

研究報告

GA₃處理的台灣肖楠樹木芽體 與木質部流出液之荷爾蒙含量變化

鍾振德^{1,3)} 郭幸榮²⁾ 簡慶德¹⁾

摘要

本研究台灣肖楠樹木經由不同的時間處理激勃素A₃ (GA₃)後，分析芽體與木質部流出液之激勃素、離層酸(ABA)與吲哚乙酸(IAA)含量變化。以大雪山種子園開花旺盛(no. 11)與稀疏(no. 22)兩類型營養系，於3、4與5月分別於枝條上處理GA₃，以7~10天間隔收集芽體，分析荷爾蒙之變化，而對照組為相同的台灣肖楠營養系，可天然開花之六龜種子園。處理GA₃前，分析no. 11與no. 22芽體之GA₁與GA₃含量，與對照組沒有差異，含量1.3~18.6 ng (g.dry weight (DW))⁻¹；處理GA₃後，兩營養系芽體之GA₁與GA₃含量皆於花芽分化之際達到最大，但花芽分化後下降至高峰的1/2~1/10，其含量仍有10~800 ng (g.DW)⁻¹，而ABA含量在花芽分化之際，卻與激勃素相反，含量快速下降至高峰的1/5~1/50，IAA則在花芽分化時才出現，含量32~143 ng (g.DW)⁻¹，其它時間IAA含量趨近0，推測花芽分化伸展時可能需要IAA參與。然而，同時期對照組六龜種子園兩營養系的GA₁與GA₃含量都在10 (g.DW)⁻¹以下。結論是激勃素可以誘導台灣肖楠開花，但台灣肖楠在自然條件下開花與激勃素無關。GA₃處理台灣肖楠樹木枝條後第1星期，木質部流出液含有大量的GA₁、GA₄、GA₉，但GA₃的含量卻為0 ng (g.DW)⁻¹；GA₃處理後第3星期，木質部流出液無GA₉，而GA₄含量與對照組沒有顯著差異，推測GA₉可能扮演中繼運送的角色，在到達芽體前轉變成具有生物活性之激勃素GA₁與GA₄。

關鍵詞：台灣肖楠、花芽分化、激勃素、離層酸、吲哚乙酸、木質部流出液。

鍾振德、郭幸榮、簡慶德。2018。GA₃處理的台灣肖楠樹木芽體與木質部流出液之荷爾蒙含量變化。

台灣林業科學33(4):305-17。

¹⁾ 林業試驗所育林組，10066台北市南海路53號 Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan.

²⁾ 國立台灣大學森林環境暨資源學系，10617台北市羅斯福路四段1號 Department of Forestry, National Taiwan University, 1 Sec. 4, Roosevelt Rd., Taipei 10617, Taiwan.

³⁾ 通訊作者 Corresponding author, e-mail: chung@tfri.gov.tw

2018年3月送審 2018年6月通過 Received March 2018, Accepted June 2018.

Research paper

Changes in Contents of Plant Hormones in Bud Tips and Xylem Sap of GA₃-Treated *Calocedrus formosana* Trees

Jeng-Der Chung,^{1,3)} Shing-Rong Kuo,²⁾ Ching-Te Chien¹⁾

【 Summary 】

This paper analyzed time-course changes in concentrations of gibberellins, abscisic acid (ABA), and indoleacetic acid (IAA) from bud tips and xylem sap of *Calocedrus formosana* trees that had been treated with gibberellin A₃ (GA₃). GA₃ was applied to the branches of good flowering clone no. 11 and poor flowering clone no. 22 of *C. formosana* trees at the Tashueshan seed orchard in March, April, and May, and then bud tips were collected every 7~10 d. In addition, the same clones (nos. 11 and 22) at the Liukuei seed orchard that flower naturally were selected as controls. The GA₁ and GA₃ contents of bud tips from the 2 clones at the Tashueshan and Liukuei seed orchards were quantified and showed no significant differences; the GA₁ and GA₃ contents were about 1.3~18.6 ng (g.dry weight)⁻¹. After treatment with GA₃ at the Tashueshan seed orchard, GA₁ and GA₃ contents in bud tips rapidly increased until the floral buds had differentiated, and then the contents were reduced 1/2~1/10-fold to 10~800 ng (g.DW)⁻¹. Nevertheless, GA₁ and GA₃ contents in bud tips from the Liukuei seed orchard (control without GA₃ treatment) were all < 10 ng (g.DW)⁻¹. In conclusion, gibberellins could induce flowering of *C. formosana*, but there was no relationship between gibberellins and floral bud initiation. The ABA content in bud tips rapidly decreased during the bud collection period and had dropped 1/5~1/50-fold during floral bud initiation. The IAA content in bud tips suddenly appeared during floral bud initiation, and the concentration was 32~143 ng (g.DW)⁻¹, but the IAA content was almost zero after floral bud initiation. We speculated that IAA was possibly involved in floral-bud initiation. Furthermore, the xylem sap in shoots was collected for analysis of GAs after treatment with GA₃. At 1 wk after treatment, large amounts of GA₁, GA₄, and GA₉ were found in the xylem sap, but there was no GA₃. Three weeks later, contents of GA₁ and GA₄ were still detected in the GA₃ treatment and control groups, but GA₉ was not found. Therefore, GA₉ may play a transport role from branches to buds, and then GA₉ is converted to GA₁ and GA₄.

Key words: *Calocedrus formosana*, flower initiation, gibberellin, abscisic acid (ABA), indoleacetic acid (IAA), xylem sap.

Chung JD, Kuo SR, Chien CT. 2018. Changes in contents of plant hormones in bud tips and xylem sap of GA₃-treated *Calocedrus formosana* trees. *Taiwan J For Sci* 33(4):305-17.

緒言

激勃素(gibberellins, GAs)在針葉樹開花扮演促進的重要角色，故常以外加處理方式促進開花結實，唯不同樹種間的反應並不一致

(Ross and Pharis 1985, Owens 1991)，如柏科及杉科樹種施以激勃素A₃ (GA₃)最具促進效果 (Bonnet-Masimbert and Zaerr 1987, Ross and

Pharis 1987), 但松科樹種則以GA_{4/7}效果最顯著(Owens and Colangeli 1989, Sheng and Wang 1990, Fail 1991, Jones and Thomas 1993)。Chung et al. (2000)於大雪山24年生台灣肖楠(*Calocedrus formosana* Florin)種子園, 在樹幹基部施用GA₃, 促使83.3%的植株開花。Chung and Kuo (2002)在相同種子園, 依照不同營養系於枝條處理GA₃, 能收穫種子, 雖結實量不多, 但證實處理GA₃可促進開花結實。

根據林務局統計臺灣1993~2016共新植臺灣肖楠1113公頃, 1999至2016年臺灣肖楠育苗數量超過2千多萬株, 為所有針葉樹種之冠。1974年林務局在八仙山事業區第13、17與111林班與濁水溪事業區第40林班等4處, 建造11公頃台灣肖楠嫁接營養系種子園(Chen 1984), 然建立的種子園無法開花結實, 因此, Chung et al. (2001)取相同營養系嫁接, 於六龜與蓮華池兩地重新建立種子園, 已可順利結實。Lee and Juang (2014)亦取相同營養系嫁接, 於八仙山事業區第13林班出雲山苗圃建立容器種子園, 所有營養系都有不等的結實量。加拿大BC省2014年使用遺傳改良種子園所生產之種子育苗, 已超過70% (FGC 2014), 而Lee and Juang (2014)以台灣肖楠容器種子園能夠提供種子量僅天然母樹林之6.6%, 比率太低。因此, 台灣肖楠種子園需要經營管理, 促進開花結實, 以做為種子生產用。

激勃素施用時間是否適當是相當重要的條件之一(Greenwood 1982, Ross 1988, Owens and Colangeli 1989)。Ross et al. (1984)以¹⁴CO₂追蹤監測證明放射松(*Pinus radiata*)以GA_{4/7}處理者可提高¹⁴C同化物(photoassimilated ¹⁴C)向側芽移動, 而側芽為花芽分化之所在。Pharis et al. (1987)認為 GA_{4/7}在形態遺傳方面具有直接影響, 可刺激同化物轉換, 進而促使有潛力的生殖原體有絲分裂和活力, 且認為內生和外加激勃素優先被使用在營養生長, 開花必需在花芽分化期間, 激勃素濃度超過營養生長需求量時, 才具誘導效果。Chung et al. (2003)經由GA₃處理的台灣肖楠開花旺盛與稀疏營養系, 認為激勃素的代謝效率影響花芽分化之多寡。

內生與外加激勃素在植物的細胞裡持續的運轉與代謝, 這個過程影響單位時間與激勃素之有效性, 也影響芽原生體(bud primordia)最後分化的命運(Oden et al. 1995)。因此, 激勃素如何運送及如何轉變為具有生理活性的型態顯得格外的重要。挪威雲杉(*Picea abies*)主要激勃素種類為GA₁, GA₃, GA₄, GA₉ (Oden et al. 1982, 1987), 而其代謝由GA₉轉變成GA₄, GA₅₁與GA₉-conjugate (Moritz and Oden 1990)。另研究顯示 *Picea sitchensis* 激勃素代謝由GA₉轉變成GA₄, 而GA₄轉變成GA₁與GA₃₄ (Moritz et al. 1989)。Oden et al. (1995)研究挪威雲杉(*Picea abies*)激勃素運轉代謝與花芽分化關係, 比較高溫乾燥適合開花與低溫潮溼不適宜開花的環境, 將 [³H] 與 [²H] 的GA₄與GA₉混合液注射挪威雲杉伸展枝(elongating shoots)裡, 結果顯示兩個環境下枝條之GA₉轉變成GA₅₁, GA₄, GA₃₄, GA₁, 而GA₄轉變成GA₃₄, GA₁, GA₈; 在低溫潮溼不適宜開花的環境下之枝條, [³H] GA₉主要代謝產物為GA₅₁, 而在高溫乾燥環境適宜開花的枝條, [³H] GA₉代謝轉變為GA₄, 其量遠比低溫潮溼環境下的枝條為多; [³H] GA₄主要代謝產物為GA₃₁, 也發現有GA₁與GA₈。這些研究主要分析芽體內激勃素種類與含量變化, 當激勃素注射進入木質部後傳送至植物體其他部位, 其木質部流出液的變化會是首先看到的。

Eysteinnsson and Greenwood (1990)以GA_{4/7}與斷根處理落葉松(*Larix laricina*), 發現不同植株間對於激勃素處理的反應不同, 開花程度差異大。Dunberg (1980)以挪威雲杉(*Picea abies*)為例, 不可企盼激勃素對所有的營養系皆能促進開花, 因此將營養系依開花能力區分為開花旺盛(good flowering)與開花稀疏(poor flowering)二群進行試驗, 較能看出處理效果的差異。Ross et al. (1985)以開花旺盛與稀疏營養系進行試驗, 營養系區分乃依據過去數年來對於營養系之開花結實數量之調查。Chung et al. (2001)在六龜與蓮華池台灣肖楠種子園連續調查兩年, 發現各營養系的開花能力亦存在著這兩種類型。因此, Chung and Kuo (2002)以六龜與蓮華池台灣肖楠種子園在自然條件下的開

花表現所歸類的開花旺盛與稀疏營養系，在原設立的出雲山與大雪山兩種子園以GA₃處理枝條，結果顯示其開花表現與自然狀況所區別的開花旺盛與稀疏營養系，並未完全吻合，即開花旺盛的營養系依然旺盛，但開花稀疏的營養系，則有些開花旺盛，有些表現較弱。因此，經GA₃處理所顯示的旺盛與稀疏兩類營養系，與自然條件下的表現不盡然相同。Chung and Kuo (2002)另證實，1975年建造至今尚未開花結實的台灣肖楠嫁接營養系種子園，經過GA₃處理後，93.9%可以開花，且可採集到種子發芽率最高達61.1%之毬果，但未經過GA₃處理之控制組，開花率則為0%。

本研究探討荷爾蒙在台灣肖楠開花結實所扮演的角色，分析不同時間處理激勃素後芽體與木質部流出液，深入瞭解台灣肖楠內在的荷爾蒙變化，提供後續處理的依據。

材料與方法

一、試驗區營養系種子園及激勃素處理概述

本研究處理之台灣肖楠嫁接營養系種子園，位於東勢林區管理處八仙山事業區第13林班，大雪山220林道21 km的大雪山種子園。種子園內有30個營養系，無法開花結實(Chung et al. 2000)。1998年取大雪山種子園30個營養系的枝條進行嫁接，重新建立六龜與蓮華池種子園(Chung et al. 2001)。1999及2000年原大雪山種子園仍未開花，但新建的六龜與蓮華池種子園開花，且各營養系開花表現不同，可區分為開花旺盛營養系(good flowering clones)，及開花稀疏營養系(poor flowering clones)。本研究營養系no. 11屬於前者，而no. 22屬於後者(Chung et al. 2001)。1999年3月開始於大雪山種子園，以營養系nos. 11與22營養系枝條，以刀切取寬約枝徑之1/2，長約8~10 cm，剝開樹皮將棉花均勻的鋪滿樹皮與木質部間之空隙，再將激勃素GA₃ 20 mL內含200 mg溶液，讓棉花吸濕後，將樹皮回復原位後以膠布封住，並以紮線帶予以綁緊即完成處理，處理時間分別在3、4、5月(Chung and Kuo 2002)；由於大雪山

種子園天然狀態下開花率為0% (Chung and Kuo 2002)，因此以同年之六龜種子園相同營養系為對照，其花芽分化比率與雌雄花芽數量基本資料(Chung et al. 2001)列於Table 1。

台北植物園17年生台灣肖楠，樹高7~8 m，胸徑10~12 cm，1989年取3年生種子苗14株栽植於台北植物園，栽植距離1 m，栽植一排於辦公室後方。

Table 1中營養系nos. 11與22於3、4、5月底處理GA₃，開花比率最高為no. 11於4與5月處理者100%開花，最低為no. 22在4月處理者，開花比率為75%，沒有處理GA₃之控制組開花比率為0%。兩個營養系雌雄毬花數量，最數量都是出現在4月，開花旺盛no. 11營養系，平均每個枝條的雄花數為8489±2856枚，雌花數為1889±958枚；開花稀疏no. 22營養系顯著低於no. 11，平均每個枝條的雄花數為1742±439枚，雌花數為413±138枚(Chung and Kuo 2002)。開花旺盛營養系no. 11在3個不同時間處理GA₃，其雄毬花與雌毬花數都顯著高於開花稀疏no. 22營養系1~20倍(Chung and Kuo 2002)。

Table 1中對照組六龜種子園營養系，在天然無任何處理狀態下，開花旺盛no. 11與開花稀疏no. 22營養系都可以開花。開花旺盛no. 11營養系100%開花，但開花稀疏no. 22則僅33.3%。其每株的雄、雌毬花數也呈現極顯著差異，其中no. 11每株平均雄、雌毬花數分別為4713±4483與2784±2190枚，no. 22則分別僅為1270±1817與446±637枚(Chung et al. 2001)。

二、GA₃處理後之芽體激勃素、離層酸與IAA變化、

上述營養系nos. 11與22於3、4、5月底處理GA₃後，以間隔7~10天，於處理點上方逢機選擇小枝數支，使用解剖刀切取樣本之梢尖(shoot tips)長約1~2 mm芽體，芽體以液態氮快速結凍後，攜回實驗室，置於冷凍真空乾燥機(Labconco Freezone 4.5型)，於-40°C以下，真空度133×10⁻³ mbar以下，冷凍乾燥24 h後冰存於-80°C以供分析。對照組取六龜種子園相同營養系所有的單株，予以混合成為待測樣品，樣

Table 1. Effects of gibberellin A₃ (GA₃) treatment on the percentages of flowering of branchlets, and numbers of male and female strobili per branch in 25-yr-old trees of *Calocedrus formosana*¹⁾

Clone no.	Timing of GA ₃ application	Percent of flowering	No. of male strobili / branch	No. of female strobili / branch
11	March	88.9	1929 ± 616 ^{b)}	208 ± 97 ^{a)}
	April	100	8489 ± 2856 ^{a)}	1889 ± 958 ^{a)}
	May	100	2443 ± 817 ^{b)}	687 ± 428 ^{a)}
	Untreated	0	0	0
22	March	88.9	689 ± 317 ^{b)}	130 ± 111 ^{a)}
	April	75.0	1742 ± 439 ^{b)}	413 ± 138 ^{a)}
	May	83.3	573 ± 229 ^{b)}	24 ± 20 ^{a)}
	Untreated	0	0	0

¹⁾ Adapted from Chung and Kuo (2002).

^{a)} Values within a given column followed by the same letter do not significantly differ using Tukey's test at $p < 0.05$.

本切取方法同上並經冷凍乾燥後進行分析。

三、GA₃與GA₃+NAA處理枝條，分析木質部流出液(xylem sap)之激勃素、離層酸與IAA變化

選擇台北植物園17年生台灣肖楠種子苗，枝條處理GA₃與GA₃+NAA，處理方法先以電鑽鑽孔，再施加200 mg GA₃與200 mg GA₃加20 mg NAA。處理後1個星期與3個星期，將處理枝條剪下，放入水分逆差量測器(PMS Instrument, Albany, USA)加壓室內，將枝條之木質部流出液慢慢擠壓出來，每一樣品木質部流出液取2 mL，加入8 mL 100% MeOH萃取液，依照下列分析流程完成萃取與分析。

四、激勃素、離層酸(ABA)與生長素(IAA)萃取與分析(Chung et al. 2003)

經冷凍乾燥後之芽體，秤取乾重約0.5 g，加入80% MeOH萃取液，萃取2次取上層澄清液減壓濃縮乾燥，樣品加入30% MeOH使其溶解，並加入內標標準品(17,17-d₂-standards)計有GA₁, GA₃, GA₄, GA₉等4種，ABA (d₆-standards)，IAA phenyl-13C₆ (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, Massachusetts,

USA) 100 ng內標。進行PVP column過濾，並以乙酸乙酯置換。後予以萃取、過濾、分離與置換→減壓濃縮乾燥→高壓液相層析儀RP-C₁₈分離管柱分離並經由fraction collector收集→快速冷凍真空濃縮乾燥。

高壓液相層析儀分離收集之樣品，以ethreal diazomethane進行甲基化(methylation)，之後樣品以氮氣吹乾後，加入30 μL pyridine以及50 μL內含1% trimethylchlorosilane (TMCS之N, O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) (Supleco, Bellefonte, PA, USA)，放在90°C予以反應40 min。甲基化與矽化處理過後，樣品溶解在正己烷(hexane)，取1 μL注入GC-MS (GC為HP6890型，MS為HP5973 MSD型)分析。樣品用full-scan mode分析確認後，用select ion mode (SIM) running，進行定量分析。

結果

一、開花旺盛與開花稀疏營養系芽體激勃素、離層酸與IAA之濃度變化

開花旺盛no. 11與開花稀疏no. 22營養系於3, 4, 5月底3個不同時間處理GA₃，間隔7~10天切取芽體分析荷爾蒙變化。Figure 1為nos. 11與22經

GA₃處理後，於不同時間GA₁含量之變化。開花旺盛no. 11在3月處理GA₃後，芽體GA₁含量，處理前124.8 ng (g.dry weight (DW))⁻¹，逐漸上升到5月初2691 ng (g.DW)⁻¹，之後先下降再上升至6月初之6262.2 ng (g.DW)⁻¹；4月處理的變化趨勢與3月處理相似，但其比3月提早一個星期到最高點5091.2 ng (g.DW)⁻¹；5月處理之芽體在處理後2個星期，GA₁濃度達3078.4 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 1a)；no. 11經GA₃處理後芽體的GA₁含量達到最大的時間，分別在5月底至6月初(Fig. 1a)。開花稀疏no. 22 於3

月底處理GA₃後一星期，芽體GA₁達到最大值5681 ng (g.DW)⁻¹，之後除了於4月底上升之外，就一直下降維持在40~200 ng (g.DW)⁻¹之間，4月底處理者，處理前芽體的GA₁僅21.7 ng (g.DW)⁻¹，處理後一星期達到2248.6 ng (g.DW)⁻¹，之後就一直維持在2000~2200 ng (g.DW)⁻¹之間，至6月初達到最高後開始下降(Fig. 1b)。No. 22經GA₃處理後，芽體的GA₁含量達到最大的時間點，除了3月處理是在處理後一星期，4與5月處理者，都是在6月初(Fig. 1b)。

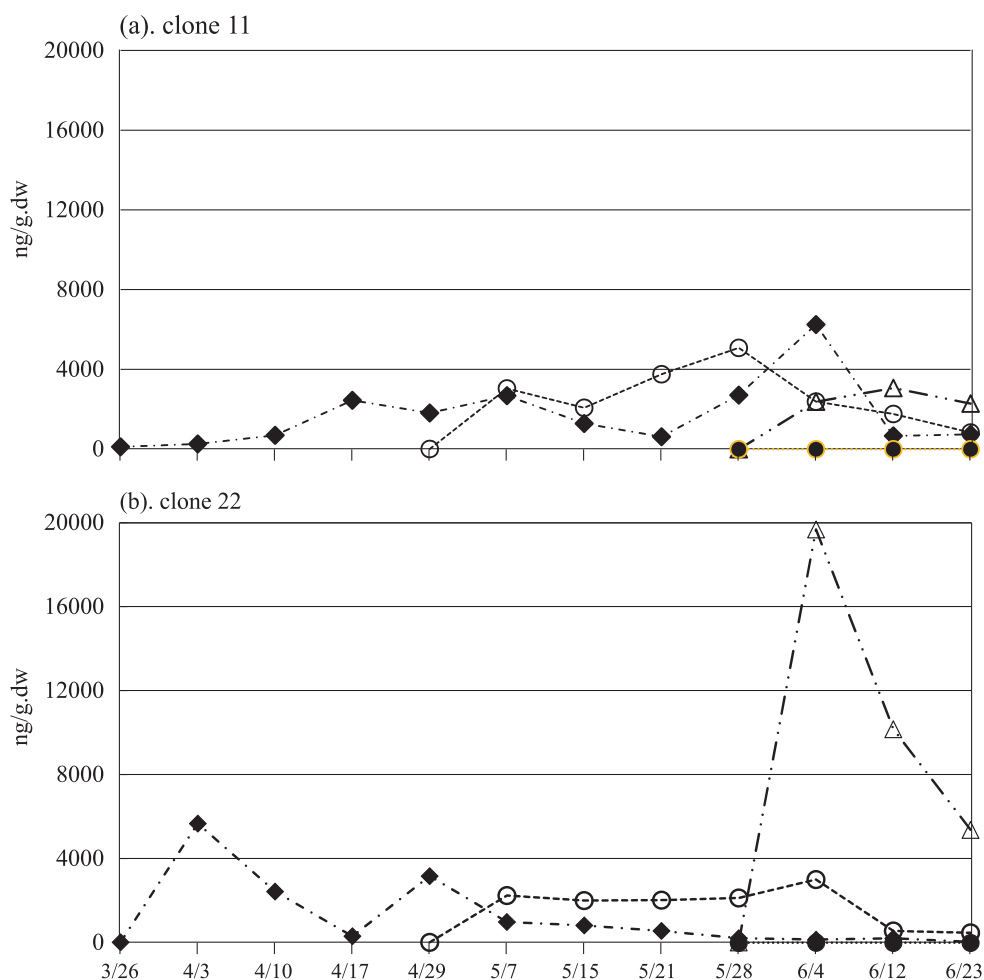


Fig. 1. Time-course changes in gibberellin A₁ (GA₁) levels after GA₃ treatment of clones 11 and 22 of *Calocedrus formosana* trees in the Tashueshan seed orchard. Treatment with GA₃ on March 26 (◆), April 29 (○), and May 28 (△). Control (●) from the same clones of *C. formosana* in the Liukuei seed orchard.

兩類型營養系枝條經GA₃處理後，其芽體GA₃的變化趨勢與GA₁相似，但其含量僅為GA₁的1/10左右(Fig. 2)。開花旺盛no. 11在處理GA₃後，芽體GA₃含量達到最大的時間，3個處理月份都落在6月初，含量依序為451.8, 399.6, and 328.7 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 2a)。開花稀疏no. 22於GA₃處理後，芽體GA₃含量，3月與GA₁相同在處理後1個星期達到最大量，之後就逐漸下降；

4與5月處理的芽體GA₃含量，達到最大的時間為5月下旬至6月中(Fig. 2b)。

ABA與IAA變化在兩類型營養系之表現是呈現一致的，其中ABA於3與4月兩個處理月份，都在5月底下降到最低，約1600 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 3)。IAA在兩類型營養系於3與4月兩個處理月份，從原本含量為0，而同時在6月初上升到最高，約50~90 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 4)。

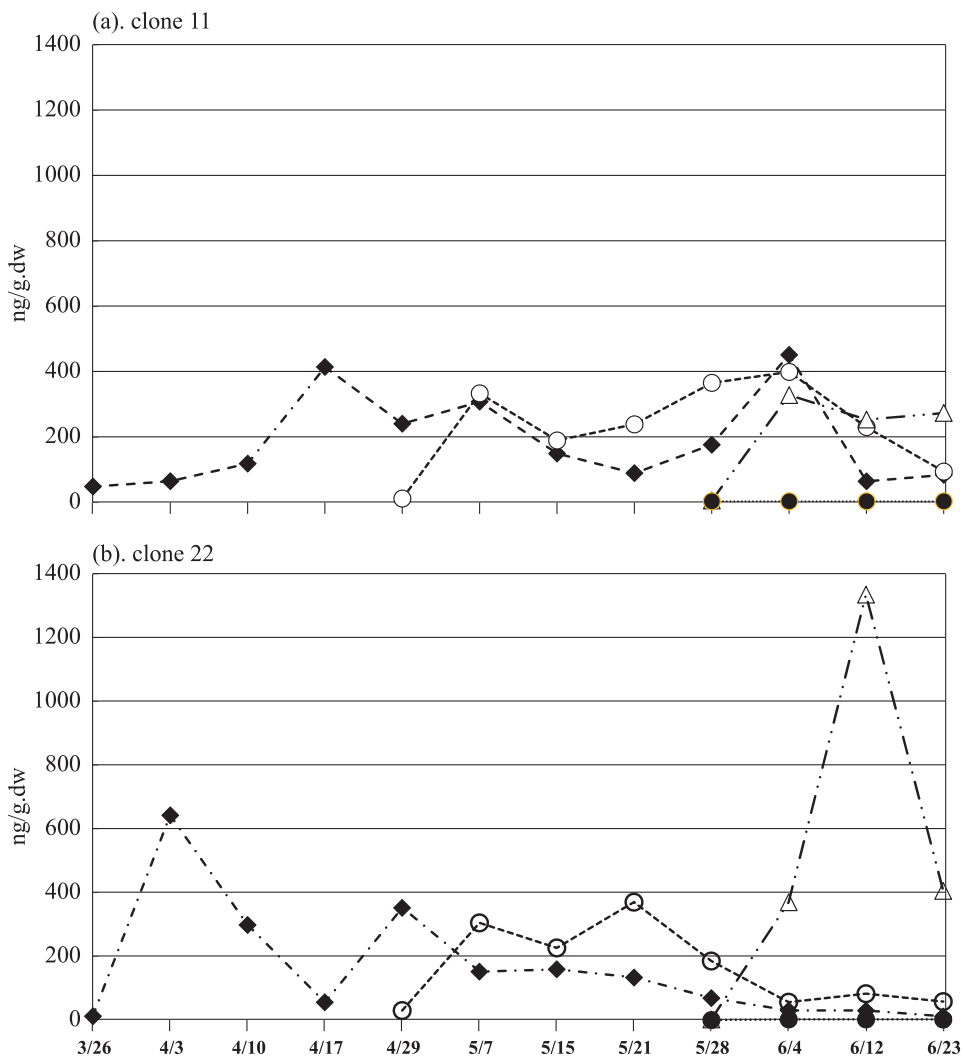


Fig. 2. Time-course changes in gibberellin A₃ (GA₃) levels after GA₃ treatment of clones 11 and 22 of *Calocedrus formosana* in the Tashuehan seed orchard. Treatment with GA₃ on March 26 (◆), April 29 (○), and May 28 (△). Control (●) from the same clones of *formosana* in the Liukuei seed orchard.

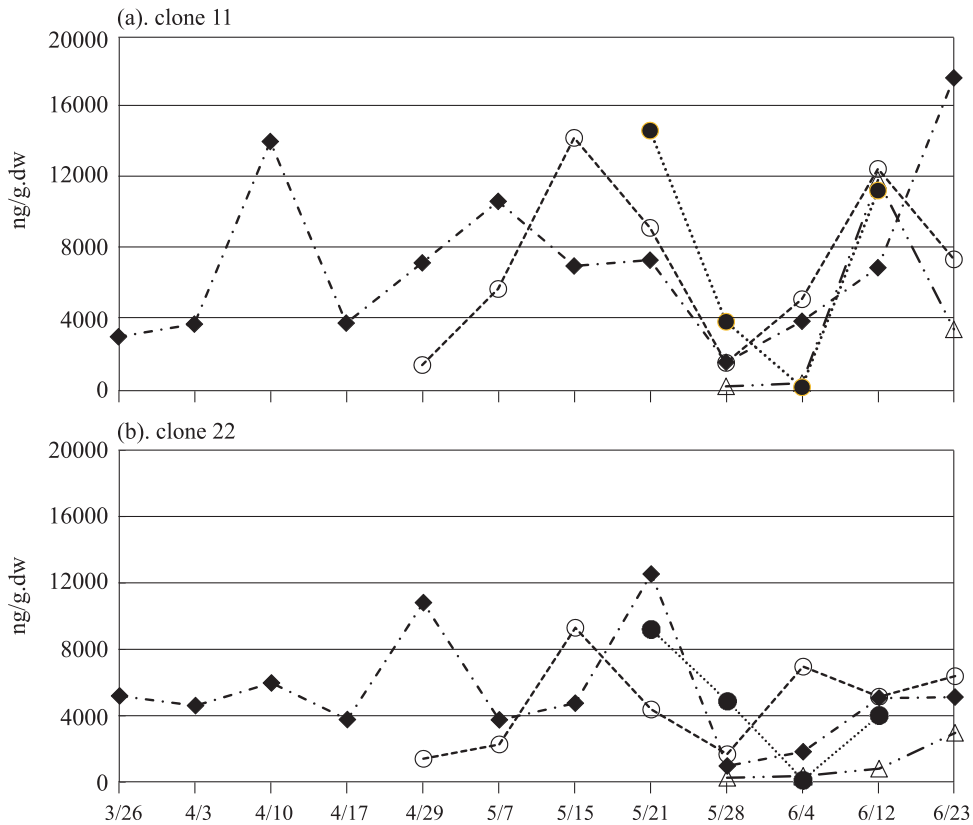


Fig. 3. Time-course changes in abscisic acid (ABA) levels after gibberellin A₃ (GA₃) treatment of clones 11 and 22 of *Calocedrus formosana* in the Tashueshan seed orchard. Treatment with GA₃ on March 26 (◆), April 29 (○), and May 28 (△). Control (●) from the same clones of *C. formosana* in the Liukuei seed orchard.

六龜兩類型營養系於天然狀態下可以開花，分析五月底至六月底其芽體的GA₁含量，no. 11在1.2~3 ng (g.DW)⁻¹之間，no. 22則在0~4.2 ng (g.DW)⁻¹之間(Fig. 1)。GA₃含量略高，no. 11在3.6~3.8 ng (g.DW)⁻¹之間，no. 22則在0~1.8 ng (g.DW)⁻¹之間(Fig. 2)。六龜之nos. 11與22兩類型營養系，芽體ABA含量都在六月初下降到最低，分別為240.6與167.2 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 3)。IAA在nos. 11與22兩類型營養系，其最高含量時間相差一個星期，分別為5月21日與5月28日，含量分別為67.4與143.4 ng (g.DW)⁻¹ (Fig. 4)。

二、台灣肖楠處理GA₃與GA₃+NAA 後木質部流出液之激勃素、離層酸與IAA濃度變化

用GA₃處理台灣肖楠後1個星期，枝條之木質部流出液之GA₁, GA₃, GA₄, GA₉含量，分別為108, 0, 5921, 811 ng (g.DW)⁻¹，3個星期後測得含量分別為14, 0, 17, 0 ng (g.DW)⁻¹，其中GA₄與GA₉在木質部流出液的濃度變化非常大(Table 2)。GA₃+NAA處理枝條之木質部流出液GA₁, GA₃, GA₄, GA₉含量分別為82, 0, 15993, 1206 ng (g.DW)⁻¹，3個星期後測得含量分別為2, 0, 6, 0 ng (g.DW)⁻¹，與單獨處理GA₃相較，其GA₄與GA₉在木質部流出液的變化更甚於單獨GA₃處理(Table 2)。木質部流出液ABA含量遠低於芽體內，其在木質部流出液內的變化也不似芽體劇烈(Table 2)。

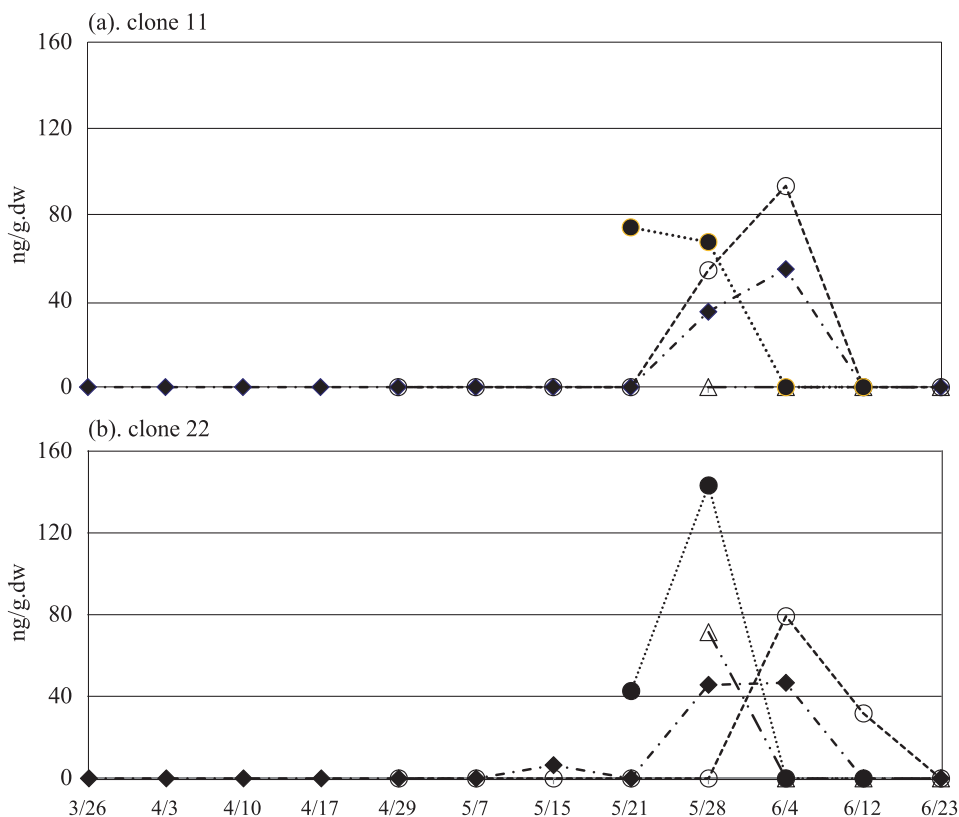


Fig. 4. Time-course changes in indoleacetic acid (IAA) levels after gibberellin A₃ (GA₃) treatment of clones 11 and 22 of *Calocedrus formosana* in the Tashueshan seed orchard. Treatment with GA₃ on March 26 (◆), April 29 (○), and May 28 (△). Control (●) from the same clones of *C. formosana* in the Liukuei seed orchard.

Table 2. Gibberellins (GAs) and abscisic acid (ABA) concentrations in xylem sap of 17-yr-old trees of *Calocedrus formosana* treated with GA₃ and GA₃+naphthaleneacetic acid (NAA)

Treatment	1st week (ng mL ⁻¹ of xylem sap)						3rd week (ng mL ⁻¹ of xylem sap)					
	GA ₁	GA ₃	GA ₄	GA ₉	ABA	IAA	GA ₁	GA ₃	GA ₄	GA ₉	ABA	IAA
Control	0	0	1	0	84	8	1	0	17	0	111	9
GA ₃	108	0	5921	811	131	115	14	0	17	0	61	20
GA ₃ +NAA	82	0	15993	1206	108	11	2	0	6	0	76	7

IAA, indoleacetic acid.

討論

一、激勃素含量與開花結實之關係

施用激勃素可以誘導台灣肖楠開花，但在自然狀態下開花與激勃素無關

以六龜台灣肖楠種子園為對照，開花旺盛

與稀疏營養系各有100與33.3%開花，其no. 11芽體的激勃素含量GA₁為1.2~3 ng (g.DW)⁻¹，而GA₃為3.6~3.8 ng (g.DW)⁻¹；no. 22更低GA₁為0~4.2 ng (g.DW)⁻¹，而GA₃為0~1.8 ng (g.DW)⁻¹ (Figs. 1, 2)。大雪山台灣肖楠種子園在天然狀態下不開花，未使用GA₃處理之no. 11 GA₁與GA₃含量分別

為7.2, 5.8 ng (g.DW)⁻¹, no. 22的GA₁與GA₃含量分別為18.6, 2.1 ng (g.DW)⁻¹ (Figs. 1, 2), 與六龜種子園沒有很大的差異, 顯示激勃素不是開花的必要關鍵, 但激勃素的處理卻可誘導出花芽分化。Pharis (1991)提及激勃素雖可促進開花, 但更進一步花芽分化的誘導機制為何? 大部分仍然不了解, 尚未能將開花荷爾蒙所扮演的角色予以釐清。激勃素並非開花專一的荷爾蒙, 但激勃素處理或者增加激勃素的含量卻與許多樹種的開花有明顯的關聯(Pharis and King 1985)。Dunberg and Oden (1983)指出內生激勃素參與花芽分化的直接證據非常的少。

芽體激勃素濃度在花芽分化後下降程度可能影響結實

台灣肖楠花芽始於5月初, 在6月初雄毬花分化開始, 雌毬花稍晚於7月初開始(Chung and Kuo 2005)。當使用GA₃處理枝條後, 從5月開始到6月這段時間, 花芽分化之際, 激勃素的變化是相當劇烈的, Figures 1和2可看到芽體內的GA₁與GA₃在nos. 11與22都於此時達到最大量。Sheng et al. (2017)研究*Brassica rapa*亦發現激勃素在花芽分化時達到高峰。花芽分化後芽體的GA₁與GA₃含量也急速下降至高峰期的1/2~1/10不等, 但no. 11其GA₁仍有600~800 ng (g.DW)⁻¹, GA₃仍有60~90 ng (g.DW)⁻¹; no. 22其GA₁則有40~500 ng (g.DW)⁻¹, GA₃仍有10~60 ng (g.DW)⁻¹。反觀同時期六龜台灣肖楠種子園的GA₁, GA₃的含量都在10 ng (g.DW)⁻¹以下。芽體激勃素濃度在花芽分化之後沒有下降, 仍高於自然狀態下可開花者之數十倍, Chung and Kuo (2002)發現經GA₃處理後, 花芽量很多但結實率卻很低, 芽體的激勃素過高是否影響到後續的結實? Ross and Pharis (1985)認為施加激勃素到植物體內, 將優先用到營養生長, 當跨過門檻後才往花芽分化, 但跨過門檻促使花芽分化後, 激勃素是否仍影響後續結實, 仍然不清楚。Eriksson et al. (1998)施用GA_{4/7} 375 mg於*Pinus sylvestris*, 對於其結實與控制組相較並沒有顯著差異, 但未分析激勃素, 無法得知其芽體的激勃素含量。開花與養分的轉移有關,

經過開花誘導的比沒有誘導的植株容易開花, 是因其莖頂接收的光合作用產物較未開花者為多使然(Bernier 1988)。如放射松(*Pinus radiata*)以GA_{4/7}處理8天後, 施用¹⁴C₂予放射松針葉, 結果顯示在花芽分化期間施用GA_{4/7}顯著的提高¹⁴C同化物移到側芽原生體(lateral long-shoot primordia), 這個位置於隔年具有潛力產生花芽或營養芽(Ross et al. 1984)。GA_{4/7}處理的相同效應是在莖部乾物質(dry matter)的分配, 由於GA₃對於松科開花促進的效果較GA_{4/7}劣, 經觀察兩者處理的植株於分化期間同化物轉移到側芽原生體(lateral primordial)的量, 顯示低極性的GA_{4/7}顯著的促進開花, 但同化物的轉移並沒有比較多, 這意味GA_{4/7}對於芽體形態改變的效果遠超過同化物的轉移(Ross et al. 1984, Pharis et al. 1989)。

二、花芽形成與荷爾蒙ABA、IAA相互扮演之角色

ABA在花芽分化之際不論是開花旺盛或稀疏營養系, 都在5月底下降到最低(Fig. 3), 此趨勢與激勃素相反(Figs. 1, 2), 激勃素處理前芽體的ABA含量在3~5月是有差異的, no.11與22營養系都在3月時最高, 分別為3083.6與5208.2 ng (g.DW)⁻¹, 但至5月時已下降到約1/10與1/20 (Fig. 3)。激勃素處理後芽體ABA含量上升, 此趨勢與激勃素相同, 唯一差異是花芽形成之際, ABA含量下降, 與激勃素相反, 顯見花芽形成需要降低ABA濃度, 當花芽分化完成後, ABA又開始緩步上升。Finkelstein (2006)指出ABA下降對於開花有正面效應。

IAA在芽體內普遍不存在, 即使經過GA₃處理過後亦然; Fig. 4看到花芽分化之際, 才測得到IAA, 顯然地花芽分化時, 由於花芽的伸展, 需要IAA的參與, 而且當角色扮演結束時, 立即降至0。Ding et al. (1999)指出*Polianthes tuberosa*花芽分化時IAA上升2.7倍。本研究5月處理至6月底止, 都沒有偵測到IAA, 此也正符合5月處理者, 其花芽比較晚分化出來, 或許在6月底之後取樣時可以測得IAA。

三、木質部流出液之激勃素GA₁、GA₃與GA₉之轉換

Figures 1與2顯示5月底花芽分化後處理激勃素，1~2星期後GA₁、GA₃會達到最高，但芽體卻檢測不到任何的GA₉。Table 2顯示激勃素處理後1個星期，木質部流出液測得大量的GA₁、GA₄、GA₉，但GA₃的含量為0，此意味著施打激勃素GA₃全部轉變成上述三者，由激勃素的生合成路徑可以推測GA₃先轉變成GA₉，再由GA₉轉變成GA₄，之後再由GA₄轉變成GA₁。Table 2亦顯示3星期後，木質部流出液已沒有GA₉，而GA₄更下降至與沒有處理GA₃之對照組含量相當，GA₁則顯著高於對照組含量，但低於第一星期甚多；Fig. 1顯示在5月底花芽分化期之後處理激勃素，處理後1~2個星期，芽體內GA₁含量俱增，顯見木質部流出液內的GA₁已經進入芽體。Smith (1998)認為高含量GA₉將使GA₄增加，而高含量GA₉與低含量GA₁與GA₃是花芽分化的指標。本試驗GA₉在激勃素處理後1個星期，僅發現在木質部流出液，於第3個星期已經沒有任何含量，且在芽體任何時期也沒有測得GA₉。Nishijima et al. (1997)研究*Raphanus sativus*激勃素代謝，認為激勃素在植物體器官間運送GA₉比GA₁與GA₄迅速。因此，推測GA₉扮演轉運過程的角色，之後轉變成具有活性的GA₄，再轉變成GA₁，進而影響花芽分化。

結論

本研究欲了解台灣肖楠開花結實荷爾蒙扮演的角色，分析不同時間之台灣肖楠芽體與木質部流出液，結論是GA₃可以誘導台灣肖楠開花，但台灣肖楠在自然條件下開花與激勃素無關。激勃素不是開花的必要關鍵，激勃素處理誘導出花芽分化之際，芽體內的激勃素含量達到最大量，但此時ABA含量下降，因此花芽形成需要降低ABA濃度，當花芽分化完成後，ABA又開始上升。IAA僅在花芽分化之際，才測得到IAA，推測花芽分化伸展時需要IAA參與。GA₃處理後1個星期，木質部流出液測得大量的GA₁、GA₄、GA₉，3星期後，木質部流出液已沒有GA₉，而

GA₄更下降至與沒有處理之對照組含量相當，推測GA₉扮演轉運過程的角色，之後轉變成具有活性的GA₄，再轉變成GA₁，進而影響花芽分化。

謝誌

本研究補助經費(行政院農業委員會補助研究計畫91農科-2.1.2-林-R1(2))。研究過程感謝育林組林世鴻與吳濟琛協助樣品採集與處理，李玉珍、謝佩蓉、謝淳如與王雅芳等協助樣品萃取與分析。

引用文獻

- Bernier G. 1988.** The control of floral evocation and morphogenesis. *Annu Rev Plant Physiol* 39:175-219.
- Bonnet-Masimbert M, Zaerr JB. 1987.** The role of plant growth regulators in promotion of flowering. *Plant Growth Regulat* 6:13-35.
- Chen CF. 1984.** The tree improvement work of Taiwan. In: Department of Agricultural Resources, Council for Agricultural Planning and Development, editors. Proceedings seminar on forest tree improvement. Chi-Tou, Nantou, Taiwan: CAPD Forest Service No. 7. p 6-12. [in Chinese with English summary].
- Chung JD, Kuo SR. 2002.** Effect of gibberellin A₃ treatment on flowering response in different clones of *Calocedrus formosana* grafts. *Taiwan J For Sci* 17(4):451-61. [in Chinese with English summary].
- Chung JD, Kuo SR. 2005.** Reproductive cycles of *Calocedrus formosana*. *Taiwan J For Sci* 20(4):315-29. [in Chinese with English summary].
- Chung JD, Kuo SR, Chien CT. 2003.** Identification and quantification of gibberellin transformation and dosage changes in good and poor flowering clones of *Calocedrus formosana* grafts. *Taiwan J For Sci* 18(4):387-400. [in Chinese with English summary].

- Chung JD, Kuo SR, Yang JC. 2000.** Effect of cultural practices and gibberellin A₃ on flowering of *Calocedrus formosana* (Florin) grafts. Taiwan J For Sci 15(4):483-96. [in Chinese with English summary].
- Chung JD, Kuo SR, Yang JC. 2001.** Preliminary results of reestablishment of clonal seed orchards of *Calocedrus formosana* (Florin) for promoting flowering and seed production. Taiwan J For Sci 16(3):181-96. [in Chinese with English summary].
- Ding SF, Chen WS, Su CL, Du BS, Twitchin B, Bhaskar VK. 1999.** Changes in free and conjugated indole-3-acetic acid during early stage of flower bud differentiation in *Polianthes tuberosa*. Plant Physiol Biochem 37(2):161-5.
- Dunberg A. 1980.** Stimulation of flowering in *Picea abies* by gibberellins. Silvae Gene 29(2):51-3.
- Dunberg A, Oden PC. 1983.** Gibberellins and conifers. In: Crozier A, editor. The biochemistry and physiology of gibberellins, Vol. 2. New York, NY: Praeger. p 221-95.
- Eriksson U, Jansson G, Almqvist C. 1998.** Seed and pollen production after stem injections of gibberellins A_{4/7} in field-grown seed orchards of *Pinus sylvestris*. Can J For Res 28:340-6.
- Eysteinson T, Greenwood MS. 1990.** Promotion of flowering in young *Larix laricina* grafts by gibberellin A_{4/7} and root pruning. Can J For Res 20:1448-52.
- Fail JJ. 1991.** The effects of TIBA and gibberellin A₃ field treatments in eliciting female cone development in *Pinus taeda*. J Elisha Mitchell Sci Soc 107(2):79-82.
- FGC. 2014.** 2013/2014 Forest Genetics Council of BC: tree improvement program project report. Victoria, BC, Canada: Forest Genetics Council (FGC) of British Columbia. p 76.
- Finkelstein RR. 2006.** Studies of abscisic acid perception finally flower. Plant Cell 18:786-91.
- Greenwood MS. 1982.** Rate, timing and mode of gibberellin application for female strobilus production by grafted loblolly pine. Can J For Res 12:998-1002.
- Jones TWA, Thomas AM. 1993.** Flowering and gibberellins in a mutant red clover (*Trifolium pratense* L.). Plant Growth Regulat 12(1-2):11-6.
- Lee SM, Juang BJ. 2014.** The primary assessment of the seed yield and quality from a containerized seed orchard in *Calocedrus macrolepsis* var. *formosana*. Q J For Res 36(2):115-30. [in Chinese with English summary].
- Moritz T, Oden PC. 1990.** Metabolism of tritiated and deuterated gibberellin A₉ in Norway spruce (*Picea abies*) shoots during the period of flower bud differentiation. Physiol Plant 79:242-9.
- Moritz T, Philipson JJ, Oden PC. 1989.** Detection and identification of gibberellins in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) of different ages and coning ability by bioassay, radioimmunoassay and gas chromatography-mass spectrometry. Physiol Plant 77:39-45.
- Nishijima T, Koshioka M, Yamazaki H, Mander LN. 1997.** Gibberellin metabolism in intact plants of *Raphanus sativus* L. Biosci Biotech Biochem 61(10):1763-5.
- Oden PC, Andersson B, Gref R. 1982.** Identification of gibberellin A₉ in extracts of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) by combined gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr 247:133-40.
- Oden PC, Schwenen L, Graebe JE. 1987.** Identification of gibberellins in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) by combined gas chromatography-mass spectrometry. Plant Physiol 84:516-9.
- Oden PC, Wang Q, Hogberg K, Werner M. 1995.** Transport and metabolism of gibberellins in relation to flower bud differentiation

in Norway spruce (*Picea abies*). *Tree Physiol* 15(7-8):451-6.

Owens JN. 1991. Flowering and seed set. In: Raghavendra AS, editor. *Physiology of trees*. New York: J Wiley. p 247-71.

Owens JN, Colangeli AM. 1989. Promotion of flowering in western hemlock by gibberellin A_{4/7} applied at different stages of bud and shoot development. *Can J For Res* 19(8):1051-8.

Pharis RP. 1991. Physiology of gibberellins in relation to floral initiation and early floral differentiation. In: Takahashi N, Phinney BV, MacMillan J, editors. *Symposium On 50th anniversary meeting on isolation of gibberellins*. Heidelberg, Germany: Springer Verlag. p 166-78.

Pharis RP, Evans LT, King RW, Mander LN. 1989. Gibberellins and flowering in higher plants: differing structures yield highly specific effects. In: Lord E, Bernier G, editors. *Plant reproduction: from floral induction to pollination*. Rockville, MD, USA: American Society of Plant Physiology Symposium Series Vol. I. p 29-41.

Pharis RP, King RW. 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Annu Rev Plant Physiol* 36:517-68.

Pharis RP, Webber JE, Ross SD. 1987. The promotion of flowering in forest trees by gibberellin A_{4/7} and cultural treatments: a review of the possible mechanisms. *For Ecol Manage* 19:65-84.

Ross SD. 1988. Effects of temperature, drought, and gibberellin A_{4/7}, and timing of treatment on flowering in potted *Picea engelmannii* and *Picea glauca* grafts. *Can J For Res* 18:163-71.

Ross SD, Pharis RP. 1985. Promotion of flowering in crop trees: different mechanisms and techniques with special reference to conifers. In: Cannell MGR, Jackson JE, Gordon JC, editors. *Attributes of trees as crop plants*. Huntingdon, UK: Institute of Terrestrial Ecology, Monkswood Experimental Station, Abbots Ripton. p 387-401.

Ross SD, Pharis RP. 1987. Control of sex expression in conifers. *Plant Growth Regulat* 6:37-60.

Ross SD, Pharis RP, Bollman M, Sweet GB. 1984. Gibberellin A_{4/7} and the promotion of flowering in *Pinus radiata*: effects on partitioning of photoassimilate within the bud during primordia differentiation. *Plant Physiol* 76:326-30.

Ross SD, Webber JE, Pharis RP, Owen JN. 1985. Interaction between gibberellin A_{4/7} and root-pruning on the reproductive and vegetative process in Douglas-fir. I. Effects on flowering. *Can J For Res* 15:341-7.

Shang M, Wang X, Zhang J, Qi X, Ping A, Hou L, et al. 2017. Genetic regulation of GA metabolism during vernalization, floral bud initiation and development in Pak Choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis* Makino). *Front Plant Sci* 8:1533.

Sheng C, Wang S. 1990. Effect of applied growth regulators and cultural treatments on flowering and shoot growth of *Pinus tabulaeformis*. *Can J For Res* 20:679-85.

Smith RF. 1998. Effect of stem injections of gibberellins A_{4/7} and paclobutrazol on sex expression and the within-crown distribution of seed and pollen cones in black spruce (*Picea mariana*). *Can J For Res* 28:641-51.

