

壹、前言

(一) 喜岩堇菜複合群分類歷史及形態概述

全世界堇菜屬(*Viola* L.)植物約 500 餘種，是林奈於 1753 年以 *Viola odorata* L. (香堇菜) 為模式種建立。堇菜屬植物分布於溫帶、熱帶與亞熱帶，以北半球溫帶地區為主；中國大陸約有 111~114 種，南北各省均有分布，大部份種類分布在西南、東北與華北地區一帶 (王, 1991; 黎, 2005); 根據台灣植物誌第二版的記載，台灣產堇菜屬植物共有 18 個分類群 (15 種 3 變種) 及一個疑問種 (Wang and Huang, 1993)。

台灣產堇菜屬植物均為多年生草本，單葉，互生，具托葉；花腋生，單一，兩性花，兩側對稱；花瓣 5，位於最基部的花瓣往後延伸形成花距；在花梗近中央處有兩片近對生之小苞片；雄蕊 5，其頂端具膜狀附屬片；子房上位，3 心皮；蒴果，3 瓣裂。

喜岩堇菜 (*V. adenothrix* Hayata) 隸屬於堇菜屬之匍匐莖群 (Serpentes)，最早由 Hayata 在 1913 年發表於台灣植物圖譜 (Icones Plantarum Formosananarum)。Nakai 在 1922 年將 *V. brachycentra* 併入此類群，並更動為 *V. royleana*；Sasaki 在 1928 年將其變更為 *V. rupicola*，此後學者多沿用之；直到 Hashimoto 在 1959 年將 *V. kosanensis* 併入此類群，並改回 *V. adenothrix*；Hsieh 在 1977 年又使用 *V. rupicola*；Wang 於 1988 將其更正為 *V. adenothrix* 並沿用至今。

雪山堇菜 (*V. adenothrix* var. *tsugitakaensis* (Masamune) Wang & Huang)，最早由 Masamune 在 1930 發表為 *V. tsugitakaensis*，其後學者一直沿用此學名，未做任何分類地位的變更。直至王 (1988) 將其與 *V. adenothrix* 作詳細比對後，發現兩者極相似，將 *V. tsugitakaensis* 作階級上的更動，處理為喜岩堇菜的一個變種，台灣植物誌第二版亦維持此處理；然而在台灣維管束植物簡誌中，劉等 (2000) 認為 *V. tsugitakaensis*

僅為 *V. adenothrix* 之同物異名；黎（2005）則認為雪山堇菜應維持種的階級，故使用 *V. tsugitakaensis*。分類上分歧的看法顯示兩類群間界線之劃定存有值得進一步探究的空間。

喜岩堇菜與雪山堇菜皆為台灣特有類群（endemic taxa），在外部形態上十分相似，相同處為：皆具匍匐性之地上莖；葉片橢圓形至卵狀橢圓形或卵狀心形，葉先端銳尖，基部心形，淺圓鋸齒緣，葉基兩側近齒緣（subdentate），不具葉翼，葉長 1-5 cm，寬 1-4 cm，葉柄長 1-15 cm；托葉卵形至披針形，先端漸尖，具緣毛或細長之不規則裂片先端。花色白，基瓣與側瓣帶深紫色脈紋，花瓣五枚，花瓣倒卵形至倒披針形，基瓣先端截形或略凹；萼片披針形，先端銳尖，全緣；花柱頂端正面為三角形，柱頭腔開口近似圓形；喜岩堇菜花粉粒 $20\sim 25 \times 21\sim 24 \mu\text{m}$ ，雪山堇菜花粉粒 $22\sim 26 \times 21\sim 24 \mu\text{m}$ ，大小幾近相同，皆為三溝孔型；花距長度約 2 mm，丸形（Wang and Huang, 1993）。

次級代謝物化學成分分析之結果也顯示二者關係極為密切（王，1988），台灣產堇菜屬植物共包含三大類的類黃素（flavonoids）分子，而喜岩堇菜與雪山堇菜均只含 C-glycosyl flavones 類之化合物。在細胞分類學方面（Wang, 1988），台灣產堇菜屬植物在不同群（group）中的染色體數目有差異（ $n=6, 10, 11, 12, 13, 24, 36, 37$ ），而此兩類群具相同數目之染色體（ $n=12$ ），顯示親緣關係可能較為接近。

在生育環境方面，喜岩堇菜分布於中海拔，約 1000 ~ 2500 m，性喜潮濕環境，多生育在森林邊緣或較陰暗處，在有遮蔭的潮濕邊坡常見喜岩堇菜成片蔓延；而雪山堇菜則生長於高海拔，約 2500 ~ 3900 m，與喜岩堇菜之棲地有小部份重疊，多生育於開闊岩屑地。

在台灣植物誌第二版的處理中，用於區分喜岩堇菜與雪山堇菜的檢索特徵為葉的質地及側瓣基部鬚毛之有無，然此二特徵並非截然可分，而具連續性變化，加上兩類群的葉形變化大，故存在許多區辨不易的中

間型個體。根據形態、細胞學、化學分析上的相似性，認為喜岩堇菜與雪山堇菜為一種複合群（species complex）。

（二）複合群研究背景及方法

「種複合群」泛指近緣物種因外部形態變異大且多有重疊，致使類群間的界線模糊不清，根據少數特徵雖可將形態極端之個體區分開，但形態特徵有重疊之個體卻難以鑑定。「種複合群」亦用於描述多個種下分類單元構成的集合，例如 *microspecies*, *agamospecies*, 以及 *semispecies* 集合構成的物種（Fosberg, 1942；Sylvester-Bradley, 1952；Davis and Heywood, 1963；Northington, 1976；Grant, 1981）。

造成複合群形態複雜難分的原因常為有多倍體化（polyploidization）及雜交（hybridization）現象存在（Stebbins, 1974；Grant, 1981），因此早期在複合群的研究主要著重在觀察染色體數目、染色體在減數分裂的配對情形及形態特徵的研究（Lovis, 1977）。

由於複合群形態差異小，近期研究常利用量測多個形態特徵進行形質分析（morphometrics），並應用不同的單變數（univariate methods）及多變數分析（multivariate analyses）進行統計分析。例如，Whang（2002）利用典型區別分析（canonical discriminant function analysis, CDA）、變異數分析（ANOVA）、多重比較測試（multiple comparison test）及歸群分析（cluster analysis, CA）研究山苦菜複合群（*Ixeris chinensis* complex.）；Otieno *et al.*（2006）利用主成分分析（principal component analysis, PCA）、CA及區別分析（discriminant analysis, DA）研究 *Hemizygia bracteosa* complex。

形質分析學（morphometrics）是使用生物的計數形質（meristic character）及非計數形質（non-meristic character）來代表生物形態的生長表現，進而利用統計方式來表示族群生物間的差異（Moltschaniwskyj,

1995)。應用於植物系統分類方面之形質分析，測量特徵涵括營養器官及生殖器官，例如葉長、葉寬、節間長度、花瓣長、花序包含小花數...等，亦有為消除因生長時期不同或生育環境影響所造成的誤差，而使用比例呈現，例如以葉長 / 葉寬的比值代表葉形 (Marhold *et al.*, 2002)。

形質分析常應用不同的單變數及多變數分析。ANOVA (analysis of variance) 屬於單變數分析，其目的為檢定各組平均數相等的假設是否具有統計上的顯著性，是以比較變異數的方式完成。也就是將總變異分解成隨機誤差所造成 (組內平方和, MS_{error}) 以及與平均數差異所造成 (組間平方和, MS_{effect}) 兩部份。將後者除以前者，若比值很大，表示與平均數差異所造成的影響遠大於隨機誤差，則拒絕各組平均數沒有差異的虛無假設，而接受各組平均值間有差異的對立假設 (陳, 2005)。

區別分析 (DA) 屬於多變數分析，適用於以連續變數 (自變數) 來描述類別變數 (應變數) 時的分類方法，主要目的是了解群體 (類別變數) 間的差異。線性區別分析是常用方法之一，它先利用連續變數建立區別規則 (區別函數)，由區別規則對個體作分類，預測每個個體屬於各群組的可能機率 (如驗後機率)，然後將它歸類在發生機率最高的群體 (陳, 2005)。

歸群分析 (CA) 屬於多變數分析，其原理是將觀測值依其相似性或同質性分成數群的方法，使每群內個體間差異小，而群間之個體差異大。相似性的測定則利用個體間最短距離大小來衡量 (沈, 2007)。

隨著分子技術的進步，許多複合群研究應用了 AFLP、allozyme、isozyme、RAPD、DNA sequencing 等方法 (e.g., Jorgensen *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2004; Ebihara *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 2008)，亦有複合群研究同時使用形質分析與分子方法 (e.g., 林, 2006; Marcussen, 2003)。

植物細胞包含三種不同之基因組，分別為粒線體 DNA (mtDNA)、葉綠體 DNA (cpDNA) 與細胞核 DNA (nrDNA)，其中葉綠體 DNA 與

粒線體 DNA 大部份為單系遺傳，但植物粒線體 DNA 易產生基因重組，較不適用作為探討物種親緣的分子標記。葉綠體 DNA 為單套，缺乏基因重組現象，亦多為單系遺傳，由於不受花粉交換造成的基因交流所干擾，通常比核 DNA 呈現清楚的遺傳結構 (McCauley, 1995)，其所推論的基因樹 (gene tree) 常趨近於物種樹 (species tree)，較核 DNA 更適於探討物種親緣關係。

葉綠體 DNA 大小約 120-217 kb 左右 (Downie and Palmer, 1992)，以往認為其演化較為保守緩慢，僅適合高階的系統分類探討。然越來越多研究結果顯示葉綠體 DNA 在近緣種間 (Hong *et al.*, 1993; Abbott *et al.*, 1995; Wolf *et al.*, 1997) 或者族群間 (McCauley, 1994; Le Corre *et al.*, 1997; Forcioli *et al.*, 1998; King & Ferris, 1998) 具遺傳變異，亦適用於近緣種間或種下階層的複合群研究。

(三) 研究問題

1. 利用形質分析探討喜岩堇菜 (*V. adenothrix* Hayata) 與雪山堇菜 (*V. adenothrix* var. *tsugitakaensis* (Masamune) Wang & Huang) 的形態差異。
2. 喜岩堇菜複合群之形態分化與遺傳上分化是否一致？
3. 由遺傳組成探討喜岩堇菜複合群的演化歷史。
4. 綜合形質分析與分子資料之結果對喜岩堇菜複合群作合宜之分類處理。