

# 臺灣二〇〇三年國際科學展覽會

科 別：植物學科

作品名稱：紫茉莉生物時鐘機制的研究

學 校：國立台南第一高級中學

作 者：張哲瑜

## 作者簡介



作者姓名:張哲瑜

就讀學校:台南一中

指導老師:鄧明聖

我的名字是張哲瑜，一位平凡的南一中學生，國小時期，曾一度熱衷於所謂的科學，除了無所不"問"其極外，父親也常常買書鼓勵我作更寬廣的學習，那時候的確書裡的答案令人興奮；在苦思不得其解後豁然開朗，令人欲罷不能。很可惜，上了國中後，求知求真的精神，幾乎消失無蹤，或許是程度上的優越感阻礙了深入求知的慾望，踏入了故步自封，直到進了南一中，深切體認到自己愚蠢的想法造成與同學程度上多大的落差，本初抱著試探的態度來參加科展，但事實很快證

明，沒有全力投入，注定無疾而終，在指導教授諄諄教誨與不辭辛勞的引領下，完成了這件作品，其間許多實驗技巧的培養、科學態度與實驗設計、更深理論的接觸、謹慎且鍥而不捨的精神磨練，使我受益良多，不論得獎與否，實已值回票價，最後深深感謝所有幫助過的人、事、物。

My name is Jerfancicalvoz. I was born into a ordinary family in Tainan City. I was neither intelligence nor clever. But I was fascinated with the natural wonders. I keep reading periodical and magazines to obtain the latest knowledge. As I enter Tainan first senior high, I start to have contact with the science fair. I brought out this experiment and my biology teacher who have left me alone to return her hometown. My director –Mr. Huang Hao-Jen, instructed most of my research and his followers also offered me a lot of assistance. I feel a great gratitude to them. I also appreciate your perusing my report. Although this experiment has become a nightmare to me(we did not approach much consequences). Through this experiment I have learned how to carry out a project, how to do a research, and how to find out the main goal, even more, I have sharpened my English by studying many English documents. In the end, send the best wish to you and people who attend the exhibition.

## Abstract

Mirabilis Jalapa is a wild flower, which is often seen in countryside of Taiwan. This plant blossom regularly every day around PM 3:00-6:00. Since its regular behavior, it has the potential to become a model plant for research on circadian rhythm. According to the on spot observation, a Mirabilis Jalapa will bloom consistently, whereas a minority of flower will bloom earlier or later.

First, we observe how Mirabilis Jalapa response to disparate environmental conditions. Under a short period of light(8h) and an average period of light(12), Mirabilis Jalapa acts as normal. But under a long period of light, it flowers approximately 1h ahead of time. When under a continuous light, Mirabilis Jalapa shows a regular flowering in the first four day, and after that, circadian rhythm of flowering terminate. The ripe flower buds maintain unbloom for 10 days or more, finally end up withered. Meanwhile, floral meristems are also suppressed. Temperature alter seems affect the flowering slightly.

Second, we use SDS-page to detect protein divergence 6h interval. But as many of the earlier attempt, the floral stimuli is not sensible for average protein qualitative analysis. So we decide to take more direct approach by genetic experiment.

From supplemental material of article "Orchestrated Transcription of Key Pathways in *Arabidopsis* by the Circadian" we obtain a group of genes regulated by bioclock in *Arabidopsis*. With Bio Informatics we choose 41 single gene, and compare with sequences in other species, designing promoters to isolate similar genes in Mirabilis Jalapa. Use rt-PCR to detect the level of certain gene expression, and compare characters of those genes in Mirabilis Jalapa with those genes in *Arabidopsis*.

We also blast those 453 genes to the database of animal, trying to recognize some genes that is widely separated between disparate species. And test these genes in Mirabilis Jalapa to confirm this result.

## 摘要

本實驗先針對紫茉莉開花生物時鐘的特性進行觀察，並以不同的變因測試對紫茉莉開花時鐘的影響，紫茉莉個別花朵開花生物時鐘並不一致，長日照會對植株造成開花時間提早（約 1 小時）的影響，全日照則會對花芽分生及開花行為造成抑制，溫度對於開花影響不明顯。而後利用蛋白質電泳對不同時間點的樣本進行分析，由於開花激素存量極微，故並電泳結果無明顯差異。再來以阿拉伯芥已知與生物時鐘有關的基因中經過生物資訊（Bio Informatics）預測在紫茉莉中存在與開花及光週期有關之基因（CAA75629 CAB56039 AAB60305 AAC49807 AAA82068），針對該基因進行表現量的測定，驗證該基因與開花生物時鐘的關聯性。

針對動物界與植物界中已知與生物時鐘相關的基因進行交叉比對，希望找出跨界廣泛存在的生物時鐘基因，接著測試紫茉莉中該基因的存在與否及表現狀況與其他物種的差異，驗證該基因分布的廣泛性。

## 一、研究動機

生物時鐘控制了真核生物全天的律動，在有關人體及動物的部分已經有相當多的研究，但是在有關植物生物時鐘的部分則了解甚少，在相關文獻中只有概略提到黑暗長度不是由光敏素測量，而是由生物時鐘所測量，光敏素在光週期可能的作用是告訴生物時鐘何時日落、日出，並且生物時鐘的測量十分精準。

紫茉莉為台灣常見野生花種，其生物時鐘的現象明顯（規律性的開花），而且花芽的分生速度快，十分適合作為研究植物生物時鐘機制的的第一步。

先以蛋白質電泳進行不同時間點的觀察，再從基因的層面探討與生物時鐘及開花相關的基因，在不同日照長度植物間的嫁接實驗顯示開花刺激訊號在不同植物間是類似的，藉由在阿拉伯芥與其他植物中已知的基因，經由生物資訊的方式推測紫茉莉中是否有類似的基因，希望能尋找紫茉莉（傍晚開花）中與開花及生物時鐘相關的分子，並對照阿拉伯芥（早晨開花）相關基因表現量的變化。

由文獻 *Isolation of a CONSTANS Ortholog from Pharbitis nil and Its Role in Flowering* 中指出 *Pharbitis nil* CONSTANS(accession AF300700)與開花及光週期有關，因此將 PnCO(*Pharbitis nil* CONSTANS)作為第一個目標追蹤基因。

## 研究目的

1. 研究紫茉莉開花的完整過程
2. 探討野生紫茉莉開花生物時鐘的特性
3. 探討環境因子對紫茉莉開花生物時鐘的影響
4. 利用蛋白質電泳對不同時間點的樣本進行分析
5. 設計 primer 追蹤 CONSTANS 在紫茉莉中的表現
6. 使用生物資訊挑選欲追蹤之基因
7. 利用生物資訊設計 Primer
8. 以 RT-PCR 檢測追蹤基因的表現量
9. 對果蠅及阿拉伯芥中與生物時鐘有關之基因進行比對
10. 找出紫茉莉基因中與開花及光週期有關者

### 三.研究器材

#### ◎觀察紫茉莉生物鐘特性用材

- |                |                         |
|----------------|-------------------------|
| 1. 數位相機與周邊設備*1 | 2. 照度測量儀*1              |
| 3. 溫、濕度測量儀*1   | 4. 各色標籤紙*2              |
| 5. 電源定時器*4     | 6. 燈架*4                 |
| 7. 恆溫箱*2       | 8. Digital camera 及周邊設備 |

#### ◎栽種、移植紫茉莉所需用材

- |                     |                    |
|---------------------|--------------------|
| 1. 直徑 15cm 花盆*100 個 | 2. 直徑 40cm 花盆*30 個 |
| 3. 培育土 10kg*2 包     | 4. 花寶開花肥、成長肥各一     |

#### ◎電泳實驗器材

- |                |               |
|----------------|---------------|
| 1. 電子秤*1       | 2. pH meter*1 |
| 3. 計時器*1       | 4. 手套         |
| 5. 微量分注器與微量吸管頭 | 6. 微量離心管      |
| 7. 電源供應器       | 8. 垂直電泳槽      |

9. 保鮮盒 (trays)

10. 震盪器 (orbital shaker)

◎電泳藥品及試劑

1. 丙烯醯胺液

2. 分離膠體緩衝液

3. 焦集電泳緩衝液

4. 電泳緩衝液 (chamber buffer)

5. 樣品溶液 2 X

6. 通用電泳緩衝液

7. 10% SDS

8. 5% APS 過硫酸銨

9. 追蹤染劑 (tracking dye)

10. 染色液 (CBR)

11. 脫色液 (7%甲醇及 7%醋酸)

12. 蛋白質分子量標準品

四.研究過程：

(一) 紫茉莉的栽種：

紫茉莉生性強壯，對於土壤的適應力極佳，對於一般土壤都可以生長良好。較佳的栽培介質是採用肥沃的有機土壤中，尤其以砂質土壤較佳，適合生長於熱帶或亞熱帶的環境，台灣的氣候環境春、夏、秋三季都可以生長旺盛開花不斷，冬天則通常會持盈保泰，但稍微進入調養生息階段，因此較少開花。植株最適合的生長溫度約介於攝氏 22~30 度之間。發芽適溫亦介於攝氏 22~28 度之間。生長過程如能提供適當水分供應成長所需，則成長將更為旺盛。春、秋兩季約 2~3 天澆水一次，夏天可每天澆水一次，冬天可 3~5 天澆水一次。全年均可以進行播種，尤其是春季、夏季進行最佳選用面積廣且底部不深的容器做為培育種子的溫床，最好是排水性佳的網狀容器，或是底部有排水孔較佳。將種子直接點播或撒播於溫床內種子約 5~7 天可以發芽開始生長，發芽後需移至光線明亮處以防止徒長。

(二) 野生紫茉莉開花特性觀察與記錄

紫茉莉 (*Mirabilis Jalapa*) 為石竹目紫茉莉科多年生草本植物，成熟植株常有塊根，莖為合軸分支的直立莖，葉為對生的卵形單葉，葉尖漸尖，葉緣為全緣，缺托葉但葉基有腋芽，花為繖形花序的完全花，花色有紫紅、黃、白等數種，每朵花有一個雌蕊五個雄蕊，子房下位，為基底胎座，花瓣合瓣；花形類似牽牛花，

但較纖細且較小，開完的花長約 4cm，花冠可分為兩個部分：一為由中心向外圍漸尖且較堅韌的部位，以下將其暫稱為花脈；二為材質較

柔軟且佔花冠大部分的部位，將其暫稱為紫茉莉的花瓣。





















選擇生長有茂盛紫茉莉的地點，挑選待開花苞較多者，以綠色標籤於主幹分枝處標示，將植株上已近開花之花苞以黃色標籤予以標號，挑選五棵植株進行追蹤記錄（須將各株所標示的花苞編號記錄），以數位相機每 20~30 分鐘為一週期持續拍攝，並記錄當時之氣溫、溼度、照度。

因為追蹤花朵數超過 30 朵後每朵花照片間的時間間隔太大，必須有一對照圖表以得知其全開與半開較準確時間點，故製作此圖表以對照之。而且此圖表亦為紫紅色紫茉莉開花完整過程之呈現。










※紅色紫茉莉開花連續過程：














開花情形			
時間	8/28 PM 3:40	8/28 PM 3:50	8/28 PM 4:00
開花情形			
時間	8/28 PM 4:10	8/28 PM 4:20	8/28 PM 4:30
開花情形			
時間	8/28 PM 4:40	8/28 PM 4:50	8/28 PM 5:00

開花情形			
時間	8/28 PM 5:10	8/28 PM 5:20	8/28 PM 5:30
開花情形			
時間	8/28 PM 5:40	8/29 AM 6:45	8/29 AM 6:55
開花情形			
時間	8/29 AM 7:05	8/29 AM 7:15	8/29 AM 7:30
開花情形			
時間	8/29 AM 7:40	8/29 AM 7:50	8/29 AM 8:00
開花情形			
時間	8/29 AM 8:10	8/29 AM 8:20	8/29 AM 8:30
開花情形			
時間	8/29 AM 8:40	8/29 AM 8:50	8/29 AM 9:00

開花情形			
時間	8/29 AM 9:10	8/29 AM 9:20	8/29 AM 9:30
開花情形			
時間	8/29 AM 9:40	8/29 AM 9:50	一天後
開花情形			
時間	兩天後		

※黃色紫茉莉開花過程

開花情形			
時間	8/22 PM 4:00	8/22 PM 4:20	8/22 PM 4:35
開花情形			
時間	8/22 PM 4:45	8/22 PM 5:15	8/22 PM 5:30
開花情形			
時間	8/22 PM 5:40	8/22 PM 5:45	8/22 PM 5:50

開花情形			
時間	8/22 PM 6:00	8/23 AM 7:10	8/23 AM 7:25
開花情形			
時間	8/23 AM 7:35	8/23 AM 7:50	8/23 AM 8:00
開花情形			
時間	8/23 AM 8:10	8/23 AM 8:25	8/23 AM 8:40
開花情形			
時間	8/23 AM 8:45	8/23 AM 8:50	8/23 AM 8:55
開花情形			
時間	8/23 AM 9:00		

(註) 紫茉莉開花過程之敘述：

自頂端分生組織中分化出數個幼苞(約 0.3cm)，經過 4~5 天成長至約 4cm 大小的成熟花芽，當天下午開始綻開（多數集中在 PM 3:00-4:00）。先是尖端處微裂，由花脈帶動花瓣展開，繼而花蕊由彎曲伸直，歷時約 90 分鐘（全開界定為花脈不再延展）。隔日清晨約 AM 6:00 開始閉合，先是雄蕊萎縮，而後花脈逐漸向中心聚攏，萎縮之初（第一小時內）速度較快，達到半閉後

閉合速度減緩，一直延續到當天下午才算完全閉合（花脈形狀與未開者似，但花瓣外露），隔日花朵變黑掉落。

（三）影響紫茉莉開花時鐘的環境因子試驗：

A.溫度組：

選擇若干株健全有花苞之紫茉莉分別置入 25°C 及 35°C 之恆溫箱，每個恆溫箱給予 2~3 個燈泡全日照射（照度：6000 lux），溼度維持在 65% 左右（一般室外約 70~80%，由於恆溫箱有除濕效果，必須放置水盆。），將接近開花之花苞編號，追蹤觀察。

B.光照長度組：

以黑色塑膠袋隔離出 4 個密閉環境，準備四個燈架及四個電源定時器，分別給予 8 小時、12 小時、16 小時、24 小時日照處理，選擇兩盆幼株、一盆大株置入，至花芽長出以數位攝影機拍攝期開花情形，並加以分析。

C.黑暗組：

選擇有超過 6 個以上開花叢的紫茉莉，使用鋁箔將有花苞分化的頂芽及附近的葉片包裹，實驗進行六天，觀察黑暗對紫茉莉開花的影響。

D.葉片去除組：

選擇兩株紫茉莉，拔除所有葉片，每天觀察其開花情形的變化。

（四）研究特定組織中週期性變化的蛋白質成分：

依據所推測的紫茉莉生物時鐘決定與運行的模式挑選花脈部分（因其控制花朵開閉）予以電泳測試。以時間 PM 3:00；PM 9:00；AM 9:00；PM 3:00 的時間點每次選定 2 朵將開花花朵，萃取蛋白質進行電泳，根據電泳結果比較蛋白質組成隨時間產生的差異。

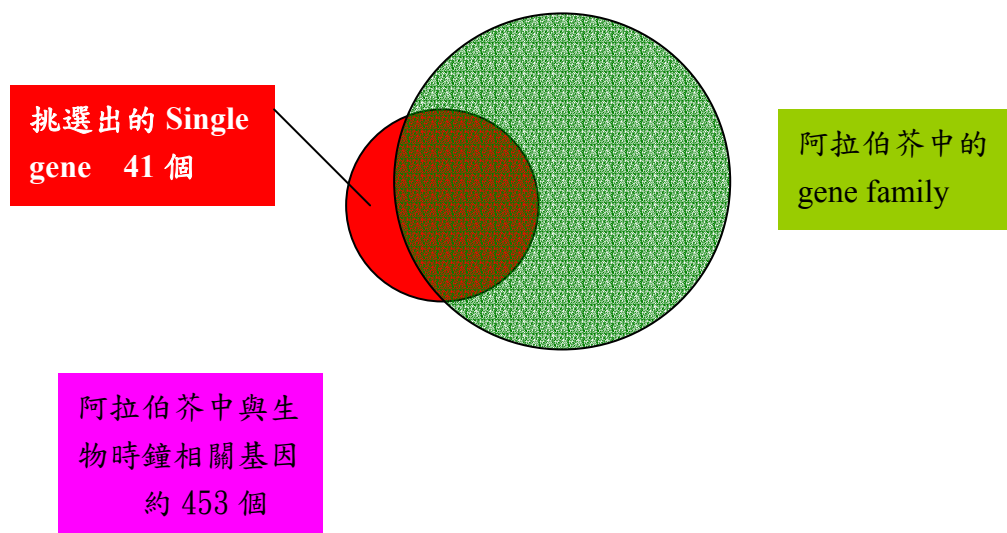
（五）設計 primer 追蹤 CONSTANS 在紫茉莉中的表現

1. *Pharbitis nil* CONSTANS 的介紹：

短日照的牽牛花 (*Pharbitis nil*) 是研究光週期影響花生長的模式植物(model plant)，花的形成可以被長於 14 小時的黑暗所誘發，在牽牛花中發現一個與 *Arabidopsis* CONSTANS 相似的基因 PnCO，PnCO 的表現量在 14 小時黑暗後增加，但在短於 12 小時的黑暗下變少，實驗結果指出 PnCO 的轉錄是由光週期所調控的。從連續光照轉換至連續黑暗 PnCO 的表現量仍具週期性，而生物時鐘的分子標記的表現則呈現與 PnCO 不一樣的模式，不被相同的光週期所調控。

(六) 以生物資訊尋找可能與開花及生物時鐘有關的基因

從 <http://www.sciencemag.org/> 中查詢關鍵字 microarray Arabidopsis，由文獻”阿拉伯芥中生物時鐘協調轉譯之關鍵路徑”(Orchestrated Transcription of Key Pathways in *Arabidopsis* by the Circadian)之補充資料查得阿拉伯芥中基因的表現量與生物時鐘有關者，先將未知基因剔除，再利用國家衛生研究院提供的 blast2 伺服器中 blastall 程式將篩選出的基因與阿拉伯芥所有已知蛋白質進行比對，挑選出 Single Gene (Database 由 <http://www.arabidopsis.org/> 取得)，挑選其中對應蛋白質數較少者，利用 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 中的 Pubmed 找出這些基因的相關文獻以了解是否與開花有關，最後挑選出五個基因作為追蹤目標分子。



(七) 針對挑選出的目標分子設計 primer：

在 NCBI 中使用 Translated BLAST Searches: Protein query - Translated db 以蛋白質序列比對 DNA 資料庫中與該蛋白質相似的基因，挑選其中相似度高並存於不同物種的基因約五個，取得其序列，比對後設計 primer。

設計 primer 時需注意其組合數需要低於 120 個，長度約 20mer，primer 的尾端要求 3 個以上序列相同，primer 的 AT:GC 約 1:1，primer 夾出的基因長度要超過 330 個以上才能在 RT-PCR 中看出變異。

序列的排列比較以 <http://www.embl.de> 中提供的 **sequence alignment** 進行 Multiple Sequence Alignment external。

#### (八) 對動物及阿拉伯芥中與生物時鐘有關之基因進行比對

將文獻中提供 453 個阿拉伯芥中與生物時鐘相關的基因與動物非重複的資料庫進行比對，

### 五、討論

#### (一) 探討野生紫茉莉開花生物時鐘的特性

同一植株在同一日開花時間的組距大致上都在 40 分鐘之內；半閉時間的組距則大約在 20~80 分鐘之間，而同一植株在同一日開花時間的標準差約在 30 分鐘之內；半閉時間的標準差則大約在 5~40 分鐘之間，相差不大；簡單來說同一日同一植株半閉時間的變動性較開花時間略高。在實際觀察開花中發現一大叢紫茉莉中會有 2~3 朵領先其他花朵約 20 分鐘開花，同一天同一頂端分生的花開花時間有少數差距達 40 分鐘以上(多數是接近同時開謝)，領先超過 60 分鐘的只有黃色花系才有，而且落後正常開花時間超過 40 分鐘以上者都有較晚謝的情形，但落在正常開花時間的花朵開謝一致性都很高。大部分的紫茉莉抵達全開時間落在每日的 PM 4:40-5:10，少部分花朵在 5:30 後開放。

至於同一植株在不同日的平均開花時間的組距約在 5~30 分鐘之間，且以 10 分鐘之內的佔大多數。平均開花時間的標準差除了取樣較少的標號 1 之外其他都在 10 分鐘之內；平均半閉時間的標準差同樣除了取

樣較少的標號 1 之外都在 2~15 分鐘之間，和半閉時間變動性較高的結論相呼應。可以說紫茉莉在自然環境下的開花時間相當穩定。

## (二) 探討影響紫茉莉生物時鐘的環境因子：

### 1. 溫度組觀察結果

#### ◎ 25°C 組：

8/23 日放入一盆有 3~4 棵植株的紫紅色紫茉莉(帶有 20 幾朵花苞)，前五天花開花謝正常，接著花芽分化生長的速度減慢，花苞顏色褪去，有葉片出現黃化的現象，該植株在 8/30 移出。9/1 日將另一株白花紫茉莉移入，移入之前有一個頂芽分化花芽，五天後出現 7、8 個成熟花苞，但出現苞片、子房壞死、花苞脫落的情況，該植株並未有開花記錄。

#### ◎ 35°C 組：

8/20 日放入一盆有九個花苞，前四天有花開謝，接著雖陸續有花芽分化，但皆未分化成熟，花苞及葉片上出現褐色圓點，此後沒有花開。

### 2. 光照長度組觀察結果

◎ 8 小時日照組：對植株開閉花時間無明顯影響

◎ 12 小時日照組：對植株開閉花時間無明顯影響

◎ 16 小時日照組：花朵在當天下午 1:00 左右會呈現微微綻放，但完全綻放時間約 3:00，有提前開花的現象。

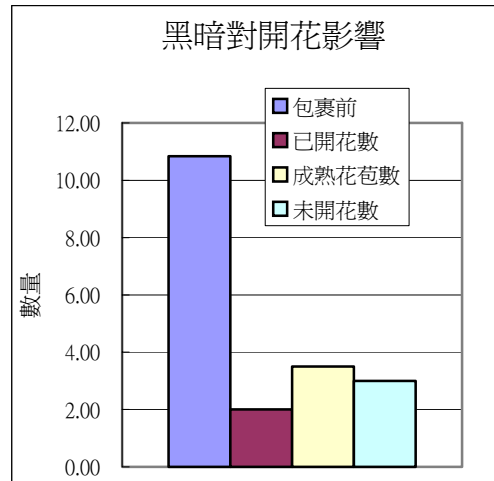
◎ 全日照組：移入初四天有花朵正常開謝，而後的成熟花苞一直保持含苞狀態(開花行為停滯)，尖端有發黑的情況，大約花苞成熟後 10 天有花苞開始枯萎，其他花苞陸續枯萎，但 26 天後仍有成熟花苞保持含苞狀態。花芽的分生開始時良好，從置入 5 天後陷入停頓，而發育中的花芽則停止生長，12 天以後發黑脫落。

### 3. 全黑暗組觀察結果：

選擇樣本六組，實驗結果如下

◎觀察敘述：

全黑暗對於開花情形似乎沒影響（有減緩生長速度），花芽分化正常，有些花苞或殘花的苞片有黑掉的情形，有部分的葉片黑掉。



4. 葉片去除組觀察結果：

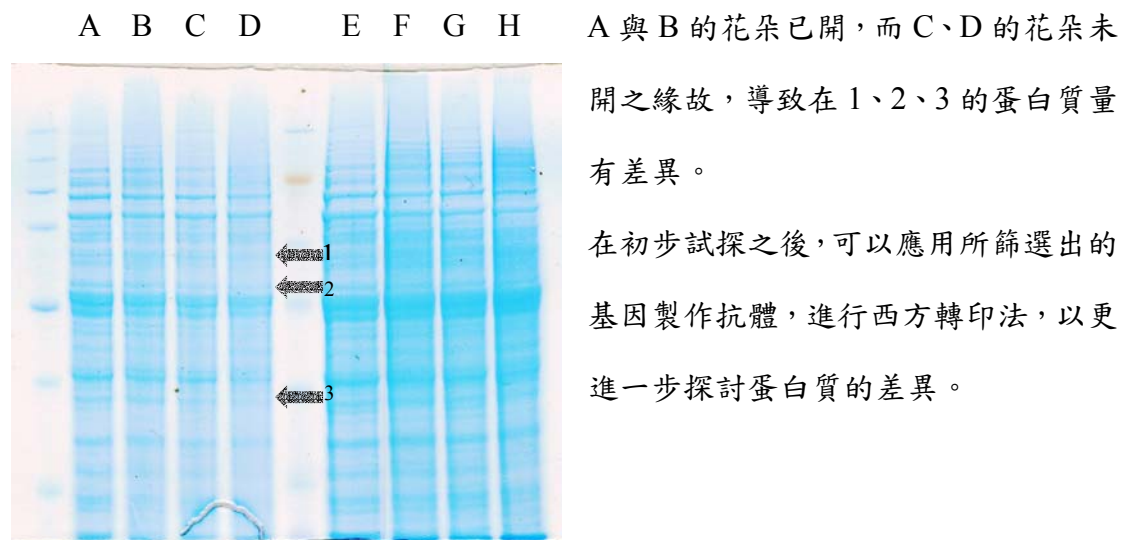
◎8/28 日下午 5:00 拔除，當日的花苞開謝正常；8/29 拔除葉片第二天，花芽生長和花的開謝大致上正常，和其他未拔除葉片植株無太大差異，不同的是有一長約 3cm 看似未成熟的小花苞有開花。9/7 日，觀察到兩棵植株無新花芽分化，仍有花開，時間與其他普通植株無異，有新的幼小葉片長出。

(四) 推測紫茉莉生物時鐘決定與運行的模式

由之前初步的實驗結果推測，紫茉莉開花的生物時鐘應該以一朵花為單位，在花芽發生之初由光照長度決定時間（確切的光受器仍須進一步的實驗），並且生長超過一半之後不再受到光照影響（因此全日照前 3.4 天仍能保持花朵開謝正常），過高的溫度（35°C）會使植株產生抗逆境情形，25°C 是適合花芽生長的。全日照植株中出現子房外部組織壞死的現象，是否為自發性的細胞死亡是相當值得注意的。

(五) 利用蛋白質電泳對不同時間點的樣本進行分析

在長/短日照植物的嫁接開花實驗中證實開花刺激素在不同物種間是可交換的，但或許開花刺激素過於微量，無法由普通的 SDS-page 檢測出差異，如下面的圖顯示出由左到右四個時間點（PM3:00、PM9:00、AM9:00、PM3:00）呈現的蛋白質紋帶幾乎相同，同樣時間點的 1 與 4 其蛋白質的表現不一，可能因為採樣時



A 與 B 的花朵已開，而 C、D 的花朵未開之緣故，導致在 1、2、3 的蛋白質量有差異。

在初步試探之後，可以應用所篩選出的基因製作抗體，進行西方轉印法，以更進一步探討蛋白質的差異。

time P3 P9 A9 P3 P3 P9 A9 P3

(六) 設計 primer 追蹤 CONSTANS 在紫茉莉中的表現

原始編號		序列	長度	組合數	GC:AT
gi 1094633	F1	5'-CGRSYYTGYGACAYATGC	18	64	32:22
gi 2895183	F2	5'-GTBTGYGAGKCRRTGYGAG	18	48	31:23
gi 1161513	F3	5'-STCKCTWTGYRCRGCCTG	18	64	32:22
	F4	5'-AACCCDCTKGCWGMCGCCA	20	48	37:23
	R1	5'-ACYCTRGCYTCYCTGTCCATT	21	16	26:37
	R2	5'-CTTCYTCTTCTCYCTGTA	18	4	23:34
	R3	5'-CCKKATKGTCTTCTCAA	18	8	21:33
	R4	5'-GAATGAWGGAACAATBCCRTATCC	24	12	30:45

(七) 以生物資訊尋找可能與開花及生物時鐘有關的基因

從 *Orchestrated Transcription of Key Pathways in Arabidopsis by the Circadian Clock* 中的 Supplementary Material 中的 Supplemental Table 1 得到阿拉伯芥中被生物時鐘調控的基因，經過篩選剔除 unknown protein，進一步挑選對應蛋白質數較少之基因，整理所得圖表如表一（見附錄），最後挑選 5 個我們有興趣的分子，整理

其特性如下：

Single gene	Protein	特性
gi 3286693	CAA75629	<p>在光系統 2 上一個長度 33kDa 的多肽鏈，產氧複合物的先驅多肽鏈，序列分析中 psbO 基因隱藏兩個 intrion 前 85 個胺基酸是運輸胺基酸，以下的 247 個氨基酸組成一個有功能的多肽鏈，psbO 含有 27 % 的帶電胺基酸因此是親水性的，該基因在特定的組織：葉中出現而無法在根部被找到，該基因的表現與發育有關且在阿拉伯芥幼株中受到光的調控，在阿拉伯芥的光突變株中，黑暗生長的幼株 psbO 基因不受到調控，因此表現量多於野生種，顯示至少有一個以上的物件控制 psbO 的表現。</p>
gi 5911782	CAB56039	<p>阿拉伯芥控制開花光週期的全天時鐘控制基因可能轉譯為某些膜蛋白</p> <p>阿拉伯芥的開花在長日照下會提升而在短日照下會延遲，GI 基因的變動在長日照下延遲開花但在短日照下較少影響，GI 基因轉譯為一種全新的想像中的膜蛋白，利用比較一系列阿拉伯芥和稻米的相似基因和排列他們突變體的對偶基因，斷定 GI 蛋白質所佔的區域可能是相當重要的組成，顯示 GI 的表現是控制在每天的日出後 8~10 小時有顛峰，這個顛峰的高度和持續時間是由日照長短控制，經由分析 GI、LHY、CCA1 和 ELF3 這些基因的交互作用，這些基因已知對日長有反應，顯示 GI 表現的週期變動圖形的改變和 LHY、CCA1、ELF3 的基</p>

		因型有關，且 LHY 及 CCA1 的表現會因 GI 基因的減少而減少，這樣的結果和「GI 對開花與否扮演了很重要的角色且受光週期影響」這個結論相符。
gi 1049293	AAB60305	<p>阿拉伯芥中一個 SecY 的相似物，負責將某些先驅蛋白運進葉綠體。</p> <p>在高等植物中蛋白質轉運入葉綠餅膜需透過兩個通道，其中一個通道與原核生物中有 SecY 的通道蛋白相似，SecY 是細菌中一個疏水性的膜運輸蛋白，這個似 SecY 蛋白有約 551 個胺基酸，與其他 SecY 蛋白比較多了約 120 個胺基酸的蛋白質終止延長，這個延長參與導引蛋白質進入葉綠體。成熟蛋白質 cpSecY 的序列有 41% 和 Synechococcus 的 SecY 相同。</p>
gi 2347178	AAC49807	<p>在阿拉伯芥中過氧化氫酶是由一個小基因族來轉譯，已知 cDNA 和複製阿拉伯芥的過氧化氫酶基因組 CAT3。在持續光照或黑暗下，CAT3 中對應的過氧化氫酶和生長中植物十分相似。CAT3 的表現對應於發芽和生長，但並不對應於持續的光照或黑暗，可能 CAT3 的表現並不是由光照控制，而是由每日的週期控制。一棵生長在光-暗週期 5 週大的阿拉伯芥移入全日照環境後對應 CAT3 的 mRNA 大幅增加持續了至少 5 天，有趣的是，CAT3 表現的加強是發生在傍晚，而阿拉伯芥的過氧化氫酶基因組 CAT2 是控制在清晨。</p>
gi 1079732	AAA82068	Conserved cell and organelle division

(八) 利用生物資訊設計 Primer

原始編號	序列	長度	組合數	GC:AT
gi 3286693	F1 5'-GCYCTYGTGTCTCRGGAGC	20	16	27:13
	F2 5'-AGYAAGACATAYMTGGAAGT	20	8	23:47
	F3 5'-GGAACYGGAACKGCYAAACCA	20	8	64:56
	F4 5'-ACWTCMTTCACVGTCAAGGC	20	12	61:59
	R1 5'-AGCTCCTCCTCRTCTCCTCT	20	2	32:25
	R2 5'-ACCTCWCCDGTCTSHGGSTTGCTCT	25	72	62:88
	R3 5'-CCYTGRATYTTBACATCCTT	20	24	53:67
	R4 5'-ATSABTCAAGYTGRSCATACCA	22	48	21:23
gi 5911782	F1 5'-CCATAYGCWCGYTTGTTTCATAGATACT	28	4	43:69
	F2 5'-ATTGCHACWCCAAGTGCTAC	20	6	37:43
	F3 5'-TGGGCYCCAGATGCACTTGATGC	23	2	53:39
	F4 5'-GAACTCCTTMGRGCWGCKGAAGATTA	26	8	49:55
	R1 5'-CGYTGTTGAYTYTCCACAT	20	8	38:42
	R2 5'-AGMAGAAGRTCTGAWGCACT	20	8	34:46
	R3 5'-GTACAAGCTTCWCCATCAACAAGCAT	26	2	44:60
	R4 5'-TAGACGRCACTTYTRYAGATT	21	16	32:52
gi 1049293	F1 5'-GYDGCAGCTGCWATTGAGGA	20	12	42:38
	F2 5'-TTGCAGAYCTTCAGMRRAAAGAAGG	26	16	41:67
	F3 5'-CAGTATAACHMRATATGCTTC	20	12	30:50
	R1 5'-GTRTARTARTAGTTGAAGAA	20	8	23:57
	R2 5'-GCACCTTGVCGYTTYARTTGTTCACT	26	16	48:56
	R3 5'-CCWGCAAAYCCHCKGAATGC	20	24	46:34
	R4 5'-TCTGTYGCACAHCCRACAAG	20	12	41:39

gi 2347178	F1	5'-AYCTYACYTGTGCTTGATTT	19	8	39:56
	F2	5'-AGAGAGGGDAACTTTGATCT	20	3	42:58
	F3	5'-TTCCCKGAYRTKGTCCACGCA	20	16	59:41
	F4	5'-ATCCARGAGWAYAYTGGAGG	18	8	47:43
	R1	5'-GTGRTTGTGTGRTGAGCACA	21	4	50:55
	R2	5'-CTCCTCRTCYCTGTGCATRAARTTCAT	27	16	60:75
	R3	5'-AYRAAVCKBTCTTGCCTGTC	20	36	49:51
	R4	5'-CTGWGACCAGTAWGWDATCCA	21	24	43:57
gi 1079732	F1	5'-AACAAYGCYAACCCBATGAT	23	24	60:78
	F2	5'-AAATTGGVGARCWKYTRACTCGTTGG	25	96	66:84
	F3	5'-GGDACDGGDTCBGGTGCTGC	20	81	79:41
	R1	5'-ACATTKACHAGYCCAGGTAT	20	12	48:72
	R2	5'-GCKGTWCCAGARTYTTTCAT	20	16	50:70
	R3	5'-GCYTGYTCDGCWGCTTCTT	19	24	58:56
	R4	5'-ACTTCYTG YARRGTKATGTC	20	32	50:70

(九) 對動物及阿拉伯芥中與生物時鐘有關之基因進行比對

gi 20197915	gb AAD23680.2	putative CONSTANS-like B-box zinc finger protein
gi 3063444	gb AAC14032.1	AAC14032 F22O13.5
gi 7487567	pir  T00435	hypothetical protein T30B22.21 -
gi 7329654	emb CAB82751.1	serine/threonine protein kinase ATPK10
gi 3377825	gb AAC28198.1	contains similarity to fibrillins
gi 20197286	gb AAC32247.2	putative hydroxymethylglutaryl-CoA lyase
gi 3132479	gb AAC16268.1	ABC transporter (AtMRP2)
gi 7488086	pir  T05259	probable disease resistance protein F18A5.290
gi 7488107	pir  T04713	probable formamidase (EC 3.5.1.49)F19F18.50
gb X83096	gb T76913	comes from this gene.
gi 1903360	gb AAB70442.1	Similar to Arabidopsis 2A6
gi 7459577	pir  T05583	CER2 protein

gi 7488106	pir  T04712	probable formamidase(EC 3.5.1.49) F19F18.40 -
gi 5478791	dbj BAA77716.2	SNF1 related protein kinase
gi 973313	gb AAC49172.1	myo-inositol 1-phosphate synthase isozyme-2
gi 4096693	gb AAC99993.1	cinnamate 4-hydroxylase
gi 2398851	dbj BAA22214.1	plastid RNA polymerase sigma-subunit
gi 7485354	pir  T05409	hypothetical protein F10M6.170
gi 4835230	emb CAB42908.1	putative LEA protein
gi 4966352	gb AAD34683.1	AC006341_11 >F3O9.11
gi 4678919	emb CAB41310.1	sulfate transporter (ATST1)
gi 3164140	dbj BAA28537.1	cytochrome P450 monooxygenase
gi 7433189	pir  T05119	leucoanthocyanidin dioxygenase (EC1.14.11.-) F7H19.60
gi 7484928	pir  T02684	DNA-binding protein CCA1
gi 1022797	gb AAB67841.1	glutathione reductase
gi 2266412	emb CAA74639.1	glutathione S-transferase
gi 3334223	sp P93836	HPPD_ARATH 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (4HPPD) (HPD)
gi 20197254	gb AAC23646.2	putative alcohol dehydrogenase
gi 166896	gb AAA32880.1	alpha-1-tubulin AF135455_1 phytochrome A supressor spa1
gi 4835756	gb AAD30223.1	AC007202_5 Is a member of the PF 00044 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase family.
gi 5080803	gb AAD39312.1	AC007258_1 Similar to glutathione transferase
gi 4325375	gb AAD17371.1	imilar to arginases (Pfam: PF00491,Score=353.2, E=1.4e-119, N=1)
gi 2651310	gb AAB87590.1	putative PTR2 family peptide transporter
gi 4914339	gb AAD32887.1	AC005489_25 F14N23.25
gi 1932930	gb AAB51703.1	putative AT103
gi 3281846	emb CAA07004.1	late elongated hypocoty l
gi 7487526	pir  T01363	hypothetical protein T29F13.7
gi 7488112	pir  H71432	probable glucosyltransferase
gi 4512624	gb AAD21693.1	Strong similarity to gi 3033401 F19I3.29 putative potassium transporter from Arabidopsis thaliana BAC
gi 7442211	pir  T06084	auxin-induced protein SAUR-AC1
gi 7488252	pir  T04846	protein kinase homolog F21P8.180 -
gi 20198155	gb AAD26481.2	putative CONSTANS-like B-box zinc

		finger protein
gi 4914340	gb AAD32888.1	AC005489_26 F14N23.26
gi 2695703	emb CAA71587.1	CONSTANS
gi 2695705	emb CAA71588.1	constans-like protein 1

## 六、參考文獻

1. **Stacey L. Harmer, John B. Hogenesch, Marty Straume, Hur-Song Chang, Bin Han, Tong Zhu, Xun Wang, Joel A. Kreps, and Steve A. Kay** (2000) Orchestrated Transcription of Key Pathways in *Arabidopsis* by the Circadian Clock. *Science* 290: 2110-2113.
2. **Jiayou Liu, Jianping Yu, Lee McIntosh, Hans Kende, and Jan A.D. Zeevaart**(2001) Isolation of a *CONSTANS* Ortholog from *Pharbitis nil* and Its Role in Flowering. *Plant Physiology* 125:1821-1830
3. Zhong HH, McClung CR. (1996) The circadian clock gates expression of two *Arabidopsis* catalase genes to distinct and opposite circadian phases. *Mol Gen Genet* 23;251(2):196-203
4. Jain PK, Kochhar A, Khurana JP, Tyagi AK. (1998) The psbO gene for 33-kDa precursor polypeptide of the oxygen-evolving complex in *Arabidopsis thaliana*--nucleotide sequence and control of its expression. *DNA Res* 31;5(4):221-8
5. Fowler S, Lee K, Onouchi H, Samach A, Richardson K, Morris B, Coupland G, Putterill J. (1999) GIGANTEA: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *EMBO J* 18(17):4679-88
6. Laidler V, Chaddock AM, Knott TG, Walker D, Robinson C. (1995) A SecY homolog in *Arabidopsis thaliana*. Sequence of a full-length cDNA clone and import of the precursor protein into chloroplasts. *J Biol Chem* 270(30):17664-7

7. 蛋白質電泳方法，李嘉雯，師大生物系
8. 生物技術方法，莊榮輝，台大農化系
9. Cambell 生物學，Neil A. Campbell 著，偉文圖書公司
10. 植物生理學 p139-p164，高清 著，華岡出版

七、附錄

附錄一：挑選出的 single gene

Single gene	protein	
gi 7488106	T04712	probable formamidase (EC 3.5.1.49) F19F18.40 - Arabidopsis thaliana
gi 7488107	T04713	probable formamidase (EC 3.5.1.49) F19F18.50 - Arabidopsis thaliana
gi 4835230	CAB42908	putative LEA protein [Arabidopsis thaliana]
gi 973313	AAC49172	myo-inositol 1-phosphate synthase isozyme-2
gi 3334223	P93836	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (4HPPD) (HPD) (HPPDase)
gi 4325375	AAD17371	similar to arginases (Pfam: PF00491, Score=353.2, E=1.4e-119, N=1) [Arabidopsis thaliana]
gi 1932930	AAB51703	putative AT103 [Arabidopsis thaliana]
gi 4874274	AAD31339	Similar to gb X02844 lipase precursor from Staphylococcus hyicus. ESTs gb AI239406 and gb T76725 come from this gene. [Arabidopsis thaliana]
gi 3286693	CAA75629	33 kDa polypeptide of oxygen-evolving complex (OEC) in photosystem II [Arabidopsis thaliana]
gi 2129640	S71288	protoporphyrin IX magnesium chelatase (EC 4.99.1.-) chlH - Arabidopsis thaliana
gi 1709825	P49107	Photosystem I reaction centre subunit N, chloroplast precursor (PSI-N)
gi 3337435	AAC95000	PsbY precursor; putative photosytem II peptide [Spinacia oleracea]
gi 3786005	AAC67351	putative phospholipid cytidyltransferase [Arabidopsis thaliana]
gi 4335755	AAD17432	unknown protein [Arabidopsis thaliana]
gi 2623298	AAB86444	4-alpha-glucanotransferase [Arabidopsis thaliana]
gi 2462911	CAB06081	UDP-glucose:sterol glucosyltransferase [Avena sativa]
gi 5911782	CAB56039	gigantea protein [Arabidopsis thaliana]

gi 4887755	AAD32291	putative acetolactate synthase [Arabidopsis thaliana]
gi 7452401	T02438	dehydration-induced protein ERD15 - Arabidopsis thaliana
gi 1049293	AAB60305	SecY homolog; targetted to the thylakoid membrane; the protein has a chloroplast targetting signal, but the processing site is not known
gi 2347178	AAC49807	catalase 3 [Arabidopsis thaliana]
gi 9454559	AAF87882	10-formyltetrahydrofolate synthetase [Arabidopsis thaliana]
gi 5921663	AAD56290	10-formyltetrahydrofolate synthetase [Arabidopsis thaliana]
gi 7594523	CAB88048	alpha-soluble NSF attachment protein-like [Arabidopsis thaliana]
gi 4490749	CAB38911	2-dehydro-3-deoxyphosphoheptonate aldolase [Arabidopsis thaliana]
gi 4874272	AAD31337	Strong similarity to gb Y09533 involved in starch metabolism from Solanum tuberosum and contains a PF 01326 Pyruvate phosphate dikinase, PEP/pyruvate binding domain. EST gb N96757 comes from this gene. [Arabidopsis thaliana]
gi 3927837	AAC79594	putative membrane channel protein [Arabidopsis thaliana]
gi 1495269	CAA66408	product similar to ccr protein, Citrus paradisi~PIR: S52663 [Arabidopsis thaliana]
gi 7486132	T10199	hypothetical protein F25G13.60 - Arabidopsis thaliana
gi 7488425	T00708	violaxanthin de-epoxidase homolog F22O13.3 - Arabidopsis thaliana
gi 4099092	AAD09232	unknown [Arabidopsis thaliana]
gi 1079732	AAA82068	cpFtsZ
gi 7486719	T01857	hypothetical protein F9D12.1 - Arabidopsis thaliana
gi 16230	CAA38894	cold regulated [Arabidopsis thaliana]
gi 2462925	CAA03884	GTP cyclohydrolase II /

		3,4-dihydroxy-2-butanone-4-phosphate synthase [Arabidopsis thaliana]
gi 1946377	AAB63095	putative ferrochelatase precursor [Arabidopsis thaliana]
gi 1362000	S57897	metallothionein-like protein - Arabidopsis thaliana
gi 7484824	T09562	beta-carotene hydroxylase homolog L73G19.80 - Arabidopsis thaliana
gi 7488117	T02615	probable glycine dehydrogenase (decarboxylating) (EC 1.4.4.2) T19L18.11 - Arabidopsis thaliana
gi 1246399	CAA64220	catalase [Arabidopsis thaliana]
gi 1402876	CAA66826	putative phosphate permease [Arabidopsis thaliana]

附件二：依日期分類數據

◎黃色紫茉莉花朵開花時鐘追蹤整理

編號	全開時間	半閉時間	編號	全開時間	半閉時間
10	8/22 PM 5:45	8/23 AM 8:00	31	8/22 PM 4:50	8/23 AM 7:00
11	8/22 PM 5:05	8/23 AM 8:00	33	8/22 PM 5:00	8/23 AM 7:15
12	8/22 PM 5:35	8/23 AM 8:10	39	8/22 PM 5:10	8/23 AM 7:15
13	8/22 PM 6:00	8/23 AM 8:50	4	8/22 PM 5:15	8/23 AM 7:40
14	8/22 PM 5:05	8/23 AM 7:00	43	8/22 PM 5:45	8/23 AM 8:50
15	8/22 PM 5:15	8/23 AM 7:20	41	8/22 PM 5:45	8/23 AM 7:10
16	8/22 PM 4:50	8/23 AM 7:10	42	8/22 PM 4:40	8/23 AM 6:50
18	8/22 PM 4:50	8/23 AM 7:15	44	8/22 PM 6:20	8/23 AM 9:15
23	8/22 PM 6:00	8/23 AM 9:00	5	8/22 PM 4:50	8/23 AM 7:25
24	8/22 PM 4:40	8/23 AM 7:40	6	8/22 PM 4:30	8/23 AM 6:50
25	8/22 PM 5:15	8/23 AM 7:40	70	8/22 PM 4:45	8/23 AM 7:00
30	8/22 PM 5:05	8/23 AM 6:50	71	8/22 PM 5:00	8/23 AM 8:00

◎紫紅色紫茉莉花朵開花時鐘追蹤整理

第一天 (8/14 PM 3:20~6:20 8/15 AM 7:10~8:10) :

編號	全開時間	半閉時間	編號	全開時間	半閉時間
6	6:10 PM	7:20 AM	21	6:10 PM	7:10 AM
9	7:00 PM	7:40 AM	22	6:30 PM	6:50 AM
11	6:20 PM	7:40 AM	24	6:00 PM	6:50 AM
14	6:10 PM	7:40 AM	27	6:30 PM	7:10 AM
15	5:50 PM	7:20 AM	28	6:20 PM	7:10 AM
16	6:30 PM	6:40 AM	29	6:30 PM	7:20 AM
18	6:30 PM	6:30 AM	30	6:20 PM	7:00 AM
19	6:30 PM	6:40 AM	31	6:30 PM	7:00 AM
36	6:00 PM	7:00 AM	41	6:40 PM	7:00 AM
37	6:30 PM	6:40 AM	44	6:20 PM	6:50 AM
39	6:30 PM	6:50 AM	45	6:10 PM	6:50 AM
40	6:30 PM	6:50 AM	46	6:00 PM	7:00 AM
48	6:20 PM	7:20 AM	47	6:20 PM	7:30 AM
49	6:30 PM	7:20 AM			
50	6:00 PM	7:10 AM			

第二天 (8/15 PM 3:40~6:50 8/16 AM 6:30~7:50) :

編號	全開時間	半閉時間	編號	全開時間	半閉時間
7	6:50 PM	8:10 AM	61	6:20 PM	7:30 AM
32	6:20 PM	6:20 AM	64	6:30 PM	7:40 AM
34	6:20 PM	6:40 AM	65	6:20 PM	7:40 AM
35	6:20 PM	7:20 AM	66	6:20 PM	7:00 AM
38	6:20 PM	7:20 AM	67	6:30 PM	7:00 AM
42	6:40 PM	6:40 AM	68	6:20 PM	6:30 AM
43	6:30 PM	6:50 AM	69	6:30 PM	7:20 AM

51	6:20 PM	7:30 AM	74	6:20 PM	7:00 AM
52	6:20 PM	6:40 AM	76	6:20 PM	7:30 AM
55	6:40 PM	7:00 AM			
59	6:10 PM	7:10 AM			
60	7:20 PM	7:40 AM			

第三天 (8/16 PM 3:40~6:30 8/17 AM 8:00~9:00) :

編號	全開時間	半閉時間	編號	全開時間	半閉時間
1	6:30 PM	8:40 AM	93	6:20 PM	7:30 AM
2	6:30 PM	7:30 AM	94	6:30 PM	7:30 AM
5	5:50 PM	8:10 AM	95	6:20 PM	7:10 AM
57	6:30 PM	9:20 AM	97	5:50 PM	7:30 AM
63	6:30 PM	7:30 AM	98	6:20 PM	7:30 AM
72	6:10 PM	7:40 AM	99	6:20 PM	7:20 AM
82	6:20 PM	8:00 AM	100	6:10 PM	7:30 AM
84	6:20 PM	7:50 AM	101	6:20 PM	7:10 AM
85	6:20 PM	7:50 AM	102	5:50 PM	7:30 AM
86	6:20 PM	7:20 AM	103	6:50 PM	7:40 AM
89	6:20 PM	7:20 AM			
90	6:50 PM	7:30 AM			

附件三：依編號分類數據：

植株編號	花朵編號	開花時間	半閉時間	XY 散佈圖
一	6	8/14	05:50 PM	07:00 AM
	55	8/15	06:20 PM	06:40 AM
	1	8/16	06:10 PM	08:20 AM

	2		06:10 PM	07:10 AM	<p>同株開閉花時間比較</p>
	5		05:30 PM	07:50 AM	
	57		06:10 PM	09:00 AM	
	82		06:00 PM	07:40 AM	
	標準差		0:15	0:45	
	平均值		6:01 PM	7:40 AM	
	取樣數		7		
十三	6	8/14	05:50 PM	07:00 AM	<p>同株開閉花時間比較</p>
	9		06:40 PM	07:20 AM	
	11		06:00 PM	07:20 AM	
	14		05:50 PM	07:20 AM	
	7	8/15	06:30 PM	07:50 AM	
	59		05:50 PM	06:50 AM	
	60		07:00 PM	07:20 AM	
	84	8/16	06:00 PM	07:30 AM	
	85		06:00 PM	07:30 AM	
	86		06:00 PM	07:00 AM	
	89		06:00 PM	07:00 AM	
	90		06:30 PM	07:10 AM	
	93		06:00 PM	07:10 AM	
	標準差		0:21	0:15	
	平均值		6:10 PM	7:15 AM	
	取樣數		13		
十四	15	8/14	05:30 PM	07:00 AM	
	16		06:10 PM	06:20 AM	

	18		06:10 PM	06:10 AM	<p>同株開閉花時間比較</p>	
	19		06:10 PM	06:20 AM		
	21		05:50 PM	06:50 AM		
	22		06:10 PM	06:30 AM		
	24		05:40 PM	06:30 AM		
	61	8/15	06:00 PM	07:10 AM		
	64		06:10 PM	07:20 AM		
	65		06:00 PM	07:20 AM		
	66		06:00 PM	06:40 AM		
	67		06:10 PM	06:40 AM		
	68		06:00 PM	06:10 AM		
	69		06:10 PM	07:00 AM		
	63	8/16	06:10 PM	07:10 AM		
	72		05:50 PM	07:20 AM		
	94		06:10 PM	07:10 AM		
	95		06:00 PM	06:50 AM		
	97		05:30 PM	07:10 AM		
		標準差		0:13		0:23
		平均值		5:59 PM		6:49 AM
	樣本數		19			
十五	27	8/14	06:10 PM	06:50 AM		
	28		06:00 PM	06:50 AM		
	29		06:10 PM	07:00 AM		
	30		06:00 PM	06:40 AM		
	31		06:10 PM	06:40 AM		

	36		05:40 PM	06:40 AM	<p>同株開閉花時間比較</p>
	37		06:10 PM	06:20 AM	
	39		06:10 PM	06:30 AM	
	40		06:10 PM	06:30 AM	
	41		06:20 PM	06:40 AM	
	32	8/15	06:00 PM	06:00 AM	
	34		06:00 PM	06:20 AM	
	35		06:00 PM	07:00 AM	
	38		06:00 PM	07:00 AM	
	42		06:20 PM	06:20 AM	
	43		06:10 PM	06:30 AM	
	74		06:00 PM	06:40 AM	
	97	8/16	05:30 PM	07:10 AM	
	98		06:00 PM	07:10 AM	
	99		06:00 PM	07:00 AM	
	100		05:50 PM	07:10 AM	
	101		06:00 PM	06:50 AM	
	標準差		0:11	0:18	
	平均值		6:02 PM	6:43 AM	
	樣本數		22		
十六	44	8/14	06:00 PM	06:30 AM	
	45		05:50 PM	06:30 AM	
	46		05:40 PM	06:40 AM	
	47		06:00 PM	07:10 AM	
	48		06:00 PM	07:00 AM	

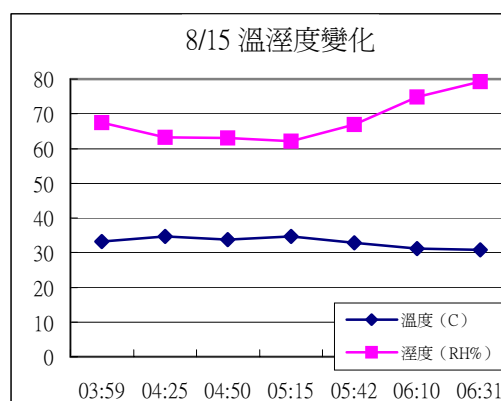
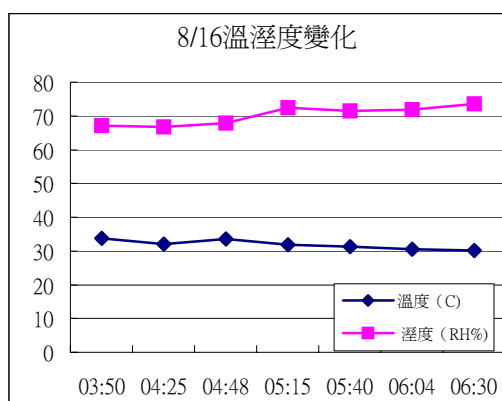
	49		06:10 PM	07:00 AM	<p style="text-align: center;">同株開閉花時間比較</p>
	50		05:40 PM	06:50 AM	
	51	8/15	06:00 PM	07:10 AM	
	52		06:00 PM	06:20 AM	
	76		06:00 PM	07:10 AM	
	102	8/16	05:30 PM	07:10 AM	
	103		06:30 PM	07:20 AM	
		標準差		0:14	
	平均值		5:56 PM	6:54AM	
	樣本數		12		

附件五：紅花各單株紫茉莉開花時間資料總比較

日期	8/14	8/15	8/16	三日	8/14	8/15	8/16	三日
標號	一			平均	十三			平均
開花時間平均 (時：分 PM)	5:50	6:20	6:00	6:01	6:05	6:26	6:05	6:10
開花標準差(分)	0	0	0:17	0:12	0:20	0:28	0:11	0:10
閉花時間平均 (時：分 AM)	7:00	6:40	8:00	7:40	7:15	7:20	7:13	7:15
閉花標準差(分)	0	0	0:40	0:34	0:08	0:24	0:12	0:02
取樣數	1	1	5	7	4	3	6	13
標號	十四				十五			
開花時間平均 (時：分 PM)	5:57	6:04	5:56	5:59	6:06	6:04	5:52	6:02
開花標準差(分)	0:15	0:04	0:14	0:03	0:10	0:07	0:11	0:06
閉花時間平均 (時：分 AM)	6:31	6:54	7:08	6:49	6:40	6:32	7:04	6:43
閉花標準差(分)	0:16	0:23	0:09	0:15	0:10	0:20	0:08	0:13

取樣數	7	7	5	19	10	7	5	22
標號	十六			標準差 (分)				
開花時間平均 (時：分 PM)	5:54	6:00	6:00	0:02				
開花標準差(分)	0:10	0:00	0:30					
閉花時間平均 (時：分 AM)	6:48	6:53	7:15	0:11				
閉花標準差(分)	0:14	0:23	0:05					
取樣數	7	33	2	12				

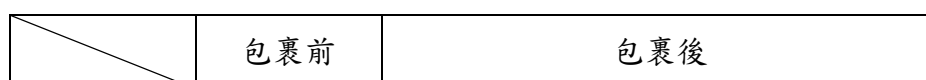
附件六：溫溼度紀錄、統計圖表



編號	開花恆定性	閉花恆定性
一	0:12	0:34
十三	0:10	0:02
十四	0:03	0:15
十五	0:06	0:13
十六	0:02	0:11
平均(分)	6.6	15

編號	8/14	8/15	8/16	平均
一	0:00	0:00	0:17	0:06
十三	0:20	0:28	0:11	0:20
十四	0:15	0:04	0:14	0:11
十五	0:10	0:07	0:11	0:09
十六	0:10	0:00	0:30	0:13

黑暗對開花影響情形



組別	花苞個數	已開花數	成熟花苞數	幼苞數
1	21	4	6	0
2	8	0	2	0
3	4	2	4	3
4	9	2	3	5
5	15	1	3	9
6	8	3	3	1