

中華民國第 57 屆中小學科學展覽會 作品說明書

國中組 生物科

第三名

030303

花鐘「光」陰

學校名稱：新興學校財團法人桃園市新興高級中學附
設國中部

作者： 國一 許翊恩 國一 張家榕	指導老師： 陳俐蓉
---------------------------------	------------------

關鍵詞：開花週期、翠蘆荊、生物時鐘

摘要

我們以野外常見的翠蘆莉為研究對象，觀察翠蘆莉的開花時間與光週期之關係，若我們改變時差或光週期則對生物時鐘的規律會有某種程度的干擾，時差三小時會對植株造成開花時間提早的影響，且恆亮或恆暗環境中，原本規律的開花週期明顯被瓦解，恆暗環境會抑制花芽發育及開花律動。我們進一步發現藍光是啟動開花的重要波長，而紅光則和維持開花時間的長度相關，本實驗得知翠蘆莉的生物時鐘會受到外在環境光週期的改變而重新建立，控制開花的律動，加速或延遲開花時間，未來也可應用於促進花卉經濟作物的收成。

壹、研究動機

和同學在午後的校園中發現常開花的翠蘆莉，不約而同地在下午一點之後陸續開始凋落，隔天早上到校又看到滿叢盛開的翠蘆莉花，讓我們不禁想問翠蘆莉是否「花開花落自有時」？花與時間存在什麼關係呢？我們查閱資料得知很多植物在日間開花，因為大部分傳粉動物都在日間活動，不過亦有例外的，例如曇花(*Epiphyllum oxypetalum*)選擇在夜間開花，是因為它主要靠夜間出沒的蝙蝠和蛾類傳粉。開花植物選擇的開花時間和環境中的傳粉者活動時間似乎存在緊密關係，也是長久時間以來兩者發生共同演化的結果。我們好奇翠蘆莉的開花時間和環境有何關聯？其開花行為是否具有韻律運動？其所暗藏的生物時鐘(circadian clock)是否會被環境中的光線變化所干擾，當翠蘆莉進入時差環境或者光週期改變，翠蘆莉的開花韻律又是如何表現？

我們選擇「翠蘆莉」為研究對象，其開花生物時鐘的現象明顯規律，且花芽分生發育快，非常適合我們做為研究植物生物時鐘的特性，其開花週期和生物時鐘、光照因子之間的相互調控關係，之中所蘊藏的秘密是我們研究的方向。

貳、研究目的

研究目的乃以一天中完成花開花閉(半日花)的翠蘆莉為研究對象，探討其生物時鐘在面臨時差及光週期的改變時是否會受到影響，以及討論翠蘆莉開花的日律週期之特性又是受到何種因素進行調控開花機轉，進一步期望尋求其可能在花卉農藝的應用方向。

- 一、觀察翠蘆莉開花的完整過程和花器官的顯微構造。
- 二、探討時差和不同光週期對翠蘆莉開花生物時鐘的差異。
- 三、探討恆亮及恆暗環境對翠蘆莉開花日律週期的影響。
- 四、探討不同光質對翠蘆莉開花生物時鐘的差異。
- 五、思考時差變化和光週期對在翠蘆莉開花生物時鐘機轉上所扮演的調適角色。

參、研究設備與器材

一、設備和器材：

縮時攝影相機(Brinno TLC200,Pro.)、複式顯微鏡、解剖顯微鏡、數位式電子目鏡(DINO LITE,AM423X)、照度測量儀(TE5 泰仕)、電源定時器、相機(Canon-EOS), LED 燈管包括白光(億光)、紅光(655-665nm)、綠光(520-530nm)、藍光(445-460nm)、LED 專用空抬和自製木架作為「觀察實驗屋」(圖一)。



圖一 實驗設備與器材 (A)縮時攝影相機 (B)數位式電子目鏡 (C)數位式照度計 (D)自製木架的「觀察實驗屋」(E)LED 燈管(白光、紅光、綠光、藍光和專用燈台)。

二、生物材料：

翠蘆莉植物 (*Ruellia brittoniana* Leonard) (圖二)。

(一)翠蘆莉基本資料

(1)分類地位：植物界 *Plantae*/被子動物門 *Angiospermae*/
雙子葉植物綱 *Dicotyledoneae*/唇形目 *Lamiales*/ 爵床科
Acanthaceae

(2)原生地環境特性：在熱帶氣候的墨西哥猶加敦半島北部，
氣候乾燥炎熱。

(二)翠蘆莉的栽種與觀察紀錄

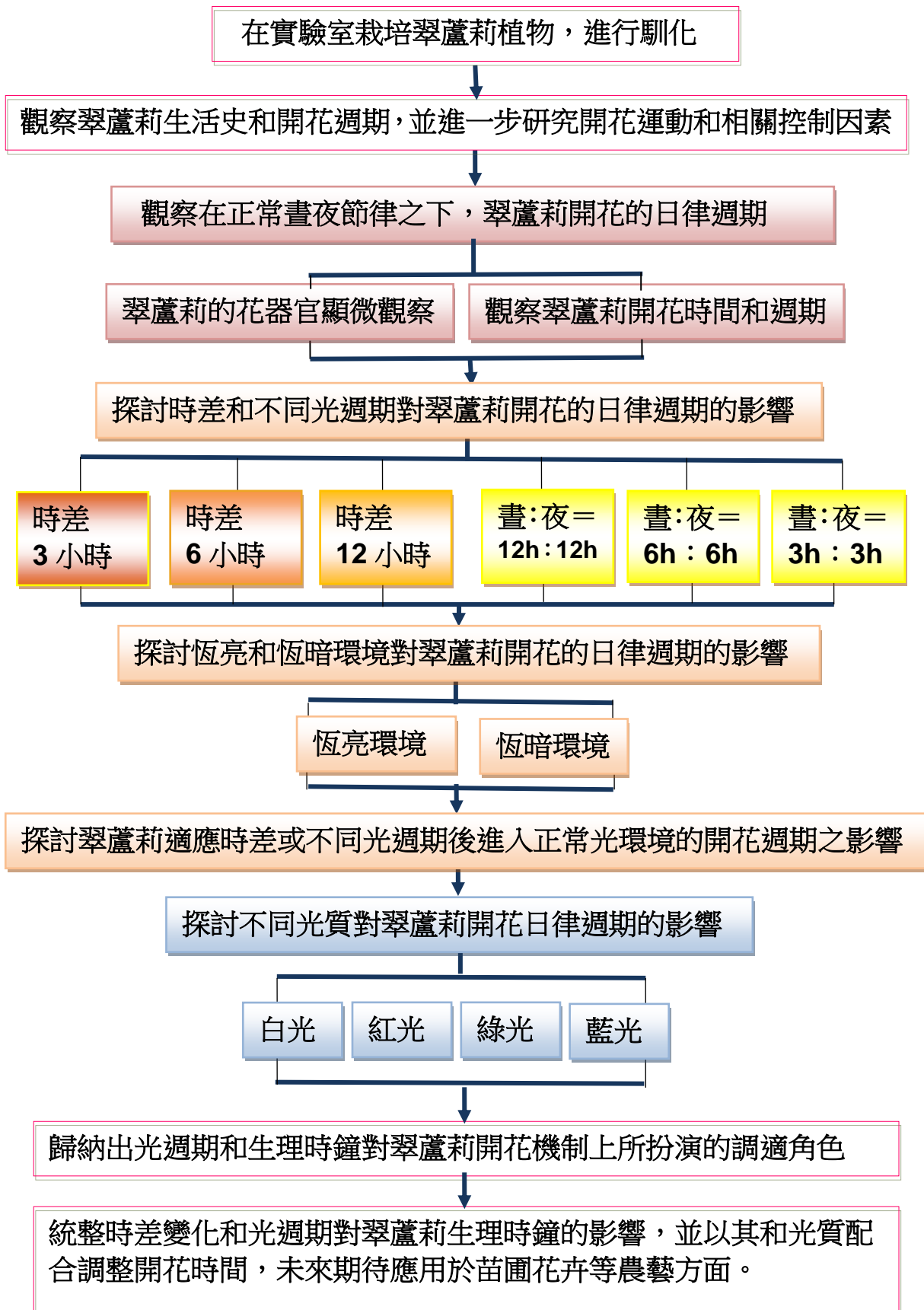
(1)翠蘆莉適合生長在熱帶或亞熱帶環境，台灣的氣候環境在
春、夏、秋季都可生長繁盛且利於開花，我們採用肥沃的有
機土壤作為栽培介質，植株適合的生長溫度約介於攝氏 25-32
℃，在夏天時每天澆水一次，其他季節大概2-3天澆水一次；一
年四季皆適合播種，發芽適合的溫度約在25-28℃，播種後3-5天即會發芽，發芽後的幼苗需照光
以利生長發育。

(2)野生的翠蘆莉地下有根莖，水平橫向生長，其上有芽，向上長出地上苗；莖略呈方形，紅褐色至暗紫色，肉質，具溝槽，有節；依植株高度可分為高性種和矮性種，株高20~60公分；葉對生，呈長形葉尖，葉緣全緣，葉基有腋芽；花朵腋生，花萼5裂，筒形花冠，具有皺折的花瓣5枚，花色為藍紫、粉紅色或白色；果實為蒴果長條形，長約 2 公分，常3瓣裂，成熟時由綠轉黑褐色。



圖二 野外翠蘆莉(上)，和實驗室陽台馴化的翠蘆莉盆栽(下)。

肆、研究過程與方法



一、翠蘆莉花朵構造的觀察和生活史的研究：

(一)了解翠蘆莉花的構造：

1.肉眼觀察翠蘆莉花的外觀

(1)我們從野地移植翠蘆莉至實驗室栽種進行馴化，使其適應實驗室環境並配合正常日照晝夜節律。

(2)以肉眼觀察翠蘆莉的外形，並記錄花冠、萼片、雄蕊、雌蕊的特徵。

2.顯微觀察翠蘆莉的雄蕊和雌蕊的構造

(1)我們用解剖刀將雌蕊和雄蕊進行解剖，以解剖顯微鏡觀察雌蕊子房的胚珠。

(2)以複式顯微鏡觀察花藥內的花粉，由探針取雄蕊上花藥的花粉囊，並以解剖顯微鏡和 DINO 軟體擷取照片，再將花粉取至載玻片上置入複式顯微鏡下觀察表面紋路和萌發孔，利用 DINO 擷取照片。進一步以不同蔗糖濃度 0~30%處理花粉，在 12、48 小時觀察花粉管萌發的情形。

(二)觀察翠蘆莉開花的日律週期：

1.儀器設置：我們於野外環境翠蘆莉叢旁架置縮時攝影相機，以每 30 秒間隔拍攝一張照片連續一週，製成影片。

2.紀錄數據：由影片中觀察開花的日律週期，紀錄花苞開始綻開的時間、花瓣完全綻放的花冠直徑大小、花冠凋落的時間和整個開花的時間長度。

3.開花指數(Flowering Index, F.I.)：花冠綻放直徑 / 花冠完全綻放直徑 X100%，由影片中測量每隔一小時觀察花冠的大小，進一步求得不同時刻的 F.I.值，並且整理出 F.I.=10%、50%、100%的時間點。將同一處理方式的不同時刻之 F.I.值，求得平均值，繪製成統計曲線圖。

4.開花率：花苞頂端裂開視為「開花」，紀錄每個花苞的開花時間，以「捨 29 分入 30 分」統計實驗時間內在每個整點時刻的開花數目總和，計算「開花率」，試驗二次得平均值。
開花率=整點時刻內的「開花」數目 / 實驗時間內「總該開花數」(花苞轉紅，厚度達最大視為「該開花」) %

二、探討不同時差和光週期對翠蘆莉開花的日律週期的研究：

(一)比較不同時差(光週期十二小時)對翠蘆莉開花的影響：

1.翠蘆莉移植到盆栽進行馴化，待適應後一周觀察開花韻律至和野外環境相似，始進行實驗。

2.將翠蘆莉盆栽置放在木架內，以黑色大布幕罩住整個木架，作為「觀察實驗屋」木架上夾放白光 LED 燈管，且電源連接定時器以設定光期時間，開啟 LED 人工白光燈源(PPFD109.8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,依單位間轉換係數 6K Lux)為「光期」，關閉 LED 人工白光燈源為翠蘆莉進入「暗期」(PPFD0.009 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ =0.5Lux 和夜晚自然環境中光照度相符)。我們依照時差和光週期的指定條件設定定時器的時間，定時開關 LED 燈，配合設定條件的晝夜節律，改變光期和暗期的環境，以縮時攝影相機記錄開花過程連續七天以上。

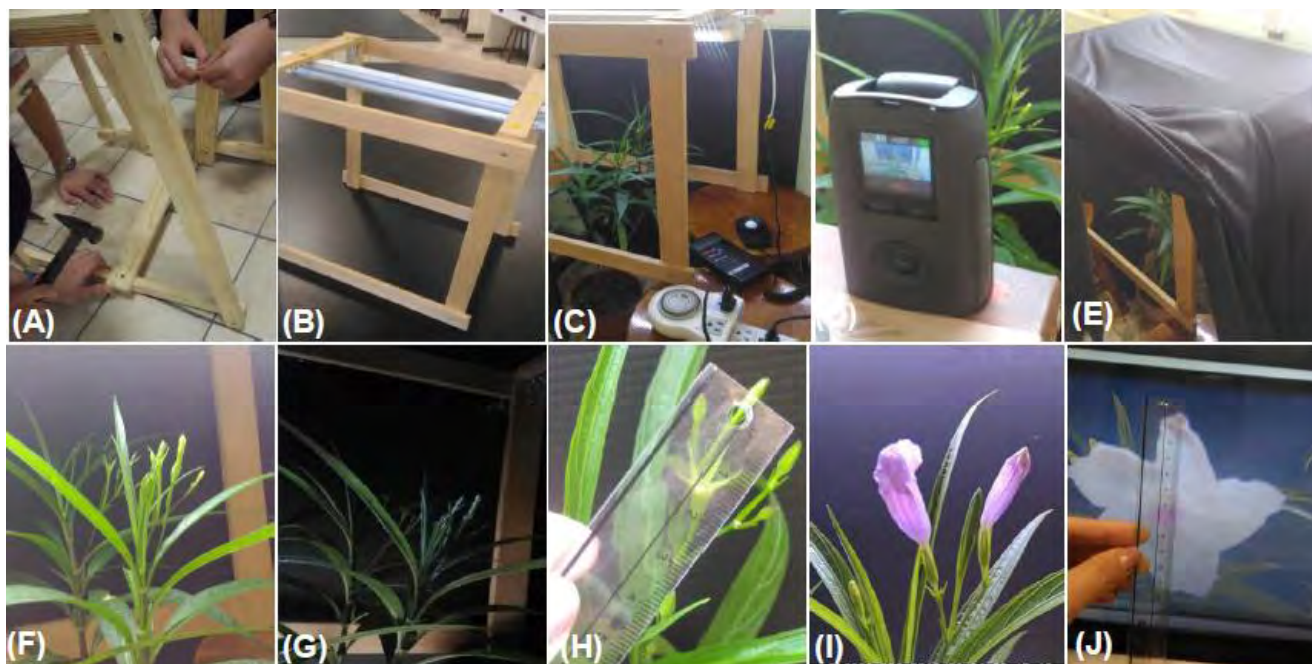
3.在指定光照條件後，觀察已轉紅、變厚的花苞(該開花)發展的開花運動作為「第一天」之數據，陸續之後成熟的花苞在隔天的開花運動則為「第二天」數據，以此類推記錄至第七天。

4.適應：以「第七天」視為翠蘆莉「適應」該指定條件環境。

5.時差的指定條件如下表：

組別	時差條件	光週期	光期時間	暗期時間
(A)	3 小時	12 小時	03:00~15:00	15:00~03:00
(B)	6 小時		00:00~12:00	12:00~00:00
(C)	12 小時		18:00~06:00	06:00~18:00

6.擷取影片中每隔一小時之圖像，求得在不同時刻的 F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成統計圖。



圖三 翠蘆莉開花日律運動的觀察試驗。(A)製作木架(觀察實驗屋)；(B)觀察實驗屋裝置 LED 燈；(C)設定定時器控制 LED 燈開關時間；(D)架置縮時攝影相機調整焦距；(E)以大黑布罩住木架作為「暗室」；(F)LED 白光下的翠蘆莉進入「光期」；(G)暗室中的翠蘆莉進入「暗期」；(H)以小於 1c.m.長度的(未成熟)花苞為試驗對象，在特定條件下觀察開花發生；(I)花苞頂端花瓣開始打開(裂開)，視為「開花」(左為「綻放」，右為「該開花」未綻放狀態)；(J)由縮時攝影影片中在固定時間點記錄花冠開放的直徑大小。

(二)比較不同光週期對翠蘆莉開花的影響：

1.光週期的設定條件如下表：

組別	光週期	設定條件	光期時間	暗期時間
(A)	12 小時	光期：暗期=12hrs:12hrs	06:00~18:00	18:00~06:00
(B)	6 小時	光期：暗期=6hrs:6hrs	06:00~12:00,18:00~00:00	00:00~06:00,12:00~18:00
(C)	3 小時	光期：暗期=3hrs:3hrs	06:00~09:00,12:00~15:00, 18:00~21:00,00:00~03:00	09:00~12:00,15:00~18:00, 21:00~00:00,03:00~06:00

2.擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的 F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成統計圖。

三、探討恆亮和恆暗環境對翠蘆莉開花的日律週期的研究：

(一)恆亮環境對翠蘆莉開花的日律運動的影響：

- 1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，在「觀察實驗屋」以人工LED白光持續照光七天以上，利用縮時攝影相機紀錄開花的日律運動情形。
- 2.擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的 F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成曲線圖。

(二)恆暗環境對翠蘆莉開花的日律運動的影響：

- 1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，以大黑布罩住木架使翠蘆莉在「觀察實驗屋」進入恆暗環境中(為配合攝影需求，黑布外以微弱白光經布幕隙縫進入實驗屋中PPFD $0.009 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=0.5 \text{Lux}$ ，和夜晚自然環境中光照度相符)，利用縮時攝影相機紀錄開花的日律運動情形。
- 2.擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的 F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成曲線圖。

四、環境光線的變化對翠蘆莉開花生物時鐘的影響：

(一)適應恆暗環境後，再進入正常光週期對翠蘆莉開花日律週期的影響

- 1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，以大黑布罩住木架使翠蘆莉在「觀察實驗屋」進入恆暗環境中七天，使其「適應」恆暗環境後，利用電源定時器連接 LED 白光燈座在 6:00~18:00 開啟電源進入光期時間，在 18:00~06:00 關閉 LED 人工白光燈源為翠蘆莉進入暗期，配合正常晝夜節律，改變光期和暗期的環境，以縮時攝影相機記錄開花過程連續七天以上。
- 2.«適應»恆暗進入正常光週期之後，其在正常週期下「該開花」隨後發展的開花運動作為「第一天」之數據，之後隔天的開花運動則為「第二天」數據，以此類推記錄至第七天，並利用縮時攝影相機紀錄開花的日律運動情形。
- 3.擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的 F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成曲線圖。

(二)適應日夜顛倒環境後，再進入正常光週期對翠蘆莉開花日律週期的影響

- 1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，以大黑布罩住木架使翠蘆莉在「觀察實驗屋」中進入時差環境，利用電源定時器連接 LED 白光燈座在 18:00~06:00 開啟電源進入光期時間，在 06:00~18:00 關閉 LED 人工白光燈源為翠蘆莉進入暗期，使其「適應」日夜顛倒環境七天後，再利用電源定時器連接 LED 白光燈座在 6:00~18:00 開啟電源進入光期時間，在 18:00~06:00 關閉 LED 人工白光燈源為翠蘆莉進入暗期，配合正常晝夜節律，改變光期和暗期的環境，以縮時攝影相機記錄開花過程連續七天以上。
- 2.«適應»日夜顛倒再進入正常光週期之後，其在正常光週期下「該開花」隨後發展的開花運動作為「第一天」之數據，之後隔天的開花運動則為「第二天」數據，以此類推記錄至第七天，並利用縮時攝影相機紀錄開花的日律運動情形。

五、探討不同光質對翠蘆莉開花的日律週期的研究：

(一)不同光質(正常光週期)對翠蘆莉開花的日律運動的影響：

1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，以大黑布罩住木架隔絕外界光源，燈抬分別置入不同光質人工 LED 燈(紅 PPFD $169.4 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=2\text{KLux}$ ，綠光 PPFD $170.1 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=2.5\text{KLux}$ 、藍光 PPFD $168.6 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=3.2\text{KLux}$ 、)，電源連接定時器設定光期時間(06:00~18:00)和暗期時間(18:00~06:00)，依正常晝夜節律的十二小時光週期，以縮時攝影相機記錄開花過程連續七天以上。

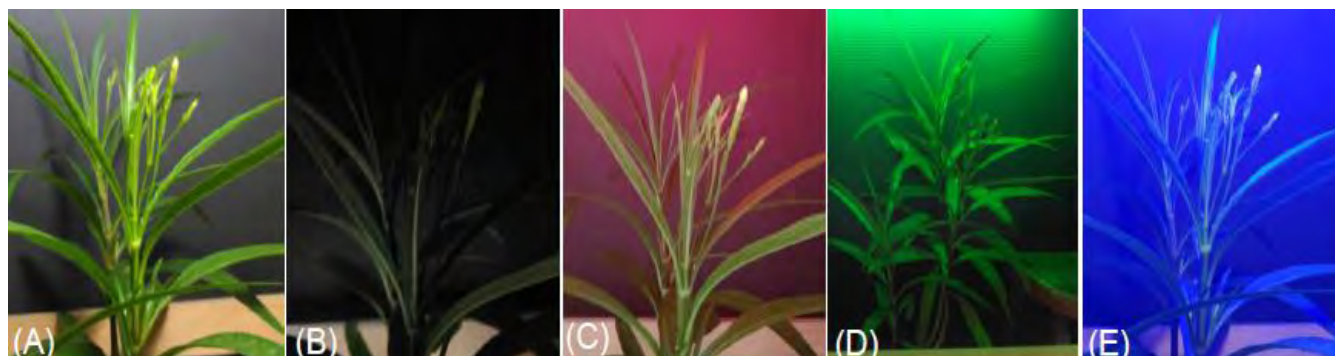
2.數據處理：擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成曲線圖。並進行不同處理組別的比較，比較開花指數(F.I.)、開花率、花冠直徑大小和開花時間長度比較，進一步以統計分析。

(二)不同光質持續照光處理對翠蘆莉開花的日律運動的影響：

1.將翠蘆莉置放於試驗木架內，利用大黑布罩住木架隔絕外界光源，分別以不同光質 LED 燈(紅 PPFD $169.4 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=2\text{KLux}$ ，綠光 PPFD $170.1 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=2.5\text{KLux}$ 、藍光 PPFD $168.6 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}=3.2\text{KLux}$ 、)持續照光處理，以縮時攝影相機記錄開花過程連續七天以上。

2.數據處理：擷取影片中每隔一小時之圖像，求得不同花苞在不同時刻的F.I.值，各組重複試驗二次以上，計算出平均值後進行統計處理，繪製成曲線圖。並進行不同處理組別的比較，比較開花指數(F.I.)、開花率、花冠直徑大小和開花時間長度比較，進一步以統計分析。

不同光質	設定條件	光週期12小時	恆光
(A)紅光		(A1) 光期06:00~18:00 暗期18:00~06:00	(A2)光期24小時持續照光
(B)綠光		(B1) 光期06:00~18:00 暗期18:00~06:00	(B2)光期24小時持續照光
(C)藍光		(C1) 光期06:00~18:00 暗期18:00~06:00	(C2)光期24小時持續照光



圖四 在實驗屋中進行不同光質中的翠蘆莉開花試驗。(A)白光中；(B)暗室中；(C)紅光中；(D)綠光中；(E)藍光中。

伍、實驗結果

、了解花的構造和生活史：

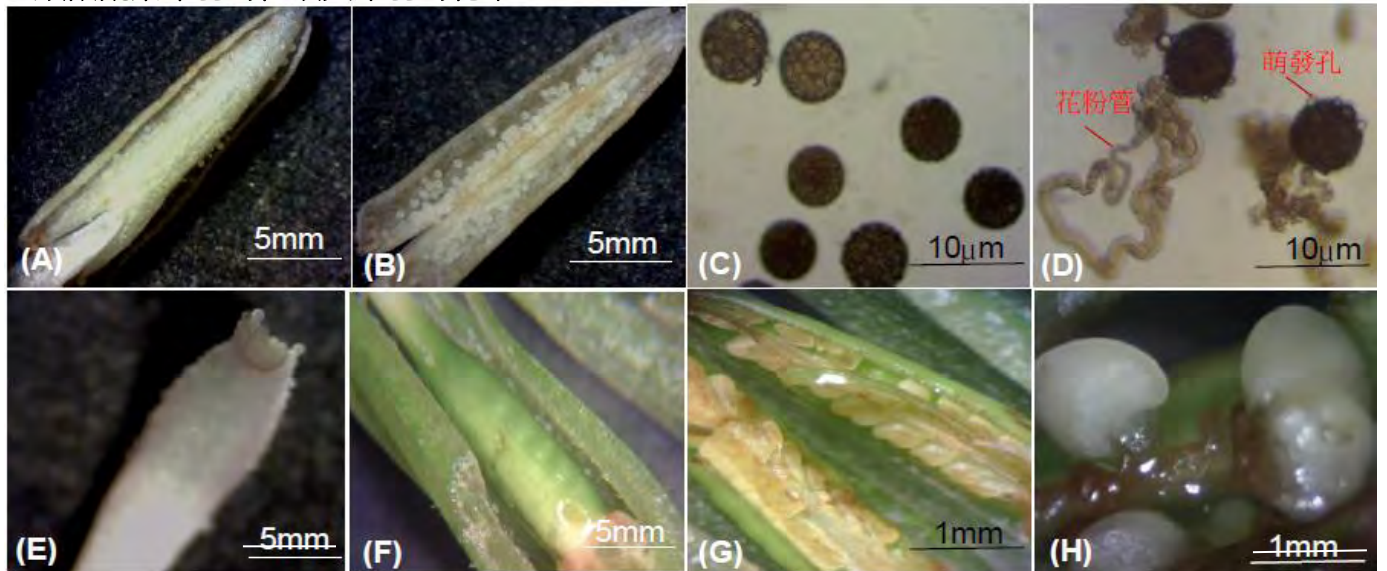
(一)了解翠蘆莉花的構造

1.肉眼觀察翠蘆莉花的外觀



圖五. 翠蘆莉花朵的外觀 (A)翠蘆莉的完全花 (B)初步解剖花器官(左→右：花瓣、雌蕊+花萼、雄蕊 (C)雄蕊的花絲和花藥 (D)雌蕊的花柱和花托(花盤為花托一部分)。

2.顯微觀察雌蕊的柱頭與雄蕊的花藥



圖六. 翠蘆莉花朵的顯微觀察 (A)雄蕊的花藥正側 (B)雄蕊花藥的背側 (C)花藥囊的花粉粒 (D)花粉粒萌發花粉管 (E)雌蕊的柱頭 (F)雌蕊的子房 (G)子房中著生胚珠 (H)胚珠。

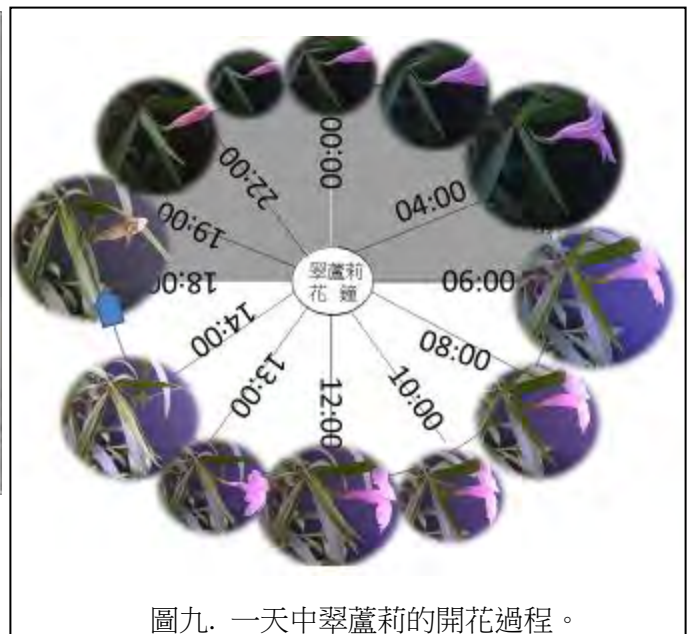
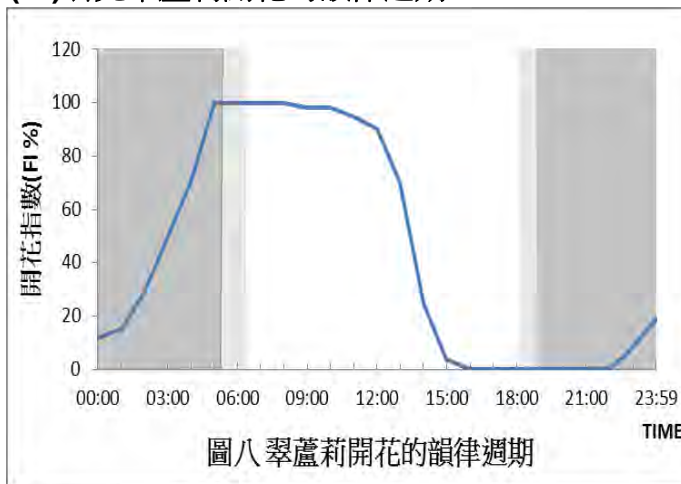
翠蘆莉(*Ruellia brittoniana*)每朵花為完整性的完全花，具有萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊，其萼片為綠色的合生萼，花冠由五個花瓣構成的合瓣花，屬於漏斗狀花冠類型，對稱性輻射對稱花(整齊花)，花之性別是兩性花，有一個雌蕊四個雄蕊(二長二短)，雄蕊類型二強雄蕊，花藥著生類型是基著藥，花藥開裂方式縱裂，心皮是合生心皮，子房上位，胎座為中軸胎座，子房位置關係下位花，為有限花序(聚繖花序)。

3. 觀察翠蘆莉的生活史與開花過程



圖七. 翠蘆莉開花的生活史 (A)小花苞 (B)成長中的花苞 (C)成熟待放的花苞，即將開花 (D)花冠綻放中 (E)盛開的花冠 (F)花冠萎凋殘留雌蕊 (G)發育中的綠色果實 (H)成熟的深褐果實 (I)果實中的種子 (J)種子發芽幼苗成長。

(二)研究翠蘆莉開花的韻律週期

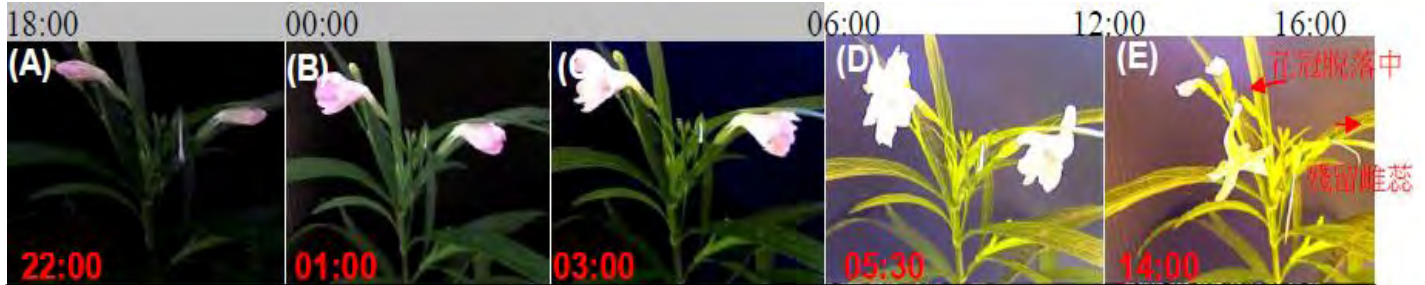
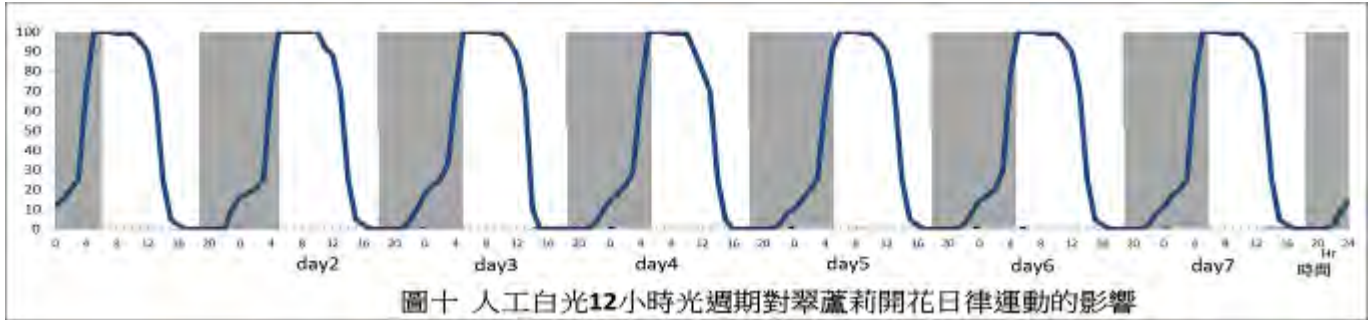


圖九. 一天中翠蘆莉的開花過程。

翠蘆莉頂端分生組織分化出數個幼小的花苞 (約 0.5cm)，花萼完全包住花瓣，經過 2~3 天生長至約 2cm 的花芽，之後花瓣成長至停止增加長度(約 2.5~3.0c.m.)，花苞顏色由白轉深、轉紅並已達到最大厚度時，當天凌晨(00:00~01:00)花的開放就會發生。先是尖端處微裂，打開新的凹槽，花瓣上的中脈拉動花瓣背後的紋層，控制花的後續開放，在開花後的 3~4 小時主要進行花中脈的增長，一個越來越明顯彎曲的花脈將花瓣拉開。在早上 05:00~06:00 花冠的表現達最大。翠蘆莉花冠的開放保持時間約 9~10 小時，當天下午約 1 點至 2 點，整個花冠突然脫離萼片，花冠離開植物體花瓣依然是綻放，最後殘留雌蕊，約 5~7 天發育為成熟果實。

二、時差和光週期對翠蘆莉開花的日律週期的影響：

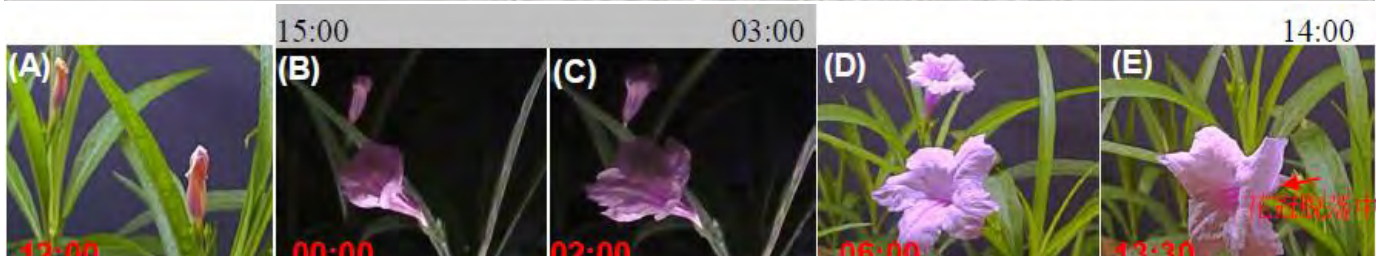
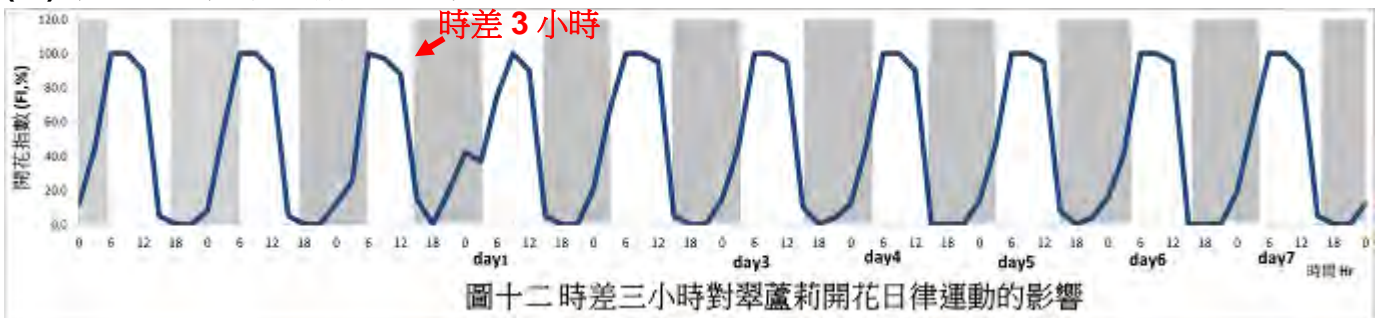
(一)人工光週期 12 小時 (白光馴化)



圖十一適應人工白光 12 小時光週期：(A)含苞狀況 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

我們由野外環境採集的翠蘆莉在實驗室進行人工光源馴化數週，觀察開花韻律週期和在野外環境相似，午夜十二點之後，翠蘆莉花苞陸續綻放，以 01:00 開花率達最高，開花指數(FI)在 05:00 清晨達 100%，開花時間維持 9~10 小時，花冠在 13:00 之後開始凋萎，約在 14:00 凋萎近半數。

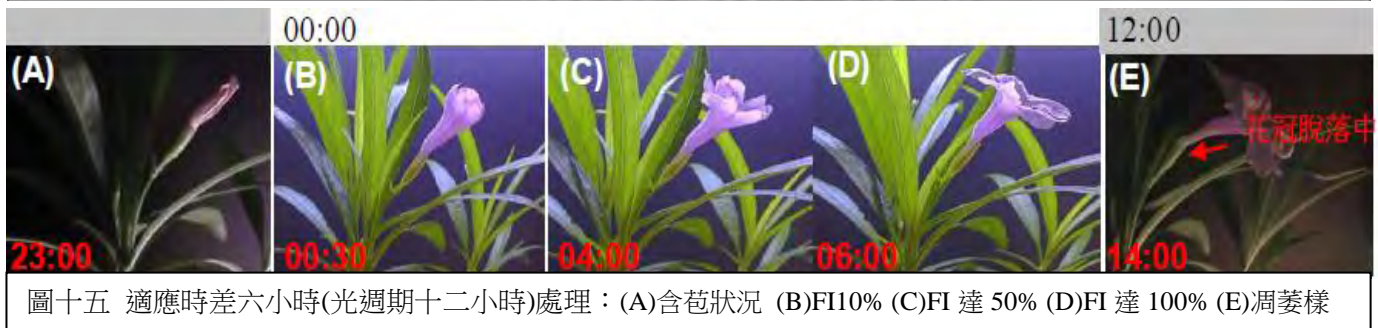
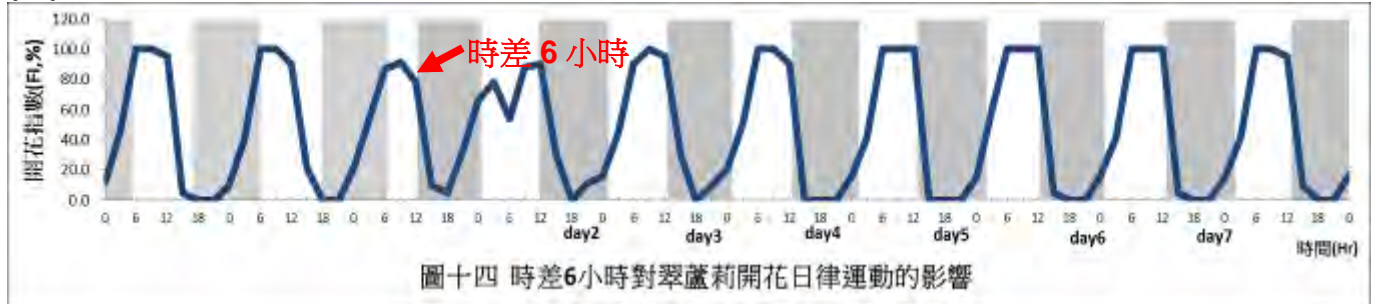
(二)時差 3 小時，光週期 12 小時



圖十三 適應時差三小時(光週期十二小時)處理：(A)含苞狀況 (B)FI10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

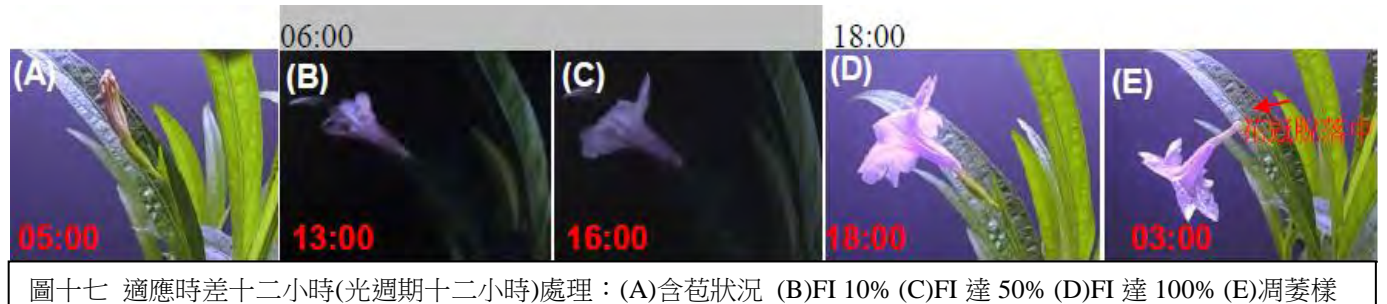
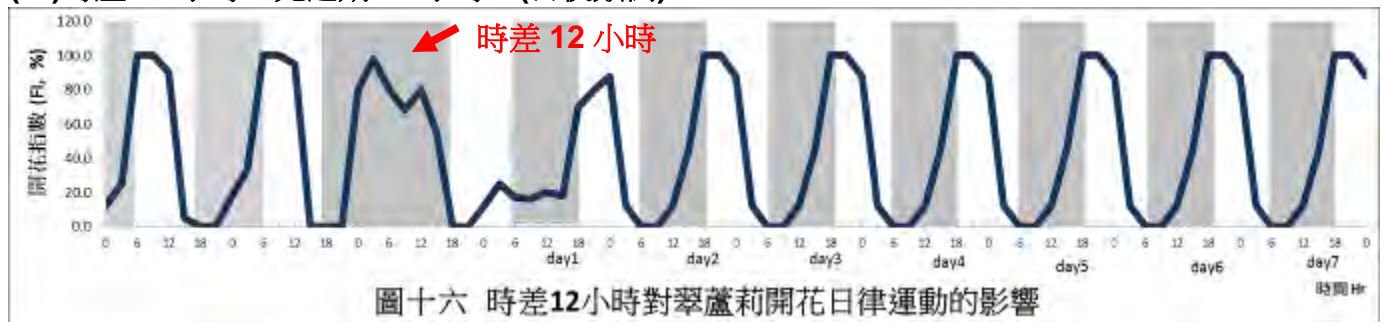
我們以人工光源做調整時差變化的試驗結果發現，時差三小時的外在光線條件的改變，對翠蘆莉的開花節律並無產生明顯的影響，其開花韻律仍受原來的內源性生理時鐘所控制，以 00:00 開花率達最高，開花指數(FI)在 06:00 達 100%，開花時間維持 8~10 小時，花冠在 14:00 之後開始凋萎。我們推論三小時時差環境中，翠蘆莉的生物時鐘機制明顯控制開花韻律的影響性高。

(三)時差 6 小時，人工光週期 12 小時

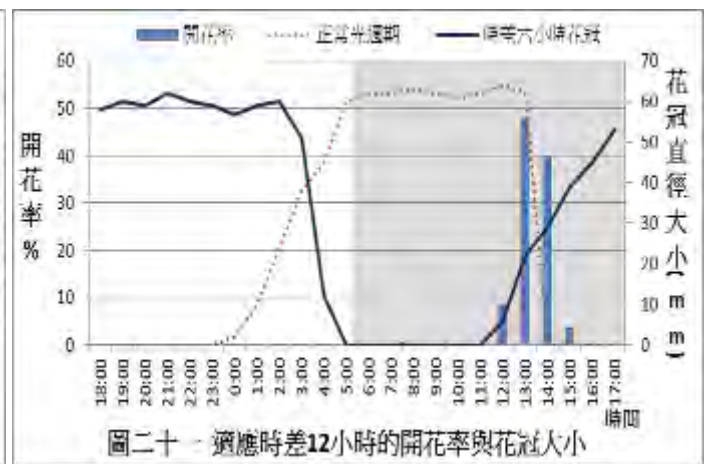
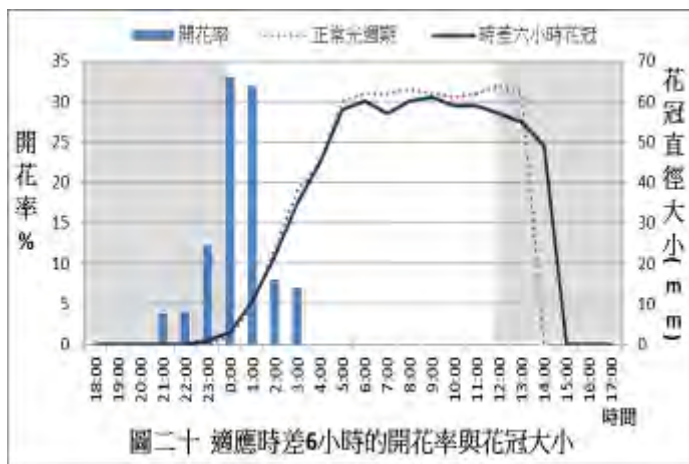
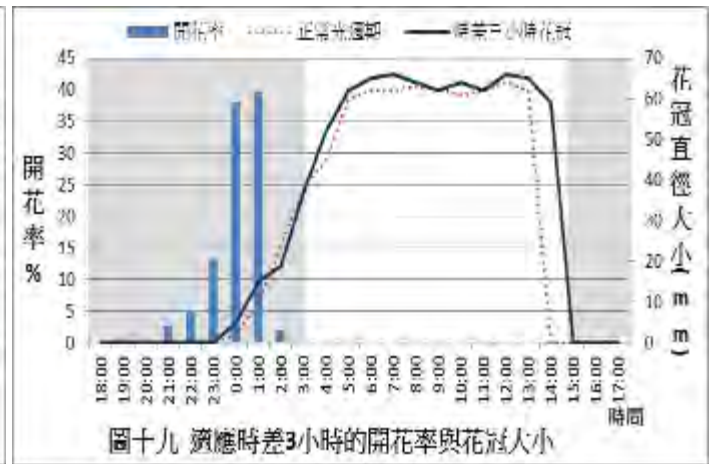
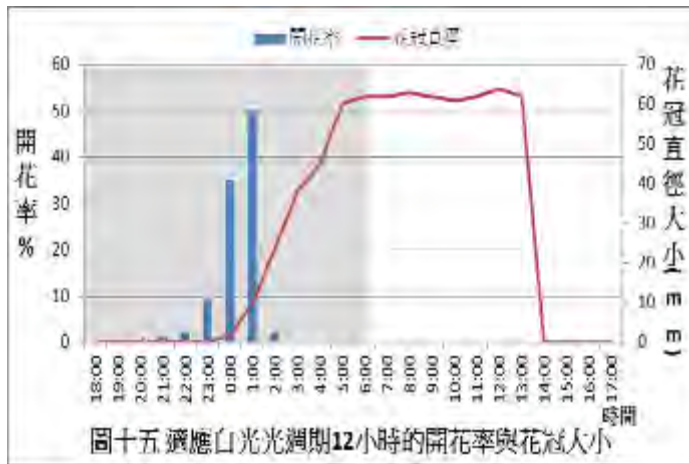


當小花苞受到時差六小時(00:00~12:00 光照)光週期十二小時處理後，翠蘆莉的開花節律受到明顯干擾，顯示生物時鐘受到時差影響改變開花時間。但是在第三天之後翠蘆莉開花時間依舊調整到黑暗期之後的凌晨 00:00 花苞開始打開，開花指數(FI)在 06:00 達 100%，花冠在下午 14:00 之後開始凋萎，開花韻律週期維持和原本生物時鐘相同，我們推測翠蘆莉度過調適期已經適應時差環境，在此時差環境條件下，翠蘆莉的生物時鐘機制控制開花日律運動比光線的影響強。

(四)時差 12 小時，光週期 12 小時 (日夜顛倒)



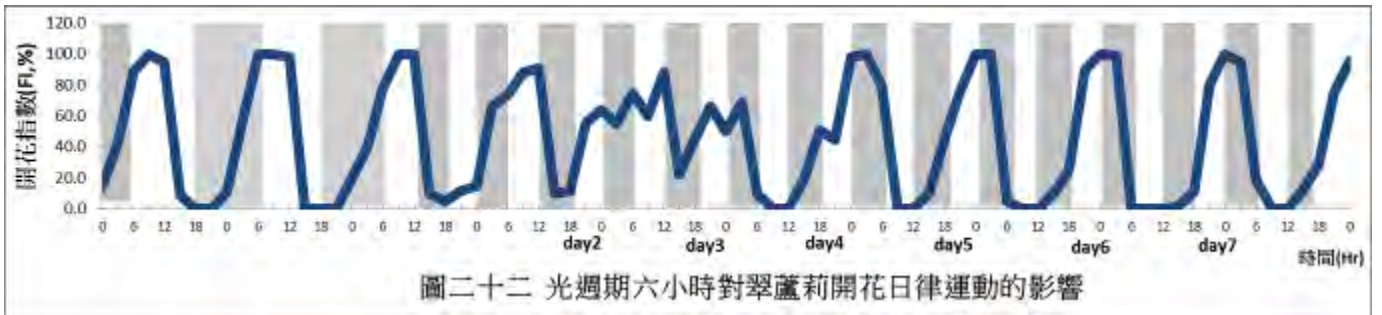
時差十二小時，光週期十二小時處理花苞連續三天後，翠蘆莉在白天(黑暗期 06:00~18:00)中 13:00 開花率最高，開花指數(FI)在 18:00 達 100%，開花時間約維持 9-10 小時，花冠在凌晨 03:00 之後開始凋萎。持續日夜顛倒處理第七天，開花韻律週期仍維持，顯示開花受到外在環境光線的影響，改變原有生理時鐘，因為光線重新分配建立新的內在性機制，翠蘆莉開花的生物時鐘確實被改變並重新調整，暗示外在環境對節律性行為的維持有相當重要性。



以人工光照配合正常晝夜節律時間，翠蘆莉開花行為維持一定韻律，凌晨 00:00 至 01:00 有最大的開花率，約在 05:00 花冠直徑達最大，開花時間長度維持 9~10 小時，大約在 13:00~14:00 有 80% 以上的花凋落。在「時差」實驗中，時差三小時(光照 03:00~15:00)和時差六小時(光照 00:00~12:00)組別中翠蘆莉大約依然在 00:00~01:00 開花比例達最高，而時差十二小時(光照 18:00~06:00)環境中的開花率最大值出現在 13:00~14:00，約在 03:00 多數花冠凋落。

「時差」實驗的結果似乎暗示開花時間發生在連續數小時的「黑暗期」中，除了開花時間改變，而開花率、花冠直徑大小和花冠維持的開花長度在這四組處理中沒有顯著的差異。我們得知翠蘆莉原本開花行為的生理時鐘會受到「時差」的影響而產生一定程度的干擾，甚至受到外在環境光照、黑暗的改變而重新建立新的內在性生理時鐘，在這模式下我們所探討光照和黑暗變因在開花生理時鐘何者訊號扮演「通知」開花，什麼因子又掌握開花長度和花冠的維持，是我們感到好奇的。

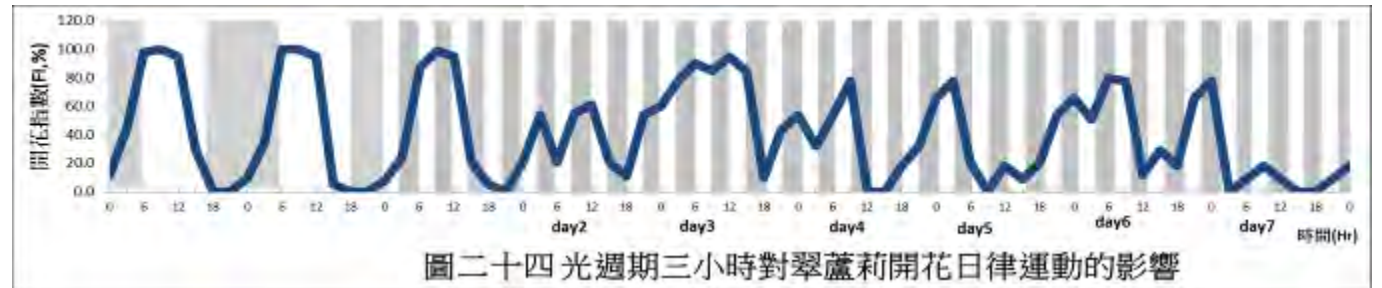
(五)光週期 6 小時 (光期：暗期=6hr：6hr)



圖二十三 適應人工白光光週期六小時處理：(A)含苞狀況 (B)FI 10% (C)FI 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

翠蘆莉會因為光線改變重新調整生物時鐘，我們以光週期六小時處理花苞後，前三天翠蘆莉的開花時間錯亂，表示翠蘆莉生物時鐘因為光週期改變造成開花節律不一致。但是第四天之後開花時間似乎出現規律，在 17:00~18:00 開花率最高，開花指數(FI)在 00:00 午夜達 100%，花冠在 06:00 之後開始凋萎，開花時間只維持約 6~7 小時。我們推測翠蘆莉因為光線重新分配建立新的生物時鐘，18:00~00:00 照光刺激改變原本黑暗環境，導致原本凌晨 01:00 開花的生物時鐘提早打開花苞，且花冠維持時間明顯縮短，內在生理機制似乎重新建立以適應新的光源環境。

(六)光週期 3 小時 (光期：暗期=3hr：3hr)

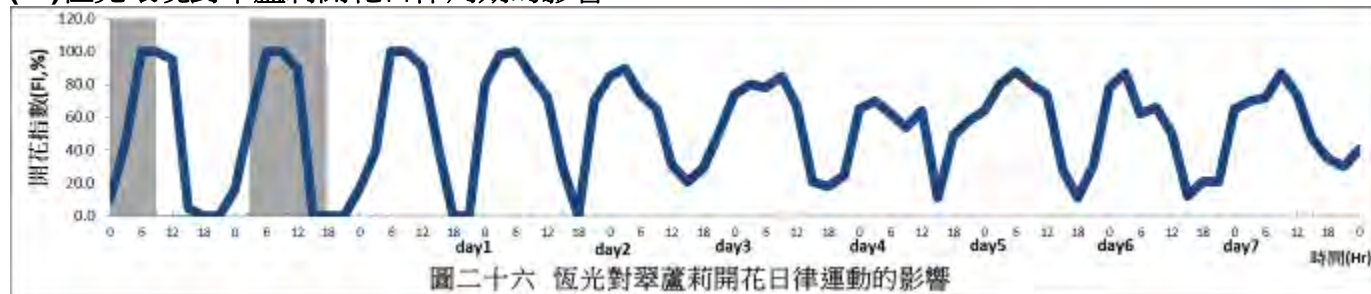


圖二十五 適應人工白光光週期三小時處理：(A)含苞狀況 (B)FI 10% (C)FI 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

光週期三小時處理花苞第一天，翠蘆莉開花時間在 00:30 開花率最高，開花指數(FI)在 06:30 清晨達 100%，花冠在凌晨 14:30 之後開始凋萎。但是持續處理第三天，開花韻律週期明顯混亂，開花時間不正常，顯示開花受到快速晝夜節律變化，改變原有生理時鐘，而且生成的花苞愈來愈小，甚至花苞未綻放即凋落，開花率明顯降低，我們猜測光線三小時或黑暗三小時無法引發開花，翠蘆莉生物時鐘無法建立，暗示光線和黑暗的「連續長度」對開花發生有相當重要性。

三、恆亮和恆暗環境對翠蘆莉開花的日律週期的影響：

(一)恆亮環境對翠蘆莉開花日律週期的影響



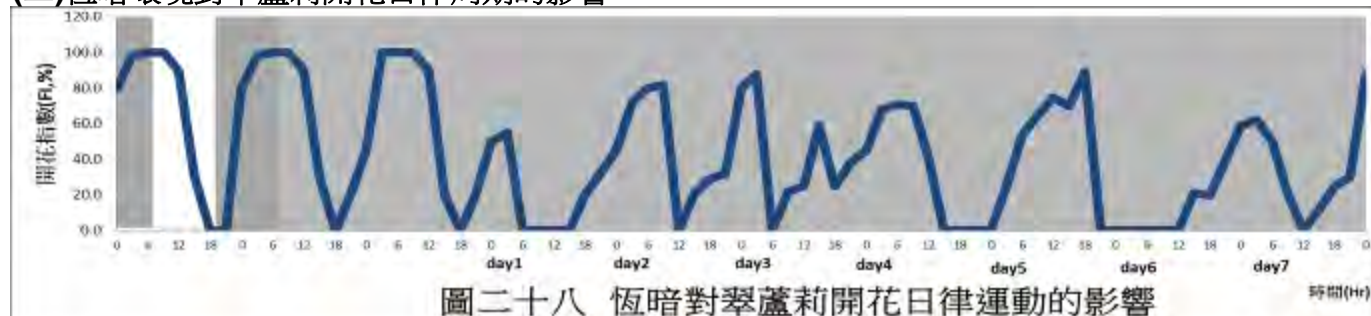
圖二十六 恆光對翠蘆莉開花日律運動的影響



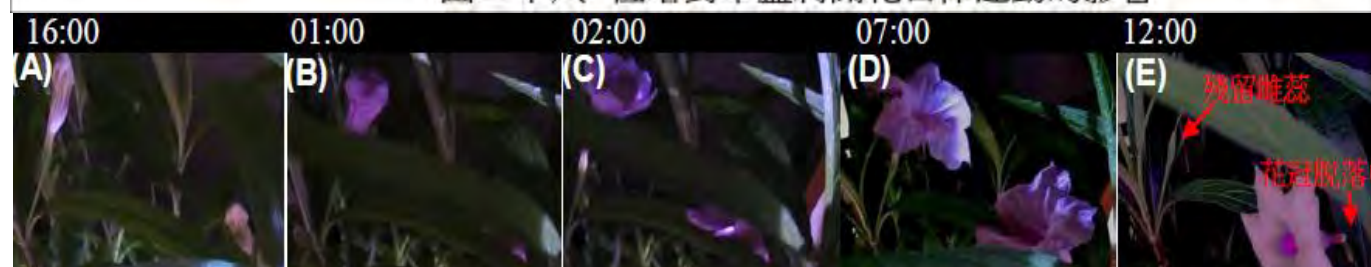
圖二十七 適應人工白光持續處理(恆光)：(A)含苞狀況 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI100% (E)凋萎樣

將翠蘆莉置於持續光照中，我們發現翠蘆莉在前兩天仍會進行「開花日律運動」，沒有光照與黑暗的晝夜節律，生物時鐘不受外界環境控制，由翠蘆莉本身的內生性機制控制開花運動，在晚上 00:00 開花率最高，開花指數(FI)在 05:00 達 100%，花冠在下午 14:00 之後開始凋萎，但持續在這種「沒有時間」(time-free)的情況下，開花韻律明顯受到干擾，無法「統一」花苞綻放的時間，似乎缺少「通知」開花的訊號。我們推測在恆光環境中翠蘆莉的生物時鐘雖然無法統一控制開花運動，但光源的刺激仍會影響開花，開花率達 100%，花冠維持時間仍有 9~10 小時。

(二)恆暗環境對翠蘆莉開花日律週期的影響

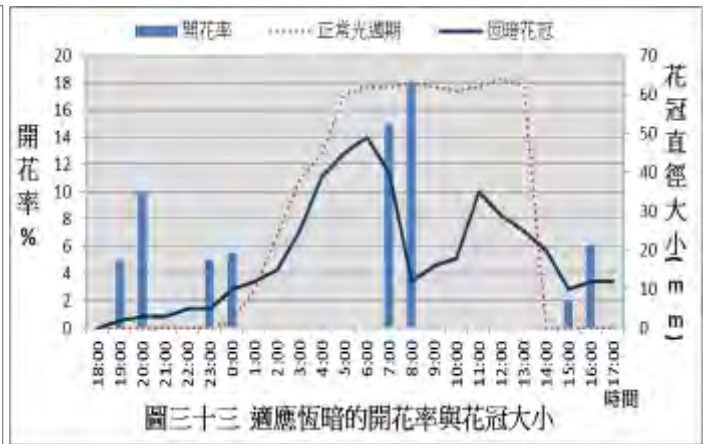
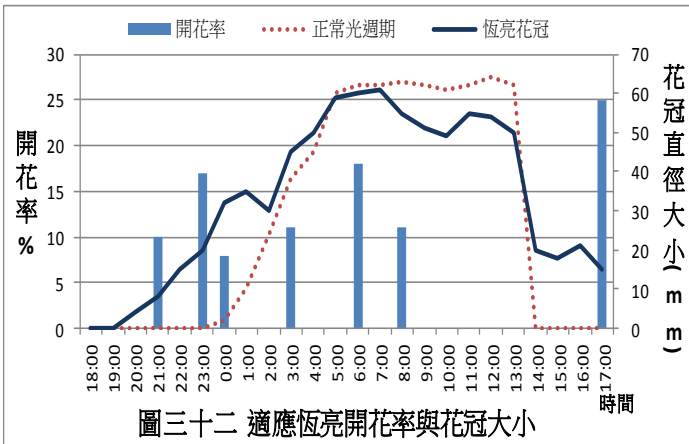
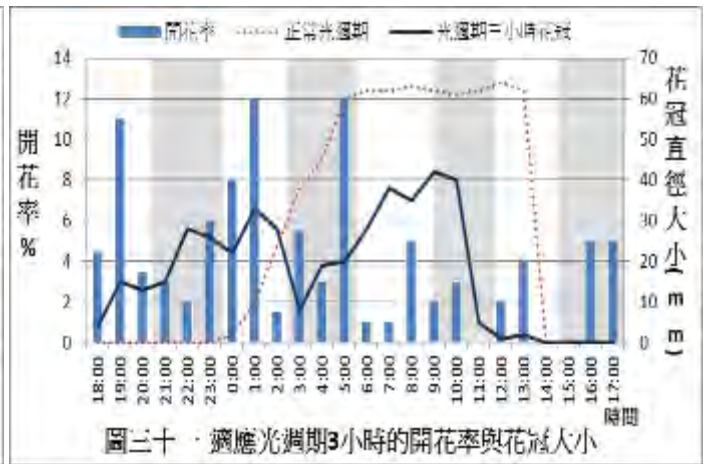
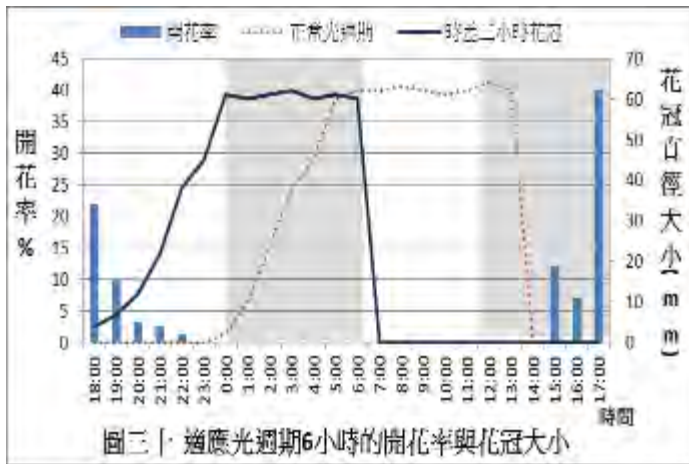


圖二十八 恆暗對翠蘆莉開花日律運動的影響



圖二十九 適應恆暗環境處理：(A)含苞狀況 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

翠蘆莉在恆暗環境連續多天，開花的時間呈現出不規律情形，開花時間出現在晚上 20:00~凌晨 02:00，我們推測在恆暗環境中，由於缺乏光環境轉變至暗環境的瞬間刺激，造成開花率明顯降低，花苞多數無法正常發育，暗示黑暗和光照的變化，對花苞的綻放似乎是必須的，且「恆暗」中翠蘆莉花冠維持時間相較正常光週期或恆光環境明顯縮短，只有維持 4~8 小時，翠蘆莉開花日律運動雖然和生物時鐘有關，但光照似乎提供某程度的能量或訊息以維持生物時鐘的規律性。



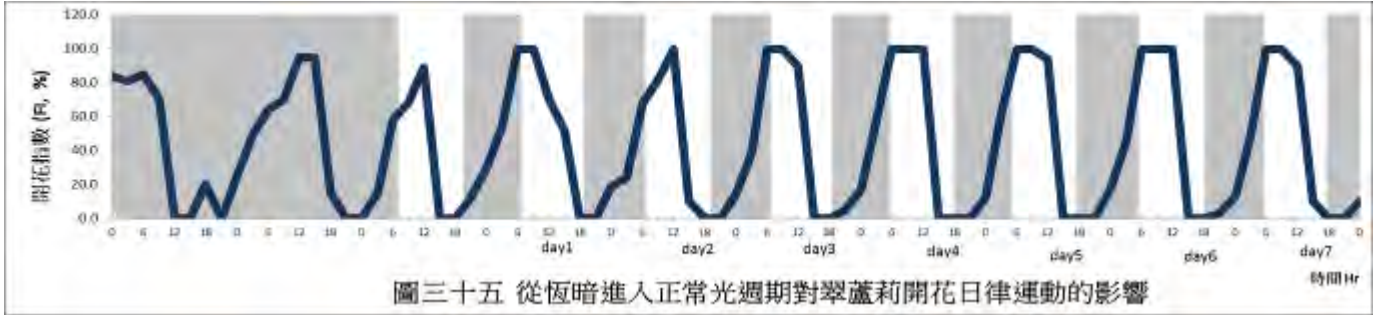
以不同「光週期」的人工光照下，我們發現翠蘆莉開花時間在適應光週期六小時相較於光週期三小時有明顯的開花韻律，翠蘆莉在光週期六小時(光照 06:00~12:00 和 18:00~00:00)組別中，大約在 17:00~18:00 達 50%以上的開花率，開花指數在 00:00 出現最大值，花冠大小和對照組差異不大，但開花時間長度有縮短趨勢，然而光週期三小時的翠蘆莉花苞發育明顯受到抑制，且開花時間紊亂，此兩者相比得知，光照或黑暗的時間「長度」明顯影響了花苞的發育和開花的韻律發生。光週期太短導致翠蘆莉無法建立內在性生物時鐘，進一步我們好奇翠蘆莉如果在「沒有時間」(time-free)的情況下，其開花行為是否還受到生物時鐘的操控。

不論在恆光或恆暗的環境中，翠蘆莉皆無「統一」開花時間，但恆光下的開花率和花冠維持的開花時間長度，相較對照組(光週期十二小時)沒有明顯差異，而「恆暗」下的花苞發育則不正常，花苞型態極小且無法轉紅變厚，且開花率低，開花時間也只有 4~8 小時。綜合以上結果，

我們推測光照和黑暗的長度以及由光轉黑暗或黑暗轉光照的瞬間變化，似乎可以提供某種信號來「通知」翠蘆莉開花和建立開花的生物時鐘，而光照則能供應能量或者光受體影響滲透壓的變化在誘導花苞發育、開花發生和花冠維持的時間長度上扮演極為重要的角色。

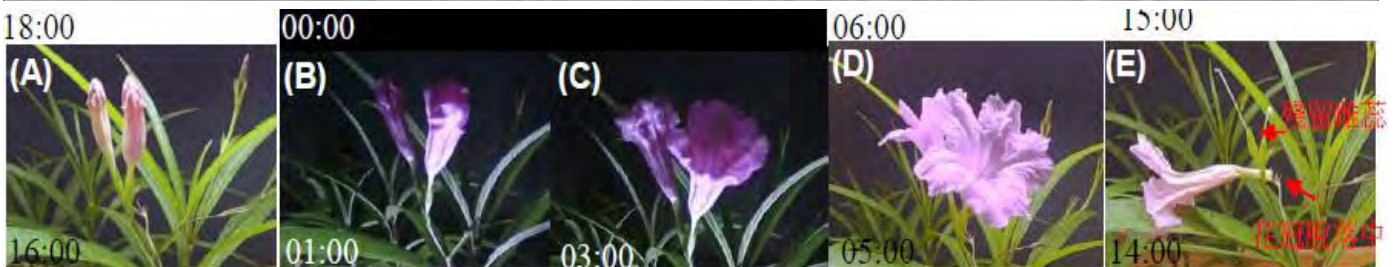
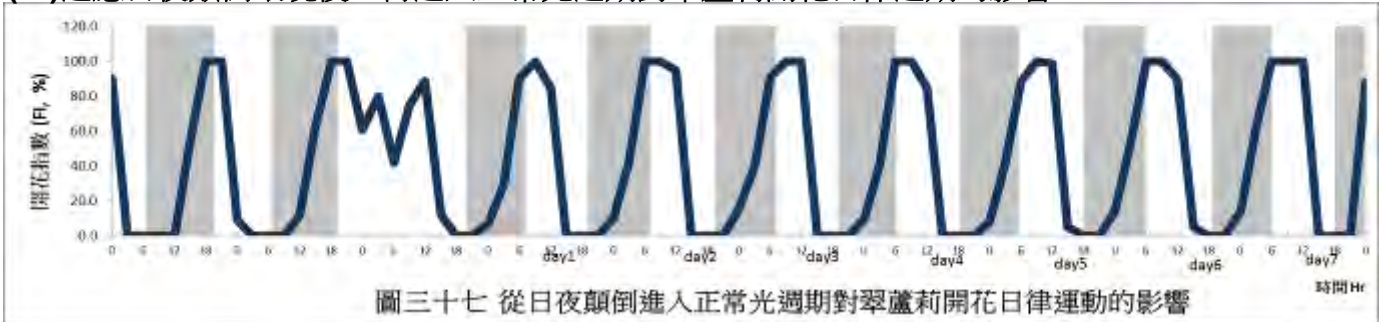
四、翠蘆莉開花生物時鐘對環境光線的調適能力的探討：

(一)適應恆暗環境後，再進入正常光週期對翠蘆莉開花日律週期的影響：



原本翠蘆莉在恆暗環境連續多天，花苞發育慢且綻放時間呈現出不規律的情形，但翠蘆莉重新進入正常晝夜節律光週期中，開花的韻律運動漸漸出現「統一」步調，花苞綻放時間在晚上 00:00~01:00 達最高比例，開花指數(FI)在 05:00 達 100%，花冠在下午 13:00 之後開始凋萎，我們推測晝夜節律確實影響翠蘆莉生物時鐘的表現進而誘導開花日律運動，光線和黑暗在開花的生物時鐘似乎提供了能量促使開花或通知訊息的角色來維持生物時鐘的規律性。

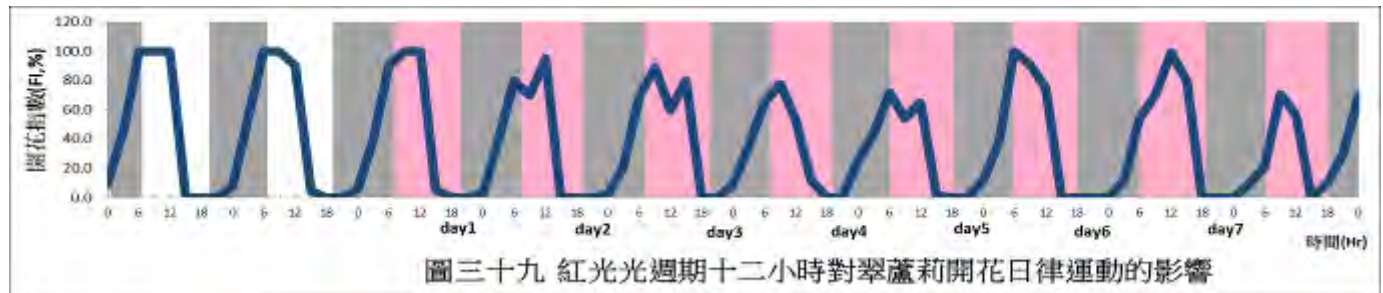
(二)適應日夜顛倒環境後，再進入正常光週期對翠蘆莉開花日律週期的影響：



原本晝夜顛置連續處理翠蘆莉，翠蘆莉重新建立新的生理時鐘，在 13:00 開花率最高，開花指數(FI)在 18:00 達 100%。但回到正常晝夜光週期環境中，開花韻律的生物時鐘又回到原本生物時鐘，花苞在晚上 00:00~01:00 綻放，開花指數(FI)在 05:00 達 100%，花冠在下午 13:00 之後開始凋萎，我們推測翠蘆莉開花的生物時鐘明顯受到外在環境光線的變化影響，其開花機制會因為環境晝夜節律改變而重新調整，配合光線而產生規律的開花運動。

五、不同光質對翠蘆莉開花日律週期的影響

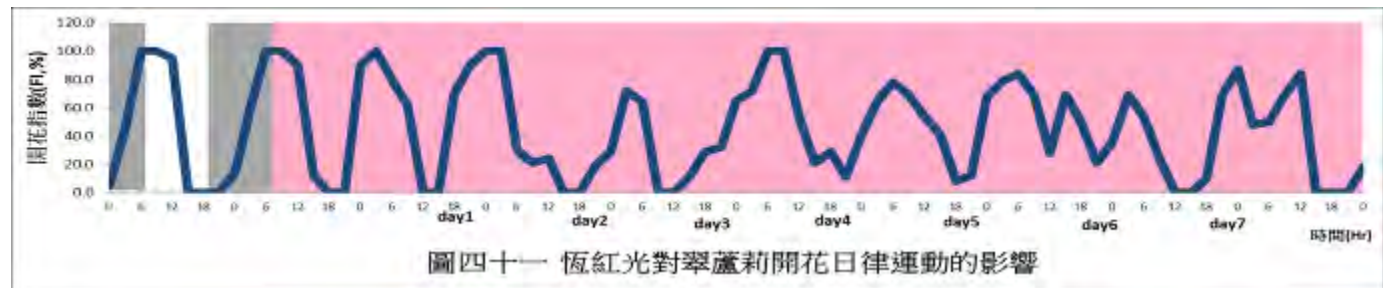
(一)紅光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響



圖四十 適應紅光光週期十二小時：(A)含苞 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

以 **LED 紅光**處理翠蘆莉在正常光週期中，花苞仍正常發育，且能進行開花發生，每朵花冠直徑大小和開花時間長度相較白光對照組，沒有明顯差異，只是出現開花時間紊亂，沒有「統一」在固定時間綻放，大多數的花苞相較白光處理出現開花時間延遲，推測白光之中的紅光波長對於啟動開花發生機制產生延宕，沒有提供開花的「信號」，開花運動可能是藉由體內內源性機制引發，但紅光作用似乎可以維持開花時間。

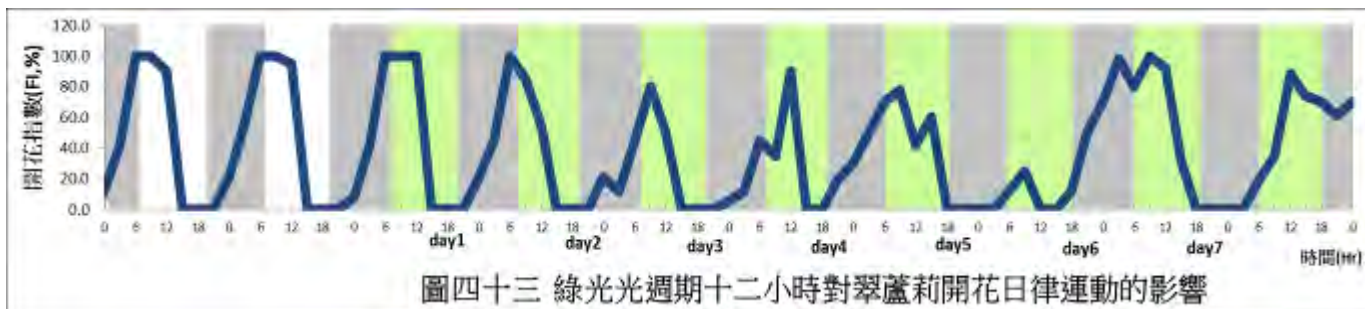
(二)恆紅光對翠蘆莉開花日律週期的影響



圖四十二 適應恆紅光處理：(A)含苞狀況 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

以人工 **LED 紅光**光源連續處理翠蘆莉多天，發現開花無明顯規律運動，缺少光照和黑暗的瞬間變化刺激和黑暗期的「睡眠」時間，紅光波長仍能啟動訊號引發開花的發生，以及維持開花行為，故開花率仍達 **100%**，及花冠最大直徑，開花時間長度和白光處理之間無明顯差異。

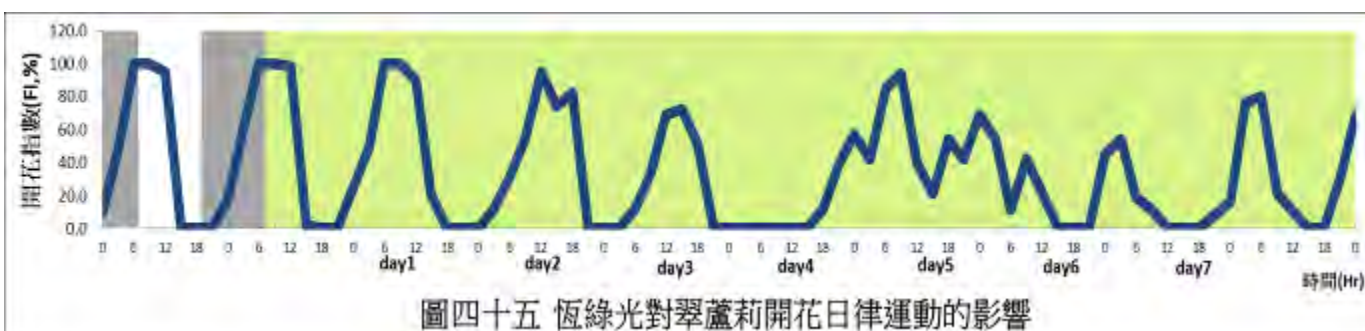
(三)綠光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響



圖四十四適應綠光週期十二小時：(A)含苞(B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

以人工 LED 綠光光質正常光週期處理翠蘆莉，發現花苞發育的速度減緩，40%以上的花苞未發育成熟即枯萎凋落，花瓣初綻的花苞也相較正常白光組別小，而且綠光下的翠蘆莉開花時間極短，平均只有 4-6 小時，顯示綠光似乎無法提供訊號或能量進行開花所需，我們推測外在環境的光源似乎沒有啟動翠蘆莉的開花生理時鐘，翠蘆莉開花的機制不受綠光影響。

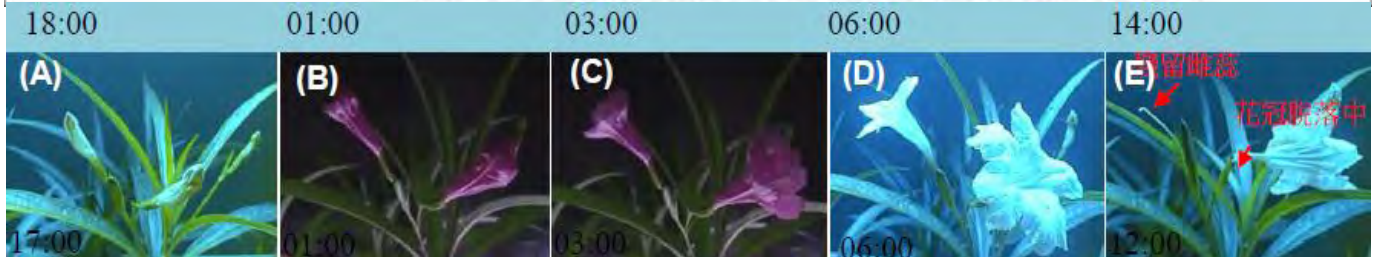
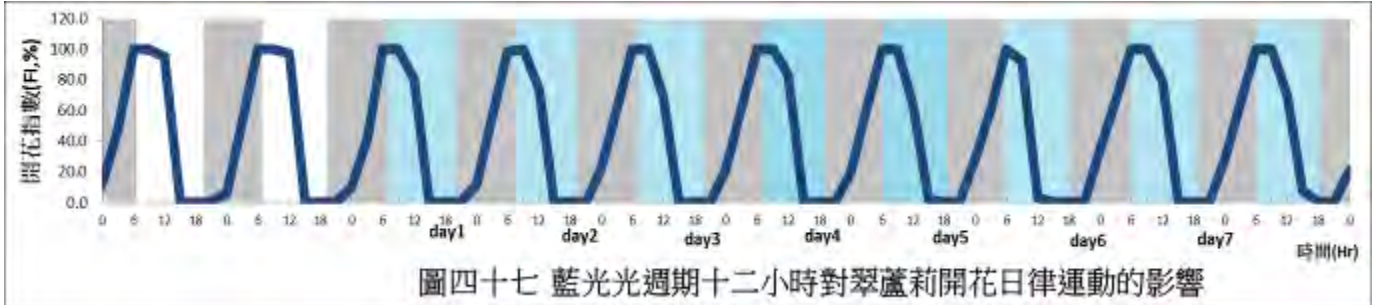
(四)恆綠光對翠蘆莉開花日律週期的影響



圖四十六 適應恆綠光處理：(A)含苞狀況 (B)FI 達 10% (C)FI 達 50% (D)FI 達 100% (E)凋萎樣

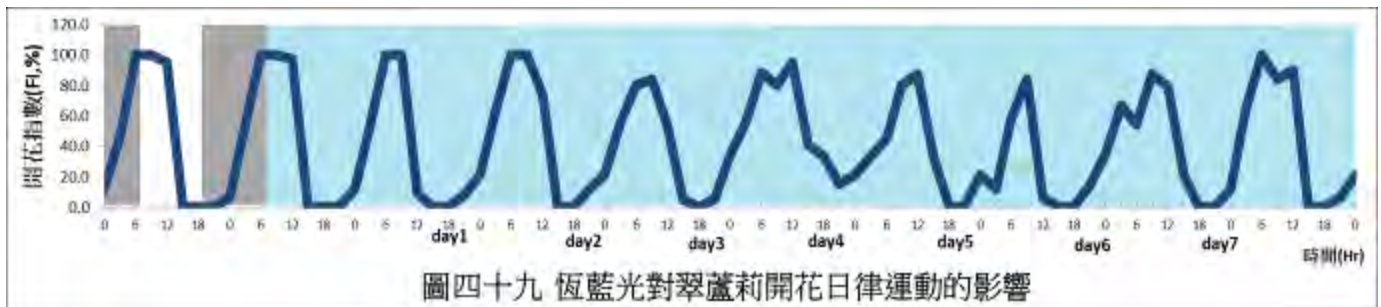
以人工 LED 綠光光源連續處理翠蘆莉多天，開花的時間呈現出不規律的情形，外在環境的光源似乎沒有啟動生物時鐘的進行，而且花苞發育成熟率降低，多數花苞未發育花即枯萎。我們推測翠蘆莉可能沒有綠光接受器，無法感應綠光的刺激，缺少了提供某程度的能量或訊息以維持生物時鐘的規律性。

(五)藍光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響



我們利用藍光光質以正常光週期處理下，午夜十二點之前，翠蘆莉花苞陸續綻放，以 **01:00** 開花率達最高，開花指數(FI)在 **06:00** 清晨達 **100%**，但開花時間長度縮短只有 **6~8** 小時，花冠在 **12:00~14:00** 開始凋萎，其開花的日律運動大致和白光處理相似，我們推測翠蘆莉具有藍光受器可以接受藍光刺激，「統一」啟動內在性機制促進開花發生。

(六)恆藍光對翠蘆莉開花日律週期的影響



以人工 **LED** 藍光持續處理翠蘆莉，開花的時間雖然在缺乏「睡眠」環境中呈現不規律，但是我們發現每天的開花時間比起前一天有提早的趨勢，但是處理七天之後所成長的小花苞在藍光刺激下，開花時間在下午 **16:00** 開花率最高，開花指數(FI)在晚上 **22:00** 達 **100%**，花冠在凌晨 **03:00** 之後開始凋萎，開花時間明顯縮短，外在環境的光源似乎控制開花日律運動的進行，我們推測翠蘆莉受到藍光的刺激，可能因為滲透壓和膨壓變化，或者細胞內訊息分子參與累積足夠能量

陸、實驗討論

一、翠蘆莉開花時間之探討：

生物時鐘在植物除了葉片的日出而作、迎光而舞，日落而息的睡眠效應，其他器官如花朵與時間的關係，因不同花對光線、日照長度或溫度的反應不同，包括一日之中開花時段的不同，一年之中開花季節不同，而形成「花時」、「花季」的差異。舉例春季開花有玫瑰、百合等；夏季開花的有康乃馨、海芋等；秋季開花的有石蒜等；冬季開花的則有聖誕紅、太陽花等。而以一天來說，睡蓮在清晨六點開花；向日葵則在早上九點開花；下午開花的有台灣灰毛豆，下午一點開花，晚上七點枯萎；夜晚開花的有曇花，開花的時間在晚上七點至凌晨兩點鐘。也就是說不同植物有特定的開花時間，如果觀察不同植物的開花時間，可以大略知道目前的時刻，且相當準確—林奈把這個發現稱之為「花鐘」，這是植物演化特殊的開花策略，讓花朵開得合時合宜(張英杰, 2011)。我們的研究中發現翠蘆莉在自然光週期下維持極有規律的開花週期，午夜十二點之後，80%的花苞陸續綻放，以 01:00 開花率達最高，開花指數(FI)在 05:00 清晨達 100%，開花時間維持 8~10 小時，花冠在 13:00 之後開始凋萎，我們好奇翠蘆莉的花開花落所蘊含的目的和意義？

開花植物大約有 25 萬種，而花是生命繁衍的重要過程，常見的植物中，大多是白天開花，這是因為在陽光下，清晨時花表皮細胞內的膨脹壓大，上表皮細胞生長快，於是花瓣便向外彎曲、花朵盛開，在白天的陽光下，花瓣內的芳香油容易揮發，能吸引昆蟲前來採蜜，為他們傳粉，有利於植物結籽和傳宗接代，白天開花的植物，主要是依靠蜜蜂和蝴蝶進行傳粉的，由蜜蜂傳粉包括唇形科的一串紅和玄蔘科的金魚草等，而蝴蝶要到早上九點之後才翩翩起舞，所以依靠蝴蝶傳粉的花便在上九點之後開放(Putterill et al., 2004)。有的花習慣在晚上開花並且開的花一般是白色，常見的有夜來香、曇花、月見花等，這些花之所以在晚上開花，因為晚上沒有陽光，氣溫較低、蒸發量小，晚上才開的花大多數都會散發撲鼻的芬芳，因為晚上太黑，昆蟲無法看見它們，它們靠著香味引誘晚上出沒的蛾類前來傳播花粉繁殖後代。也有些植物既可以利用白天的傳粉者，又可以利用夜間活動的昆蟲進行授粉。例如，忍冬科植物忍冬，俗稱金銀花，因其花有黃、白兩色而得名，對這種植物的研究發現，白天有蜂類訪花，夜間有蛾類昆蟲訪花。蜂類雖然從花藥中移出了較多的花粉，但也消耗了大部分花粉，相對而言採食花蜜的蛾類傳粉效率更高，且可將花粉散布得更遠，所以金銀花通常在黃昏後開花，先讓蛾類傳粉(許再文, 2015)。我們猜測午夜開花的翠蘆莉似乎和金銀花一樣，花和傳粉者間如此完美搭配可能是長期共演化累積的結果。

自然界中大多數開花植物的傳粉過程都不是孤立完成的，而是與環境中共同開花植物一起進

行。區域內花期彼此交疊的植物共同供養傳粉者，並共同分享傳粉者的服務。生境破碎化（生物物種、種群、群落的生存繁衍出現干擾或者環境溫度、光線分割、劇變過程）是當前生物生長與繁殖面臨的重大挑戰，於是我們以翠蘆莉開花韻律為研究對象討論當面臨環境的時差和光週期的變化，其開花行為被干擾的程度。

二、生理時鐘(內在性因子)和環境光線(外在因子)交互影響翠蘆莉開花之研究：

開花是植物從營養生長轉化到生殖生長的重要階段，在許多文獻探討中目前已知花芽的形成受到四個主要的途徑所調節：光週期，溫度，植物荷爾蒙(主要為 GA)及自主性(autonomous)開花調節途徑，任何一因子的變動都會造成植物開花誘導過程不同程度的影響(van Doorn and van Meeteren,2003)。我們的實驗探討外在環境光線的改變對植物開花節律行為的維持，我們推測翠蘆莉是日中性植物，因為我們觀察翠蘆莉在恆暗環境中的實驗發現翠蘆莉依舊可以開花，只是開花不具有規律性；比對了光週期 12 小時的實驗中發現:光可以提供訊號以維持開花的規律性。當我們以人工光源做調整時差變化，發現時差三小時的外在光線條件的改變，對翠蘆莉的開花節律並無產生明顯的影響，其開花韻律仍受原來的內源性生理時鐘所控制，可是當小花苞受到時差六小時處理後，翠蘆莉的開花節律受到明顯干擾，顯示生物時鐘受到時差影響改變開花時間，在第四天之後的翠蘆莉已適應光週期改變，開花時間調整到 0:00 花苞開始打開，開花指數(FI)在 06:00 達 100%，花冠在 14:00 之後開始凋萎，此開花韻律週期維持和原本生物時鐘相同，我們推測翠蘆莉度過調適期有能力適應時差環境，在此時差環境條件下，翠蘆莉的生物時鐘機制仍可配合環境因子的改變，出現規律的開花行為。可是在晝夜顛倒環境的翠蘆莉 13:00 開花率最高，開花指數(FI)在 18:00 清晨達 100%，開花時間約維持 9-10 小時，花冠在凌晨 03:00 之後開始凋萎，本實驗和夜間開花的曇花相符，當花蕾長約 3 公分時，若於白天遮住陽光而於夜間行人工光源照射，將會改變其夜間開花的習性反倒於白天開花(林郁馨，2011)。外在環境的指令如晝夜顛倒的光線改變，可以調節生物體內的生物時鐘，使生物體所表現的開花行為能和外界(變化)同步化，這也表示生物時鐘是可以被重新設定的，在自然狀況下，環境的周期性變化在某程度下可以不斷地設定生物時鐘的準確性，使生物體內能適應環境周而復始地變化，翠蘆莉的生物時鐘確實被改變並重新調整，暗示外在環境對節律性行為的維持有相當重要性。

翠蘆莉會因為光線改變重新調整生物時鐘，我們改變光照和黑暗的長度，以光週期六小時處理花苞後，在第四天之後開花時間似乎出現規律，在 17:00(暗)開花率最高，開花指數(FI)在 00:00 午夜達 100%，花冠在早上 06:00 之後開始凋萎，開花時間約維 6~7 小時。我們推測翠蘆莉因為光線改變重新調整建立新的生物時鐘，18:00~00:00 的照光刺激改變原本黑暗環境，導致原本凌

晨 01:00 開花的生物時鐘提早約六~八小時打開花苞，內在生理機制似乎重新建立以適應光週期六小時的光源環境。但是光週期三小時的環境中，開花韻律週期明顯混亂，開花時間不正常，生成的花苞愈來愈小，甚至花苞未綻放即枯萎凋落，我們猜測光線三小時或黑暗三小時無法引發開花，翠蘆莉的生物時鐘無法建立，暗示光線和黑暗的長度對開花的發生有相當重要性。結合「時差」和「光週期」實驗結果，翠蘆莉的「統一」開花時間大多落在「黑暗期」中或黑暗期之後，且「黑暗」時間長度必須足夠，才能產生信號來「通知」開花。研究也證明許多植物的開花和明暗時間的相對長度有關，這些植物必須達到一定的時間的光週期後才能開花(林郁馨，2011)。接著我們將翠蘆莉置於持續光照或黑暗環境中，我們發現翠蘆莉在「沒有時間」下不會出現在固定時間開花，原本的開花韻律週期被瓦解了，我們推測由光環境轉變至暗環境的瞬間刺激，對花苞的綻放似乎是必須的，也就是植物開花是需要「睡眠」，而光源可以刺激花苞打開，促進開花運動的進行。翠蘆莉開花日律運動雖然和生物時鐘有關，但光照則可誘導，似乎提供某程度的能量或誘發光受體影響滲透壓的改變以維持生物時鐘的規律性。

三、光質色素系統對翠蘆莉開花所扮演調控角色之探討：

植物利用各種光受體(photoreceptor)來接受並整合環境中各種波長的光，文獻研究阿拉伯芥的光受體發現紅光與遠紅光的受體為光敏色素(phytochrome)，藍光與紫外光則由隱花色素(cryptochrome)、向光素(phototropin)等蛋白質接受，這些光受體蛋白質會與載色體(chromophore)結合，吸收特定波長的光線，然後發生結構上的改變。以光敏素為例子，它在接受紅光後會先磷酸化自身，接著活化下游的蛋白質或基因，以達到傳遞光訊息的目的(王瑛，2012)。光色素受體系統接受到光訊號開始，啟動一連串設定開花時間的基因，且當季節變換時，隨著白晝時間的改變，隱花色素及光敏色素的活化數量、相對比例可能也隨之改變，當訊息傳遞到植物的細胞核時，影響其他基因表現，也造成開花週期的變動(林郁馨，2011)。例如短日照植物的青萍，一定要在一天中至少有 9 小時的連續黑暗才會開花，可是以藍光連續照射 24 小時，卻能使沒有接受 9 小時連續黑暗的青萍開花，雖然目前並沒有理論能夠解釋這種現象，但此例可知藍光可能會影響植物的開花(Runkle and Heins,2001)，在阿拉伯芥的研究也發現藍光可以調節其花芽生成及外觀型態(楊純明，2009)和在 $75\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的藍光和藍光/紅光比例 <1.0 的 LED 照射將抑制番茄幼苗生長期間的生長並促進開花(Nanya,N.,2012)。我們實驗結果發現以 LED 紅、綠、藍光分別處理翠蘆莉十二小時光週期，紅光中翠蘆莉開花無明顯規律的日律運動，紅光波長對於啟動開花發生機制產生延宕，但開花的時間長度受到影響明顯拉長花期。當藍光以一般正常光週期處理下，午夜十二點之前，翠蘆莉花苞陸續綻放，以 01:00 開花率達最高，開花

指數(FI)在 06:00 清晨達 100%，但開花時間僅維持 5~6 小時，花冠在 11:00 之後開始凋萎，全部花冠在 13:00 凋落，我們推測翠蘆莉具有藍光受器可以接受藍光刺激，促使內在性機制啟動開花發生，以人工 LED 藍光光源翠蘆莉連續多天，開花的時間雖然呈現不規律，但是我們發現每天的開花時間比起前一天有提早的趨勢，但是處理七天之後所成長出的小花苞在藍光刺激下，開花時間在下午 16:00 開花率最高，開花指數(FI)在晚上 22:00 達 100%，花冠在凌晨 03:00 之後開始凋萎，開花時間明顯縮短，外在環境的光源似乎控制開花日律運動的進行，我們推測翠蘆莉受到藍光的刺激，而藍光具有高度的能量，翠蘆莉累積足夠的能量啟動內在性機制控制開花時間，如果接觸藍光過多，尤其是在錯誤的時間暴露於藍光之下，植物機體信號系統就會發生紊亂。我們也發現綠光處理的翠蘆莉花苞發育慢，40%以上的花苞未發育成熟即枯萎凋落，花瓣初綻的花苞也相較正常白光組別小，而且開花時間極短，平均只有 4-6 小時，顯示綠光似乎無法提供能量維持開花所需，我們推測外在環境的光源似乎沒有啟動翠蘆莉的開花生理時鐘，翠蘆莉開花的機制受到綠光的影響極低，綠光下的翠蘆莉缺少了提供某程度的能量或訊息以維持生物時鐘的規律性。綜合結果我們的實驗發現不同光質影響翠蘆莉的開花和花落時間，花的開放和閉合可能是由於不同的生長，或者可逆的細胞膨壓的變化(張英杰，2011)，如同保衛細胞的開閉因為藍光受體影響細胞滲透壓造成保衛細胞膨壓的變化，在龍膽花的實驗中花瓣內側表皮細胞白天擴大、在晚上縮小，上表皮的滲透壓在白天是黑夜的兩倍，因為膨壓的變化影響花的開放運動。

四、LED 系統應用於花卉作物培育之未來展望：

本實驗結果得知光週期和光質會明顯改變翠蘆莉的開花發生，近年來全球暖化趨勢愈加明顯，表面上未直接影響日照，可是天氣的改變可能會造成光質、光量及光週期的起伏變動，這些變化可能影響農業生產環境和植物光週期的長遠效應，當氣溫上升帶來雲霧增加會影響光輻射量和光週期的差異，我們可以預期全球暖化帶來的氣候變遷，將會影響植物的光週期，而開花期的變化或不穩定可能進一步對農作物帶來生產的不確定性。我們預期透過選用合適的 LED 光源於人工栽培管理系統，包括健康種苗的健化、果實與花卉產期的調整，當我們了解植物(作物)發育過程中轉換的「環境訊號」誘導花芽的分化及開花，在產業應用上，LED 燈可以提供所需的光輻射強度及品質，建構出最佳的光環境及相配合條件，利用花卉植物的感光性及對於光週期的反應，來調節開花期(達到開花所需天數)甚至開花品質(如花開天數、花朵數和花朵大小)，提高栽植花卉的經濟價值和競爭力。在未來進一步如果可以了解植物花卉產期調節究竟調節了那些開花調節基因，也許可以設計出更有效率的方式而達成產期調節的目的，在基礎科學中如果可以建立各種作物中開花基因的表現圖譜，在產業中可以藉由此圖譜發展出各種作物產期調節的方式。

柒、結論

1. 翠蘆莉開花由生物時鐘內在性機制和外在環境晝夜改變來設定，導致翠蘆莉開花的機制出現規律的週期變化，在凌晨 00:00 開花率最高，F.I.在 05:00 出現最大值，下午 13:00 開始凋零。
2. 翠蘆莉面臨時差環境，體內機制配合外在環境光線的變化進行調整，即使晝夜顛倒之中，翠蘆莉會重新配合環境光線，建立獨特生物時鐘來運轉，在 13:00 開花率最高，F.I.在 18:00 出現最大值，凌晨 03:00 開始凋零。
3. 翠蘆莉的內生性生物時鐘表現的開花韻律，需要「適合」的光線條件來誘導，如果光週期太短導致黑暗或光照長度不足，則翠蘆莉無法在「統一」時間開花，甚至會抑制開花，花苞無法正常發育，花冠太小等，所以不論在恆光或恆暗的環境中，翠蘆莉無法感受「時間」的刺激，無法表現正常的開花韻律，但恆光相較恆暗有較高的開花率和花冠維持的開花時間長度，恆暗下的花苞極小偏淡，且開花率低，開花時間也只有 4~8 小時，可知光照供應能量，在誘導花苞發育、開花發生和花冠維持的時間長度上扮演極為重要的角色。
4. 翠蘆莉具有接受紅光和藍光的感應器，藍光促使內在性機制啟動開花發生，可以「統一」開花時間，但開花長度時間明顯縮短，而紅光則能提供某程度能量拉長開花時間，但紅光波長對於啟動開花發生機制產生延宕，和綠光相同皆無法建立準確規律的生物時鐘。

捌、參考文獻

- 一、王瑛，吳素幸(2012)。從阿拉伯芥走進植物世界。科學人雜誌123期：103-107。
- 二、林郁馨、楊純明(2011)。利用光週期調節花卉之開花期。農業試驗所技術服務，87期：31-34
- 三、楊純明、李裕娟(2009)。從植物之光週期看發光二極體在農業生產上之應用潛力，作物、環境與生物資訊，6期：192-200。
- 四、余天心。開花素與作物的產期調節。中央研究院週報，1416期：8-9。
- 五、張英杰、張啟翔和呂英民(2011)。植物中花的開放機制研究進展。分子植物育種，第九卷：1037-1044。
- 六、許再文、楊永年、蔣鎮宇(2015)。花開花謝 -花的觀察，科學發展511期：52-55。
- 七、許謙信(2012)。LED照明對植物生長及發育之影響，台中區農業改良場一〇一年專題討論專集：243-246
- 八、康志傑(2013)。點亮未來,LED照明，科學發展483期：40-46。
- 九、Runkle, E.S. and R. D.Heins (2001) **Specific Functions of Red, Far Red, and Blue Light in Flowering and Stem Extension of Long-day Plants.** J. Amer. Soc. Hort. Sci. , 126 (3) : 275 – 282.
- 十、van Doorn,W.G. and U. van Meeteren (2003) , **Flower opening and closure : a review.** J. Exp. Bot., 54,(389) : 1801–1812.
- 十一、Putterill,J.,R.Laurie,and R.Macknight.(2004), **It is time to flower:the geneticcontrol of flowering time.** Bio Ess., 26 : 363 – 373.

【評語】 030303

1. 此研究探討翠盧莉的開花時間與光週期的關係，發現時差、光週期改變、恆亮或恆暗都會影響翠盧莉的開花週期，也發現不同色光對開花時間有影響。
2. 研究中定義了開花指數與開花率，且設計光週期進行長時間觀察，記錄方法特別。
3. 因為光週期的研究對光照條件有嚴謹要求，本報告的研究方法描述不夠清楚，特別是縮時攝影的光源是否會對開花表現造成影響，作者未加陳述。
4. 第4頁計算開花指數，試驗二次得平均值；第5-7頁出現多次的各組重複試驗二次以上。建議各組實驗重複試驗宜有獨立三重複以上，不同試驗之間的差異也宜有統計測試的支持。
5. 研究結果的呈現有些混亂，常使用時間做為說明方法，造成報告閱讀困難，可以加入與對照組（不調整）的比較說明，說明盡量精簡一些。
6. 研究結果尚待進一步證實紅光與藍光在光週期中所扮演的



摘要

我們以野外常見的翠蘆莉為研究對象，觀察翠蘆莉的開花時間與光週期的關係，若我們改變時差或光週期對生物時鐘的規律會有某種程度的干擾，時差三小時會對植株造成開花時間提早的影響，且恆亮或恆暗環境中，原本規律的開花週期明顯被瓦解，恆暗環境會抑制花芽發育及開花律動。我們進一步發現藍光是啟動開花的重要波長，而紅光則和維持開花時間的長度相關，本實驗得知翠蘆莉的生物時鐘會受到外在環境光週期的改變而重新建立，控制開花的律動，加速或延遲開花時間，未來也可應用於促進花卉經濟作物的收成。



壹、研究動機

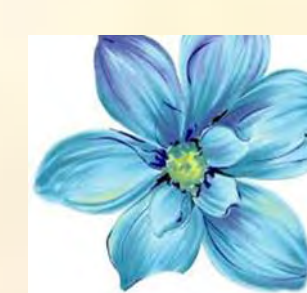
午後的校園中，和同學發現常開花的翠蘆莉同時在下午一點之後接連凋落，隔天到校又看到滿叢的翠蘆莉花，另外我們熟知的「曇花一現」，其開花時間通常在夜間，那麼究竟「花與時間」有什麼關係呢？我們以台灣常見的「翠蘆莉」為研究對象，其開花生物時鐘的現象明顯規律，且花芽分生發育快，非常適合我們做為研究植物生物時鐘的特性，開花週期和生物時鐘、光照因子之間的相互調控關係，其所蘊藏的秘密是我們研究的方向。



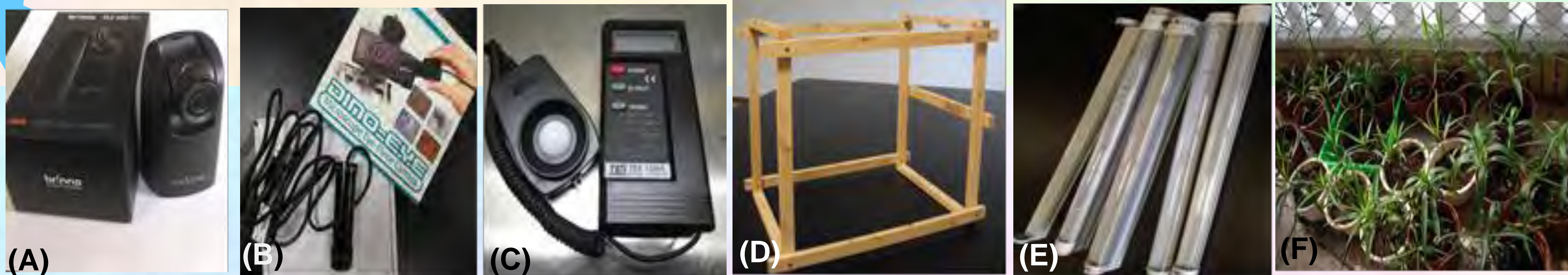
貳、研究目的

以半日花中的翠蘆莉為研究對象，探討其生物時鐘面臨時差及光週期的改變時是否會被改變，以及討論翠蘆莉開花的日律週期之特性又是受到何種因素調控開花機轉，進一步期望尋求其可能在花卉農藝的應用方向。

- 一、觀察翠蘆莉開花的完整過程和花器官的顯微構造。
- 二、探討時差和不同光週期對翠蘆莉開花生物時鐘的差異。
- 三、探討恆亮及恆暗環境對翠蘆莉開花日律週期的影響。
- 四、探討不同光質對翠蘆莉開花生物時鐘的差異。
- 五、思考時差變化和光週期對在翠蘆莉開花生物時鐘機轉上所扮演的調適角色。



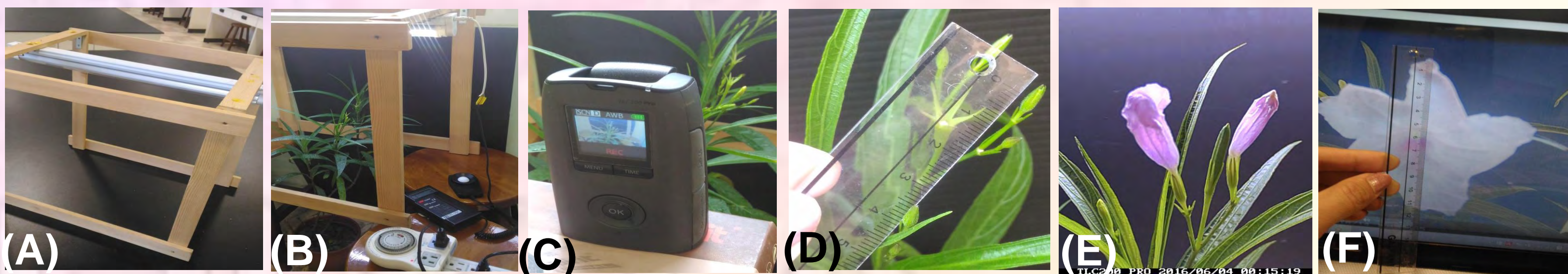
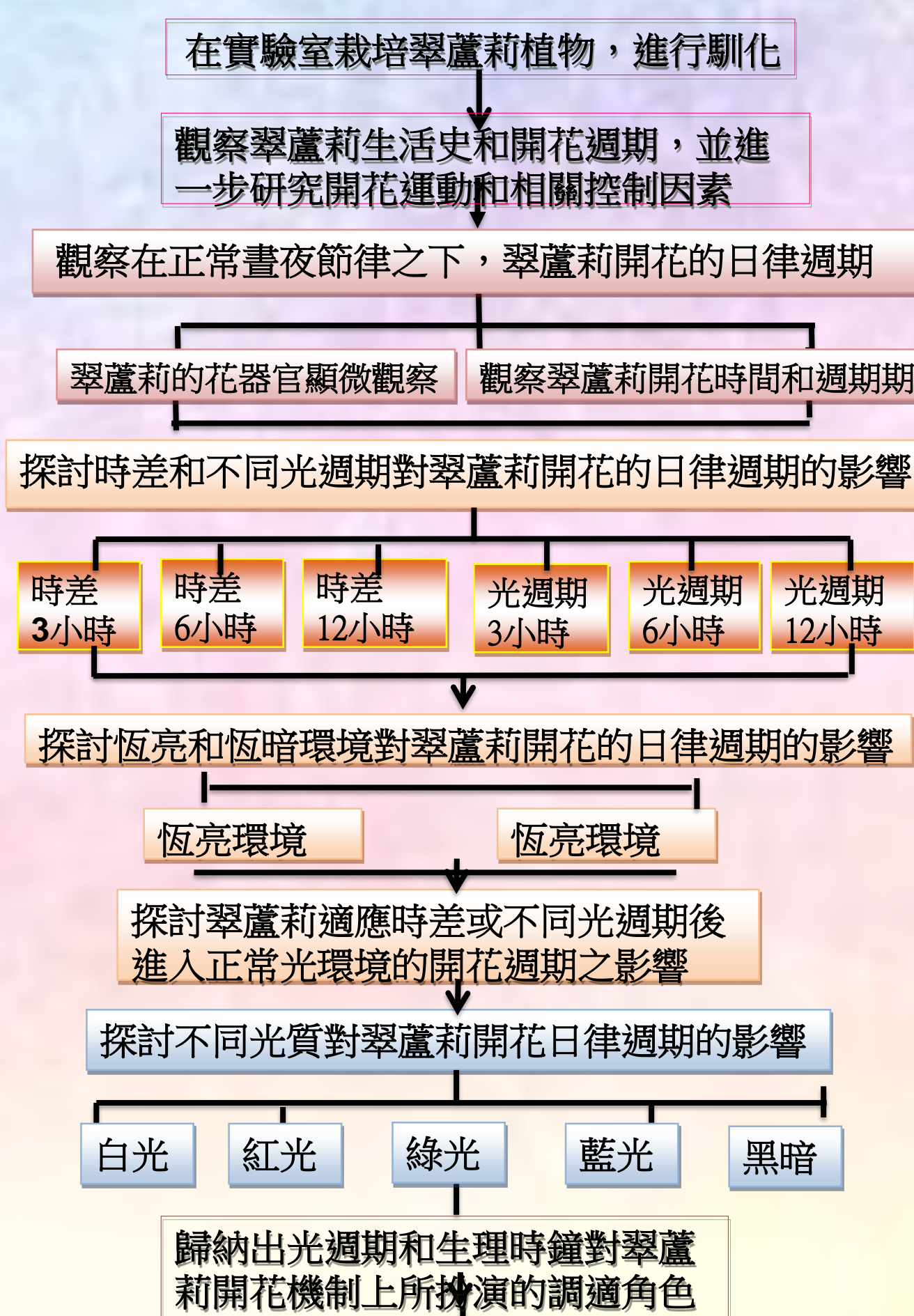
參、研究器材與設備



PIC. 實驗器材 (A) 縮時攝影機 (B) 數位式電子目鏡 (C) 數位式光度計 (D) 觀察實驗屋 (E) F) LED燈管T8空抬 (F) 馴化翠蘆莉盆栽



肆、研究過程及方法



PIC. 開花日律運動試驗。(A) 觀察實驗屋裝置LED燈; (B) 設定定時器控制LED燈開關; (C) 架置縮時攝影相機調整焦距; (D) 以小於1c.m.的花苞為「第一天」試驗對象; (E) 花苞頂端打開視為「開花」; (J) 由攝影影片在固定時間點記錄花冠的直徑。



PIC. 在實驗屋中進行不同光質中的翠蘆莉開花試驗。(G) 以大黑布罩住木架作為「暗室」; (H) LED白光的翠蘆莉進入「光期」; (I) 暗室中翠蘆莉進入「暗期」; (J) 實驗屋中以LED紅光照射; (K) 實驗屋中以LED綠光照射; (L) 實驗屋中以LED藍光。



伍、實驗結果

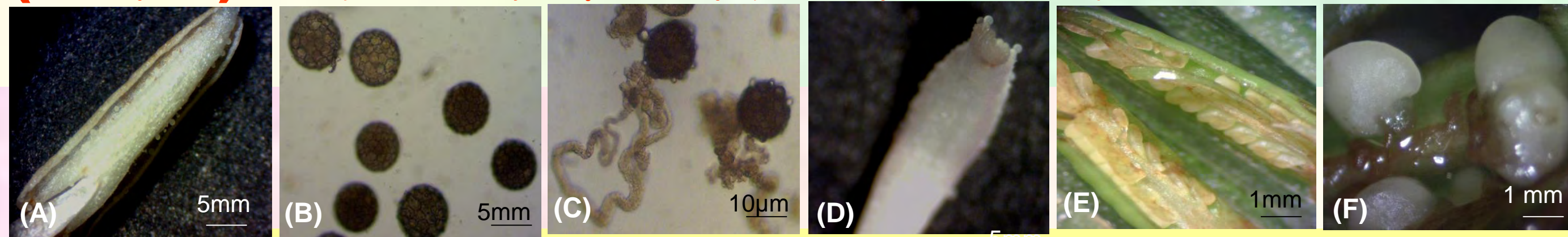
實驗一、了解花的構造和生活史：

(結果1) 肉眼觀察翠蘆莉的外觀



PIC. 花的外觀 (A) 翠蘆莉的完全花 (B) 初步解剖花器官(左→右：花瓣、雌蕊+花萼、雄蕊) (C) 雄蕊的花絲和花藥 (D) 雌蕊的花柱和花托(花盤為花托一部分)。

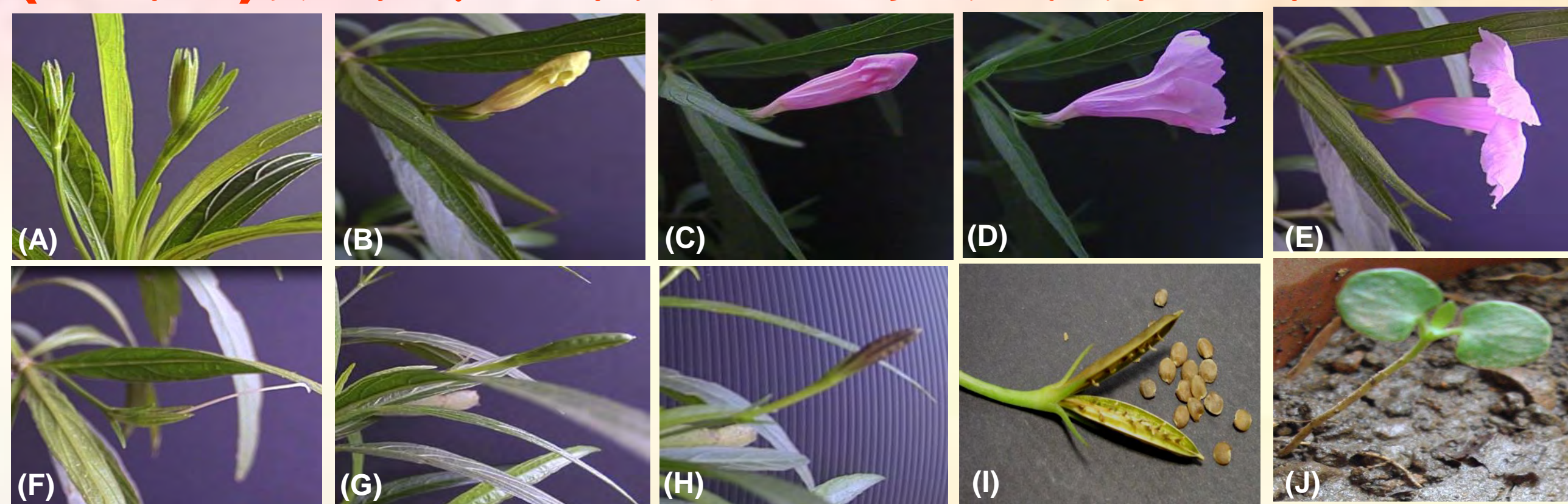
(結果2) 顯微觀察翠蘆莉的雌蕊與雄蕊



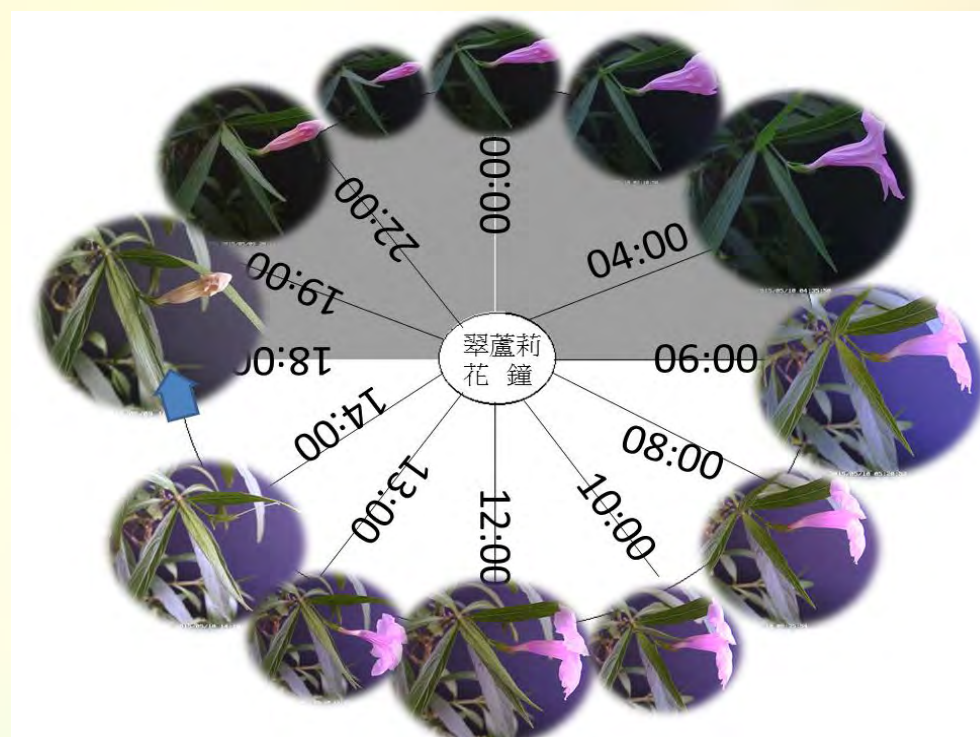
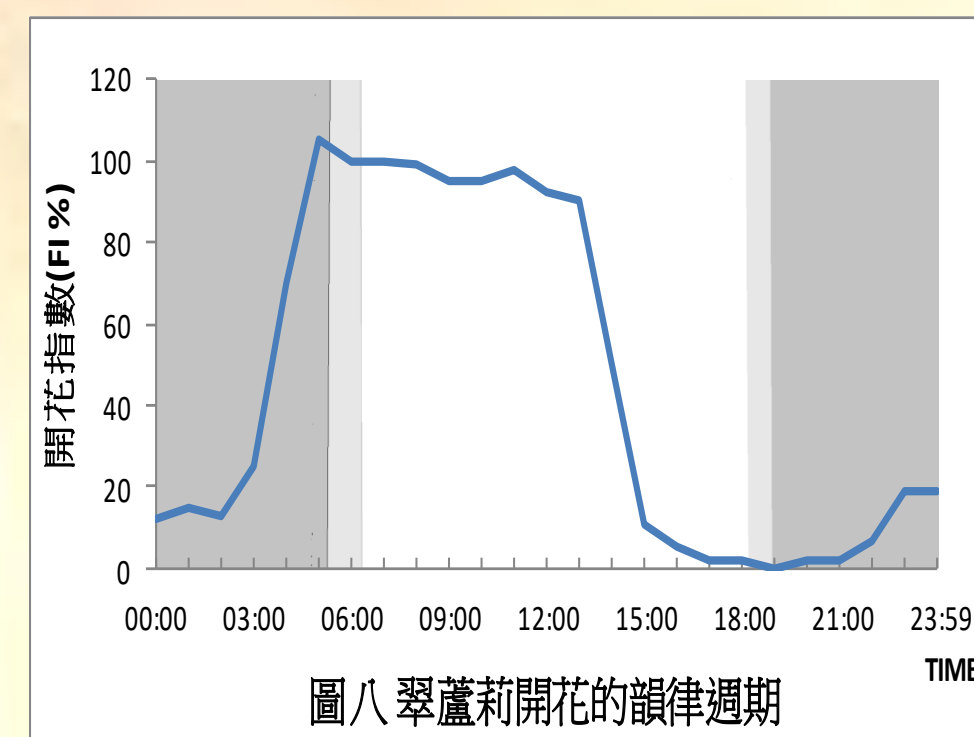
PIC. 翠蘆莉花朵的顯微觀察 (A) 雄蕊的花藥正側 (B) 花藥囊的花粉粒 (C) 花粉粒萌發花粉管 (D) 雌蕊的柱頭 (E) 子房中著生胚珠 (F) 胚珠。

翠蘆莉(*Ruellia brittoniana*)為完整性的完全花，具有萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊，有綠色的合生萼，花冠由五個花瓣構成的合瓣花，為漏斗狀花冠，對稱性輻射對稱花，花之性別是兩性花，有一個雌蕊四個雄蕊(二長二短)，雄蕊類型二強雄蕊，花藥著生類型是縱裂基著藥，心皮是合生心皮，子房上位，胎座為中軸胎座，為有限花序。

(結果3) 觀察翠蘆莉的生活史與開花過程



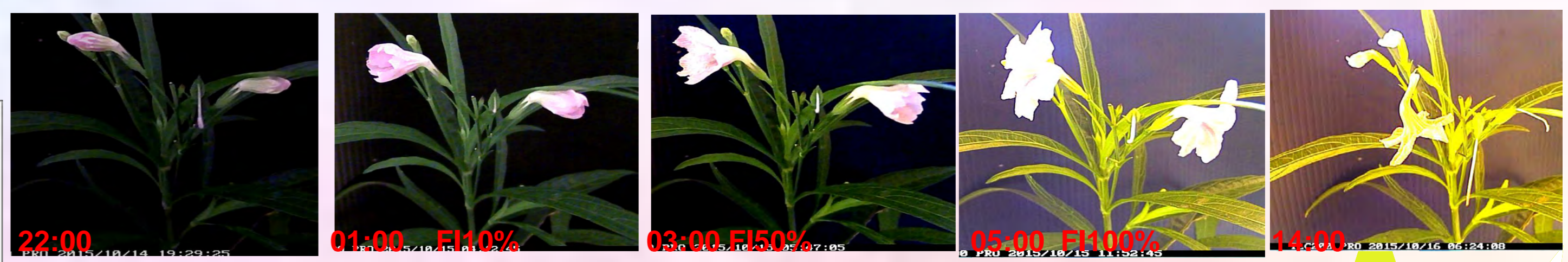
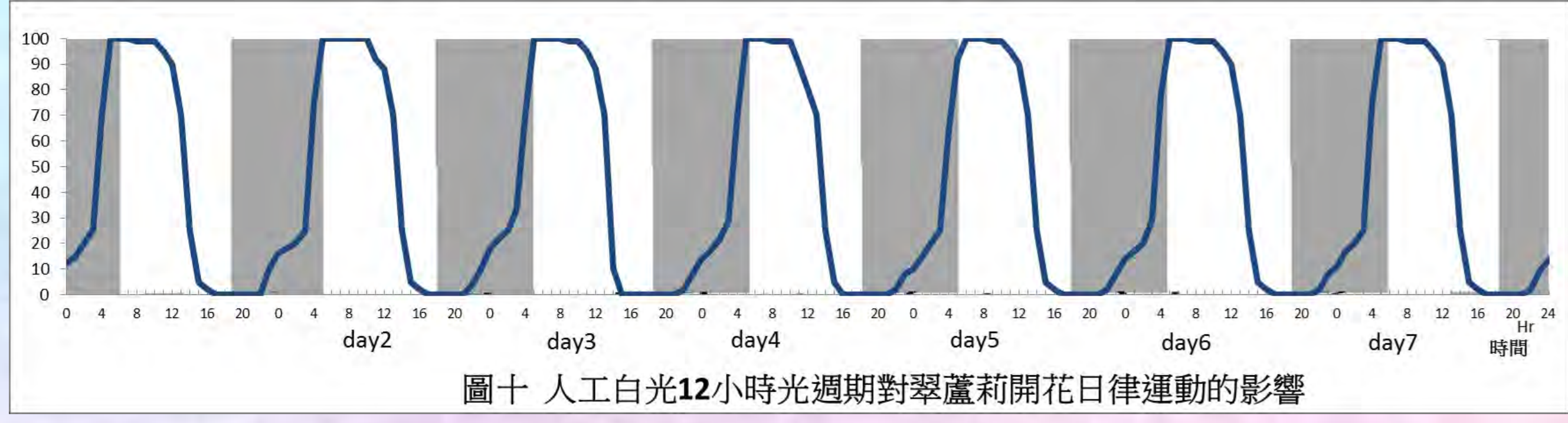
PIC. 翠蘆莉的生活史 (A) 小花苞 (B) 成長中的花苞 (C) 成熟花苞，即將開花 (D) 花冠綻放中 (E) 盛開花冠 (F) 花冠萎凋殘留雌蕊 (G) 發育中的綠色果實 (H) 成熟的深褐色果實 (I) 果實中的種子 (J) 種子發芽成幼苗。



翠蘆莉頂端分生組織分化出數個幼小的花苞，花萼完全包住花瓣，經過2~3天生長至花苞顏色由白轉深、轉紅已達到最大厚度時，當天凌晨(00:00~01:00)花的開放就會發生。先是尖端處微裂，打開新的凹槽，一個越來越明顯彎曲的花脈將花瓣拉開。在早上05:00~06:00花冠的表現達最大，花冠的開放保持時間約9~10小時，當天下午約1點至2點，整個花冠突然脫離萼片殘留雌蕊，約5~7天發育為成熟果實。

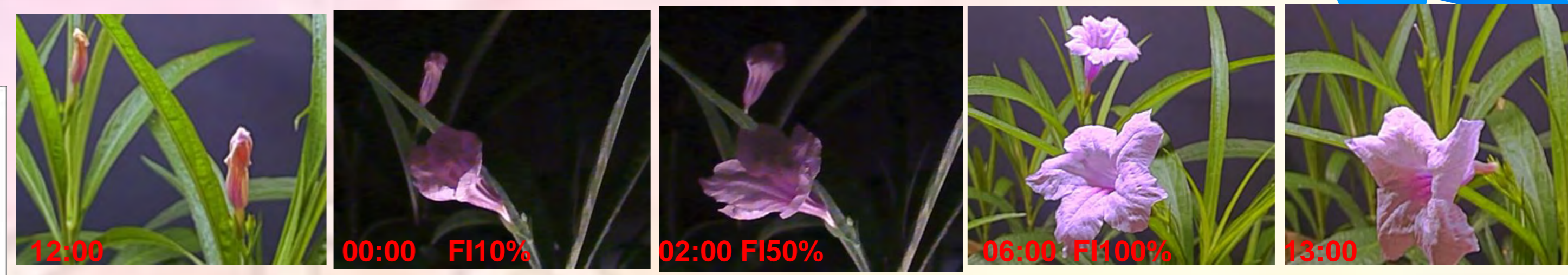
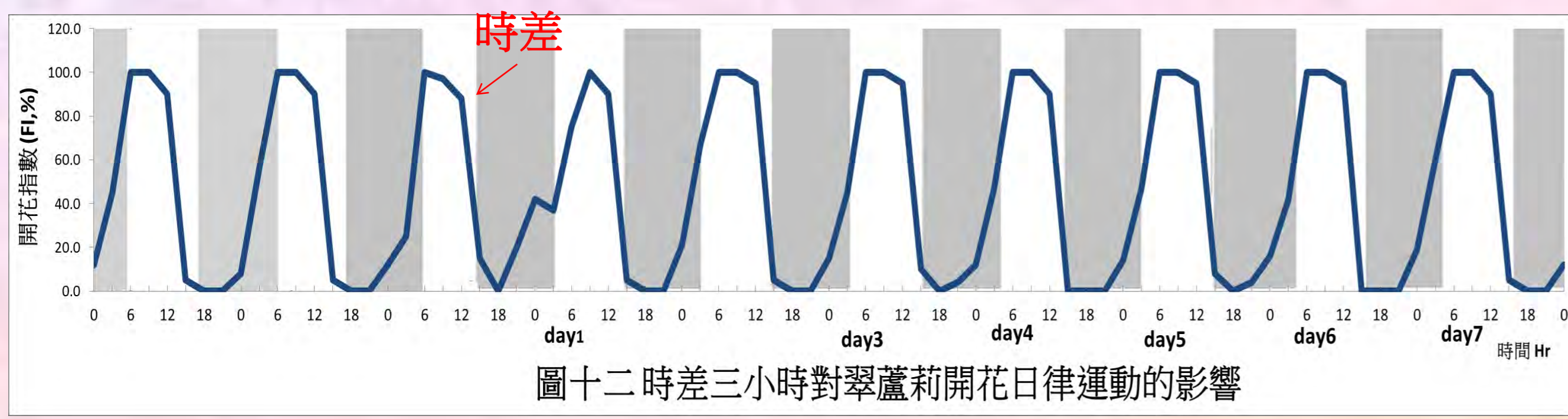
實驗二、時差和光週期對翠蘆莉開花的日律週期的影響：

(結果1) 人工光週期12小時 (白光馴化)



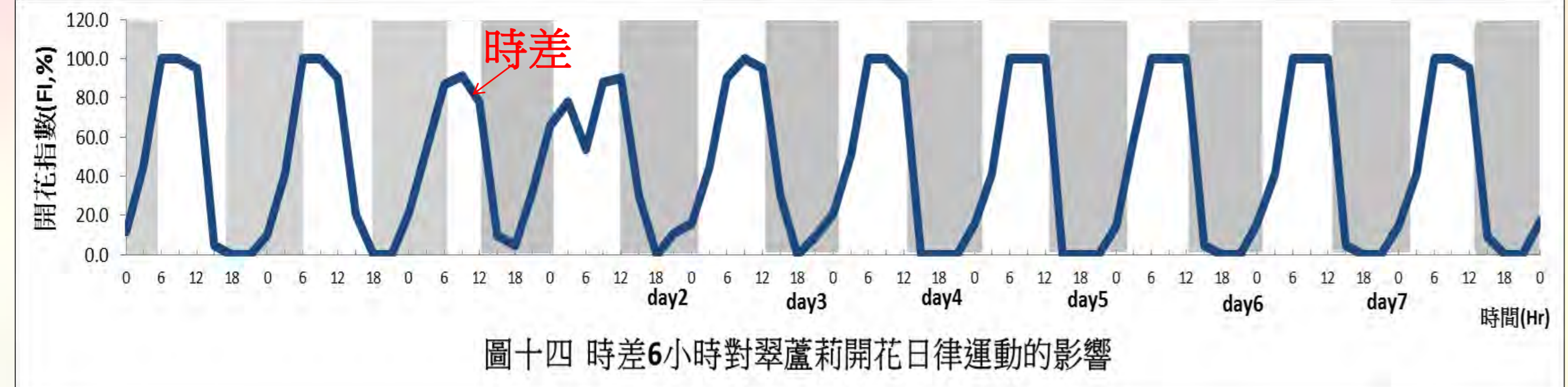
我們由野外環境採集的翠蘆莉在實驗室進行人工光源馴化數週，觀察開花韻律週期和在野外環境相似，午夜十二點之後，翠蘆莉花苞陸續綻放，以01:00開花率達最高，開花指數(FI)在05:00清晨達100%，開花時間維持8~10小時，花冠在13:00之後開始凋萎，約在14:00凋萎近半數。

(結果2) 時差3小時，光週期12小時



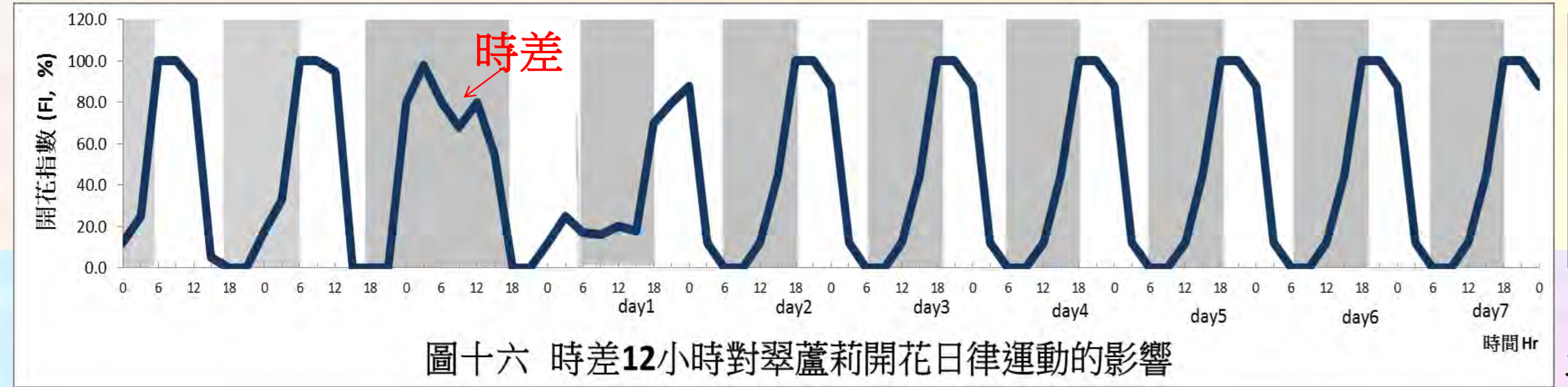
時差三小時的外在光線條件的改變，翠蘆莉的開花節律無明顯的影響，仍受原來的內源性生理時鐘所控制，以00:00開花率達最高，開花指數在06:00達100%，開花時間維持8~10小時，花冠在14:00之後開始凋萎。我們推論三小時時差環境中，翠蘆莉的生物時鐘機制明顯控制開花韻律的影響性高。

(結果3) 時差6小時，光週期12小時



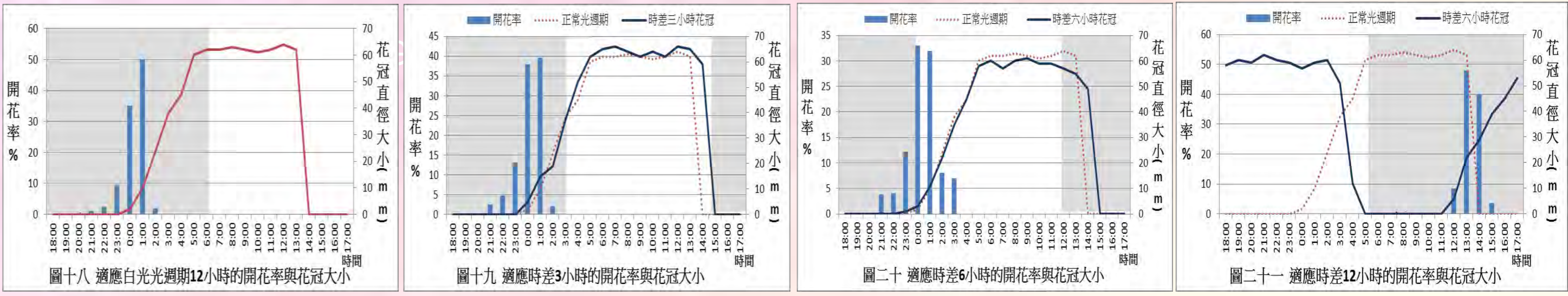
當小花苞受到時差六小時(00:00~12:00光照)開花節律受到明顯干擾，但是在第三天之後開花時間依舊調整到黑暗期之後的凌晨 00:00花苞開始打開，開花指數(FI)在06:00達100%，花冠在下午14:00之後開始凋萎，開花韻律週期維持和原本生物時鐘相同，推測翠蘆莉度過調適期已經適應時差環境。

(結果4) 時差12小時(晝夜顛倒)

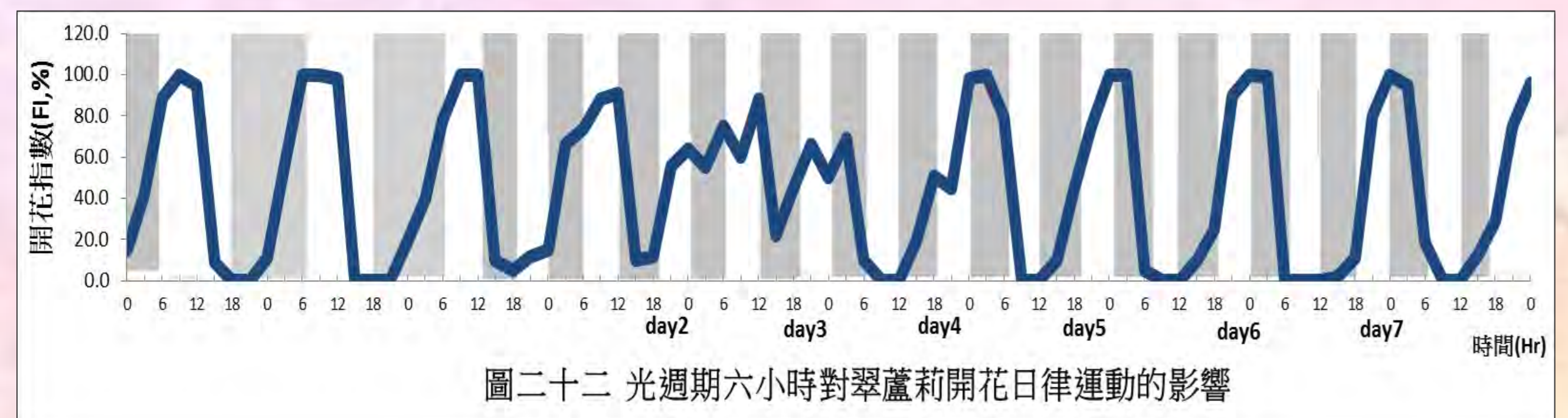


時差十二小時，翠蘆莉在黑暗期(06:00~18:00)中13:00開花率最高，開花指數(FI)在18:00達100%，開花時間約維持9~10小時，花冠在凌晨03:00之後開始凋萎，顯示開花受到外在環境光線的影響，改變原有生理時鐘。

「時差」實驗的結果似乎暗示開花時間發生在連續數小時的「黑暗期」中，除了開花時間改變，而開花率、花冠直徑大小和花冠維持的開花長度在這四組處理中沒有顯著的差異。我們得知翠蘆莉原本開花行為的生理時鐘會受到「時差」的影響而產生一定程度的干擾，甚至受到外在環境光照、黑暗的改變而重新建立新的內在性生理時鐘。

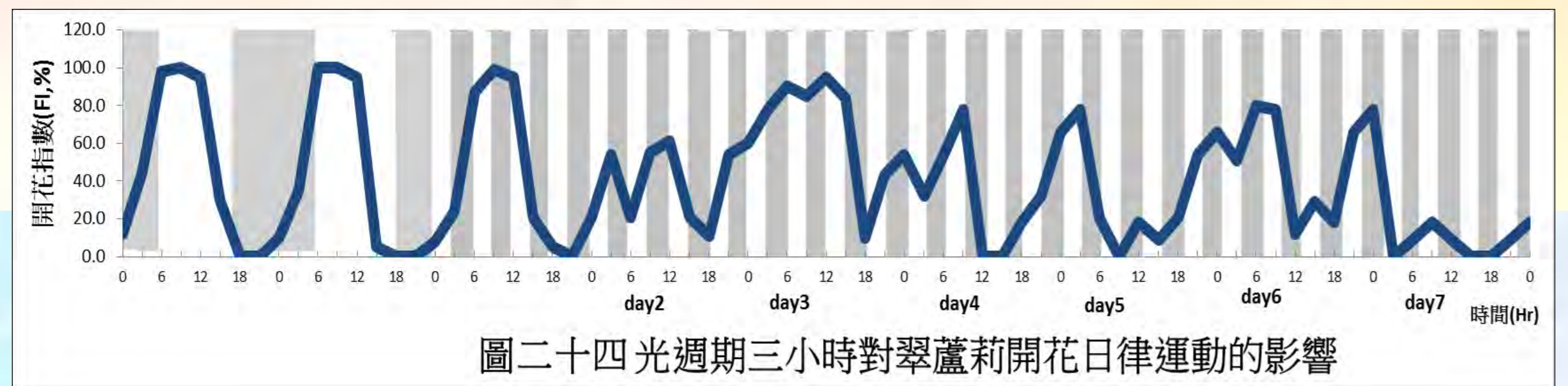


(結果5) 人工光週期6小時



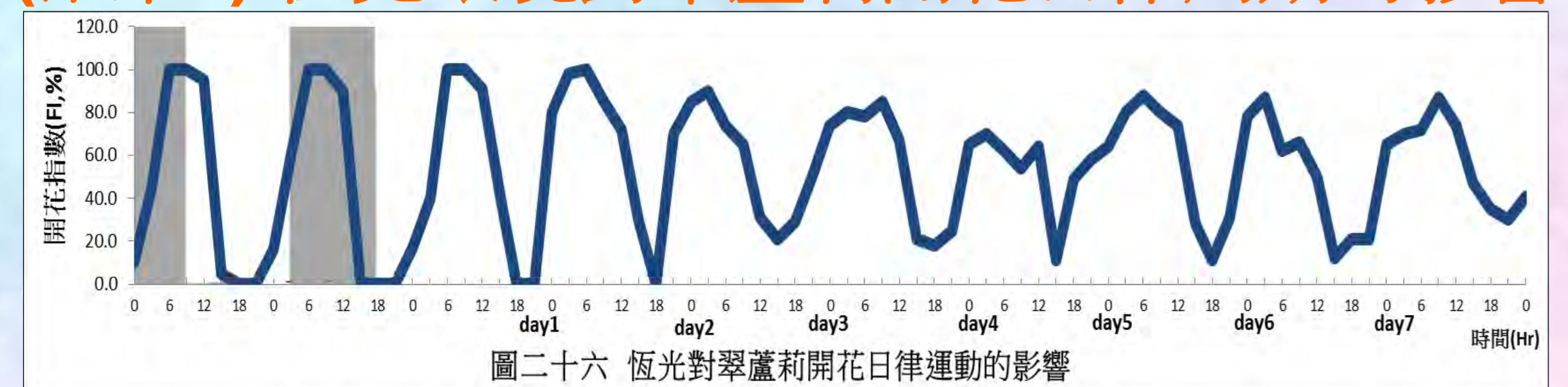
翠蘆莉在第四天17:00~18:00開花率最高，開花指數(FI)在00:00午夜達100%，花冠在06:00之後開始凋萎，開花時間只維持約6~7小時。我們推測翠蘆莉因為光線重新分配建立新的生物時鐘，18:00~00:00照光刺激改變原本黑暗環境，導致原本凌晨01:00開花提早打開花苞，且花冠維持時間明顯縮短。

(結果6) 人工光週期3小時



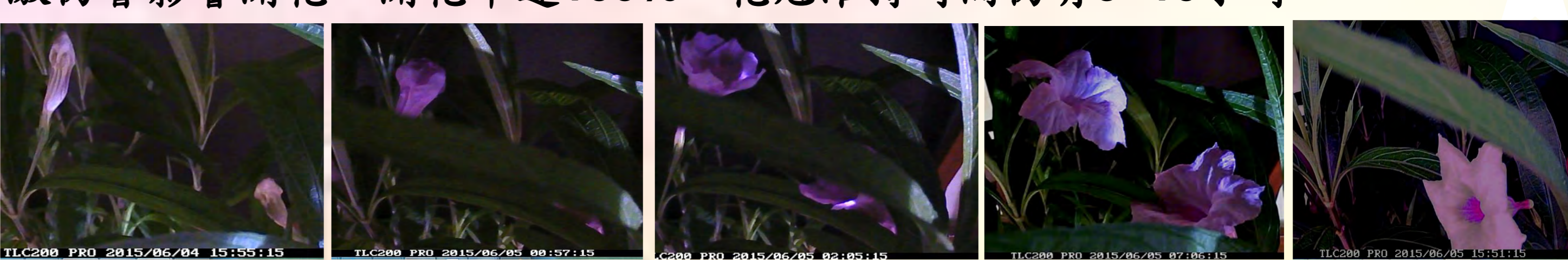
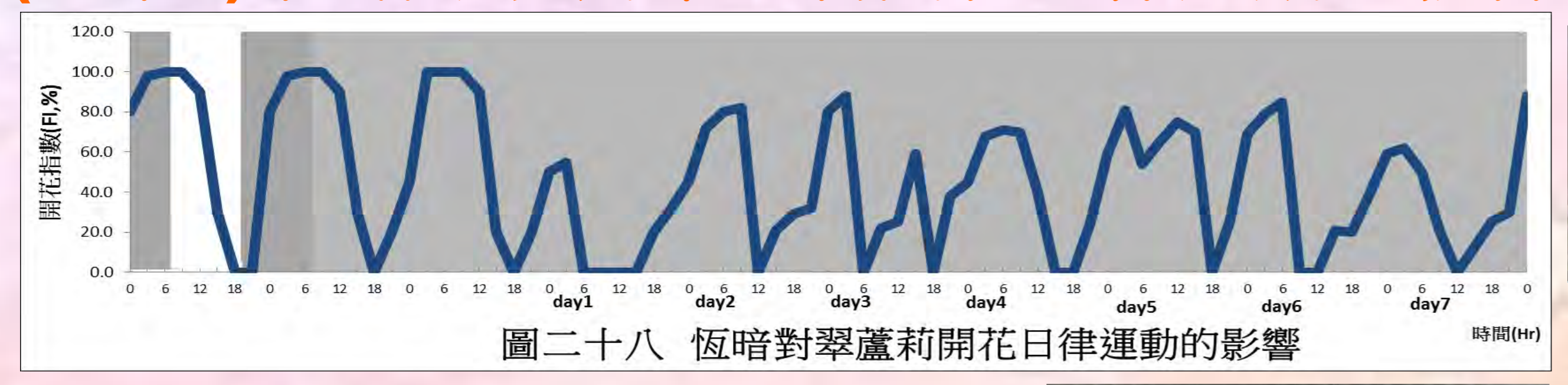
翠蘆莉開花韻律週期明顯混亂，開花時間不正常，而且生成的花苞愈來愈小，甚至花苞未綻放即枯萎凋落，開花率明顯降低，我們猜測光線三小時或黑暗三小時無法引發開花，暗示光線和黑暗的「長度」對開花發生有相當重要性。

(結果7) 恆亮環境對翠蘆莉開花日律週期的影響



翠蘆莉持續在這種「沒有時間」(time-free)的情況下，開花韻律明顯受到干擾，無法「統一」花苞綻放的時間，似乎缺少「通知」開花的訊號。我們推測在恆光環境中翠蘆莉的生物時鐘雖然無法統一控制開花運動，但光源的刺激仍會影響開花，開花率達100%，花冠維持時間仍有9~10小時。

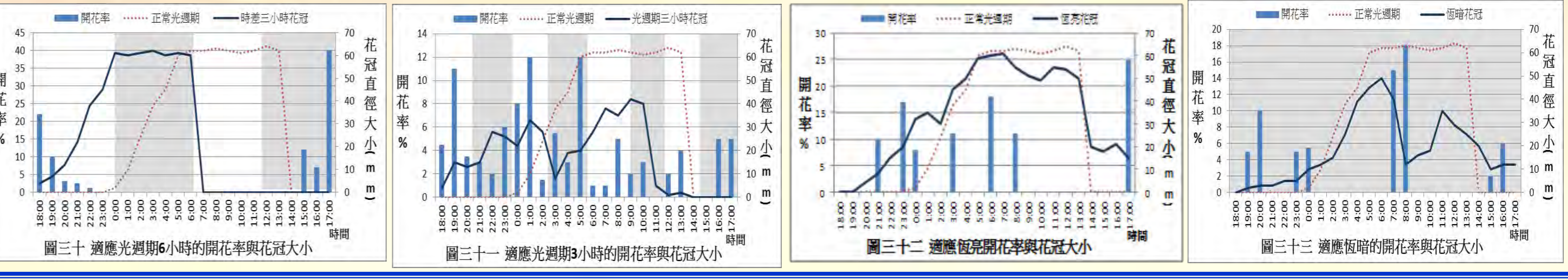
(結果8) 恆暗環境對翠蘆莉開花日律週期的影響



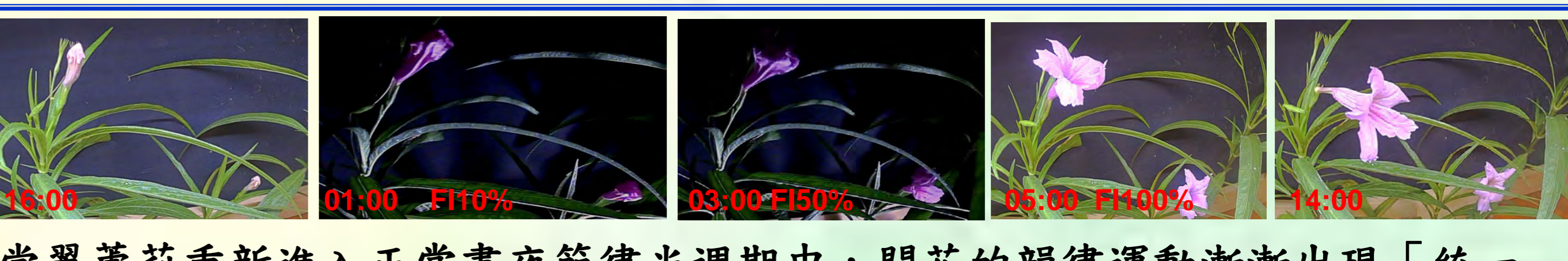
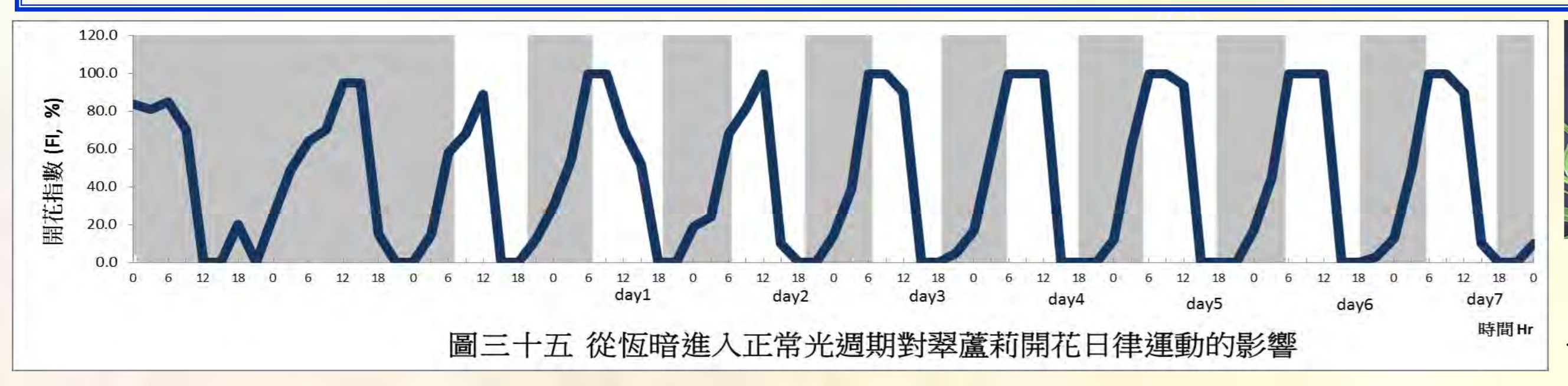
翠蘆莉在恆暗開花的時間呈現出不規律情形，缺乏光環境轉變至暗環境的瞬間刺激，造成開花率明顯降低，花苞多數無法正常發育，且花冠維持時間只有維持4~8小時，暗示光照提供某程度能量或訊息以維持生物時鐘的規律性。



翠蘆莉在恆暗開花的時間呈現出不規律情形，缺乏光環境轉變至暗環境的瞬間刺激，造成開花率明顯降低，花苞多數無法正常發育。

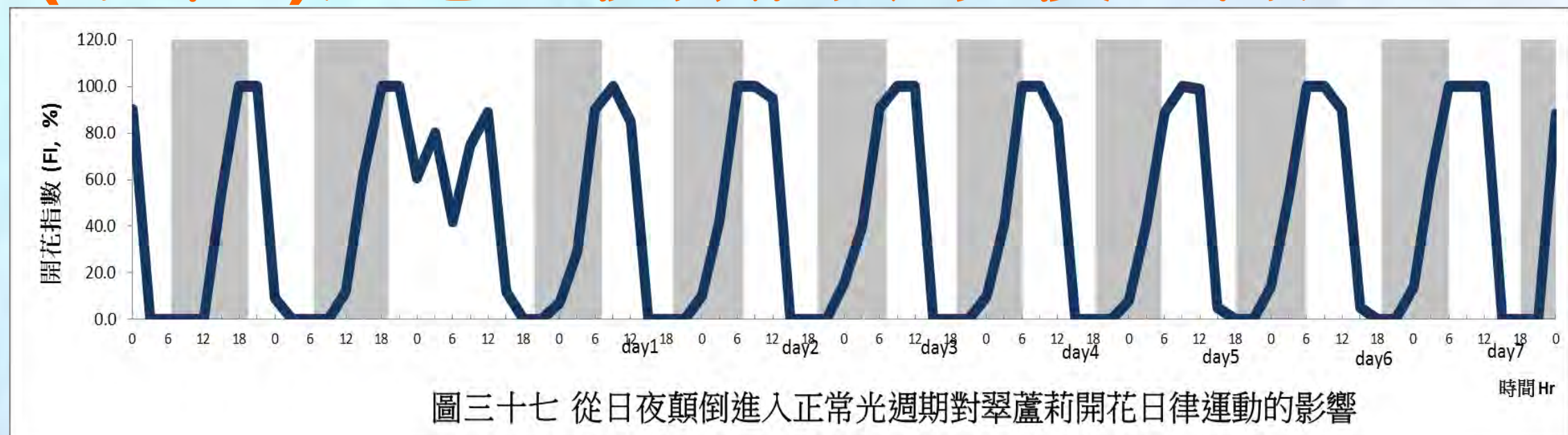


實驗三、翠蘆莉開花生物時鐘對環境光線的調適能力的探討：

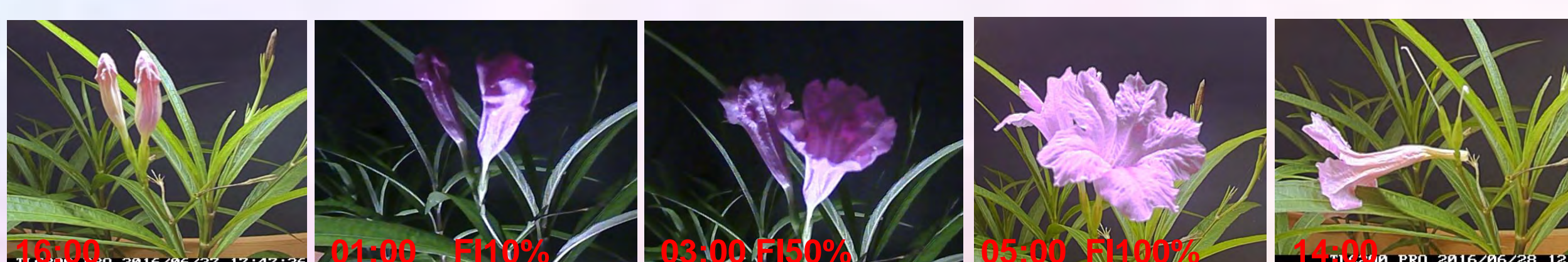


當翠蘆莉重新進入正常晝夜節律光週期中，開花的韻律運動漸漸出現「統一」步調，晝夜節律影響翠蘆莉生物時鐘的表現進而誘導開花日律運動。

(結果2)適應日夜顛倒環境後，再進入正常光週期對翠蘆莉開花日律週期的影響：



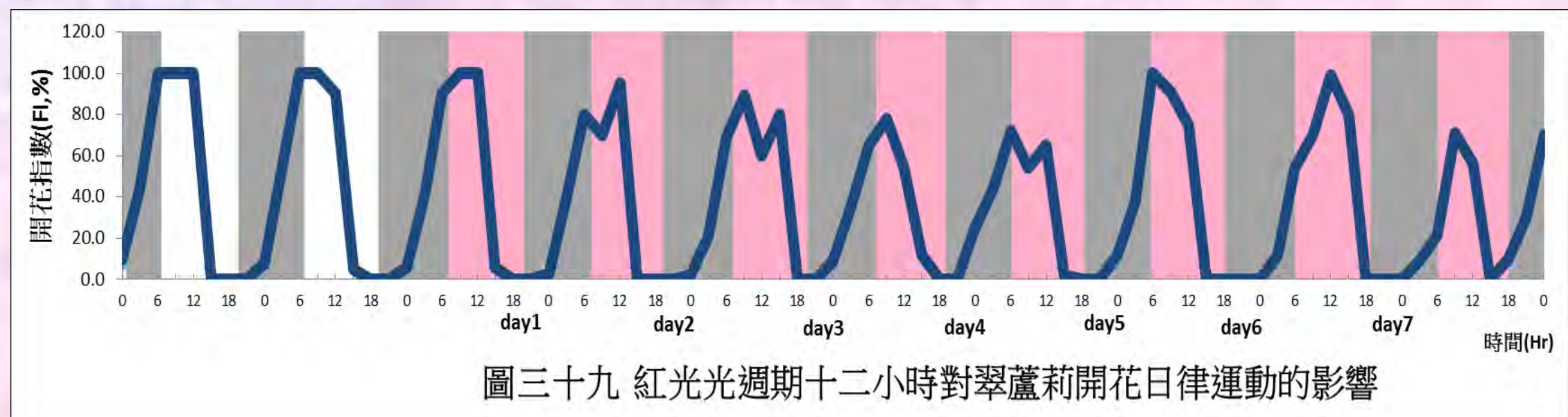
圖三十七 從日夜顛倒進入正常光週期對翠蘆莉開花日律運動的影響



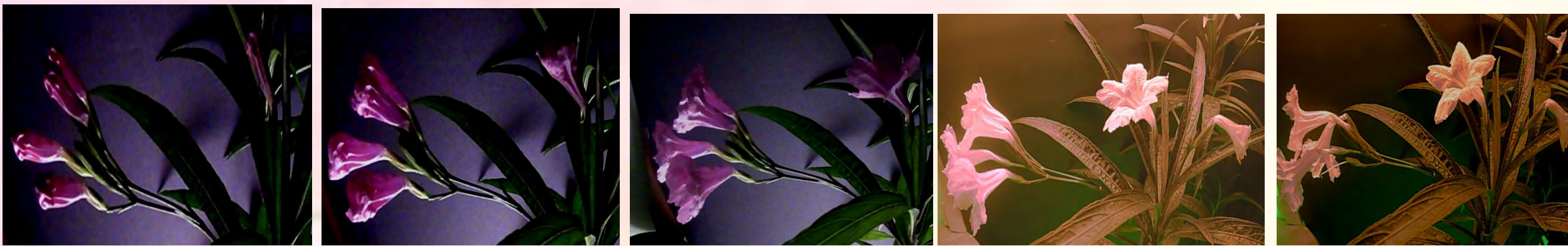
原本開花指數(FI)在18:00達100%，但回到正常晝夜環境中，開花韻律的生物時鐘又回到原本，重新配合光線而產生規律開花韻律。

實驗四、不同光質對翠蘆莉開花日律週期的影響：

(結果1)紅光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響

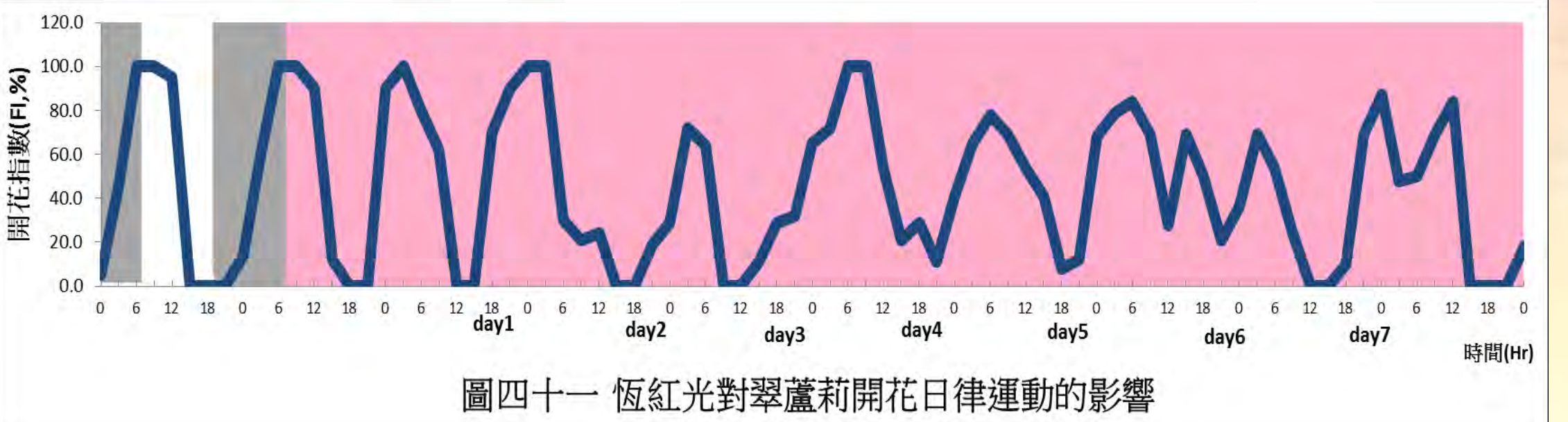


圖三十九 紅光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律運動的影響



以LED紅光處理出現開花時間紊亂，沒有「統一」在固定時間綻放，大多數的花苞相較白光處理出現開花時間延遲，推測紅光波長對於啟動開花發生機制產生延宕，缺少提供開花的「信號」。

(結果2)恆紅光對翠蘆莉開花日律週期的影響

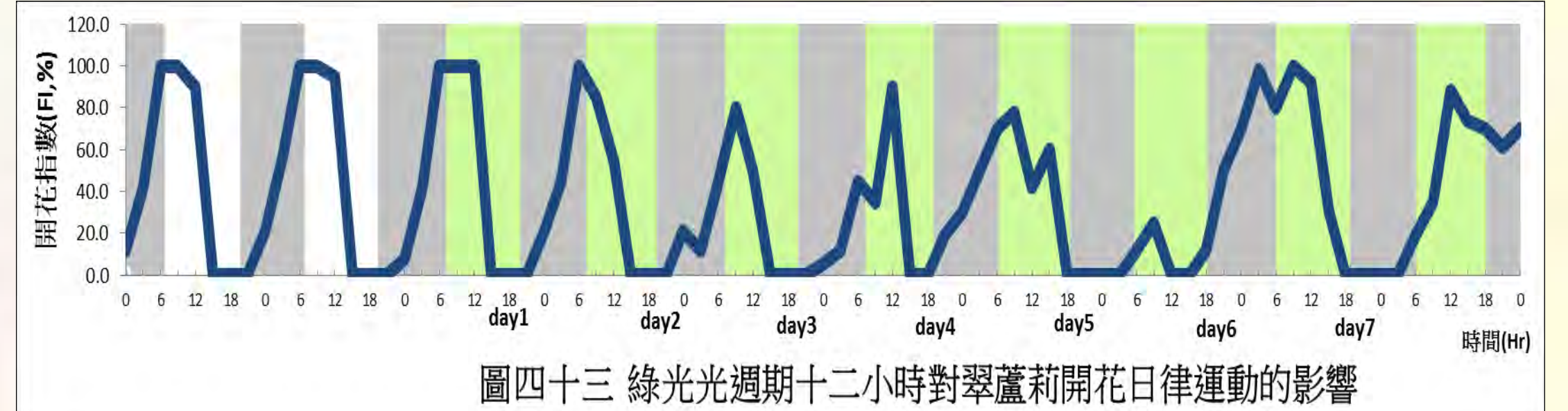


圖四十一 恆紅光對翠蘆莉開花日律運動的影響

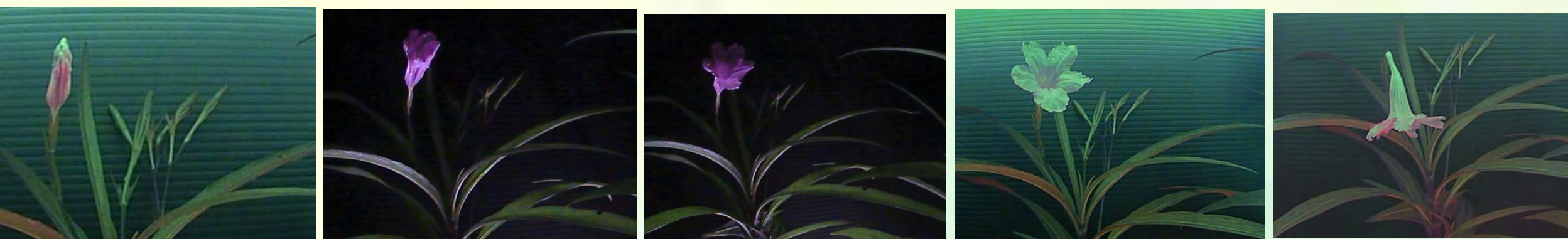


連續紅光處理翠蘆莉多天，開花無明顯規律運動，紅光波長累積能量達一定程度仍能引發開花的發生，以及維持開花所需能量的供應，開花率仍達100%，及花冠最大直徑，開花時間長度無明顯差異。

(結果3)綠光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響

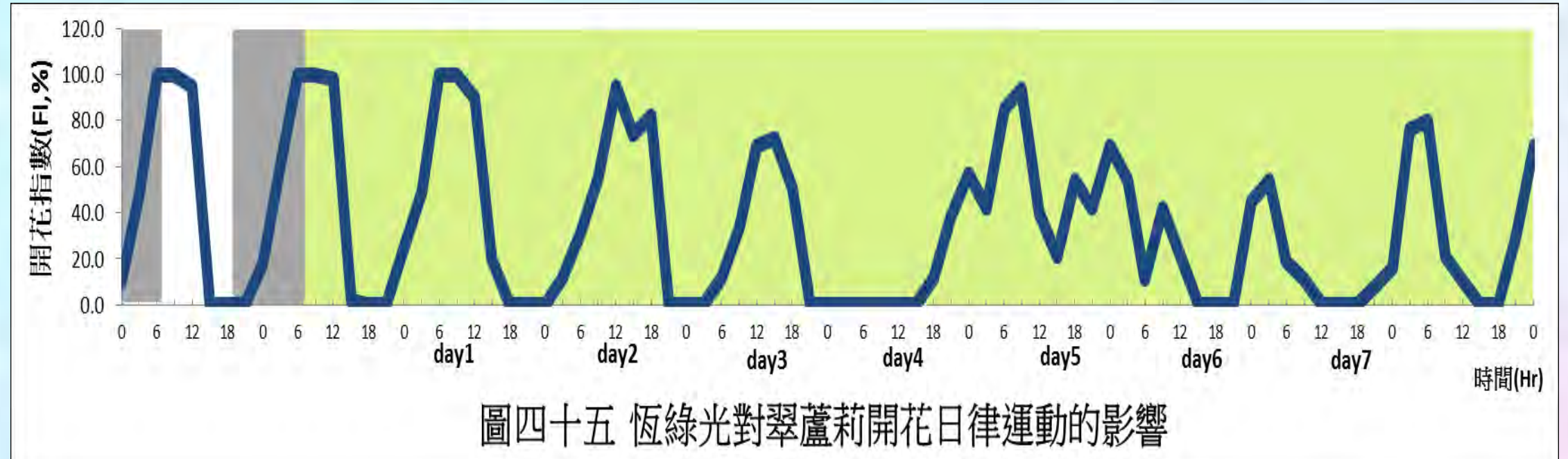


圖四十三 綠光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律運動的影響



人工LED綠光光質下翠蘆莉，花苞發育的速度減緩，40%以上的花苞未發育成熟即枯萎凋落，花瓣初綻的花小且開花時間極短，平均只有2-4小時，顯示綠光似乎無法提供能量維持開花所需。

(結果4)恆綠光對翠蘆莉開花日律週期的影響

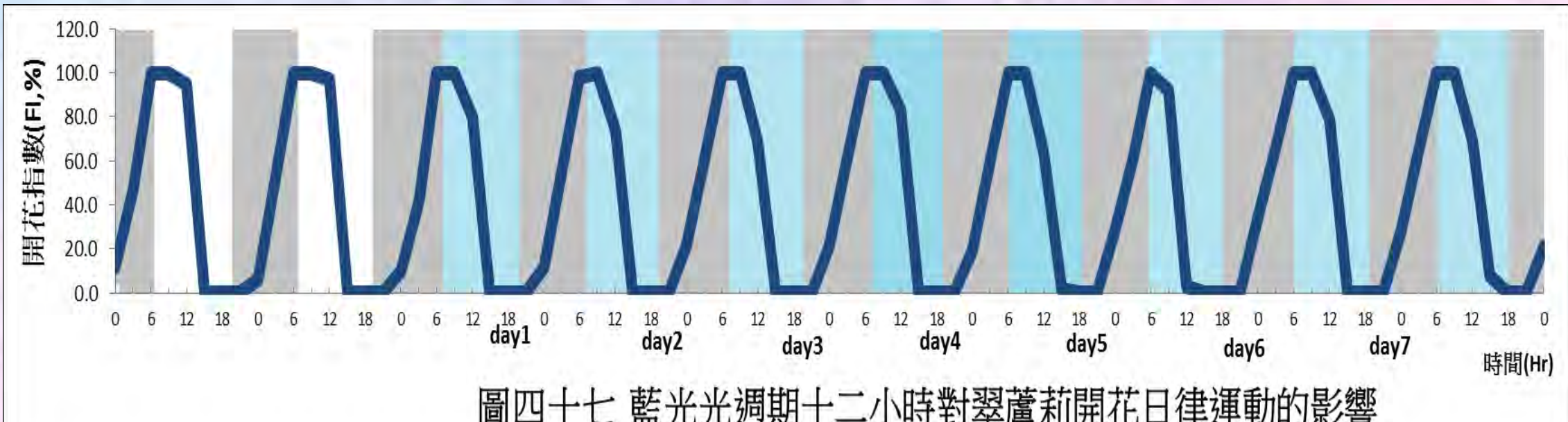


圖四十五 恆綠光對翠蘆莉開花日律運動的影響

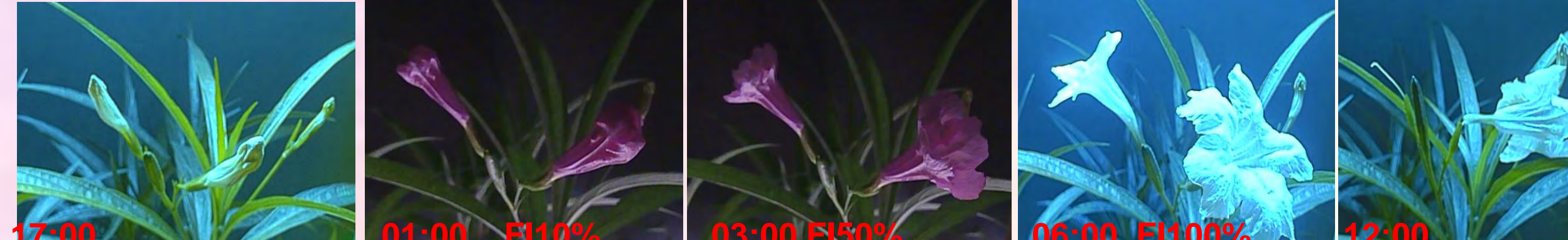


連續綠光處理翠蘆莉，開花的時間呈現出不規律的情形，外在環境的光源似乎沒有啟動生物時鐘的進行，而且花苞發育成熟率降低，似乎缺少了提供某程度的能量或訊息以維持生物時鐘的規律性。

(結果5)藍光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律週期的影響

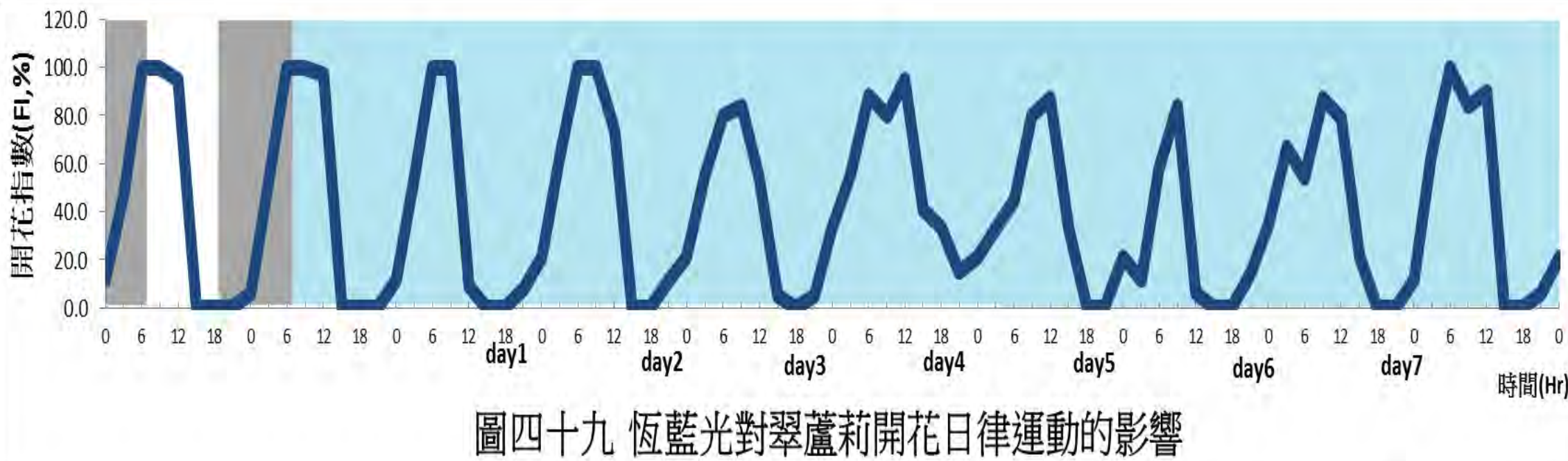


圖四十七 藍光光週期十二小時對翠蘆莉開花日律運動的影響



藍光光質下，午夜十二點之前花苞陸續綻放，以01:00開花率達最高，FI在06:00清晨達100%，但開花時間長度縮短只有6~8小時，推測有藍光受器可以接受藍光刺激，啟動內在性機制促進開花發生。

(結果6)恆藍光對翠蘆莉開花日律週期的影響



圖四十九 恆藍光對翠蘆莉開花日律運動的影響



連續LED藍光的開花時間雖然呈現不規律，但比起前一天有提早的趨勢，開花時間明顯縮短，外在環境的光源似乎控制開花日律運動的進行，我們推測翠蘆莉受到藍光的刺激，而藍光具有高度的能量，翠蘆莉累積足夠的能量啟動內在性機制控制開花時間。



伍、實驗討論

我們以人工光源做調整時差變化的試驗結果發現，時差三小時的外在光線條件的改變，對翠蘆莉的開花節律並無產生明顯的影響，其開花韻律仍受原來的內源性生理時鐘所控制。植物具有一種生理時鐘，有不同型式表現，例如睡眠運動、開花節律、潮汐節律等(張，2011)。但外在環境的指令如晝夜顛倒的週期性變化，在某程度下生物時鐘會被重新設定，如同夜間開花的曇花在夜間人工光源照射中反倒於白天開花(林，2011)。

植物接受並整合外界各種波長的光，阿拉伯芥的研究指出分藍光受體蛋白(隱花色素cryptochrome)和紅光與遠紅光的受體光敏素(phytochrome)，會與載色體(chromophore)結合，吸收特定波長的光線，啟動一連串設定開花的基因(王，2012)。報導指出藍光的照射可以促使原本應該一天至少連續9小時黑暗的青萍開花，阿拉伯芥的研究也指出藍光可以調節花芽的生成(楊，2009)。透過光週期和光質會改變翠蘆莉的開花發生，我們選用波長專一和穩定的LED人工栽培系統，建構出最佳的光環境相配合條件，利用花卉植物的感光性和對於光週期的反應，調節開花期甚至開花品質，希望設計出更有效率的方式達成產期調節目的(許，2012)。



陸、結論

- 翠蘆莉開花由生物時鐘內在性機制和外在環境晝夜改變來設定，導致翠蘆莉開花的機制出現規律週期，在凌晨00:00開花率最高，F. I. 在05:00出現最大值，下午13:00開始凋零。當面臨時差環境，體內機制配合外在環境光線的變化進行調整，即使晝夜顛倒之中，翠蘆莉會配合環境重新建立獨特生物時鐘，在13:00開花率最高，F. I. 在18:00出現最大值，凌晨01:00開始凋零。
- 翠蘆莉的內生性生物時鐘表現的開花韻律，需要「適合」的光線條件來誘導，如果光週期太短導致黑暗或光照長度不足，則翠蘆莉無法在「統一」時間開花，甚至會抑制開花，花苞無法正常發育，花冠太小等，所以不論在恆光或恆暗的環境中，翠蘆莉無法感受「時間」的刺激，無法表現正常的開花韻律，另外恆暗下的開花率低，開花時間也只有4-8小時，可知光照供應能量在誘導花苞發育、開花發生和花冠維持的時間長度上扮演極為重要的角色。
- 翠蘆莉具有接受紅光和藍光的感應器，藍光促使內在性機制啟動開花發生，可以「統一」開花時間，但開花長度時間明顯縮短而紅光則能提供某程度能量拉長開花時間，但紅光波長對於啟動開花發生機制產生延宕，和綠光相同皆無法建立準確規律的生物時鐘。



柒、參考文獻

- 王瑛、吳素幸(2012)。從阿拉伯芥走入植物世界，科學人雜誌 123期 .P103-107
- 林郁馨、楊純明(2011)。利用光週期提節花卉之開花期，農業試驗所技術服務 87期 .P31-34
- van Doorn, W.G. and U. van Meeteren. (2003), Flower opening and closure: a review. J. Exp. Bot., 54(389): 1801-1812.
- Putterill, J., R. Laurie and R. Macknight. (2004), It is time to flower: the genetic control of flowering time. Bio. Ess, 26: 363-373.