

貳、材料與方法



一、研究材料

由於本屬植物許多性狀容易在烘製成蠟葉標本的過程中變形，或者失去原本的特徵，因此外部形態觀察以新鮮材料為主。新鮮材料的來源，主要是參考各大標本館所收藏之標本或相關文獻記錄，再至各地採集而得。在採集現場除了拍照、記錄之外，另取花苞以絕對酒精和冰醋酸(3:1/V:V)混合液進行固定，1~24小時之內替換為70%的酒精溶液浸泡保存;成熟的花和果以70%的酒精溶液浸泡保存，帶回實驗室進行觀察;並截取一年生略木質化之枝條，插入套筒暫時保存水分，帶回溫室進行扦插;而帶有花或果的枝條則製成證據標本，存放於國立臺灣師範大學生命科學系標本館(TNU)，以備日後查證。

除實地採集之外，本研究並檢視國內各標本館館藏之蠟葉標本，包含台灣地區本屬植物之模式標本三份，檢視之標本館代號如下：

- 中央研究院植物研究所標本館(HAST)
- 行政院農委會林業試驗所標本館(TAIF)
- 國立台灣大學植物系標本館(TAI)
- 國立台灣大學森林系標本館(NTUF)
- 國立台灣師範大學生命科學系植物標本館(NTNU)
- 國立自然科學博物館植物標本館(TNM)
- 國立中興大學森林學系標本館(NCUF)
- 國立屏東科技大學森林資源學系標本館(PPI)

此外，央請張和明學長至中國科學院植物所標本館(PE)、楊智凱學長至華南植物研究所標本館(IBSC)，拍攝薔薇屬植物標本數份作為本研究材料之

輔助，以及許再文學長提供日本京都大學植物標本館(KYO)模式標本照片一份，並且取得日本東京大學植物標本館(TI)薔薇屬植物模式標本影像資料一共十四筆(<http://herb.um.u-tokyo.ac.jp/>)，美國國家標本館(US)模式標本影像資料一筆(<http://www.nmnh.si.edu/sysbiology/>)，荷蘭萊登植物標本館(L)模式標本影像資料二筆(<http://www.nationaalherbarium.nl/virtual/>)(表 4)以供觀察比對。

二、研究方法

(一) 外部形態

觀察記錄新鮮材料和蠟葉標本之外部形態特徵，較小之構造則以解剖顯微鏡觀察，並拍照及繪圖記錄之。由於乾燥的蠟葉標本可能隱蔽或失去某些特徵，因此外部形態觀察以新鮮材料為主，以蠟葉標本為輔。

(二) 微細構造

1. 植株表皮被毛及其他附屬物：截取植株主要被毛部位，包括托葉、葉柄、花梗、花萼筒及花萼等，另取一小片葉表皮，經由下列方式處理後，以掃描式電子顯微鏡(SEM)觀察：

(1) 漸次以 85%、95%、99.5%酒精和 100%丙酮進行序列脫水。

(2) 將上述樣品以臨界點乾燥(critical point drying)處理後，黏附於樣品鋁台(stub)上，外表鍍金(coating)，以掃描式電子顯微鏡觀察並照相記錄之。

2. 花柱形態：主要比較合柱組內花柱被毛形態的差異，進行掃描式電子顯微鏡觀察之前先以下列方式處理：

(1) 漸次以 85%、95%、99.5%酒精和 100%丙酮進行序列脫水。

(2) 將上述樣品以臨界點乾燥處理後，黏附於樣品鋁台上，外表鍍金以

表 4. 本研究檢視薔薇屬植物模式標本一覽表

學名	模式標本	模式標本照片
<i>R. multiflora</i> var. <i>formosana</i>		KYO
<i>R. kanzanensis</i>	TAI	
<i>R. luciae</i> var. <i>rosea</i>		US
<i>R. luzoniensis</i>		L
<i>R. morrisonensis</i>	TAIF	TI
<i>R. pricei</i>		TI
<i>R. sambucina</i>		TI
<i>R. sambucina</i> var. <i>pubescens</i>		TI
<i>R. sambucina</i> var. <i>mushaniana</i>	NCUF	
<i>R. taiwanensis</i>		TI
<i>R. transmorrisonensis</i>		TI

掃瞄式電子顯微鏡觀察並照相記錄之。

3. 果實形態：主要觀察瘦果表面是否具有特殊紋飾，進行掃描式電子顯微鏡觀察之前須以下列方式處理：

- (1) 將浸泡於 70% 酒精的果實取出，放入裝有硫酸及冰醋酸 (1:9 / V: V) 混合液之罐子中，於 100°C 熱水中浸泡 1 分鐘取出。
- (2) 將瘦果外層的果皮輕輕撕下。
- (3) 漸次以 85%、95%、99.5% 酒精和 100% 丙酮進行序列脫水。
- (4) 將上述樣品以臨界點乾燥處理後，黏附於樣品鋁台上，外表鍍金以掃瞄式電子顯微鏡觀察並照相記錄之。

(三) 花粉形態

1. 複式光學顯微鏡觀察：

- (1) 將以 70% 酒精固定之花藥置於載玻片上，加一滴醋酸洋紅以玻棒輕擣，除去碎片後蓋上蓋玻片，於光學顯微鏡下觀察。
- (2) 每一採集號逢機取十粒花粉，分別測量及記錄其極軸和赤道軸長度。

2. 掃描式電子顯微鏡觀察：取部分花藥置於培養皿中，加入醋酸用玻棒輕擣，以銅網過濾，取得濾液。以醋酸分解法(Acetolysis)(Erdtman, 1952)將花粉的細胞質除去，僅留外壁，供電子顯微鏡觀察之用，其步驟如下：

- (1) 將濾液倒入微量離心管中，以 3000 rpm 轉速進行離心 5 分鐘。傾去上清液，加入硫酸及冰醋酸 (1.5:8.5 / V: V) 之混合液 1 ml 攪拌後，浸於沸水浴中 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) 漸次以 85%、95%、99.5% 酒精和 100% 丙酮進行序列脫水。
- (4) 將上述花粉以臨界點乾燥處理後傾倒於樣品鋁台上，外表鍍金，以掃瞄式電子顯微鏡觀察並照相記錄。

(四)、地理分佈

野外採集樣品時，記錄其地理位置、海拔高度等資料，並分別觀察其生育地的生態環境，而後將各類群出現的地理位置標示於地圖上，並將其所處的生態環境資料加以統整分析。另外，為了彌補採集資料的不足，亦將各標本館之蠟葉標本上的採集資料，加入分析，對於日據時代的採集地點，則參考黃增泉等(1993)的著作，以對應現行的行政區域。

(五)、形質量測記錄分析

本研究針對過去較有爭議的分類群形態進行記錄與量測，主要記錄的部位包含花序軸、小花梗、萼筒及萼片的被毛類型，並且記錄葉片長度，並且利用 JMP 5.0.1(SAS Institute, 2002)統計分析軟體進行分析，比較不同植株個體間的變異分布範圍，以及是否與族群或地理族群間的差異一致。此部分的研究結果將獨立於分類處理中討論。

