

## GA<sub>3</sub> 與 BA 對芭菲爾鞋蘭開花的影響

蕭元川<sup>1)</sup> 林瑞松<sup>2)</sup>

關鍵字：芭菲爾鞋蘭、gibberellin、BA、溫度、開花誘導

**摘要：**本研究以芭菲爾鞋蘭屬 (Genus *Paphiopedilum*) 的多花與單花雜交品種 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 為材料，探討 GA<sub>3</sub> 與 BA 對芭菲爾鞋蘭開花的影響，並檢測開花過程中植體碳水化合物的變化。實驗結果顯示，GA<sub>3</sub> 能影響芭菲爾鞋蘭的開花，在 125ppm 的濃度即有明顯的效果，BA 則在開花創始階段會與 GA 產生頤抗作用，但對花序發育則具有協同的效果。植體內蔗糖、葡萄糖、果糖及澱粉等碳水化合物的含量與來花率之間並未呈現相關性；但在葉基部全可溶性糖的含量與碳氮比，則處理組有明顯較高的差異；綜合而言，碳水化合物的累積與代謝，是引起芭菲爾鞋蘭開花的主要原因，GA<sub>3</sub> 可能透過改變植體碳水化合物的代謝與分配而促進開花機制的啟動。

### 前 言

芭菲爾鞋蘭 (*Paphiopedilum*) 是拖鞋蘭 (Lady's Slipper Orchid) 裡頭的一族，分類上屬於杓蘭亞科 (Cypripedioideae)，原產於東南亞地區 (Cribb, 1998)，台灣於 1999 年頒布「人工培植拖鞋蘭登記及輸出管理作業要點」，打開了我國仙履蘭外銷的大門，近年來，台灣仙履蘭產業的發展，已由趣味栽培市場轉為商業栽培體系，並已擴及到切花項目 (蔡, 2011)。但在種苗栽培管理技術方面，尤其是花期調節技術，目前仍甚少被著手研究，為了產業發展，瞭解仙履蘭 (芭菲爾鞋蘭) 開花機制的研究，進而研發有效的產期調節技術，解決產期發展的瓶景關鍵問題。

植物開花 (生殖生長) 的啟動機制甚為複雜，依據前人的研究成果，一般被歸結有光週期效應 (photoperiodism)、與溫度有關的春化作用 (vernalization)、與植物本身成熟度或碳水

---

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

化合物(carbohydrate)累積運移有關的自主性因子(autonomous factor) (Corbesier *et al.*, 1998)以及與植物荷爾蒙(hormone)尤其是激勃素(GAs, Gibberellins)的生成運移有關的訊息傳導等四大類的開花訊息傳導路徑(signaling pathway)，這些路徑或單一、或交互地作用而活化了植物開花有關基因的表現，啟動了生長點由營養生長到生殖生長的轉變，開始了開花的過程(Corbesier and Coupland, 2005 ; Srikanth and Schmid, 2011)；本研究以探討仙履蘭的開花機制為主要目標，希望尋求瞭解影響仙履蘭開花的因子，選擇以較易實施的激勃素(GA<sub>3</sub>)施用處理入手，配合細胞分裂素(cytokinin)類生長調節劑苯甲基腺嘌呤(BA, 6-benzyladenine)的混合使用，以觀察不同處理之間對仙履蘭開花促進與花朵品質的影響，並於試驗中取樣進行植體蔗糖、葡萄糖、果糖、全可溶性糖、澱粉等碳水化合物以及全氮含量等的分析，希望藉由實驗結果的分析比較，能獲得芭菲爾鞋蘭開花關鍵機制的蛛絲馬跡，以做為後續相關研究及產業應用的參考。

## 材料與方法

### 一、植物材料

本研究供試驗的芭菲爾鞋蘭品種為 *Phiopedilum philippinense* x *P. Somers Isles* 實生苗，由台中市大雅區穎川蘭藝工作室提供，所選用的植株為出瓶 2.5 年生，部份已帶 1 至 2 小側芽，狀似成熟的大苗，植株栽培於 7.5 公分黑色軟盆，盆鉢容積為 220 ml，植材為等體積的 5 號樹皮(0.8-1.2cm):中號浮石(0.8-1.2cm)=1:1，並添加少許的細竹炭塊(0.8-1.2cm)，試驗開始時每盆置放「好康多」(N:P:K=12:14:12；旭化成株式會社,日本)180 天型緩效性肥料 2 g，試驗期間每週以人工澆水兩次，試驗初期在穎川蘭藝工作室的溫室中進行，該溫室為側邊可捲揚塑膠布披覆，兩層 50%光控活動遮光網及一層 50%固定式遮光網，活動遮光網的光控條件上層為 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，下層為 1200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，溫度以加溫機調整於 13°C 以上，至第 12 週(各組均已有的來花植株)將進行植體檢測採樣前，供試材料移至中興大學園藝系的玻璃精密溫室栽培直到實驗結束。

試驗起始日為 2011 年 12 月 17 日，實驗於 24 週後(2012/6/2)結束。

### 二、試驗方法

#### (一) GA<sub>3</sub> 處理對芭菲爾鞋蘭開花的影響

GA<sub>3</sub> 濃度分 125、250、500 及 1000 ppm 四種處理，並以同樣的方式施予等量的清水為對照組，以觀察不同濃度 GA<sub>3</sub> 對芭菲爾鞋蘭開花促進的影響效果。

植株處理方式：將計劃濃度的處理溶液用手動噴霧器以每株 20 ml 的量，平均噴施於植株葉表、葉背及基部植材表面，每處理 4 重覆，每重覆 8 株，共計 32 株。

#### (二) 同時施加 GA<sub>3</sub> 及 BA 對芭菲爾鞋蘭開花的影響

本試驗的 GA<sub>3</sub> 濃度採用 500ppm 的單一濃度，BA(Sigma, USA)的濃度則分 50、100、200 及 400ppm 四種處理，以未處理 GA<sub>3</sub> 及只施用 GA<sub>3</sub> 500ppm 的處理為不同對照組。

### (三) GA<sub>3</sub> 處理後延後再 BA 處理對芭菲爾鞋蘭開花的影響

植株先施予每株 20ml 的 500ppm GA<sub>3</sub> 溶液後，再分別於第 2、4 及 6 週，噴施予等量的 100ppm BA 溶液，以觀察 GA<sub>3</sub> 施用後，不同時間增加 BA 的處理對芭菲爾鞋蘭開花促進與開花品質的影響，以未處理 GA<sub>3</sub> 及只施用 GA<sub>3</sub> 500 ppm 的處理為對照組。

### (四) 開花率的調查

本項開花率的調查分為 4 個調查內容：

- 1、來花率，指至實驗結束為止，各處理組有達到來花階段的植株數。
- 2、始花期，指處理後同一處理組達到來花率半數所需的時間，以週為單位，以比較其來花時間的一致性。
- 3、開花率，指至實驗結束為止，各處理組有達到花朵綻放的植株數。
- 4、消蕾情形，早期的花序敗育或單一花梗上有一個以上花苞敗育均視為消蕾。

### (五) 葉片不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比測定

為瞭解儲藏性碳水化合物含量及碳氮比對芭菲爾鞋蘭開花的影響，及生長調節劑處理對植株不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響，及開花過程中碳水化合物的分布變化情形，進行本項試驗。本試驗於 GA<sub>3</sub> 處理開始後第 12 週進行。

#### 1. 採樣與樣品處理

選擇以植株已完全展開的最上兩片葉為取樣部位，分別採取近基部及葉中段約 3cm 長幅的組織做為不同部位分析樣品(圖 2)。每一處理組採取的不同部位樣品各為 4 重覆。植株分析樣品的處理方法係參考 Isaac(1972)。

#### 2. 全可溶性糖(Total soluble sugar)測定(方法修改自 Dubios, 1956)

精秤乾燥粉末樣品 0.1 克置於 50ml 離心管中，加 10ml 去離子水於 30°C 水浴振盪 3 小時後，以 4000rpm 在室溫下離心 10 分鐘，取上清液 0.2ml 加入 4.8ml H<sub>2</sub>O 振盪均勻後，取 2ml 混合液加入 0.1ml liquid phenol 及 6ml 濃硫酸，振盪均勻靜置 30 分鐘後備用。Liquid phenol 為 phenol 置於 39°C 烘箱融化後加入 10%體積比的蒸餾水混合液。以分光光度計(Spectrophotometer；Hitachi U-2001, Hitachi Co., Japan)於 490nm 測定樣品的吸收值。標準品是以葡萄糖(Sigma, USA)配製，分別為 0、0.2、0.4、0.6、0.8 及 1μmole/l。

#### 3. 澱粉(Starch)測定(方法修改自 Dubios, 1956)

將上述離心後的下層殘渣以 80°C 烘乾 8 小時以上，加入 2 ml H<sub>2</sub>O，放於沸水中煮 15 分鐘，取出後迅速冷卻之，再加入 2 ml 9.2N HClO<sub>4</sub> 於 15 分鐘內不時地攪拌之，再加水至 10 ml，以 10000rpm 在室溫下離心 10 分鐘，取離心後之上清液 0.1 ml，加入 1.9 ml H<sub>2</sub>O、0.1 ml liquid phenol 及 6 ml 濃硫酸，振盪均勻靜置 30 分鐘後備用。

以分光光度計(Spectrophotometer；Hitachi U-2001, Hitachi Co., Japan)於 490nm 測定樣品的吸收值。標準品的配製與全可溶性糖測定同。

#### 4. 以 HPLC 測定蔗糖(Sucrose)、葡萄糖(Glucose)、果糖(Fructose)

精秤乾燥粉末樣品 0.1 克置於 50ml 離心管中，加入 80%乙醇 15 ml，置於 70°C 熱水

浴中 45 分鐘後，以 10000rpm 離心 15 分鐘，抽取上清液以減壓濃縮機(VAPOUR-MIX, KC-12)在 40°C 減壓濃縮去乙醇至 1ml 左右，再以 SEP-PACK C18 Cartridge 除去色素後，經 0.45 $\mu$ m Millipore 過濾膜濾去大分子雜質後，以二次蒸餾水定量至 1.5ml，即可為 HPLC 分析樣品。

標準品的配製：

a. 配製各為 0.05% 的 Glucose、Fructose、Sucrose(Sigma, USA)，以做為這三種測量標的標準。

b. 配置 0.05% 的 Glucose + Fructose + Sucrose 與 0.2% 的 Glucose + Fructose + Sucrose 做為標準品，以進行兩點檢量線的設定。

HPLC 機型：Pump：Shimadzu LC-9A, Detector：Shimadzu RID-6A, 積分儀：Shimadzu C-R6A  
Column：Sugar Pack(Waters)

5. 全氮(N)測定(氮分析儀法)(方法修改自 Dubios, 1956)

精秤 0.2g 的乾燥樣品粉末，以 1/4 的 Whatman #1 濾紙包封，置入分解瓶中，加入 1g 的催化劑(K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : CuSO<sub>4</sub> : Se = 100 : 10 : 1)後，再加入 4.5ml 的濃硫酸，並在分解瓶上置放一小玻璃漏斗，以避免催化劑被蒸乾，於分解爐中以 410°C 加熱至分解為澄清綠色後再加熱 30 分鐘，取出冷卻後加入去離子水定量至 75ml 備用。以氮分析儀(Ammonia Analyzer, Alltech 380 Model)測得樣品含氮的比率。計算公式：讀值(ppm)× 樣品液體積 × 稀釋倍數 ÷ 試樣重 × 10<sup>-4</sup>

6. 碳氮比

以樣品所測得的全可溶性糖及澱粉含量(%)加總，與測得的全氮含量(%)的比值，做為碳氮比的比值。

(七) 統計分析

試驗設計採完全逢機設計(Completely randomized design, CRD)，試驗數據利用 CoStart 6.4 軟體(CoHort software, Monterey, CA, USA)以費雪爾氏 LSD 法(Fisher's least significant difference test)比較各處理組間之 5% 差異顯著性。

## 結 果

一、生長調節劑處理對芭菲爾鞋蘭開花的影響

(一) GA<sub>3</sub> 對芭菲爾鞋蘭開花的影響

相較於對照組，各種不同濃度的 GA<sub>3</sub> 處理都明顯提高了 *P. philippinense* x *P. Somers* Isles 的來花情形，其中 GA<sub>3</sub> 1000ppm 處理達到 56.3% 的來花率為最高，對照組在試驗期間則只有 9.4% 的來花率，GA<sub>3</sub> 500ppm 處理在 10 週後開始來花為最早，對照組則遲至第 12 週才開始來花，不同濃度 GA<sub>3</sub> 的處理比對照組提早 1~2 週來花，若以達到來花率半數

所需的時間為始花期，以比較其來花時間的一致性，則各 GA<sub>3</sub> 處理組的始花期時間頗為一致，均於第 12 週即達到其始花期，而對照組則比各 GA<sub>3</sub> 處理組晚一週(表 1)。

#### (二) GA<sub>3</sub> 添加不同濃度 BA 處理對芭菲爾鞋蘭開花的影響

GA<sub>3</sub> 500ppm 同時添加 50、100、200 及 400ppm 等不同濃度的 BA 處理 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 植株，其來花率分別為 43.8、34.4、37.5 與 37.5%，與未施用 GA<sub>3</sub> 的對照組的 9.4%相比，亦有明顯的促進開花效果，但與只施用 GA<sub>3</sub> 500ppm 的對照組(37.5%)比較，則並未明顯改變其促進開花的效果；在來花的時間方面，所有添加 BA 的處理組都在第 11 週開始來花，在始花期方面，GA<sub>3</sub> 500ppm + BA 100ppm 的處理在開始來花的第 11 週即達到其始花期，而添加其他 BA 濃度的處理組則都和單純 GA<sub>3</sub> 500ppm 處理一樣，在第 12 週才達到其始花期(表 2)。

#### (三) GA<sub>3</sub> 處理後不同時間 BA 處理對芭菲爾鞋蘭開花的影響

植株先以 500ppm 的 GA<sub>3</sub> 處理後，再分別於第 2、4 及 6 週後增加 100ppm 的 BA 處理，至實驗結束時(24 週後)，各處理的來花率分別為 31.3、37.5 及 40.6%，隨處理時間延後，來花率增加；相較於未施用 GA<sub>3</sub> 的對照組，各處理有明顯促進開花的效果；在來花的時間方面，各處理都在第 11 週開始來花；在始花期方面，BA 延後 4 及 6 週的處理組在第 12 週達到始花期，與單純 GA<sub>3</sub> 500ppm 處理相同，但只延後 2 週的處理則晚 1 週才達到其始花期時間(表 3)。

### 二、生長調節劑處理在芭菲爾鞋蘭葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

#### (一) GA<sub>3</sub> 處理對芭菲爾鞋蘭葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

以不同 GA<sub>3</sub> 濃度(125、250、500 與 1000ppm)處理 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 12 週後，分別檢測植株已完全展開的最上兩片葉基部與中段的全可溶性糖(Total soluble sugar, TSS)、澱粉(Starch)、全氮(Total nitrogen)的含量(%), 並據以計算其碳氮比(C/N ratio)的結果如表 5，在全可溶性糖方面，除 GA<sub>3</sub> 125ppm 組外，對照組的葉基部含量平均值較其他處理組低；澱粉的含量則不論部位，各處理組與對照組的差異不明顯；全氮含量方面，不論部位，各處理組與對照組的差異不明顯；碳氮比方面，對照組的葉基部比其他處理組較低，葉中則差異較小，就同一處理而言，處理組的葉基部碳氮比值高於葉中段，但對照組則兩個部位差異不大(表 4)。

#### (二) GA<sub>3</sub> 及 BA 處理對芭菲爾鞋蘭葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

GA<sub>3</sub> 500ppm 同時添加不同濃度 BA 處理 12 週後，對照組的葉基部全可溶性糖含量較各處理組低，在葉中段則差異不顯著；澱粉的含量，則不論部位，各處理組與對照組的差異不顯著；全氮的含量各處理組在葉基部與對照組的差異不顯著，但在葉中段則各處理組與對照組有明顯的差異；碳氮比方面，處理組的基部比值同樣大於葉中段，與對照組相較，處理組在葉基部的碳氮比值除 GA<sub>3</sub> 500ppm + BA 50ppm 外，較對照組高，但在葉中段部位則對照組較處理組高(表 5)。

(三) GA<sub>3</sub> 處理後不同時間 BA 處理對芭菲爾鞋蘭葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

先以 GA<sub>3</sub> 500ppm 處理植株，再分別於第 2 週、4 週及 6 週後再施予 BA 100ppm 處理 12 週後，全可溶性糖方面各處理組的葉基部含量明顯較未處理的對照組高；澱粉的含量，各處理組與對照組在葉基部及葉中段部位差異不顯著；全氮的含量方面，在基部各處理組與對照組的差異不顯著，而同一處理的中段含量較基部高；碳氮比方面，就部位而言各處理組的基部比值亦大於葉中段，與對照組相較，處理組在葉基部的碳氮比值與未做處理的對照組差異不明顯，但在葉中段部位則各處理組較對照組低(表 6)。

(四) GA<sub>3</sub>、BA 與溫度組合對芭菲爾鞋蘭葉部不同部位蔗糖、葡萄糖與果糖含量的影響

選取對照組、GA<sub>3</sub> 500 ppm、GA<sub>3</sub> 500 ppm+BA 100 ppm 及 GA<sub>3</sub> 500 ppm 處理後 6 週變溫處理等四組的植株最上兩完全展開葉片的基部與中段，進行蔗糖、葡萄糖與果糖含量檢測的結果，以 GA<sub>3</sub> 500 ppm+BA 100 ppm 處理組在基部葡萄糖的含量明顯高於未做處理的對照組，但在葉中段的果糖則低於對照組，其他檢測數據在對照組與處理組之間並未呈現顯著性差異(表 9)；就個別醣類與不同部位而言，蔗糖在葉基部的含量高於葉中段部位，葡萄糖則葉中段高於葉基部，果糖則處理與對照組則兩部位差異不大，不管是在葉基部或中段部位，這三種醣類的各別含量與來花率之間並未呈現相關性(表 7)。

表 1. GA<sub>3</sub> 不同濃度處理對 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 開花的影響

Table 1. Effects of different concentration treatment of GA<sub>3</sub> on flowering of *P. philippinense* x *P*

Treatments	Numbers of final bolting	Rate of bolting (%)	Rate of Aborted flower bud (%)	Time to first plant bolting (weeks)	Time to half of total bolting (weeks)
0(water)	3	9.4 c	33.3	12	13
125	14	43.8 ab	21.4	11	12
250	13	40.6 b	23.1	11	12
500	12	37.5 b	33.3	10	12
1000	18	56.3 a	22.2	11	12

\*Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

32 plants for each treatment

Period of experiment : 24 weeks(2011/12/7~2012/6/2)

表 2. GA<sub>3</sub> 500 ppm 添加不同濃度 BA 處理對 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 開花的影響  
 Table 2. Effect of treat with GA<sub>3</sub> 500 ppm plus different concentration of BA on flowering of *P. philippinense* x *P. Somers Isles*

Treatment	Numbers of final bolting	Rate of bolting	Aborted flower bud (%)	Time to first plant bolting (weeks)	Time to half of total bolting (weeks)
CK1(water)	3	9.4 b	33.3	12	13
CK2(GA <sub>3</sub> 500 ppm)	12	37.5 a	33.3	10	12
+ BA 50 ppm	14	43.8 a	28.6	11	12
+ BA 100 ppm	11	34.4 a	27.3	11	11
+ BA 200 ppm	12	37.5 a	25.0	11	12
+ BA 400 ppm	12	37.5 a	25.0	11	12

\*Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

32 plants for each treatment

Period of experiment : 24 weeks(2011/12/7~2012/6/2)

表 3. GA<sub>3</sub> 處理後不同時間增加 BA 處理對 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 開花的影響  
 Table 3. Effect of treat with GA<sub>3</sub> and subsequent BA on flowering of *P. philippinense* x *P. Somers Isles*.

Treatment	Numbers of final bolting	Rate of bolting	Aborted flower bud (%)	Time to first plant bolting (weeks)	Time to half of total bolting (weeks)
CK	3	9.4 b	33.3	12	13
G3	12	37.5 a	33.3	10	12
GFB1	10	31.3 a	30.0	11	13
GFB2	12	37.5 a	25.0	11	12
GFB3	13	40.6 a	30.8	11	12

\*Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

(G3)GA<sub>3</sub> 500 ppm alone,(GFB1, GFB2, GFB3)BA at 100 ppm treated 2, 4, and 6 weeks respectively, after GA<sub>3</sub> spraying. 32 plants for each treatment. Period of experience : 24 weeks(2011/12/7~2012/6/2).

表 4. GA<sub>3</sub> 不同濃度處理對 *Paph. (philippinese x Somers Isles)* 葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

Table 4. Effects of different concentration treatment of GA<sub>3</sub> on Carbohydrate content of *Paph. (philippinese x Somers Isles)* leaves.

GA <sub>3</sub> (ppm)	Base				Middle				Bolting rate when detecting (%)
	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	
0 (water)	20.86 a	26.47 a	0.99 a	48.12 a	39.56 a	22.79 a	1.29 a	49.20 a	3.1 c
125	20.62 a	26.17 a	0.92 a	53.68 a	37.24 a	24.14 a	1.14 a	53.87 a	21.9 b
250	29.35 a	26.94 a	0.86 a	71.57 a	35.84 a	28.23 a	1.16 a	57.00 a	21.9 b
500	24.20 a	27.24 a	0.82 a	68.01 a	38.17 a	29.64 a	1.30 a	52.68 a	28.1 ab
1000	26.58 a	23.31 a	0.93 a	55.31 a	32.66 a	29.18 a	1.32 a	49.58 a	37.5 a

Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

表 5. GA<sub>3</sub> 500 ppm 添加不同濃度 BA 處理對 *Paph. (philippinese x Somers Isles)* 葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

Table 5. Effect of treat with GA<sub>3</sub> 500ppm plus different concentration of BA on Carbohydrate content of *Paph. (philippinese x Somers Isles)* leaves.

Treatment	Base				Middle				Bolting rate when detecting (%)
	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	
CK1(water)	20.86 b	26.47 a	0.99 ab	48.12 b	39.56 a	22.79 a	1.29 b	49.20 ab	3.1 b
CK2 (GA <sub>3</sub> 500 ppm)	24.20 ab	27.24 a	0.82 b	68.01 a	38.17 a	29.64 a	1.30 b	52.68 a	28.1 a
+ BA 50 ppm	24.65 ab	29.75 a	1.20 a	46.21 b	36.04 a	24.75 a	1.70 a	36.07 b	21.9 a
+ BA 100 ppm	31.43 ab	28.75 a	1.05 ab	58.31 ab	33.98 a	25.39 a	1.52 ab	40.46 ab	21.9 a
+ BA 200 ppm	33.65 a	23.38 a	0.94 ab	60.96 ab	32.12 a	26.50 a	1.58 ab	37.40 b	21.9 a

Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

表 6. GA<sub>3</sub> 500 ppm 處理後不同時間增加 BA 100ppm 處理對 *Paph. (philippinense x Somers Isles)* 葉部不同部位儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的影響

Table 6. Effect of GA<sub>3</sub> and subsequent BA treatment on Carbohydrate content of *Paph. (philippinense x Somers Isles)* leaves

Treatment	Base				Middle				Bolting rate when detecting (%)
	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	TSS (%)	Starch (%)	N (%)	C/N	
CK	20.86 c	26.47 a	0.98 ab	48.12 ab	39.56 a	22.79 a	1.29 b	49.20 a	3.1 c
G3	24.20 bc	27.24 a	0.82 b	68.01 a	38.17 a	29.64 a	1.30 b	52.68 a	28.1 a
GFB1	28.70 bc	23.02 a	0.96 ab	56.98 ab	35.34 a	29.06 a	1.54 ab	41.40 ab	12.5 b
GFB2	29.98 ab	22.70 a	1.19 a	45.66 ab	31.99 a	26.35 a	1.63 a	35.62 b	28.1 a
GFB3	38.03 a	20.39 a	1.03 ab	57.63 ab	37.04 a	30.49 a	1.51 ab	44.38 ab	31.2 a

\*Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

(G3)GA<sub>3</sub> 500 ppm alone, (GFB1, GFB2, GFB3)BA at 100 ppm treated 2, 4, and 6 weeks respectively, after GA<sub>3</sub> spraying. Data collected 12 weeks after GA<sub>3</sub> treatment.

表 7. GA<sub>3</sub>、BA 與溫度不同處理組合對 *P. philippinense x P. Somers Isles* 葉部不同部位蔗糖、葡萄糖與果糖含量的影響

Table 7. Effect of different combination treatment of GA<sub>3</sub>, BA and Temperature on Sucrose, Glucose and Fructose content of *P. philippinense x P. Somers Isles*

Treatment	Base				Middle				Flowering rate (%)
	Suc	Glu	Fru	Total	Suc	Glu	Fru	Total	
CK	2.867 a	2.35 b	4.67 a	9.88 a	4.58 a	1.68 a	4.24 a	10.51 a	3.1 b
G3	2.74 a	2.81 b	4.65 a	10.20 a	4.12 a	1.86 a	4.43 a	10.41 a	28.1 a
GB2	2.26 a	3.87 a	5.69 a	11.83 a	4.46 a	2.34 a	1.61 b	8.40 a	28.1 a
GT3	3.42 a	2.73 b	3.32 a	9.29 a	4.34 a	1.85 a	3.26 ab	9.45 a	31.2 a

\*Mean separation within each columns by LSD test at  $P \leq 0.05$ .

\*(G3)GA<sub>3</sub> 500ppm singly, (GB2)GA<sub>3</sub> 500 ppm + BA 100ppm, (GT3)GA<sub>3</sub> 500ppm first and delay 6 weeks moving to 30/22°C day night temperature. Data collected at 12 weeks after GA<sub>3</sub> treatment.

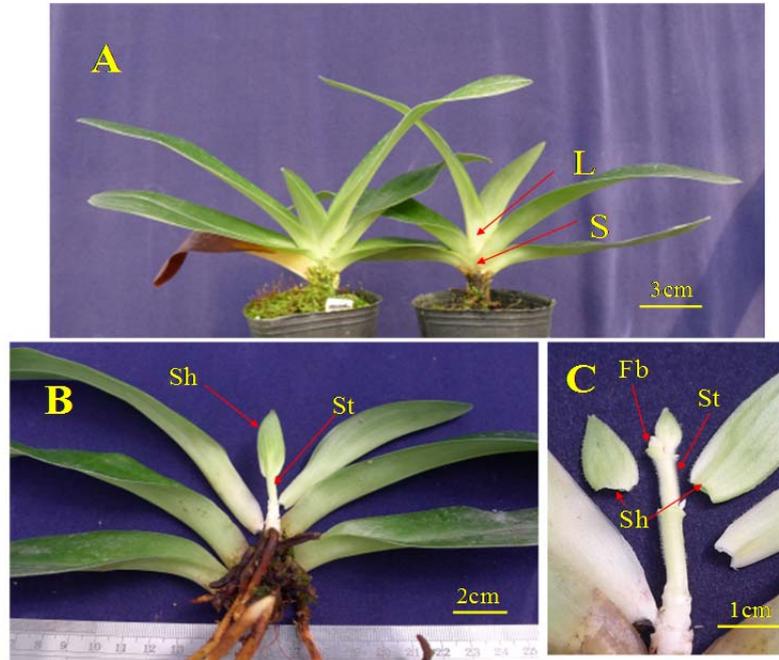


圖 1. *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 未來花與來花植株形態比較圖。A 左為尚未花芽分化的植株，A 右為已花芽分化的植株形態，已花芽分化的植株其最新生長的葉基部(L)會較一般的營養生長期束縮而直立，以手指觸摸植株基部(S)可感覺已有花芽存在的膨脹感，實際上植株的生殖生長早已進入花器官分化階段(B 與 C)，Sh：花鞘，St：花梗，Fb：花苞

Fig.1. Comparison of plant shape between plants with vegetative and reproductive stages of *P. philippinense* x *P. Somers Isles* before flower bud visible. A, Vegetative stage (left), reproductive stage (right).L, base of last leaf which is vertical upright. S, base of the plant which is swell. Sh, sheath. St, small flower stem. Fb, small flower bud. In this stage, the flower organs are in development already(B and C).

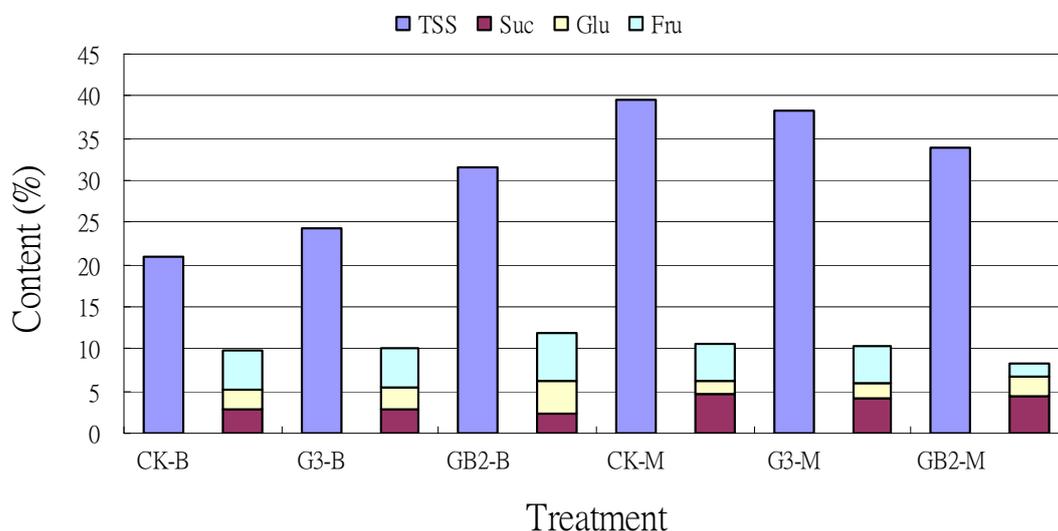


圖 2. *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 不同處理組合葉基部與中段全可溶性糖含量與蔗糖、葡萄糖、果糖加總含量之比較

Fig. 2. Comparison between total soluble sugar content and sum of sucrose, glucose and fructose content of *P. philippinense* x *P. Somers Isles* after different treatment. (G3)GA<sub>3</sub> 500ppm, (GB2) GA<sub>3</sub> 500ppm + BA 100ppm. (B) base of leaf, (M) middle of leaf.

## 討 論

### 一、GA<sub>3</sub> 處理對芭菲爾鞋蘭開花促進的影響

相較於對照組，各種不同濃度的 GA<sub>3</sub> 處理都明顯提高了 *P. philippinense* x *P. Somers Isles* 的來花率(表 1)，低劑量的 125ppm 處理即可比無處理的對照組有高五倍的來花率 (9.4% vs 43.8%)。GA 會增加蔗糖合成酶(sucrose synthase)的活性，促使供源(source)葉片將蔗糖轉運(translocation)到花序頂端累積，使之達到具花芽萌發能力(Chen *et al.*, 1994)，因此，外施 GA 處理可彌補其他開花訊息傳導如光週期、春化作用、成熟度等等之不足而促進植株的開花。

雖然 GA<sub>3</sub> 1000ppm 的處理有較高的來花率，但從 125ppm 至 500ppm，GA<sub>3</sub> 對開花促進的提高效果都在 4~5 倍之間，差異並不大，顯示 125ppm 的濃度即已足夠引起芭菲爾鞋蘭花之起源(floral meristem evocation)相關基因的表現。

Miguel and Sakai(2008)在以 *P. Macabre* x *P. glanduliferum* 雜交種實生苗進行 GA<sub>3</sub> 處理實驗時，866ppm GA<sub>3</sub> 的處理使開花率達到 100%，且部份植株同時有兩枝花梗以上，本實

驗選用的材料 *P. philippinense* *P. Somers* Isles 為類似的品種，實驗的結果顯示，即便是 1000ppm GA<sub>3</sub> 的處理，也只有 56.3% 的來花率，500ppm 以下濃度的處理則來花率均不到 50%，這樣的效果實際上尚無法滿足商業栽培的需求標準，究其原因，是否為本實驗所選用的材料其成熟度仍有部份不足，有待進一步探究。芭菲爾鞋蘭多花物種 (*Sec. Coryopedium*) 與斑葉單花物種 (*Sec. Barbata*) 的雜交組合，在自然栽培下有開花性較差的現象，植株常在已具多芽的情況下仍不開花，其原因尚未被就明，但從前述學者的研究報告及本實驗結果，如何判別植株成熟度以進行 GA 處理促進開花，仍是一個值得探究的方向。

## 二、GA<sub>3</sub> 及 BA 同時施加處理或 BA 延後處理對芭菲爾鞋蘭開花促進的影響

GA<sub>3</sub> 500ppm 同時添加 50-400ppm 不同濃度的 BA 處理，對 *P. philippinense* *P. Somers* Isles 植株均有促進其開花的效果，以添加最低劑量 BA 50ppm 的處理來花率 43.75% 最高，為對照組來花率的 5 倍，與單獨使用 GA<sub>3</sub> 125ppm 處理的結果相同，而添加 BA 濃度為 100-400ppm 的來花率為 34.38-37.5%，為對照組來花率的 4 倍左右，與單獨使用 GA<sub>3</sub> 500ppm 的處理結果相當 (表 2)；若植株先以 500ppm 的 GA<sub>3</sub> 處理後，再分別於第 2、4 及 6 週後增加 100ppm 的 BA 處理，則隨著延後 BA 處理的時間，來花率增加，各有增加 2 株來花的差距 (表 3)，有研究指出，GA 與 Cytokinins 之間具有協力作用 (Funnell and Heins, 1998)，但在石斛蘭 (Goh and Yang, 1978; Sakai and Adams, 2000)、董色蘭 (Matsumoto, 2006) 及芭菲爾鞋蘭 (Miguel and Sakai, 2008) 等蘭科植物的促進開花效果的研究上，GA 與 BA 顯現出相互頡抗的效果，本研究結合同時施用與分別使用的實驗，雖在統計上顯示 BA 對此頡抗的效果不明顯 (表 2,3)，但從低劑量的 BA (50 ppm) 同時添加有較高的來花率，及隨著 BA 處理的時間延後兒來花率有提高的趨勢來看，此 GA 與 BA 的頡抗效果仍有趨勢存在。

在來花的時間方面，所有添加 BA 的處理均比對照組提早 1 週來花，始花期方面也提早 1 週達到，另外，除 GA<sub>3</sub> 500ppm + BA 50ppm 或 400ppm 的處理外，其他添加 BA 的處理均有較集中的抽梗期間，從第一株來花到有最大的來花率僅需三週的時間，較 GA<sub>3</sub> 單獨施用的各組要 4-6 週才達到最大的來花率更為集中 (資料未顯示)，Sakai and Adams (2000) 對石斛蘭的研究結果，顯示 BA+GA 的處理比單獨的 BA 處理有較正常的花朵及較長的花序與花朵數，認為此為 BA 與 GA 發揮了協同的效果，就本研究的結果來看，在開花的誘導方面，BA 雖然似乎降低了 GA 的效果，但使得來花時間更為集中，此可能是 BA 與 GA 發揮了協力效果所致；就劑量而言，對 GA<sub>3</sub> 500ppm 的處理，似乎以 100~200ppm BA 較適當，400ppm 或 50ppm 的 BA 濃度，已超出或不足與 GA<sub>3</sub> 產生協力作用所需。

## 三、芭菲爾鞋蘭開花過程中植株儲藏性碳水化合物含量及碳氮比的變化

植物體內累積達到一定量的碳水化合物或碳氮比，是其具有開花能力的基本條件，也是啟動植物開花基因表現的訊息傳導路徑之一 (Taiz and Zeiger, 2006)；就平均值而言，葉基部全可溶性糖的含量與碳氮比，處理組有比對照組較高的趨勢 (GA<sub>3</sub> 125ppm 組除外) (表 5,6,7)，GA<sub>3</sub> 會提高蔗糖合成酶的活性 (Chen *et al.*, 1994)，或許是因 GA<sub>3</sub> 的施用，帶動了植

體內碳水化合物代謝的變化，起動了開花的轉變。大白花蝴蝶蘭的葉片從催花開始到花梗冒出階段澱粉含量由高降低，而蔗糖的含量則由低升高，學者認為花芽創始階段的訊息傳導，與澱粉、蔗糖的含量變化有關，亦可能意味著能量代謝形式的變化帶動了開花訊息的傳遞(李與李,1996)；Kataoka *et al.*(2004)在白花蝴蝶蘭的實驗，認為蔗糖含量是影響抽梗時間的主要糖類；草莓在開花誘導後，頂芽的蔗糖含量明顯高於未經誘導處理的植株，葡萄糖、果糖含量則不管頂芽、葉片或根部兩者的差異不大，而澱粉的含量則不論植株部位均以未經誘導處理的植株較高(Eshghi *et al.*, 2007)；梨樹(*Pyrus pyrifolia*)在由營養生長轉變為生殖生長前，分生組織的靜滯區細胞內含有大量的澱粉粒，但在花器官分化期間則迅速消失(Peng and Iwahori, 1994)；上述不同研究的結果，顯示植物在啟動生殖生長過程中因品種差異而有不同偏好的能量代謝路徑，但大部份都是以 sucrose-starch 的路徑為主，有學者認為，自供源(source)額外增加的蔗糖供給扮演了刺激開花的訊息傳導角色，而且大部份的蔗糖是來自於澱粉的代謝(Corbesier *et al.*, 1998)。本試驗結果，對照組與處理組在葉基部或中段的澱粉含量差異不明顯，或許，*P. philippinense* *x* *P. Somers Isles* 開花過程的能量代謝路徑或偏好，與澱粉較無關。但從低來花率的未處理對照組在葉基部全可溶性糖與碳氮比高來花率的各處理組較低來看，碳水化合物的含量與代謝在芭菲爾鞋蘭的開花過程，仍扮演重要的角色。

值得注意的是，若計算同一部位蔗糖、葡萄糖與果糖的總含量，只佔全可溶性糖含量的半數以下，在葉中段兩者的差異更大(圖 2)，這種非直接性代謝糖大量存在的現象，其主要成分為何？其在芭菲爾鞋蘭的生長或開花過程是否存在有特別的意義？似乎值得再進一步探究；文心蘭假球莖在抽梗前，有大量甘露聚糖(mannan)、果膠(pectin)等碳水化合物的存在，而澱粉的含量則在抽梗初期後才開始迅速累積(Wang *et al.*, 2008)，學者在研究文心蘭開花過程中蔗糖、甘露聚糖、果膠及澱粉等醣類代謝重要關鍵酵素的活性變化後，推測文心蘭的開花誘導機制應不是單純的受一般 sucrose-starch 的路徑所調節，而可能是有其他的碳水化合物介入其中(Wang *et al.*, 2008)；也有學者認為，此文心蘭的開花誘導機制可能與甘露聚糖—抗壞血酸的合成代謝有關(Shen *et al.*, 2009)，上述 *P. philippinense* *x* *P. Somers Isles* 葉基部或葉中段蔗糖、葡萄糖與果糖的總含量只有全可溶性糖含量的半數以下，且各處理組葉片兩部位的澱粉含量差異不大，這是否意味著有 non sugar-starch 的碳水化合物代謝路徑介入芭菲爾鞋蘭的開花誘導過程，是個值得探究的方向。

在開花過程的能量代謝路徑方面，因為葉基部的蔗糖含量不及葉中段一半，且可溶性糖與葡萄糖的含量明顯高於葉中段，處理組的葉基部葡萄糖含量高於對照組，很顯然，芭菲爾鞋蘭開花過程的能量代謝是偏好蔗糖的利用，且以葉基部為主要的供源部位；另外，在本實驗過程中，被切取上位葉片以進行採樣的植株，其花梗的後續生長呈現停頓或緩慢的現象，由於芭菲爾鞋蘭只有新生長完全的最上兩片葉才有較高的光合作用效率，第三片葉以下的光合作用效能很低(蕭, 2000；童, 2012)，所以可以判斷，芭菲爾鞋蘭開花過程所利用的蔗糖碳源，應主要是直接來自於當下光合作用的產物。

### 參考文獻

- 李晔、李嘉慧。1996。蝶蘭花芽誘引和花序發育時之碳水化合物變化。中國園藝 42(3)：262-275。
- 童季芬。2012。芭菲爾鞋蘭屬光合作用型態之研究。國立嘉義大學農業科學博士學位學程博士論文。
- 蔡瑜卿。2011。2011、2010年仙履蘭產業調查與分析。2011年仙履蘭產業發產座談會。台灣仙履蘭協會。
- 蕭竹儀。2000。芭菲爾鞋蘭生育、形態解剖、光合作用特性與栽培技術之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- Chen W. S., H. Y. Liu, Z. H. Liu, L. Yang, and W. H. Chen. 1994. Gibberellin and temperature influence carbohydrate content and flowering in *Phalaenopsis*. *Physiol. Plant.* 90:391-395.
- Corbesier, L., P. Lejeune, and G. Bernier. 1998. The role of carbohydrates in the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison between the wild type and a starchless mutant. *Planta* 206:131-137.
- Corbesier, L., P. Lejeune, and G. Bernier. 1998. The role of carbohydrates in the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison between the wild type and a starchless mutant. *Planta* 206:131-137.
- Cribb, P. 1998. *The Genus Paphiopedilum*. 2<sup>nd</sup> ed. Natural History Publication, Borneo.
- Dubios, M. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Eshghi, S., E. Tafazoli, S. Dokhani, M. Rahemi, and Y. Emam. 2007. Changes in carbohydrate contents in shoot tips, leaves and roots of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) during flower-bud differentiation. *Sci. Hortic.* 113 : 255-260.
- Funnell, K. A. and R. D. Heins. 1998. Plant growth regulators reduce postproduction leaf yellowing of potted Asiflorum lilies. *HortScience* 33 : 1036-1037.
- Goh, C. J. and A. L. Yang. 1978. Effects of growth regulators and decapitation on flowering of *Dendrobium* orchid hybrids. *Plant Sci. Lett.* 12: 287-292.
- Kataoka, K., K. Sumitomo, T. Fudano, and K. Kawase. 2004. Changes in sugar content of *Phalaenopsis* leaves before floral transition. *Sci. Hortic.* 102 : 121-132.
- Matsumoto, T. K. 2006. Gibberellic acid and benzyl adenine promote early flowering and vegetative growth of *Miltoniopsis* orchid hybrids. *HortScience* 41(1): 131-135.

- Miguel, T.P. and W.S. Sakai. 2008. Gibberellic acid induced flowering of *Paphiopedilum*(Macabre x *glanduliferum*). ISHS Acta Hort. 766: 279-281.
- Peng, S. A. and S. Iwahori. 1994. Morphological and cytological changes in apical meristem during flower bud differentiation of Japanese pear, *Pyruspyrifolia*. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 63: 313-321.
- Sakai, W. S. and C. Adams. 2000. Pseudobulb injected growth regulators as aids for year around production of Hawaiian *Dendrobium* orchid cut flower. Acta Hort. 541: 215-220.
- Shen, C. H., R. Krishnamurthy, and K. W. Yeh. 2009. Decreased L-ascorbate content mediating bolting is mainly regulated by the galacturonate pathway in *Oncidium*. plant cell physiol. 50(5) : 935-946.
- Srikanth, A. and M. Schmid. 2011. Regulation of flowering time : all roads lead to Rome. Cell. Mol. Life. Sci. 68: 2013-2037.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. Plant Physiology(4<sup>th</sup>ed). Sinauer Associates. Sanderl and U.S.A.
- Wang , C. Yu., C. Y. Chiou., H. L. Wang., R. Krishnamurthy., S. Venkatagiri., J. Tan and K. W. Yeh. 2008. Carbohydrate mobilization and gene regulatory profile in the pseudobulb of *Oncidium* orchid during the fowering process. Planta227: 1063-1077.

## Effect of GA<sub>3</sub> and BA on Flowering of *Paphipedilum* Hybrids

Yuan-Chuan Hsiao<sup>1)</sup> Ruey-Song Lin<sup>2)</sup>

Key words :*Paphiopedilum*, gibberellin, BA, temperature, flower induction

### Summary

*Paphiopedilum philippinense* x *P. Somers* Isles was used in this study to investigate the effect of GA<sub>3</sub> and BA on flowering of *Paphiopedilum*, and to detect the changes of carbohydrates during the flowering process. The results showed that GA<sub>3</sub> could indeed effectively promote flowering of *Paphiopedilum*, with 125 ppm having significant effect. BA could possibly play as an antagonistic role with GA<sub>3</sub> during flower initiation stage, but as a synergistic role during inflorescence development. Carbohydrates content of the plant showed in sucrose, glucose, fructose and starch no correlation with the flowering rate. But the total soluble sugar content and C/N ratio in the base of leaf of the treated groups is obviously higher than the control. Overall, the accumulation and metabolism of carbohydrates is the main factor of flower induction of *Paphiopedilum*. GA possibly promoted to trig on flower initiation through changing distribution and metabolism of carbohydrates.

---

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author