國立臺灣大學生物資源暨農學院

植物醫學碩士學位學程

碩士論文

Department of Master Program of Plant Medicine

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

不同品種聖誕紅植株體內植物菌質體之定量追蹤及溫度對植物菌質體之影響

Quantitative Tracing of Phytoplasma in Different Poinsettia Cultivars and Influence of Temperature on Phytoplasma

高唯峻

Wei-Chun Gao

指導教授：洪挺軒 博士

Advisor: Ting-Hsuan Hung, Ph.D.

中華民國 111 年 08 月

AUG 2022

doi:10.6342/NTU202202622

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

不同品種聖誕紅植株體內植物菌質體之定量追蹤及溫度對植物菌質體之影響

Quantitative Tracing of Phytoplasma in Different Poinsettia Cultivars and Influence of Temperature on Phytoplasma

本論文係高唯峻（學號 R08645001）在國立臺灣大學植物醫學碩士學位學程完成之碩士學位論文，於民國 111 年 7 月 20 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

口試委員：

洪挺軒　博士 洪挺軒 （指導教授）
國立臺灣大學植物病理與微生物學系　教授

林乃君　博士 林乃君
國立臺灣大學農業化學系　副教授

沈原民　博士 沈原民
國立臺灣大學植物醫學碩士學位學程　助理教授

呂依儒　博士 呂依儒
國立中興大學生物化學研究所　助理教授

碩士學位學程主任 [illegible] （簽名）

doi:10.6342/NTU202202622

致謝

首先感謝父母的養育之恩，從小到大不斷拉拔我直到現在完成碩士學位，總是支持我完成任何夢想。接著必須感謝我的恩師洪挺軒教授，從我懵懂踏入實驗室的那一刻，就一直是指引我未來方向的明燈，就算實驗過程中遇到挫折、失敗，也會以鼓勵代替責備，在精神上與經費上都給予最大的支持，讓我毫無後顧之憂、充滿信心的完成這項斥資鉅額、工程浩大的研究。同時，實驗能順利進行一定要感謝桃園區農業改良場台北分場楊雅淨副研究員的技術指導，從植株來源、品種選擇到栽培管理，都給予我非常多的協助，也謝謝分場的所有同仁，除了提供我溫室、生長箱等場地設備，平時也幫我細心照顧植物，分擔了很多的勞力工作。

在實驗室中，要感謝舜閔、宥均、淮嶸、東祐學長，每當有實驗上的問題時，學長們總是可以提供我非常好的建議，在試驗設計、實驗操作、數據解讀等方面都很有耐心的為我解惑，而且絕不藏私、有求必應；特別是宥均學長，私下還會傳給我有趣的梗圖，讓我在實驗繁忙之餘能夠稍微放鬆、減輕壓力，也會和我分享有用(?)的火車知識；還有一起研究植物菌質體的東祐學長，幫我惡補了許多關於植物菌質體的必備知識，也能互相交流研究現況。謝謝佳珉學姐，是我最好的優惠小夥伴，可以一起討論各種別人聽不懂的小確幸，互相提醒對方記得不要錯過優惠。感謝維容、楹瑩和我一起打拚，讓實驗室的檢測技術更加進步、有效率。同時也因為有學姐和學妹們，讓我能多次解決人生中最大難題之一的「晚餐吃什麼?」，絕對稱得上是我生命中的貴人。感謝庭萱，是我到台北分場做實驗的好同事，一起研究聖誕紅才不會覺得孤單。感謝川瑜，常常和大家分享各式各樣的迷因圖，為實驗室製造了許多笑聲，和你聊天總是非常開心。

最後，要感謝口試委員乃君老師、原民老師和依儒老師的辛勤指導，讓我的論文更臻完美，並提供我修改的方向，也謝謝植醫學程的所有老師，在 seminar 時提供了許多寶貴的意見。要完成這項研究，需要感謝的人真的還有太多，簇繁不及備載，在此再次為所有幫助過我的人獻上最誠摯的謝意。

doi:10.6342/NTU202202622

中文摘要

聖誕紅(*Euphorbia pulcherrima*)是大戟科 (Euphorbiaceae) 大戟屬(*Euphorbia*)的多年生木本植物。聖誕紅的苞片因為色彩鮮豔而具有觀賞價值，是重要的花卉作物，台灣的年產量約 120 萬盆，產值約 1.2 億新台幣，僅次於蘭花。野生的聖誕紅分枝少、枝葉稀疏，且株高可達三公尺，是因為植物菌質體才使得聖誕紅矮化與分枝增加，株型圓潤緊湊而適合製成盆花。近期因聖誕紅種植期間出現突然抽高的現象，造成業者的經濟損失，而此現象的發生推測與植物菌質體有關。本研究蒐集市面較主流的聖誕紅品種，利用 real-time PCR 定量技術探討植物菌質體數量與聖誕紅分枝性狀的相關性，並追蹤在一般溫室栽培環境下自種植到出貨時期的植物菌質體濃度變化。同時，也利用生長箱，調查聖誕紅植株內植物菌質體在 15 ℃、25 ℃、35 ℃等不同環境溫度下，是否會出現不同的消長狀況。本研究發現大多數品種的植物菌質體數量皆與分枝性狀的好壞呈現中高度的正相關，惟尚紅與玫瑰紅星因個體差異導致標準差過大，尚不易看出植物菌質體數量是否會影響該二品種的分枝數量。在自然感染的情況下，一般溫室栽培者，發現經過六個月的定量追蹤，僅在定植初期植物菌質體數量較低，隨著植株成長茁壯，植物菌質體也跟著增加，直到 12 月的開花期，植物菌質體數量出現顯著的提升，隨後在花期結束後，當苞片與葉片開始掉落，生長勢變的衰退，植物菌質體也跟著減少。於生長箱控溫環境栽培的品種為倍利及尚紅，在為期約半年的追蹤下，最終僅 15 ℃處理的倍利於第三個月植物菌質體出現顯著的上升，其餘皆無顯著差異。35 ℃處理的兩個品種，從一開始植物菌質體數量就不斷降低，卻因為高溫對於植物本身造成太大的逆境，至實驗後第三個月時，植株數量已剩下不到一半，故統計上才不具顯著差異，而後續將植物移至溫室中恢復，植物菌質體也隨之增加，因此，雖然無法判定高溫是直接對植物菌質體造成傷害，還是因為植物逆境導致寄主植物狀況不佳，間接影響植物菌質體的生存，但仍可以確定高溫環境並不利於聖誕紅的種植，在商業栽培上應適時利用遮陰等方式改善環

doi:10.6342/NTU202202622

境溫度，避免將植株長時間暴露在過度炎熱的環境下。

關鍵詞 (Key words)：聖誕紅 (*Euphorbia pulcherrima*)、植物菌質體 (phytoplasma)、分枝 (branching)、即時聚合酵素連鎖反應 (real-time PCR)、溫度 (temperature)

doi:10.6342/NTU202202622

Abstract

Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) is a perennial woody plant belonging to the family Euphorbiaceae and the genus *Euphorbia*. Being an important ornamental crop, poinsettia is valuable due to its colorful bracts. Total poinsettia production is about 1.2 million pots and values at 120 million NTD, ranking second only to orchids in Taiwan. Wild poinsettias are few in branches and sparse in leaves. Moreover, the plants can grow up to three meters tall. Phytoplasma is the key factor that induces poinsettia dwarf and free-branching. With these characters induced by phytoplasma, the plant appearance becomes more compact and suitable for pot flower. However, on these days, some of the poinsettia plants somehow start to grow excessively during the growing season and cause huge lost to producers. The reason of excessive growth is supposed to be leaded by phytoplasma. In this study, I collected some common cultivars and employed real-time PCR technology to study the relationship between the number of phytoplasma and poinsettia branching character. Moreover, I examined changes in the concentration of phytoplasma under normal atmospheric temperature in greenhouse. I also quantified the amount of phytoplasma with plants incubated in the growth chamber under 15 ℃, 25 ℃ and 35 ℃ to determine the patterns of growth and decline of phytoplasma. As result, the amounts of phytoplasma are positively correlated to the branching rate of most cultivars except Prima Red & Rose Star. The 2 cases might be due to huge variation from statistics. After six months of tracing, cultivars grown in the normal greenhouse exhibited lower phytoplasma in the beginning of investigation. Along with plant growth, phytoplasma increased as well. During flowering season on December, the amounts of phytoplasma raised. When it comes to the end of flowering season, phytoplasma declines followed by the decay of growth potential which bracts and leaves start to drop. The two cultivars growing in the growth chamber with

doi:10.6342/NTU202202622

controlled temperature are Pepride and Prima Red. Within the tracing of about half of a year, only Pepride shows a significant increase of phytoplasma in the third month while others remain no significant difference. The amounts of phytoplasma under 35 ℃ were actually declined continuously from the beginning. Because high temperature poses great threats to plants, less than half of the amounts of plants were sustained since the third month and, in hence, there is no statistically significant difference in the amount of phytoplasma. The plants under 35 ℃ treatment then moved to greenhouse for recovery and phytoplasma increases again. Thus, although we cannot ensure the high temperature either harms phytoplasma directly or indirectly poses effects on the survive of phytoplasma by causing growing threats to the plant hosts, we can still prove that it is not suitable to grow poinsettias under high temperature. For commercial growth, environmental temperature could be properly improved by shading or other methods to avoid plant being exposed under overheated environment.

doi:10.6342/NTU202202622

目錄

doi:10.6342/NTU202202622

doi:10.6342/NTU202202622

圖表目錄

doi:10.6342/NTU202202622

壹、前言

一、聖誕紅簡介

聖誕紅 (*Euphorbia pulcherrima)* 是大戟科 (Euphorbiaceae) 大戟屬 (*Euphorbia)*的多年生木本花卉作物，原產於墨西哥南方與瓜地馬拉北側，為熱帶植物，且早在基督教傳入美洲前，墨西哥的阿茲特克人 (Aztecs) 就已經在種植並將其視為純潔的象徵，同時花朵會拿來做為染料，乳汁甚至可以用來作為退燒藥使用。直到 1825 年，首任美國駐墨西哥大使 Joel Robert Poinsette 才將聖誕紅引入美國，聖誕紅的英文 poinsettia 亦源於其名。到了 19 世紀末期，聖誕紅已經傳遍美國各地，並在 20 世紀初期成為盆花市場上銷售最好的品項之一（Taylor *et al.*, 2011; Lee, 2000）。

聖誕紅的開花期正好位於聖誕節時期，且亮紅色的苞片配上深綠色的葉片，非常符合聖誕節的意象，因而得名。聖誕紅的觀賞價值主要在於其色彩鮮艷的苞片，是重要的花卉作物，台灣的年產量約 120 萬盆，產值約 1.2 億新台幣，僅次於蘭花，主要栽種地區位於桃園各區、苗栗卓蘭、南投埔里及宜蘭三星（劉等人，2021； Lee *et al.*, 1997）。

然而聖誕紅並非一開始就像現今大多數的品種一樣株型矮小、緊湊，反而是一棵株高可達 10 英呎的大樹，在眾多育種者與種植者的的努力下，目前的聖誕紅才逐漸變的矮小、分枝數量多，具有作為盆花的觀賞價值（Lee, 2000）。

一開始，人們普遍認為聖誕紅品種可分為兩種，分別為頂芽優勢強、分枝數量少、莖直徑較粗的 branching-restricted 型，以及頂芽優勢較弱、側枝與花朵較多的 free-branching 型。當 Stimart （1983）發現可以利用嫁接的方式促進側芽的生長後，園藝學家們才意識到，或許在 free-branching 型的聖誕紅植株內存在著某種共生物，因為在經過熱處理、組織培養等傳統脫毒方式處理後，free-branching 的性狀會跟著消失，並且如果重新嫁接回 free-branching 的母株後又會恢復

doi:10.6342/NTU202202622

（Stromme, 1994）。而聖誕紅嵌紋病毒 (Poinsettia Mosaic Virus, PnMV)剛好在所有 free-branching 的植株上都能被發現，且能透過上述脫毒方式去除，所以曾經被懷疑就是該共生物，但隨後 PnMV 亦被發現存在於 branching-restricted 植株上，該推測才被推翻（Lee *et al.*, 1997）。最後在檢測技術的進步下，嫁接能促進側芽增生被證實是植物菌質體從被感染的聖誕紅中傳到未感染的植株上造成（Dole & Wilkins, 2005; Taylor *et al.*, 2011; Lee, 2000）。

二、台灣聖誕紅的栽培管理

一般市面上常見的商業栽培品種主要為扦插繁殖，在七到九月時採取母株的頂梢作為插穗。採穗的最佳時間為清晨，因為清晨插穗的水分最為充足，扦插後較不易乾枯，最適合用來扦插的是 5~6 公分長、4~6 毫米粗、含有約 4 個節、帶有 3~4 片成熟葉的插穗。扦插時，插穗底部切面沾上發根粉可促進植物發根並提高整齊度，發根粉的成分可使用 2500 ppm 的吲哚丁酸 (Indole-3-butyric acid, IBA) 或 1500 ppm IBA 混合 500 ppm 萘乙酸 (naphthylacetic acid, NAA)。扦插初期，尤其是前 3~4 天，由於根系尚未發育，吸收水分能力不佳，為了降低蒸散作用造成的水分散失，必須使用間歇微霧噴灌系統，以密集噴霧的方式增加環境濕度。在合適的情況下，插穗大約會在兩星期左右開始發根，根系開始發育後，會逐漸降低噴霧頻率、移除遮陰以增加光照、加速生長，同時也有助於保持通風，減少病蟲害的發生，此時亦可添加濃度較低之液態肥料或緩效性肥料（傅等人，2010）。

扦插後約三個星期的發根苗即可上盆定植，定植深度僅需輕微蓋過根部，避免莖基部沒入土中而易受病害感染。商業栽培上，定植後 7~10 天會進行摘心處理，可促進側芽生長、增加分枝數量，盡早摘心可使下位的側芽得到足夠的光線，並向上直立生長，讓新生成的側枝強壯而不易斷裂。聖誕紅在營養生長期最適合的光度約為 40000~50000 lux，若光線不足除了莖部會變得軟弱，還會造成徒長，因此大量栽培時應留意盆距，避免盆距過密使光線無法穿透（Ecke *et al.*, 2004; 傅等人，2009）。

doi:10.6342/NTU202202622

在株高控制上，由於希望植株外型矮小且株型緊湊，會使用生長抑制劑或稱矮化劑來控制節間的伸長，目前國內可使用的矮化劑有克美素 (Cycocel，俗稱 CCC)、巴克素 (Paclobutrazol，俗稱 PP333) 以及益收生長素 (Ethrel 或 Florel)，一般會在側枝成長到 1.5~2.5 cm 時施用，施用方式以灌注法較佳，可以讓側枝生長更整齊，且效果更持久（傅等人，2010； 傅等人，2009）。

聖誕紅是短日植物，臨界夜長為 11 小時又 40 分鐘，夜晚需長於此長度才會開始進入生殖生長階段，亦即在台灣，大約九月中開始的日長即能符合花芽分化的條件。若希望提早開花，可使用人工黑幕處理，在傍晚時開始處理，到隔日早上再將黑幕移除，使連續黑暗期維持 14~15 個小時；反之，若欲使花芽分化延後，可利用電照在晚上 22 點至凌晨 2 點間將暗期中斷（傅等人，2010）。

三、研究目的

根據桃園區農業改良場通報，聖誕紅種植的過程中，常會有數棵植株出現突然抽高的現象（圖一、苗床中零星出現突然抽高的植株圖一及圖二），嚴重影響商品價值，一旦發生通常就是直接丟棄，造成業者極大的損失。實際在桃園市復興區聖誕紅業者的溫室觀察到，該業者種植的品種當中以四季桃喜的發生頻率最高，植株抽高的情形零星分布在苗床上，目測發生率約 5 ~ 10 %。

由於目前已知造成聖誕紅出現矮化、分枝數量變多、節間縮短的主要原因為植物菌質體的感染（Lee *et al.*, 1997），屬於植物病害的一種，根據病害三角環（disease triangle）的三個面向，在「病原」確定為植物菌質體後，於「寄主」方面將探討近期較熱門的聖誕紅品種其植株內植物菌質體的感染情形，比較各品種的差異；在「環境」上，因植物菌質體對溫度較為敏感（Agrios, 2005; Kaewmanee & Hanboonsong, 2011; Chalak et al., 2013），故將以溫度作為變因，探究不同環境溫度下，聖誕紅植株內植物菌質體數量是否有區別。植物菌質體感染程度將使用 real-time PCR 定量技術量化，以利不同品種與不同溫度間的比較。

本研究與行政院農業委員會桃園區農業改良場台北分場合作，仰賴該場多年

doi:10.6342/NTU202202622

的資料蒐集、研究成果、產地觀摩和實務經驗，期望能以最貼近產業現況的角度，達到解決當前產業困境的效果，提供聖誕紅栽培者選擇品種與改善種植環境的參考。

doi:10.6342/NTU202202622

貳、前人研究

一、植物菌質體的發現與簡介

植物菌質體 (phytoplasma) 為不具細胞壁之革蘭氏陽性細菌，分類上屬於原核生物界、基因序列中 G+C 含量低的柔膜菌綱 (Mollicutes)、無膽甾原體目 (Acholeplasmatales)、無膽甾原體科 (Acholeplasmataceae)、Candidatus 屬。由於植物菌質體無法以人工培養基培養，加上可以經由媒介昆蟲和人為嫁接傳播，早期常被認為是病毒病害（Kunkel, 1926）。一直到 1967 年，Doi 利用電子顯微鏡觀察桑樹萎縮病 (mulberry dwarf)、翠菊黃萎病 (aster yellows) 等黃化、萎縮的罹病組織時，發現其韌皮部內存在著不具細胞壁、多形性 (pleomorphic) 的微生物，這些微生物與動物病原菌「黴漿菌 (mycoplasma)」的大小類似，同樣不具細胞壁且對於四環黴素 (tetracycline) 很敏感，因此 Doi 將其命名為 mycoplasma-like organisms (MLOs)（Doi *et al.*, 1967）。直到 1990 年以後，在聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR)、限制片段長度多型性 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) 等分子生物學技術的發展下，MLOs 在分類學上的地位逐漸被建立，隨後在 2004 年 International Organization for Mycoplasmology 將其改名為 phytoplasma，分類在一個新的屬 *Candidatus* Phytoplasma 之下（IRPCM, 2004; Namba, 2019; Rao *et al.*, 2018）。

二、植物菌質體在病理學上的特性

植物菌質體主要寄生在寄主韌皮部的篩管細胞內，受到植物菌質體感染常見的病徵有枝葉增生 (proliferation)、植株矮化 (dwarf, stunting)、小葉化 (little leaf)、萎凋 (wilt)、葉片黃化 (yellowing)、簇葉 (witches' broom)、花器綠化 (virescence) 與花器葉化 (phyllody)、異常增生 (proliferation)、巨芽 (stolbur) 等。傳播方式類似於病毒，可透過媒介昆蟲 (insect vector)、嫁接 (grafting)、菟絲子 (dodder) 寄生等途徑，常見的媒介昆蟲包含葉蟬 (leafhopper)、飛蝨 (planthopper) 和木蝨

doi:10.6342/NTU202202622

(psyllid)，且大多行永續性 (persistent) 傳播（Namba, 2019; 洪與林，2011； 黃，2009），不過至今仍未發現傳播聖誕紅簇葉病植物菌質體 (poinsettia branch-inducing phytoplasma, PoiBI) 的媒介昆蟲（Lee, 2000）。

三、植物菌質體的分類系統

由於植物菌質體迄今仍難以人工培養基培養，無法利用傳統生理生化特性分類，早期大多依據寄主範圍、發病病徵以及媒介昆蟲區分，在命名上也大多採取寄主名加上病徵的方式，例如 poinsettia branch-inducing phytoplasma (PoiBI)，然而一種植物菌質體常會感染兩種以上的寄主，或是同一種植物也能夠被多種植物菌質體複合感染，利用寄主範圍作為分類依據在實務上不容易執行；在病徵方面，僅有花器葉化與花器綠化為植物菌質體獨有，其餘皆與病毒病害之病徵相似，更何況並非所有的植物菌質體感染都會產生花器葉化與花器綠化的病徵，讓病徵作為分類依據也窒礙難行（Seemüller *et al.*, 1998）。

隨著分子生物學技術的發展，分類學上的工具逐漸增加，學界開始利用分析保守性基因序列的差異性作為分類的標準，在植物菌質體的分群上，最廣泛應用的是 Lee 等人使用 16S rDNA 基因之 PCR 產物進行 RFLP 比較差異的方法，首先利用引子對 R16F2n/Rl6R2（序列見附錄一表一）PCR 增幅出 16S rDNA 片段，稱為 F2nR2 片段，再使用 *Alu*I, *Bam*HI, *Bfa*I, *Dra*I, *Eco*RI, *Hae*III, *Hha*I, *Hin*fI, *Hpa*I, *Hpa*II, *Kpn*l, *Rsa*I, *Ssp*I, *Taq*I, *Tha*I, *Mse*I 和 *Sau*3AI 等 17 種限制酶進行 RFLP，以此方法得到的分類群稱為 16Sr group，截至 2020 年，已有 34 個群（group）與超過 200 個亞群（subgroup）（Cao *et al.*, 2020; Rao *et al.*, 2018）。詳細的分群方式為計算相似係數 (similarity coefficient) F，利用公式 $F= 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ 計算 strian x 和 strain y 兩個 strain 之間的差異，其中 N_x 和 N_y 指的是 strain x 和 y 被 17 種限制酶切割後產生的片段數量，N_{xy} 則是兩個 strain 中都有被切出來的共同片段數量；當一個 strain 與之前所有發表過的亞群的相似係數 F 都小於 0.97 時，就會被定為新的亞群；如果與其他的亞群的 F 都小於 0.85，則可以成立一個新的群（Lee

doi:10.6342/NTU202202622

et al., 1998; Wei *et al.*, 2008; Zhao & Davis, 2016）。透過上述方式，鑑定出感染聖誕紅造成簇葉病徵的植物菌質體屬於第Ⅲ群、第 H 亞群（16SrⅢ-H）（Lee *et al.*, 1997）。本實驗室陳韻帆學姐也曾針對台灣常見的聖誕紅品種進行植物菌質體類群的調查，依照此分類標準，感染聖誕紅的植物菌質體也以第Ⅲ群 H 亞群為主，少數品種可以偵測到第Ⅲ群與第 I 群複合感染（陳， 2017）。

在 *Candidatus* Phytoplasma 屬之下，對於新種的定義 The International Research Program on Comparative Mycoplasmology (IRPCM) 也在 2004 年達成共識，要發表一個新種必須要提供 1200 bp 以上的 16S rDNA 基因序列，並且這段 16S rDNA 序列要和先前任何已發表的種相似度小於 97.5%（IRPCM, 2004; Rao *et al.*, 2018）。

四、植物菌質體濃度與病徵嚴重度之相關性

繡球花 (*Hydrangea macrophylla*) 的觀賞價值主要來自其色彩多變的萼片 (sepal)，在花青素受到不同酸鹼值的作用之下，會呈現白、粉紅、紅、紫、藍等色彩。此外，市面上也不乏綠色的繡球花商業栽培品種，但綠色的繡球花在扦插繁殖時常常很不穩定，會出現綠色、藍綠色、甚至藍色的子代，在商業生產上是很大的問題，直到後續研究才發現，綠色的繡球花其實是受到 Japanese hydrangea phyllody (JHP) phytoplasma 感染，才導致花器葉化，花與萼片呈現綠色。

因此在 2006 年，Kesumawati 等人決定探討植物菌質體濃度與綠色繡球花花色的相關性，利用半定量聚合酶連鎖反應 (semi quantitative PCR) 的方式，將一段 370 bp、已知濃度的 JHP phytoplasma 16S rDNA 進行四倍連續稀釋 (four-fold serial dilution)，從原濃度到 4^{-9} 倍作為標準品，而綠色、藍綠色、藍色繡球花的樣本 DNA 也透過四倍連續稀釋成原濃度到 4^{-4} 倍；最後將標準品與樣本 DNA 都一起進行聚合酶連鎖反應與電泳，藉由比較電泳條帶的粗細，確定樣本的植物菌質體數量，達到接近定量的效果。結果發現，在綠色、藍綠色、藍色繡球花葉片樣本上的植物菌質體，原濃度分別對應到標準品的 4^{-2}、4^{-4} 以及$<4^{-9}$；而萼片樣本

doi:10.6342/NTU202202622

則分別對應到 4^{-3}、4^{-5} 以及<4^{-9}。可以發現，在藍色繡球花上，幾乎測不到植物菌質體的存在，而綠色繡球花的植物菌質體數量不管在葉片或是萼片上，都是藍綠色繡球花的 16 倍之多，表示植物菌質體的濃度確實與病徵嚴重度呈現正相關，當植物菌質體越多，繡球花花器葉化的程度越高，綠色越明顯。

五、品種對於植物菌質體的影響

如同大部分的病害，同一種寄主、不同品種之間也會對於植物菌質體有感病、耐病和抗病的差異。Sinclair et al. (2000)以榆樹黃萎病 (Elm yellows) 作為材料，研究 6 個不同品種的榆樹 （Frontier、Pathfinder、Patriot、Homestead、Pioneer 與 Prospector）對於植物菌質體的抗性差異。榆樹黃萎病在美國東部時常發生，榆樹在受到植物菌質體感染後造成韌皮部與支根壞疽、葉片黃化，且通常在葉部病徵出現後的一到兩年內導致植株死亡。其實驗方法為嫁接樹皮方式接種植物菌質體至六個不同品種的榆樹上，經過一年後觀察記錄病徵，並以 DAPI 螢光試劑及 nested PCR 檢測，確認感染植株數量，接著持續追蹤三年，觀察植株是否死亡。結果 Pioneer 為最感病的品種，接種的 16 棵植株中，有 13 棵能檢測出植物菌質體，三年內也有 12 棵植株死亡；具有耐受性的品種為 Frontier、Pathfinder、Patriot，能受到植物菌質體感染，但不表現嚴重病徵，三年內死亡率也低；Homestead 與 Prospector 在接種後幾乎無法被植物菌質體感染，最為抗病，在經過解剖後發現接種處出現局部的壞疽，作者推測是植物進行計畫性組織凋亡以防止植物菌質體擴散。可見不同品種間的榆樹對於榆樹黃萎病的感病程度具有很大的不同。

Jarausch et al. (2000)則針對歐洲核果黃萎病 (European stone fruit yellows, ESFY) 進行研究，此為歐洲李屬 (Prunus) 作物重要的病害之一，會造成葉片褪綠捲曲，以及非生產季節的生長。此研究使用的寄主材料是對 ESFY 相對抗病的歐洲李 (Prunus domestica)，共選用 greengage (Reine Claude)、French prune (Prune d’ Ente) 兩種不同的品系，包含 16 種不同的新、舊、與突變品種，並以芽接法 (chip-budding) 接種植物菌質體，追蹤 6 年觀察病徵發展並使用 DAPI (4’,6-

doi:10.6342/NTU202202622

diamidino-2-phenylindole)螢光染劑及 PCR 確認感染情形。在結果上，greengage (Reine Claude) 品系中，僅有兩個新品種出現病徵，且發病率低，具有較佳的抗性；而 French prune (Prune d' Ente) 品系中全部的品種皆出現病徵，特別是新品種的發病率極高，抗病性普遍不佳。

六、溫度對於植物菌質體的影響

植物菌質體對於高溫較為敏感在許多文獻中都有被提及，例如 Agrios 於 2005 年所著的 Plant Pathology 第五版中關於植物菌質體病害的介紹中提到，植物菌質體造成的病害可以透過在 30～37 ℃的環境下培養數天到數月，或是浸泡 30～50 ℃的熱水 10 分鐘 ～72 小時，達到完全去除病原菌的效果。

再例如 Kaewmanee 在 2011 年針對甘蔗白葉病 (sugarcane white leaf disease, SCWL) 的研究，甘蔗白葉病的病原是 16SrXI group 的植物菌質體，會使甘蔗的葉片缺乏葉綠素而呈現白色的病徵。此研究將感染甘蔗白葉病的莖部進行以下三種處理：1. 浸泡兩次熱水（55℃, 10min → 50℃, 2hr）； 2. 浸泡熱水後再浸泡冷水（50℃, 2hr → 5℃, 2hr）； 3. 浸泡熱水後再使用四環黴素處理（50℃, 2hr → tetracycline 2hr）。處理過後的樣本以 nested PCR 及 real-time PCR 檢測，在 nested PCR 檢測的結果中，除了熱水與四環黴素同時處理者的植物菌質體感染率下降到 71.43 % 以外，其餘仍然有九成以上的感染率；不過在 real-time PCR 檢測的結果中，各處理的差異看起來大了許多，與完全沒有處理的對照組相比，熱水與四環黴素同時處理者植物菌質體數量剩下約 1/4000，兩次熱水處理組剩下約 1/15，先熱水再冷水處理者則剩下約 1/5，可見植物菌質體對於熱處理雖然沒有像四環黴素那麼敏感，但仍然會因高溫導致存活率降低 (Kaewmanee & Hanboonsong, 2011)。

2013 年 Chalak 等人為了去除葡萄上的 Bois Noir phytoplasma (BN)，亦嘗試熱水浸泡處理加上組織培養的方式以獲得健康種苗，並做了以下五種處理：1. 使用莖部組培，並於 38 ℃下培養 40 天； 2. 莖部組培前，組織浸泡 50 ℃ 熱水

doi:10.6342/NTU202202622

15 分鐘； 3. 莖部組培前，組織浸泡 50 ℃ 熱水 30 分鐘； 4. 莖頂生長點組培；5. 莖頂生長點組培，並於 38 ℃ 下培養 40 天。培養完成後的第一代植株，再繼續將長出來的新芽進行組織培養繼代兩代，最後以 nested PCR 檢測第一代與第三代植株植物菌質體仍殘存的植株比例。結果顯示，熱水浸泡不論 15 分鐘或 30 分鐘的處理組，在第一代子代中就已經全部都測不到植物菌質體，而組培後於 38 ℃ 高溫下培養 40 天的兩個處理，皆可以在第一代就去除 76 % 的植物菌質體，若僅靠莖頂生長點組培，只有 36 % 的第一代子代成功去除植物菌質體，不過以上五種處理在第三代子代均沒有測得植物菌質體的存在。因此在這個實驗中可以證實高溫確實能使植物菌質體存活率降低，且短時間 50 ℃ 熱水浸泡比長時間 38 ℃ 高溫環境對植物菌質體的殺傷力更大 (Chalak et al., 2013)。

七、 聖誕紅簇葉病植物菌質體的 real-time PCR 定量技術與在植株內的分布

為了瞭解植物菌質體感染聖誕紅後，在植株內的分布情形， Christensen *et al.* (2004)根據植物菌質體的 16S rDNA 以及植物的 18S rDNA 分別設計兩組 TaqMan assay 的 real-time PCR 引子對與探針 (probe)，定量檢測植株根部、莖部、下位葉葉柄的植物菌質體，發現分布最多的部位為下位葉葉柄，其次是莖部，而根部的含量較前兩者少了約一個數量級。Christensen *et al*. (2004)也以 SYTO™ 13 green fluorescent nucleic acid stain 與 Aniline blue 染劑對受植物菌質體感染的聖誕紅莖部染色，SYTO 13 的目標為 DNA，因此細胞核、植物菌質體、粒線體、葉綠體被染色後在螢光顯微鏡底下會呈現紅色；Aniline blue 則染胼胝質 (callose)，會讓篩管、篩板在螢光顯微鏡下呈現綠色，在染劑的輔助下，更容易觀察植物菌質體在植株內的分布情形。

Klemsdal *et al.* (2004)也根據植物菌質體的 16S、spacer region、部分的 23S rDNA 序列，以及植物的 18S rDNA 分別設計兩組 TaqMan assay 的 real-time PCR

doi:10.6342/NTU202202622

引子對與探針，來研究植物菌質體在聖誕紅植株內的分布。和 Christensen 等人不同的是，他們將部位分得更細，將整個植株由下到上分為 6 個節 (node)，並且於每個節採取葉片中肋、葉柄基部、側枝、含韌皮部組織的樹皮、樹心等五個部位。最終得到的結果是，植物菌質體含量由多到少的排序為樹皮、葉柄和中肋、側枝、樹心，再一次證實植物菌質體主要存在於韌皮部中，在含有韌皮部組織的部位含量會比較多；而在 6 個節的分布中，可發現最上位的節最少，表示植物菌質體在植物中屬於 sink 的部位含量較低。

Lee *et al.* (2021)同樣利用 real-time PCR 技術分析植物菌質體在聖誕紅植株內的分布，但又更進一步將植株分成更多部位，並比較營養生長期與開花株之間的差異。在營養生長株上，最下位、最靠近莖基部之展開葉的葉柄、中肋及葉肉植物菌質體數量最多，其次為最下位葉上方的莖部、第二下位葉片的葉柄、中肋及葉肉，和初生及次生根。而在開花株上，最下位與第二下位展開葉的葉肉及中肋植物菌質體最多，再往上的第三輪葉片、下位莖部、根部則次之。根據結果，不論是營養生長期還是開花期，也不論組織的種類 （葉肉、中肋、葉柄等） 植物菌質體在植株頂端的濃度都很低，再次驗證屬於 sink 的部位植物菌質體含量較少；此外，在營養生長期與開花期植物菌質體數量最多的地方有些許差異，轉換為生殖生長後，植物菌質體累積的部位由最下位出現了上移的現象，由於木本植物碳水化合物的運輸會受到生殖生長的影響，或許開花期碳水化合物的變化也影響了植物菌質體的分布。總結來說，PoiBI 在聖誕紅植株中的分布非常的不均勻，所以下位葉 (lower source leaves) 的中肋和葉肉細胞可能是最適合偵測此病原的組織種類。

doi:10.6342/NTU202202622

參、材料與方法

一、植株與植物菌質體來源

本研究使用的聖誕紅植株皆取自桃園區農業改良場台北分場，於 2021 年七月底以頂芽扦插繁殖獲得，自母株取約四節長度的頂芽作為插穗，切面沾取 1500 ppm IBA 混合 500 ppm NAA 的發根粉，扦插於海綿上，再放置於噴霧扦插床，噴霧時間為每 30 分鐘噴霧 1 分鐘，保持高濕度以減少水分散失，待約 3 週發根後種植於三吋盆中。品種選擇上，為貼近產業現況，自目前市面上較流通的品種中，參考改良場及農民經驗，挑選九個品種，分別為分枝性狀極好的蘿莎公主 (Princettia ROSA)、尚紅 (Prima Red)、鼠圓寶 (Christmas Mouse)，分支性狀好的檸檬雪 (Lemon Snow)、玫瑰紅星 (Rose Star)、聖誕節 (Noel)，以及分枝性狀普通的倍利 (Pepride)、紅絲絨 (Red velveteen)和四季桃喜 (Luv U Pink)。植物菌質體的來源亦如同一般商業栽培模式，由插穗自身帶菌，並隨著植株生長一同增殖，本實驗植物菌植體之核酸皆由樣本植株採取。

二、植物總核酸萃取法

由前人研究得知，植物菌質體在靠近莖基部數量較多，故以打洞器 (圖三) 採集聖誕紅中下位展開葉。每個樣本約打 25 個洞，重量約 0.1 g，置於 2 ml Eppendorf® Safe-Lock Tubes 中 (圖四) ，放入兩顆鋼珠與 Geneaid® Plant Genomic DNA Mini Kit (GP100) 第一步驟之 400 µl GP1 buffer 和 5 µl RNase A，接著使用 SPEX SamplePrep Geno/Grinder®2010 高速組織研磨振盪均質機，以 1400 rpm、30s 兩次將樣本組織均質化。

隨後步驟均依照 kit 指示進行，加入 100 µl GP2 buffer 並使用 vortex 混勻，接著冰浴 3 分鐘；將 Filter Column 放入 2 ml Colletion Tube 中，將混和物放入 Filter Column 中以 1000 g 離心 1 分鐘，並丟棄 Filter Column；濾出液移至新的 1.5 ml 離心管中，並在加入 1.5 倍體積的 GP3 buffer （約 750 ml ）後立即 vortex

doi:10.6342/NTU202202622

5 秒；將 GD Column 放入 2 ml Colletion Tube 中，吸取 700 µl 混和物加入 GD Column 中，以 14000 ~ 16000 × g 離心 2 分鐘，倒掉濾出液並重複一次以上步驟，將剩下的混合物也離心完成；在 GD Column 中加入 400 µl W1 buffer，以 14000 ~ 16000 × g 離心 30 秒，並丟棄濾出液，接著加入 600 µl Wash buffer，再以 14000 ~ 16000 × g 離心 30 秒，並同樣丟棄濾出液；當有過多色素仍然殘留在 GD Column 時，可以加入 400 µl 絕對酒精到 GD Column 中並以 14000 ~ 16000 × g 離心 30 秒，丟棄濾出液後，最後離心 3 分鐘把 GD Column 甩乾，放置於新的 1.5 ml 離心管中。

在洗出步驟中，使用事先預熱至 60 ℃的 100 µl TE buffer [10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0] 取代 kit 中的 elution buffer，加入 GD Column 等待 3~5 分鐘待其完全吸收，最後以 14000 ~ 16000 × g 離心 30 秒將 DNA 由 GD column 中洗出。萃取完成的樣本 DNA 以 Thermo Scientific™ NanoDrop™ Lite Spectrophotometer 測量核酸濃度與純度，保存於-20 ℃冰箱中，供後續分析使用。

三、Real-time PCR 使用的引子對、探針，及反應條件

利用 Marzachí and Bosco（2005）設計的引子對 (CYS2Fw / CYS2Rv) 及探針 (CYS2probe)，增幅植物菌質體一段長 98 bp 的 16S rDNA 序列；聖誕紅上，則使用 Christensen *et al.*（2004）所設計，可增幅出一段 68 bp 18S rDNA 的引子對及探針，由於作者沒有將其命名，本研究將以 Plant68Fw、Plant68Rv、Plant68probe 稱呼，詳細序列見表一。

植物與植物菌質體 real-time PCR 的總反應體積皆為 10 µl，其中包含 5 µl Applied Biosystems™ TaqMan™ Universal Master Mix II, with UNG、0.5 µl Applied Biosystems™ Custom TaqMan™ Gene Expression Assay, FAM (含 18 µM forward primer、18 µM reverse primer、5 µM probe)、以及 4.5 µl 濃度為 20 ng/µl 的樣本 DNA。進行 real-time PCR 使用的機器為 Applied Biosystems™ QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System，以 QuantStudio™ Design and Analysis Software v1.5.2 進

doi:10.6342/NTU202202622

行設定與操作，溫度循環反應條件皆依照其原始論文所述，CYS2：hold stage 50 ˚C 預跑 3 分鐘、95˚C 活化酵素 5 分鐘，PCR stage 95˚C 變性 15 秒、60˚C 黏合反應及聚合反應 1 分鐘，進行 45 個循環 (cycle)；Plant68：hold stage 50˚C 預跑 2 分鐘、95˚C 活化酵素 10 分鐘，PCR stage 95˚C 變性 15 秒、60˚C 黏合反應及聚合反應 1 分鐘，進行 40 個循環。

四、 建構 real-time PCR 標準曲線

1. 製備標準品

利用 Invitrogen™ TOPO™ TA Cloning™ Kit, with pCR™2.1-TOPO™，將 CYS2 與 Plant68 的 PCR 產物製成重組質體 DNA，利用熱休克 (heat shock) 處理轉形 (transform) 至大腸桿菌勝任細胞，過程如下：將 6 µl 重組質體加入 100 µl 勝任細胞中，震盪混勻 0.5 秒後 spin down 離心，冰浴 5 分鐘；接著放入 40 ℃ 水浴槽中熱休克處理 40 秒，馬上放入冰浴中 5 分鐘；冰浴完成後，加入 250 µl 不含抗生素的液態 LB 培養基（Lysogeny broth，LB），於 37 ℃下，以 200 rpm 震盪培養一小時。最後將菌液於事先塗有 X-gal (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-galactoside, BCIG)與 IPTG (Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside)的固態 LB 培養基上均勻塗盤，在 37 ℃培養約 16 小時後挑選數個白色菌落，再培養於新的 LB 固態培養基上。

將這些白色菌落交由源資國際生物科技股份有限公司定序，確認菌株內含有重組質體 DNA 且序列正確後，再使用液態 LB 培養基，以 37 ℃、200 rpm 培養約 16 小時，最後使用 Gene-Spin™ MiniPrep Plasmid Purification Kit - V3 純化質體。

純化好的質體利用 nanodrop 測量 DNA 濃度 (ng/µl)，由於已知質體序列與轉入質體的 CYS2、Plant68 PCR 產物序列，可求得重組質體的分子量，進而換算出該純化好的質體標準品中，每 µl 中具有多少個 copy number。

doi:10.6342/NTU202202622

2. Real-time PCR

將標準品進行十倍連續稀釋，直到濃度低於 1000 ng/μl。如同上述的反應條件，每個稀釋好的模板 DNA 皆進行三重複以避免誤差，反應前已將濃度輸入至機器中，軟體將自動把獲得的 C_T 值與濃度繪製成對數濃度 (log concentration) 與 C_T 值的線性回歸曲線，也就是標準曲線 (standard curve)，也能一併得知方程式與決定係數 R^2 值。

五、各品種分枝性狀調查

本調查於常溫溫室中進行，溫度及光照隨台北分場所在地之氣候變化。每個品種皆取 6 株作為 6 重複，發根苗種植約一個月後，每一株均留下 10 節，去除頂芽，兩個月後待有萌發的側芽都完全長成側枝，觀察並記錄分枝的數量，將分枝數量除以 10 節，即為分枝率。此處的分枝僅計算確實形成枝條者，若看起來有萌發，但尚未長葉或長度少於 3 公分者不列入計算（圖五）。統計分析上，使用 SAS Enterprise Guide 8.3 軟體之廣義線性模型，以 Tukey's HSD 檢定不同品種之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)。

六、Real-time PCR 定量分析聖誕紅植物菌質體

1. 數據標準化

為減少樣品品質差異以及人為操作時造成的誤差，real-time PCR 時每個樣本皆會進行三重複，取平均 C_T 值代表此樣本，若三重複的標準差大於 0.5，則會重新測量。同一個樣本會進行測量植物菌質體的 CYS2 與測量植物的 Plant68，對照標準曲線後，將兩個 C_T 值都換算為 copy number，CYS2 的作為分子，Plant68 的作為分母，得到的比值就是單位植物中具有的植物菌質體數量（植物菌質體 copy number / 植物 copy number），後續的品種、溫度試驗，當提及植物菌質體「數量」或「濃度」時，皆會以此比值做為比較基準。

doi:10.6342/NTU202202622

2. 九品種植物菌質體數量初步測量

除玫瑰紅星僅有 20 株外，其餘八個品種皆有 24 株，每四株作為一組採集成一個樣本，同樣利用打洞器平均在四棵植株上採集約 25 個洞，如此每一個品種就會採集到 6 個樣本（玫瑰紅星為 5 個），將同一品種每個樣本測得的比值平均，就能排序九個品種的植物菌質體濃度的多寡。統計分析上，使用 SAS Enterprise Guide 8.3 軟體之廣義線性模型，以 Tukey's HSD 檢定不同品種間最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)。

七、 溫室中植物菌質體數量與時間的關係

本試驗於台北分場的溫室中進行，為貼近產業現況，溫室試驗將如同一般商業栽培模式，在溫室未特別遮陰但保持通風的情況下，讓植株環境隨著台灣半年的溫度、日照長度變化，於 2021 年 7 月下旬扦插繁殖後待約一個月，從 8 月下旬開始以 real-time PCR 持續追蹤植株內植物菌質體濃度，採樣頻率為一個月一次，至 2022 年 2 月上旬，同一批植株共採樣六次。每個品種皆挑選三株作為三重複，並進行兩次獨立試驗，結果將以六重複呈現。統計分析上，使用 SAS Enterprise Guide 8.3 軟體之廣義線性模型，以 Tukey's HSD 檢定不同品種、不同時間點之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)，同時也利用相同方法檢定兩次獨立試驗間沒有顯著差異以確保本試驗具有可重複性。

八、 不同溫度下植物菌質體隨時間的變化

由於生長箱空間有限，即使使用 3 吋盆也無法容納 9 個品種的植株。因此，根據先前植物菌質體初篩的結果，挑選出植物菌質體數量較多的尚紅，以及數量較少的倍利進行控溫試驗。本試驗共使用三台生長箱，溫度分別設定為常溫 25 ℃ 、低溫 15 ℃ 、以及高溫 35 ℃ ，日照長度為 14 小時連續光照、10 小時連續黑暗，模擬長日照條件以維持其營養生長狀態，減少變因。每個溫度下，兩個品種都會放入三棵植株作為三重複，也同樣會進行兩次獨立試驗，結果會合併兩

doi:10.6342/NTU202202622

次獨立試驗呈現。採樣間隔與溫室試驗相同，為每個月調查一次，放入生長箱的同時先採一次做為初始值，後續將連續調查 6 個月，觀察聖誕紅植株內的植物菌質體在不同溫度之下，數量是否會出現差異。最後使用 SAS Enterprise Guide 8.3 軟體之廣義線性模型進行統計分析，以 Tukey's HSD 檢定不同品種、不同時間點、不同溫度之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)，同時也利用相同方法檢定兩次獨立試驗間沒有顯著差異以確保本試驗具有可重複性。

doi:10.6342/NTU202202622

肆、結果

一、Real-time PCR 標準曲線

純化過後的重組質體 DNA 標準品，CYS2 濃度為 100.1 ng/μl，而整個質體的分子量 （雙股） 為 2489815.45 g/mol，經換算後可得質體 DNA copy number 為 2.421e+10 個/μl，由於 PCR 進行時，DNA 兩股都可以作為模板，反應濃度必須乘以 2，因此連續稀釋中，濃度最高的 10^{-1} 倍為 4.842 e+9 個/μl，最低的 10^{-8} 倍為 484.2 個/μl。同理，Plant68 標準品濃度為 224.1 ng/μl，質體分子量為 2471178.1 g/mol，DNA copy number 為 5.461e+10 個/μl，連續稀釋中，濃度最高的 10^{-1} 倍為 1.0922e+10 個/μl，最低的 10^{-9} 倍為 109.22 個/μl。

根據機器運算的結果，植物菌質體 CYS2 之 CT 值與 copy number (Q) 的標準曲線方程式為：

$C_T = -2.8208999633789 \log(Q) + 32.8964004516601$，決定係數 R^2 值為 0.995（圖六）

植物 Plant68 的標準曲線方程式為：

$C_T = -3.35069990158081 \log(Q) + 42.1767997741699$，決定係數 R^2 值為 0.989（圖七）。

本研究所有有關於定量的實驗，都會以這兩個方程式進行標準化。

二、各品種分枝性狀調查

九品種的分枝率如圖八所示，分枝率由高到低依序為檸檬雪 92%、蘿莎公主 87%、聖誕節 86%、尚紅 83%、鼠圓寶 77%、紅絲絨 68%、倍利 60%、四季桃喜 57%、玫瑰紅星 52%。經統計分析後，檸檬雪為分枝性狀最好的品種，其次為蘿莎公主與聖誕節，尚紅、鼠圓寶、紅絲絨和倍利排名第三，四季桃喜為第四，玫瑰紅星的分枝率最低。

doi:10.6342/NTU202202622

三、 各品種植物菌質體數量初步測量

九品種植物菌質體數量初步測量的數據如表二，數量較多者為玫瑰紅星與尚紅，聖誕節、四季桃喜、倍利則較少，最多與最少的數量相差約 40 倍，但是統計分析上，所有品種間都沒有顯著差異。

將植物菌質體數量與分枝率的關係製作成散佈圖，橫軸為植物菌質體數量，縱軸為分枝率，成果如圖九，當九個品種一起比較時，植物菌質體數量與分枝率的趨勢線呈現低度負相關，相關係數 R 值為 -0.1706 （R^2 值 0.0291），尚無法看出植物菌質體數量和分枝率之間的關聯性。不過在圖九中明顯可見玫瑰紅星與尚紅兩個品種分布的位置與其他品種有很大的差異，因此決定在去除這兩個品種後，以七個品種再製作一次散佈圖，成果如圖十。相較於圖九，這七個品種構成的趨勢線以 R^2 值 0.4452，也就是相關係數 R 值為 0.6672，顯示植物菌質體數量與分枝率的關係呈現中高度的正相關，因此在這七個品種中，植物菌質體的多寡確實會影響分枝數量。

四、 溫室栽培環境下植物菌質體濃度變化

經過六個月的測量，得到的所有結果如圖十一，整體看來，第一個月（9 月）的植物菌質體數量較低，第四個月（12 月）的植物菌質體則最多，兩者在統計上均有顯著的差異，若將植物菌質體數量多寡對照試驗地點之月均溫，可發現植物菌質體數量與氣溫高低並無明顯相關性。為了方便更進一步的比較，將每個品種獨立作圖（圖十二），蘿莎公主（圖十二 A）、倍利（圖十二 G）的植物菌質體數量於前期較為穩定，直到 2 月才有較明顯的下降；鼠圓寶（圖十二 C）一開始植物菌質體濃度不高，隨後逐漸增加，直到 1 月上升至具有顯著差異的水準，2 月份才又微幅下滑，紅絲絨（圖十二 H）與此十分相似，唯上升至具有顯著差異水準的時間出現在 12 月，後續兩個月也有稍微下降；聖誕節（圖十二 D）、檸檬雪（圖十二 F）、四季桃喜（圖十二 I）則是一開始數量較低，隨後稍微增加，直至

doi:10.6342/NTU202202622

觀測結束都維持在差不多的水準，而尚紅（圖十二 B）、玫瑰紅星（圖十二 E）也類似，唯一的差別在於 2 月時植物菌質體數量出現了較為明顯的下降。

若改以不同時間點獨立作圖（圖十三），在 9 月時僅有蘿莎公主與倍利植物菌質體數量稍微較多；到了 10 月，僅尚紅、聖誕節、玫瑰紅星仍然處於相對少量；11 月時，所有品種的植物菌質體數量相當；12 月倍利的數量再次提升，稍高於其他品種，1 月則換成鼠圓寶最多；不過到了 2 月，並沒有哪一個品種植物菌質體特別多，並且蘿莎公主、尚紅、玫瑰紅星、倍利的植物菌質體數量都出現了較明顯的下降。

五、 生長箱控溫下植物菌質體濃度變化

生長箱控溫試驗得到的所有結果如圖十四。經過統計分析，以整體來看，只有 15 ℃下的倍利於第三個月具有顯著的提升，其餘皆無顯著差異。雖然在統計上沒有顯著差異，不過還是能看出 35 ℃處理組，不論是尚紅還是倍利，從第 0 個月的初始值，一直到第 3 個月，都一直呈現下降的趨勢，而 15 ℃、25 ℃處理組的植物菌質體數量就與溫室栽培者較為相似，整體來說沒有太大的起伏。

若將品種與溫度獨立作圖（圖十五），在 15 ℃下，尚紅與倍利的植物菌質體數量消長非常相似，曲線大致平穩，雖然只有倍利具有統計上的顯著差異，但都在第三個月有數量上升的趨勢，隨後又降回原來的水準；在 25 ℃下，兩者的消長都十分穩定，自始至終都維持差不多的數量；在 35 ℃下，兩品種在前三個月植物菌質體數量皆出現逐步下滑，但因個體間差異較大，在統計分析上並不具顯著差異。

此外，35 ℃處理組的植株從第三個月起數量就有明顯的減少，尚紅的六株植株中，於第三個月僅剩餘 2 棵存活，但生長狀況不佳，故移出生長箱放置於溫室中恢復；倍利於第三個月僅剩餘 3 棵存活，同樣因生長狀況不佳，移出生長箱放置於溫室中恢復，但第四個月採樣時仍然有 2 棵植株沒有恢復而乾枯，僅存 1 棵植株直到試驗結束。移出的植株至試驗結束前生長勢皆仍未完全復原，評估後

doi:10.6342/NTU202202622

不適合再放入生長箱中，至此 35 ℃高溫環境試驗僅持續 3 個月結束，第 4 個月起測得的數據是植株移至溫室待其恢復時所測得，因此不論是尚紅或是倍利在第四、第五個月份的數量看起來都有回升的趨勢，並非是在 35 ℃高溫環境下植物菌質體數量仍出現上升，而是狀況不佳的植株在冬季的溫室中（2021 年 12 月～2022 年 2 月）逐漸恢復所測得的結果。

doi:10.6342/NTU202202622

伍、討論

在分枝性狀的調查結果上，大多數品種與改良場及農民的經驗相符，紅絲絨、倍利、四季桃喜為分枝數量相對較少的品種，平均分枝率不到七成；檸檬雪、蘿莎公主、聖誕節、尚紅、鼠圓寶雖然無法看出好和極好之間的分別，但分枝數量都很多，分枝率約落在 8～9 成；然而，只有玫瑰紅星這一個品種較為特殊，在改良場研究員與農民的印象中分枝性狀不錯，株型也很緊湊，但平均分枝率僅有 52％，甚至低於紅絲絨、倍利與四季桃喜，敬陪末座。造成本次實驗結果與農民印象及植株外型有出入的原因在於，本研究中分枝性狀的調查著重於植物菌質體所造成之聖誕紅簇葉病的最主要病徵，也就是側枝數量的增加，然而實際上影響植株外型的因素不只有分枝的數量，側枝的強壯程度、長度能否抵達樹冠、葉片數量、苞片大小等等都會直接改變植株外貌，因此若未來要進行聖誕紅性狀調查的研究，或許可納入更多的因素，以桃園區農業改良場民國 101 年《高品質聖誕紅盆花評鑑活動及評鑑規則》中與外觀有關的評分項目進行探討，可作為未來聖誕紅性狀調查的參考：

(1) 株型比例：

除了株高與株寬外，花數、開度與緊密度以及株型是否圓整飽滿都是評分重點，本次調查的方法只有計算分枝的數量，並不代表每個分枝頂端都有開花，同時也沒有測量側枝與主幹間的夾角，以至於分枝數量很多的品種，可能因為每個側枝都離主幹十分接近，導致整體樹冠面積很小，株型成束狀而非圓整飽滿。以本次研究的植株來說，鼠圓寶與尚紅（附錄二**錯誤! 找不到參照來源。**）的側枝數量接近，每個枝條上幾乎都有開花，且苞片數量及大小相似，但鼠圓寶的株型明顯更加的圓整飽滿，由下而上都是屬於樹冠層的面積，其中的差異就是枝條的開度，鼠圓寶的側枝較為水平生長，使株型往橫向延伸，從側面看到的幾乎都是葉片與苞片，反之尚紅的側枝則幾乎都貼緊主幹向上生長，花與苞片都緊密的集中在頂端，植株下半部幾乎都是裸露的枝條。在花數方面，檸檬雪（附錄三）雖

doi:10.6342/NTU202202622

然側枝較為細小、花和苞片尺寸也不大，但憑藉數量多且每個側枝幾乎都有開花的優勢，能讓整個樹冠層都被花和苞片覆蓋；玫瑰紅星與四季桃喜（附錄四）雖然分枝不多，但每個側枝頂端幾乎都有開花，且花器較大，株型看起來還算是緊湊飽滿，花器與苞片在整體樹冠的占比仍然算高；作為比較，倍利與紅絲絨（附錄五）分枝數量同樣不多，每個側枝都較為細小，頂端也不一定有開花，整體株型比較稀疏，側枝的存在與否對於株型幫助不大。

(2) 苞片性狀：

包含苞片數及大小、苞片色澤、苞片數與葉片數比例，由於聖誕紅的花器位於枝條頂端，側枝越多就容易產生更多的苞片。能夠產生較多、較大苞片的側枝，才能夠對樹冠層的花器面積占比有幫助，因此在調查有效分枝數量時，或許應該將能否生成足夠多、足夠大的苞片做為考量，僅將能對樹冠、株型產生貢獻的枝條納入計算。以本次調查的植株來說，倍利與紅絲絨（附錄五）就產生了許多苞片小且數量少、甚至沒有開花的枝條，因此實際的有效分枝數量或許會比本研究調查的結果更低一些。

(3) 枝條性狀：

除了葉片色澤與本研究的分枝性狀調查較無關，枝條粗細與強度、節間長度或許是後續研究中最應該優先考慮的調查項目，枝條的粗細與強度常常會與能否開花、整體株型結構息息相關，越強壯的枝條上往往也會有越大的花器、越多的苞片，且有助於植株往橫向發展，外觀上更加矮小緊湊；節間長度越小，能使葉片及苞片看起來更加緊密，讓小巧的植株上具有更多的的葉片與苞片，使株型飽滿無空隙。在本次調查的品種上，鼠元寶、蘿莎公主、玫瑰紅星的側枝目測都較粗且強壯，且節間較短；尚紅、聖誕節、四季桃喜側枝也很粗壯，但節間稍長，株型相對前三者而言較瘦高，惟聖誕節的側枝似乎較容易從基部斷裂，在本研究進行中，每當移動植物盆栽時，常造成聖誕節的側枝掉落；檸檬雪、倍利、紅絲絨的側枝看起來比較細弱短小，不過因為檸檬雪的側枝數量很多，且每個側枝幾乎都有開花，株型仍呈現非常緊湊的樣貌，樹冠也由許多的小花填滿，但倍利與

doi:10.6342/NTU202202622

紅絲絨的側枝則不僅細弱且數量少，株型顯得較為稀疏。

在瞭解聖誕紅的評鑑方法後，本研究僅調查各品種的分枝數量確實不夠周全，由於改良場與農民對於品種分枝性狀好壞的印象，也不只有側枝產生的數量，株型、苞片大小與數量、側枝粗細與強度、節間長度等，都會納入考量，因此才會使本研究分枝性狀調查的結果與農民印象有些許出入。若將本次調查結果中，分枝性狀最佳的檸檬雪，與最差的玫瑰紅星相比，如附錄六，此照片於聖誕紅產季較末期時以側視角度拍攝，在葉片已稍微掉落的情況下，更能明顯看出兩者枝條間的差異，在檸檬雪上，枝條眾多，卻都細小羸弱，且苞片大小偏小，面積僅約玫瑰紅星的四分之一，但在分枝數量多且側枝幾乎均有開花的情況下，苞片在植株上的占比依然很高；玫瑰紅星則是另一個極端，在本次調查的結果中，平均分枝率僅有 52%，但所有的側枝均十分粗壯，與主幹的強壯程度接近，屬於量少質精的類型，彷彿四、五棵未摘心的植株湊成一叢，株型依舊圓整飽滿，加上苞片的大小較為巨大，即使整棵植株的花數不多，苞片在植株上的占比也很高，才會在農民及改良場的經驗中，留下分枝性狀良好的印象。

各品種植物菌質體數量初步測量的結果，最高與最低者的濃度已相差四十倍，可惜在統計上依然不具有顯著差異，但還是能作為各個品種在定植初期植物菌質體數量的參考，且排序上大致與農民和改良場對於分枝性狀好壞的認知相符，特別是倍利、紅絲絨、四季桃喜這三個農民普遍認為分枝較差、較容易徒長的品種，植物菌質體濃度都較低。

將植物菌質體初步測量的結果對應到分枝性狀調查，發現除了玫瑰紅星與尚紅，其餘品種植物菌質體數量與與分枝率均呈現中高度的正相關，由於分枝數量增加為植物菌質體感染造成的病徵，再次驗證當植物菌質體越多，病徵也會越嚴重（Kesumawati *et al*., 2006）。然而玫瑰紅星與尚紅或許並非植物菌質體濃度與分枝率相關性的例外，由表二可知，這兩個品種的植物菌質體數量比值剛好是標準差最大的，比其他品種都多了 1~2 個數量級，才導致平均值難以代表該品種的植物菌質體濃度，若將標準差納入考量，這兩個品種的植物菌質體濃度事實上也

doi:10.6342/NTU202202622

有可能在圖九中更靠近其他品種的點。此外，就表二的標準差大小可知，不論是哪個品種，標準差都很大，幾乎都是平均值減掉一個標準差就會趨近於零甚至小於零的情況，可見即使我已經將四株植株分為一組，每個品種都使用共 24 株植物，甚至盡可能採取相同部位葉片的情況下，仍然難以去除個體之間龐大的差異，確實如同前人研究所示，聖誕紅植株內的植物菌質體分布不均，且即便是由同一母株取下的插穗扦插成子株，個體差異仍大（Lee *et al*., 2021）。

於溫室隨著室溫栽培的植株，以總體而言，在第一個月，也就是 9 月初時，植物菌質體數量都偏低，接著持續升高，直到第四個月（12 月）達到具有顯著差異的高峰，隨後的 1、2 月再微幅降低。本次研究的植株，於溫室的環境下約在 10 月底，11 月初開始出現苞片轉色，進入生殖生長階段，12 月為花朵最為盛開的時期，至 1 月起花朵及苞片逐漸掉落，而 2 月時植株狀況已變的不佳，生長勢較為衰弱。將植物菌質體數量與植株狀況對應，可發現定植初期植株仍在發育，尚未健化完全，植物菌質體數量較少，隨後當植株日漸成長茁壯，植物菌質體也跟著增多，而植物菌質體的增多最明顯的時期發生在聖誕紅進入開花期的階段，雖然此時植株已不再抽梢與生成新的葉片，但仍會持續累積養分以供開花所需，才造就植物菌質體的數量於開花期比平常更多；另一個可能的原因是植物菌質體的分布會隨著不同時期改變，在開花期花器為主要消耗養分的器官，養分由下而上帶至枝條末端，同時植物菌質體也會跟著養分在韌皮部中向上流動，導致在植株內的分布高峰位置稍微上移（Lee *et al*., 2021），由於本實驗採樣時都是採取中下位展開葉，因此當植物菌質體分布上移，在相同位置採樣時，植物菌質體的數量就會有上升的現象。

雖然聖誕紅為多年生木本植物，但當聖誕紅花期結束，葉片與苞片仍然會開始掉落，樹勢變得較為衰弱，也因此植物菌質體在 2 月時，有多個品種的濃度都出現較為明顯的下降。不過在本次實驗中調查的九個品種，於種植的半年間，並沒有觀察到任何一個品種植物菌質體數量明顯低於其他，可見這九個品種於台灣的氣候環境下，不論夏天或冬天，對於植物菌質體的影響都不算大，反而和植株

doi:10.6342/NTU202202622

生長狀況較為有關，否則 1、2 月氣溫仍低，植物菌質體若對高溫較敏感，此時應該也會維持較高的濃度。

在生長箱控溫的實驗中，15 ℃ 及 25 ℃ 處理組，六個月的實驗中，植物菌質體數量都沒有顯著的下降，甚至 15 ℃中的倍利在第三個月出現顯著的上升。在 15 ℃處理組中第三個月出現上升的原因猜測與溫室中相同，因為花器生成導致植物菌質體數量增加，雖然生長箱的日照控制為長日照的光照 14 小時、黑暗 10 小時，應不足以誘導聖誕紅植株開花，但或許是長時間日間的低溫使聖誕紅仍然出現轉色的現象（Kristoffersen, 1968），其中又以倍利較為明顯（附錄七），顯示低溫下或許更適合聖誕紅生長與開花。

在高溫下，雖然經由統計分析後並不具顯著差異，但 35 ℃ 實驗組的結果中，兩個品種都可以明顯的在第一個月開始能看出有下降的趨勢，直到第三個月植物菌質體數量達到最低。而曲線趨勢很明顯，統計上卻沒有顯著差異的最大原因，在於植株的數量的不足，從第二個月起，植株狀況就變得較差，開始出現葉緣焦枯、缺水的症狀，本以為只是單純的肥傷、疫病，已透過降低肥料濃度與施用達滅芬防治，但直到第三個月，兩個品種的植株數量都已經少了一半，可見高溫環境對於聖誕紅而言是很強的逆境，同時也會使得病害容易發生，十分不利於聖誕紅的生長。因此在第三個月過後，35 ℃實驗組仍倖存的植株均全數移出生長箱，放到溫室中繼續培養，並持續測量植物菌質體數量，除了植株生長狀況較為好轉，也可發現兩品種的植物菌質體濃度都出現了回升，表示在受過高溫逆境使植物菌質體減少後，若後續再回到合適的栽培環境，仍能夠使植物菌質體數量回升。然而，由於測得植物菌質體減少的同時，植株生長狀況也同時越來越差，事實上並沒有辦法透過本研究結果確認導致植物菌質體降低的原因，有可能是因為高溫不利於植物菌質體的增殖，也可能是寄主植物本身狀況不佳，奄奄一息，導致植物菌質體難以獲得足夠的養分而無法存活。不過無論是哪一種，都能顯示高溫不利於聖誕紅的栽培，即使無法證明 35 ℃的高溫會直接造成聖誕紅植株內植物菌質體的減少，也絕對會因為植物受到高溫逆境而生長不良，導致植物菌質

doi:10.6342/NTU202202622

體間接受到影響。

在品種差異方面，不論是初步測量時植物菌質體數量很多的尚紅，還是較少的倍利，高溫對其都是較強烈的逆境，三個月內就會使植株生長狀況不佳、植物菌質體數量大幅下降，但在本研究中並未發現有植物菌質體完全消失的情況，若受到高溫逆境的植株不至於乾枯，再栽培於適合的環境中，植物菌質體的數量也會隨著植株生長勢的恢復跟著慢慢回升，因此將聖誕紅連續栽培於 35 ℃的高溫下三個月，仍不足以消除植株內的植物菌質體，後續若要進行更深入的研究，或許可以嘗試使用低於 35 ℃的溫度以降低對植物的逆境，並搭配更久的時間，觀察在不影響聖誕紅植株的情況下，長時間的高溫會不會使植物菌質體流失。

綜合溫室常溫試驗與生長箱控溫試驗，除了發現高溫會嚴重導致植物逆境，直接或間接使植物菌質體數量減少，九個品種中，每個品種在常溫溫室中植物菌質體濃度的消長方式也略有不同，因此本研究成果可以做為推薦農民選擇品種的依據，根據生產的月份、產品的大小及出貨的時間挑選適當的品種，例如若要提早至六月種植以延長種植期間，生產較大型的盆花，由於六月氣溫十分炎熱，就可以挑選定植初期植物菌質體濃度較高的蘿莎公主和倍利；而若是要延後出貨時間到農曆過年時期，則可以選擇一直到栽培後期植物菌質體數量仍高的品種，例如鼠圓寶、聖誕節、檸檬雪、紅絲絨和四季桃喜。

doi:10.6342/NTU202202622

陸、參考文獻

行政院農業委員會桃園區農業改良場 (2012)。 高品質聖誕紅盆花評鑑活動及評鑑規則。

洪挺軒、林長平 (2011)。 台灣農作物重要植物菌質體病害研究現況。 農作物及其媒介病害整合防治技術研討會專刊， 63-71。

陳韻帆 (2017)。 聖誕紅簇葉病病原之鑑定與應用. 國立臺灣大學植物病理與微生物學研究所碩士論文。

傅仰人、楊雅淨、陳錦木、羅士凱 (2010)。 聖誕紅栽培技術。桃園區農業技術專輯第 3 號，13-17。

傅仰人、楊雅淨、鄭隨和 (2009)。 聖誕紅之健康管理. 2009 花卉健康管理研討會專刊，151-159。

黃耀徵 (2009)。 日日春葉片黃化病之病原植物菌質體與其媒介昆蟲之探討. 國立臺灣大學植物病理與微生物學研究所碩士論文.

劉名旂、楊雅淨、黃國棟 (2021)。 109 年聖誕紅產地觀摩紀實. 種苗科技專訊，113，21-23。 種苗改良繁殖場。

Agrios, G. N. (2005). Plant diseases caused by mollicutes: phytoplasmas and spiroplasmas. In *Plant pathology* (5th ed ed., pp. 687-703). Elsevier.

Cao, Y., Trivellone, V., & Dietrich, C. H. (2020). A timetree for phytoplasmas (Mollicutes) with new insights on patterns of evolution and diversification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *149*, 106826.

Chalak, L., Elbitar, A., Mourad, N., Mortada, C., & Choueiri, E. (2013). Elimination of grapevine Bois Noir Phytoplasma by tissue culture coupled or not with heat therapy or hot water treatment. *Advances in Crop Science and Technology*, *1*(2), 107.

Christensen, N. M., Nicolaisen, M., Hansen, M., & Schulz, A. (2004). Distribution of

doi:10.6342/NTU202202622

phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *17*(11), 1175-1184.

Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., & Asuyama, H. (1967). Mycoplasma-or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Japanese Journal of Phytopathology*, *33*(4), 259-266.

Dole, J., & Wilkins, H. (2005). Floriculture: Principles and species 2nd Ed Prentice Hall Upper Saddle River. In: NJ.

Ecke, P. I., Faust, J. E., Higgins, A., & Williams, J. (2004). *The ecke poinsettia manual*. Ball publishing. Batavia, Illinois. USA.

Gundersen, D., & Lee, I.-M. (1996). Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. Phytopathologia mediterranea, 144-151.

IRPCM. (2004). 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *54*(4), 1243-1255.

Jarausch, W., Eyquard, J., Lansac, M., Mohns, M., & Dosba, F. (2000). Susceptibility and tolerance of new French *Prunus domestica* cultivars to European stone fruit yellows phytoplasmas. *Journal of Phytopathology*, *148*(7-8), 489-493.

Kaewmanee, C., & Hanboonsong, Y. (2011). Evaluation of the efficiency of various treatments used for sugarcane white leaf phytoplasma control. *Bulletin of Insectology*, *64*(Supplement1), S197-S198.

Kesumawati, E., Kimata, T., Uemachi, T., Hosokawa, M., & Yazawa, S. (2006). Correlation of phytoplasma concentration in *Hydrangea macrophylla* with green-flowering stability. *Scientia horticulturae*, *108*(1), 74-78.

Klemsdal, S., Bone, K., Brurberg, M., Floistad, E., Moe, R., & Blystad, D. (2004). The

doi:10.6342/NTU202202622

amount and distribution of poinsettia branch-inducing phytoplasma in poinsettia. XI International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants 722,

Kristoffersen, T. (1968). Influence of daylength and temperature on growth and development in poinsettia (Euphorbia pulcherrima Willd.). Symposium on Flower Regulation in Florist Crops 14, 79-90.

Kunkel, L. (1926). Studies on aster yellows. *American Journal of Botany*, 646-705.

Lee, I.-M., Klopmeyer, M., Bartoszyk, I. M., Gundersen-Rindal, D. E., Chou, T.-S., Thomson, K. L., & Eisenreich, R. (1997). Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nature Biotechnology*, *15*(2), 178-182.

Lee, I.-M., Gundersen-Rindal, D. E., Davis, R. E., & BARTOSZYK, I. M. (1998). Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *48*(4), 1153-1169.

Lee, I.-M. (2000). Phytoplasma Casts a magic spell that turns the fair poinsettia into a christmas showpiece. *Plant Health Progress*, 1.

Lee, S., Chu, C. Y., & Chu, C. C. (2021). Variability of phytoplasma infection density in poinsettia and evaluation of its association with the level of branching in host plants. *Plant disease*, *105*(05), 1539-1545.

Marzachí, C., & Bosco, D. (2005). Relative quantification of chrysanthemum yellows (16Sr I) phytoplasma in its plant and insect host using real-time polymerase chain reaction. *Molecular Biotechnology*, *30*(2), 117-127.

Namba, S. (2019). Molecular and biological properties of phytoplasmas. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, *95*(7), 401-418.

Rao, G. P., Alvarez, E., & Yadav, A. (2018). *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria*. Springer.

Seemüller, E., Marcone, C., Lauer, U., Ragozzino, A., & Göschl, M. (1998). Current

doi:10.6342/NTU202202622

status of molecular classification of the phytoplasmas. *Journal of Plant Pathology*, 3-26.

Sinclair, W., Townsend, A., Griffiths, H., & Whitlow, T. (2000). Responses of six Eurasian Ulmus cultivars to a North American elm yellows phytoplasma. *Plant disease*, *84*(12), 1266-1270.

Stimart, D. P. (1983). Promotion and inhibition of branching in poinsettia in grafts between self-branching and nonbranching cultivars [Euphorbia pulcherrima]. *Journal-American Society for Horticultural Science (USA)*.

Stromme, E. (1994). *The Scientific basis of poinsettia production*. Agricultural University of Norway.

Taylor, J. M., Lopez, R. G., Currey, C. J., & Janick, J. (2011). The poinsettia: History and transformation. *Chronica Horticulturae*, *51*(3), 23-28.

Wei, W., Lee, M., Davis, R. E., Suo, X., & Zhao, Y. (2008). Automated RFLP pattern comparison and similarity coefficient calculation for rapid delineation of new and distinct phytoplasma 16Sr subgroup lineages. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *58*(10), 2368-2377.

Zhao, Y., & Davis, R. E. (2016). Criteria for phytoplasma 16Sr group/subgroup delineation and the need of a platform for proper registration of new groups and subgroups. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *66*(5), 2121-2123.

doi:10.6342/NTU202202622

柒、表

表一、引子對序列

Table 1. The Sequences of the Primer Pairs

Target organism, gene	Assay type	Primer or probe sequences (5' to 3')	reference
Phytoplasma, 16S rDNA	TaqMan real-time PCR	CYS2Fw: 5'-AGGTTGAACGGCCACATTG-3' CYS2Rv: 5'-TTGCTCGGTCAGAGTTTCCTC-3' CYS2Probe: 5'-ACACGGCCCAAACTCCTACGGGA-3'	Marzachí and Bosco （2005）
Plant, 18S rDNA	TaqMan real-time PCR	Plant68Fw: 5' GACTACGTCCCTGCCCTTTG-3' Plant68Rv: 5'-AACACTTCACCGGACCATTCA-3' Plant68probe: 5'- ACACACCGCCCGTCGCTCC-3'	Christensen *et al.* （2004）

doi:10.6342/NTU202202622

表二、植物菌質體數量初步測量結果

Table 2. Preliminary test of the phytoplasma amount in planta

品種 （平均值多到少排序）	植物菌質體與 植物的比值	平均值	標準差
玫瑰紅星 Rose Star	2.03E-05	4.70E-06	7.80E-06
	1.29E-06		
	9.85E-07		
	1.98E-07		
	7.54E-07		
尚紅 Prima Red	1.48E-06	4.19E-06	3.24E-06
	2.64E-06		
	9.14E-06		
	1.67E-06		
	8.33E-06		
	1.89E-06		
鼠圓寶 Christmas Mouse	2.37E-06	9.13E-07	6.93E-07
	7.19E-07		
	9.22E-07		
	8.25E-07		
	2.07E-07		
	4.38E-07		
檸檬雪 Lemon Snow	6.46E-07	8.54E-07	1.79E-07
	1.06E-06		
	7.66E-07		
	7.71E-07		
	1.14E-06		
	7.45E-07		
蘿莎公主 Princettia ROSA	4.10E-07	7.23E-07	3.87E-07
	1.71E-07		
	9.79E-07		
	1.34E-06		
	8.84E-07		
	5.55E-07		
紅絲絨 Red Velveteen	3.46E-08	3.56E-07	5.75E-07
	1.73E-08		
	1.60E-06		
	4.08E-07		
	4.66E-08		
	2.28E-08		
聖誕節 Noel	1.83E-07	1.93E-07	9.89E-08
	5.23E-08		
	1.48E-07		
	3.77E-07		
	1.61E-07		
	2.37E-07		
	1.77E-07	1.35E-07	6.96E-08

doi:10.6342/NTU202202622

四季桃喜 Luv U Pink	1.26E-07		
	1.11E-07		
	1.23E-07		
	2.53E-07		
	2.26E-08		
倍利 Pepride	1.11E-08	1.01E-07	1.70E-07
	4.78E-07		
	1.04E-08		
	9.45E-09		
	3.23E-08		
	6.49E-08		

doi:10.6342/NTU202202622

捌、圖

圖一、苗床中零星出現突然抽高的植株

Figure 1. Plants with excessive growth occur randomly on the nursery

聖誕紅種植的過程中，偶爾會出現如中間及右邊這兩棵，節間較長、植株較高的徒長現象，嚴重影響商品價值。本圖的品種為四季桃喜，植株抽高的情形零星分布在苗床上，目測發生率約 5 ~ 10 %。

During poinsettia growth, some plants will occasionally grow excessively, which occur in longer internodes and higher plant height like the middle and right ones in this figure. Excessive growth poses extremely negative effect on plant value. Cultivar in this figure is Luv U Pink. Plants with excessive growth occur randomly on the nursery. Rate of occurrence is about 5 to 10% estimated by observation.

doi:10.6342/NTU202202622

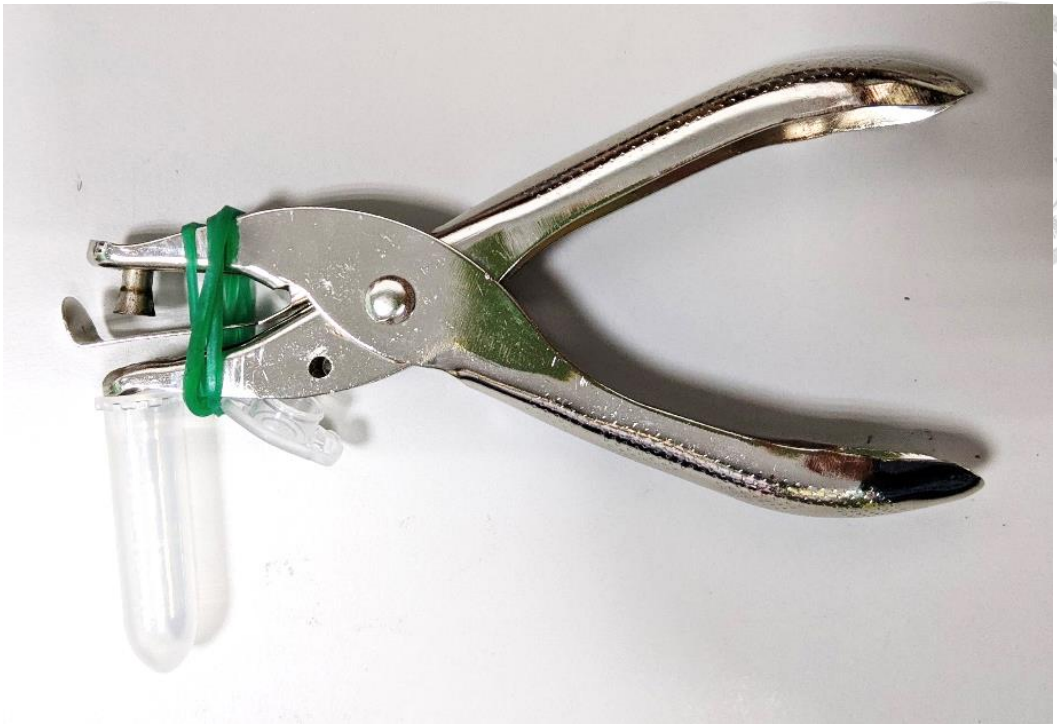
圖二、徒長的植株(右)與正常植株(左)的高度比較

Figure 2. Comparison in height between excessive growth plant (right) and normal plant (left)

徒長的植株節間較長、株高較高，導致整體株型鬆散而不緊湊。

Plants with excessive growth have longer internodes and bigger plant height, causing loose but not compact architecture of the plants.

doi:10.6342/NTU202202622



圖三、打洞器與均質管製成自製採樣器

Figure 3. Homemade sample collector made out of single hole pinch and Eppendorf® Safe-Lock Tubes

將均質管以橡皮筋綁在打洞器上，製成適合採樣的器具。

An appropriate sampling tool was made by fixing a safe-lock tube on the single hole pinch with rubber band.

doi:10.6342/NTU202202622

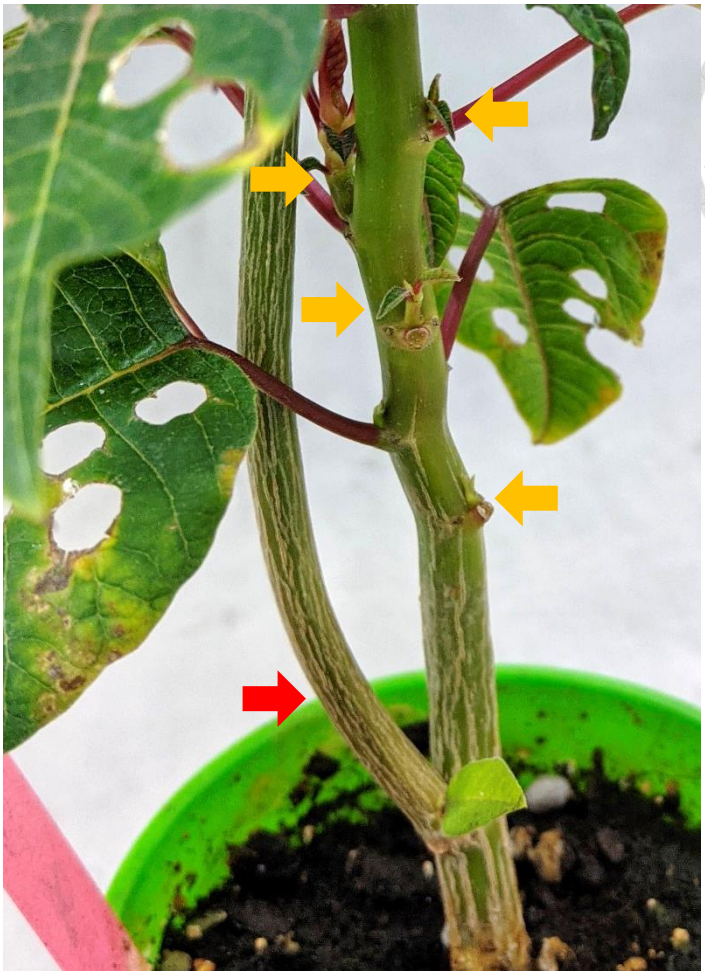
圖四、均質管中的樣本範例

Figure 4. Examples of samples collected in the safe-lock tubes.

採樣時，利用打洞機在植株的中下位葉約打 25 個洞作為一個樣本，重量約為 0.1 克。

Twenty-five leaf discs were taken from the middle and lowest leaves using the homemade sample collector. Each tube contains approximately 0.1grams of leaf discs.

doi:10.6342/NTU202202622



圖五、側枝與小芽

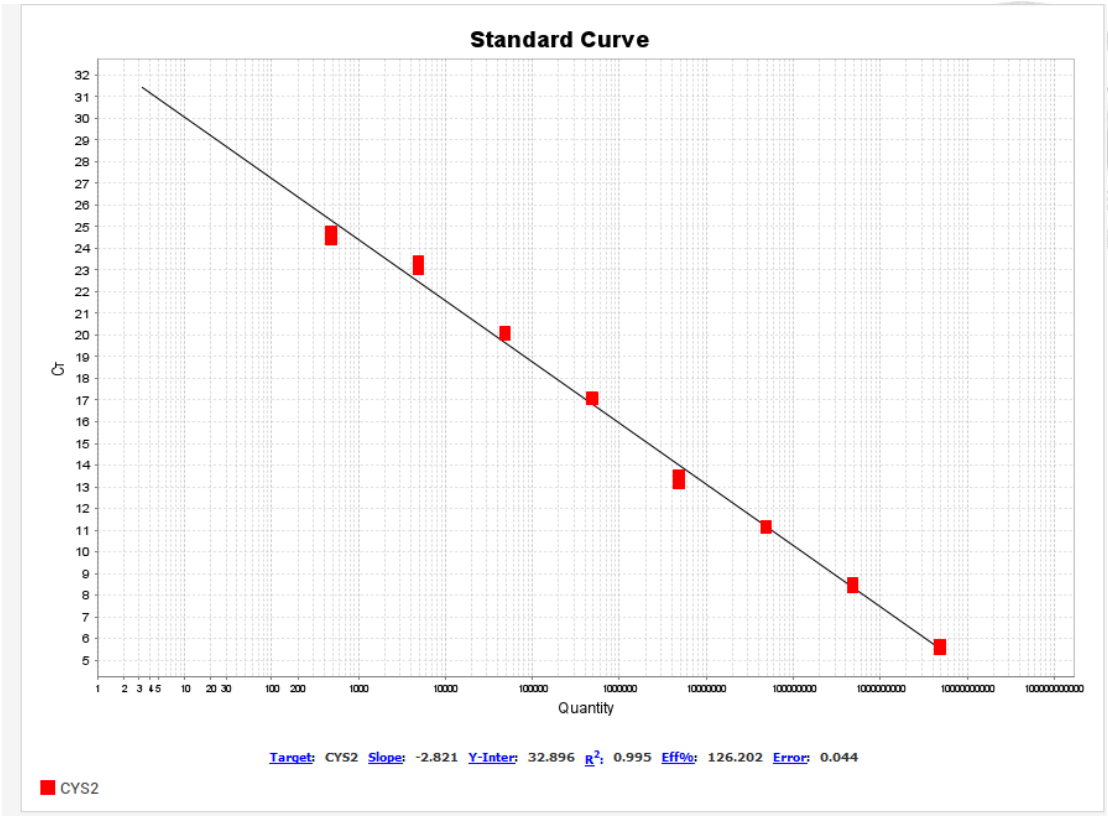
Figure 5. Lateral branches and buds

計算分枝數量時，僅有如下方紅色箭頭處明顯木質化者才列入計算，而上面黃色箭頭處的側芽雖有萌發，但因為太小，不影響整體株型，本研究分枝性狀調查時不將其列為有效分枝。

When counting the number of lateral branch, only lignified branches would be counted as effective branches. Although those buds pointed by yellow arrows in the upper sites of the figure sprout, they are still too small to affect the architecture of the whole plant. Thus, little buds are not counted as effective branches in this study as branching characteristics.

Red arrow: lignified branches. Yellow arrows: young branches or buds.

doi:10.6342/NTU202202622



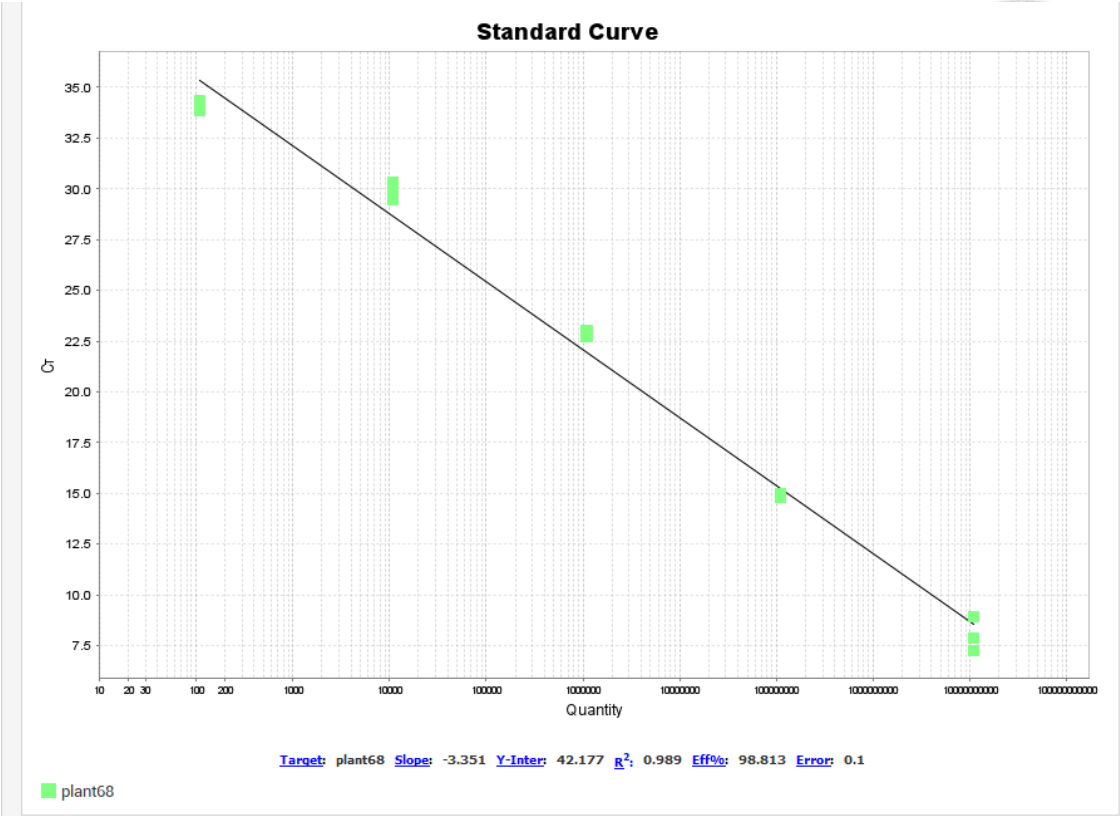
圖六、植物菌質體 CYS2 標準曲線

Figure 6. Standard curve of CYS2

根據機器運算的結果，植物菌質體 CYS2 之 C_T 值與 copy number (Q)的標準曲線方程式為：C_T=-2.8208999633789 log(Q) +32.8964004516601，決定係數(R^2)值為 0.995。

According to the result of computing, the standard curve equation for C_T value versus phytoplasma CYS2 copy number (Q) is C_T=-2.8208999633789 log(Q) +32.8964004516601. The coefficient of determination (R^2) is 0.995.

doi:10.6342/NTU202202622



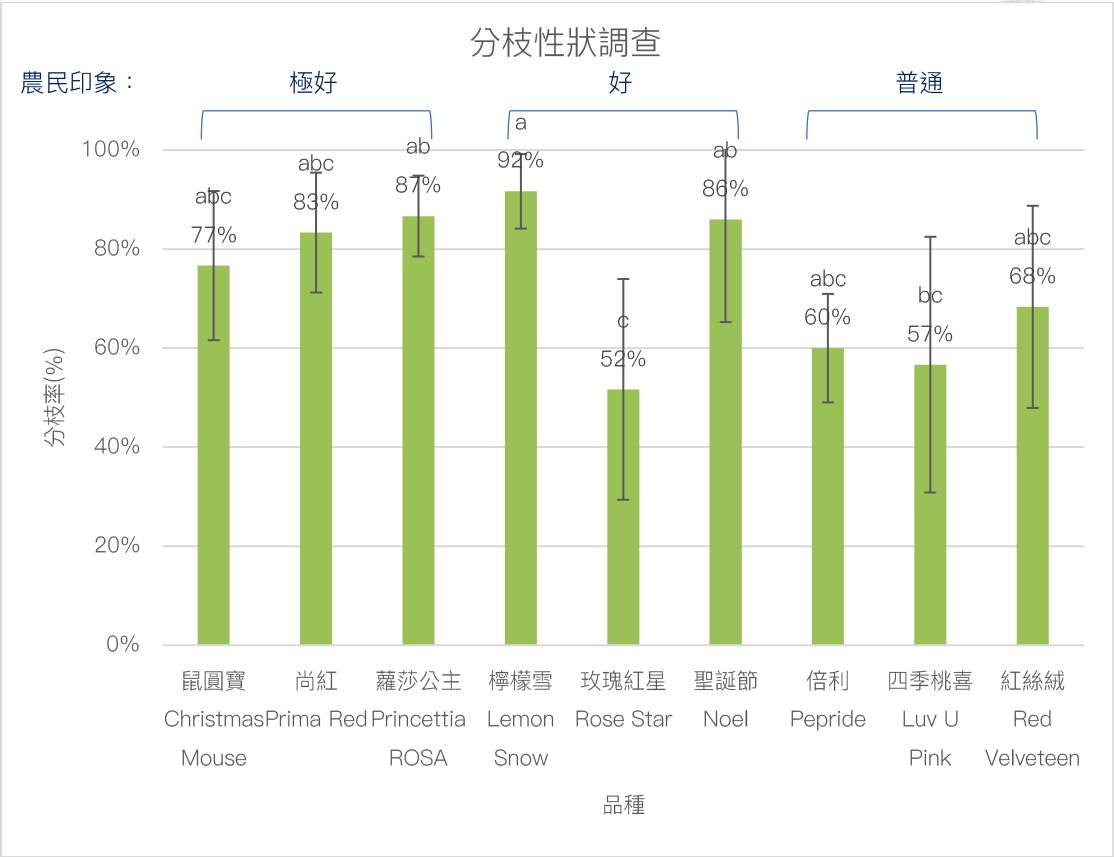
圖七、植物 Plant68 標準曲線

Figure 7. Standard curve of Plant68

根據機器運算的結果，植物 Plant68 之 C_T 值與 copy number (Q)的標準曲線方程式為：C_T=-3.350699901580811log(Q)+42.1767997741699，決定係數 R^2 值為 0.989。

According to the result of computing, the equation of the standard curve for C_T value versus the copy number of plant Plant68 (Q) is C_T=-3.350699901580811log(Q)+42.1767997741699. The coefficient of determination (R^2) is 0.989.

doi:10.6342/NTU202202622



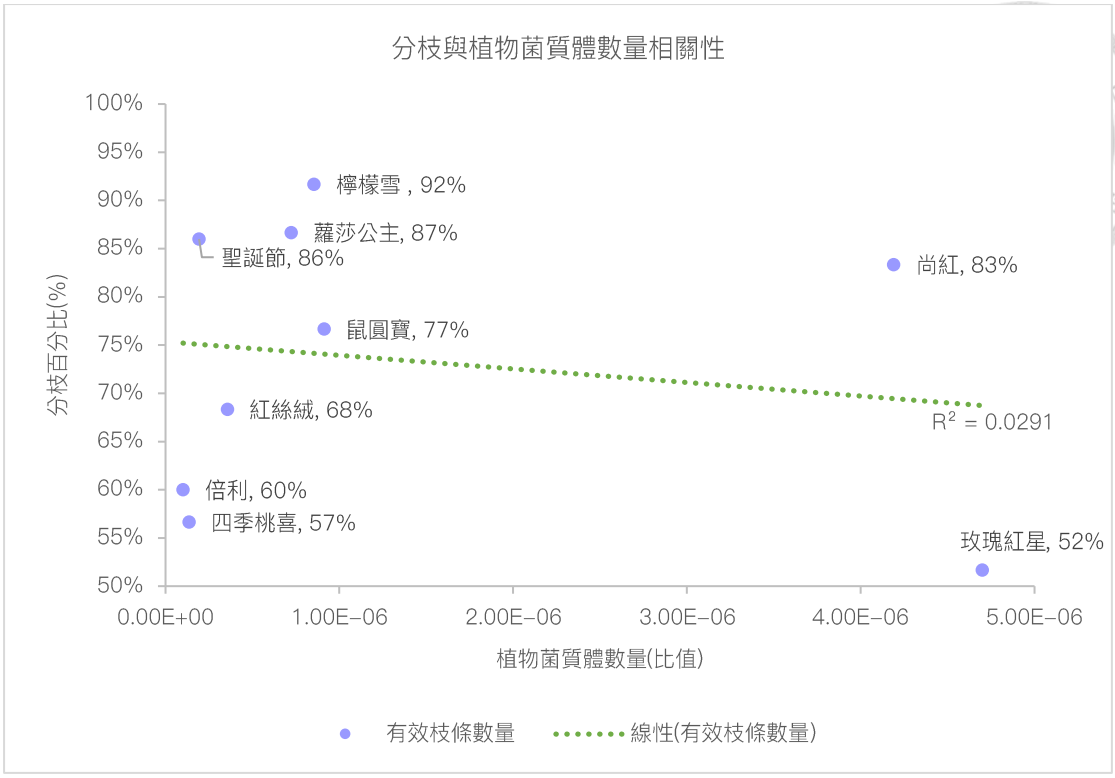
圖八、各品種分枝性狀

Figure 8. Branching phenotypes from 9 poinsettia cultivars

利用 Tukey's HSD 檢定各品種的分枝性狀之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)，在統計分析後，得出檸檬雪為分枝性狀最好的品種，其次為蘿莎公主與聖誕節，尚紅、鼠圓寶、紅絲絨和倍利排名第三，四季桃喜為第四，玫瑰紅星的分枝率最低。

According to Tukey's HSD test ($P < 0.05$) between the branch rate of different cultivars, Lemon Snow has the best branching phenotype. The second are Princettia ROSA and Noel. Prima Red, Christmas Mouse, Red Velveteen and Pepride are the third. The fourth is Luv U Pink. Rose Star has the lowest branching rate.

doi:10.6342/NTU202202622



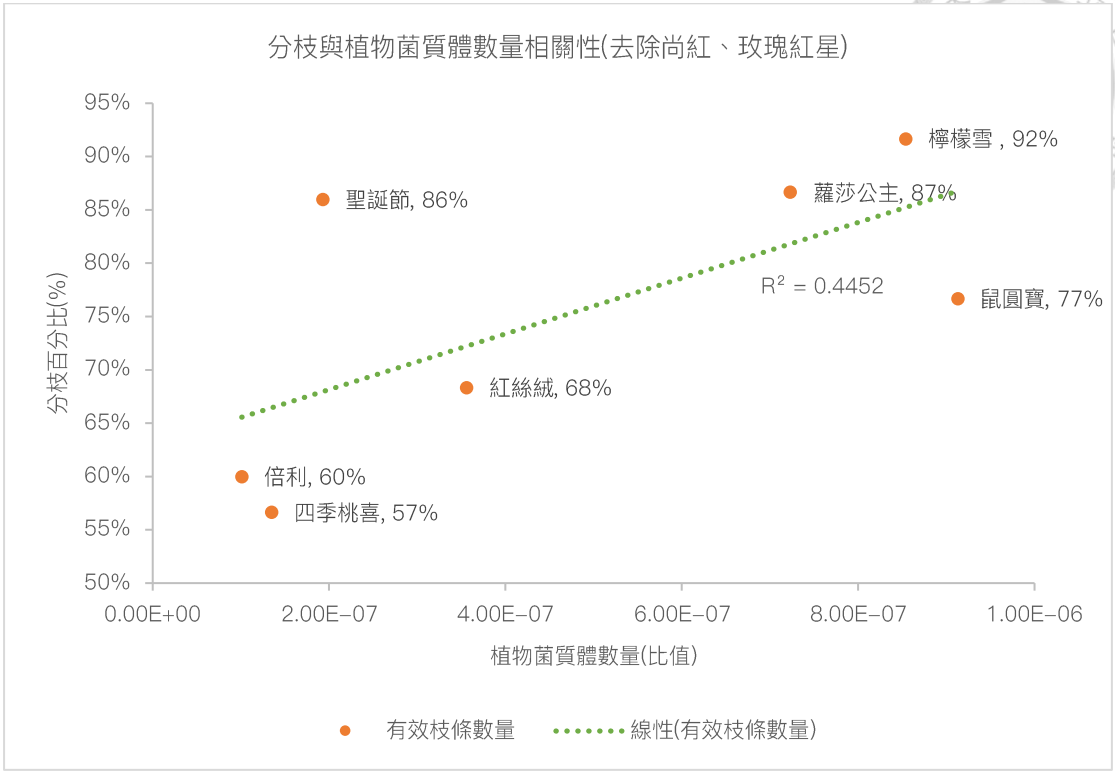
圖九、分枝率與植物菌質體數量相關性

Figure 9. Correlation between branching rate and the amount of phytoplasma

橫軸為植物菌質體數量，縱軸為分枝率，當九個品種一起比較時，植物菌質體數量與分枝率的趨勢線呈現低度負相關，相關係數 R 值為 -0.1706 （R^2 值 0.0291），不容易看出植物菌質體數量和分枝率之間的關聯性。不過在此圖中明顯可見玫瑰紅星與尚紅兩個品種分布的位置與其他品種有很大的差異。

The horizontal axis represents the amounts of phytoplasma and the vertical axis shows branching rate. When comparing nine cultivars together, it shows low negative correlation between phytoplasma amounts and branching rate. Correlation coefficient R equals -0.1706 (R^2 = 0.0291). It is not obvious to present the correlation between phytoplasma amounts and branching rate in this figure. But it is still apparent that the two cultivar Prima Red and Rose Star being significantly different from other cultivars.

doi:10.6342/NTU202202622



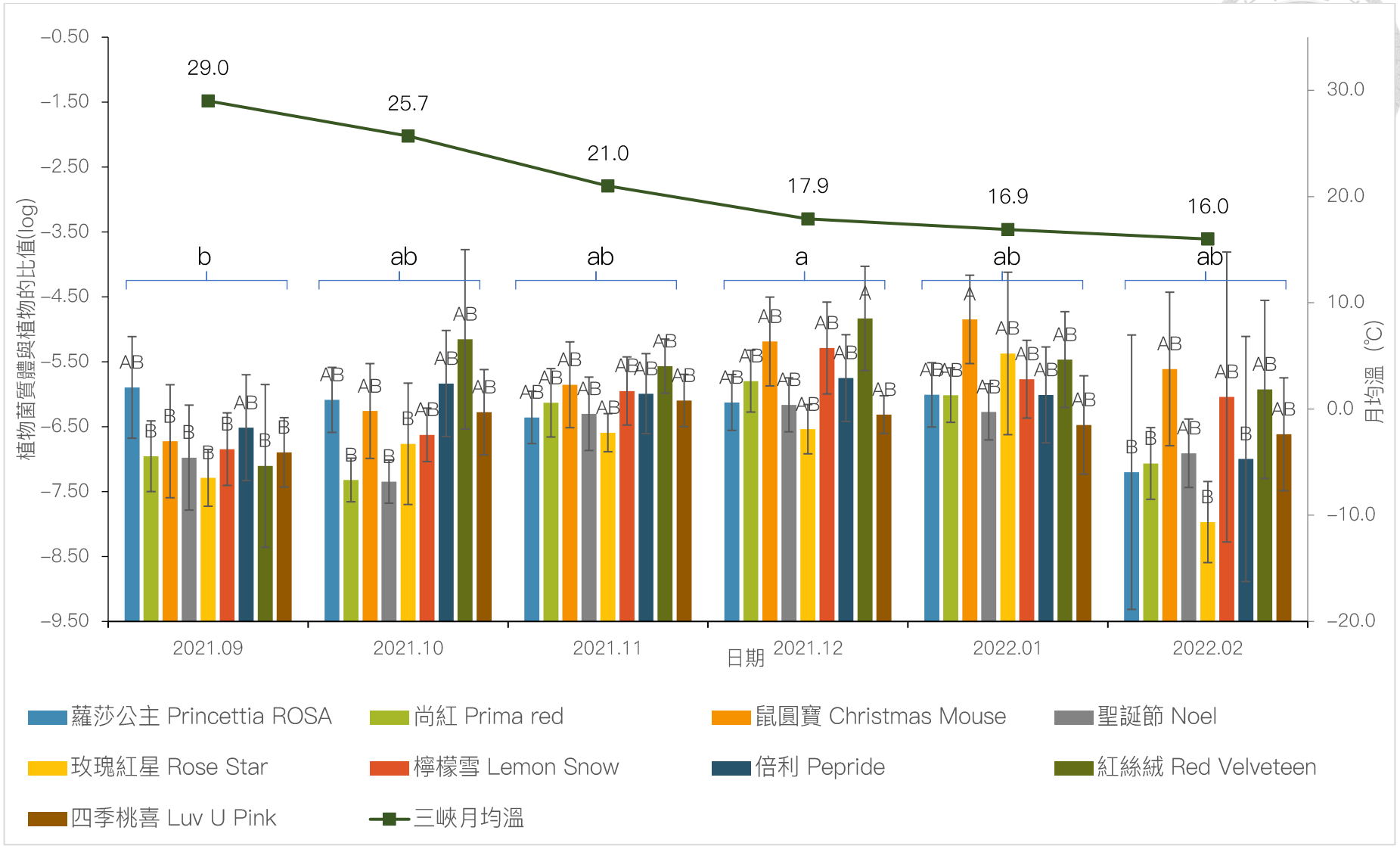
圖十、去除尚紅和玫瑰紅星後，植株分枝與植物菌質體數量之相關性

Figure 10. Correlation between branching rate and the amount of phytoplasma (except Prima Red and Rose Star)

去除尚紅與玫瑰紅星兩個品種後，以七個品種再分析一次回歸曲線，回歸曲線之 R^2 值為 0.4452，即相關係數 R 值 0.6672，顯示植物菌質體數量與分枝率的關係呈現中高度的正相關。

A new scatter diagram is made with seven cultivars except Prima Red and Rose Star. The new trend line shows a correlation coefficient R^2 of 0.4452, i.e., R equals 0.5572, meaning the amounts of phytoplasma are mid-highly positive correlated to branching rate.

doi:10.6342/NTU202202622



doi:10.6342/NTU202202622

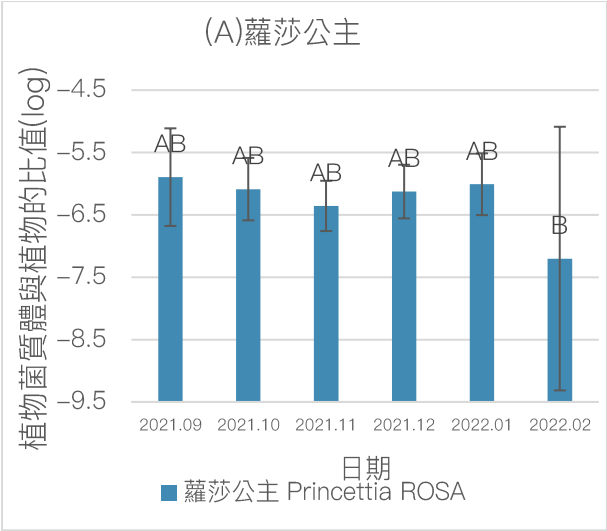
圖十一、常溫下各品種植物菌質體濃度（總覽）

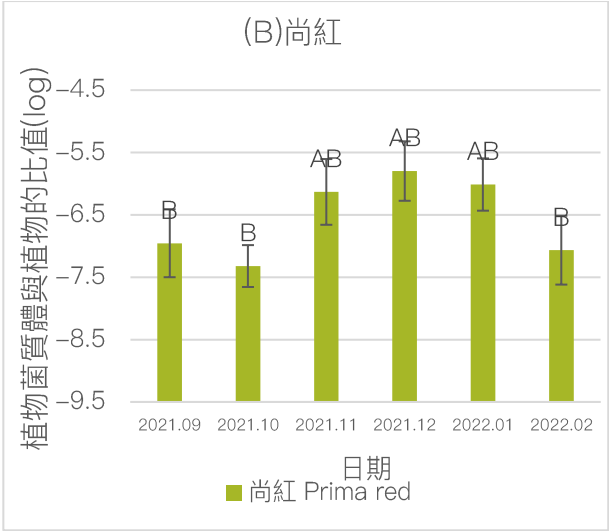
Figure 11. Concentration of phytoplasma in each cultivar under normal atmospheric temperature (overview)

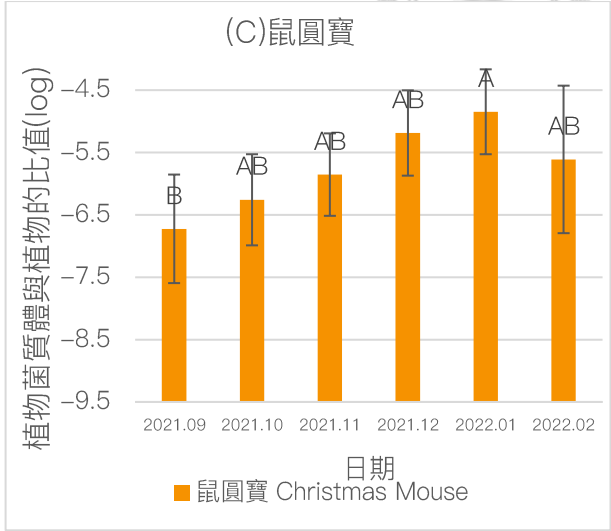
組間以 Tukey's HSD 檢定所有品種於不同日期之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)，以小寫字母表示；組內以 Tukey's HSD，在 $p < 0.05$ 下檢定 9 個品種於 6 個時間點，共 54 筆數據之間之最小平方平均值是否具有顯著差異，以大寫字母表示。在六個月的測量中，第一個月（9 月）的植物菌質體數量較低，而第四個月（12 月）的植物菌質體則最多，兩者在統計上均有顯著的差異。

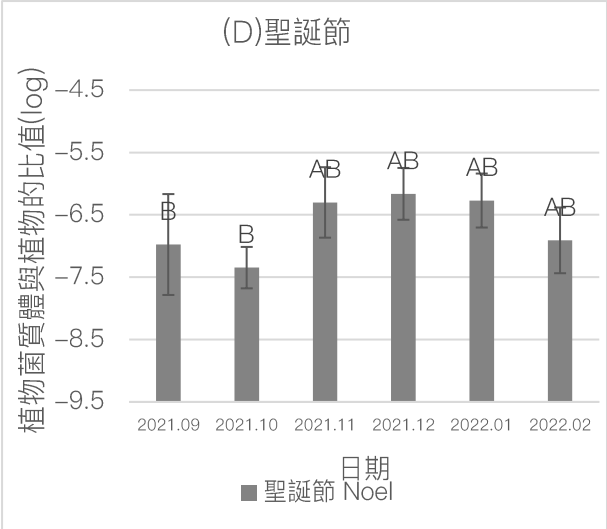
According to Tukey's HSD test ($P < 0.05$), after six months of examination, statistically significant difference is shown in the first and the fourth month. The amounts of phytoplasma are lower in the first month (September) and higher in the fourth month (December). Capital letters are analyzed by Tukey's HSD test, $P < 0.05$, between 6 different dates combining all cultivars. Lower case letters are analyzed by Tukey's HSD test, $P < 0.05$, between all cultivars within 6 months, which contains 54 samples.

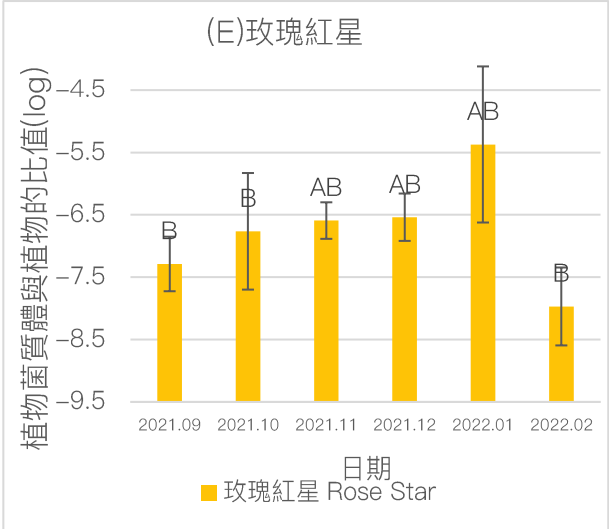
doi:10.6342/NTU202202622

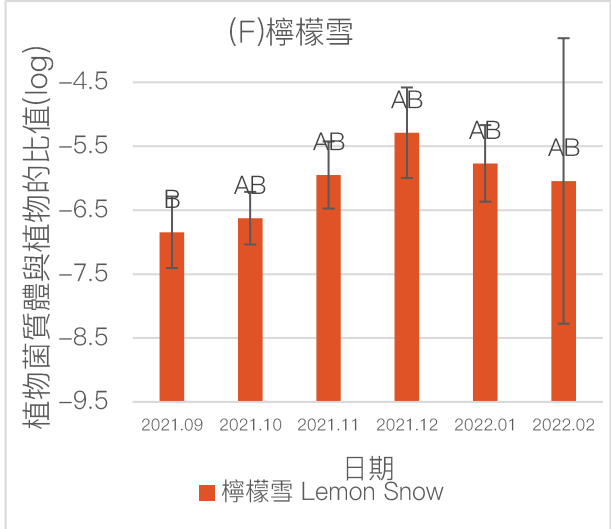




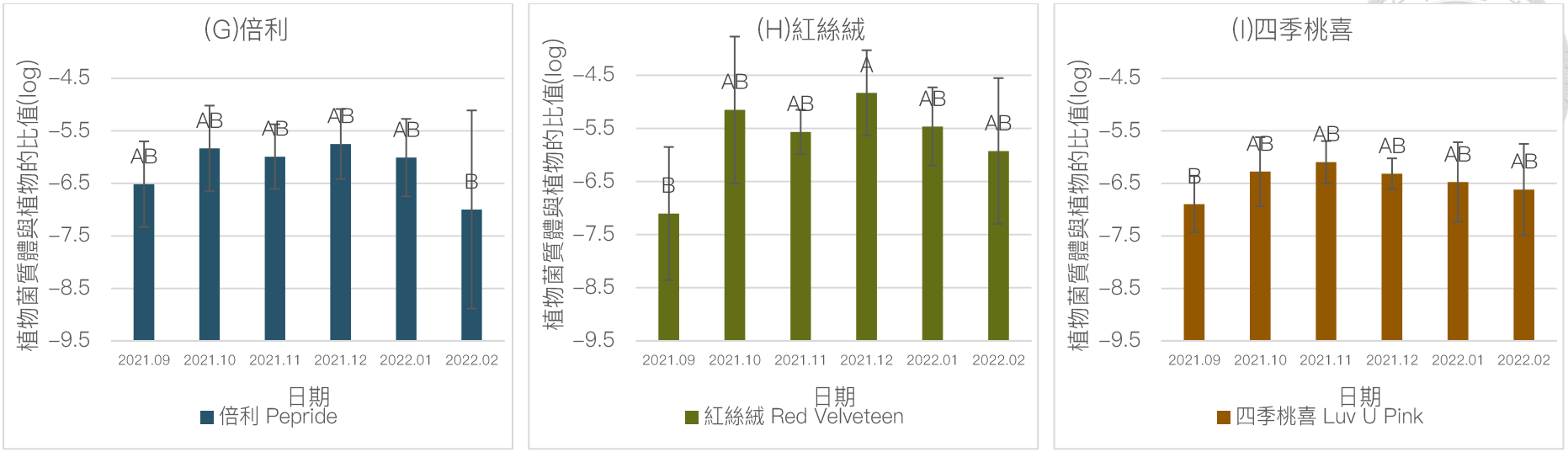








doi:10.6342/NTU202202622



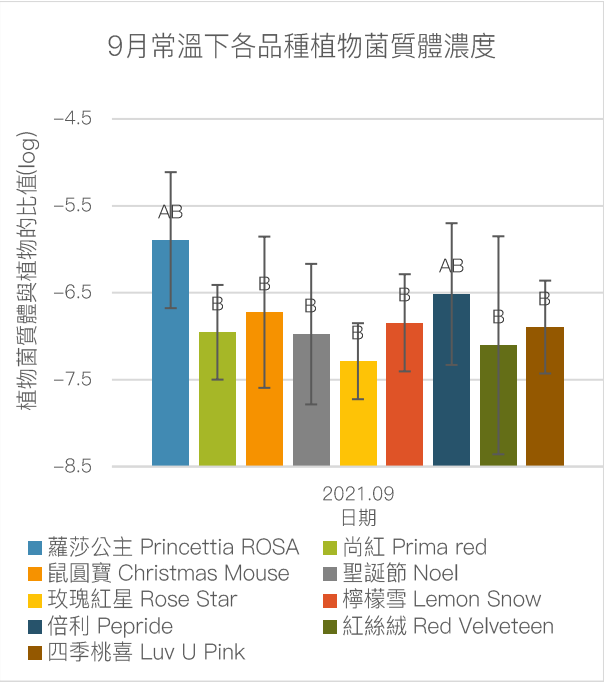
圖十二、常溫下各品種植物菌質體濃度（依品種）

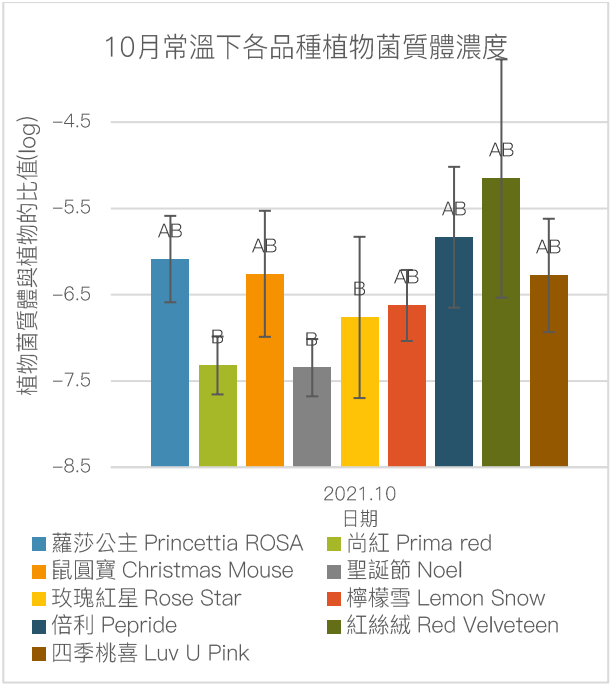
Figure 12. Concentration of phytoplasma in each cultivar under normal atmospheric temperature (by cultivar)

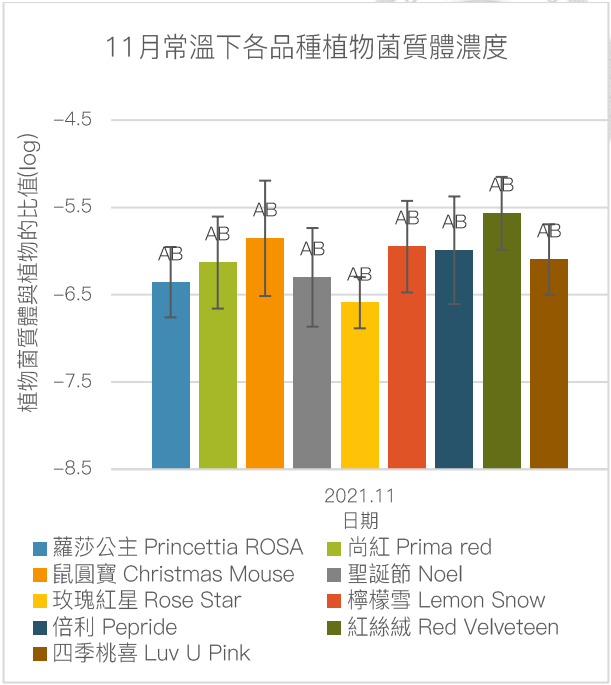
將每個品種獨立作圖以利進一步的比較，蘿莎公主（圖十二 A）、倍利（G）的植物菌質體數量於前期較為穩定，直到 2 月才有較明顯的下降；鼠圓寶（C）初始植物菌質體濃度不高，隨後逐漸增加，直到 1 月上升至具有顯著差異的水準，2 月份才又微幅下滑，紅絲絨（H）與鼠圓寶十分相似，唯上升至具有顯著差異水準的時間出現在 12 月，後續兩個月也有稍微下降；聖誕節（D）、檸檬雪（F）、四季桃喜（I）則是一開始數量較低，隨後稍微增加，直至觀測結束均無明顯消長，而尚紅（B）、玫瑰紅星（E）也類似，唯一的差別在於 2 月時植物菌質體數量出現了較為明顯的下降。

Nine charts are made with every cultivar independently for comparing convenience. Phytoplasma of Princettia ROSA (A) and Pepride (G) are stable in the early stage, significant decline only occurs in February. Concentration of phytoplasma of Christmas Mouse (C) is not so high from the beginning and increases gradually afterwards. Until January, phytoplasma increases to a significantly different level then slightly decreases in February. Similar to Christmas Mouse, Red Velveteen (H) only differs in the timing of December when phytoplasma increases to a significantly different level. And it shows slightly decrease in the following two months. Amounts of phytoplasma of Noel (D), Lemon Snow (F), Luv U Pink (I) are relatively lower from the beginning then slightly raise afterwards. Concentration remains stable until this study ends. Similarly, Prima Red (B) and Rose Star (E) only differs in February when phytoplasma decreases significantly.

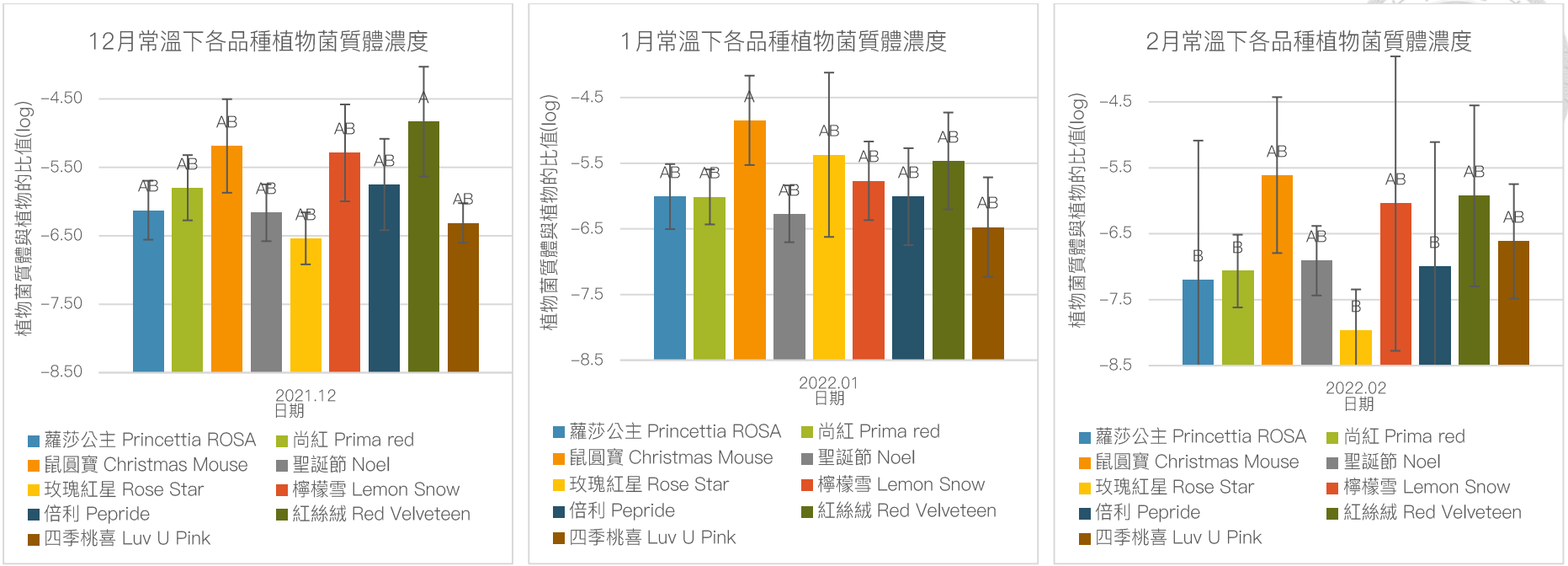
doi:10.6342/NTU202202622







doi:10.6342/NTU202202622



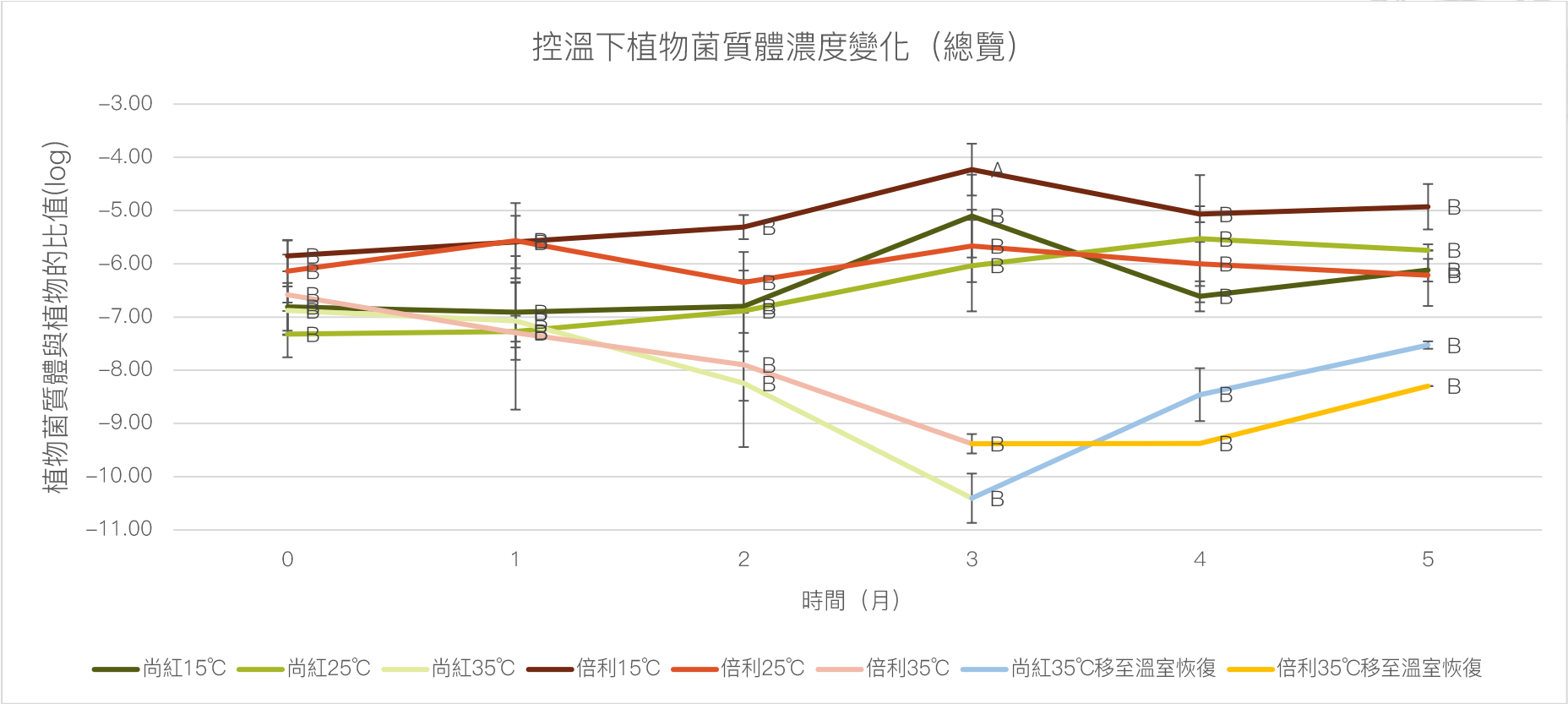
圖十三、常溫下各品種植物菌質體濃度（依日期）

Figure 13. Concentration of phytoplasma in each cultivar under normal atmospheric temperature (by date)

以不同時間點獨立作圖，在 9 月時僅有蘿莎公主與倍利植物菌質體數量稍微較多；到了 10 月，僅尚紅、聖誕節、玫瑰紅星仍然處於相對少量；11 月時，所有品種的植物菌質體數量相當；12 月倍利的數量再次提升，稍高於其他品種，1 月則換成鼠圓寶最多；不過到了二月，並沒有哪一個品種植物菌質體特別多，並且蘿莎公主、尚紅、玫瑰紅星、倍利的植物菌質體數量都出現了較明顯的下降。

Charts are made independently by date. In September, only phytoplasma of Princettia ROSA and Pepride are slightly higher. Until October, most cultivars increase except Prima Red, Noel and Rose Star. In November, every cultivar shows about the same level of phytoplasma concentration. Phytoplasma of Pepride increases again in December, becoming slightly higher than that of other cultivars. Christmas Mouse then become the highest in January. But when it comes to February, none of any cultivar is apparently higher. Also, phytoplasma of Princettia ROSA, Prima Red, Rose Star and Pepride show significant decline.

doi:10.6342/NTU202202622



圖十四、控溫下植物菌質體濃度變化（總覽）

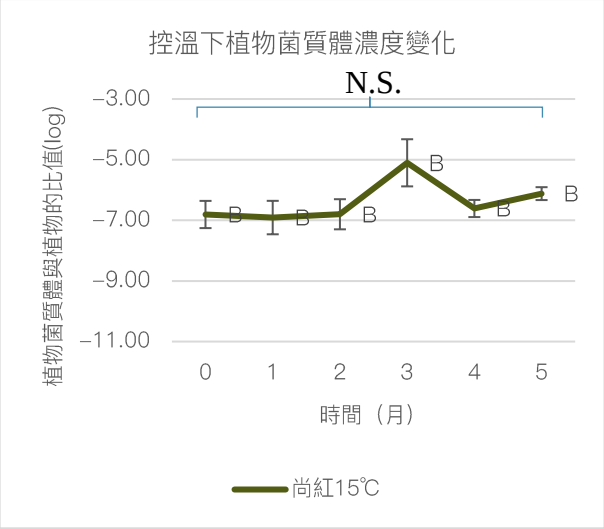
Figure 14. Variation of phytoplasma concentration under controlled temperature (overview)

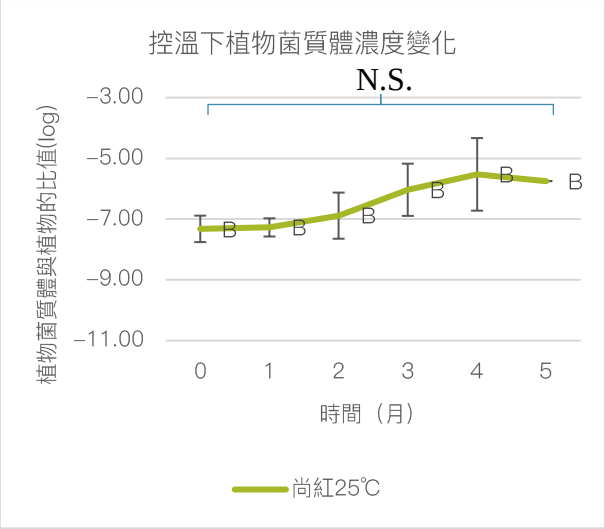
為方便識別，尚紅使用綠色系，倍利使用紅色系，溫度越高者，顏色越淺。利用 Tukey's HSD 檢定兩品種於不同日期之間之最小平方平均值是否有顯著差異 ($p < 0.05$)，經分析，只有 15 ℃下的倍利於第三個月具有顯著的提升，其餘皆無顯著差異。雖然在統計上沒有顯著差異，還是能看出 35 ℃處理組，不論是尚紅還是倍利，從第 0 個月的初始值，一直到第 3 個月，都一直呈現下降的趨勢，而 15 ℃、25 ℃處理組的植物菌質體數量就與溫室栽培者較為相似，並沒有出現大幅象降的情況。35 ℃處理組從第三個月起，因植

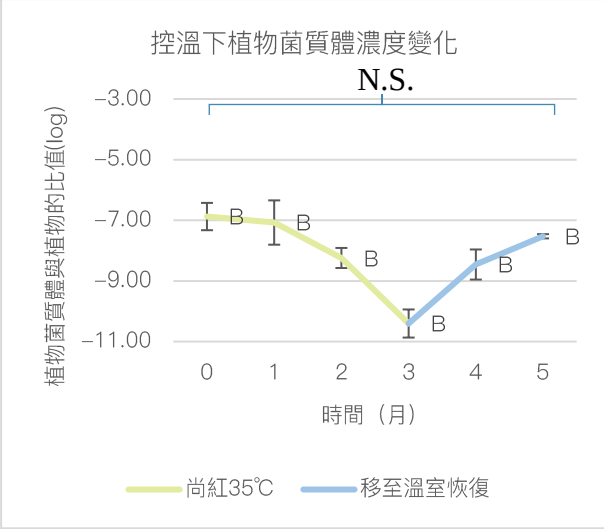
doi:10.6342/NTU202202622

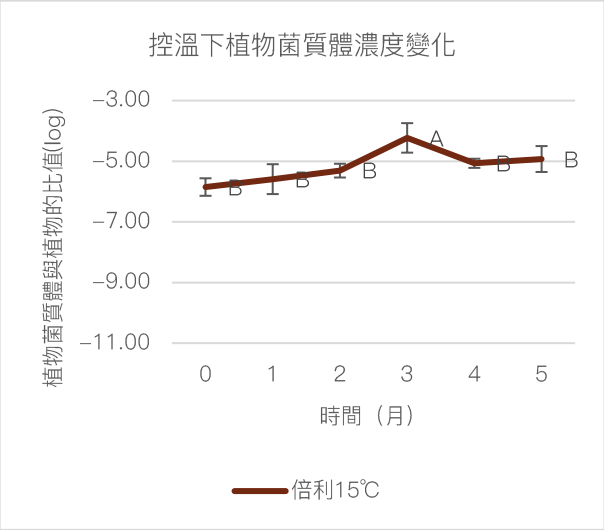
株狀況不佳，移出生長箱，放置於溫室中待其恢復，隨著植株逐漸復原，植物菌質體數量也跟著上升。
In order to distinguish the two cultivar, green lines represent Prima Red and red lines represent Pepride. Lighter color means higher temperature. According to Tukey's HSD test ($P < 0.05$) between the amount of phytoplasma of two cultivars with in five months, only the third month of Pepride in 15 ℃ chamber increases significantly. Although there is no statistically significant difference, we can still see the trend of 35 ℃ treatment group decreasing continuously on both cultivars from the very beginning to the third month. The trend of 15 ℃ and 25 ℃ treatment group are similar to those under normal atmospheric temperature. No significant decline was observed. Plants in 35 ℃ chamber was moved to the greenhouse for recovery due to unhealthy plant situation. Along with plant recovering, the amounts of phytoplasma increase as well.

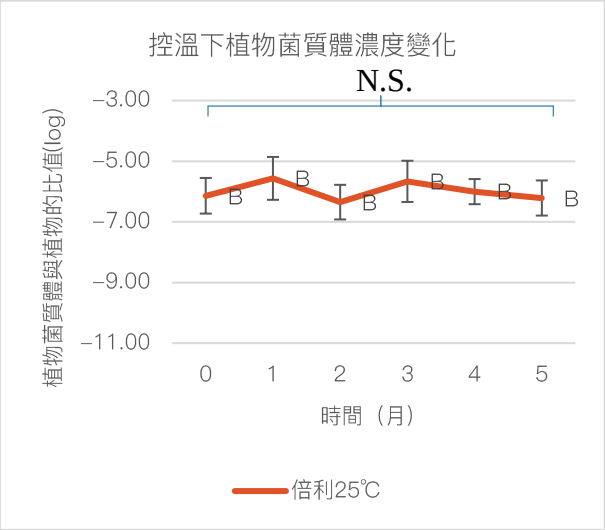
doi:10.6342/NTU202202622

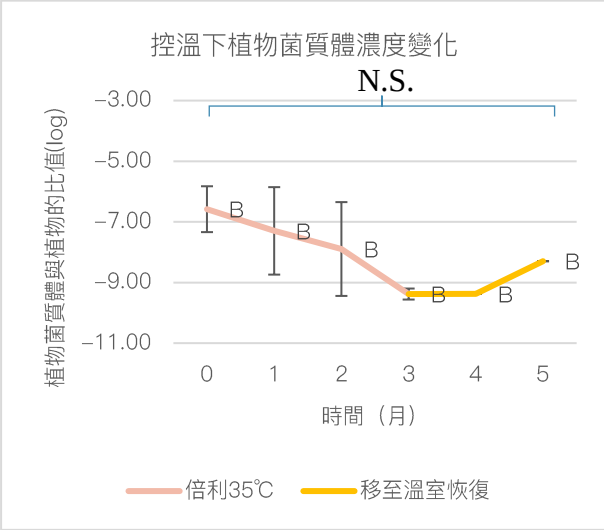












doi:10.6342/NTU202202622

圖十五、控溫下植物菌質體濃度變化（依品種與溫度）

Figure 15. Variation of phytoplasma concentration under controlled temperature (by cultivar and temperature)

將品種與溫度獨立作圖後，可發現在 15 ℃下，尚紅與倍利的植物菌質體數量消長非常相似，曲線大致平穩，雖然只有倍利具有統計上的顯著差異，但都在第三個月有數量上升的趨勢，隨後又降回原來的水準；而在 25 ℃下，兩者的消長都十分穩定，自始至終都維持差不多的數量；在 35 ℃下，兩品種在前三個月植物菌質體數量皆出現逐步下滑，但因個體間差異較大，加上部分植株死亡，導致重複數不足，在統計分析上並不具顯著差異。

35 ℃處理組的植株從第三個月起數量就有明顯的減少，尚紅的六株植株中，於第三個月僅剩餘 2 棵存活，但生長狀況不佳，故移出生長箱放置於溫室中恢復；倍利於第三個月僅剩餘 3 棵存活，同樣因生長狀況不佳，移出生長箱放置於溫室中恢復，但第四個月採樣時仍然有 2 棵植株沒有恢復而乾枯，僅存 1 棵植株直到試驗結束。

N.S: 無顯著差異。

In these charts separated by cultivars and temperature, it shows that the trends of Prima Red and Pepride phytoplasma concentration under 15 ℃ are similar. There is no obvious increasing or decreasing. Although only Pepride has statistically significant difference, the two cultivars both show an increase of amount in the third month and then drop back to the original level in the flowing months. For 25 ℃ treatment group, the amounts of phytoplasma in both cultivars are stable from the beginning to the end of this study. Both cultivars show continuous decline of phytoplasma in the first three months under 35 ℃ treatment. But due to great diversity between the individuals and the wilt of some plants, which makes the repeats inadequate, there is no statistically significant difference.

Number of plants under 35 ℃ treatment hugely dropped form the third month. For the six repeats of Prima Red, there was only two plants survived until the third month, but still unhealthy and therefore, moved to the greenhouse for recovery. For Pepride, only three plants survived until the third month and was as well moved to greenhouse for recovery because of unhealth. However, there were still two plants withered before I sampled in the fourth month. Only one plant survived till the end of this study.

N.S: No significant difference.

doi:10.6342/NTU202202622

玖、附錄

附錄一、引子對序列

Appendix 1. The Sequences of the Primer Pairs

Target organism, gene	Assay type	Primer or probe sequences (5' to 3')	reference
Phytoplasma, 16S rDNA	PCR	R16F2n: 5'-ACGACTGCTAAGACTGG-3' R16R2: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3'	Gundersen and Lee （1996）

doi:10.6342/NTU202202622

附錄二、鼠圓寶（左）與尚紅（右）

Appendix 2. Christmas Mouse (left) and Prima Red (right)

鼠圓寶與尚紅的側枝數量接近，每個枝條上幾乎都有開花，且苞片數量及大小相似，但鼠圓寶的株型明顯更加的圓整飽滿，由下而上都是屬於樹冠層的面積，其中的差異就是枝條的開度，鼠圓寶的側枝較為水平生長，使株型往橫向延伸，從側面看到的幾乎都是葉片與苞片，反之尚紅的側枝則幾乎都貼緊主幹向上生長，花與苞片都緊密的集中在頂端，植株下半部幾乎都是裸露的枝條。

Christmas Mouse and Prima Red have similar branch number and almost all branches blossom with bracts in similar size and number. However, the appearance of Christmas Mouse is obviously more compact. The canopy occupies almost the whole plant from bottom to the top. It is the angle between the branch and the trunk makes everything different. Branches of Christmas Mouse grow more horizontal, making the appearance of plant look wider. Nearly only leaves and bracts are visible when side-looking. In contrast, branches of Prima Red grow almost upward and close to the trunk, causing flowers and bracts gather at the top of the plant. Lower part of the plant remains sparse.

doi:10.6342/NTU202202622

附錄三、聖誕節（左）與檸檬雪（右）

Appendix 3. Noel (left) and Lemon Snow (right)

檸檬雪雖然側枝較為細小、花和苞片尺寸也不大，但憑藉數量多且每個側枝幾乎都有開花的優勢，能讓整個樹冠層都被花和苞片覆蓋。

Although the branches of Lemon Snow are thin, even flowers and bracts are small in size, it takes the advantage of mass in branch number and blossoming on almost every branch, making the whole canopy occupied by flowers and bracts.

doi:10.6342/NTU202202622

附錄四、玫瑰紅星（左）與四季桃喜（右）

Appendix 4. Rose Star (left) and Luv U Pink (right)

玫瑰紅星與四季桃喜雖然分枝不多，但每個側枝頂端幾乎都有開花。由於這兩個品種苞片較大，株型看起來仍算是緊湊飽滿，花器與苞片在樹冠的占比依然算高。

Rose Star and Luv U Pink do not have as many branches as others, bur there are almost a blossom on every top of branches. Since the bract size of the two cultivars are big, the appearance of the plant still looks compact. Bract-to-canopy ratio remains high.

doi:10.6342/NTU202202622

附錄五、倍利（左）與紅絲絨（右）

Appendix 5. Pepride (left) and Red Velveteen (right)

與玫瑰紅星、四季桃喜較為不同，倍利與紅絲絨分枝數量同樣不多，但每個側枝都較為細小，頂端也不一定有開花，整體株型比較稀疏，側枝的存在對於株型幫助不大。

Unlike Rose Star and Luv U Pink, branches of Pepride and Red Veleteen not only lack in number, but also thin and short in size. Even worse, there are still some branches without any blossom on their top. Therefore, the existence of the branches does not contribute to the appearance of the plant and still looks sparse.

doi:10.6342/NTU202202622

附錄六、檸檬雪（左）與玫瑰紅星（右）（側視）

Appendix 6. Lemon Snow (left) and Rose Star (right) (side-looking)

在聖誕紅產季較末期時，由於葉片已稍微掉落，更容易比較不同品種間枝條的差異。將本次調查結果中，分枝性狀最佳的檸檬雪，與最差的玫瑰紅星相比，可發現在檸檬雪上，枝條眾多，卻都細小羸弱，且苞片大小偏小，其面積僅約玫瑰紅星的四分之一，但在分枝數量多且側枝幾乎均有開花的情況下，苞片在植株上的占比依然很高；玫瑰紅星則是另一個極端，在本次調查的結果中，平均分枝率僅有 52%，但所有的側枝均十分粗壯，與主幹的強壯程度接近，使株型圓潤飽滿，加上苞片的大小較為巨大，即使整棵植株的花數不多，苞片在植株上的占比也很高，因此在農民及改良場的經驗中，留下分枝性狀良好的印象。

In the late period of poinsettia production season, it is easier to compare the difference of branches between different cultivars because the leaves start dropping. Comparing with Lemon Snow, which branching rate is the highest in this study, and Rose Star, which has the lowest branching rate, we can find that branches of Lemon Snow are thin and weak though massive in number. Also, the bracts of Lemon Snow are small, with the area of bracts approximately one-fourth than that of Rose Star. Fortunately, under the situation of massive branch with blossoms, bract-to-plant ratio is still high. On the other hand, branching rate of Rose Star is only 52% according to this study. Despite the poor branching rate, all of the branches are long and strong, even as thick as the main trunk, making the appearance of plant compact. Furthermore, since the size of bract of Rose Star is much bigger, although there is not as many flower as other cultivars, bract-to-plant ratio is also high. Therefore, Rose Star makes an impression of good branching ability.

doi:10.6342/NTU202202622

附錄七、15 ℃生長箱的植株出現轉色

Appendix 716. Bracts turn red in the 15℃ growth chamber

在 15 ℃處理組中，植物菌質體數量於第三個月出現上升的現象，原因猜測與溫室中相同，因為花器生成導致植物菌質體數量增加。雖然生長箱的日照控制為長日照的光照 14 小時、黑暗 10 小時，應不足以誘導聖誕紅植株開花，但或許是長時間日間的低溫使聖誕紅仍然出現轉色的現象，其中又以倍利較為明顯。

The amounts of phytoplasma show an increase in the third month. The reason for phytoplasma increase is supposed due to the growth stage is turning into flowering stage, which is similar as the treatment group in the greenhouse. Although the growth chamber is set to long day conditions with day length of 14 hours and 10 hours of dark period, which is not compatible for poinsettia flower inducing, long period of low day temperature still triggers poinsettia to turn red. This phenomenon is more significant on Pepride.

doi:10.6342/NTU202202622