

肆、討論

一、喜岩堇菜複合群的形態與遺傳分化

台灣植物誌第二版將喜岩堇菜與雪山堇菜處理為同種下的兩個變種，顯示兩類群間略有差異存在。本研究在形質分析部份，歸群分析、區別分析及ANOVA得到的結果不完全一致。利用19個特徵進行歸群分析的結果（圖4），雪山堇菜17個樣本中有10個分別混雜在喜岩堇菜各分支中，表示半數以上樣本與喜岩堇菜較相像，屬於中間型個體，顯示兩者在形態上多有重疊，難以區分兩者。造成難以區分兩類群可能是歸群分析係計算兩兩OTU (operational taxonomic unit) 所有特徵之距離，而多數特徵無法區分兩者，稀釋了具區分力特徵之效力。

利用量測 19 個特徵的形質資料進行區別分析 (DA) 的結果 (圖 3) 中可見喜岩堇菜與雪山堇菜可清楚分開，僅有兩個雪山堇菜與喜岩堇菜重疊，且喜岩堇菜的錯分率僅為 2.86%，雪山堇菜的錯分率僅為 5.88%，區別分析之第一軸即可區分 100% 的樣本 (表 5)，顯示兩類群確實在形態上已可分成兩大群。ANOVA 之結果顯示在 19 項特徵中，有 6 項特徵在兩類群間具統計上之顯著差異，兩種分析之結果均支持此複合群在形態上已有分化成兩群之趨勢。

進一步檢視 ANOVA 分析中六項具顯著差異之特徵，側瓣鬚毛數 (圖 2L) 與葉厚 (圖 2S) 兩項之重疊範圍是六項中最少的，P 值均小於 0.0001，且此兩項亦為台灣植物誌第二版 (Wang and Huang, 1993) 區分兩類群的特徵；在基瓣寬 (圖 3F)、萼片寬 (圖 3J)、花軸長 (圖 3K)、葉長/葉寬 (圖 3Q) 四項特徵中雖然具顯著差異，但喜岩堇菜與雪山堇菜樣本特徵值分布範圍大部分均有重疊。至於在未檢測出顯著差異的其餘特徵中，雪山堇菜之樣本變異範圍幾乎完全落在喜岩堇菜的變異範圍內。整體而言，此複合群在外部形態上有連續性變異存在，雖有 6 項特

徵可區分兩者，但並非截然可分，此與形態分類及野外觀察的印象一致。

在分子資料方面，AMOVA 的結果（表 13A）可知僅有 2.58% 的變異分布在兩類群間，且 P 值為 0.17；兩類群間的 F_{st} 為 0.079 ($Nm=5.8$) 屬於低度分化；由單套型分布的狀況可知兩類群共有單套型 2、3、5、19，在雪山、南湖地區的喜岩堇菜 (Ack & Anh) 和雪山堇菜 (Ths & Tnh) 皆有單套型 3；在玉山地區的喜岩堇菜 (Ayu) 與雪山堇菜 (Tyu) 皆為單套型 19。在鄰近地區，不同類群共享相同的單套型，此 4 種單套型所包含之樣本佔全部樣本比例 73.45%，均顯示喜岩堇菜與雪山堇菜間有相當密切的基因交流現象存在。

形質分析的結果顯示喜岩堇菜與雪山堇菜在形態上已有分化趨勢，但形態特徵多有重疊；而在分子資料上屬於低度分化，無法將其區分為兩大群，造成形態與分子資料皆呈現無法完全區分兩者的原因可能主要有二：第一，喜岩堇菜複合群的分化歷史太短，現今仍處於譜系揀選 (lineage sorting) 不完全的階段，致使無法區分此二類群。第二，雪山堇菜與喜岩堇菜已完成分化，但仍發生雜交而產生中間型個體。

二、譜系揀選不完全或是雜交？

從單套型間的關係可推知類群的分化歷史，在最小關聯網狀圖（圖 5）中，除了與喜岩堇菜共享多個單套型外，雪山堇菜特有的單套型 6、20、21 分別位於三個不同的分支上，雪山堇菜並非為一獨立演化之支系，在 NJ tree（圖 8）與 MP tree（圖 7）中，也呈現相同趨勢，均不支持各自分化後再雜交的假說。

Grand and Bowen (1998) 提出由核苷酸歧異度 (h) 與單套型歧異度 (π) 可推知族群過去的歷史，若為兩個具高度分化的族群再度接觸（第四種組合），此族群應具有高 h 與 π ，然喜岩堇菜複合群之 h 為 0.682，屬於高的單套型歧異度，但 π 僅為 0.00088，屬於低的核苷酸歧

異度，不支持第二個假說的成立。

綜合上述，造成喜岩堇菜與雪山堇菜在形態上有中間型存在及分子低度分化的原因較可能為兩類群之分化歷史短，仍處於譜系揀選不完全的階段。

三、喜岩堇菜複合群之單套型分布狀況

由最小網狀關聯圖（圖 5）推論單套型 2 應為最原始的祖先型，因為 66.7% 的單套型皆由單套型 2 衍生而來，且單套型 2 廣泛分布在 16 個族群，數量佔總樣本比例 54.4%。

自單套型 2 衍生的單套型 3、5、9、11 包含了地理訊息，單套型 3 分布在雪山、南湖一帶；單套型 5 分布在基那吉、鳶峰、思源埡口等北部區域；單套型 9 分布在小鬼湖、上東埔、向陽等南部區域；單套型 11 分布在上東埔、向陽等南部區域。推論單套型 3、5、9、11 是較早衍生出的，已經歷了一段時間，故可傳播至較相近的區域。

但單套型 7 可分布在北部的福巴越嶺、南部的小鬼湖及東部的和平林道，其跨越地理尺度大，且為不連續分布，推測其應為遺留之古老單套型。根據日月潭湖底沉積之孢粉化石記錄推估，在最後一次冰河時期時，當地氣溫比現在低約 8~11°C（Tsukada, 1966），以海拔每上升 100 公尺氣溫會下降 0.6°C 來推算，位於海拔 745.5 公尺的日月潭當時相當於現今海拔 2000~2500 公尺，因此在冰河期與間冰期交替過程中，喜岩堇菜複合群在不同海拔間上下移動，溫度改變的選汰力量可能致使原本分布於中間的族群消失，使單套型 7 在現今呈現不連續的地理分布（圖 7）。

單套型 1、4、8、10、12、15、16、17 均各自侷限分布在特定一族群中（表 9），與祖先型 2 僅差一步，推測應為近代衍生出的 rare alleles，由於經歷的時間不夠久，因此仍各自侷限一地，尚未開始向外散佈。

四、喜岩堇菜複合群族群變動歷史

NJ tree (圖 9)、MP tree (圖 8) 與最小關聯網狀圖 (圖 6) 呈現之結果一致，為一典型星狀結構 (star-like phylogeny)。基因樹的結構可以反應出族群演化的過程，可推知族群是否受到天擇的作用或是族群大小變動 (demographic variables) 的過程。若一族群經歷過瓶頸效應致使原有遺傳變異減少，再經歷族群擴張事件累積新的變異，但新的變異頻率仍低，因此會形成星狀結構 (Page and Holmes, 1998)。

喜岩堇菜複合群之核苷酸歧異度 (π) 為 0.00088，單套型歧異度 (h) 為 0.682，屬於 Grand and Bowen (1998) 推估之第二種情況 (具有低的 π 及高的 h)，可能族群早期曾發生瓶頸效應，且一直維持低度的有效族群數量，之後族群快速擴張，然而其經歷時間所累積的變異僅使單套型種類增加，卻不足以在核苷酸序列中累積出大量的差異，因此核苷酸歧異度低。

由 Tajima's D test 可推測族群大小變動狀況，正值代表近來族群處於縮減階段 (Merriwether *et al.* 1991; Rogers and Harpending 1992)，負值代表族群最近經歷過擴張事件 (Harding *et al.*, 1997; Hey 1997; Clark *et al.*, 1998; Zietkiewicz *et al.*, 1998)。合併所有樣本測得之 Tajima's D 值為顯著負值，僅計算喜岩堇菜之 Tajima's D 值亦為顯著負值；在族群變異分布測驗中為單峰分布 (圖 10A)，分成兩個類群來看亦皆呈現擴張趨勢 (圖 10B、10C)，均支持喜岩堇菜複合群近期經歷過族群擴張的事件。且在圖 5 中可見，大部分單套型與單套型 2 僅差一步，顯示這些變異是在短期內累積，不足以累積出更多步數的差異，印證 Tajima's D test 之結果：族群快速擴張產生大量突變，但演化時間不夠久，這些少數的 mutations 不足以累積數量。

堇菜屬植物的生殖機制支持其為容易快速擴張的類群。Wang and

Huang (1991) 研究結果顯示堇菜屬植物的繁殖力驚人，不僅在冬季至春季之間形成明顯的開放花 (chasmogamous flower) 行異花授粉，其餘季節則產生小而不明顯的閉鎖花 (cleistogamous flower) 行閉花授粉，一年可結實多次，種子數量多，且閉鎖花產生種子的數量又遠多於開放花 (Valentine, 1962; Clausen *et al.*, 1964)。此類植物雖不具有長距離傳播之機制，但利用果實爆裂的機械力量先將種子彈出，再由螞蟻搬運的方式 (Beattie and Lyons, 1975; Beattie, 1978; Culver and Beattie, 1980; Wang and Huang, 1991) 可達數公尺的距離 (Beattie and Lyons, 1975)。

伍、結論

在形質分析中，由區別分析、歸群分析及 ANOVA 的結果，可知雪山堇菜與喜岩堇菜有分化為兩群之趨勢，但在可資鑑別的特徵中，其變異範圍在兩類群間仍有部分重疊。

在分子資料中，由最小關聯網狀圖中推論雪山堇菜應衍生自喜岩堇菜，且喜岩堇菜複合群近期經歷了族群擴張。綜合形質與分子資料，顯示兩類群間低度分化較可能為分化歷史短，仍處於譜系揀選不完全的階段中。

本研究結果支持維持台灣植物誌第二版的 (Wang and Huang, 1993) 類處理：雪山堇菜處理為喜岩堇菜的一個變種。