

白桐與耐簇葉病泡桐之雜交種及其同功酶分析

楊政川^{1,4)} 鍾振德²⁾ 何政坤²⁾ 陳振榮³⁾

摘要

引進自中國四川與貴州種原的耐擬菌質體 (mycoplasma-like organism) 泡桐種子苗，在台灣簇葉病疫區栽植3.5年後，四川種原與貴州種原林木的發病率分別為86.5%與40%，這些病株出現簇葉病徵枝條佔總枝條數的比率分別是46.2%與17.25%，二種原林木的樹高生長分別是7.9 m與11.8 m；胸徑生長分別是6.2 cm與8.9 cm，顯示來自貴州比來自四川的泡桐有較高的耐病性。從原生白桐(♀)x耐病貴州泡桐(♂)的雜交授粉中，獲得12株雜交苗。利用SKDH (shikimic acid dehydrogenase) 與GOT (glutamate oxaloacetate-transferase) 分析雜交苗與其雙親、台灣原生泡桐母樹與後裔苗、從義大利引種泡桐、及台灣泡桐後裔苗之同功酶圖譜，證實雜交種苗之酶圖譜確擁有來自雙親所有的同功酶帶。台灣原生泡桐的SKDH同功酶圖譜與貴州引種泡桐相同，但其GOT同功酶圖譜則不同於具有相同酶圖的貴州與義大利引種泡桐。台灣原生泡桐母樹與後裔苗的同功酶圖譜完全一樣，顯示這些子代可能是自交產生的。義大利引種泡桐的SKDH同功酶圖譜與其他來源的泡桐有明顯不同，且其花與蒴果比較小，鑑定應不是泡桐種。

關鍵詞：耐病性、雜交種、同功酶分析、擬菌質體、泡桐屬。

楊政川、鍾振德、何政坤、陳振榮。1997。白桐與耐簇葉病泡桐之雜交種與同功酶分析。台灣林業科學12(4): 467-474。

Hybrids of *Paulownia kawakamii* (♀) x *P. fortunei* (♂) with Witches' Broom Tolerance and Their Identification Using Isozyme Analysis

Jenq-Chuan Yang,^{1,4)} Jeng-Der Chung,²⁾ Cheng-Kuan Ho²⁾ and Zenn-Zong Chen³⁾

【Summary】

Seedlings of *Paulownia fortunei* introduced from Szechuan and Kweichow Provinces of China were planted in a Paulownia witches' broom infested area and grown for 3.5 yr. The percentages of diseased trees obtained from the 2 provinces were 86.5% and 40%, and percentages of witches' broom shoots out of total shoots among diseased trees were 46.42% and 17.25%, respectively. Moreover, trees from

1) 台灣省林業試驗所所長室，台北市南海路 53 號 Director General, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei, Taiwan, ROC.

2) 台灣省林業試驗所育林系，台北市南海路 53 號 Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei, Taiwan, ROC.

3) 台灣省林業試驗所六龜分所，高雄縣六龜鄉中興村 198 號 Liukuei Station, Taiwan Forestry Research Institute. 198 Chunghsing, Liukuei, Kaohsiung County, Taiwan, ROC.

4) 通訊作者 Corresponding author

1997 年 7 月送審 1997 年 9 月通過 Received July 1997, Accepted September 1997.

Kweichow Province showed greater height and DBH (11.8 m and 8.9 cm) than did those from Szuchuan Province (7.9 m and 6.2 cm). Our data indicate that trees from Kweichow Province have greater tolerance to the disease. Twelve hybrid seedlings from controlled pollination of *P. kawakamii* (♀) with witches' broom tolerant Kweichow *P. fortunei* (♂) were obtained. Isozyme analysis of SKDH (shikimic acid dehydrogenase) and GOT (glutamate oxaloacetate-transaminase) was conducted for the hybrids, their respective parents, 3 sources of *P. fortunei* trees including 2 native trees of Taiwan and one from Italy, and a *P. x taiwaniana* offspring. Zymograms of the hybrids had all the isozyme patterns derived from their respective parents. SKDH zymograms of native *P. fortunei* trees were the same as those of Kweichow's *P. fortunei*, however, their GOT zymograms differed from those of trees from Kweichow and Italy which shared the same patterns. All zymograms of the native *P. fortunei* and their offspring were the same indicating that these offspring might have resulted from self-crossing. The tree from Italy with smaller flowers and capsules had a unique SKDH zymogram compared to the other *P. fortunei* trees; our results suggest the Italian tree could be a different species.

Key words: disease tolerance, hybrids, isozyme analysis, mycoplasma-like organism, *Paulownia* species.

Yang, J. C., J. D. Chung, C. K. Ho, and Z. Z. Chen. 1997. Hybrids of *Paulownia kawakamii* × *P. fortunei* with witches' broom tolerance and their identification using isozyme analysis. *Taiwan J. For. Sci.* 12(4): 467-474.

緒言

泡桐屬 (*genus Paulownia*) 為東亞之特產，分佈在中、日、韓、台灣等國家。台灣分佈有泡桐 (*Paulownia fortunei*)、白桐 (*Paulownia kawakamii*) 與台灣泡桐 (*Paulownia x taiwaniana*) 3種 (劉業經等, 1994)。其中台灣泡桐因生長快速、材質優良、材價高昂而成爲台灣的重要造林樹種，在1979年時最多曾經造林達約 2萬 ha (林文鎮, 1979)。當時爲提高單位面積產量，並保持其優良性狀，建立了以種根繁殖的集約經營體系，使得造林木生長快速、整齊，8年即可收穫木材，爲台灣創造出『台灣的綠色黃金』的美譽，但也造成狹窄遺傳基礎的純林栽培，以致發生擬菌質體 (mycoplasma-like organism, 簡稱MLO) 感染所引發的簇葉病。經過媒介昆蟲與帶病種根的傳播，僅3年時間全台80%造林地均罹患此一嚴重的疾病 (彭國棟, 1978; Zhu et al., 1986; Chang et al., 1978)。因此尋找抗簇葉病泡桐一直爲泡桐栽培地如中國大陸、日本、韓國等努力的目標，

Yuan (1984) 曾調查大陸泡桐類天然族群之抗病力，發現白桐的罹病率最低，推測因其具有黏質腺體以防止昆蟲侵害所致。MacDicken (1988) 指出中國大陸發展泡桐與一年生農作混植的混農林業 (agroforestry) 非常成功，栽培面積超過200萬公頃，其成功的因素乃篩選出抗病品系之故。蘇鴻基、蔡麗杏 (1983) 發現引自義大利之泡桐較具耐病性 (tolerance)，而台灣泡桐對簇葉病之抗病力最弱，唯自義大利引進之泡桐在台灣生長不佳，故未進行雜交育種。因此林試所在1989年自中國大陸四川與貴州引進抗病之泡桐，1990年出栽到簇葉病發生的疫區進行抗病檢定，王維洋、陳志忠(1995)利用聚合酶連鎖反應 (PCR, polymerase chain reaction) 擴增擬菌質體 16S核糖體核酸片段來診斷此一外來泡桐造林木的罹病情形，在分析的95株中，四川與貴州種原泡桐染病率分別爲39%與14%，顯示外來泡桐確具有耐病性。由於台灣泡桐已經利用同功酶與葉綠體DNA分析證實爲母本白桐x父本泡桐的雜交種 (Ling and Wang,

1991; Finkeldey, 1992; Wang *et al.*, 1992), 因此利用原生白桐當母本, 耐病泡桐為父本的雜交種可能會產生具有如台灣泡桐雜交優勢又兼具耐簇葉病的特性。所以本研究的目的除了對外來泡桐的生長、簇葉病徵發生率再進行調查與確認後, 收集耐病貴州泡桐的花粉與台灣原生的白桐進行雜交, 並以同功酶分析技術作為雜交種與各種泡桐類的鑑定方法, 希望此一遺傳組合能產生耐病且兼具有類似台灣泡桐的雜種優勢的品種, 以恢復台灣泡桐造林事業。

材料與方法

一、引種與抗病檢定

從中國大陸四川、貴州引進泡桐母株之種子, 來自貴州之母樹, 樹齡8年生, 樹高20 m, 胸徑41 cm, 位於海拔1250 m, 花白色; 來自四川之母樹樹齡7年生, 樹高 10.6 m, 胸徑 24.5 cm, 位於海拔580 m, 花白色。直接播種於經高溫高壓消毒過後的蛭石中, 發芽後移植到裝填泥炭土與蛭石 (體積比為1:1) 的11.4 cm 的白色塑膠鉢中, 培育半年後出栽於南投的蓮華池分所, 經過3.5年, 調查其生長與發病情形, 調查資料包括發病率、罹病枝條占總枝條之比率及病害對樹勢生長的影響。

二、控制雜交授粉

1995年11月至佳陽採取白桐花穗, 腹接於2年生的泡桐砧木上, 每花穗帶休眠花苞約4-5粒, 1996年3月初時, 花穗上的花苞開始生長, 當花苞抽長至4-5 cm, 花瓣尚未開裂時, 撕開花瓣, 取出開裂的花藥, 套袋以防天然授粉, 並準備雜交授粉工作。

於蓮華池分所造林地採取已經過調查檢定具有耐病性的貴州種原植株的花藥, 經陰乾促使藥囊裂開後, 用 BK medium (Brewbaker and Kwack, 1963) 檢測花粉有極高的活力後, 再用鑷子夾取盛滿花粉粒的藥囊, 對準摘除雄蕊的白桐花柱頭裂口, 塞滿花粉並隨即套袋, 俟柱頭枯萎後, 再移除套袋。由於雜交的果實在授

粉後3個月, 果實易掉落, 此時果實內種子發育尚不完全, 無法發芽。因此需利用組織培養的胚胎拯救(embryo rescue)技術, 方法是將掉落在的果實, 先以70%酒精消毒1 min, 移入5%次氯酸鈉加1滴1/100 ml Tween 20溶液, 用超音波震盪15 min, 在無菌操作台上, 用無菌水清洗3次, 剖開果實取出種子, 培養在 MS 培養基 (Murashige and Skoog, 1962)。發育成苗後, 移植到11.4 cm 的白色塑膠鉢中。

三、同功酶分析檢定

利用同功酶 (isozyme) 分析雜交授粉所培育出來的種子苗是否係白桐與耐病泡桐的雜交種。方法係依據Lin and Wang (1991) 所使用的酵素GOT (glutamate oxaloacetate-transaminase) 與SKDH (shikimic acid dehydrogenase) 2種, 實驗採用水平式澱粉膠體電泳法(horizontal starch gel electrophoresis), 膠體濃度為12% 之澱粉膠, 配置方法: 電泳用馬鈴薯澱粉 18 g, EDTA 0.12 g, urea 2 g, 150 ml 膠體緩衝液(gel buffer)。萃取緩衝液(extraction buffer)以 Feret (1971)的方法配置: 含7% PVP-40, 1% PVP-360, 0.5 M sucrose, 0.5 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1% BSA, 6 mM cysteine-HCl, 6 mM ascorbic acid, 1% Tween 80, 0.4 mM NAD, 1% tergitol 15-s-9, β -mercaptoethanol, pH 7.5(用 1 M Tris buffer滴定)。膠體緩衝液、電極緩衝液、電泳條件及染色方法參照 Cheliak and Pitel (1984)之說明配置: 分成兩個系統 B 及 H 系統, B系統膠體緩衝液含 0.03 M Tris, 0.005 M citric acid (anhydrous), 1% 電極緩衝液(electrode buffer), pH 8.5; B系統電極緩衝液含 0.06 M lithium hydroxide, 0.3 M boric acid, pH 8.1, H 系統膠體緩衝液含 0.05 M histidine-HCl, 1.40 mM EDTA, pH 7.0(用1.0 M Tris) 使用時須稀釋 (二次蒸溜水: stock = 4:1); H 系統電極緩衝液含 0.125 M Tris, pH 7.0 (用 1 M citric acid 滴定)。開始泳動所用的電壓條件為90伏特, 泳動90 min後, 電壓條件改為100伏特, 再泳動3個半小時後進行

染色，酵素SKDH (E.C. 1.1.1.25) 採用 H系統，GOT (E.C.2.6.1.1) 採用 B系統。試驗材料為控制授粉雜交種苗、台灣泡桐種子苗、白桐種子苗、貴州種原耐病種子苗、栽植於植物園內由義大利引進的泡桐母樹、扁平地區的泡桐母樹、台大植物系的泡桐母樹等小於2 cm的幼葉，用幼葉重量5倍體積的萃取緩衝液研磨後，用濾紙沾取萃取液進行澱粉膠電泳分析。

結果與討論

一、引種與抗病檢定

試驗3.5年生的四川、貴州兩種原泡桐種子苗，由造林木中可看出抗病之強弱，調查的資料包括發生簇葉病比率、罹病株之發病枝條數與總枝條數之百分比值以及樹高與胸徑生長量等項，作為評估其耐病之能力的指標；結果顯示，貴州品種泡桐其發生簇葉病比率為40%，四川品種泡桐則為86.5%。王維洋、陳志忠(1995)利用PCR 擴增植物擬菌質體16 S核糖體核酸片段以診斷同一造林地之四川及貴州泡桐之簇葉病發病情形，結果顯示貴州種原發病率為14%，四川種原為33%。本試驗用肉眼觀察簇葉病病徵，所得的結果比用核糖體核酸片段以診斷簇葉病之病徵來的高，且高出2-3倍。PCR (polymerase chain reaction)偵測擬菌質體之16 S核糖體核酸極為敏感理應較為準確，會造成肉眼觀察簇葉病比率高於用PCR偵測的原因，可能為PCR所萃取的材料為葉部材料，若恰好沒有病原體存在就可能分析不到；本實驗在調查罹病枝時，係在冬季落葉後，罹病之叢生枝可以清楚的發現到 (Fig. 1a,b)。由Fig. 1也可以看出四川種原與貴州種原泡桐的生長勢不同，由樹高與胸徑生長結果顯示，3.5年生的貴州種原泡桐樹高11.8 m，胸徑8.9 cm，四川種原泡桐樹高7.9 m，胸徑6.2 cm。Ying (1978)調查發現泡桐發病嚴重地區，罹病之泡桐比率高達80%以上，病株快者2-3年內死亡。以此可以推斷四川

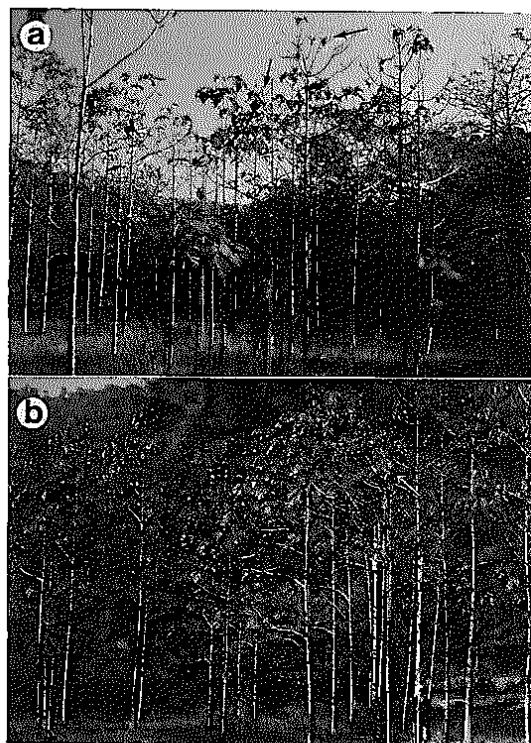


Fig. 1. Plantations of 3.5-yr-old *P. fortunei* trees with witches' broom tolerance introduced from Szechuan (a) and Kweichow Provinces (b), China. Arrows indicates witches' broom shoots infected by MLO.

品種泡桐耐病性極低，而貴州品種泡桐應有相當程度的耐病力存在。

分析兩個引進種原泡桐罹病株中，發病枝數對總枝條數的百分比值，發現貴州種原病株百分比值為17.25%，而四川種原則為46.42%。可以進一步由Fig. 2中看出各病株的發病枝條比率。四川種原之耐病能力比貴州種原差，許多的病株幾乎所有的枝條都出現簇葉病徵(Fig. 2a)；貴州種原雖然罹病，但其病株之發病枝條數與總枝條數比較輕微，其病徵為局部性(Fig. 2b)。在泡桐簇葉病對樹木生長的影響方面，中國林業科學研究院泡桐組 (1978) 以簇葉病的病枝佔所有枝條的比率加以區分對樹木的直徑生長之影響，結果顯示健康樹木直徑年生長量為0.31 cm，但若簇葉病枝佔全株1/3以下者，直徑連年生長量降為0.17 cm，病枝若為全株1/3-

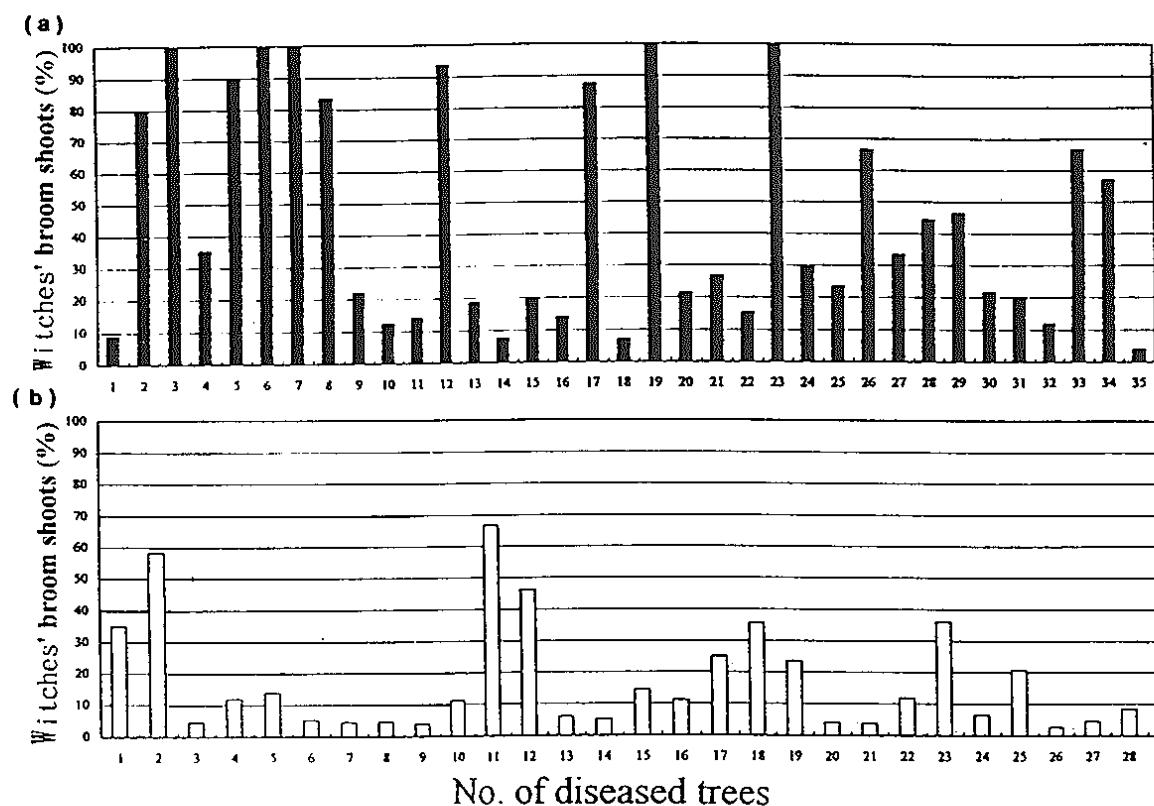


Fig. 2. Percentages of witches' broom shoots to total shoots of diseased trees of *P. fortunei* introduced from Szechuan (a) and Kweichow (b) provinces, China.

2/3者，直徑連年生長量僅為0.07 cm，當所有枝條全部是簇葉病枝者，在秋後或冬季植株就會枯死；這也說明本試區四川引種泡桐發病枝率高達近1/2，因此其胸徑生長比貴州引種泡桐少2.7 cm。

二、耐病的貴州種原泡桐與白桐雜交

貴州種原泡桐經過田間以及PCR偵測檢定結果顯示具有耐病性，取此種原泡桐花粉授粉在經過嫁接的白桐花柱頭上。雜交授粉在3月初進行，但在7月初蒴果生長尚不完全即掉落 (Fig. 3)，造成蒴果提前掉落的原因，可能為貴州種原泡桐與白桐兩者的親和性不夠，受精率低。Sweet (1973)認為松樹雌蕊花中，授粉的胚珠可能誘導生長激素的合成，促進養分輸送到胚果。如授粉不足的胚果會導致落果的發生 (Sweet and Bollman, 1970)。由於種子尚未完全

成熟，因此利用組織培養胚胎拯救 (embryo rescue) 的技術，進行無菌播種培養，結果成功的獲得到12株雜交苗。

三、同功酶分析

同功酶的遺傳乃遵守孟德爾遺傳法則，在遺傳分析上是一項很好的工具，林木控制授粉後，子代的遺傳分析研究，可以經由同功酶加以調查，同時研究遺傳的形式與連鎖、地理的變異與族群遺傳以及生物的親緣系統 (楊政川，1981)。雜交蒴果經胚胎拯救後，在 MS 培養基發芽成苗共12株，經由剪取頂芽與莖段的繼代培養來增殖此12株的分株數量，再移植到盆鉢培育成苗，取葉片進行同功酶分析，以其母本白桐，父本貴州種原泡桐為對照，另外再取台灣泡桐種子苗，台灣原生泡桐母樹 (扇平及台大植物系各一株) 以及義大利引進的泡



Fig. 3. Capsules of *P. kawakamii* x *P. fortunei* after controlled pollination for 4 mo..

桐為比較對象，進行SKDH與GOT同功酶分析。SKDH同功酶圖譜的結果與Lin and Wang (1991) 及 Finkeldey (1992) 試驗結果一致，係由單一基因座 (gene locus) 同型結合的 (homozygous) 泡桐A1A1與白桐A2A2的等位基因 (alleles) 所控制。所有的泡桐除義大利引種泡桐外都有A1的等位基因，而白桐與義大利引種泡桐含有A2等位基因，所以本試驗的雜交種與台灣泡桐就擁有2條白桐與泡桐異型結合的 (heterozygous) 等位基因A1A2 (Figs. 4a,5a)。由於義大利引種泡桐的SKDH同功酶圖譜完全異於參試的泡桐，加上其花朵與蒴果均小於泡桐，因此此一樹種當非泡桐 (*P. fortunei*)，至於屬於泡桐屬的哪一種則有待進一步鑑定。

GOT同功酶圖譜則與前人研究有些異同，本試驗GOT圖譜中白桐與原生泡桐之酶帶移動位置與Finkeldey (1992) 的結果一致，因此採用Finkeldey的酶帶標誌，白桐有3條酶帶，分別

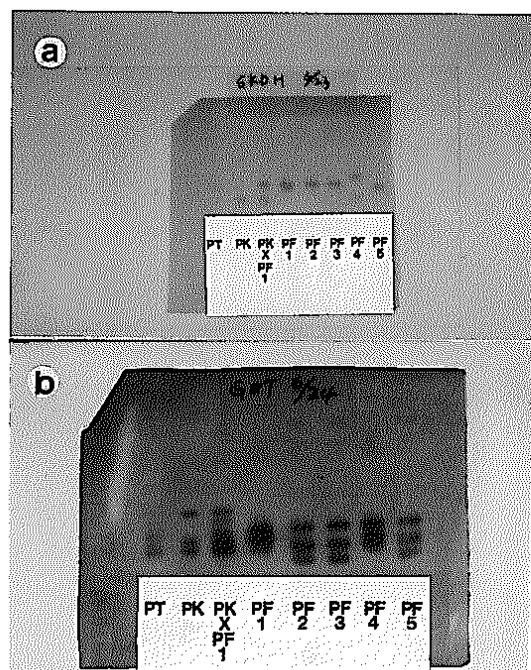


Fig. 4. Starch gel of SKDH (a) and GOT (b) zymograms of *Paulownia* species. PT: offsprings of *P. taiwaniana*, PK: *P. kawakamii*, PK x PF1: hybrids of *P. kawakamii* x *P. fortunei* from Kweichow, and PF1~5: *P. fortunei* trees from different sources, 1: trees introduced from Kweichow, 2: a native tree from San-pin, Taiwan, 3: a native tree from Taiwan Univ., 4: a tree introduced from Italy, 5: offsprings of a tree grown at San-pin.

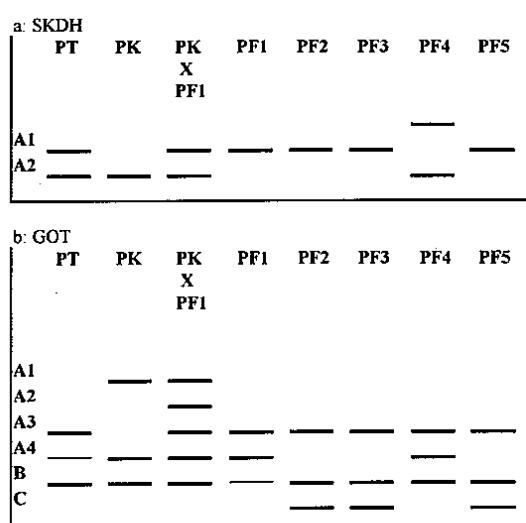


Fig. 5. Zymograms of SKDH (a) and GOT (b) drawn from the picture of Fig. 4.

位在A1、A4、B的位置，但 Lin and Wang (1991) 則僅有2條酶帶，他們的分析少了A4這一條，至於原生的泡桐包括扇平 (PF2)、台大植物系 (PF3) 與扇平泡桐後裔苗 (PF5)，則本試驗與前人二篇報告一致均有A3、B、C等3條酶帶，由於扇平僅有一株母樹，雖然附近有台灣泡桐，但扇平泡桐後裔苗的GOT同功酶圖譜與母本呈現一致性，故本試驗結果認同Finkeldey的看法，即此後裔苗應係自交產生的。雜交苗的GOT 同功酶圖譜，前人研究台灣泡桐雜交種第一代 (F1) 發現均擁有分別來自白桐與泡桐的酶帶並多出父母本未出現的A2這一條酶帶，故 Finkeldey 的試驗有6條酶帶，而 Lin and Wang 因少白桐的A4酶帶而為5條酶帶，至於本試驗12 株雜交苗均呈現一致的圖譜，含有5條酶帶，分別獲致父母本的4條酶帶，同樣外加A2酶帶 (PK x PF1)，由於父本貴州引種泡桐雖如同原生泡桐有3條酶帶，但除了A3與B酶帶一樣外，多了一條與白桐一樣的A4酶帶但沒有C酶帶，故本試驗的雜交苗即未含此一酶帶，這也是本試驗雜交苗與台灣泡桐F1代的不同處，同時此一差異也顯示GOT同功酶圖譜可以用來辨別引種泡桐與原生泡桐，唯引種泡桐與義大利引種泡桐 (PF4) 因有相同的酶帶而無法辨別。Lin and Wang 與 Finkeldey 的報告中除了分析台灣泡桐第一代雜交苗的GOT同功酶圖譜外，尚分析台灣泡桐後裔苗同功酶帶分離的情形，依照孟德爾遺傳法則分析的分離率，Finkeldey解釋雜交種圖譜中A1及A3 兩帶 (Figs. 4,5b) 是由含2個等位基因的單一基因座所轉錄出來含雙聚體酶 (dimeric enzyme，即GOT-A)所產生的，而B 與C 2帶 (Figs. 4,5b) 則是由2個基因座所控制 (GOT-B,C)。GOT-B在所有的泡桐種間與種內均有，沒有什麼變異；但GOT-C則隨樹種而異。而 Lin and Wang 基本上所劃分的部位與 Finkeldey 相似，都分成3個部位，但解釋則有不同，他們認為C部位呈現2個變異，分別是C 與1個無效等位基因 (null allele); B部位僅表現1條B帶，但因較粗，所以可能含有多於1個的等

位基因。A部位含有2個等位基因型A1與A3，從雜交種後裔苗的分配比例，A1與A3係一獨立的2基因座，並非如 Finkeldey 所認為只有一個基因座。由於二者均有雜交種後裔苗分離率的計算作為基礎，而本試驗的分析僅及於雜交苗的第一代，故無法對二者的說法有所註解。不過本試驗所用的台灣泡桐為其後裔苗而非第一代雜交苗，故其GOT酶圖譜並未呈現如第一代雜交苗的6或5條，而僅呈現A3、A4與B等3條，此一圖譜可以在Lin and Wang報告中的台灣泡桐後裔苗找到同樣的圖譜，顯示雜交後裔苗GOT 同功酶確呈分離的情形。

四、結論

依據前人的研究 (Finkeldey, 1992; Lin and Wang, 1991; Wang et al., 1992) 證明台灣泡桐為白桐x泡桐的雜交優勢種，本試驗將已證實具有耐簇葉病的貴州引種泡桐當父本，原生白桐當母本進行種間雜交，獲得了12株雜交苗。利用 SKDH與GOT同功酶分析證實確為二者的雜交種，這些雜交苗已達30 cm 苗高，將栽植到田間檢驗其耐病與生長表現，希望育出具有耐簇葉病並保有原台灣泡桐的優越性狀的雜交苗。

本試驗並發現引種泡桐與原生泡桐的GOT 同功酶圖譜有差異，故可用以辨別此二不同種原的泡桐。同時因義大利引種泡桐的SKDH同功酶圖譜與貴州引種與原生泡桐有顯著差異，證明當非泡桐 (*P. fortunei*)而為泡桐屬的其他種。

引用文獻

- 王維洋、陳志忠。1995。利用 PCR 擴增植物
菌質體 16S 核糖體核酸片段以診斷泡桐簇
葉病。林業試驗所研究報告季刊 10(3):
341-352。
- 中國林業科學院泡桐組。1978。泡桐研究。中
國林業出版社。266 頁。
- 林文鎮。1979。台灣泡桐之造林研究。國立中
興大學農學院研究報告第 178 號。228 頁。
- 彭國棟。1978。台灣泡桐育林成敗原因之探

- 討。台灣大學森林學研究所碩士論文。145頁。
- 楊政川。1981。同位酵素之電泳分析與林木遺傳改良。林木遺傳育種研討會論文集。59-79頁。
- 蘇鴻基、蔡麗杏。1983。泡桐屬對簇葉病之抗病性研究。中華林學季刊 16(2): 187-202。
- 劉業經、呂福原、歐辰雄。1994。台灣樹木誌。國立中興大學農學院叢書。925頁。
- Brewbaker, J. L., and B. H. Kwack.** 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. J. Bot. 50: 859-865.
- Chang, Y. C., J. H. Su, and R. Y. Wu.** 1978. Preliminary study on *Paulownia* witches' broom in Taiwan. ROC-US Cooperative Seminar on Mycoplasma Diseases of Plants. Mar. 27-31. NSC, Taipei, pp.127-137.
- Cheliak, W. A., and J. A. Pitel.** 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Peterborough Nat. For. Inst., Can. For. Serv. pp.19-45.
- Feret, P. P.** 1971. Isozyme variation in *Picea glauca* (Moench) Voss seedlings. Silvae Genetica 20: 46-50.
- Finkeldey, R.** 1992. Inheritance of isozyme phenotypes of native *Paulownia* spp. in Taiwan. J. Heredity 83(2): 140-143.
- Lin, T. P., and Y. S. Wang.** 1991. *Paulownia taiwaniana*, a hybrid between *P. fortunei* and *P. kawakamii* (Scrophulariaceae). Plant System. Evol. 178: 259-269.
- MacDicken, K. G.** 1988. *Paulownia* research succeeds in China. Farm For. News, F/FR-ED. 2(3): 3-4.
- Murashige, T., and F. Skoog.** 1962. A review medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-488.
- Sweet, G. G.** 1973. Shedding of reproductive structures in forest trees. Pages 341-382 in T. T. Kozlowski, ed. *Shedding of plant parts*. Academic Press, New York.
- Sweet, G. B., and M. P. Bollman.** 1970. Investigations into the causes of conelets drop in *Pinus radiata* in New Zealand. N. Z. For. Serv. Reprint No. 439.
- Wang, W. Y., R. C. Pai, and T. P. Lin.** 1992. Inheritance of chloroplast genome in the genus *Paulownia* in Taiwan. Pages 119-123 in *The impact of biological research on agricultural productivity*. Proc. of the SABRAO Int. Sym., Taichung District Agr. Imp. Station, Taiwan.
- Ying, S. L.** 1978. Witches'-broom disease of *Paulownia* (*P. taiwaniana* Hu et Chang) in Taiwan. ROC-US Cooperative Seminar on Mycoplasma Diseases of Plants. Mar. 27-31. NSC, Taipei, pp.161-168.
- Yuan, T. L.** 1984. Some studies on witches' broom disease of *Paulownia* in China. Int. J. Trop. Plant Diseases 2(2):181-190.
- Zhu, Z. H., C. J. Chao, X. Y. Lu, and X. Y. Gao.** 1986. *Paulownia* in China: Cultivation and Utilization. Asian Network for Biological Sciences and International Development Research Centre, 65 pp.