgida*. *HortScience* 33:663-667.



第六章 低春化需求之水晶花品種/系選育

Chapter 6. Selection of Low Vernalization-requiring *Limonium* Cultivar/Lines

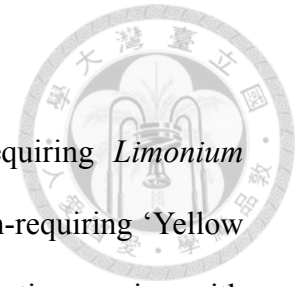
附加關鍵字：切花、早花選種、植物育種、春化作用

Additional index words: cut flower, early-flowering selection, plant breeding, vernalization

摘要

本研究旨在選育早花水晶花(*Limonium* hybrids)品種/系以適合亞熱帶地區栽培。商業品種‘黃鑽’開花需冷性高，必須於高冷地栽培，生產成本高，將其與臺灣原生且能週年開花之石菘蓉[*L. sinense* (Girard) Kuntze]雜交，選拔開花品質優良之早花後代和商業品種進行性狀與開花之比較試驗。將具 10-15 片葉之早花品種‘臺南 2 號’及‘黃鑽’組培苗，置於日夜溫 15/10 或 35/30°C 之生長箱，每日光照 12 小時，光強度為 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，進行 4 週之定植前溫度處理，之後再定植於氣溫 15-28°C，自然日長 10.5-12.5 h 之溫室。結果顯示，定植前以 15/10°C 處理之‘臺南 2 號’較‘黃鑽’早 10 天開花，花莖亦較長。而定植前 35/30°C 處理會使‘臺南 2 號’到開花時間較 15/10°C 處理者晚約 10 天，然‘黃鑽’經 35/30°C 處理者至定植 150 天時仍未開花。另將‘臺南 2 號’及其他 5 個早花選系與商業品種‘黃鑽’、‘粉鑽’及‘白鑽’組培苗相同定植前溫度處理後，再定植於氣溫 20-28°C，自然日長 11-13 h 之溫室。結果顯示除早花選系 99SC5 外，定植前高溫處理會使參試品種/系到開花時間延後。早花選系 99SC4 及 3 個商業品種外，其他參試早花品種/系花莖數不會因定植前高溫處理而顯著減少。選育品種‘臺南 2 號’花萼黃色且到開花時間早，適合在亞熱帶氣候條件下生產切花，臺灣平地可在 10 月種植而於冬季價格最好的時候開花，供應市場需求。

Abstract



The aim of this study was to select low vernalization-requiring *Limonium* cultivars/lines for production in subtropical area. High vernalization-requiring ‘Yellow Diamond’ was crossed with *L. sinense* (Girard) Kuntze, a Taiwan-native species, with year-round flowering characteristics. The selected early-flowering hybrids and ‘Yellow Diamond’ were mass-propagated by tissue culture. When the plants had 10-15 leaves, they were transferred to growth chambers at pre-planting day/night temperatures of 15/10 and 35/30°C, under a 12-h photoperiod with 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF for 4 weeks. The plants were then planted in a plastic house under 10.5- to 12.5-h natural daylengths at temperatures of 15 to 28°C for further growth. Plants of ‘Tainan No.2’ flowered 10 d earlier and had longer inflorescences than ‘Yellow Diamond’ for the 15/10°C pre-planting treatment. Flowering of ‘Tainan No.2’ at 35/30°C was delayed by 10 d compared with those at 15/10°C. In contrast, ‘Yellow Diamond’ plants did not flower after 150 d of cultivation after the 35/30°C treatment. Tissue-cultured plants of ‘Tainan No.2’, five other early-flowering selected lines, and ‘Yellow Diamond’, ‘Pink Diamond’, and ‘White Diamond’ were treated with pre-planting temperatures of 15/10 and 35/30°C. The plants were then planted in a plastic house under 11- to 13-h natural daylengths at temperatures of 20 to 28°C for further growth. Results showed that all cultivars/lines took longer time to flowering when pre-treated at 35/30°C than at 15/10°C, except early-flowering selected line 99SC5. Except, 99SC4, inflorescence yield of all the early-flowering selected lines did not decrease when pre-treated at 35/30°C. In contrast, three tested commercial cultivars had decreased inflorescence yield when pre-treated at 35/30°C. ‘Tainan No.2’ has yellow calyx and is selected for cut flower production in subtropical climates. In the lowland area of Taiwan, ‘Tainan No.2’ can be planted in October and flowers naturally in winter when the price is high.


前言(Introduction)



水晶花(*Limonium hybrids*)是新興的補血草屬切花作物，花萼顏色大致可分為粉、黃及白三種。其親本咸信來自中國，血緣溯及石菫蓉[*L. sinense* (Girard) Kuntze]、二色補血草[*L. bicolor* (Bunge) Kuntze]和黃花補血草[*L. aureum* (L.) Hill]這三個原種(Harada, 1998)。目前市場上的品種，主要有荷蘭 Hilverda 種苗公司推出的‘Diamond’系列，Royal Van Zanten 公司的‘China’系列，日本 TS Meri Tech 公司的‘姬’系列等。臺灣於 2000 年引入數個與中國原生種雜交之水晶花品種，低溫春化需求性強，商業栽培為提早花期，需於七至十月時在高冷地進行穴盤育苗(11-18°C，自然日長 12-13.5 h)，再移至平地設施栽培，通常於隔年二月至三月才開花。

補血草屬植物均需低溫春化誘導才會加速開花，依品種或種而有不同的春化需求(Armitage and Laushman, 2003；Dole and Wilkins, 2005)。Harada (1998)將補血草屬植物依開花對低溫的需求分為 Type I 和 Type II 兩種，Type I 需低溫完成春化後才會開花，自然花期在晚春及夏季，Type II 只要在適當的溫度、光照及時期就會開花。星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill.]需 11-13°C 低溫 3-6 週才能完成花芽創始(Shillo and Zamski, 1985)，屬於 Type I 型；而補血草雜交種‘Misty’系列在 15-18°C 環境下可促進開花(Armitage and Laushman, 2003)，被歸類為 Type II 型。水晶花‘Lemon Star’為石菫蓉和黃花補血草之雜交所得品種，雖歸類為 Type II 型，但理想的生育溫度為 10-25°C，超過 25°C 生育不良而不開花(Harada, 1998)。

補血草屬約包含 300 多個種(Burchi et al., 2006)，多數原生種園藝性狀較差，在育種上通常用以改善商業品種，藉以改善開花需冷性、提高切花產量及花莖長度(Burchi et al., 2006)。由於補血草屬植物具二型性花器官，可分為(1)玉米穗型(cob)柱頭、粗孔花粉以及(2)乳突型(papillate)柱頭、細孔花粉兩種個體，必須不同型的花粉與柱頭搭配，才会有種子產生(Baker, 1953)，為絕對異交植物，所以種間或種內雜交配合集團選拔法是重要的育種策略。現有星辰花種間雜交的研究均著




重於雜交障礙之克服或切花品質之改進，較少對於開花需冷性之改良，例如奇妙石菘(*L. perigrinum* Bergius)及紫紋石菘(*L. purpuratum* L.)之種間雜交得到新品種‘Chorus Magenta’，為紫紅花色之盆花品種並對病蟲害的抗性較高(Burge et al., 1995; Morgan et al., 2001; Seelye et al., 2000)。貝利星辰[*L. perezii* (Stapf) F. T. Hubb.]和星辰花之種間雜交後代偏向於星辰花之外形，強調多倍體之特性(Morgan et al., 1998, 2001)。雜交卡斯匹亞(*L. caspia*)和蘇聯補血草[*L. latifolium* (Sm.) Kuntze]獲得‘Beltlaard’及‘Saint Pierre’，結合卡斯匹亞大花、花莖長及蘇聯補血草花序密、萼色深之特性而成為重要的栽培品種(Burchi et al., 2006)。在義大利 I.S.F.所進行的品種改良工作，已育成許多新的種間雜交品種，改善產量及抗病性(Burchi et al., 2006)。

在臺灣有兩個本屬植物之原生種，分別為石菘蓉及烏芙蓉[*L. wrightii* (Hance) Kuntze]，兩者均原生於海岸地帶，具有四季開花之特性(Li, 1998; Pen and Kamelin, 1996)，可歸類為Type II型。本研究將臺灣嘉義布袋原生之石菘蓉與商業品種‘黃鑽’雜交，在臺南區農業改良場對其雜交後代進行早花選種，期選出低春化需求且具商業價值之品種。

材料與方法(Materials and Methods)

為改良水晶花的高春化需冷性，於2003年在臺灣臺南市新化區臺南區農業改良場(臺灣臺南新化，北緯23°03’，東經120°20’)進行人工雜交，以乳突型柱頭之商業品種‘黃鑽’(‘Yellow Diamond’, HilverdaKooij, Aalsmeer, Holland)為種子親，取原生嘉義布袋具有週年開花、花莖直立特性及粗孔型花粉之石菘蓉為花粉親。雜交後之F₁種子，於2004年9月15日播種於填充泥炭苔介質(TS 1 medium, Klasmann Select, Geeste, Germany)之128格黑色穴盤(穴盤為55×29 cm，每穴格直徑3 cm，深3 cm)，當長出5-6片葉時，於2004年10月20日定植於田間進行選拔，種植約1000株，取到花日數短、花莖直立、花莖數多且花色純正的植株之種




子，於 2005 年 9 月時再播種，進行下一年度選拔工作，持續進行數代。於 2008 年選拔出自然花期早、花莖直立、開花數多、花萼及花瓣均為黃色的單株，進行組織培養，繁殖為代號 97SC1 之營養系，其表現具一致性及穩定性，命名為‘臺南 2 號’(Tainan No.2)。

取‘臺南 2 號’與其親本商業品種‘黃鑽’進行組織培養。詳細組織培養條件參見第三章。於 2008 年 9 月 8 日當植株具 5-10 片葉時，出瓶至 50 格穴盤(穴盤為 53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm)種植，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann Select, Geeste, Germany)。於 2008 年 10 月 18 日當植株具 10-15 片葉時置於日夜溫 15/10°C 或 35/30°C 之生長箱，每日光照 12 小時，光強度為 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Photosynthetic photon flux, *PPF*)，進行定植前處理 4 週。於 2008 年 11 月 22 日在育苗室(20-32°C，150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ *PPF*)中馴化 2 週後，於 2008 年 12 月 6 日定植於塑膠布溫室，每品種每處理 15 株，定植期間之日溫 20-28°C，夜溫 15-20°C，自然日長 11-13 h。調查自定植到開花日數、花莖數及花莖長度，每品種每處理逢機調查 5 株。

於 2009 年 10 月當植株具 5-10 片葉時，出瓶至 50 格穴盤(穴盤長寬為 53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm)種植，栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann Select, Geeste, Germany)。於 2009 年 11 月 12 日當植株具 15-20 片葉時定植於塑膠布溫室(17-30°C，自然日長 10.5-12.5 h)，每品種每處理 25 株，並觀察 4 個月，於 2010 年 3 月時結束。

另將‘臺南 2 號’及 99SC4、99SC5、100SC1、100SC2、100SC3 等 5 個選育品系，及商業品種水晶花‘黃鑽’、‘粉鑽’(Pink Diamond)、‘白鑽’(White Diamond) (HilverdaKooij, Aalsmeer, Holland) 等 3 個品種進行組織培養，並進行前述定植前溫度處理。繁殖條件及栽培方法如同前述。於 2011 年 12 月 6 日定植於臺南區農業改良場試驗田，每品種每處理 15 株，定植期間之日溫 20-28°C，夜溫 15-20°C，自然日長為 11-13 h。調查自定植到開花日數、花莖數及花莖長度，每品種每處理逢機調查 5 株。




上述調查項目中以定植後至第一枝花序之小花顯現花色時為到花日數，單株總花莖數，第一小花序花朵全開時之花莖長度。試驗皆採完全逢機試驗設計，所調查資料採用 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 統計軟體分析，並以 *t*-test 或最小顯著差異 (Least significant difference, LSD) 進行處理間平均值比較。

結果(Results)

選育之‘臺南2號’和商業品種‘黃鑽’在定植前以35/30°C或15/10°C處理4週後，再種植於塑膠布溫室，結果顯示‘臺南2號’在定植前經35/30°C處理者，於田間定植102天後開花，定植前經15/10°C處理者較35/30°C處理者提早10天開花，而‘黃鑽’定植前經15/10°C處理者則在田間定植101天後開花，但定植前經35/30°C處理者，經150天栽培後仍未開花(表6.1)。定植前溫度處理對‘臺南2號’之花莖數無顯著影響。‘臺南2號’定植前以15/10°C處理較35/30°C處理之花莖長。選育之‘臺南2號’早花性及切花品質均優於親本商業品種‘黃鑽’。

在另一觀察試驗中，‘臺南2號’在塑膠布溫室內定植4個月後已長出許多達可採收階段之花序，相較之下，‘黃鑽’在定植4個月時仍處於營養生長狀態(圖6.1)。

取‘臺南2號’及選育品系99SC4、99SC5、100SC1、100SC2、100SC3與商業水晶花品種‘黃鑽’、‘粉鑽’、‘白鑽’之組培苗，進行定植前日夜溫35/30或15/10°C處理4週，之後再種植於塑膠布溫室內。結果顯示所有品種/系、所有處理均可開花(圖6.2)。除99SC5外，所有品種/系定植前以35/30°C處理均較定植前以15/10°C處理者晚開花(表6.2)。定植前以35/30°C處理後，商業品種較所選拔早花品種/系開花延遲更明顯，參試品種/系中以所選拔之‘臺南2號’最早開花。除99SC5外，所選拔之品種/系不論定植前經35/30或15/10°C處理，花莖數均未有顯著差異，而商業品種花莖數則明顯因定植前35/30°C處理減少。定植前35/30°C處理對所有參試品種/系花莖長度無顯著影響。



選育之‘臺南2號’葉狹長形，葉色綠，具有光澤。花莖上具有葉，直徑中等，表面無絨毛，無翼片，小花數目中等，第一分枝托葉長度短，小花序長度短，分枝程度中等，高度大於100 cm，花莖數中等。花萼鐘型，顏色黃色(RHS 1D)，直徑中等(圖6.3)。花冠顏色黃色(RHS 1A)，大小中等。柱頭較花藥相對位置高。柱頭型為玉米穗型。

討論(Discussion)

異交作物適合以集團選拔法進行品種改良，選拔符合目標性狀的單株並留存其種子進行下一代選拔，數代後族群表現傾向選拔方向(Abreu et al., 2010)。本研究結果顯示藉由連續4代選拔到花日數短且花莖數多的水晶花後代，可以獲得明顯較親本早花且產生更多花莖的水晶花品種/系(表6.1, 6.2)。此選種法已成功應用於其他補血草屬植物的品種改良(Cohen et al., 1995；Whipker and Hammer, 1994)。其他作物中，如玉米(*Zea mays* L.)以含油量高為育種目標，經過9代選種後，DS7u品系含油量增加16.1%，YuSSSu品系增加12.8% (Rosulj et al., 2002)。Hof等人(1999)將烏克蘭植物園中的海角金盞[*Dimorphotheca pluvialis* (L.) Moench]族群依開花性狀差異選出20個單株採收種子代表20個族群，再進行兩年期的的小規模半譜系(half-sib)遺傳試驗，結果顯示始花時間、盛花時間及總花數等性狀預測可以藉由集團選拔法改良，且會在早期世代看到明顯之選拔效果。

取水晶花‘臺南2號’和親本‘黃鑽’於定植前以日夜溫 35/30 或 15/10°C 處理 4 週再種植，‘臺南2號’之到花日數均較‘黃鑽’早(表 6.1)，而 5 個早花選系經相同處理亦明顯較參試商業品種早開花(表 6.2)。Harada (1998)雖將水晶花‘Lemon Star’歸類為 Type II 自由開花型，但其必須於 10-25°C 才可有良好開花表現。‘黃鑽’定植前經 35/30°C 處理者，定植在 15-28°C 環境下，栽培 4 個月尚未有足夠低溫使其開花(表 6.1)，而在試驗田栽培之‘黃鑽’雖可開花但需 133.2 天之久(表 6.2)，推測和‘Lemon Star’的開花條件類似(Harada, 1998)。而選育之品種/系即使定植前經高

溫處理者，到花時間平均約為 103 天(表 6.2)，顯示其於臺灣平地冬季栽培，即使低溫時間較少也能開花，開花需冷性明顯較參試商業品種少，也顯示早花選拔效果明顯。

所有參試品種/系經定植前 35/30°C 處理 4 週再種植，除 99SC5 選系外，到開花日數皆明顯較 15/10°C 前處理者晚(表 6.2)。具春化作用需求之芹菜(*Apium graveolens* cv. Dulce)以 30°C 高溫處理，之後雖有春化處理，但到抽苔時間亦較晚(Benoit et al. 1978；Sachs and Rylski, 1980)。春化低溫前之高溫會降低春化作用，稱之為高溫前去春化(high temperature pre-devernalization)。傳統上，臺灣平地 10 月份栽培商業品種水晶花，必須於夏季移至高冷地育苗，本研究選育成之品種/系比較不會因為苗期高溫而過度延遲花期，顯示其早花性除了開花需冷性較低外，和高溫前去春化作用較不明顯有關。

水晶花‘臺南2號’是針對亞熱帶氣候條件下選育的品種，開花需冷性低，在臺灣平地可在10月定植，最早在12月即可因自然涼溫開花，花期可至隔年5月。其母本水晶花‘黃鑽’開花需冷性高但花萼鮮黃具觀賞性，父本石菘蓉為臺灣海岸地區的原生植物，具週年開花特性，對不良環境的耐候性佳，據Burchi等人(2006)指出，本屬花卉可應用在鹽分地栽培。綜合兩親本之特徵，‘臺南2號’需冷性低，可節省栽培成本，其花莖數多，花莖直立，具有取代‘黃鑽’之潛力。

表 6.1. 定植塑膠布溫室前日夜溫 35/30 或 15/10°C 處理 4 週對水晶花‘臺南 2 號’和商業品種‘黃鑽’到花日數、花莖數及花莖長度之影響

Table 6.1. Effect of pre-planting temperature treatments for 4 weeks on days to flowering, number of inflorescences, and length of inflorescences of *Limonium* ‘Tainan No.2’ and ‘Yellow Diamond’ planted in a plastic house at Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2008 to Apr. 2009. (15-28 °C, 10.5- to 12.5-h natural daylengths).

Cultivar	Day/night temp. (°C)	Days to flowering	Number of flower stems per plant	Length of flower stem (cm)
Tainan No.2	35/30	102.0 b ^z	17.3 a	83.8 b
	15/10	91.3 a	18.0 a	92.7 a
Yellow Diamond	35/30	-- ^y	--	--
	15/10	101.1 b	13.3 a	81.3 b

^zMean separation within columns by least significant difference at $P < 0.05$.

^yPlants did not flower after 150 d of cultivation after the 35/30°C pre-planting treatment.



圖 6.1. 水晶花‘臺南 2 號’(右)與商業品種‘黃鑽’(左)於 2010 年 3 月在臺南改良場簡易設施內開花情形。兩品種之組織培養苗於 2009 年 11 月 12 日定植(溫度：17-30°C、自然日長 10.5 至 12.5 小時)。

Fig. 6.1. Flowering performance of *Limonium* ‘Tainan No.2’ (right) and its parental cultivar ‘Yellow Diamond’ (left) in a plastic house at Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Nov. 2009 to Mar. 2010 (17-30°C, 10.5-12.5 h natural daylengths).

表 6.2. 定植前溫度處理 4 週對水晶花早花選拔品種/系與商業品種之開花天數、花莖數及花莖長度之影響

Table 6.2. Effect of pre-planting temperature treatments for 4 weeks on days to flowering, number of inflorescences, and length of inflorescences of early-flowering selected *Limonium* cultivar/lines and commercial cultivars planted in the field of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2011 to Apr. 2012 (15-28°C, 11- to 13-h natural daylengths).

Line/Cultivar	Day/night temp. (°C)	Days to flowering	Number of flower stems per plant	Length of flower stem (cm)
Tainan No.2	35/30	98.4	16.7	76.2
	15/10	94.4 ^z	16.3	80.3
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
99SC4	35/30	104.6	17.4	88.2
	15/10	99.7	21.5	90.5
	<i>t</i> -test	*	*	NS
99SC5	35/30	112.0	18.1	103.7
	15/10	107.8	16.2	105.5
	<i>t</i> -test	NS	NS	NS
100SC1	35/30	113.9	15.3	71.2
	15/10	104.3	14.4	75.8
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
100SC2	35/30	112.2	18.5	92.6
	15/10	107.4	20.0	95.4
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
100SC3	35/30	110.0	21.9	86.2
	15/10	105.7	24.1	90.1
	<i>t</i> -test	*	NS	NS
Yellow Diamond	35/30	133.2	8.6	80.3
	15/10	102.6	12.3	86.0
	<i>t</i> -test	*	*	NS
Pink Diamond	35/30	171.4	2.1	76.9
	15/10	142.2	8.6	82.7
	<i>t</i> -test	*	*	NS
White Diamond	35/30	147.7	3.2	74.4
	15/10	119.6	7.5	81.8
	<i>t</i> -test	*	*	NS

^zMean separation within columns and line/cultivar by *t*-test at $P < 0.05$.

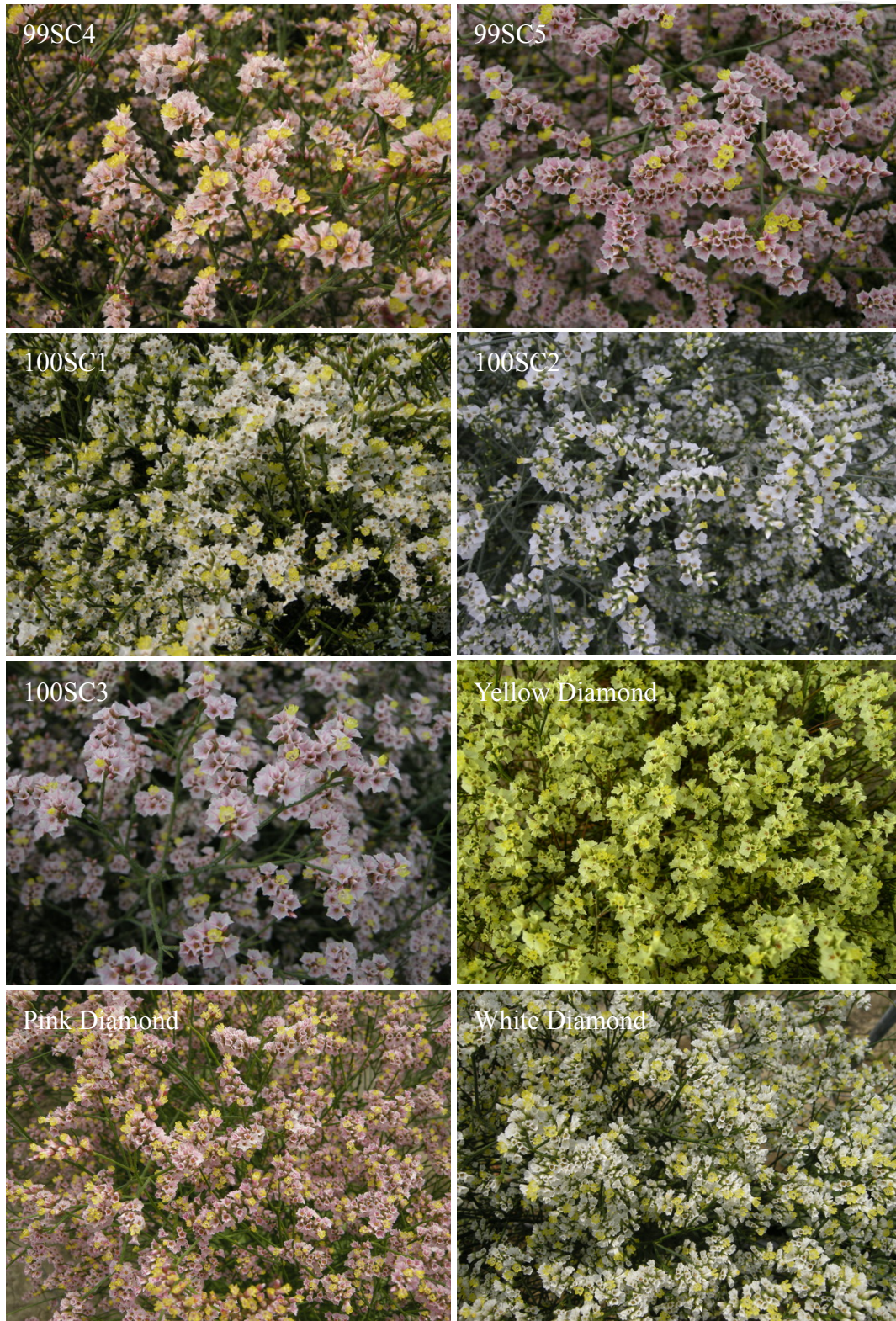


圖 6.2. 水晶花早花選系及商業品種花部形態及花色。組培苗於 2011 年 12 月定植於田間，栽培時期平均溫度介於 15 到 28°C，日長介於 11 到 13 小時。

Fig. 6.2. Flower characteristics of selected early-flowering *Limonium* cultivar/lines and commercial cultivars grown in the field of Tainan District Agricultural Research and Extension Station from Dec. 2011 to Apr. 2012 (15-28°C, 11- to 13-h natural daylengths).

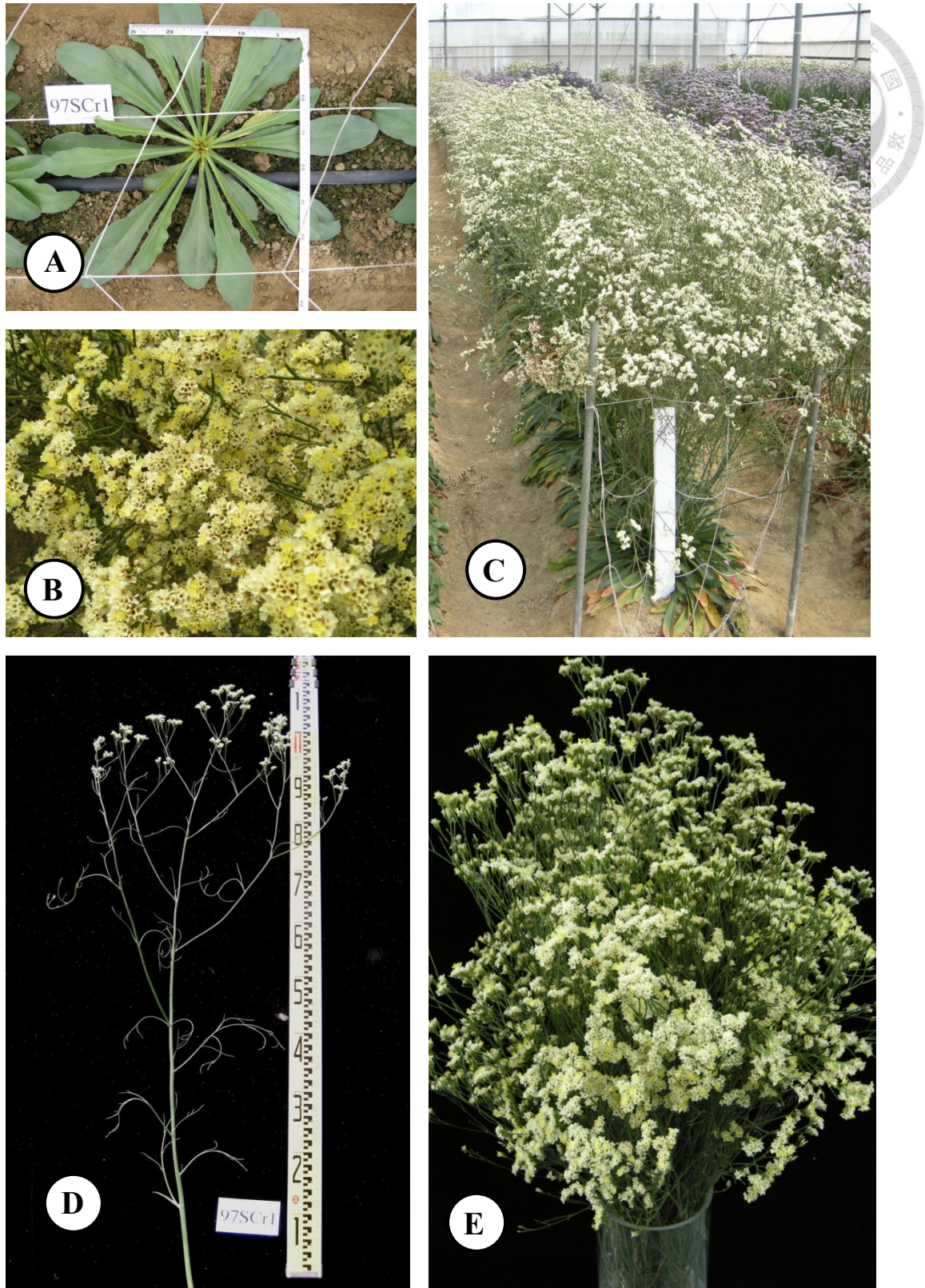


圖 6.3. 水晶花‘臺南 2 號’之植株形態。(A)幼株、(B)花序、(C)開花之植株、(D)切花長度可大於 90 cm 及(E)花束。

Fig. 6.3. Plant characteristics of *Limonium* ‘Tainan No.2’. A, Young plant, B, Inflorescences, C, Flowering plants, D, Inflorescence length > 90 cm , E, Bouquet.

參考文獻(References)



- Abreu, G.B., M.A.P. Ramalho, F.H.R.B. Toledo, and J.C. de Souza. 2010. Strategies to improve mass selection in maize. *Maydica* 55:219-225.
- Armitage, A.M. and J.M. Laushman. 2003. *Limonium*, p.387-403. In: A.M. Armitage and J.M. Laushman (eds.). Specialty cut flowers. 2nd ed. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Baker, H.G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. II. Pollen and stigate in the genus *Limonium*. *Ann. Bot.* 107:433-445.
- Benoit, F., N. Ceustermans, and J.M. Kinet. 1978. Induction, suppression, or prevention of vernalisation in self-blanching celery (*Apium graveolens* L. var. Dulce). *Agricultura* 26:163-182.
- Burchi, G., A. Mercuri, C. Bianchini, E. Mercatelli, M. Maletta, and T. Schiva. 2006. Results of a breeding activity on *Limonium* spp. *Acta Hort.* 714:43-50.
- Burge, G.K., E.R. Morgan, J.F. Seeley, J.E. Grant, C. Zhang, and M.E. Hopping. 1995. Generation of novel forms of *Limonium*. *Acta Hort.* 420:78-80.
- Cohen, A., A. Harazy, H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early flowering in blue statice. *Acta Hort.* 420:118-124.
- Dole, J.M. and H.F. Wilkins. 2005. Floriculture: Principles and species. 2nd ed. Pearson Education Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA.
- Harada, D. 1998. *Limonium*, p.630-633. In: V. Ball (ed.). Ball RedBook. 16th ed. Ball Publishing, Batavia, IL, USA.
- Li, H.L. 1998. Plumbaginaceae, p.79-82. In: T.C. Huang (ed.). Flora of Taiwan. Vol. 4. Dept. Bot., Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, J.F. Seeley, M.E. Hopping, and J.E. Grant. 1998. Production of inter-specific hybrids between *Limonium perezii* (Stapf) Hubb. and *Limonium*



- sinuatum* (L.) Mill. Euphytica 102:109-115.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, and J.F. Seeley. 2001. *Limonium* breeding: New options for a well known genus. Acta Hort. 552:39-42.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 65:427-432.
- Pen, T.H. and R.V. Kamelin. 1996. Plumbaginaceae, p.190-204. In: D.Y. Hong (ed.). Flora of China. Vol. 15. Science Press, Beijing.
- Rosulj, M., S. Trifunovic, and I. Husic. 2002. Nine cycles of mass selection for increasing oil content in two maize (*Zea mays* L.) synthetics. Genet. Mol. Biol. 25:449-461.
- Royal Horticultural Society. 2007. The Royal Horticultural Society's colour chart. 5th ed. Royal Hort. Soc., London.
- Sachs, M. and I. Rylski. 1980. The effects of temperature and daylength during the seedling stage on flower-stalk formation in field-grown celery. Scientia Hort. 12:231-242.
- Seelye, J.F., G.K. Burge, and E.R. Morgan. 2000. 'Chorus Magenta' *Limonium*. HortScience 35:1179.
- Shillo, R. and E. Zamski. 1985. *Limonium sinuatum*, p.292-301. In: A.H. Halevy (ed.). CRC Handbook of Flowering. Vol. III. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Whipker, B.E. and P.A. Hammer 1994. Growth and yield characteristics of field-grown *Limonium sinuatum* (L.). HortScience 29:638-640.



第七章 以ISSR標誌及形態比較探討臺灣地區補血草屬植物遺傳歧異度

Chapter 7. Genetic Diversity of Taiwan-native *Limonium* Germplasm Based on ISSR Marker and Morphological Traits



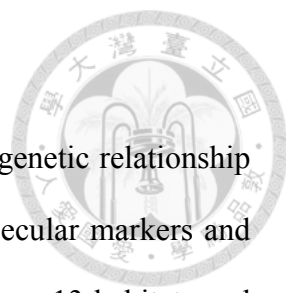
附加關鍵字：群集分析、簡單序列間重複、石菘蓉、烏芙蓉、分子分類法、主成份分析

Additional index words: cluster analysis, inter-sequence simple repeat, *Limonium sinense*, *Limonium wrightii*, molecular taxonomy, principle component analysis

摘要

本研究以ISSR分子標誌及外表形態為依據探討臺灣地區補血草屬(*Limonium*)植物之親緣關係及遺傳歧異度。收集13個不同原生地石菘蓉[*L. sinense* (Girard) Kuntze]族群及4個不同原生地烏芙蓉[*L. wrightii* (Hance) Kuntze]族群之種子，於同一環境下播種栽培後調查分析。以ISSR分子標誌分析結果顯示，共有16條引子、220個條帶具有多形性，進一步以此進行群集及主成份分析，則臺灣地區原生石菘蓉可分為四群，分別為馬祖及金門一群，屏東龍坑獨自一群，臺北及基隆嶼為第三群，第四群為本島西岸及鄰近外島族群，其中第四群又可細分為苗栗後龍、嘉義東石及雲林箔子寮一群及嘉義布袋、臺南雙春及七股、澎湖西嶼及小琉球一群。外表性狀差異和地理位置之相關性較差，顯示以ISSR分析之結果較符合地理位置之遠近。原生於屏東佳樂水及南仁港之烏芙蓉雖花色或外形有些微差異，但外表性狀及ISSR分析結果顯示為同一族群，而原生於蘭嶼者花色及形態和原生本島者具有差異，原生於綠島者外形較接近蘭嶼族群，但具有多種花色。臺灣補血草屬植物為民俗藥用植物，不同產地之間有效成份具有差異性，以ISSR技術配合外表性狀能鑑別出特定產地之族群，可做為藥材鑑別之依據。

Abstract



This study aimed to investigate the genetic diversity and phylogenetic relationship of Taiwan-native *Limonium* species based on analysis of ISSR molecular markers and morphological traits. Seeds of *Limonium sinense* (Girard) Kuntze from 13 habitats and *L. wrightii* (Hance) Kuntze from 4 habitats were collected and grown under same condition for investigation. Results showed that 16 ISSR primers and 220 induced bands were polymorphic. A dendrogram based on the UPGMA clustering analysis and first three principal components showed *L. sinense* accessions could be divided into four groups. Group 1 included those from Jinmen and Mazu. Those from Longkeng, Bingdong forms a single group. Group 3 included those from Taipei and Jilong, and group 4 included those from western seashore and near islands of Taiwan. Group 4 could be further divided into subgroups. Subgroup 1 included those from Houlong, Miaoli., Dongshi, Jiayi., Boziliao, Yunlin., and subgroup 2 included those from Budai, Jiayi., Shuangchun and Qigu, Tainan., Xiaoliuqiu, Bingdong., and Xiyu, Penghu. Relationship between morphological traits and originate habitats was poor. Results showed that ISSR marker could be used for distinguishing Taiwan-native *L. sinense* plants from different habitat. *Limonium wrightii* derived from Nanrengang and Jialeshui, Bingdong were not different based on morphological traits and ISSR marker, despite of slight difference in flower color and other morphologies. Plants derived from Lanyu Island, Taidong were different with those from Taiwan Island in flower color and other morphologies. Plants derived from Ludao, Taidong were similar to those from Lanyu, but had more flower color variation. *Limonium* plants are used as a folk medicine ingredient, but effective phytochemical contents were different between plants from different habitats. Results showed that germplasm from specific area could be identified by using ISSR-marker assisting analysis and morphological traits.

前言(Introduction)

補血草屬(*Limonium*)為藍雪花科一年生或多年生植物，植株外形之一般特徵為莖短縮，葉片著生於上呈蓮座形(rosette)，葉長披針形至卵圓形，葉緣常具波浪狀，花自心部抽出，聚繖花序，花萼合生成筒形，紙質，小花5瓣，每朵花種子1枚(Lledó et al., 2003)。早期之分類研究以地中海種原中心為主，在擴及亞洲、美洲及非洲南部的物種之後，補血草屬之下又成立許多亞屬(subgenera)或節(section)，部份又提升成立新的屬，直至今日，本屬之分類仍在修正之中(Lledó et al., 2005)。

傳統之植物分類主要以外部形態尤其是花部構造為依據，除以外形特徵做成檢索表的方法外，也將外表性狀質量化，經群集分析可判斷其親緣關係(Karis, 2004)；但對於形態及生性相近的物種傳統方法不容易解釋其差異，需以地理分佈、核型分析、分子指紋技術以研究種間或種內之雜交現象及親緣關係(Roselló et al., 1984)。由於補血草屬植物外形相近，傳統分類法雖能分辨品種，但仍有其困難之處，結合數種分析方法為本屬植物分類研究之趨勢。使用分子標誌受外在因素的影響較小，作為評估物種之差異比較可靠(Andersen and Fairbanks, 1990)。在補血草屬植物之親緣鑑定研究上，本屬13個商業品種採用RAPD分析後可明確分群，其中3個外型相近的栽培種並不能明確分群而視為同源(Bruna et al., 2004)。以RAPD分析原生於西班牙西南海岸之*L. dufourii*可明確分為四個族群，且和地理位置有正相關性(Palacios et al., 1997a)。以葉綠體DNA分析66個補血草屬植物及近緣種，配合原生地之地理分佈可判斷品種之演化及擴散遷移時間(Lledó et al., 2005)。分子標誌作為種原間遺傳差異的研究工具中，簡單序列間重覆(Inter-Sequence Simple Repeat, ISSR)具有快速、操作簡單、效率高之優點，現已廣泛應用於遺傳分析上，包括品種鑑定、親緣關係、基因標誌、遺傳多樣性之研究上(Thul et al., 2011)。

臺灣原生之星辰花屬植物有石菘蓉[*L. sinense* (Girard.) Kuntze]及烏芙蓉[*L. wrightii* (Hance) Kuntze]，石菘蓉分佈本島西部沿海地區及島嶼，烏芙蓉分佈於恆春半島東部海岸及蘭嶼、綠島，在臺灣植物誌均各歸類為一種(Lin, 1996)，石菘蓉

在中國植物誌則稱為中華補血草，烏芙蓉則歸類為花冠黃色的黃花海芙蓉 [*L. wrightii* var. *luteum* (H. Hara) H. Hara] 及花冠藍紫色的海芙蓉 [*L. wrightii* var. *wrightii* (Hance) Kuntze] (Peng and Kamelin, 1996)。在臺灣各原生地收集到的石菘蓉植株在外形有很明顯的差異，而烏芙蓉除了藍紫花及黃花之外，尚有白花、紫花及橙色的個體 (Matsumura et al., 2006)，其親緣關係需進一步探討。此外，育成品種‘臺南2號’為商業品種‘黃鑽’與臺灣嘉義布袋產地之原生種石菘蓉雜交再選種而得，由形態及親緣分析調查其相關性，以作為育種工作之參考。


材料與方法 (Materials and Methods)

一、植物材料

由臺灣地區各地收集原生補血草屬 (*Limonium*) 植物，石菘蓉 (*L. sinense*) 計有金門官澳、馬祖西引、澎湖西嶼、屏東小琉球、基隆基隆嶼、臺北石門、苗栗後龍、雲林箔子寮、嘉義東石、嘉義布袋、臺南雙春、臺南七股、屏東龍坑共13個種源。烏芙蓉計有屏東佳樂水、屏東南仁港、蘭嶼、綠島共4個種源。石菘蓉另取中國大陸種源，於天津新怡園藝中心 (中國天津市南開區) 購買種子，代號為天津。由石菘蓉和其它本屬種雜交而得的園藝品種‘臺南2號’ (‘Tainan No.2’ 臺灣臺南區農業改良場育成)，代號為TN2，及‘黃鑽’ (‘Yellow Diamond’ 荷蘭Hilverda公司育成)，代號為YD，群外為星辰花 (*L. sinuatum*) 園藝品種‘臺南1號’ (‘Tainan No.1’ 臺灣臺南區農業改良場育成)，代號為TN1。另取原生於歐洲的卡斯匹亞 (*L. latifolia*) 及歐洲補血草 (*L. vulgare*. Mill)，歐洲補血草為本屬之模式種，兩者種子均來自於法國巴黎植物園 (Jardin Des Plantes, France) (表7.1)。

二、植物繁殖與栽培

為避免原生地環境條件不同造成外表形態的差異，園藝品種‘臺南1號’、‘臺南2號’、‘黃鑽’採用組織培養無性繁殖，組織培養條件同第三章材料與方法，原生種均採用種子繁殖，種子撒播於水稻育苗盤內，發芽後移至50格黑色穴盤 (穴盤為



53.0×27.5 cm，圓形穴格，每穴格直徑4.5 cm，深4.5 cm)種植，播種及栽培介質採用泥炭苔(TS 1 medium, Klasmann Select, Geeste, Germany)。待植株長至15-20片葉時種植至長60 cm、寬及深為20 cm之長槽花盆，行株距10 cm，於生長期及開花期進行外表性狀調查。

三、掃描式電子顯微鏡觀察

為觀察石菘蓉之花柱及花粉構造，取嘉義布袋產區之花朵柱頭連同子房的部份，浸於4% glutaraldehyde固定24小時後，以丙酮序列(50%、60%、70%、80%、90%、95%及三次100%)脫水，每濃度15 min。花粉以硫酸紙袋包裹，放於矽膠乾燥箱內24小時脫水。柱頭樣品脫水後置於臨界點乾燥機之樣品槽內進行臨界點乾燥(critical point drying, CPD)，先於14.5°C下以液態二氧化碳置換組織內的丙酮兩次，每次15 min，再將樣品浸於液態二氧化碳中，升溫至40°C由最高壓力1250 psi開始緩慢洩至常壓完成乾燥。將乾燥後的柱頭及花粉以雙面膠黏貼於鋁製樣品台上，置入離子覆膜機以金箔覆膜90 s。於常溫下利用掃描式電子顯微鏡(Scanning electron microscope, TOPCON ABT-60, Topcon Corp., Tokyo, Japan)觀察並照相，工作距離為27 mm，加速電壓為15 kV，以瞭解柱頭及花粉外部形態及構造。

四、外表性狀調查

外表性狀調查田間植株，調查項目改良自補血草屬植物品種性狀檢定方法，包括數量性狀及質量性狀如表7.2，葉片性狀以完全展開的成熟葉為材料，花性狀則於盛花期時進行調查，每物種之數量性狀逢機選取9個樣本進行量測，質量性狀以物種之全體植株整體表現進行勾選。

五、ISSR分子標記分析

每地區種原取0.2 g幼葉組織，以QLAgen kit抽取DNA，取得DNA樣本後，取2 μ L混合1 μ L 6×loading dye以1.5% Seakem LE Agarose膠片於0.5×TBE緩衝液中進行電泳(100V, 25 min)檢測DNA品質。另取2 μ L genomic DNA加入98 μ L ddH₂O稀釋後，用分光光度計測定260 nm與280 nm兩波長的OD值，260/280值介於1.8-2.0為佳，並定量DNA濃度，再genomic DNA取部份以ddH₂O稀釋成10 ng· μ L⁻¹的工作液，



放置於-20°C冰箱中保存，以做為PCR之模板DNA使用。

本試驗採用簡單序列間重複(Inter-Sequence Simple Repeat, ISSR)分子標誌技術，所用之ISSR引子取自英屬哥倫比亞大學(University of British Columbia, UBC)所合成的第九組引子中的50個。PCR每一反應的總體積為25 μL ，其中包含2.5 μL 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCL, pH8.3, 500 mM KCl, 1 mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ gelatin與15 mM MgCl₂)、0.5 μL 10 mM dNTPs，1 μL 、10 μM 引子各1條、1U Taq DNA聚合酶 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)。

PCR反應以Applied Biosystems公司生產之GeneAmp™ PCR System 9700型熱循環反應器進行，反應條件先以94°C 3 min，然後以94°C 1.5 min，58°C 2 min，72°C 2 min，共循環35次，最後以72°C 5 min，降溫至4°C保存至取出，取10 mL最終反應液混合2 μL 6 \times loading dye，以1.5% SeaKem LE Agarose膠片於0.5 \times TBE緩衝液中進行電泳(100 V, 25min)，最後取出膠片置於自動顯影器中觀察並照相記錄。

六、資料分析

本試驗每一種系依表7.2之質量性狀及數量性狀進行調查，所得資料視為該種系之外形特徵，直接進行比較分析。另ISSR增幅之DNA以有出現條帶者為1，同位置無出現條帶者為0，同樣將數據平均後，以Excel將數據標準化。資料處理後以NTSYS軟體(Version 2.1, Applied Biostatistics Inc., NY)分別進行主成份分析(Principal component analysis)及群集分析(Clustering analysis)。

主成份分析將已標準化之數值資料以相關係數(Correlation coefficient)進行特徵相似性計算，求出特徵值及特徵向量，再進行投射(Projection)完成分類單位在n度空間的排列。

群集分析以歐氏距離係數(Euclidean distance coefficient)計算兩分類單位的非相似性得到相關矩陣，再以群間平均分群法(Unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA)以樹狀圖表示。




結果(Results)

石蓴蓉布袋產區之柱頭及花粉構造如圖7.1所示，可分為二型，依柱頭外型分為玉米穗型及乳突型，其中乳突型之突起先端非尖形而是膨大略呈球形，玉米穗型之花粉外觀網紋較粗，呈現完整橢圓形或圓球形，乳突型花粉網紋細緻，花粉粒中心內凹。

本研究採用之補血草屬植物依外形分析的結果，石蓴蓉可分為三群，第一群為產於基隆嶼之族群，第二群為產於馬祖西引、澎湖西嶼、屏東龍坑、臺北石門之族群，第三群為金門官澳、苗栗後龍、西海岸之雲林、嘉義、臺南及屏東小琉球之族群，烏芙蓉自成一群，石蓴蓉天津產地、園藝品種‘臺南2號’及‘黃鑽’為一群(圖7.2, 7.3)。

原生於基隆嶼之族群具有葉片厚，葉先端長且呈旋轉狀，幼葉及葉柄不具紅色，形態和其它石蓴蓉有明顯差異。烏芙蓉葉片明顯較小，花莖較短，其中產於本島屏東佳樂水和南仁港之族群外形相似，重要特徵為葉先端有旋轉的現象，花黃色，差別僅在於花莖的長度。綠島產區的族群較類似本島的族群，但葉片平直，花莖頂端不伸長，花色具多樣性。蘭嶼的族群葉片較小，花序較短，花色為紅紫色(圖7.3)。石蓴蓉依外形可分為二群，分別為馬祖西引、澎湖西嶼、屏東龍坑、臺北石門產地，具有葉片較厚且寬的特徵，本島西海岸及金門、小琉球之族群具有葉薄的外形，其中苗栗後龍及金門官澳產地葉片較寬，和雲嘉南海岸葉薄且長的特徵分開，雲林箔子寮和嘉義東石族群的外形幾乎相同，小琉球植株葉細且長，花莖短。‘臺南2號’、‘黃鑽’和石蓴蓉天津族群葉片明顯較其它族群大。

以ISSR DNA分子標記分析的結果如圖7.4，共有UBC807、808、809、811、816、817、819、820、823、825、826、828、830、834、836及842等16條引子220條帶具有多形性(表7.3)，以此進行群集分析之結果如圖7.5，其中烏芙蓉在屏東佳樂水及南仁港之族群沒有差異，原生之石蓴蓉可於距離係數0.50時和水晶花及天津族群、屏東龍坑分群，兩個水晶花品種、屏東龍坑及天津族群彼此間均各自獨立。



在距離係數0.44時，原生石菘蓉可分為三群，分別為馬祖及金門為一群，臺北及基隆嶼為第二群，第三群為本島西岸及鄰近外島族群，在距離係數0.37處又可將第三群分為苗栗後龍、嘉義東石及雲林箔子寮一群及嘉義布袋、臺南雙春及七股、澎湖西嶼及小琉球一群。

ISSR DNA分子標記分析結果進行主成份分析，到第五主成份可解釋的變異量才達到64.9% (未顯示資料)，由前三個主成份作圖(圖7.6)的結果，烏芙蓉自成一群，水晶花品種、屏東龍坑及天津族群較接近但各自獨立，原生石菘蓉可分為兩個族群，馬祖西引、金門官澳、臺北石門及基隆嶼較接近，其餘的原生石菘蓉為一群，但嘉義布袋族群距離較遠。

‘臺南2號’在ISSR分析結果不論在群集分析之樹狀圖或主成份分析之立體圖，其位置均介於親本‘黃鑽’及布袋產地石菘蓉之間(圖7.5)，但在形態表現上，‘臺南2號’和‘黃鑽’的外形較相近，和石菘蓉外形差異較大。

討論(Discussion)

本研究主要在探討原生於臺灣地區之補血草植物，不同產地間之形態差異及分子標誌分析，結果顯示以ISSR分析之結果較符合地理位置之遠近(圖7.5)，這個結果和西班牙同屬植物*L. dufourii*以RAPD 分析可明確分為四個族群，且和地理位置有正相關性(Palacios and Gonzalez-Candelas, 1997)的結果一致，在中國大陸以6個地點之石菘蓉材料進行AFLP及ISSR分析各產地之差異，結果各產地之間呈現高度異質性，由主成分作圖可清楚分為5群(Ding et al., 2013)。本試驗結果石菘蓉可和烏芙蓉及其它補血草於距離係數0.54時分離，石菘蓉中於距離係數0.44時可大致分為金門馬祖族群、北海岸石門、基隆嶼族群以及本島西部海岸及外島族群，在本島族群在距離係數0.38時可分為嘉義以南及以北兩個族群，整個分群的結果大致和地理位置相符，但嘉義東石及布袋地理位置相近，分析結果距離係數卻較遠，須再進一步探討可能原因，以ISSR經主成份分析之立體圖石菘蓉族群可分為金門馬



祖、北海岸石門、基隆嶼族群以及本島西部海岸及外島族群，其中屏東龍坑族群明顯和其它石苳蓉距離較遠，其外形也以厚葉、花莖倒伏、花序排列分散而和其它石苳蓉不同，地理距離也很遠，可視為是獨立演化之族群。

石苳蓉在中國大陸4個地區129株樣本進行葉綠體核酸分析遺傳歧異度的結果，在129條、1576個核苷序列中僅5個不同，呈現低度差異(Ding et al., 2012)，這種在族群的層次(population level)歧異度低而在種的層次(species level)歧異度高的原因，原因可能是本屬植物生育地為海濱鹽份地帶，以蜜蜂或蝴蝶等近距離昆蟲傳粉而減少基因間之交流(Palop-Esteban et al., 2011)。但補血草屬植物因柱頭及花粉二型性(dimorphism)，為絕對異交植物(Baker, 1953)，在臺灣的石苳蓉以授粉試驗的結果顯示，以他花同型授粉處理，偶爾會出現結實現象，自花授粉處理則完全不會產生後代(賴, 2010)。自交不親和雖有利於基因交流，但僅限於地區同族群，地理上的區隔造成減少基因交流的機會，使族群的散佈受到限制(Kong et al., 2008)，是不同地點高度異質性的重要原因(Borba et al., 2001)，在生育地環境下種子的發芽率低(Wang et al., 2010)，本屬植物的種子較輕且花萼包覆種子，可能以風力傳播，但在海岸地區以海流為主要的傳播機制(Matsumura et al., 2006)。

烏芙蓉在臺灣本島的佳樂水及南仁港原生地不論是花色或是型態均為同一族群，經ISSR分析也支持這一結果(圖7.5)，但在蘭嶼原生地之花色及形態和本島具有差異，較符合Peng等人(1996)的論點，即分類為花冠黃色的黃花海芙蓉[*L. wrightii* var. *luteum* (H. Hara) H. Hara]及花冠藍紫色的海芙蓉(*L. wrightii* var. *wrightii*)。在綠島的族群植株外形較接近蘭嶼的族群(圖7.3)，但具有多種花色，此特性和琉球群島的族群多花色的特點相同，而此花色之差異經葉綠體DNA分析之結果，琉球群島各島之族群可分為四群，此結果被認為是各族群隨機獨自演化之結果(Matsumura et al., 2009b)，但基因之多形性和地理距離遠近無關，而是和黑潮海流的流向有關，因群島中大東島(Datio)距離和其它島嶼較遠且不在黑潮海流的範圍內，獨立演化而使遺傳距離和其它島嶼較遠(Matsumura et al., 2009a)。但綠島各花色混雜共生，根據本屬植物族群內歧異度低的前人研究結果(Ding et al., 2012)，綠島原生地的烏芙



蓉之多花色是否可視為同一族群尚需進一步研究。

育成品種‘臺南2號’之親本為園藝品種‘黃鑽’及石菴蓉原生於布袋地區之族群雜交而得，經ISSR分析的結果不論是群集分析之樹狀圖或是主成份分析之立體圖，‘臺南2號’之位置均介於兩親本之間(圖7.5, 7.6)，和同屬植物*L. perigrinum*和*L. purpuratum*互交之子代檢查DNA質量介於兩親本之間且染色體數相同可知為雜交種之結果類似(Morgan et al., 1995)。但在外表性狀分析結果‘臺南2號’較接近親本‘黃鑽’，原因為‘臺南2號’是經過多次選種之後代，選拔時以早花且園藝性狀優良為目標，因此在外形上較接近園藝性狀較佳的親本‘黃鑽’，而ISSR序列多為無意義之基因片段，後代間混合選種，增加基因庫之平衡，可能是ISSR分析結果介於兩親本之間，而外形偏向‘黃鑽’之原因。

本試驗以外表性狀分析時，為避免因環境條件不同造成形態上的差異，在各原生地採種，並於同一環境下播種栽培再調查，分析結果顯示外表性狀的差異和地理位置之相關性較差，可能的原因為關鍵的外表性狀比重較低或是不完全所致，但外表性狀可做為親緣分析的輔助，咖啡以ISSR分析能將種源中不是*Coffea arabica*分出來，再配合外觀性狀的葉厚、花冠裂數、葉脈分佈，可進一步再區別*Coffea liberica*和*Coffea canephora* (陳，2010)，本試驗ISSR之分析結果中布袋和七股原生種距離係數最接近(圖7.5)，以外觀輔助分析可由七股產區葉先端較窄而布袋產區較大而鑑別出差異(圖7.2)。由於石菴蓉為傳統藥材，具有治療出血、肝炎等功效，不同產地之間有效成份具有差異性(Lin and Chou, 2000)，以ISSR技術配合外表性狀能鑑別出特定產地之石菴蓉，可做為藥材鑑別之依據。

表 7.1. 試驗所用之23個補血草屬植物品種及其來源

Table 7.1. The 23 *Limonium* accessions used in the experiment and its origin.

No.	Species	Population code	Origin	Latitude N	Longitude E
1	<i>L. sinense</i>	馬祖西引(Xiyin, Mazu)	Taiwan	26°22'51"	120°28'48"
2	<i>L. sinense</i>	中國天津(Tianjin, China)	China		
3	<i>L. sinense</i>	金門官澳(Guanao, Jinmen)	Taiwan	24°31'22"	118°24'33"
4	<i>L. sinense</i>	臺北石門(Shihmen, Taipei)	Taiwan	25°17'52"	121°34'6"
5	<i>L. sinense</i>	屏東龍坑(Longkeng, Bingdong)	Taiwan	21°54'5"	120°51'48"
6	<i>L. sinense</i>	苗栗後龍(Houlong, Miaoli)	Taiwan	24°40'6"	120°49'42"
7	<i>L. sinense</i>	雲林箔子寮(Boziliao, Yunlin)	Taiwan	23°37'6"	120°8'31"
8	<i>L. sinense</i>	嘉義東石(Dongshi, Jiayi)	Taiwan	23°30'13"	120°8'8"
9	<i>L. sinense</i>	嘉義布袋(Budai, Jiayi)	Taiwan	23°22'44"	120°9'12"
10	<i>L. sinense</i>	台南雙春(Shuangchun, Tainan)	Taiwan	23°18'41"	120°7'28"
11	<i>L. sinense</i>	台南七股(Qigu, Tainan)	Taiwan	23°5'26"	120°5'42"
12	<i>L. sinense</i>	澎湖西嶼(Xiyu, Penghu)	Taiwan	23°39'18"	119°31'9"
13	<i>L. sinense</i>	屏東小琉球(Xiaoliuqiu, Bingdong)	Taiwan	22°19'47"	120°4'19"
14	<i>L. sinense</i>	基隆基隆嶼(Jilongyu, Jilong)	Taiwan	25°11'27"	121°46'56"
15	<i>L. sinensis</i>	黃鑽(Yellow Diamond)	Cultivar		
16	<i>L. sinensis</i>	臺南2號(Tainan No.2)	Cultivar		
17	<i>L. wrightii</i>	蘭嶼(Lanyu, Taidong)	Taiwan	22°0'9"	121°35'32"
18	<i>L. wrightii</i>	屏東佳樂水(Jialeshui, Bingdong)	Taiwan	21°59'47"	120°51'20"
18	<i>L. wrightii</i>	屏東南仁港(Nanrengang, Bingdong)	Taiwan	22°5'10"	120°53'28"
20	<i>L. wrightii</i>	綠島(Ludao, Taidong)	Taiwan	22°39'52"	120°30'37"
21	<i>L. sinuatum</i>	星辰花臺南1號(L. sinuatum)	Cultivar		
22	<i>L. vulgare</i>	歐洲補血草(L. vulgare)	France		
23	<i>L. latifolia</i>	卡斯匹亞(L. latifolium)	France		

表 7.2. 補血草屬植物依外形所調查的數量性狀及質量性狀

Table 7.2. Quantitative and qualitative morphological traits surveyed in *Limonium*.

一、數量性狀

1. 開花時植株高度
2. 葉長(cm)
3. 葉寬(cm)
4. 葉片厚度(mm)
5. 花莖數
6. 花莖長(cm)
7. 花莖直徑(mm)
8. 花莖第一分枝最頂端之小花序長(cm)
9. 花萼長(mm)
10. 花萼直徑(mm)
11. 花冠長(mm)
12. 花冠直徑(mm)

二、質量性狀

1. 新葉呈紅色之程度(3.少 5.中 7.多)
2. 葉柄呈紅色之程度(3.少 5.中 7.多)
3. 葉緣波狀程度(3.少 5.中 7.多)
4. 葉緣內捲(1.有 9.無)
5. 葉橫斷面平直或V型(1.平直 2.V型)
6. 葉先端圓或尖(1.圓 2.尖)
7. 葉先端旋轉(1.有 9.無)
8. 花莖分枝數(3.少 5.中 7.多)
9. 花莖分枝角度(1.直立 2.半直立 3.水平)
10. 花莖生長方向(1.直立 2.半直立 3.水平)
11. 花莖第一分枝小花數(3.少 5.中 7.多)
12. 花序型(1.型號I 2.型號II 3.型號III 4.型號IV 5.型號V 6.型號VI)
13. 花莖盲枝(2.無 4.少 6.中 8.多)
14. 花莖稜脊(1.明顯 2.中等 3.無)
15. 發育中之花莖呈紅色程度(3.少 5.中 7.多)
16. 發育中之花莖絨毛程度(3.少 5.中 7.多)
17. 花萼型(1.鐘型 2.漏斗型 3.開放鐘型)
18. 花冠型(1. I型 2. II型 3. III型 4. IV型)
19. 開花期(1.全年 2.季節)

表 7.3. 本試驗所使用之16條ISSR引子及其產生的多型性條帶

Table 7.3. Observed polymorphism with 16 primers used for ISSR analysis in this study.

Primer code	Primer sequence ² 5'→3'	No. of polymorphic bands
UBC807	(AG)8T	8
UBC808	(AG)8C	11
UBC809	(AG)8G	11
UBC811	(GA)8C	10
UBC816	(CA)8T	15
UBC817	(CA)8A	16
UBC819	(GT)8A	12
UBC820	(GT)8C	11
UBC823	(TC)8C	13
UBC825	(AC)8T	14
UBC826	(AC)8C	13
UBC828	(TG)8A	20
UBC830	(TG)8G	12
UBC834	(AG)8YT	19
UBC836	(AG)8YA	14
UBC842	(GA)8YG	21
Total		220

²Y=T/C

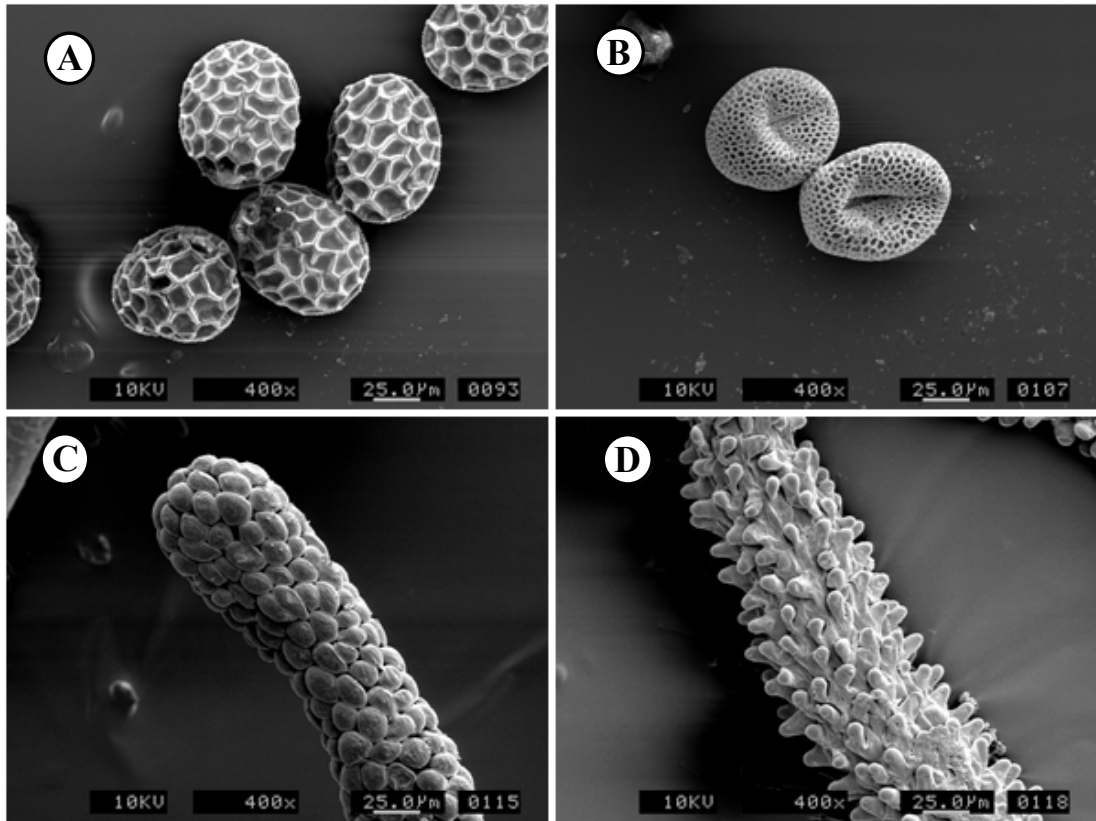


圖 7.1. 臺灣原產石薺蓉花粉及柱頭電顯照

Fig. 7.1. Scanning electron micrographs ($\times 400$) of type A (A) and B (B) pollen grains, and cob (C) and papillate (D) type stigma in Taiwan-native *Limonium sinense*.

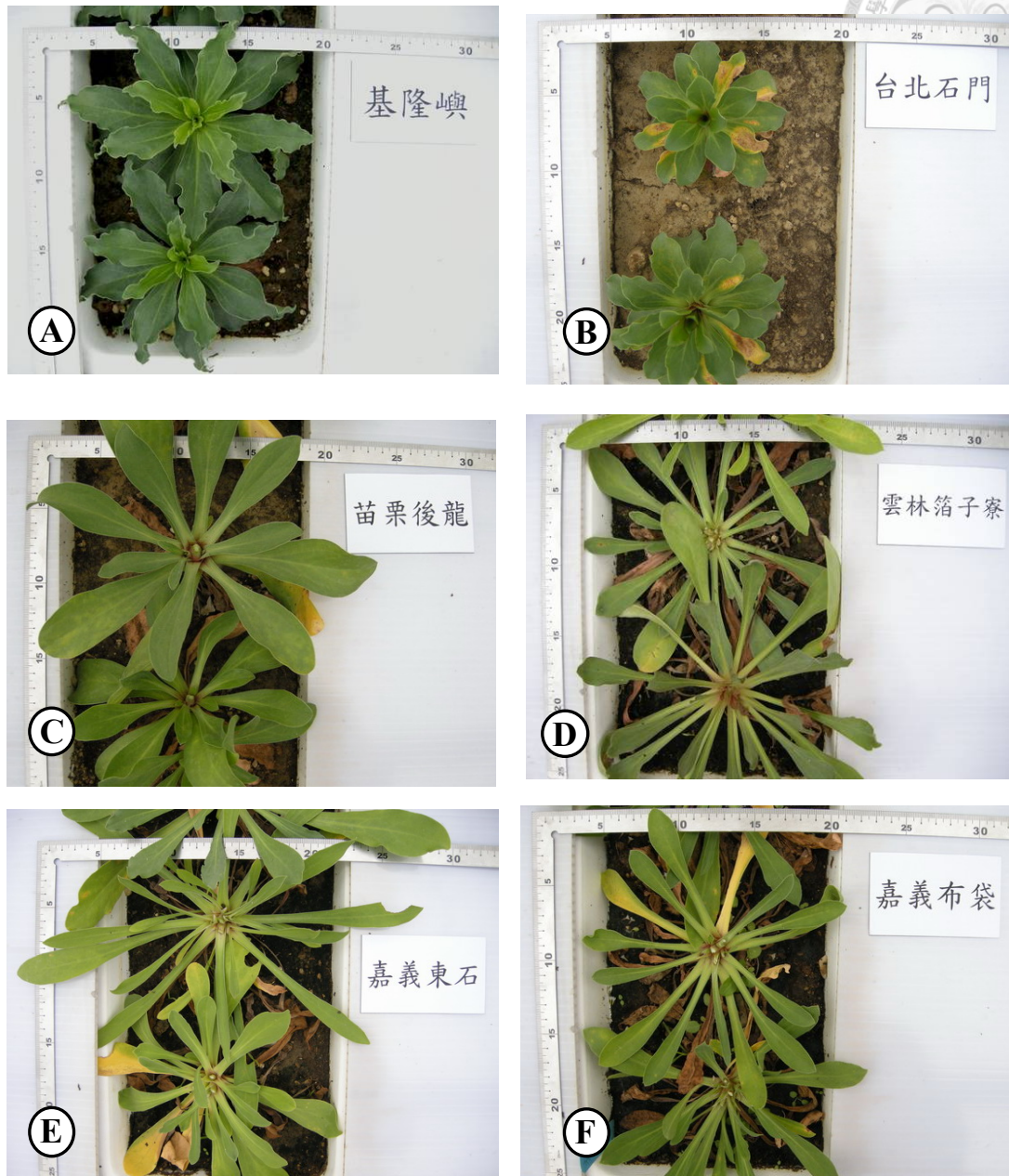


圖 7.2.1. 臺灣各原產石苳蓉之外形，A:基隆嶼，B:臺北石門，C:苗栗後龍，D:雲林箔子寮，E:嘉義東石，F:嘉義布袋。

Fig. 7.2.1. The appearance of *Limonium sinense* in Taiwan. A: Jilongyu, Jilong. B: Shihmen, Taipei. C: Houlong, Miaoli. D: Boziliao, Yunlin. E: Dongshi, Jiayi. F: Budai, Jiayi.

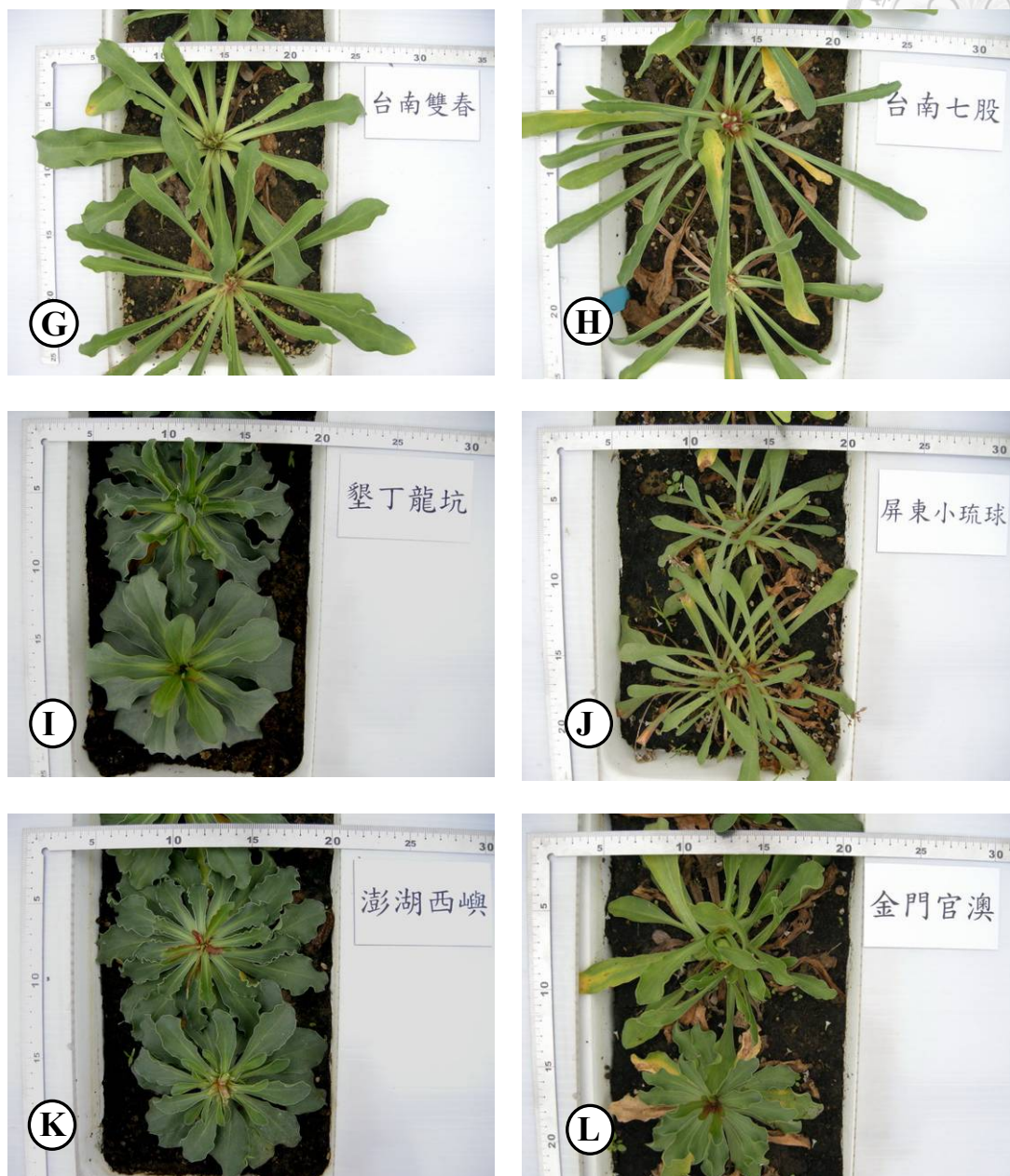


圖 7.2.2. 臺灣各原產石菫蓉之外形，G:臺南雙春，H:臺南七股，I:墾丁龍坑，J:屏東小琉球，K:澎湖西嶼，L:金門官澳。

Fig. 7.2.2. The appearance of *Limonium sinense* in Taiwan. G: Shuangchun, Tainan. H: Qigu, Tainan. I: Longkeng, Kending. J: Xiaoliuqiu, Bingdong. K: Xiyu, Penghu. L: Guanao, Jinmen.



圖 7.2.3. 臺灣各原產石苾蓉之外形，M:馬祖西引，N:中國天津。

Fig. 7.2.3. The appearance of *Limonium sinense* in Taiwan. M: Xiyin, Mazu. N: Tianjin, China.

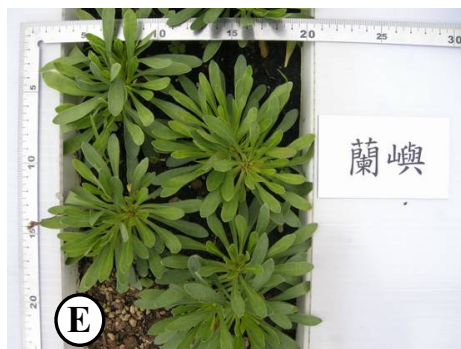


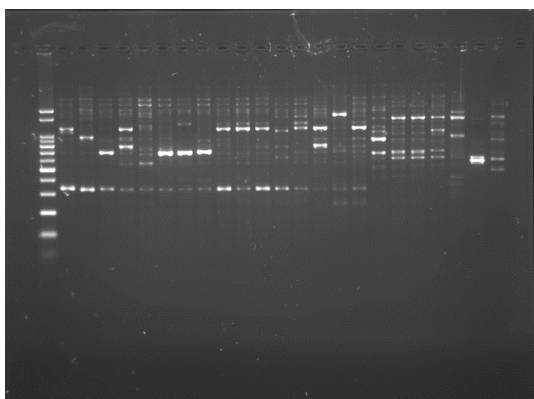
圖 7.3. 臺灣原生烏芙蓉形態。屏東佳樂水之植株(A)及花形(B)，屏東南仁港之植株(C)及花形(D)，蘭嶼之植株(E)及花形(F)，綠島之植株(G)及花形(H)。

Fig. 7.3. Appearance of Taiwan-native *Limonium wrightii*. Whole plant and flower of Jialeshui, Bingdong (A, B), Nanrengang, Bingdong (C, D), Lanyu, Taidong (E, F), and Ludao, Taidong (G, H).

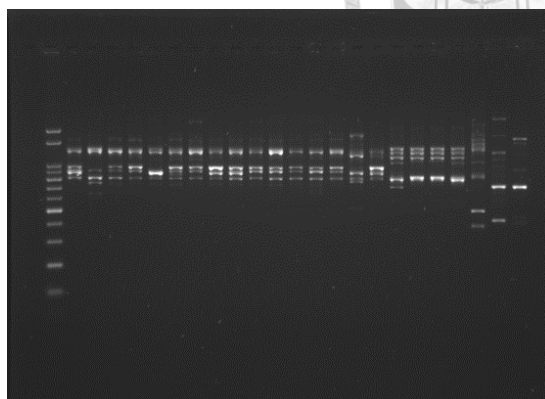


M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

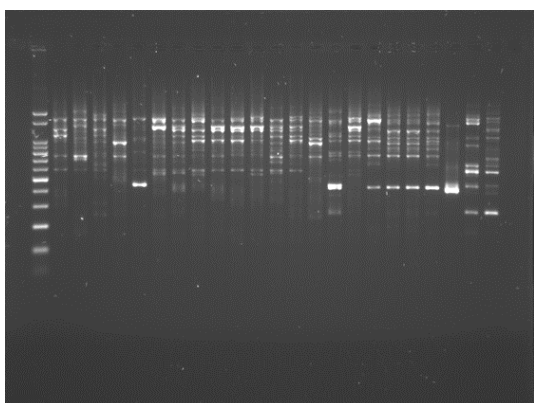
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23



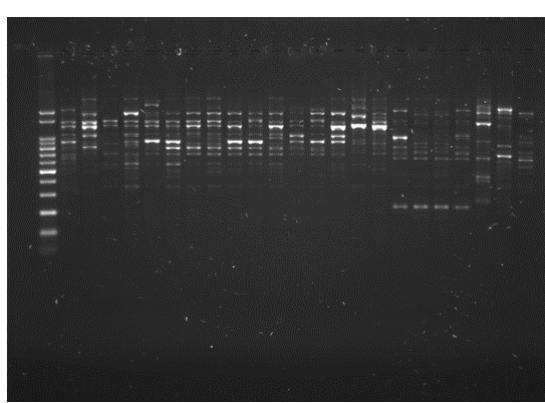
UBC807



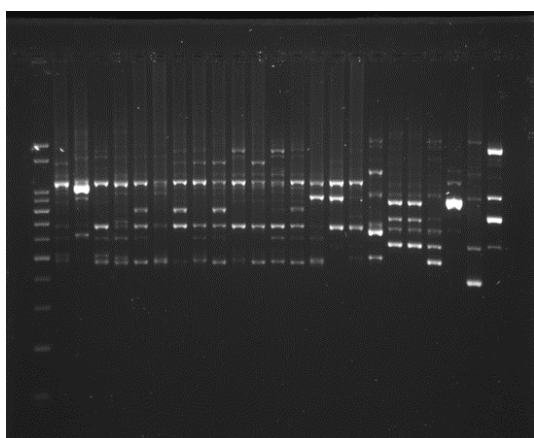
UBC808



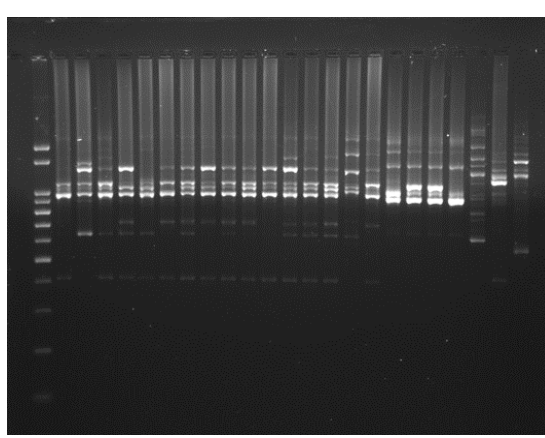
UBC809



UBC811



UBC816

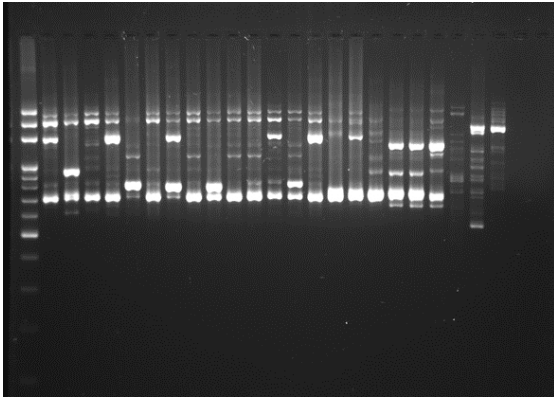


UBC817

圖 7.4.1. 23 個補血草屬植物種(品種)以不同引子增幅後之 ISSR 電泳圖(1-23 為表 7.1 之種原序號)

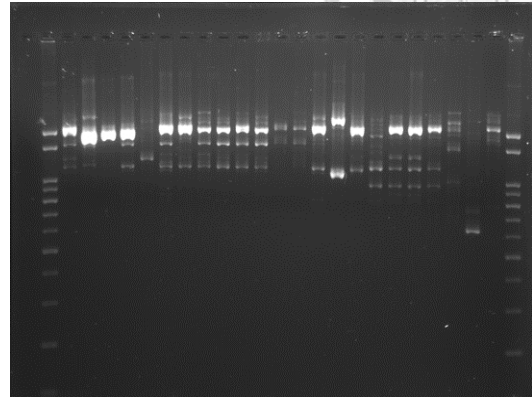
Fig. 7.4.1. ISSR profile of the 23 *Limonium* accessions derived from different primers. Line numbers at top refer to the number in Table 7.1. M: Molecular weight marker (bp).

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

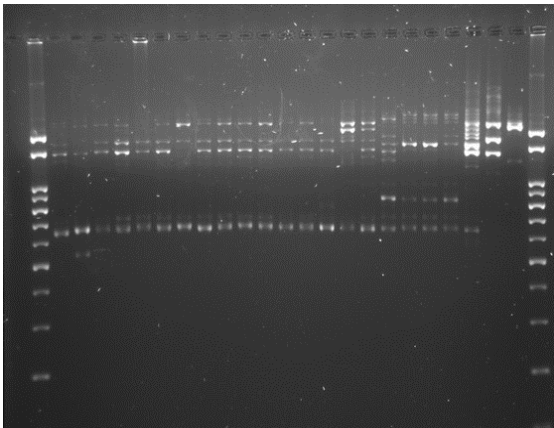


UBC819

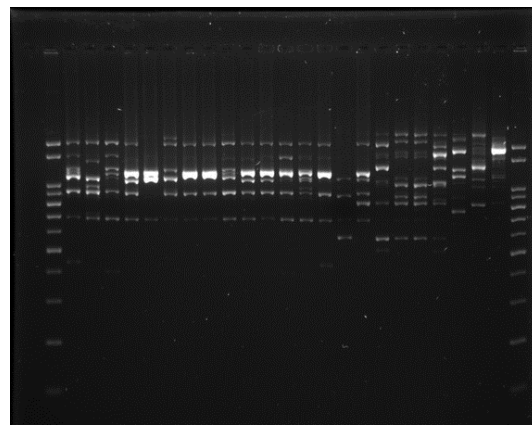
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23



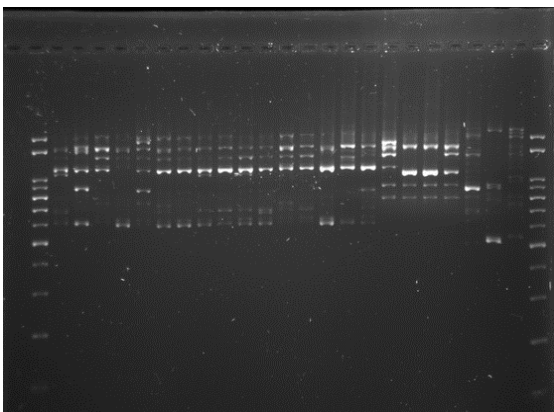
UBC820



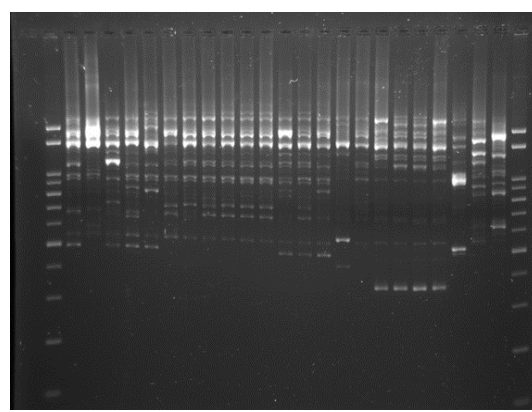
UBC823



UBC825



UBC826



UBC828

圖 7.4.2. 23 個補血草屬植物種(品種)以不同引子增幅後之 ISSR 電泳圖(1-23 為表 7.1 之種原序號)

Fig. 7.4.2. ISSR profile of the 23 *Limonium* accessions derived from different primers. Line numbers at top refer to the number in Table 7.1. M: Molecular weight marker (bp).

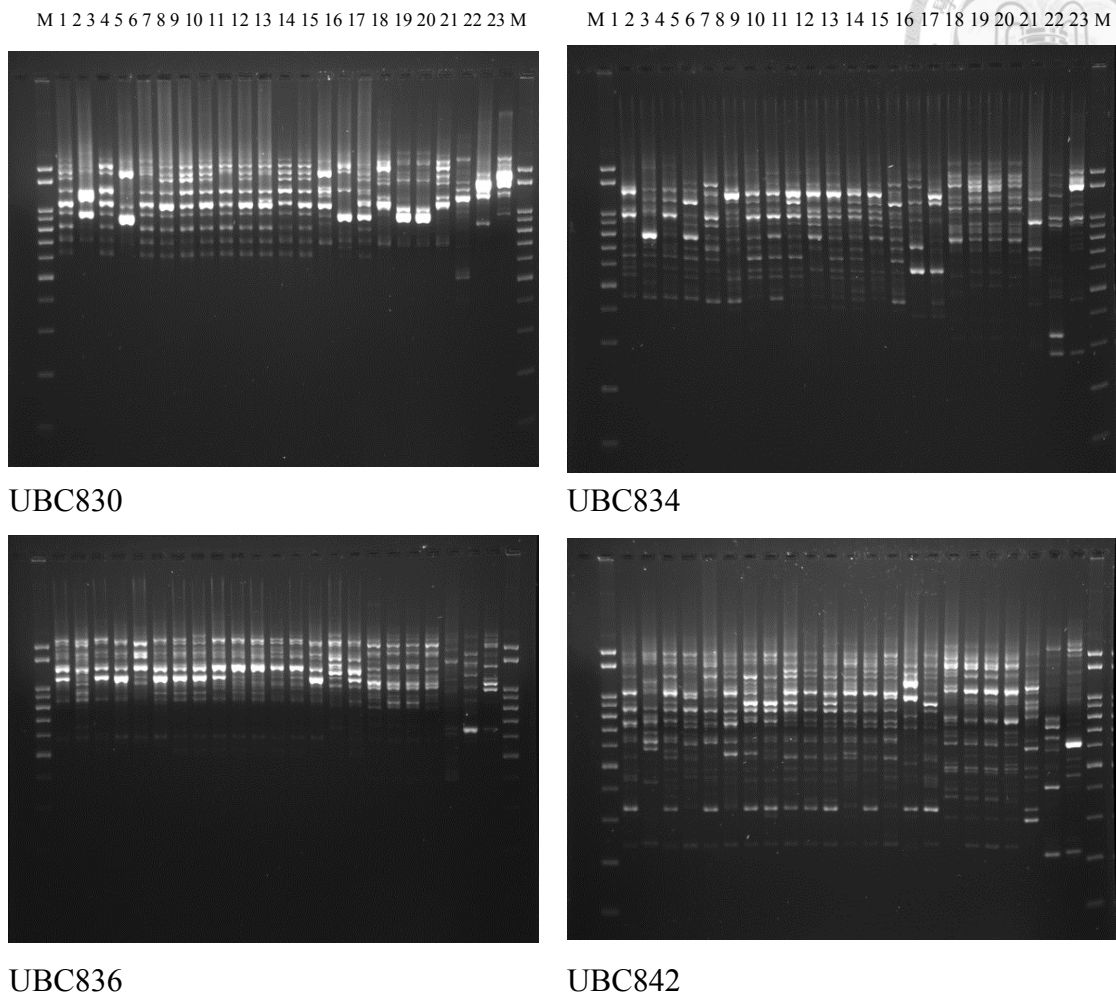


圖 7.4.3. 23 個補血草屬植物種(品種)以不同引子增幅後之 ISSR 電泳圖(1-23 為表 7.1 之種原序號)

Fig. 7.4.3. ISSR profile of the 23 *Limonium* accessions derived from different primers. Line numbers at top refer to the number in Table 7.1. M: Molecular weight marker (bp).

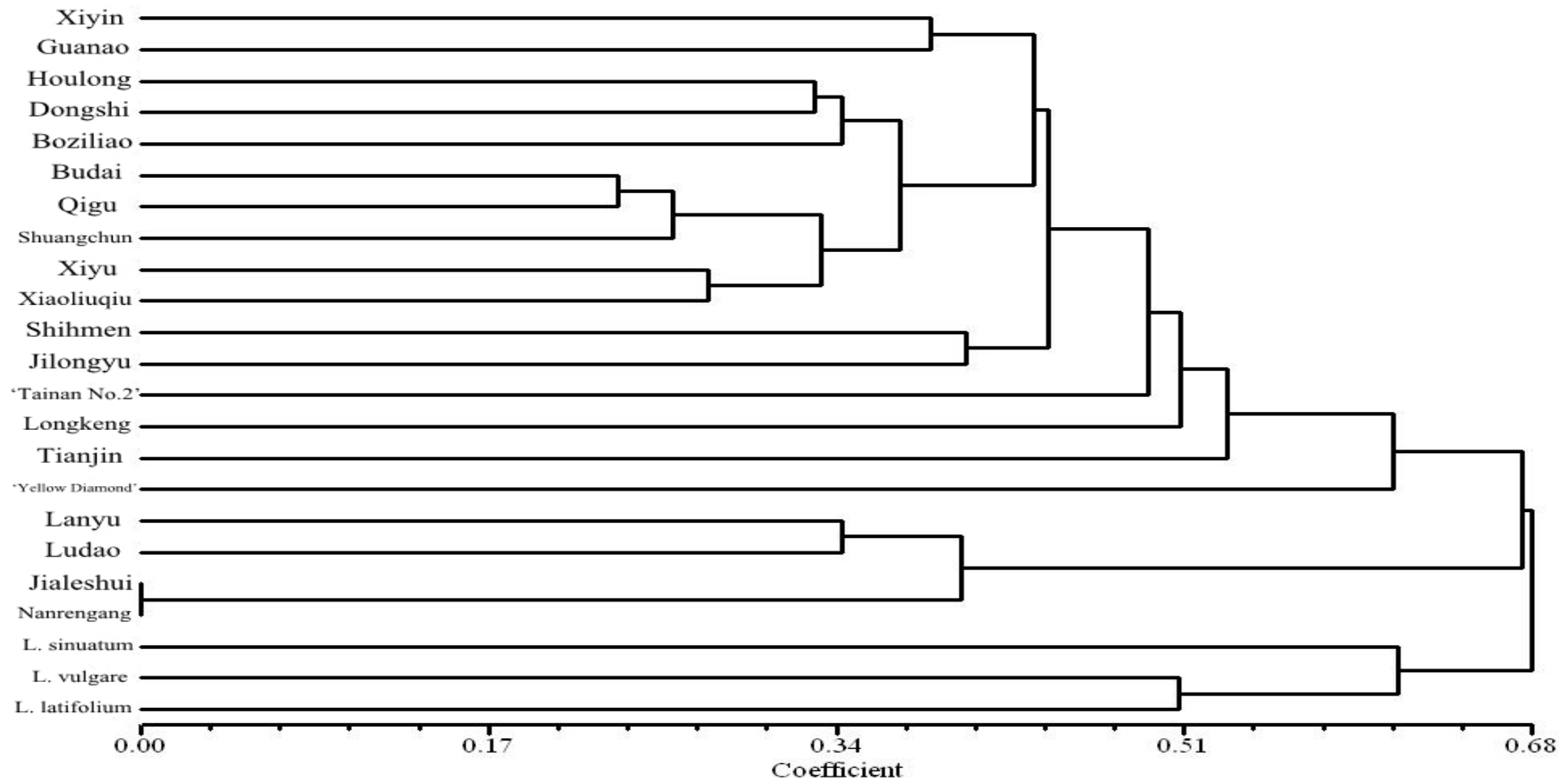


圖 7.5. 23個補血草屬植物種(品種)以ISSR分子標誌經群集分析之聚樹狀圖

Fig. 7.5. Dendrogram of the 23 *Limonium* accessions revealed by UPGMA clustering analysis based on ISSR profile. Dissimilarity calculated by ISSR DNA markers.

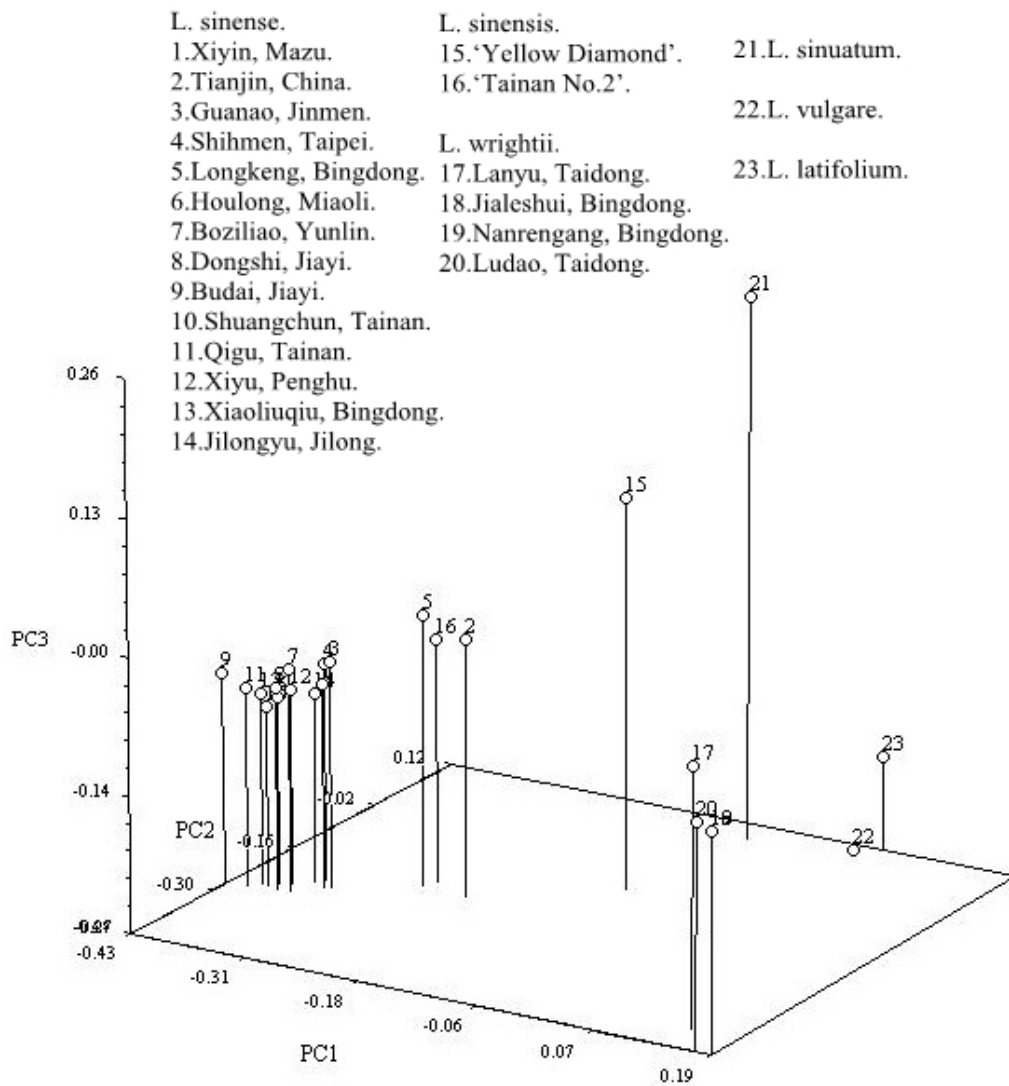
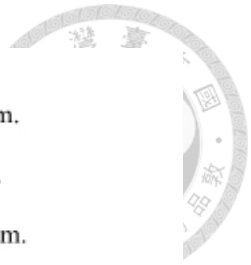



圖 7.6. 23個補血草屬植物種(品種)以ISSR分子標誌經主成份分析之立體圖


Fig. 7.6. Ordination of the 23 *Limonium* accessions determined by first three principal component axis on the basis of ISSR DNA markers.

參考文獻(References)



- 陳怡伶. 2010. 開發鑑別台灣咖啡品種之分子標誌與外表性狀之調查. 國立臺灣大學農藝學系碩士論文.
- 賴冠中. 2010. 石苳蓉(藍雪科)柱頭與花粉兩形性之研究. 國立臺灣大學生態學與演化生物學系碩士論文.
- Andersen, W.R. and D.J. Fairbanks. 1990. Molecular markers: Important tools for plant genetic resource characterization. *Diversity* 6:51-53.
- Baker, H.G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae: II. Pollen and stigmata in the genus *Limonium*. *Ann. Bot.* 17:433-446.
- Borba, E.L., J. Semir, and G.J. Shepherd. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Ann. Bot.* 88:89-99.
- Bruna, S., L.D. Benedetti, A. Mercuri, T. Schiva, G. Burchi, N. Pecchioni, and C. Agrimonti. 2004. Use of RAPD markers for the genetic characterization of *Limonium* species. *Acta Hort.* 651:155-160.
- Ding, G., D. Zhang, Y. Yu, L. Zhao, and B. Zhang. 2012. Phylogenetic relationship among related genera of Plumbaginaceae and preliminary genetic diversity of *Limonium sinense* in China. *Gene* 506:400-403.
- Ding, G., D. Zhang, Y. Yu, L. Zhao, and B. Zhang. 2013. Population genetic diversity and divergence of the halobiotic herb *Limonium sinense* estimated by AFLP and ISSR, and implications for conservation. *Plant Syst. Evol.* 299:131-138.
- Karis, R.O. 2004. Taxonomy, phylogeny and biogeography of *Limonium* sect. *Pteroclados* (Plumbaginaceae), based on morphological data. *Bot. J. Linn. Soc.* 144:461-482.
- Kong, D.R., Z.L. Wang, L.D. Liu, and P. Zhang. 2008. Megasporogenesis,

- 
- microsporogenesis and development of female and male gametophyte of *Limonium frantii*. J. Electron. Microsc. 27:223-228.
- Lin, H.L. 1996. Plumbaginaceae, p.79-82. In: T.C. Huang (ed.). Flora of Taiwan. 2nd. ed. Dept. Bot., Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan.
- Lin, L.C. and C.J. Chou. 2000. Flavonoids and phenolics from *Limonium sinense*. Planta Med. 66:382-383.
- Lledó, M.D., M. Erben, and M.B. Crespo. 2003. *Myriolepis*, a new genus segregated from *Limonium* (Plumbaginaceae). Taxon 52:67-73.
- Lledó, M.D., M.B. Crespo, M.F. Fay, and M.W. Chase. 2005. Molecular phylogenetics of *Limonium* and related genera (Plumbaginaceae): Biogeographical and systematic implications. Amer. J. Bot. 92:1189-1198.
- Matsumura, S., J. Yokoyama, Y. Tateishi, and M. Maki. 2006. Intraspecific variation of flower colour and its distribution within a sea lavender, *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae), in the northwestern Pacific islands. J. Plant Res. 119:625-632.
- Matsumura, S., J. Yokoyama, T. Fukuda, and M. Maki. 2009a. Intraspecific differentiation of *Limonium wrightii* on northwestern Pacific islands: Rate heterogeneity in nuclear rDNA and its distance-independent geographic structure. Mol. Phylogenet. Evol. 53:1032-1036.
- Matsumura, S., J. Yokoyama, T. Fukuda, and M. Maki. 2009b. Origin of the disjunct distribution of flower colour polymorphism within *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae) in the Ryukyu Archipelago. Biol. J. Linn. Soc. 97:709-717.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, J.F. Seelye, J.E. Grant, and M.E. Hopping. 1995. Interspecific hybridisation between *Limonium perigrinum* Bergius and *Limonium purpuratum* L. Euphytica 83:215-224.
- Palacios, C. and F. Gonzalez-Candelas. 1997. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium*

- 
- dufourii* (Plumbaginaceae). Mol. Ecol. 6:1107-1121.
- Palop-Esteban, M., J.G. Segarra-Moragues, and F. González-Candelas. 2011. Polyploid origin, genetic diversity and population structure in the tetraploid sea lavender *Limonium narbonense* Miller (Plumbaginaceae) from eastern Spain. Genetica 139:1309-1322.
- Peng, Z.X. and R.V. Kamelin. 1996. Plumbaginaceae, p.190-204. In: Z.Y. Wu and P.H. Raven (eds.). Flora of China. Vol. 15. Science Press, Beijing.
- Roselló, J.A., L. Sáez, and A.C. Carvalho. 1998. *Limonium carvarlhoi* (Plumbaginaceae) a new endemic species from the Balearic Islands. Anales. Jard. Bot. Madrid. 56: 23-31.
- Thul, S.T., A.K. Srivastava, S.C. Singh, and K. Shanker. 2011. Genetic and chemical diversity of high mucilaginous plants of *Sida* complex by ISSR markers and chemical fingerprinting. Mol. Biotechnol. 49:77-81.
- Wang, L., Y. Liu, L.Y. Hua, and L.L. Zhang. 2010. Studies on the resources characteristic and chemical components for wild *Limonium aureum* (L.) Hill. North. Horti. 11:217-218.


第八章 綜合討論及結論

Chapter 8. General Discussion and Conclusions



臺灣主要栽培之補血草屬(*Limonium*)植物為星辰花[*L. sinuatum* (L.) Mill.]，水晶花(*L. sinensis*)為本屬之新興花卉，因商業品種多為歐美及日本等地育成，春化需求性高(Cohen et al., 1995)，在臺灣平地栽培須採用已經完成春化處理的組織培養苗，在 10 月定植於隔年 1-2 月採收切花，因種苗價格高而使農民失去栽培意願(張等，2004)。為解決這個問題，本研究在臺灣臺南亞熱帶地區進行本屬花卉之品種改良，星辰花以集團選種的方式進行早花性改良，選育春化需求較少的品種，水晶花以雜交臺灣原生種，可週年開花之石菘蓉[*L. sinense* (Girard.) Kuntze]以減少春化需求，並由後代選育園藝性狀優良者，可在 10 月份平地種植時不需先於高冷地育苗，在直接種植後之環境溫度條件可完成春化，於隔年 1-2 月時採收切花，降低栽培成本。

本屬植物須不同型花粉柱頭互交才會產生種子(Baker, 1953)之異交植物，以混合選種法持續選拔具目標性狀的單株，可使後代逐漸具有育種目標性狀(Tsurushima, 1992)。本研究顯示三個星辰花商業混色系列經 4-5 代早花選種之後，其花期均較原始族群提早 70-80 天左右(表 3.1, 圖 3.1)，花莖數亦有顯著提升，顯示在每個選拔世代，除針對早花特性外，亦對開花品質進行選拔、剔除品質差之單株，可同時提升早花特性並改善切花品質。而取水晶花商業品種與原生種雜交後，連續 4 代選拔到花日數短且花莖數多的後代，可以獲得明顯較親本早花且產生更多花莖的水晶花品系(表 6.1, 6.2)，此結果和 Cohen 等人(1995)於以色列選育星辰花早花品種的成果相同，顯示混合選種法適合本屬植物之育種。選育的品種‘臺南 1 號’及‘臺南 2 號’和類似花色的商業品種‘百萬紫’及‘黃鑽’於定植前分別給予 4 週的日/夜溫 35/30°C 或 15/10°C 處理再種植至溫室，前者是去春化的溫度，後者是春化的溫度(吾妻等人, 1983)，‘臺南 1 號’定植前 35/30°C 處理比 15/10°C 處理晚 12.4 天開花，而‘百萬紫’晚 22.4 天開花(表 3.3)，‘臺南 2 號’晚 10.7 天開花，而‘黃鑽’



經 35/30°C 處理者在種植後 150 天都未開花(表 6.1)，顯示育成品種不但花期較早，即使定植前以 35/30°C 處理也能夠在種植後感受環境的低溫(15-28°C)而開花，早花選種的效果明確。以同樣選種方法得到的品系，苗期定植前以 35/30°C 處理，在種植後均較國外育成的商業品種早花(表 3.2, 4.2)，顯示早花選種的方式可選得其它花色的品種，適合在亞熱帶地區的冬季栽培，並能進行商業生產。


選得的早花品種因為春化需求低，且較能忍受 10 月份定植初期可能遭遇的高溫，以選育之‘臺南 1 號’及商業品種‘百萬紫’栽培於日/夜溫 35/30 及 20/15°C 環境下進行葉片細胞膜熱穩定性、丙二醛濃度及葉綠素螢光參數等耐熱性生理指標檢測，選擇此三種生理指標，是因其具有快速、簡便、準確性高等優點(Srinivasan et al., 1996)。結果顯示兩參試品種葉片 RI 值變化與其 MDA 濃度變化趨勢有相關性；MDA 濃度可做為膜脂質過氧化受損程度之指標，其濃度愈高，則意謂膜脂質受到較多過氧化損傷(Anderson and Padhye, 2004；Halliwell and Gutteridge, 1989)。植物為適應高溫逆境而發展出一些機制以維持正常代謝反應，其中包括改變生物膜穩定性，以抵抗或減少高溫造成的損害(Wahid et al., 2007)。星辰花‘百萬紫’在 35/30°C 處理後 MDA 濃度較‘臺南 1 號’晚到達平衡，且上升幅度較高，顯示‘百萬紫’在此溫度下有較多膜脂質過氧化傷害，無法維持較高膜穩定度；確實 RI 值變化趨勢亦顯示‘百萬紫’細胞膜滲漏較‘臺南 1 號’晚修復完成(圖 4.2)。兩參試品種栽培於 35/30°C 時，葉片 RI 值皆有下降趨勢，但以‘臺南 1 號’下降較‘百萬紫’較多，顯示兩品種皆有熱馴化之生理反應，但以‘臺南 1 號’熱馴化效果較佳(表 4.1)。植物體內葉綠素螢光值的變化可反應環境對植物之影響(Jiang et al., 2003)，高溫會破壞 PS II 的電子傳遞使 Fo 增加，Fv/Fm 下降(Mohanty et al., 1989)，試驗結果 Fv/Fm 值下降及 Fo 值上升幅度皆以‘百萬紫’較‘臺南 1 號’為高(表 4.1, 圖 4.3)。上述結果顯示在高溫下測量葉片丙二醛濃度及葉綠素螢光值，可檢測星辰花品種之耐熱性。兩品種在高溫下皆會受到影響而減低生理活性，但早花品種‘臺南 1 號’之馴化時間較商業品種‘百萬紫’早，生理活性回復正常的時間較快，這可能是‘臺南 1 號’能夠較早



開花的原因。

由耐熱性指標的檢測結果，以選育之星辰花‘臺南 1 號’、95SA、95SB、100SS2、100SS4 品系及商業品種‘Million Purple’、‘Velvet Wings’、‘Strawberry Jam’為材料，栽培於 35/30°C 並於處理當天及第 18 天時測量各項耐熱性生理指標，以第 18 天相對於當天之比值與各品種定植於田間之到開花日數進行迴歸分析。結果顯示葉片 RI、丙二醛濃度、Fv/Fm 及 Fo 比值與到開花日數之決定係數(R^2)分別為 0.71、0.99、0.91、0.95 (圖 4.5)，RI 值比值、MDA 濃度比值及 Fo 值比值較高、Fv/Fm 值比值較低者，較晚開花。甘藍(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)品系在經 30-45°C 處理 3 小時後，比在 23-26°C 下可檢驗出耐熱品種之差異，且葉綠素螢光的檢驗效果較熱相對傷害值佳(Nyarko et al., 2008)，此與本試驗以葉綠素螢光值之決定係數較熱相對傷害值高的結果相同。耐熱菊花‘卡若里’及不耐熱的‘金風車’可以用葉片 MDA 濃度表現區分品種差異(王, 2013)，細胞膜熱穩定性技術則已應用於許多作物耐熱品種之鑑別與選拔(Yeh and Hsu, 2004; Yeh and Lin, 2003)。由檢測結果顯示，在高溫下測量星辰花葉片丙二醛濃度、葉綠素螢光值及熱相對傷害值，可篩選出較有可能具早花性或對高溫前去春化效應(第三章、第六章)鈍感之品種/系，做為新品種/系是否適合在臺灣亞熱帶氣候條件下栽培之初步評估方法。


因育種需要收集臺灣地區補血草屬植物之種原，共有 13 個不同原生地石菘蓉 [*L. sinense* (Girard) Kuntze] 族群及 4 個不同原生地烏芙蓉 [*L. wrightii* (Hance) Kuntze] 族群，為探討其親緣關係及遺傳歧異度，以 ISSR 分子標誌分析，結果顯示臺灣地區原生石菘蓉可分為四群，分別為馬祖及金門一群，屏東龍坑獨自一群，臺北及基隆嶼為第三群，第四群為本島西岸及鄰近外島族群，其中第四群又可細分為苗栗後龍、嘉義東石及雲林箔子寮一群及嘉義布袋、臺南雙春及七股、澎湖西嶼及小琉球一群。外表性狀差異和地理位置之相關性較差，顯示以 ISSR 分析之結果較符合地理位置之遠近。這個結果和西班牙同屬植物 *L. dufourii* 以 RAPD 分析可明確分為四個族群，且和地理位置有相關性(Palacios and Gonzalez-Candelas, 1997)的



結果一致。地理上的區隔造成基因交流機會減少，使族群的散佈受到限制(Kong et al., 2008)，是不同地點高度異質性的重要原因(Borba et al., 2001)。烏芙蓉在臺灣本島的佳樂水及南仁港原生地不論花色或形態如何些微變化，均屬同一族群，ISSR分析也支持此一結果，在蘭嶼原生地者花色及形態和本島具有差異，較符合 Peng 等人(1996)的論點，即分類為花冠黃色的黃花海芙蓉 [*L. wrightii* var. *luteum* (H. Hara) H. Hara] 及花冠藍紫色的海芙蓉 [*L. wrightii* var. *wrightii* (Hance) Kuntze]，在綠島的族群植株外形較接近蘭嶼的族群但具有多種花色，是否可視為同一族群尚需進一步研究。

育成品種‘臺南2號’之親本為商業品種‘黃鑽’與原生於布袋地區石菘蓉雜交而得，經 ISSR 分析的結果不論是群集分析之樹狀圖或是主成份分析之立體圖，‘臺南2號’之位置均介於兩親本之間，和同屬植物不同種間雜交後代 DNA 質量介於兩親本之間的結果相同(Morgan et al., 1995)。但在外表性狀分析結果‘臺南2號’較接近親本‘黃鑽’，和前人研究雜交後代外形介於兩親本之間結果不同，原因為‘臺南2號’是經過多次選種之所得到的後代，選拔時以早花且園藝性狀優良為目標，因此在外形上較接近園藝性狀較佳的親本‘黃鑽’，而 ISSR 序列多為基因間的重複性序列，當以姊妹株進行集團選拔，則保守性較高的基因間重複性序列會因缺乏遺傳交換而沒有顯著變異，因此‘臺南2號’的 ISSR 分析結果介於兩親本之間，而外形偏向‘黃鑽’。

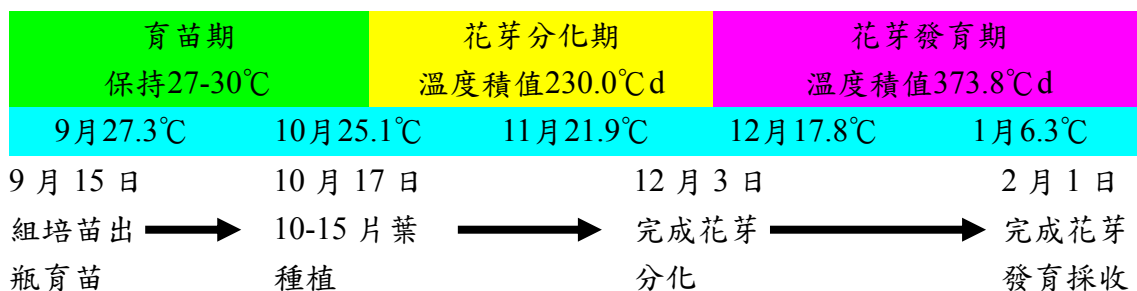
以溫度處理時間對照植物發育的程度，可推算花芽創始或發育之三基點(cardinal temperature)溫度，基礎溫度(T_b)、最適溫度(T_{opt})及最高溫度(T_{max})代表植物生長發育的最適溫度範圍，並由此溫度條件建立到特定發育階段之度積值(thermal time) (Trudgill et al., 2005; Yeh et al., 1997)。選育的早花品種‘臺南1號’和商業品種‘百萬紫’栽培後之到花時間不同(表3.3)，但不清楚是因花芽創始較早或花芽發育較快，因此進一步調查‘臺南1號’和‘百萬紫’經不同溫度和處理時間後在24°C下花下葉片數及到花芽可見天數以建立三基點溫度及度積值模式。結果‘百萬紫’



花下葉片數及到花芽可見天數隨低溫處理時間越長明顯減少，而‘臺南1號’減少的程度較不明顯(表5.1, 5.2)，顯示‘臺南1號’春化需求較少。雖然花下葉片數顯示‘臺南1號’較‘百萬紫’需分化更多葉片才達花芽創始，但到花芽可見天數以‘臺南1號’較‘百萬紫’為少(表5.2)，顯示‘臺南1號’花芽創始速率可能較‘百萬紫’快。‘臺南1號’之 T_{opt} 約為 12°C ，‘百萬紫’約為 11°C ，‘臺南1號’花芽創始最適溫度較‘百萬紫’高約 1°C (圖5.4, 5.9)，而‘臺南1號’到花芽可見天數之 T_{max} 約為 27°C ，‘百萬紫’約為 23°C (圖5.9)，顯示‘百萬紫’較‘臺南1號’需要較低的溫度才能接近最適溫度，而‘臺南1號’即使在環境溫度不夠低的亞熱帶或熱帶地區，也能繼續感應春化。‘臺南1號’和‘百萬紫’春化需求量的不同也可由度積值證明，‘臺南1號’在約 230°Cd 時，花下葉片數及到花芽可見天數皆已達飽和春化反應(圖5.5, 5.10)。洋桔梗自種植至花芽創始之度積值依品種早中晚生特性依序分別為 353.1 、 424.9 及 518.0°Cd (陳，2013)，開花時間不同的品種，其度積值會有明顯差異，此與本研究成果相符。綜合以上顯示育成之早花品種‘臺南1號’春化需求較商業品種‘百萬紫’少，到達花芽創始之速度較快。

在花芽發育方面，兩品種在 24°C 以上由花芽可見到盛開均在25天完成，‘百萬紫’超過 30°C 稍有延遲，‘臺南1號’超過 24°C 時其花芽發育速率無顯著差異(圖5.13, 5.14)，線性迴歸顯示‘百萬紫’花芽發育的基礎溫度為 10.1°C ，而‘臺南1號’為 10.7°C (圖5.15)，以基礎溫度和花芽發育的sub-optimum溫度計算度積值，再與對應的花芽發育階段進行迴歸，則‘百萬紫’花芽發育達到盛花之度積值為 407.2°Cd ，‘臺南1號’為 373.8°Cd ，以‘臺南1號’到盛花之度積值較‘百萬紫’為低，顯示‘臺南1號’花芽發育的速度較‘百萬紫’稍快。瓜葉菊特性相近的兩品種自花芽創始到花苞可見之 T_b 值為 1.6°C ，度積值為 130°Cd ，從花芽創始後到達開花之 T_b 值為 1.7°C ，度積值為 555°Cd (Yeh et al., 1999)。「臺南1號」不僅春化需求低，到花芽創始速率較快，其花芽發育速率也較高，因此選種得到之早花品種‘臺南1號’確實較商業品種‘百萬紫’具有早花性，此模式之建立除了區別品種開花溫度條件不同之外，將來可應用在實際栽培生產時，控制環境溫度調節春化種苗生產或切花出貨時間。


藉由第5章建立之溫度積值，由歷史栽培之環境溫度，代入算式可算出種植到開花所需的時間，在節慶時出貨而有最好的價格，以農曆年節約在2月1日為例，‘臺南1號’花芽發育之溫度積值為373.8°Cd(圖5.16)， T_b 值為10.7°C(圖5.15)， T_{opt} 值以24°C為準(根據圖5.15超過24°C花芽發育速率和24°C相同)，1月之平均溫度為16.3°C， $16.3-10.7=5.6$ ，1月每天之溫度積值為5.6°Cd，31天之總溫度積值為173.6°Cd，12月之平均溫度為17.8°C， $17.8-10.7=7.1$ ，12月每天之溫度積值為7.1°Cd，28天之總溫度積值為198.8°Cd， $173.6+198.8=372.4 \approx$ 花芽分化之溫度積值為373.8，即‘臺南1號’須在12月4日花芽可見才能在2月1日第1小花序盛開。‘臺南1號’花芽分化之溫度積值約為230°Cd(圖5.10)， T_b 值為-1.0°C， T_{opt} 值為12.0°C， T_{max} 值為27.2°C(圖5.9)，當處理溫度高於最適溫度時，需先經有效溫度之換算再行計算度積值。度積值及有效溫度計算方式參考Craigon等人(1990)之做法： $T_{effective} = [(T_{max} - T_{supra}) \times (T_{opt} - T_b) \div (T_{max} - T_{opt})] - T_b$ ，12月之平均溫度為17.8°C，代入公式 $[(27.2 - 17.8) \times (12 - (-1)) \div (27.2 - 12)] - (-1) = 9.0$ ，12月1日至3日之溫度積值為 $9.0 \times 3 = 27^\circ\text{Cd}$ ，11月之平均溫度為21.9°C，代入公式 $[(27.2 - 21.9) \times (12 - (-1)) \div (27.2 - 12)] - (-1) = 5.5$ ，11月之溫度積值為 $5.5 \times 30 = 165^\circ\text{Cd}$ ，花芽分化完成所需之溫度積值為230°Cd，11月1日至12月3日之溫度積值為 $27 + 165 = 192^\circ\text{Cd}$ ，尚需36°Cd，10月之平均溫度為25.1°C，代入公式 $[(27.2 - 25.1) \times (12 - (-1)) \div (27.2 - 12)] - (-1) = 2.8$ ， $36 \div 2.8 = 12.85$ ，10月份尚需約13天才完成花芽分化，因此於10月17日種植。10月17日種植10-15片葉之植株，於9月15日將5-10片葉之組培苗移植至50格穴盤培養30天，溫度保持在27-30°C避免花芽分化。綜上所述‘臺南1號’由試驗結果之溫度積值，欲在2月1日採收，育苗、花芽分化及花芽發育之時間整理如下圖：




參考文獻(References)

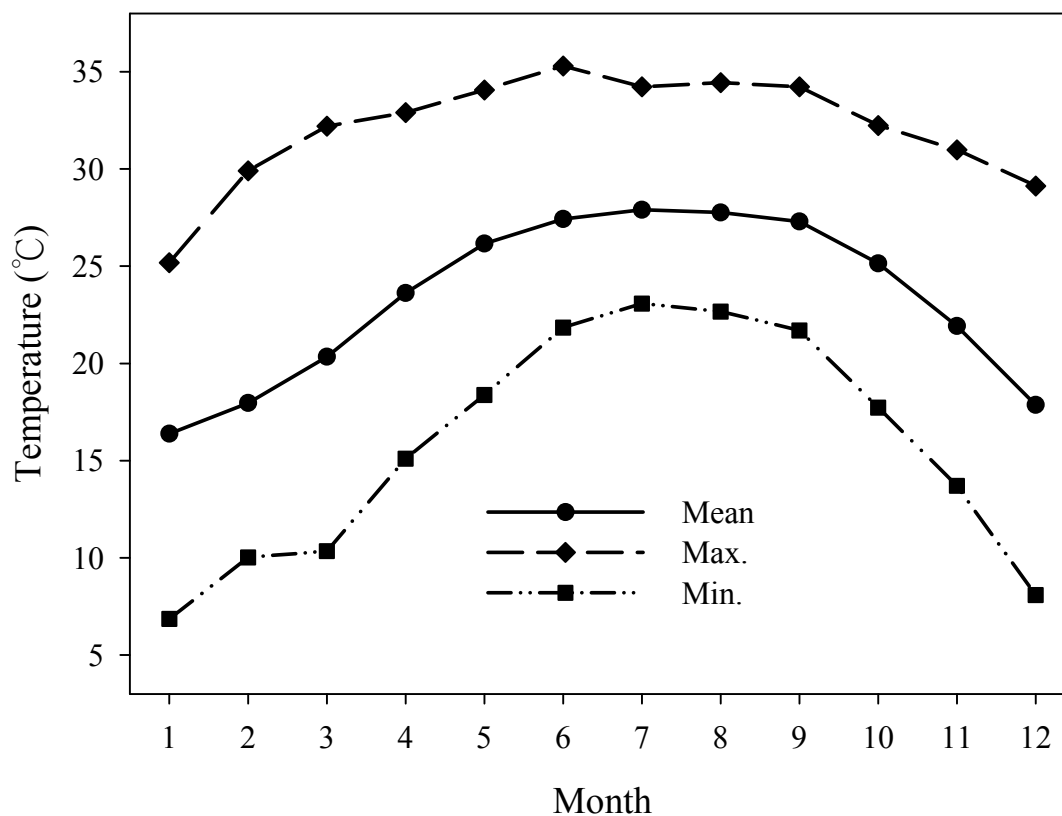


- 王進學、葉德銘 2013. 菊花之細胞膜熱穩定性檢測及其應用於篩選耐熱實生苗. 臺灣園藝 59:153-166.
- 張元聰、王裕權、張錦興、王仕賢、林棟樑. 2004. 遮陰處理避免星辰花離春化之研究. 臺南區農業改良場研究彙報 44:59-66.
- 陳慈華. 2013. 溫度與光積值對洋桔梗生長與開花之影響模式. 國立臺灣大學園藝暨景觀學系碩士論文. 臺北. 臺灣.
- 吾妻淺男、島崎純一、犬伏貞明. 1983. 種子之低溫處理によるスターチス・シヌアータ. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51:46-474. (in Japanese)
- Anderson, J.A. and S.R. Padhye. 2004. Protein aggregation, radical scavenging capacity, and stability of hydrogen peroxide defense systems in heat-stressed vinca and sweet pea. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 129:54-59.
- Baker, H.G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. II. Pollen and stigmathe in the genus *Limonium*. Ann. Bot. 107:433-445.
- Borba, E.L., J. Semir, and G.J. Shepherd. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. Ann. Bot. 88:89-99.
- Cohen, A., A. Harazy., H.D. Rabinowitch, and R. Stav. 1995. Selection for early flowering in blue statice. Acta Hort. 420:118-124.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Jiang, C.D., H.Y. Gao, and Q. Zou. 2003. Changes of donor and acceptor side in photosystem II complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves. Photosynthetica 41:267-271.
- Kong, D.R., Z.L. Wang, L.D. Liu, and P. Zhang. 2008. Megasporogenesis,

- 
- microsporogenesis and development of female and male gametophyte of *Limonium frantii*. J. Electron. Microsc. 27:223-228.
- Li, H.L. 1998. Plumbaginaceae, p.79-82. In: T.C. Huang (ed.). Flora of Taiwan. Vol. IV. 2nd. ed. Dept. Bot., Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan.
- Mohanty, N., J. Vass, and S. Demeter. 1989. Impairment of photosystem 2 activity at the level of secondary quinone electron acceptor in chloroplasts treated with cobalt, nickel and zinc ions. Physiol. Plant. 76:386-390.
- Morgan, E.R., G.K. Burge, J.F. Seelye, J.E. Grant, and M.E. Hopping. 1995. Interspecific hybridisation between *Limonium perigrinum* Bergius and *Limonium purpuratum* L. Euphytica 83:215-224.
- Nyarko, G., P.G. Alderson, J. Craigon, E. Murchie, and D.L. Sparkes. 2008. Comparison of cell membrane thermostability and chlorophyll fluorescence parameters for the determination of heat tolerance in ten cabbage lines. J. Hort. Sci. Biotechnol. 83:678-682.
- Palacios, C. and F. Gonzalez-Candelas. 1997. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae). Mol. Ecol. 6:1107-1121.
- Peng, Z.X. and R.V. Kamelin. 1996. Plumbaginaceae, p.190-204. In: Z.Y. Wu and P.H. Raven (eds.). Flora of China. Vol. 15. Science Press, Beijing.
- Srinivasan, A., H. Takeda, and T. Senboku. 1996. Heat tolerance in food legumes as evaluated by cell membrane thremostability and chlorophyll fluorescence techniques. Euphytica 88:35-45.
- Trudgill, D.L., A. Honek, D. Li, and N.M. van Straalen. 2005. Thermal time - Concepts and utility. Ann. Appl. Biol. 146:1-14.
- Tsurushima, H. 1992. Problems in the production of statice type cut flowers (3). Problems in the breeding of *Limonium* species (2). Agr. Hort. 67:395-400.

- 
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf, and M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plant: An overview. *Environ. Expt. Bot.* 61:199-223.
- Yeh, D.M. and J.G. Atherton. 1999. A thermal time model of post-initiation flower development in the shade plant, cineraria. *Ann. Appl. Biol.* 134:335-340.
- Yeh, D.M. and P.Y. Hsu. 2004. Heat tolerance in English ivy as measured by an electrolyte leakage technique. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79:298-302.
- Yeh, D.M. and H.F. Lin. 2003. Themostability of cell membranes as a measure of heat tolerance and relationship to flowering delay in chrysanthemum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128:656-660.
- Yeh, D.M., J.G. Atherton, and J. Craigon. 1997. Manipulation of flowering in cineraria. III. Cardinal temperatures and thermal times for vernalization. *J. Hort. Sci.* 72:379-387.

附錄(Appendix)



附圖 1. 近 5 年臺南區農改場之每月平均溫度、最高溫度及最低溫度變化圖(2009-2013)。

Appendix 1. Changes in monthly average, maximum, and minimum temperature in Tainan District Agricultural Research and Extension Station (year 2009 to 2013).