

研究報告

臺灣高山木本植物臺灣小檗、阿里山十大功勞 和阿里山忍冬種子休眠與發芽

陳舜英^{1,4)} 蔡仔涵²⁾ 蘇信瑋²⁾ 簡慶德³⁾

摘 要

對於臺灣高山木本植物的繁殖而言，溫度和水分供應是影響種子休眠和發芽的主要因子。本文旨在探討高山木本植物小檗科小檗屬臺灣小檗、十大功勞屬阿里山十大功勞，以及忍冬科忍冬屬阿里山忍冬等種子的發芽與休眠，並瞭解臺灣小檗和阿里山十大功勞種子的儲藏性質，以提供植物繁殖資訊。研究結果顯示，臺灣小檗和阿里山十大功勞種子發芽容易，胚在種子成熟時即發育完整，發芽溫度愈高，發芽速度愈快，種子沒有休眠性。阿里山忍冬種子在播種後第4週才開始發芽，發芽速度緩慢，種子發芽率達到50%的天數，依不同的發芽溫度需48~84天，且新鮮的種子胚小，有形態生理休眠。臺灣小檗和阿里山忍冬種子都可利用低溫5°C濕層積處理4~8週，以增加種子的發芽速率。臺灣小檗種子乾燥至含水率6.8%，儲藏-20°C溫度，12個月後的發芽率下降約20%，種子可能是中間型的儲藏性質。阿里山十大功勞種子乾燥後儲藏-20°C溫度12個月，結果仍可維持高發芽率，種子屬於乾儲型。臺灣小檗和阿里山忍冬種子的離層酸含量，每克乾重分別含有603.2和847.8 ng，雖然差異不顯著，但阿里山忍冬種子發芽稍微遲緩1週，可能與其胚小及離層酸濃度稍高，發芽前胚在種子內需要較長時間的生長有關。臺灣高山大部分的木本植物種子，於秋冬成熟掉落，經冬天低溫的天然層積作用，大部分種子於春天發芽。高山植物臺灣小檗、阿里山十大功勞和阿里山忍冬種子，在發芽前不需要低溫濕層積處理，或者只需短暫的低溫濕層積處理，推測氣候變遷高山溫度逐漸升高時，若年雨量不變，這些高山木本植物族群將維持一定或族群逐漸增加。

關鍵詞：離層酸、臺灣小檗、低溫濕層積處理、阿里山忍冬、阿里山十大功勞、形態休眠、形態生理休眠、種子發芽、種子儲藏性質。

陳舜英、蔡仔涵、蘇信瑋、簡慶德。2022。臺灣高山木本植物臺灣小檗、阿里山十大功勞和阿里山忍冬種子休眠與發芽。台灣林業科學37(4):295-307。

¹⁾ 林業試驗所蓮華池研究中心，55543南投縣魚池鄉五城村華龍巷43號 Lienhuachih Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, 43 Hualong Lane, Yuchi Township, Nantou County 55543, Taiwan.

²⁾ 林業試驗所育林組，10066臺北市南海路53號 Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Road, Taipei 10066, Taiwan.

³⁾ 林業試驗所育林組退休研究員，10066臺北市南海路53號 Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Road, Taipei 10066, Taiwan.

⁴⁾ 通訊作者 Corresponding author, e-mail:syichen@tfri.gov.tw

2022年4月送審 2022年10月通過 Received April 2022, Accepted October 2022.

Research paper

Seed Dormancy and Germination in the Woody Species of *Berberis kawakamii*, *Mahonia oiwakensis*, and *Lonicera acuminata* of the High Mountains of Taiwan

Shun-Ying Chen^{1,4)} Yu-Han Tsai²⁾ Hsin-Wei Su²⁾ Ching-Te Chien³⁾

【 Summary 】

At the core of woody plant regeneration in the high mountains of Taiwan, temperature and water supply are crucial drivers of seed dormancy and germination. The aim of this study was to determine seed germination in the woody species of *Berberis kawakamii*, *Mahonia oiwakensis* (Berberidaceae), and *Lonicera acuminata* (Caprifoliaceae) of the high mountains of Taiwan. In this study, we also examined the kind of dormancy these seeds exhibited and investigated seed storage behaviors of *B. kawakamii* and *M. oiwakensis* in order to provide seed propagation information. Results showed that seeds of *B. kawakamii* and *M. oiwakensis* had fully developed embryos and had completely germinated in 1 mo, and a higher incubation temperature produced a faster germination speed; thus, these seeds were judged to be non-dormant. Seeds of *L. acuminata* had small embryos and began to germinate after 3 wk of incubation, and up to 50% had germinated in 48~84 d depending on the incubation temperature. Seeds cold-stratified at 5°C for 4~8 wk had completely germinated in 1 mo, and thus seeds of *L. acuminata* were judged to have morphophysiological dormancy. Germination of seeds of *B. kawakamii* dehydrated to a 6.8% moisture content (on a fresh weight basis) and stored at -20°C for 12 months decreased by about 20%; thus, these seeds were considered to have intermediate storage behavior. Seeds of *M. oiwakensis* survived at -20°C for 12 mo without loss of germinability, and thus they were considered to exhibit orthodox storage behavior. Abscisic acid (ABA) concentrations in seeds of *B. kawakamii* and *L. acuminata* were 603.2 and 847.8 ng/g dry weight, respectively. However, seeds of *L. acuminata* germinated more slowly than those of *B. kawakamii*. The reason that the germination time of seeds of *L. acuminata* was extended might have been the underdeveloped embryo with a higher concentration of ABA. Most seeds in the high mountains of Taiwan disperse in winter, and seeds on the ground are naturally cold-stratified in winter and germinate the following spring or later. Seeds of *B. kawakamii*, *M. oiwakensis*, and *L. acuminata* germinated within 4 wk after moist cold stratification, and a higher temperature produced faster seed germination. We speculated that global warming will maintain or increase these plant populations in the high mountains of Taiwan if rainfall remains unchanged.

Key words: abscisic acid, *Berberis kawakamii*, cold stratification, *Lonicera acuminata*, *Mahonia oiwakensis*, morphological dormancy, morphophysiological dormancy, seed germination, seed storage behavior.

Chen SY, Tsai YH, Su HW, Chien CT. 2022. Seed dormancy and germination in the woody species of *Berberis kawakamii*, *Mahonia oiwakensis*, and *Lonicera acuminata* of the high mountains of Taiwan. *Taiwan J For Sci* 37(4):295-307.

緒言

根據Baskin and Baskin (2004)將種子休眠分為5大類，即形態休眠(morphological dormancy)、生理休眠(physiological dormancy)、形態生理休眠(morphophysiological dormancy)、物理休眠(physical dormancy)、組合休眠(物理+生理休眠)(combinational dormancy)。其後，在Baskin and Baskin (2014)出版的著作中，更進一步將生理休眠細分為3級，而形態生理休眠則細分為9級。此分類法的優點在於，可更清楚地區分種子的休眠性狀，以掌握解除種子休眠有效的方法。形態休眠的種子是因為種子胚小，發育不完全，但種子發芽快者可在30天完成；生理休眠的種子胚已發育完全，但種子發芽時間需30天以上；形態生理休眠的種子具有雙重休眠性，即種子胚發育不完全，且種子發芽須30天以上；物理休眠的種子是因水分無法通過種皮進入種子內，導致種子不能發芽；組合休眠的種子則是種子同時有物理休眠和生理休眠之雙重休眠性。

臺灣植物誌(Flora of Taiwan)第2版資料顯示，臺灣原生的維管束植物種類，隨著海拔升高而快速地下降，到高海拔2500 m植物約750種，海拔3100 m約400種，海拔3950 m僅餘200種左右，但特有種比例則從低海拔地區的17%升高至海拔2500 m約50%，至海拔3950 m約60%。臺灣這些生長於溫帶氣候的高海拔植物對氣候敏感，大部份植物在春季開花，秋冬季節種子成熟(Lai 2000)。但目前對於高海拔地區種子的研究，至今仍相當有限，其造成的影響是，除了限縮這些高山植物的利用外，且在與歐美等國際種子研究資訊的接軌上也因而受限。

長久以來，我們的研究團隊持續針對分布在臺灣高海拔地區，可能具休眠性的種子進行研究，也發現不少種類的種子發芽或休眠性狀，明顯與中、低海拔的種子有相當大的差異存在。例如Chien et al. (2011)研究五福花科(Adoxaceae)莢蒾屬(*Viburnum*)的樺葉莢蒾(*V. betulifolium*)和小葉莢蒾(*V. parvifolium*)種子發芽與休眠，發現在20/10°C下16~18週後，種子的胚根才開始萌發，32週後萌發率可達90%，

但在其他溫度下胚根萌發率和萌發速度皆低，或者完全不萌發；當胚根萌發後上胚軸仍須經低溫(如5°C)作用，初生葉才會突破種皮向上生長，即種子有上胚軸的形態生理休眠(epicotyl morphophysiological dormancy) (Baskin and Baskin 2014)。同樣地，生長在高海拔的臺灣蝴蝶戲珠花(*V. plicatum* var. *formosanum*)種子也需要低溫濕層積處理，才會加速發芽，但不同的是，臺灣蝴蝶戲珠花的胚根和莖部可同時萌發生長(Chen et al. 2021)。因而認為，高海拔莢蒾屬植物種子必須配合生育地的環境溫度變化，根與莖才會萌發生長。至於，其他高海拔樹種是否亦有類似的性狀，也是本研究希望瞭解探討的地方。

小檗屬植物中含有許多的天然物化學成分，例如*Berberis vulgaris*根部含有多種植物鹼(alkaloids)，具抗發炎作用(Ivanovska and Philipov 1996)，其他部位如葉、樹皮、果實等亦含有不同的植物鹼，研究發現具有抑制疼痛及腹瀉，以及做為抗凝劑、治療浮腫和壞血病等作用(Javadzadeh and Fallah 2012)。從*Berberis chilensis*萃取之bisbenzylisoquinoline植物鹼，具有降低血壓作用(Martinez et al. 1997)。而阿里山十大功勞(*Mahonia oiwakensis*)植物內主要的化學成分黃連素(berberine)與掌葉防己鹼(palmatine)，也被發現具有抗發炎作用(Liu et al. 2018)。

過去由於高海拔種子的研究相當匱乏，造成業界在植物的利用上也相對保守。因此，本研究選擇臺灣高山原生具藥用潛力的木本植物，包括小檗科(Berberidaceae)小檗屬(*Berberis*)的臺灣小檗(*B. kawakamii*)、小檗科(Berberidaceae)十大功勞屬(*Mahonia*)的阿里山十大功勞(*M. oiwakensis*)和忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬屬(*Lonicera*)的阿里山忍冬(*L. acuminata*)等種子為材料進行研究，研究的內容包括種子發芽、儲藏及種子內在植物荷爾蒙(abscisic acid; ABA)含量分析，並利用解剖顯微鏡觀察發芽過程中，種子胚部的發育情形。希望研究成果除可做為學術交流用途外，在實際應用面上，也可提供相關育種資訊，以為大

量繁殖培育臺灣原生樹種苗木之參考。

材料與方法

一、果實採集與處理

(一)臺灣小檗(*B. kawakamii*)果實於2015年11月採自合歡山的石門山、北峰、小奇萊步道等海拔約3100 m地區；(二)阿里山十大功勞(*M. oiwakensis*)果實於2016年4月採自阿里山海拔約2300 m地區；(三)阿里山忍冬(*L. acuminata*)果實於2015年11月採自合歡山北峰海拔約3100 m地區。以上採收後的果實，先以清水洗除果肉，並撈去漂浮水面的空粒種子，再將沉水種子於室內陰乾24小時後放入封口袋內封口，暫時保存在5°C備用。

二、種子發芽

本試驗使用的種子發芽介質為濕水苔(*moist sphagnum moss*)，購買的水苔使用前先用清水浸泡2小時及挑除雜質，擠乾後再用清水沖洗2次，最後將濕水苔用手擰乾，切成碎片使用。進行本試驗的種子包括臺灣小檗、阿里山十大功勞及阿里山忍冬。發芽試驗是在種子發芽箱中進行，溫度設定共5種：變溫(日溫/夜溫)30/20°C、25/15、20/10、15/5°C和定溫25°C，光照條件為每天光照12小時，另12小時無光照，24小時循環一次。發芽試驗為3重複，每重複25粒種子，將種子與濕水苔放入有封口的PE袋內，均勻混合後，分別依試驗設計放入種子發芽箱內發芽。每星期檢查紀錄一次種子發芽粒數，一發現已發芽種子即將之挑出，放入另一個封口袋內，以觀察種子是否有上胚軸休眠現象。種子平均發芽率(%)是根據胚根已突破種皮，且長度 ≥ 2 mm之發芽種子數量與發芽試驗總數量計算獲得。利用Excel軟體取得3重複種子的發芽平均值和標準誤差。種子發芽速度以 T_{50} 表示之，即種子達到50%發芽率所需的天數(Soltani et al. 2015)。

三、種子5°C低溫濕層積處理

以臺灣小檗、阿里山十大功勞及阿里山忍

冬種子，進行5°C低溫濕層積處理。將種子與濕水苔放入有封口的PE袋內，混合後放進低溫5°C冰箱中進行層積處理各4週和8週，然後分別取出進行發芽試驗，發芽溫度為25/15°C。每個處理3重複，每重複25粒種子。每週取出觀察發芽情形，並記錄之。

四、種子從5°C低溫(冬天)至25/15°C高溫(夏天)依序不同的溫度孵育之模擬試驗

為了解高山植物種子在天然環境下種子發芽情形，取臺灣小檗和阿里山十大功勞種子混合濕水苔，放入有封口的PE袋內，封口後依序放置於不同的溫度孵育，5°C (4週)→15/5°C (4週)→20/10°C (8週)→25/15°C (8週)→20/10°C (8週)→15/5°C (4週)→5°C (4週)，持續進行至種子全部發芽完畢。每個處理3重複，每重複50粒，每週觀察記錄發芽情形。以上Move-along的詳細操作方法可參考Chien et al. (2011)研究報告。

五、種子乾燥儲藏

以臺灣小檗和阿里山十大功勞新鮮種子，分別置放於室內陰乾處理2週，再置於密閉空間之過飽和鹽溶液NaCl (relative humidity (RH) 75.5%)、MgCl₂ (RH 33%)處理2週，乾燥結束後分別放置於5和-20°C儲藏1、6和12個月(臺灣小檗)，以及4、8和12個月(阿里山十大功勞)，然後取出進行發芽試驗(Vertucci and Roos 1993)。每個處理各3重複，每重複為25粒。發芽試驗孵育溫度為變溫25/15°C，每週觀察發芽情形並記錄之。

六、種子胚觀察

觀察試驗從臺灣小檗、阿里山十大功勞及阿里山忍冬種子新鮮種子開始，用刀片切開種子，然後在解剖顯微鏡下觀察胚生長情形，並用測微尺量測胚大小和拍照，每2星期觀察一次，直到胚根突破種皮為止。

七、植物荷爾蒙離層酸(abscisic acid, ABA)定量分析

取臺灣小檗和阿里山忍冬新鮮種子，經冷

凍乾燥後入-80°C 冷凍庫備用，以進行萃取、純化和定量分析，詳細方法請參考Chen et al. (2007)報告。

(一) 秤取重量約0.7克，混合砂和液態氮於研鉢內用研杵磨碎，以80% MeOH為萃取溶劑，溶液中加入內標 [$^2\text{H}_6$]ABA，並加入抗氧化劑0.4 mg butylated hydroxytoluene[?]和2 mg ascorbic acid 後置4°C過夜，然後以高速離心機獲得萃取液，離心後的沈澱物再以80% MeOH萃取一次，將二次的萃取液混合以氮氣吹掉MeOH和水。

(二) Partitioning：上述樣品中加入30% MeOH，用pH 8.5的K-Pi buffer調整至pH 8.0，再加入等量EtOAc，充分混合後將上層液抽出丟棄，重覆3次；下層液再用K-Pi buffer溶液pH 3.0，加入EtOAc後充分混合，此時取上層液，重覆3次；上層溶液置入真空離心乾燥機(Thermo Savant, USA)濃縮乾燥。

(三) ODS column：上述乾燥樣品先溶解在pH 3.0的0.05 M K-Pi buffer，然後通過ODS層析管柱(Lichrorep RP₁₈, Merck, Germany)，收集的樣品濃縮後再用high-performance liquid chromatography (HPLC; Beckman, USA)分離ABA。

(四) 含ABA樣品加diazomethane進行甲基化作用，再加pyridine及BSTFA-TMCS進行矽化作用。衍生化後的ABA樣品，使用GC-MS-SIM氣相層析質譜儀(HP 5790A GC and 5970b MSD)定量。分析試驗至少重覆3次，所得ABA濃度以ng g⁻¹ DW表示，dry weight (DW)為種子乾重量。

八、統計分析

本試驗各處理間之觀測值為種子發芽率(%)資料，且因數值介於0~100%之間，故先依據Bliss表格將百分比轉換為角度值，即角度轉換

(angular transformation) (Shen, 1993)，再將數據載入SAS Enterprise Guide 7.1後，採用一般線性模型(general linear model)進行分析；當各處理因子達顯著差異時，再以費雪最小顯著差異性(Fisher's least significant difference (LSD) test)進行判別($p < 0.05$)。繪圖軟體採用Sigma Plot 10.0。

結果

一、溫度對種子發芽之效應

(一) 臺灣小槩種子每公升約48,000粒，種子置放在變溫30/20、25/15、20/10、15/5°C和定溫25°C溫度下，28天後大部分的發芽率(germination percentage)皆可達90%以上，唯15/5°C稍低溫度下，需34天後才能達到50% (T_{50}) (Table 1)，並需56天後才能達到90%。試驗發現，溫度愈高發芽速度(germination speed)愈快，因此高海拔3100 m採集的臺灣小槩種子，根據Baskin and Baskin (2014)的種子休眠分類系統是沒有休眠性。

(二) 阿里山十大功勞種子每公升約59,800粒，種子置放在30/20、25/15、20/10、15/5°C和25°C溫度下，28天後的發芽率皆可達90%以上，且溫度愈高發芽速度愈快，唯在15/5°C下36天後才能達到50% (T_{50}) (Table 1)，且42天後才能達到90%，顯示阿里山十大功勞種子根據Baskin and Baskin (2014)的種子休眠分類系統是沒有休眠性。

(三) 阿里山忍冬種子每公升約161,250粒，種子以在30/20、25/15和20/10°C溫度的發芽率最高，分別為81.3、86.7和85.3%，發芽率達50%的天數分別為60天、48天和70天(Table 1)，顯示阿里山忍冬種子根據Baskin and Baskin (2014)的種子休眠分類系統是有休眠性。

Table 1. Germination percentages (%) of seeds of *Berberis kawakamii*, *Mahonia oiwakensis*, and *Lonicera acuminata* at 5 incubation temperatures. Numbers in parentheses are days to 50% germination (T_{50})

Species	No. seeds/L	Germination temp. (°C)				
		30/20	25/15	20/10	15/5	25
<i>Berberis kawakamii</i>	48,000	94.7 ^{a1)} (11)	90.7 ^a (13)	97.3 ^a (13)	96.0 ^a (34)	96.0 ^a (11)
<i>Mahonia oiwakensis</i>	59,800	85.3 ^b (14)	93.3 ^{ab} (13)	97.3 ^a (18)	96.0 ^a (36)	87.3 ^b (15)
<i>Lonicera acuminata</i>	161,250	81.3 ^a (60)	86.7 ^a (48)	85.3 ^a (70)	48.0 ^b	48.0 ^b

¹⁾ Means ($n = 3$) with the same lowercase letter in a column do not significantly differ (by the least significant difference test, $\alpha = 0.05$).

二、低溫5°C濕層積處理對種子發芽速度之效應

臺灣小檗和阿里山十大功勞種子，經5°C低溫濕層積處理4週，取出後放入變溫25/15°C發芽，1週後種子發芽率分別為37和54%，2週後發芽率可達90和89%；5°C層積處理8週之發芽速度更快，1週後發芽率分別達80和80%，2週後達到最高發芽率95和90% (Fig. 1A, B)。因此，5°C低溫層積處理能加速臺灣小檗和阿里山十大功勞種子發芽，研究中也發現，低溫層積時間若超過8週，例如層積12週，則部分種子已在低溫下發芽。

阿里山忍冬種子先經5°C低溫濕層積4週，然後取出發芽，在第2週即開始發芽，3週後發芽率達29%，6週後發芽率63%，12週後發芽率72%，19週後達最高發芽率80%；種子經5°C低溫濕層積8週者，1週後發芽率為27%，4週後發芽率高達75% (Fig. 1C)。因此認為，阿里山忍冬種子經5°C濕層積處理，可有效促進發芽，且層積時間愈久發芽速度愈快。

三、從5°C低溫(冬天)至25/15°C高溫(夏天)依序不同的溫度處理對種子發芽之效應

臺灣小檗種子在5°C低溫下不發芽，當種子從5°C移到15/5°C後種子開始發芽，發芽率迅速上升至72%，接著將剩餘未發芽的種子移到20/10°C溫度，1星期後發芽率達到最高95% (Fig. 2A)。同樣地，阿里山十大功勞種子在5°C低溫下不發芽，種子移到15/5°C後開始發芽，發芽率38%，移到20/10°C後發芽率達到最高96% (Fig. 2B)。由此試驗結果推估，臺灣小檗和阿里山十大功勞成熟果實於冬天掉落林地

後，若環境狀況適宜，將可於隔年春天氣溫回升後開始發芽。

四、乾燥儲藏對種子之發芽效應

臺灣小檗種子乾燥至含水率6.8%，然後儲藏5°C，12個月後的種子發芽率88.0%；儲藏-20°C，12個月後的種子發芽率降至70.7% (Table 2)，故認為臺灣小檗種子是中間型的儲藏性質(intermediate storage behavior)。

阿里山十大功勞種子乾燥至含水率4.1和6.8%，然後儲藏5°C，12個月後的種子發芽率分別維持在91.0和92.0%；儲藏-20°C，12個月後的種子發芽率分別為84.7和83.3%，與5°C比較，統計上無顯著差異(Table 3)，故認為阿里山十大功勞種子是屬於乾儲型的儲藏性質(orthodox storage behavior)。

五、種子胚發育觀察

分別使用解剖顯微鏡觀察臺灣小檗、阿里山十大功勞和阿里山忍冬等新鮮種子之胚部。觀察結果發現，臺灣小檗和阿里山十大功勞的新鮮成熟種子，其胚部已發育完全(Fig. 3A, C)，與正在發芽的種子胚(Fig. 3B, D)相互比較，二者大小差異不大，顯示臺灣小檗和阿里山十大功勞的種子沒有形態休眠。同樣地，用解剖顯微鏡觀察阿里山忍冬種子，發現新鮮成熟種子有胚小，發育不完全的現象(Fig. 3E)，當胚根突破種皮發芽時，胚已在種子內長大(Fig. 3F)，顯示阿里山忍冬植物種子有形態休眠(morphological dormancy)。

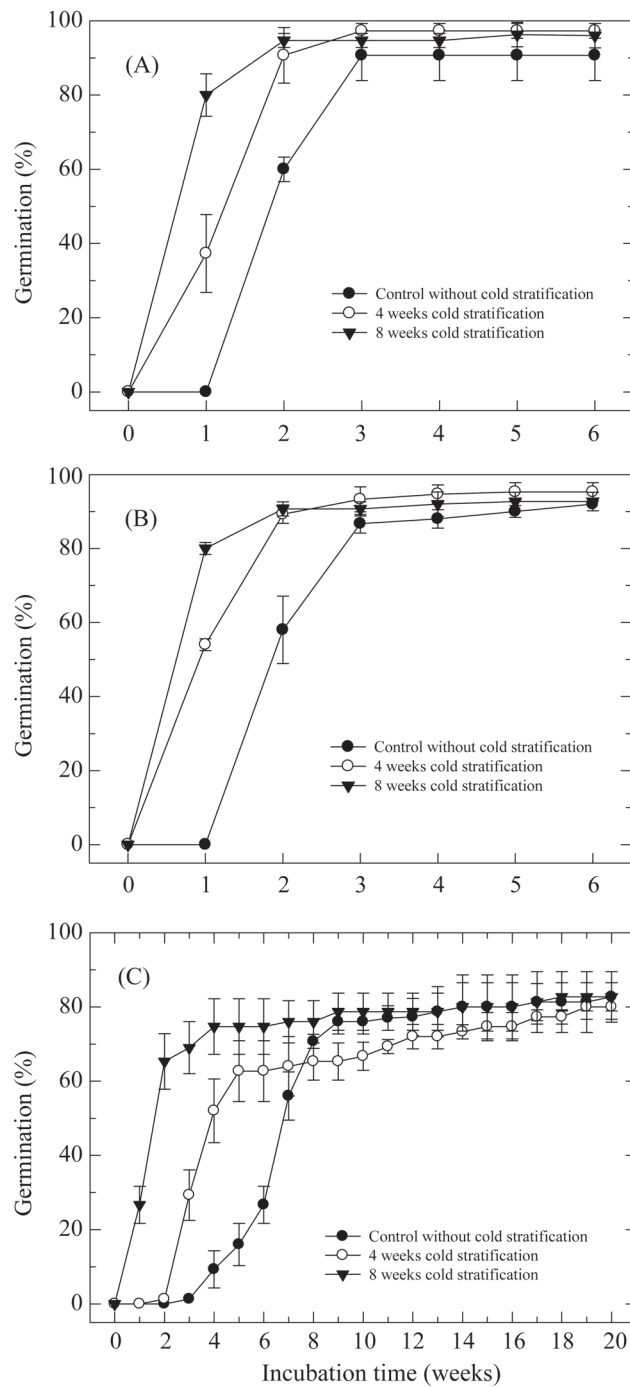


Fig. 1. Effect of moist cold stratification at 5°C on seed germination of *Berberis kawakamii* (A), *Mahonia oiwakensis* (B), and *Lonicera acuminata* (C). Incubation temperatures after moist cold stratification were 25/15°C. Error bars are ± standard error.

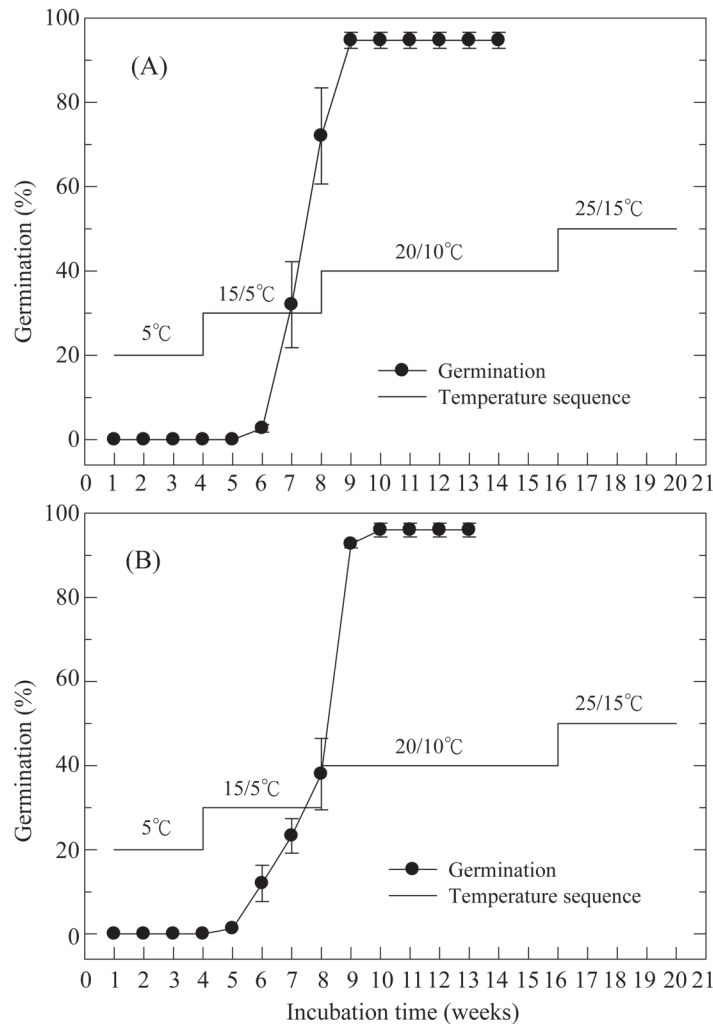


Fig. 2. Cumulative germination of seeds of *Berberis kawakamii* (A) and *Mahonia oiwakensis* (B) incubated under a temperature sequence beginning at 5°C. Error bars are \pm standard error.

六、種子和果肉之離層酸(ABA)含量

臺灣小檗種子每公克乾重(g DW)之ABA含量603.2 ng，果肉每公克乾重之ABA含量2451.2 ng；阿里山忍冬種子每公克乾重之ABA含量847.8 ng，果肉每公克乾重之ABA含量98.4 ng (Table 4)。臺灣小檗種子的ABA含量顯著低於果肉ABA含量約4倍，而阿里山忍冬正好相反，種子的ABA含量極顯著高於果肉ABA含量約8.6倍。而比較臺灣小檗和阿里山忍冬種子ABA含量，它們之間則沒有顯著差異。

討論

小檗屬之物種豐富度是小檗科植物中最高的，在北半球從喜馬拉雅山、中國大陸至臺灣，超過200多個分類群，而南半球多樣性中心則在安地斯山脈，孕育了將近100個分類群 (Chung and Yu 2015)。本研究發現，臺灣原生小檗屬的臺灣小檗和十大功勞屬的阿里山十大功勞種子都很容易發芽，發芽率高，沒有休眠性，且低溫5°C濕層積處理能加速種子發芽。大部分小檗屬植物皆生長在臺灣中、高海拔，可

Table 2. Effect of moisture contents (MCs), storage temperatures, and time (mo) on germination percentages (%) of *Berberis kawakamii* seeds

MCs (%) ¹⁾	5°C			-20°C
	1 mo	6 mo	12 mo	12 mo
14.3	94.7 ± 1.9 ^{aA,2,3)}	89.3 ± 3.8 ^{aA}	88.0 ± 3.3 ^{aA}	—
12.4	98.7 ± 0.5 ^{aA}	93.3 ± 1.9 ^{aA}	89.3 ± 1.9 ^{aA}	—
6.8	96.0 ± 3.7 ^{aA}	96.0 ± 3.3 ^{aA}	88.0 ± 3.3 ^{aA}	70.7 ± 16.1 ^B

¹⁾ Seeds were dried at room temperature and 2 relative humidities (RHs) maintained with saturated salt solutions of NaCl (RH 75.5%) and MgCl₂ (RH 33%) in closed (air-tight) containers at 15°C for 14 d, and the MC of the seeds was allowed to reach equilibrium with the RH of the inside air.

²⁾ Means ($n = 3$) with the same lowercase letter in a column do not significantly differ (by the least significant difference (LSD) test, $\alpha = 0.05$).

³⁾ Means ($n = 3$) with the same uppercase letter for a given MC do not significantly differ (by the LSD test, $\alpha = 0.05$).

⁴⁾ Seeds were incubated at 25/15°C after storage. The MC of fresh seeds was 35.3%, and maximum germination was 90.7% at 25/15°C.

Table 3. Effect of moisture contents (MCs), storage temperatures, and time (mo) on germination percentages (%) of *Mahonia oiwakensis* seeds

MCs (%) ¹⁾	5°C			-20°C		
	4 mo	8 mo	12 mo	4 mo	8 mo	12 mo
16.4	84.0 ± 1.5 ^{bA,2,3)}	85.3 ± 1.9 ^{aA}	83.3 ± 8.1 ^{aA}	90.7 ± 0.9 ^{bA}	90.7 ± 1.9 ^{aA}	87.3 ± 5.2 ^{aA}
6.8	90.0 ± 4.3 ^{abAB}	85.3 ± 2.5 ^{aAB}	92.0 ± 5.9 ^{aA}	94.7 ± 1.9 ^{aA}	81.3 ± 1.9 ^{bb}	83.3 ± 6.2 ^{aAB}
4.1	93.3 ± 0.9 ^{aA}	82.0 ± 14.2 ^{aA}	91.0 ± 4.1 ^{aA}	84.7 ± 0.9 ^{cA}	82.0 ± 5.9 ^{bA}	84.7 ± 8.4 ^{aA}

¹⁾ Seeds were dried at room temperature and two relative humidities (RHs) maintained with saturated salt solutions of NaCl (RH 75.5%) and MgCl₂ (RH 33%) in closed (air-tight) containers at 15°C for 14 d, and the MC of the seeds was allowed to reach equilibrium with the RH of the inside air.

²⁾ Means ($n = 3$) with the same lowercase letter in a column do not significantly differ (by the least significant difference (LSD) test, $\alpha = 0.05$).

³⁾ Means ($n = 3$) with the same uppercase letter for a given MC do not significantly differ (by the LSD test, $\alpha = 0.05$).

⁴⁾ Seeds were incubated at 25/15°C after storage. The MC of fresh seeds was 46.0%, and maximum germination was 93.3% at 25/15°C.

至3000 m以上山區，冬天溫度低，種子不可能發芽，必須等到春天氣溫回升後，胚根才會突破種皮發芽。此冬天的低溫時間正好給予種子在林地上進行層積作用，以便在初春時快速發芽。Baskin and Baskin (1993)研究美國猶他州(Utah)小檗科十大功勞屬*Mahonia fremontii*種子，7月下旬成熟採收，種子有已發育完全胚，呈匙形狀(spatulate embryo)，但必須經6~10週5/1°C(日溫/夜溫)的低溫濕層積處理，才能解除

種子休眠，具有生理休眠。本研究發現，臺灣小檗和阿里山十大功勞種子，同樣的有發育完全的匙形胚(Fig. 3)，但種子則沒有休眠性，此現象在太魯閣小檗(*B. tarokoensis*)的種子研究中亦有相同的發現(研究資料尚未發表)。

忍冬屬為忍冬科木質藤本植物，漿果球形至卵圓形。臺灣忍冬屬植物約有7種，大部分生長在中高海拔地區，果熟期10~11月，其中僅忍冬(金銀花)生長在臺灣中、低海拔林

Table 4. Abscisic acid (ABA) contents of seeds of *Berberis kawakamii* and *Lonicera acuminata*

Species		ABA (ng/g DW)
<i>Berberis kawakamii</i>	pulp	2451.2 ± 110.1 ^a
	seeds	603.2 ± 112.0 ^b
<i>Lonicera acuminata</i>	pulp	98.4 ± 16.3 ^c
	seeds	847.8 ± 205.0 ^b

¹⁾ Means (n = 3) with the same letter do not significantly differ (by the least significant test, $\alpha = 0.05$).

DW, dry weight.

緣灌叢中，以及西部海岸丘陵地區(Yang and Chiu 1998)。忍冬屬植物種子普遍有胚小，發育不完全的狀況，胚必須在種子內繼續生長到一定的長度大小後，胚根才會突破種皮發芽，此稱為形態休眠(morphological dormancy) (Baskin and Baskin 2014)。忍冬屬植物除了忍冬(*L. japonica*)種子發芽速度快，只有形態休眠，沒有生理休眠(研究資料尚未發表)，其他如本研究中的阿里山忍冬，或是大花忍冬(研究資料尚未發表)等種子發芽速度稍慢，需要2個月以上才能發芽完畢，根據Baskin and Baskin (2014)的休眠分類系統，是具有形態生理休眠(morphophysiological dormancy)。然而，當胚根突破種皮後，上胚軸初生葉也開始伸出種皮，沒有上胚軸休眠的問題。因此，大部分生長在高山的忍冬屬植物有淺度的形態生理休眠(nondeep morphophysiological dormancy)。Hidayati (2000)研究美國的忍冬屬種子，也發現大部分種子都具有形態生理休眠。

休眠的種子與植物荷爾蒙離層酸(abscisic acid, ABA)關係密切，即離層酸ABA能抑制種子發芽(Chien et al. 1998, Chen et al. 2007, 2008, 2010)。經分析研究臺灣小檗和阿里山忍冬種子ABA含量，雖沒有顯著差異，但阿里山忍冬種子發芽時間稍長，有可能是阿里山忍冬種子除了胚小需要時間生長外，其種子ABA含量有稍微多些，每克乾重含有847ng (Table 4)，導致種子發芽緩慢。此外，臺灣小檗新鮮果肉中的ABA含量，遠比整粒種子ABA總含量高達4倍，此現象在Chen et al. (2007)的山櫻花(*Prunus campanulata*)研究中亦有相同發現。一般而言，具有休眠性的種子在成熟乾燥過程中，果實中的ABA含量大多會有增加的

現象，其生態上的主要意義，應是避免種子尚留存於母體時就開始發芽，即所謂vivipary現象(Hendrix and Radin 1984, Smith and Fong 1993)，也就是經由ABA的作用，可幫助種子繼續維持在休眠的狀態(Berry and Bewley 1992, Bewley 1997)。

冬天低溫時期是高山植物天然解除種子休眠最佳的時機，本研究發現分布高山地區的臺灣小檗、阿里山十大功勞和阿里山忍冬的種子，經5°C低溫層積處理後都能迅速發芽，且模擬從冬天至夏天試驗，顯示種子在初春15/5°C時開始發芽，且在一個月內發芽率達90%以上。換言之，高山的冬天氣溫低，種子不會發芽，但經天然的低溫層積作用，有休眠性的種子將被解除。故而推測在高山天然環境裡，臺灣小檗、阿里山十大功勞和阿里山忍冬在冬季果實成熟後掉落林內，慢慢地果肉乾裂，或者被土壤微生物分解，且離層酸ABA濃度也會時間推移而下降等因素，加上天然氣候的低溫層積效果，種子很快的可在初春氣溫回升後發芽。如果春天水分不足，種子不發芽，則將延後待降雨時機來臨才會發芽。

同樣地，生長在合歡山的臺灣冷杉(*Abies kawakamii*)種子，溫度愈高，發芽速度愈快(Wang and Chien 2016)；巒大花楸(*Sorbus randaiensis*)種子經5°C低溫層積後加速發芽(Chen 2011)。這類生長在高海拔3000m或以上的植物，包括小檗屬、十大功勞屬和忍冬屬，不管種子有無休眠性，推測將會在隔年春天氣溫回升後發芽。

整體而言，生長在臺灣高山上的植物族群數量，將隨著全球暖化逐漸改變，這類有、無休眠的木本植物種子，冬季落果後將在隔年氣

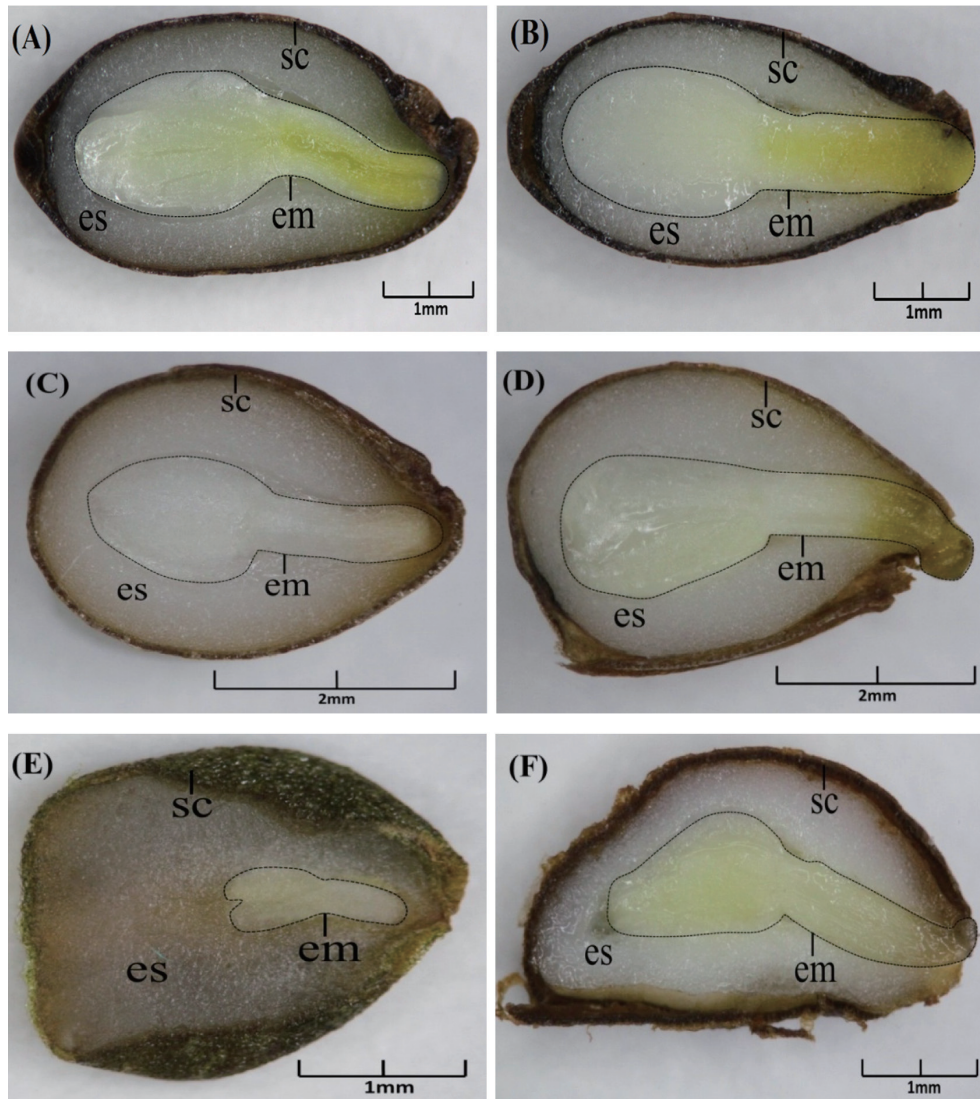


Fig. 3. Embryo observation in seeds of *Berberis kawakamii* (A, B), *Mahonia oiwakensis* (C, D), and *Lonicera acuminata* (E, F). Embryos of fresh seeds (A, C, E) and fully grown embryos (B, D, F) are shown. Pulp was removed. em, embryo; es, endosperm; sc, seed coat.

溫回升，濕度足夠時發芽，其族群不會因暖化而消失，推測將維持一定或慢慢地增加。

結論

臺灣小檗和阿里山十大功勞種子均容易發芽，可在30天內發芽完畢，且種子胚在果實成熟時已發育完全，沒有休眠性。阿里山忍冬種

子，播種後發芽時間超過30天，且新鮮種子胚小，當種子發芽前，胚會在種子內長大，有形態生理休眠。阿里山十大功勞種子乾燥密封儲藏5和-20℃，12個月後種子仍可保持很高的發芽率，種子是屬於乾儲型的儲藏性質；但臺灣小檗種子乾燥儲藏-20℃溫度12個月，種子發芽率下降20%，可能是中間型的儲藏性質。

謝誌

作者們感謝王玉婷、廖淑女、吳濟琛、張益瑞、陳彥甫在實驗工作上的協助。本研究承蒙國家科學及技術委員會104-107年度委託之專題研究計畫(MOST 104-2313-B-054-002-MY3)經費補助。

引用文獻

- Baskin CC, Baskin JM, Meyer SE. 1993.** Seed dormancy in the Colorado Plateau shrub *Mahonia fremontii* (Berberidaceae) and its ecological and evolutionary implications. *SW Nat* 38:91-9.
- Baskin CC, Baskin JM 2014.** Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. (2nd ed). San Diego, CA: Academic Press/Elsevier.
- Baskin JM, Baskin CC. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Sci Res* 14:1-16.
- Berry T, Bewley JD. 1992.** A role for the surrounding fruit tissues in preventing germination of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. A consideration of the osmotic environment and abscisic acid. *Plant Physiol* 100:951-7.
- Bewley JD. 1997.** Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9:1055-66.
- Chen SY. 2011.** Germination and dormancy of seeds from the high mountains in Taiwan. *For Res Newsl* 18(6):23-7. [in Chinese].
- Chen SY, Chien CT, Baskin JM, Baskin CC. 2010.** Storage behavior and change in concentrations of abscisic acid and gibberellins during dormancy break and germination in seeds of *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* (Rutaceae). *Tree Physiol* 30:275-84.
- Chen SY, Chien CT, Chung JD, Yang YS, Kuo SR. 2007.** Dormancy-break and germination in seeds of *Prunus campanulata* (Rosaceae): role of covering layers and changes in concentration of abscisic acid and gibberellins. *Seed Sci Res* 17:21-32.
- Chen SY, Kuo SR, Chien CT. 2008.** Roles of gibberellins and abscisic acid in dormancy and germination of red bayberry (*Myrica rubra*) seeds. *Tree Physiol* 28:1431-9.
- Chen SY, Liu CP, Baskin CC, Chien CT. 2021.** Deep complex morphophysiological dormancy in seeds of *Viburnum plicatum* var. *formosanum* (Adoxaceae) from subtropical mountains. *Seed Sci Res* 31:236-42.
- Chien CT, Chen SY, Tsai CC, Baskin JM, Baskin CC, Kuo-Huang LL. 2011.** Deep simple epicotyl morphophysiological dormancy in seeds of two *Viburnum* species, with special reference to shoot growth and development inside the seed. *Ann Bot* 108:13-22.
- Chien CT, Kuo-Huang LL, Lin TP. 1998.** Changes in ultrastructure, abscisic acid level, and response to applied gibberellins in *Taxus mairei* seeds treated by warm and cold stratification. *Ann Bot* 81:41-7.
- Chung KF, Yu CC. 2015.** The section Wallichianae of the genus *Berberis*, an extraordinary case of evolutionary radiation and high endemism of plant species in Taiwan. *Nat Conserv Q* 90:52-67.
- Fang JW. 2005.** Study on quantitative analysis of active component chlorogenic acid in *Lonicera* flowers [Master's thesis]. Taichung, Taiwan: College of Pharmacy, China Medical Univ.
- Hendrix DL, Radin JW. 1984.** Seed development in cotton: feasibility of a hormonal role for abscisic acid in controlling vivipary. *J Plant Physiol* 117(3):211-21.
- Hidayati SN, Baskin JM, Baskin CC. 2000.** Dormancy-breaking and germination requirements of seeds of four *Lonicera* species (Caprifoliaceae) with underdeveloped spatulate embryos. *Seed Sci Res* 10(4):459-69.
- Ivanovska N, Philipov S. 1996.** Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alka-

loids. *Int J Immunopharmacol* 18:553-61.

Javadzadeh SM, Fallah SR. 2012. Therapeutic application of different parts *Berberis vulgaris*. *Int J Agric Crop Sci* 4:404-8.

Lai KS. 2000. Plants of Mt. Hohuan. Jiji, Taiwan: Endemic Species Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. [in Chinese].

Liu YC, Hsiao YY, Ku KL, Liao HF, Chao WC. 2018. *Mahonia oiwakensis* extract and its bioactive compounds exert anti-inflammatory activities and VEGF production through M2-macrophagic polarization and STAT6 activation. *J Med Food* 21:654-64.

Martínez JL, Torres R, Morales MA. 1997. Hypotensive effect of O-methylisothalicberine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from *Berberis chilensis* on normotensive rats. *Phytother Res* 11:246-8.

Shang X., Pan H, Li M, Miao X, Ding H. 2011. Review *Lonicera japonica* Thunb.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *J Ethnopharmacol* 138:1-21.

Shen ML. 1993. Experimental designs. Taipei,

Taiwan: Jeou-Chou Book. 617 p. [in Chinese].

Smith JD, Fong F. 1993. Classification and characterization of the viviparous mutants of maize (*Zea mays* L.). In: Weipert D, editor. Eighth International Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals 1998. Detmold, Germany: Association of Cereal Research. p 56-66.

Soltani E, Ghaderi-Far F, Baskin CC, Baskin JM. 2015. Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination. *Aust J Bot* 63(8):631-5.

Vertucci CW, Roos EE. 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage. II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Sci Res* 3:201-13.

Wang BSP, Chien CT. 2016. Seeds of the economically important trees in Taiwan. Taipei, Taiwan: Taiwan Forestry Research Institute Extension Series no. 268. 163 p.

Yang KC, Chiu ST. 1998. Caprifoliaceae. In: Editorial Committee of the Flora of Taiwan, editors. *Flora of Taiwan*, 2nd ed., Vol. 4, Taipei, Taiwan. p 738-59.

