

二、研究材料與方法

(一) 研究材料

至全台各地合適的生育地採集標本，除在現場進行觀察、記錄或拍照外，另取花苞以絕對酒精與冰醋酸（3：1/V：V）之混合液固定，成熟的花、果實等以 70% 酒精固定液處理後攜回觀察，並採集部份完整植株攜回實驗室作進一步觀察，最後製成證據標本，存放於國立臺灣師範大學生命科學系植物標本館（TNU），以備日後查證。

除實地採集之外，並至國內各大標本館檢視館藏之蠟葉標本，另外，亦檢視紐約植物園標本館（NY）等網路資料庫之標本照片，以及哈佛植物標本館（A）之模式標本照片。已檢視之模式標本（含照片）列於表 3。檢視之標本館及其代號詳列如下：

中央研究院植物標本館（HAST）

林業試驗所植物標本館（TAIF）

國立臺灣大學植物標本館（TAI）

國立臺灣師範大學生命科學系植物標本館（TNU）

國立自然科學博物館植物標本館（TNM）

(二) 研究方法

1. 外部形態：

觀察記錄新鮮材料與蠟葉標本之外部形態特徵，細微構造以解剖顯微鏡觀察，並拍照及繪圖記錄之。對於外部形態之描述則以新鮮的成熟器官為主。

2. 花粉形態觀察：

將以 70%酒精固定之花藥置於載玻片上，加一滴醋酸洋紅輕搗，除去花藥碎片後蓋上蓋玻片，於光學顯微鏡下觀察，並於每一採集號逢機取 30 粒花粉，分別測量記錄其極軸 (P) 及赤道軸 (E) 長度，並以其平均值計算 P/E 值。

另取部份花藥加入醋酸，用玻棒輕搗，以銅網過濾，取得濾液，再用醋酸分解法 (Acetolysis) (Erdtman, 1952) 處理，供電子顯微鏡觀察花粉表面突起形態及花粉外壁表面紋飾，其步驟如下：

- (1) 將濾液倒入微量離心管中，以 3000 rpm 轉速離心 5 分鐘，傾去上清液；加入硫酸與無水醋酸酐 (1:9/V:V) 之混合液 1 mL 攪拌後，於沸水浴中處理 3~5 分鐘；再攪拌，待冷卻後離心 5 分鐘。
- (2) 傾去上清液，加入 70%酒精 1 mL 攪拌，再離心 5 分鐘。
- (3) 如上漸次以 85%、95%、99.5%酒精、100%丙酮進行序列脫水。
- (4) 將上述花粉以臨界點乾燥 (Critical point drying) 後傾倒於樣品鋁台上，外表鍍金 (coating)，以掃描式電子顯微鏡 (SEM) 觀察並照相記錄之。

3. 蒴果及種子形態觀察

- (1) 解剖顯微鏡觀察：觀察成熟蒴果及種子之外型，測量其長、寬，乾燥後保存於防潮箱中。
- (2) 掃描式電子顯微鏡：取成熟蒴果及種子，乾燥後直接黏貼於樣品鋁台上，於外表鍍金後，以掃描式電子顯微鏡觀察表面細部構造並照相紀錄。

4. 染色體：

- (1) 減數分裂：在野外取花苞以絕對酒精與冰醋酸 (3:1/V:V) 之混合液固定，12-24 小時後置換於 70%酒精中並冷藏保存；取其未成熟之花

藥，用醋酸洋紅壓片法 (Acetocarmine squash method) 製成染色體玻片，於光學顯微鏡下觀察減數分裂時的染色體數目及形態，並拍照記錄之。

(2) 有絲分裂：

- a. 取植物體之新鮮未損傷之根尖，以 8-hydroxyquinoline (0.29 g/1000 mL H₂O) 與 cycloheximide (0.02 g/1000 mL H₂O) 溶液等量混合處理根尖 3~4 小時，溫度維持在約 20°C。
- b. 以新鮮配置的絕對酒精與冰醋酸 (3 : 1/V : V) 混合液置於室溫下固定根尖 1~24 小時。
- c. 固定後將根尖材料浸入 70% 酒精中，冷藏 (-20°C) 保存。
- d. 實驗前以果膠酶 5% 浸泡約 1 小時以上，再進行染色壓片。
- e. 取適量材料，切下根尖 1-2 mm，先加入染劑再搗碎材料，然後以酒精燈慢慢加熱，蓋上蓋玻片。
- f. 選一平整桌面，置一濾紙，將玻片上下顛倒置於濾紙上，用手壓住玻片，另一手以木棒垂直敲打玻片。
- g. 於光學顯微鏡下觀察染色體數目及形態，並拍照記錄之。

表 3.本研究已檢視之模式標本

模式標本學名	採集記錄	模式狀態	模式標本存放標本館	模式標本照片來源
<i>S. fauriei</i> R. Ben.	Bunkiko, Dec. 1914, <i>U. J.</i> <i>Faurie s. n.</i>	Isotype		A
<i>S. flexicaulis</i> Hayata	Mt. Arisan, Jan. 1912, <i>B.</i> <i>Hayata & S. Sasaki s. n.</i>	Isotype	TAIF	
<i>S. lasiocalyx</i> Hayata	Shinten, Jan. 1914, <i>U.</i> <i>Faurie s. n.</i>	Isotype	TAIF	
<i>S. longespicata</i> Hayata	Taito: Haroye, Oct. 1907, <i>Z. Kobayashi 6011</i>	Isotype	TAIF	
<i>S. prionophyllus</i> Hayata	Taito: Inikufukusha, Dec.1899, <i>U. Mori 2150</i>	Isotype	TAIF	
<i>S. formosana</i> S. Moore	Formosa: Tamsuy, 1864, <i>R. Oldham 406</i>	Isotype		A