

原生及外來蔓澤蘭之形態及分子特性研究

陳富永¹、林孟姿、蔣慕琰

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
(¹通訊作者。E-mail: fyc@tactri.gov.tw)

摘 要

在臺灣中南部及東部危害嚴重的小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth)，為菊科蔓澤蘭屬蔓藤性草本植物，原產南美洲，約在 1990 年以前侵入臺灣，目前在臺灣全島低海拔地區之廢耕、休閒農地、管理粗放之果園、林地、山坡地普遍發生，以苗栗以南及花東地區較多。臺灣地區原有同屬的蔓澤蘭 (*Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob.) 與小花蔓澤蘭生長習性與莖葉外觀形態相似，唯小花蔓澤蘭枝條節位突起為半透明薄膜狀撕裂形突起，蔓澤蘭則為皺褶耳狀突起；而且蔓澤蘭的總苞、頭花、瘦果、冠毛之長度皆比小花蔓澤蘭大。除了以花器特徵鑑別外，利用逢機增幅多型性核酸 (RAPD-PCR) 技術、簡單序列重複 (ISSR-PCR) 技術輔助確認兩不同種之蔓澤蘭屬植物；OPA2、OPA3、OPA10、OPB1、OPB5、OPB6、OPB8、OPB14、UBC807、UBC810、UBC835、UBC884 等引子均能有效區別兩種植物，並可獲得個別植物特有之核酸條帶。以臺灣地區十個縣市採集得之 64 個族群之小花蔓澤蘭為材料，以 RAPD-PCR 技術、ISSR-PCR 技術、及病原菌侵染性測試，分析臺灣地區小花蔓澤蘭族群之遺傳歧異度；以 OPA3 引子產生之 RAPD 多型性將小花蔓澤蘭歸群為四個小群、UBC810 引子產生之 ISSR 多型性將小花蔓澤蘭歸群為一個大群及其它小群、而以 MIKMI-67、71、82 三個真菌菌株對小花蔓澤蘭葉片之侵染性歸納之多型性，將小花蔓澤蘭歸群為三個小群；各歸群結果與小花蔓澤蘭之地理分布無相關性。病原菌侵染性試驗，可提供未來小花蔓澤蘭生物防治研究之參考。

(關鍵詞：蔓澤蘭、小花蔓澤蘭、RAPD 分析、ISSR 分析、形態區別)

緒 言

臺灣原生植物蔓澤蘭（學名：*Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob.）及外來入侵植物小花蔓澤蘭（*Mikania micrantha* Kunth）及均為菊科蔓澤蘭屬（*Mikania*）蔓藤性草本植物；蔓澤蘭屬植物全球約 430 種（13），主要分佈於熱帶地區。臺灣地區原僅有蔓澤蘭一種(17)，近年來在全省各地嚴重為害之種類為小花蔓澤蘭，原產中南美洲，1960 年代後侵入東南亞並在亞洲熱帶地區、大洋洲及澳洲北部擴散。此兩種植物與分佈侷限於北美之 *Mikania scandens* (L.) Willd. 為蔓澤蘭屬危害潛力最高之三种植物（11, 12）。臺灣地區的小花蔓澤蘭在最近幾年爆發大面積為害(10)，在苗栗以南的西部地區以及花蓮、臺東地區均有大量的族群發生，佔據了許多低海拔林地、道路邊坡、荒廢地、低管理果園...等，短時間覆蓋所依附的植物冠層，影響該植物生長，造成植物死亡，甚至被稱為「森林殺手」、「綠癌」。小花蔓澤蘭與蔓澤蘭外觀形態極為相似，生長習性亦相近，主要之鑑別依據為花器，在未開花前兩种植物之辨別並不容易；本土性植物鑑定書籍「臺灣植物誌」目前仍無小花蔓澤蘭的記載（17），因此有必要對於這兩种植物形態上的區別做正確地歸納，並輔以核酸層次之分析技術，將原生及外來蔓澤蘭明確而快速地加以鑑別；同時針對全省之小花蔓澤蘭族群，分析其族群間之遺傳歧異度，以推測小花蔓澤蘭入侵之時間，及族群在本地區分化的情形。

材料與方法

一、植物材料來源

小花蔓澤蘭及蔓澤蘭均自野外採集得，移回溫室中種植於盆鉢中。小花蔓澤蘭採集自臺灣地區包括苗栗縣、臺中縣、彰化縣、南投縣、雲林縣、嘉義縣、臺南縣、高雄縣、屏東縣、花蓮縣等共計 64 個採點（圖一）；蔓澤蘭則採集自臺中縣太平市、臺中縣霧峰鄉、南投縣國姓鄉、南投縣草屯鎮、南投市等地區。採集得之植物樣品為莖葉組織，將之個別加以編號標示，扦插

於栽培介質中，成活後進行外觀形態觀察及植體分析試驗。

二、外觀形態觀察

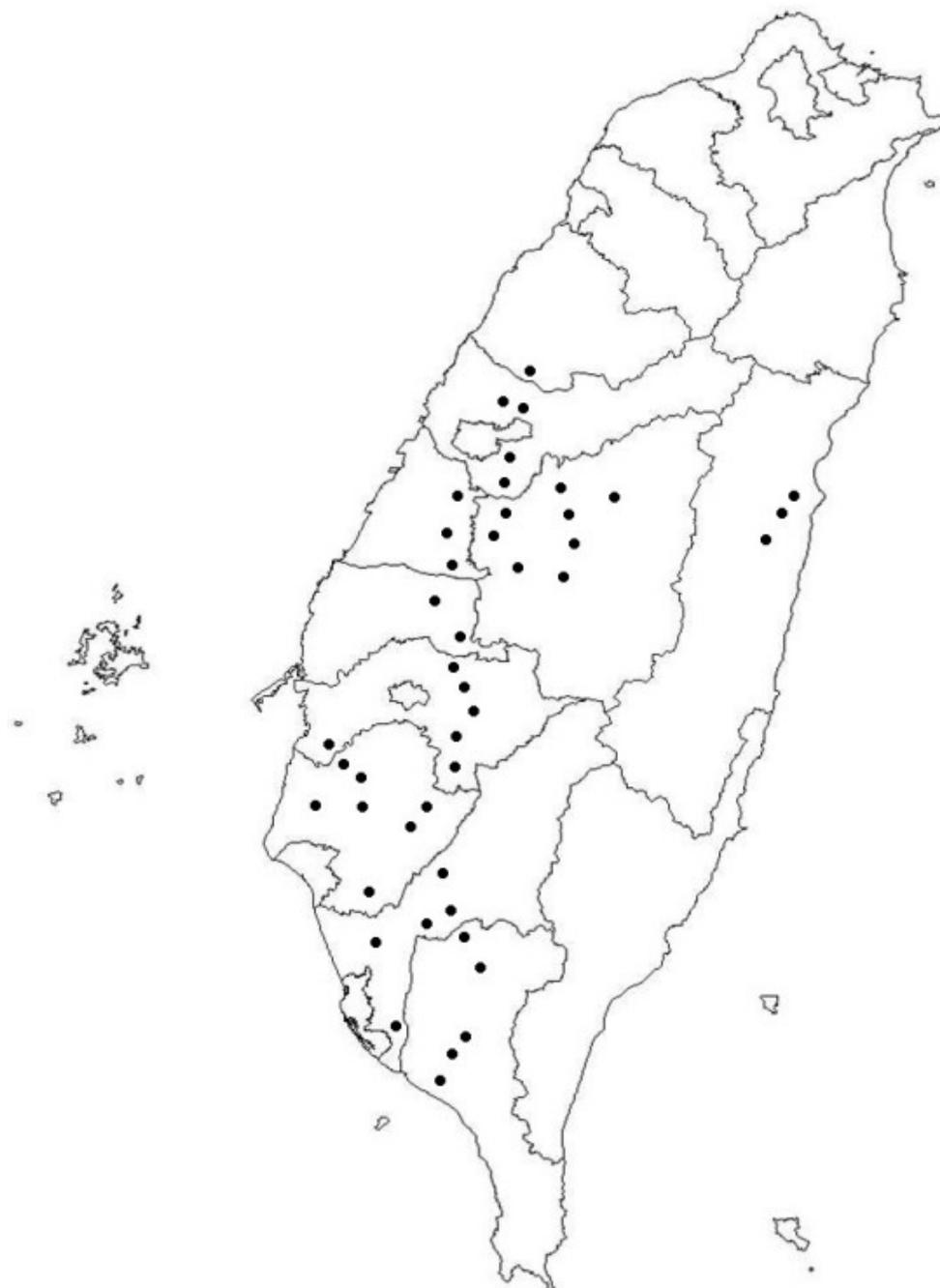
以目視觀察小花蔓澤蘭及蔓澤蘭外觀形態之差異，包括植株性狀、生長習性、葉型、花色等特徵。另外，在放大鏡與實體顯微鏡（Leica MS5）下觀察花器微細構造，以測微尺測量瘦果、冠毛、總苞等長度。

三、植物 DNA 製備

以植物 DNA 萃取試劑組(Plant Genomic DNA Extraction Miniprep System, Viogene) 進行植物 DNA 製備。取小花蔓澤蘭或蔓澤蘭葉片 0.2g，以液態氮研磨成粉狀，移入微量離心管，加入 400 μ l PX1 緩衝液及 4 μ l RNase A(100mg/ml)，振盪混合均勻，置於 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分鐘。之後加入 130 μ l PX2 緩衝液，震盪混勻，置於-20 $^{\circ}$ C 反應 5 分鐘，離心 10,000rpm 30 秒，將上清液移至新的收集管上的分離管 (shearing tube) 中，離心 13,000rpm 2 分鐘，將流出液 (約 450 μ l) 移至新的微量離心管，加入 0.5 倍體積的 PX3 緩衝液和 1 倍體積的 100% 酒精，混勻後移至收集管上的收集管柱 (plant genomic DNA mini column) 中，離心 10,000rpm 1 分鐘，加入 700 μ l WS 緩衝液，離心 13,000rpm 30 秒，重複 2 次，丟棄過濾液，離心 13,000rpm 2 分鐘，使清洗液去除乾淨，最後將收集管柱置於新的微量離心管中，加入 200 μ l 65 $^{\circ}$ C 之 TE 緩衝液(10mM Tris-HCl pH8.0, 1mM EDTA)，離心 13,000rpm 1 分鐘洗出 DNA，保存於-20 $^{\circ}$ C。

四、PCR 反應

聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 以 MJ Research 公司製造之 PTC-200 Peltier Thermal Cycler 儀器進行。以小花蔓澤蘭及蔓澤蘭之 DNA 為樣品，探討兩種蔓澤蘭經 PCR 反應後其增幅之核酸片段型式之異同；另以全部採樣點之小花蔓澤蘭品系進行試驗，探討小花蔓澤蘭族群之歧異度。樣品 DNA 取 200 ng 做為模版 (template DNA)，依不同試驗取用特定核酸引子 (primer)，以 KlenTaq DNA 聚合酶 (購自 Protech 公司) 為反應酵素，最終反應液之各成分濃度為 50 mM Tris-HCl pH9.1，16 mM ammonium sulfate，3.5 mM MgCl₂，150 μ g/ml BSA 以及 200 μ M dATP、200 μ M dTTP、200 μ M dCTP、200 μ M dGTP；反應體積為 25 μ l，置於 0.2 ml 之微量離心管。



圖一、小花蔓澤蘭採樣點。

Fig. 1. Collection sites of population of *Mikania micrantha* in Taiwan.

五、RAPD-PCR 反應

則選用購自 Operon 公司之隨機引子組 (random primer,)，引子組每組有 20 種核酸引子，共有 A-Z 不同的組合，本試驗使用 OPA 及 OPB 兩組引子，每次使用單一引子進行反應，引子最終反應濃度為 0.5 mM。連鎖反應之循環首先為 94°C 加熱 4 分鐘，接著為 40 個循環的 95°C 1 分鐘、52°C 1 分鐘、72°C 1 分鐘，最後為 72°C 7 分鐘。

六、ISSR-PCR 反應

使用的核酸引子為 University of British Columbia 設計之 UBC SSR primer oligonucleotide Set #9，本組核酸引子共有 100 種，編號 UBC801-900，其序列結構主要為 2-5 個核苷酸的重複序列，重複 4-8 次，引子長度為 17-22 個核苷酸。由此 100 種核酸引子中，找出能同時擴增蔓澤蘭與小花蔓澤蘭的引子；PCR 試驗每次使用單一引子進行反應，引子最終反應濃度為 0.2 mM。連鎖反應之循環首先為 94°C 加熱 4 分鐘，接著為 40 個循環的 95°C 30 秒、54.8°C 45 秒、72°C 1 分鐘，最後為 72°C 7 分鐘。

七、電泳分析

經 PCR 後之反應液取 8 μ l 進行電泳分析，加入 2 μ l 追蹤染劑，以 2% 之瓊脂膠 (agarose) 膠片 [0.8g agarose 溶於 40 ml 0.5 \times TBE 緩衝液 (1 \times : 0.089 M Tris, 0.089 M Borate, 0.002 M EDTA) 中，內含染劑 EtBr (ethidium bromide) 5 μ g/ml]，在 100V 之電壓下進行，電泳槽中之緩衝液亦為 0.5 \times TBE；電泳結束後以 Gel-Pro analyzer (Media Cybernetics) 影像軟體，擷取電泳核酸條帶成影像檔，並進行條帶分子量大小及核酸片段型態分析。

八、病原菌侵染性試驗

由田野間採集得之自然罹病之小花蔓澤蘭組織分離病原微生物，以菌株編號 MIKMI-38、47、51、53、54、67、71、82 等真菌 (未發表資料)，培養於 PDA 培養基 2 週後，以打孔器切下菌絲圓盤做為接種源。採取小花蔓澤蘭各品系植株葉片，置於含保濕紙巾之塑膠盤上，每片葉片以中肋為界，兩側各放一菌絲圓盤，兩重複，塑膠盤上覆保鮮膜，置於室溫下，於四至五天後，由菌絲圓盤周圍之病斑表現，記錄病原菌侵染情形。

九、資料分析

根據 RAPD 反應及 ISSR 反應後在電泳膠片上呈現之條帶有無，以及病原菌對小花蔓澤蘭葉片侵染與否，比較兩兩植株品系間之相關性。以 Jaccard's 係數(7) ($SJ=NAB/(NAB+NA+NB)$)，NAB 代表兩菌株共有的條帶數，NA、NB 分別代表兩菌株各自獨有的條帶數) 計算兩兩菌株之相似度，再將所有比較結果排列成一個三角矩陣，以 Statistica 統計軟體之不加權平均重方式 (unweighted pair-group method analysis, UPGMA) 進行群叢分析 (clustering)，繪出樹狀關係圖。

結 果

一、小花蔓澤蘭與蔓澤蘭形態區別

同為蔓澤蘭屬植物之小花蔓澤蘭與蔓澤蘭均為一年生蔓藤性草本植物，生態習性相近，多生長於低海拔森林邊緣、次生林、道路邊坡、雜木灌叢、荒廢耕地等環境；莖葉形態亦近似，葉對生，莖中部葉三角狀卵形至卵形、基部葉心形近戟形；頭狀花序多數，在枝端常排列成複繖房花序狀 (圖二)。兩種植物在外觀上主要依據花器構造加以區分，經肉眼觀察及顯微鏡觀察及測量，花器上的幾點特徵可以做為鑑別兩種蔓澤蘭的依據 (表一)：小花蔓澤蘭在整個複繖房花序的頭狀花數目常比蔓澤蘭多而密，因此整體花序的形態，蔓澤蘭所顯現的感覺較為疏散；至於花冠的顏色，兩者主要皆為白色，開花後期漸呈黃色而枯黃，但在盛花期蔓澤蘭的花色略偏乳白色，小花蔓澤蘭則顯較純白色；頭狀花、總苞、瘦果及冠毛的長度，蔓澤蘭均大於小花蔓澤蘭 (圖三)，在各測量 50 個樣品的記錄值顯示，蔓澤蘭的頭狀花長為 7.1~7.7 mm，小花蔓澤蘭則為 4.7~5.2 mm；蔓澤蘭的總苞長為 5.9~6.7 mm，小花蔓澤蘭則為 3.4~4 mm；蔓澤蘭的瘦果長為 2.7~3.2 mm，小花蔓澤蘭則為 1.3~1.5 mm；蔓澤蘭的冠毛長為 3.9~4.1 mm，小花蔓澤蘭則為 2.4~2.7 mm。

小花蔓澤蘭與蔓澤蘭花器之特徵足以供區別兩種植物，但在非開花期則非常類似。事實上，小花蔓澤蘭在營養體枝條上的節位突起 (enation) 是一項可供辨識的特殊構造 (圖四)；在較幼嫩的非開花莖枝上，小花蔓澤蘭在節位會有一對半透明撕裂狀的突起，類似羽狀薄膜，而蔓澤蘭則是略不規則的耳狀突起，較厚而有皺褶，表面佈柔毛。這樣的構造通常可見，是分辨兩種

蔓澤蘭可靠的形態特徵，但在較成熟枝條或開花枝上有時不易發現，若植株生長的環境較惡劣也有可能無法發現。

表一、小花蔓澤蘭與蔓澤蘭花序與花部特徵（陳等。2002）

Table 1. Head and flower characteristics of *Mikania micrantha* and *M. cordata*.

Features	<i>M. micrantha</i>	<i>M. cordata</i>
color of corollas	white	white-milky
length of heads	4.7-5.2 mm	7.1-7.7 mm
length of involucral bracts	3.4-4 mm	5.9-6.7 mm
length of achenes	1.3-1.5 mm	2.7-3.2 mm
length of pappus	2.4-2.7 mm	3.9-4.1 mm

二、RAPD-PCR 分析

（一）小花蔓澤蘭及蔓澤蘭 DNA 增幅型式比較

以 Operon 公司生產之隨機引子組 OPA 及 OPB 組進行試驗，試驗結果顯示，小花蔓澤蘭及蔓澤蘭之 RAPD 型式可以明顯區別（圖五 A 至 H 行），經過 PCR 反應後，增幅之核酸片段與組合，兩種植物間並不相同，例如其中利用 OPA10-OPA11 引子的組合（E 至 H 行）或以 OPB1 單一引子（A 至 D 行）進行 PCR 反應後之結果，部分之 DNA 條帶（band）為蔓澤蘭屬植物共有之條帶，而部分則為蔓澤蘭或小花蔓澤蘭專一性之條帶；例如 C、D 行為以 OPB1 做為引子所得結果，在約 550bp 位置有一主要條帶，為蔓澤蘭所特有；E、F 行為 OPA10-OPA11 引子組合所產生之結果，在約 150bp 位置有一小花蔓澤蘭之特有條帶；又如 G、H 行，蔓澤蘭在 330、430、650bp 三個明顯的條帶組合亦與小花蔓澤蘭不同。

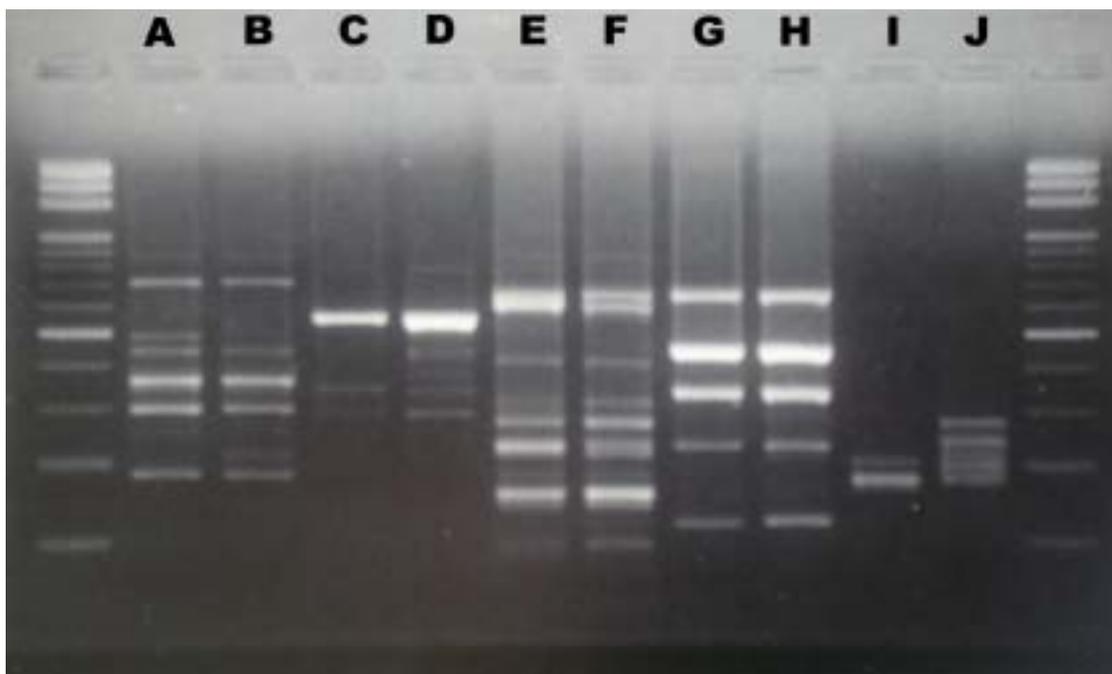
（二）小花蔓澤蘭族群歧異分析

由全省十個縣市所採集得之 64 個品系之小花蔓澤蘭，以隨機引子組 OPA 及 OPB 組增幅後，OPA2、OPA3、OPA10、OPB1、OPB5、OPB6、OPB8、OPB14 等引子，能夠使 80% 以上之品系都有增幅片段產生；其中又以 OPA3 使所有品系都有反應，提供 6 個核酸片，可用以分析族群間之差異。

三、ISSR-PCR 分析

(一) 小花蔓澤蘭及蔓澤蘭 DNA 增幅型式比較

以 University of British Columbia 設計之 UBC SSR primer oligonucleotide 第 9 組進行試驗，與 RAPD 之效果相同，小花蔓澤蘭及蔓澤蘭之 ISSR 型式可以明顯區別（圖五 I 至 J 行），兩种植物之核酸片段組成型式不同，例如利用 UBC884 引子所產生的結果（I、J 行）小花蔓澤蘭（I 行）在 180 與 200bp 各有一片段，而蔓澤蘭則在 200-300bp 位置有 4-5 個片段。



圖五、小花蔓澤蘭（A、B、E、F、I 行）及蔓澤蘭（C、D、G、H、J 行）經 RAPD-PCR（A-H 行）及 ISSR-PCR（I-J 行）增幅後之核酸片段圖譜。

Fig. 5. Polymorphic DNA patterns of *Mikania micrantha* (lanes A, B, E, F, I) and *M. cordata* (lanes C, D, G, H, J) generated from RAPD-PCR (lanes A to H) and ISSR-PCR (lanes I to J).

(二) 小花蔓澤蘭族群歧異分析

所有 64 個小花蔓澤蘭品系，以 UBC 引子增幅，在已試驗之引子中，UBC807、UBC810、UBC835 等引子，能夠使 80% 以上之品系都有增幅片

段產生；其中又以 UBC810 使所有品系都有反應，提供 7 個核酸片段，可用以分析族群間之差異。

三、病原菌侵染性試驗

由田野間採集得自然罹病之小花蔓澤蘭材料，葉部表現水浸狀病斑，經組織分離獲得微生物菌株，取其中 8 株真菌菌株進行試驗。菌株在 PDA 培養基培養 2 週後，已長滿整個平板培養基，將此菌絲塊移於小花蔓澤蘭葉片上（圖六 A），置於室溫 3 天後，部分葉片在菌絲塊周圍開始出現水浸狀病斑（圖六 B），並隨時間而逐漸擴大，部分葉片則無任何病徵表現；其中 MIKMI-67 及 71 兩株菌株對小花蔓澤蘭的葉片侵染性最強，幾乎所有品系植株之葉片均表現病徵；其次為 MIKMI-82 菌株，有 62% 的葉片表現病徵。記錄下此病徵表現之有無，做為群叢分析之依據，以及未來生物防治研究之參考。

四、小花蔓澤蘭群叢分析（clustering）

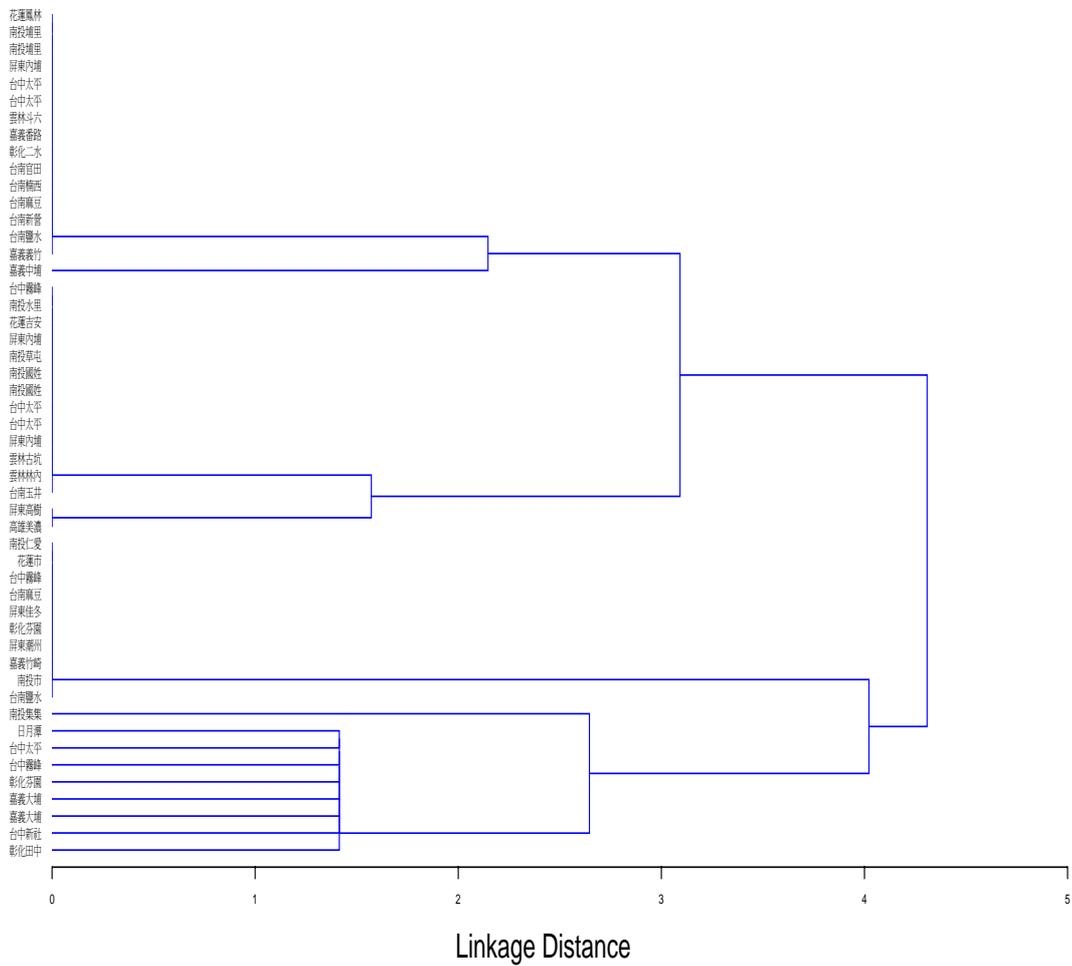
由 RAPD-PCR、ISSR-PCR 及病原菌侵染試驗所得到的結果，以增幅核酸片段之有無，以及病原菌侵染與否，做為群叢分析之個別因子；計算兩兩植株之 Jaccard's 相關係數，可得到 0 至 1 的數字，若係數為 0 代表兩植株的評估因子組成完全不同、若係數為 1 則代表兩植株的評估因子組成完全相同，介於 0 與 1 之間則顯示其相關聯之親疏，愈接近 1 則兩者之遺傳關聯性較接近。再將所得係數排列而成之三角矩陣帶入 Statistica 統計軟體，運算後即可得一樹狀關係圖。

在 RAPD 的結果中，以 OPA3 引子的試驗具較佳之增幅效果，電泳膠片上共有 6 個可供區別之核酸片段，資料分析後，小花蔓澤蘭各植株品系分成幾個小群組（圖七），包括其中花蓮鳳林等 17 個採點為一群、南投水里等 12 個、南投埔里等 12 個採點亦各為一群，以及其他幾個小群，各品系分群的結果，與地理分布並無相關性。

ISSR 的結果以 UBC810 引子之試驗具有較佳之增幅效果，電泳膠片上共有 7 個可供區別之核酸片段，資料分析後，小花蔓澤蘭各植株品系分成一個較大的群組（圖八），包含花蓮鳳林、臺中霧峰在內的 35 個採點，以及另外 7 個及 5 個採點的小群，各品系分群的結果，與地理分布亦無相關性。

病原菌侵染試驗則以 8 個菌株之反應做為評估因子，取其中 3 個菌株 MIKMI-67、71、82 的結果進行分析，小花蔓澤蘭各植株品系分成三個小群（圖九），各包含 15 個、13 個、及 10 個採樣點，各品系分群的結果，同樣

病原菌侵染試驗



圖九、以三種微生物菌株（MIKMI-67、71、82）對各品系小花蔓澤蘭葉片侵染與否，經 UPGMA 群叢分析所繪出之樹狀關係圖。

Fig. 9. Phylogenetic tree made by UPGMA clustering based on the response of *Mikania micrantha* leaves to tree microbe isolates (MIKMI-67, 71, 82).

討 論

原生的蔓澤蘭與外來入侵種小花蔓澤蘭在非開花期的外觀形態極為相似

，巨觀的乍視往往無法立即辨認，常造成民眾與媒體在名稱上的誤用；過去由於沒有小花蔓澤蘭的名稱以及正確的採集記錄，報章雜誌的大量報導一開始均以「薇甘菊」或「蔓澤蘭」為名，其後農政單位始加以正名為「小花蔓澤蘭」；蔣等人(10)的報告中，小花蔓澤蘭多於十月下旬開花，而蔓澤蘭的花期較分散可出現於不同月份，此項差異有助於田野間辨認蔓澤蘭族群；開花後的植株，兩者的花序外觀略有不同(6)，蔓澤蘭的花序較為鬆散，小花蔓澤蘭的則較繁多而密，顏色皆為白色但蔓澤蘭較偏乳白色或淡黃色；除了花序疏密程度與花色的判斷較為主觀外，其他頭花長、總苞長、瘦果長、及冠毛長的幾項性狀，均是兩種蔓澤蘭在開花期間明顯而容易分辨的特徵。在中國大陸孔氏等人(2)的報告中亦曾對蔓澤蘭屬中三种植物 *M. scandens*、*M. cordata* 及 *M. micrantha* 之辨認特徵加以敘述，其有關小花蔓澤蘭及蔓澤蘭所陳述的數據，蔓澤蘭的頭狀花長為 6~9 mm，小花蔓澤蘭則為 4.5~6 mm；蔓澤蘭的總苞長為 5~6 mm，小花蔓澤蘭則為 2~4 mm；蔓澤蘭的瘦果長為 2~3 mm，小花蔓澤蘭則為 1.5~2 mm；蔓澤蘭的冠毛長為 4 mm，小花蔓澤蘭則為 2~4 mm，與本研究中所記錄之資料大同小異，而第三种植物 *M. scandens* 目前僅分佈於美洲地區，在亞洲及臺灣則尚未被記錄。

這兩種蔓澤蘭在節位有突起構造 (enation) 的這項特徵，是在外觀形態上，在非開花期極重要的辨識特徵，也證實極為可靠，小花蔓澤蘭的突起是半透明、近似撕裂狀，而蔓澤蘭則是耳狀、有柔毛，這樣的特徵有時會因枝條老熟、磨損，而不易辨認，但因蔓澤蘭及小花蔓澤蘭的藤蔓均延伸極長，在一、二個節位若無法檢視突起的特徵，通常可在其他較幼嫩的節位找到。

在採集與調查的過程中，小花蔓澤蘭與蔓澤蘭有幾項生態特性值得觀察；這兩種蔓澤蘭屬植物生長習性十分接近，也常會發現二者共同生長在相鄰的環境中，然而小花蔓澤蘭族群的生長勢十分旺盛，開花、結實的能力遠高於蔓澤蘭，可以預期在這些二者共存的環境中，小花蔓澤蘭將快速佔據其生態空間 (ecological niche)，蔓澤蘭的生長必受到壓迫，甚至極有可能在這環境中滅絕。

RAPD-PCR 分析技術乃是利用任意組合的十個核苷酸做為引子，進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，由於引子的核苷酸數目僅有十個，在植物基因體 DNA 上的結合機會增加，反應後所產生的 DNA 片段較多、組合型式也較複雜，因此提供了多型性 (polymorphism) 分析更多線索，也成為現今在動物、植物或微生物各種生物性領域的研究上一項重要的工具(1, 3, 4, 5, 7, 9, 14, 15, 16)。而 ISSR 分子標誌，為近年來新發展出的技術(1, 8, 14)，其乃利用生物

基因組中有大量的重複序列，其中微衛星序列（microsatellite，或稱 simple sequence repeat, SSR 簡單序列重複）是一種串聯重複序列，重複的單位為 2-6 個核苷酸，分佈在真核生物的基因組中，ISSR 技術乃是以 SSR 為基礎設計引子，以 2-3 個核苷酸重複數次，再於 3' 或 5' 端加 1-4 個核苷酸作成引子，ISSR 技術則是以此引子黏合基因組中的重複單位，PCR 增幅後產生多型性。RAPD 與 ISSR 都是目前被廣泛使用的分子標誌技術，RAPD 使用的是逢機引子，引子黏合溫度較低（本實驗中為 52°C），因此產生之多型性較多，但也較易產生非專一性增幅、或者有再現性不佳的問題；ISSR 的引子長度較長（17-20 個核苷酸），引子黏合溫度亦較高（本實驗中為 54.8°C），因此 ISSR 的再現性較高，所產生之多型性亦較 RAPD 可靠。在 PCR 結果中，小花蔓澤蘭與蔓澤蘭之 RAPD 或 ISSR 圖譜均有明顯之不同，也各自擁有一些專屬該植物的 DNA 片段，這些特有的專屬 DNA 片段，都可以做為一特定物種之鑑定依據，甚至可以將之序列訂出，合成物種專一性探針，做為快速篩檢、偵測的工具，這項技術在昆蟲（3）、病原微生物等領域均已被廣泛使用。

小花蔓澤蘭族群幾乎遍佈全臺灣，其族群之演化方向、親緣關係、基因混雜情形...等，都是研究學者極感興趣的課題。本研究藉由 RAPD 及 ISSR 之多型性圖譜，研究小花蔓澤蘭族群之歧異度；經逢機引子 OPA、OPB，及 SSR 引子 UBC Set#9 等之反應，繪出樹狀關係圖。在 OPA3 引子所產生的樹狀圖，小花蔓澤蘭各植株品系分成幾個小群組，包括其中花蓮鳳林等 17 個採點為一群、南投水里等 12 個、南投埔里等 12 個採點亦各為一群，以及其他幾個小群。在 UBC810 引子所產生的樹狀圖，小花蔓澤蘭各植株品系分成一個較大的群組，包含花蓮鳳林、臺中霧峰在內的 35 個採點，以及另外 7 個及 5 個採點的小群。在這兩種以核酸片段多型性為基礎的分子標誌技術中，歸群結果並不一致，也無法顯現與地理分布有任何相關性，其可能原因包括樣品數量不足、樣品族群代表性不夠、核酸引子選擇不當等因素，另外也有可能是小花蔓澤蘭當初侵入臺灣地區時，即是一個遺傳組成複雜的族群、或可能在這入侵之一二十年間，小花蔓澤蘭已快速變異，因此無法在分析中找出很好的族群相關性。

本研究另以病原菌侵染性（infectivity）測試，探討小花蔓澤蘭之族群歧異度；由於病原菌與寄主植物的關係，病原菌是否能完成對植物的侵染，取決於植物與病原菌是否親和，而植物本身的基因組成更是決定因子，決定了植物的抗病或免疫；相對於植物，微生物本身有寄生與腐生之區別，而多數微生物則兼具寄生與腐生的能力，因而造就了微生物病原性的強弱；利用數

個微生物菌株侵染各不同品系之小花蔓澤蘭，由其病徵反應，評估族群間之差異。小花蔓澤蘭各植株品系依據病徵反應主要區分成三個小群，各包含 15 個、13 個、及 10 個採樣點，雖然同樣沒有地理相關性，但由於病原菌的侵染與否是植株實際的表現型，此結果代表的意義，值得提供小花蔓澤蘭生物防治研究人員參考，由於族群間的差異，在挑選生物防治用微生物時，單一菌種或許無法有效對抗所有的小花蔓澤蘭族群，綜合性的防治技術或許更能有效地控制小花蔓澤蘭。小花蔓澤蘭在短短的一二十年間遍佈了臺灣地區，其強勢的生命力與傳播力令人印象深刻，也必將是一個探討族群演化很好的材料。

引用文獻

1. 王昭月、莊耿彰、范明仁。2001。以 ISSR 與 RAPD 分子標誌分析火鶴花栽培種間遺傳相似性。中華農業研究 50：54-67。
2. 孔國輝、吳七根、胡啓明、葉萬輝。2000。薇甘菊(*Mikania micrantha* H.B.K.) 的形態、分類與生態資料補記。熱帶亞熱帶植物學報 8：128-130。
3. 邱一中、吳文哲、蕭旭峰、石正人。2000。RAPD-PCR 在六種斑潛蠅 (*Liriomyza* spp.) (雙翅目：潛蠅科) 快速鑑定技術之應用。中華昆蟲 20：293-309。
4. 林政潔、張武男、宋好。2000。RAPD 標誌在番椒品種鑑別應用之研究。植物種苗 2：19-35。
5. 桂枝、袁慶華、藺海明。2001。RAPD 標記技術及其在牧草研究中的應用。草業科學 18：50-55。
6. 陳富永、徐玲明、蔣慕琰。2002。小花蔓澤蘭與蔓澤蘭形態區別及 RAPD-PCR 分析。植保會刊 44：51-60。
7. 葉文斌、何佳霖、許祖法、何琦琛。2000。運用逢機擴增多形性核酸分析長毛捕植蟎 (*Amblyseius longispinosus*) 及溫氏捕植蟎 (*A. womersleyi*) (蟎蟬亞綱；捕植蟎科) 的遺傳變異。中華昆蟲 20：335-345。
8. 曾國洋。2003。臺灣蔓澤蘭屬植物之族群遺傳變異。國立中山大學生物科學研究所碩士論文。70 頁。
9. 蔡奇助、邱建中、林深林。1998。RAPD 分子標誌在百慕達草品種鑑別

- 之應用。臺中區農業改良場研究彙報 60：19-27。
10. 蔣慕琰、徐玲明、陳富永。2002。入侵植物小花蔓澤蘭(*Mikania micrantha* Kunth)之確認。植保會刊 44：61-64。
 11. Holm, L. G., Pluchnett, D. L., Pancho, J. V., and Herberger, J. P. 1977. *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Robinson, *Mikania scandens* (L.) Willd., and *Mikania micrantha* H.B.K., pp. 320-327. In: The World's Worst Weeds, The University Press of Hawaii, Honolulu.
 12. Holmes, W. C. 1993. The genus *Mikania* (Compositae: Eupatorieae) in the greater Antilles. Botanical Research Institute of Texas, Texas, USA. 69pp.
 13. Holmes, W. C. 1995. A review preparatory to an infrageneric classification of *Mikania* (Tribe: Eupatorieae). pp. 239-254. In: D. J. N. Hind, C. Jeffrey and G. V. Pope eds. Advances in Compositae Systematics, Royal Botanic Gardens, Kew.
 14. Lai, J. A., Yang, W. C., and Hsiao, J. Y. 2001. An assessment of genetic relationships in cultivated tea clones and native wild tea in Taiwan using RAPD and ISSR markers. Bot. Bull. Acad. Sin. 42: 93-100.
 15. Lin, T. K., Wu, S. T., Hu, T. K., and Thseng, F. S. 2001. Analysis of genetic distance among four *Glycine* species collected from Taiwan: revealed by DNA polymorphisms. J. Agri. Forst. 50: 55-65.
 16. Liu, C. C., and Huang, T. C. 2001. Evaluation of a natural hybrid of *Dumasia* DC. (Fabaceae) from Taiwan based on the isozymes and RAPD studies. Taiwania 46: 114-124.
 17. Peng, C. I., Chung, K. F., and Li, H. L. 1998. Compositae. pp. 807-1101. In: Flora of Taiwan 2nd ed. Vol.4, Dept. of Botany, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

Study on the morphological and molecular characteristics of indigenous and invasive *Mikania*.

Fu-Yung Chen, Meng-Tzu Lin, and Mou-Yen Chiang

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute,
Council of Agriculture, Taichung, Taiwan, ROC

Abstract

Mikania micrantha Kunth, an invasive weed originated from South America, was first reported in Taiwan in 2001. This alien species was mixed up with an indigenous species *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob., and un-distinguishably treated for more than a decade in Taiwan. In this study, we compared morphological characteristics and DNA fragments of *M. micrantha* and *M. cordata* based on plant material collected from Taiwan. Features of head flowers such as head, involucre bracts, achenes, and pappus of *M. cordata* were larger than those of *M. micrantha*. *M. micrantha* possessed a semi-translucent enation-structure at nodes and the *M. cordata* had ear-like one. RAPD patterns were studied and provided good distinguishable band patterns of DNA fragments of the two comparing species. Sixty-four *M. micrantha* populations were collected from 10 counties of Taiwan. Phylogeny trees were made by UPGMA clustering based on RAPD-PCR and ISSR-PCR polymorphism. Infectivity assay of pathogenic microbes were conducted and which also produce a phylogeny tree. There is no genetic correlation between populations according to these three phylogeny trees.

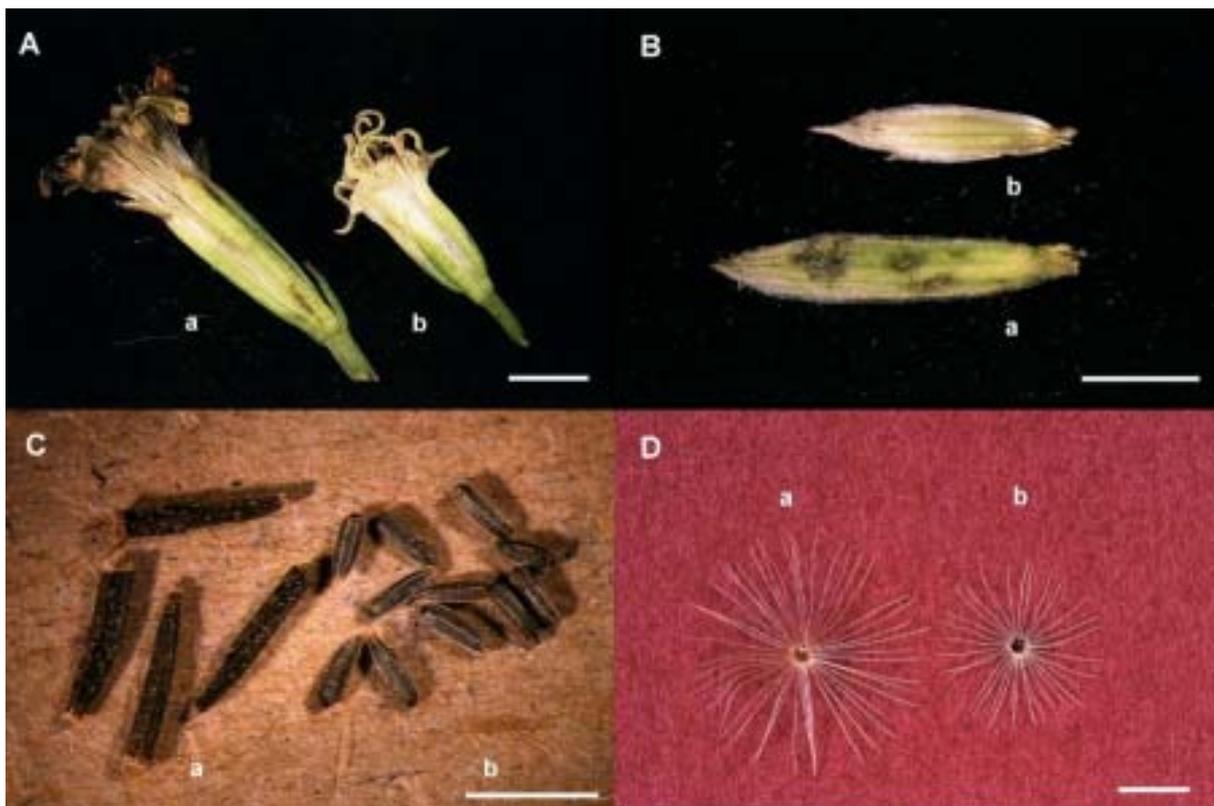
(Key Words: *Mikania micrantha*, *Mikania cordata*, RAPD-PCR, ISSR-PCR, morphological distinction.)

Conference “The Harmful Effect and Field Management of *Mikania micrantha*”, p.29-50, WSSROC.



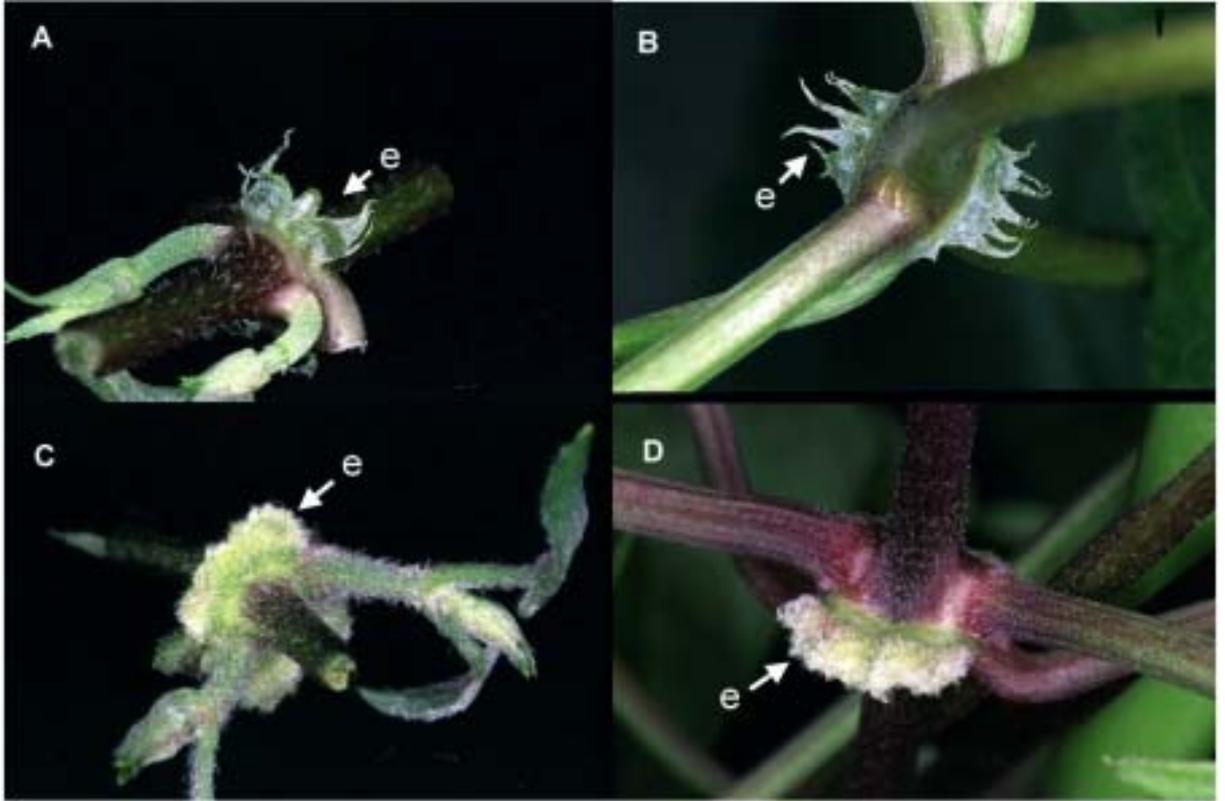
圖二、小花蔓澤蘭 (A、B) 及蔓澤蘭 (C、D) 複繖房花序之比較。白色線段相當於 5 mm。(陳等。2002)

Fig. 2. Comparison of compound corymb of *Mikania micrantha* (A, B) and *M. cordata* (C, D). Bar is equal to 5 mm.



圖三、蔓澤蘭 (a) 及小花蔓澤蘭 (b) 頭花 (A)、總苞 (B)、瘦果 (C)、冠毛 (D) 之比較。白色線段相當於 2mm。(陳等。2002)

Fig. 3. Comparison of (A) head, (B) involucral bracts, (C) achenes, and (D) pappus of *Mikania cordata* (a) and *M. micrantha* (b). Bar is equal to 2mm.



圖四、小花蔓澤蘭 (A、B) 與蔓澤蘭 (C、D) 的節位突起 (e) 形態略有差異。(陳等。2002)

Fig. 4. The different shape of enation structure (e) at nodes on *Mikania micrantha* (A, B) and *M. cordata* (C, D).



圖六、病原菌侵染性試驗 (A)，部分菌株在菌絲塊周圍產生病斑 (B)。

Fig. 6. Infectivity assay of pathogenic microbes to *Mikania micrantha* leaves (A).

Some microbe isolates exhibit infectivity on leaf (B).