

壹、前言

一、玉山水苦賈及其相關類群的基本資料

婆婆納屬(*Veronica*)為玄參科(Scrophulariaceae)婆婆納族(Veronicae)的分類群，全世界約有 250 個種類(Tsoong and Hong, 1979)主要以北半球為分佈中心，台灣共有 10 個種(Huang and Huang, 1998)，其中玉山水苦賈(*V. morrisonicola*)、貧子水苦賈(*V. oligosperma*)與台灣婆婆納(*V. taiwanica*)為台灣特有種，玉山水苦賈和貧子水苦賈為分佈在高海拔物種，尤其以玉山水苦賈分佈海拔最高且最為廣泛(吳, 2005)。

玉山水苦賈(*V. morrisonicola*)是由 Hayata (1908)所發表，模式標本採集地點在中央山脈分水嶺。Masamune (1933)發表 *V. tsugitakensis*，採集地點在雪山。根據發表文獻描述與模式標本 *V. tsugitakensis* 與 *V. morrisonicola* 主要差異在於 *V. tsugitakensis* 具有較短的總花梗且植株形態較小於 *V. morrisonicola*。Ohwi (1934)發表了一個新類群 *V. morrisonicola* var. *kojima*e，模式標本採自於能高山。Li (1950)首先對於台灣的婆婆納屬進行分類整理，將 *V. tsugitakensis* 處理為 *V. morrisonicola* 之種下分類群 *V. morrisonicola* var. *tsugitakensis*。Yamazaki (1957)將 *V. morrisonicola* var. *kojima*e 變更成為 *V. morrisonicola* f. *kojima*e。近期 Ying (1989)發表了 2 個新種 *V. taiwanalpina* (模式標本採集自雪山)與 *V. yushanchienshanica* (模式標本採集自玉山前山)。*V. taiwanalpina* 之主要特徵為植株矮小且蒴果為橢球狀，與 *V. tsugitakensis* 的採集地點相同。而 *V. yushanchienshanica* 與 *V. morrisonicola* 的形態差異相近；*V. yushanchienshanica* 之主要特徵為花冠筒粉紅色，植株形態較為纖細，分佈地點以玉山前山為主，另外 *V. morrisonicola* 則是分佈最廣泛的物種。Huang and Huang (1994)認為上述的分類群之形態均為一個連續性的變異，故均併入 *V. morrisonicola* (Hayata, 1908) (表一)。

根據 Flora of Taiwan^{2nd} (Huang and Huang, 1998)之敘述，玉山水苦賈的形態

特徵為多年生匍匐性草本，葉對生，倒卵形至長橢圓形，葉緣鋸齒，長約 1.5-2.5 cm，兩面被毛至無毛；總狀花序，花序長 5-6 公分，花藍紫色，萼片 5 枚，花冠筒長約 0.5 cm；蒴果扁平，心狀，先端內凹，長約 0.6 cm。分佈海拔大都在 3000 公尺以上，範圍北起雪山山脈，南至中央山脈南端。

但由原始發表文獻和模式標本之比較(表二)，各類群之間仍有值得深入探討之處，如 *V. yushanchiense* 的節間長度(1.2-3.5 cm)長於其他分類群 (0.4-2.8cm)，葉形為線形以及粉紅色的花冠筒與其他類群不同。而比較 *V. tsugitakensis* 和 *V. taiwanalpina* 的原始發表描述和實際檢閱模式標本發現此兩物種形態相似，且根據模式標本採集地點均在雪山圈谷，故可能為同一分類群，但植株高度及花序長度明顯短於 *V. morrisonicola* 和 *V. yushanchiense*，尤其橢圓狀的蒴果與 *V. morrisonicola* 和 *V. yushanchiense* 心狀蒴果大為不同。由於前人研究的樣本數過少，且根據作者實際觀察玉山水苦蕒的形態具有一定程度的差異，尤以分佈於合歡山的族群更為明顯，是否如 Huang and Huang (1994)認為的連續性變異類群，有再次探討的空間。

二、研究背景

(一) 數值分類學

近年來有許多利用數值分類學探討相近類群的研究被報導(e.g. Otieno *et al.*, 2006; 林, 2006; 曾, 2006)。此方法可將生物的形質特徵整理成為數值加以分析，並可以利用各式的分析方法如多變數分析(multivariate analysis)、歸群分析(cluster analysis)進行分群。形質分析(morphometrics)測定個體間的差異，所選取的特徵如營養器官的植株高、葉長、葉寬、節間長度等特徵或生殖器官的花序長度、果實數量、蒴果長度等特徵；也常有利用比值方法呈現，此方法可呈現出植株生長的形態，如葉長/葉寬的比值可表現葉片生長的形態特性，是單一數值所無法表示的(Marhold *et al.*, 2002)。目前常用的形質分析如主成分分析法(principle component analysis, PCA)，主要原理是由所提供的數值中選出可解釋大部分變異的變數組合，建構最後的歸群圖。歸群分析是將形態測量的數值轉換成距離，首先量測出兩兩樣本間的一個距離值，再利用此距離測量值判別相似樣本的歸群畫出樹狀圖。故形質分析可將形態相近的物種根據所輸入的資訊轉換成歸群圖，以瞭解某分類群的歸群情況。

(二) 分子分類學

分子分類學是近年來研究分類問題時，常使用的工具之一。其中可利用 DNA 片段進行研究藉由聚合酶連鎖反應(PCR, polymerase chain reaction)大量增幅所選用的片段，經過序列定序之後，可獲得大量的資料，再經由軟體的分析，如：PAUP (Ver. 4.0)、MEGA (Ver. 4.0)等軟體重建親緣關係樹，可和形態資料相互佐證比較，釐清物種分類問題，更可進一步推知其親緣遠近。目前有更多利用形態特徵和分子資料來探討分類與親緣關係的研究，例如：Albach *et al.* (2005)利用核 DNA 的 ITS 序列、葉綠體 DNA 的 *matK-trnK* intron、*rps16* intron 以及 *trnL-trnF* spacer，重建親緣關係樹，將原屬於玄參科(Scrophulariaceae)的大部分屬，併入車前草科(Plantaginaceae)，重新定義這兩個科，釐清玄參科是否為單系群的問題；另外林(2006)、曾(2006)和余(2008)也利用形態特徵和分子資料分別對台灣產的蠅子草屬(*Silene*)、附地草屬(*Trigonotis*)和堇菜屬(*Viola*)中形態相似的物種進行研究，在蠅子草屬的研究中，將產雪山圈谷的疑問種併入蓬萊蠅子草(*S. nubigena*)中，並重建玉山蠅子草(*S. morrisonmontana*)、禿玉山蠅子草(*S. morrisonmontana* var. *glabella*)和蓬萊蠅子草的親緣關係，瞭解三類群為親緣關係相近的類群，這樣的

結果也和形態特徵相互呼應。在附地草屬的研究中，台灣附地草(*T. formosana* var. *formosana*)、台北附地草(*T. formosana* var. *elevatovenosa*)在形態上具有連續性變異，而親緣關係樹則呈現類群間並無區隔但和地理區域卻具有密卻相關的結果。而堇菜屬的研究則呈現喜岩堇菜(*V. adenothrix* var. *adenothrix*)和雪山堇菜(*V. adenothrix* var. *tsugitakaensis*)在形態上具有二分趨勢，但具有中間型，而分子資料也呈現有稍微區分，但仍具有過渡帶。根據前人研究結果，結合分子資料和形態特徵是可以幫助研究者更進一步釐清分類和親緣關係等相關課題。

(三) 親緣地理學

親緣地理學為 Avise (1987)所提出關於歷史生物地理學(historical biogeography)的新觀念，主要探討地質歷史對於生物物種的演化關係，討論生物的起源中心或播遷方式的假說，藉由鑑定物種基因譜系發生的變異並配合地質事件的發生，以瞭解歷史事件的發生歷程(e.g. Albach *et al.*, 2006; Dumolin-Lapegue *et al.*, 1997)。現今的親緣地理學則因著分子技術的發展普遍以及分析理論和軟體的發展更為方便快捷，目前所研究的生物階層通常以近緣物種為主，強調此近緣物種來自於共同祖先的歷史和種內族群之間的研究。

透過親緣地理學的研究，可以瞭解地理環境變遷對於物種的影響，如族群的消長或遷移。若某一物種在冰河來臨時，生長於同一避難所(refugia)中，彼此可進行基因交流；冰河退去後此物種往多處遷移，拓殖路線漸行漸遠，加上不同的環境影響以及地理事件可能造成的隔離，而有不同的適應性，可能會造成物種的形態因不同地區而產生變化，但遺傳組成卻不一定明顯可分的情況(林, 2006; 余, 2008)。可藉由親緣關係和地理事件探討環境對於物種的影響。

在避難所的研究中，以歐洲最為興盛也最清楚，如前人研究中，利用化石證據或分子資料，指出歐洲大陸的物種具有三個共同的避難所(Cruzan and Templeton, 2000; Dumolin-Lapegue *et al.*, 1997; Magri *et al.*, 2007)。而台灣地區的研究，如利用同功異構酶(isozyme)，分別針對烏心石(*Michelia formosana*)和昆欄樹(*Trochodendron aralioides*)的研究，發現其避難所在南投一帶(Lin, 2001; Wu *et al.*, 2001)，最近更有利用DNA序列分析對長尾栲(*Castanopsis carlesii*)進行研究，發現此物種具有兩個避難所，分別在雪山山脈和台灣的東南部地區(Cheng *et al.*, 2006)。可藉由此的方法，釐清本研究中的類群是否會因為地理事件而造成隔離分化的事件。

(四) 族群遺傳學

族群遺傳學主要在探討族群內的遺傳結構或族群間的遺傳分化，進一步探討族群之間的交流情況。基因交流是否順暢，是造成族群遺傳結構重要的因素 (Schaal, 1980; Slatkin, 1987)。基因交流經由個體生殖或個體遷徙造成，此兩種力量可讓族群內或族群間產生交流。就植物而言，通常是經由種子或花粉的傳播而達到交流；若此力量無法順利進行，族群內或族群間就可能產生分化。

而影響族群遺傳結構的因素可能有天擇(natural selection)、基因交流(gene flow)、突變(mutation)、基因漂變(genetic drift)或地質事件等因素。天擇可能會造成族群內某幾個基因型的頻率增加，也可能使族群的遺傳變異逐漸趨向某些基因型。例如台灣赤楊(*Alnus formosana*)的四種同功酵素的對偶基因頻率和海拔梯度具有顯著的相關性，顯示台灣赤楊的遺傳變異受到天擇的影響(Sue *et al.*, 2000)。基因漂變通常會使某些基因型由基因庫消失，造成遺傳變異降低，基因僵化結果，在小族群中，更容易因為基因漂變而造成族群遺傳結構的影響，促使族群分化。但基因漂變的影響不僅侷限於功能性基因，對於非功能性基因也具有逢機的影響。故在族群遺傳的研究，通常所選用的 DNA 序列，以非轉錄片段為主，這樣可避免基因受到天擇影響，以符合族群的變異是隨機、無方向性的。

三、研究問題

根據前人研究，形態上仍存在著尚未解決之問題，再加上隨著分子分類學等相關學說的提倡，可得到更多的資料和傳統的形態分類互相對應；並可利用分子資料去探討遺傳結構，進一步探討地理事件的影響。且近年有越來越多的研究採用分子資料來探討分類上的問題(e.g. 林, 2006; 曾, 2006; 余, 2008)或是隱藏種(e.g. Fernandez *et. al.*, 2006)的相關問題，具有高度的解析力。故本研究將利用形態特徵和分子證據進行玉山水苦蕒的相關研究，並提出下列問題：

1. 利用形質分析和分子資料重新檢驗玉山水苦蕒的分類地位處理為單一個分類群是否合宜？
2. 若非單一分類群，則形態上的差異為何？由分子資料和形態特徵的歸群是否一致？而各類群間的親緣關係為何。
3. 在各類群中的不同族群，是否在族群間具有分化，其原因為何？

貳、研究材料與方法

(一) 研究材料

本研究所需材料，參照各標本館的採集記錄，親自前往各採集地點收集，或來自於研究伙伴的贈與。部分的新鮮材料在野外先以矽膠進行快速乾燥，或帶回之後立即置於超低溫冷凍櫃備用，作為分子研究分析材料來源；並做成證據標本存放於國立台灣師範大學生命科學系標本館(TNU)。

觀察其他國內各大標本館之臘葉標本檢視之標本館及其代稱如下：中央研究院生物多樣性中心植物標本館(HAST)、國立自然科學博物館植物標本館(TNM)、臺灣林業試驗所植物標本館(TAIF)、國立臺灣大學植物標本館(TAI)。

(二) 研究方法

A. 形質分析

研究中所觀察記錄的臘葉標本，描述以成熟器官為主，共測量 167 份標本（表三），9 個外部連續性特徵及 3 個比例值。形質分析特徵的選用，參考前人研究的主要判別特徵進行取捨，利用電子游標尺測量各部特徵，最小單位為 mm，所得到的測量值，利用軟體 JMP 5.0.1 (Sall *et al.*, 2001) 進行分析。在單一變數部分，利用變方分析(analysis of variance, ANOVA)的結果若有顯著差異，即進行平均值檢測，成對均值比較採 Tukey's honest significant difference (HSD)，以瞭解各類群是否有顯著差異。另外利用主成分分析(PCA)及歸群分析(cluster analysis)進行分析。主成分分析原理為將原始數值轉換成為相關係數矩陣(correlation matrix)，計算特徵值(eigenvalue)、特徵向量(eigenvector)、成分貢獻率(percent)和累積貢獻率(cum percent)，將所得分數畫成 X-Y 座標圖；歸群分析計算兩兩觀測值的平均距離，檢測個體間的相似性後，畫成樹狀圖。所有分析的顯著水準(α)均設為 0.05。測量特徵如下：

- (1) 葉長：測量花序以下第一片葉片之長度。
- (2) 葉寬：同(1)的相同葉片最寬處。
- (3) 葉片長寬比：(1)/(2)。
- (4) 節間長：以花梗以下第一節為測量處。
- (5) 總花梗長度：花梗具有果實代表成熟，測量由花梗基部至花序頂端。
- (6) 花序長度：由第一朵花至花序頂端的長度。
- (7) 花梗長度：(5)-(6)。
- (8) 花序長/總花梗長：(6)/(5)。
- (9) 苞片長度：以第一朵花的苞片為主。
- (10) 萼片長度：測量第一朵花的最長萼片。
- (11) 果實數量：測量(5)的所有果實數量。
- (12) 果實數量/花序長度：(11)/(6)。

B. 分子資料

採集不同地區的族群進行實驗，採集地點與樣本數量如表四，植株間相隔至少 5 公尺以上。

另外自 NCBI 資料庫(National Center for Biotechnology Information)中下載

Veronica 目前已知的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段加入分析，建構此屬的親緣關係樹，瞭解其親緣關係，所下載序列如表五。

實驗操作步驟如下：

1. DNA 萃取

以 Viogene® 之 Plant Genomic DNA Mini prep System Kit 進行 DNA 萃取。

2. PCR 反應 (polymerase chain reaction)

(1) 引子 (primer) 的選擇

根據前人所分析的結果 (Shaw, 2005 ; 2007)，將葉綠體 DNA 的非轉錄區域，依據變異位點的多寡分成三型。在親緣關係研究中，本實驗經過測試選用 *trnL* intron 與 *trnL-trnF* (Taberlet *et al.*, 1991) 作為探討的片段；在族群結構的研究中，選用核 DNA 的 ITS 片段 (Internal Transcribed Spacer) (White *et al.*, 1990) 和葉綠體 *trnD-trnT* 片段中的重複片段區域 (tandem repeat)，作為探討的片段 (在引子測試中發現此片段存在 AT 的重複區域，具有次數上的差異，但此片段僅有此區域具有差異，故特別設計僅包含重複片段的引子)，所設計的引子如表六。

(2) PCR 試藥與濃度

每個 PCR 反應總體積為 15 μ L，各試劑及使用濃度如表七。

(3) PCR 反應步驟

利用溫度循環器 (thermol cycling) 進行，採用溫度週期如下：

- a. 以 94 $^{\circ}$ C 處理 5 分鐘，使雙股 DNA 變性。
- b. 再以 94 $^{\circ}$ C 30 秒 (變性溫度)、56 $^{\circ}$ C 30 秒 (鏈合溫度)、72 $^{\circ}$ C 50 秒 (延長溫度)，進行 38 次的擴增循環。
- c. 保持 72 $^{\circ}$ C 處理 5 分鐘，之後降到室溫。
- d. 置入 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存，等待定序。

3. 產物定序及整理

(1) DNA 序列方面

以電泳檢測 (electrophoresis) 檢測 PCR 的結果及濃度，確定其產物長度正確之後，送至基龍米克斯生物科技股份有限公司定序，所使用機器為 ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)。定序結果，利用 BioEdit (Hall, 1999) 軟體進行人工判讀以檢閱確認，並將所收集的資料，以 NCBI 網站中的 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/wblast2.cgi>)，進行比對，判別序列的正確性。

利用BioEdit軟體中的Clustal W程式進行多段序列的比對排列，並刪除無法比對的前後片段，以FASTA檔案格式儲存，再利用DnaSP 4.50.3 (Rozas *et al.*, 2003)轉換存成MEGA、NEXUS或Arlequin檔案格式。

(2) 重複片段方面

以電泳檢測(electrophoresis)檢測PCR的結果及濃度，確定其產物長度正確之後，送至台灣師範大學生命科學系族群遺傳實驗室，利用基因型鑑定方法，判別其序列長度。所得結果以MegaBACE 2.2軟體判讀正確長度，將所得的長度轉換成基因型(allele)編碼。

4. 資料分析

(1) DNA序列

a. 親緣關係的重建(distance matrix method)

利用葉綠體DNA片段，進行玉山水苦蕒及其相關類群再加上NCBI所提供的資料建構其親緣關係。另外針對玉山水苦蕒的各基因型進行親緣關係的重建，所選用的片段包含葉綠體和核的DNA片段。

根據距離矩陣與判別差異的原理，利用PAUP 4.0* (Swofford, 1998)以及MEGA 4.0軟體(Tamura *et al.*, 2007)建立親緣關係樹。DNA資料用於親緣關係利用的研究，主要可以分成計算距離矩陣(distance matrix method)與特徵差異的判別(discrete character method)。本研究將分別利用兩種的原理建構樹狀圖，前項採用的為Neighbor joining (NJ)方法，以Kimura's 2-parameter (Kimura, 1980)的模式計算演化距離；資料分析與樹狀圖的建構則利用MEGA 4.0進行分析，Bootstrap的次數為500次。後項的方法為Maximum parsimony (MP) (Hennig, 1965)，利用PAUP 4.0*的軟體進行分析，將Gap當作第5特徵，Bootstrap的次數為500次。

在親緣關係的外群中，本研究選用爬岩紅(*Veronicastrum axillare*)當作外群，而在玉山水苦蕒各基因型的親緣關係，參照親緣關係的樹狀圖，選用貧子水苦蕒(*V. oligosperma*)和*V. officinalis*當作外群。

b. 分歧時間的推估

利用葉綠體DNA進行玉山水苦蕒及其相關類群的分歧時間推估，藉由BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) 1.4.7 (Drummond and Rambaut, 2007)，利用Markov Chain Monte Carlo (MCMC)方法計算，

選用的核苷酸取代模式為HKY+G，計算的次數為10,000,000，並重複計算2次，提高計算之正確性，再將資料由Tracer 1.4 計算出分歧時間，可推估其最近共祖(TMRCAs)。本研究所使用的核苷酸置換率為 $1 \times 10^{-9} - 3 \times 10^{-9}$ for synonymous rate site/year (Wolfe *et al.*, 1987)。

c. 遺傳多樣性與遺傳結構分析

利用葉綠體DNA及核DNA的ITS片段探討玉山水苦蕒的族群遺傳結構，所檢測的方法如下：

I. 族群變異檢測

以DnaSP軟體計算族群內、種內的多樣性指數，主要計算核苷酸歧異度(nucleotide diversity, π)、單套型歧異度(haplotype diversity, h)、中性假說和族群變異分佈測驗(mismatch distribution)。

藉由 π 和 h 值比較，可以推測族群的歷史(Grand and Bowen 1998)。可分成四種情況，依序如下：

第一種情況， π 和 h 值均低，表示族群受到嚴重的瓶頸效應(bottleneck)或創始者效應(founder event)，族群由少數個體成長而來，經歷的時間無法累積變異程度，族群大都由相同的基因型組成。

第二種情況， π 和 h 值均高，表示族群為一個穩定的大族群，有效族群數量維持在一定數量，對於環境衝擊有一定的抵抗力量，不會降低其基因型歧異度和核苷酸歧異度。

第三種情況，低的 π 值和高的 h 值，表示族群經過瓶頸效應之後快速擴張，經歷的時間可以累積不同位點的變異，增加其基因型歧異度，但無法累積更多的突變在此族群中(Avise, 1994)。

第四種情況，高的 π 值和低的 h 值，可能為兩個獨立的族群因環境改變而遷移至同一地點成為一個族群，或一個數量巨大且穩定的族群經歷嚴重的瓶頸效應所產生的現象(Planes and Doherty, 1997)。

中性假說的理論基礎為遺傳變異是否存在於族群中，而大部分是受到隨機的遺傳漂變影響，不受到天擇，故核苷酸變異只受到突變率的影響，由DnaSP軟體中的Tajima (1989)的D test，檢測中性假說，當檢測值為負值且具顯著差異，則可能曾經發生族群擴張的現象。

族群變異分佈測驗(mismatch distribution)，原理為計算族群內任兩樣

本間的核苷酸序列差異(pairwise difference)在統計上的分佈情況，藉由族群的遺傳多樣性資料，推估其族群變動的歷史。在mismatch analysis的圖譜，中若族群曾經發生過快速擴張，會呈現單峰型(uni-model)，若族群為穩定狀態，則呈現出多峰型(multi-model) (Rogers and Harpending, 1992; Rogers, 1995)。

II. 親緣網狀圖建立

利用Arlequin 3.1.1 (Excoffier *et al.*, 2005)的minimum spanning network (MSN)，構築網狀關連圖，以瞭解各基因型之相連關係。

III. 族群變動歷史

利用核DNA的ITS片段，以BEAST 1.4.7計算Bayesian Skyline，次數為10,000,000，所選用的核苷酸取代模式為GTR+G+I，利用Tracer 1.4建構出Skyline圖形，套入核苷酸置換率，推估族群變動歷史，本研究所使用的核苷酸置換率為 $5 \times 10^{-9} - 3 \times 10^{-8}$ for synonymous rate site /year (Wolfe *et al.*, 1987)。

IV. 族群基因交流探討

將序列檔案利用DnaSP轉檔為Arlequin格式，利用Arlequin軟體計算族群分化指數(F_{ST})和AMOVA)。

當 $F_{ST} < 0.05$ 代表幾乎無分化； $0.05 < F_{ST} < 0.25$ 代表低度到中度分化； $F_{ST} > 0.25$ 代表高度分化(Wright, 1965)。利用 F_{ST} 值，經由 $F_{ST}=1 / (1+2Nm)$ (單套型)， $F_{ST}=1 / (1+4Nm)$ (雙套型)公式，計算出基因交流(Nm)值。由AMOVA(analysis of molecular variance)分析，可用來評估在族群內、族群間、地理區域間族群的變異分佈。

(2) 葉綠體 DNA 重複片段

以MegaBACE 2.2軟體判讀正確長度，轉換成為基因型(allele)，利用Genepop Web Service 3.4 (<http://genepop.curtin.edu.au/>) (Rousset, 2008)計算族群分化指數(F_{ST})，並繪製各族群的基因型分佈狀況。

參、結果

(一) 玉山水苦賈及其相關類群形質分析及親緣關係

A. 形質分析

本研究共測量 167 份標本，包含玉山水苦賈 131 份、雪山水苦賈 25 份和玉山前山水苦賈 11 份。由 ANOVA 分析(表八)，此三類群在 7 個連續性外部特徵：葉片長度、葉片寬度、節間長度、總花梗長度、花序長度、花梗長度和果實數量，以及 3 個比例值：葉片長寬比、花序/總花梗長度和果實數量/花序長度均具有顯著差異($P < 0.001$)；在苞片長度和萼片長度則無顯著差異。

HSD 檢測 (圖一 A~L)和 ANOVA 分析(表八) 顯示，葉片長寬比和節間長度可明顯區分成三型。在葉片長度、總花梗長度、花序長度、花梗長度、果實數量、花序/總花梗長度和果實數量/花序長度等特徵，則將玉山水苦賈和玉山前山水苦賈歸在同一型；而葉片寬度則將玉山前山水苦賈和雪山水苦賈歸在同一型。在苞片長度玉山水苦賈為 A 型，玉山前山水苦賈為 B 型，雪山水苦賈則是同時具有 A、B 兩型。另外在萼片長度則無法將此三類群區分。根據上述結果，玉山水苦賈和玉山前山水苦賈的形態較為相近，而雪山水苦賈則與此兩者較不相同。

根據測量平均值(表九)，在玉山水苦賈的形態差異較大，如總花梗長度、花序長度、苞片長度、萼片長度和果實數量的變異範圍均較其他兩類群大，另外根據作者實際觀察，在苞片和萼片長度中，雪山水苦賈(4.85 ± 0.17 mm、 4.08 ± 0.20 mm)和玉山前山水苦賈(3.90 ± 0.17 mm、 3.81 ± 0.09 mm)相對於玉山水苦賈(5.22 ± 1.30 mm、 4.22 ± 0.69 mm)變異穩定，檢視玉山水苦賈測量樣本發現分佈於合歡山一帶的樣本，可分成苞片長度(7.27 ± 2.47 mm)、萼片長度(5.57 ± 0.85 mm)均明顯大於平均值和小於或接近平均值兩類型，而其他特徵則無明顯差異。

在主成分分析中(表十)，相關係數矩陣的第一軸可解釋的變異量為 55.45%，前二軸可解釋的累積變異量為 66.85%，前三軸可解釋的累積變異量為 77.37%。第一軸的向量特徵最高的為花序長度、總花梗長度、葉片長度和果實數量，第二軸的特徵向量最高的為苞片長度、萼片長度和果實數量/花序長度，第三軸的特徵向量最高的為花梗長度和葉片長寬比。由第一軸可將此三類群區分為玉山水苦賈和玉山前山水苦賈以及雪山水苦賈組成的兩個部分；第二軸則將玉山水苦賈與玉山前山水苦賈區分(圖二)。由上述結果大致可以區分成兩大群，一群是包含玉

山水苦賈和玉山前山水苦賈，另外則是雪山水苦賈獨立一群。

歸群分析顯示(圖三)，大致可以分成兩群，一群由玉山水苦賈和玉山前山水苦賈合併而成，另外則為雪山水苦賈。但有少數樣本參雜於其他類群中，如玉山前山水苦賈有 2 個樣本參雜於玉山水苦賈中；雪山水苦賈也有 2 個樣本參雜於玉山水苦賈中。

由形質分析結果，本次研究的物種大致可分成兩大群，測量的各項平均值與原始描述稍有不同，但檢視其模式標本和原始發表文獻，所選取的樣本形態特徵均可符合原始發表文獻，在玉山水苦賈和玉山前山水苦賈所建構的群集中，雖無法明確將此兩種明顯分群，但在 HSD 檢測中，還是有許多特徵可以將此兩種區分。故本研究支持將 Huang and Huang (1998)認定的玉山水苦賈訂正為兩個種及一個變種，分別是玉山水苦賈(*V. morrisonicola*)、玉山前山水苦賈(*V. morrisonicola* var. *yushanchienshanica*) 和雪山水苦賈(*V. tsugitakensis*)。

B. 分子資料

本研究選用葉綠體 DNA 的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段作為此三類群間親緣關係的研究。

1. 序列分析

葉綠體 DNA 方面(表十一)，*trnL* intron 片段共增幅 171 個樣本，長度為 511–517 bp，具有 4 個基因型，有變異位點 12 個，parsimony informative site 具有 7 個，缺失或插入(indel)有 2 個(長度為 1 及 5 bp)，基因型歧異度(haplotype diversity, h)為 0.294，核苷酸歧異度(nucleotide diversity, π)為 0.00416。4 個基因型中(表十二 A)，雪山水苦賈的所有樣本均為單一基因型(type_2)；玉山水苦賈和玉山前山水苦賈則共享其餘基因型。*trnL-trnF* 片段共增幅 171 個樣本(與 *trnL* intron 片段使用相同樣本)，長度為 348-376 bp，具有 4 個基因型，有變異位點 24 個，parsimony informative site 具有 7 個，缺失或插入有 2 個(長度為 9 及 10 bp)，基因型歧異度為 0.534，核苷酸歧異度為 0.01487。4 個基因型中(表十二 B)，雪山水苦賈和玉山前山水苦賈各自具有獨特基因型(type_3 和 type_4)，主要是由插入和缺失形成。

2. 玉山水苦賈及其相關類群親緣關係研究

a. 親緣關係重建

本研究所選用的樣本總計為 88 個分類單元(operational taxonomic units, OTUs)，其中包含台灣產婆婆納屬的其他物種，合併兩片段長度約為 800 bp，整理去除無法判別區域之後長度約為 450 bp。其中包含玉山水苦賈的兩個基因型以及玉山前山水苦賈和雪山水苦賈三個分類群，其餘的婆婆納屬物種序列來自於 NCBI 資料庫，物種名稱與編號如表五，選用爬岩紅(*Veronicastrum axillare*)為外群。由 NJ 方法所建構的樹狀圖(圖四)，玉山水苦賈的兩個基因型與玉山前山水苦賈在同一個分支上，這分支尚包含 *V. officinalis*，bootstrap value 為 72，上述三物種再與 *V. allioni* 合併為一個分支，bootstrap value 為 92，顯示此 4 個物種為親緣關係相近的類群；雪山水苦賈則分佈於不同的分支上與 *V. urticifolia*、*V. bellidioides* 和 *V. alpina* 等物種親緣關係較相近。由 MP 方法所建構的樹狀圖(圖五)結果相近，玉山水苦賈和玉山前山水苦賈在同一分支之上，包含 *V. officinalis*，bootstrap value 為 61，再與 *V. allioni* 合併為一個分支 bootstrap value 為 90；雪山水苦賈則與其他物種成為另一個分支，顯示

雪山水苦賈親緣關係與玉山水苦賈和玉山前山水苦賈的親緣關係較為疏遠。

再進一步探討台灣產三個分類群不同基因型的親緣關係，可分成 15 個族群，所選用的外群為 *V. oligosperma*，並將 *V. officinalis* 一起加入分析，其中玉山水苦賈具有 11 個族群，玉山前山水苦賈有 2 個族群，雪山水苦賈有 2 個族群，共計 26 個樣本數。其中大霸尖山為三者共有分佈的地點，玉山前山為玉山前山水苦賈和玉山水苦賈共有分佈地點；雪山圈谷為雪山水苦賈和玉山水苦賈共有分佈地點。建構的樹狀圖以每一個族群的每一個基因型為代表。

由 NJ tree (圖六)結果，玉山前山水苦賈自成一個分支，bootstrap value 為 85，再與玉山水苦賈成為一個分支，bootstrap value 為 89。在玉山水苦賈中，除了在大雪山林道與桃山的兩個代表個體(MDS07 和 MTS08)具有獨特的基因型之外，各族群之間差異甚小，大致可以區分成兩個分支，但此分支僅具有 1 個 bp 的差異。在雪山水苦賈中，雪山圈谷的族群和玉山水苦賈雖具有共域分佈，但在親緣關係差異甚遠，顯示此兩個分類群為獨立的物種。MP tree 的結果(圖七)，合併 bootstrap value 低於 50 的分支，結果和 NJ tree 相似。

b. 分歧時間推估

根據 BEAST 所計算的值，再套入葉綠體 DNA 的置換率($1\sim 3 \times 10^{-9}$ site/year)，利用 171 個樣本所得出的結果顯示，此三類群的分歧時間為 1.36 百萬年(0.91~2.72 百萬年間)；玉山水苦賈和玉山前山水苦賈的分歧時間為 0.25 百萬年(0.17~0.51 百萬年間)。

由上述結果，雪山水苦賈與其他兩物種的親緣關係有明顯的遺傳距離，分化時間也較兩物種久遠，顯示雪山水苦賈非最近緣物種；而玉山水苦賈和玉山前山水苦賈則為最近緣物種。

(二) 分類處理

根據形質分析和分子資料結果，本研究將 Huang and Huang (1998)認定的玉山水苦賈訂正為玉山水苦賈(*V. morrisonicola*)、玉山前山水苦賈(*V. morrisonicola* var. *yushanchienshanica*)和雪山水苦賈(*V. tsugitakensis*)。其檢索表如下：

- 1. Lamina shorter than 10 mm, wide short than 4 mm, internode short than 7 mm, seed number 3-5 *V. tsugitakensis*
- 1. Lamina longer than 15 mm, wide long than 5 mm, internode long than 18 mm, seed number more than 10
 - 2. Leave obovate, internode 15-20 mm, corolla blue to purple..... *V. morrisonicola*
 - 2. Leave linear, internode 20-30 mm, corolla pink.....
..... *V. morrisonicola* var. *yushanchienshanica*

(三) 玉山水苦蕒之族群遺傳探討

本研究選用葉綠體 DNA 的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段，核 DNA 的 ITS 片段和葉綠體 DNA 的 *trnD-trnT* 片段中的重複序列片段，探討玉山水苦蕒的族群遺傳關係。族群可分成中北部和南部族群，中北部族群包含雪山山脈的 4 個族群 (NSS)，採集地點由北到南分別為大霸尖山(MDB)、桃山(MTS)、雪山(MSS)和大雪山林道(MDS)；中央山脈的 4 個族群(NCC)，採集地點由北到南分別為南湖大山(MNF)、中橫大禹嶺(MCC)、合歡山(MHH)和能高越嶺(MNK)；南部族群的 3 個族群(SCC)，分別為玉山(MYS)、關山嶺山(MKL)、北大武山(MBT)的 3 個族群。

A. DNA 序列

1. 序列分析

葉綠體 DNA 的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段共增幅 142 個樣本，共計 11 個族群(表四)，合併長度為 803-804 bp，僅具有 4 個基因型，具有 3 個變異位點，parsimony informative site 具有 1 個，缺失或插入有 2 個(1 bp)，基因型歧異度為 0.437，核苷酸歧異度為 0.00057 (表十一)，Tajima's D 值為-0.274 並無顯著差異。檢視各族群間差異，關山嶺山和北大武山族群僅具有單一個基因型，呈現基因僵化情況。

核 DNA 的 ITS 片段共增幅 146 個樣本，共計 11 個族群(表四)，長度為 729-731 bp，具有 29 個基因型，有變異位點 41 個，parsimony informative site 具有 31 個，缺失或插入有 1 個(1 bp)，基因型歧異度為 0.893，核苷酸歧異度為 0.01024 (表十一)，Tajima's D 值為 0.282 並無顯著差異。基因型變異位點組成參照表十三，檢視各族群基因型分佈情況(表十四)，僅有單一個體的基因型有 16 個，占總基因型的 55%；基因型 5、6、4、3 依序為最多樣本數之基因型，共有 91 個樣本，占總樣本數的 62%。在各族群間，桃山族群具有 13 個基因型，是多樣性最高的族群，其次為合歡山族群，分別具有 10 個基因型，而在族群特有基因型中，並沒有明顯的差異，以桃山和能高越嶺族群具最多特有基因型，但也僅具有 3 個特有基因型。

2. 各族群基因型分佈情況

檢視各族群基因型分佈圖(圖八)。主要的基因型(3、4、5、6)平均分佈於各族群中，基因型分佈情況與地理區域並無明顯相關。在中北部方面，雪山山脈的族群發現具有 9 個特有的基因型，以桃山、品田山的族群具有最高的

基因型多樣性 (13 個基因型)，且具有最多獨特的基因型 (3 個)；中央山脈的族群具有 6 個特有的基因型，合歡山的基因型多樣性最高 (10 個基因型)，但僅有 1 個特有的基因型，而能高越嶺的族群具有較多的獨特基因型 (3 個)。在南部族群，具有 2 個特有基因型。各族群基因型分佈圖顯示，雪山山脈的族群具有較高的基因型歧異度和獨特基因型，南部族群則呈現較低的歧異度及獨特的基因型。

3. 族群遺傳檢測

檢視各族群間遺傳差異，族群數量小於 5 個不探討，葉綠體 DNA 方面(表十五)，所組成的基因型僅有 4 個，基因型歧異度以合歡山族群最高($h = 0.526$)，核苷酸歧異度則以南湖族群最高($\pi = 0.00069$)；三大地理區中，以中央山脈族群的 h 和 π 值最高，但並無明顯差異。核 DNA 方面(表十六)，基因型歧異度以桃山($h = 0.933$)、能高越嶺($h = 0.914$)和雪山($h = 0.91$)的族群為較高，核苷酸歧異度以南湖大山($\pi = 0.0159$)、大霸尖山($\pi = 0.0143$)、大雪山林道($\pi = 0.0129$)較高。三大地理區中，雪山山脈族群具有最高的基因型歧異度($h = 0.906$)和核苷酸歧異度($\pi = 0.0121$)，均高於總樣本數的平均值，相較於其他兩地區，具有明顯差異；中央山脈族群的 h 值為 0.885， π 值為 0.0081；南部族群的 h 值為 0.883， π 值為 0.0082。

中性假說檢測結果如表十五和表十六，葉綠體 DNA 結果除了桃山族群呈現負值，其他均為正值；核 DNA 結果，在雪山、合歡山、能高越嶺族群呈現負值其餘均為正值。由三大地理區結果，葉綠體方面，雪山山脈族群呈現負值，其他兩地理區則為正值；核 DNA 方面，中央山脈族群呈現負值，其他兩地理區則為正值。就整體而言，葉綠體 DNA 呈現負值，核 DNA 呈現正值，但無論是族群內或地理區均無顯著差異。

根據上述結果，雪山山脈的族群具有較高的遺傳變異，尤其以大霸尖山和桃山族群的多樣性最高，中性假說檢測方面則並無顯著差異。

4. 族群變異分佈測驗

由族群變異分佈測驗結果，葉綠體 DNA 方面，除了大霸尖山、關山嶺山和北大武山族群沒有變異，無法建構分析圖，其餘的各族群皆呈現單峰分佈情況(圖九)；三大地理區和總樣本數檢測結果，也一樣呈現單峰分佈情況(圖十)。核 DNA 方面，除了玉山族群為單峰分佈，其餘皆呈現雙峰分佈情況，

但在合歡山族群較不明顯(圖十一)；三大地理區和總樣本數檢測結果，均呈現雙峰分佈情況(圖十二)。

5. 網狀關連圖

根據網狀關連圖結果，葉綠體 DNA 序列僅具有 4 個基因型，大部分個體均屬基因型 2 (71%)和基因型 1 (24%)，基因型之間僅具 1 步的差異，並無法討論基因型間的關連性。核 DNA(圖十三)結果顯示大致分成兩大群，以基因型 3、4、5、6、7、8 為主的 A 群，占總樣本數的 68%；以基因型 9、15、17、19 為主的 B 群，占總樣本數的 18.5%。表示玉山水苦賈大部分均由 A 群的基因型所構成。A 群和 B 群之間具有 16 步的差異，A 群的各基因型差異僅有 1 步，只有在基因型 6 和基因型 12 間為 2 步差異；而 B 群之中各基因型的差異大部分具有 2 步，代表 A 群的基因差異性小於 B 群。

網狀關連圖結果顯示，除在少數基因型為族群的特有基因型，但特有基因型大部分都僅由一個樣本數組成，大多數基因型之間並無明顯的族群間的隔離，大部分族群均包含此兩大群的基因型，僅有玉山族群不具有 B 群的基因型。

6. 族群變動歷史推估

由 BEAST 軟體運算再套入核 DNA 的置換率($5 \times 10^{-9} - 3 \times 10^{-8}$ site/year)所模擬的結果顯示(圖十四 A~C)，族群數量在 0.007~0.04 百萬年間具有成長趨勢，若以 DNA 的平均置換率推估則約在 0.013 百萬年，族群數量快速成長，成長的幅度約為 3 倍。若將基因型分成 A、B 兩群檢測，在 A 群結果(圖十五 A~C)，族群數量在 0.004~0.02 百萬年具有成長趨勢，若以平均置換率推估則約在 0.01 百萬年，族群數量具有明顯成長趨勢，幅度大約在 3.5 倍。在 B 群結果(圖十五 A~C)，族群在 0.03 百萬年至今，均呈現一個穩定狀態，並無明顯的變動。

7. 族群分化指數、基因交流值和 AMOVA 檢測

在族群分化指數測定，葉綠體 DNA 結果，各族群之間的分化程度大部分均屬中度分化到高度分化，表示各族群之間具有明顯的分化程度，尤其在桃山、品田山族群和大雪山族群相對於其他族群(表十七)；若以三大地理區結果，顯示中北部的雪山山脈和中央山脈的 F_{ST} 值為 0.0798，具有中度分化 ($0.05 < F_{ST} < 0.25$)，且具有顯著差異(表十八)。由核 DNA 結果，各族群並無

顯著分化(表十九)；以三大地理區結果(表二十)，顯示中北部的雪山山脈和中央山脈的 F_{ST} 值為 0.0239，具有低度分化($F_{ST} < 0.05$)，且具有顯著差異。

基因交流值結果，在葉綠體 DNA 方面，族群間的基因交流值大都在 0.5~2 之間。在核 DNA 方面，族群間均呈現 Nm 值大於 1 的情況，在三大地理區中均呈現基因交流順暢之情形。

由 AMOVA 檢測結果，葉綠體 DNA 結果(表二十一)，大部分的變異存在於族群內占 69.42%，族群間占 34.4%，且具有顯著差異。在核 DNA 結果(表二十二)，大部分的變異在於族群內占 99.17%，但不具有顯著差異。整體而言，玉山水苦蕒的遺傳變異大部分位在族群之內。

B. 葉綠體 DNA 重複片段

1. 序列分析

葉綠體 DNA 的 *trnD-trnT* 片段中的重複序列片段共增幅 147 個個體，共可分成 11 個族群（雪山和雪山圈谷族群合併討論）。可分成中北部的族群和南部的族群，中北部族群包含雪山山脈的 4 個族群，採集地點由北到南分別為大霸尖山、桃山、雪山和大雪山林道；中央山脈的 4 個族群，採集地點由北到南分別為南湖大山、中橫大禹嶺、合歡山和能高越嶺；南部族群為玉山、關山嶺山、北大武山的 3 個族群。

2. 各族群基因型分佈情況

由葉綠體 DNA 的 *trnD-trnT* 片段中的重複序列片段結果，共可分成 7 個基因型(A-G)，重複片段以 AT 形式排列，各族群大部分均由基因型 A 所組成(占 70%)，其次為基因型 C 所組成(占 14%)(表二十三)。檢視基因型分佈情況(圖十七)，桃山族群具有最高的基因型多樣性，大雪山族群則均由基因型 D 組成，而玉山、關山嶺山、北大武山的族群則均由基因型 A 組成；檢視三大地理區，雪山山脈族群具有最高的基因多樣性，且基因型 B、D、G 為雪山山脈特有基因型；而基因型 F 則僅出現在中央山脈族群；南部的三個族群則僅具有基因型 A。由基因型分佈圖顯示，雪山山脈與中央山脈均具有特有基因型，而南部族群則出現基因型較少情況。

3. 族群分化指數檢測

族群分化指數結果顯示，除了南部的玉山、關山嶺山、北大武山族群基因型皆相同，無法計算，其他個族群間大部分皆有分化，尤其以大雪山族群

相對於其他族群皆呈現出高度分化情況(表二十四)。三大地理區結果顯示(表二十五)，雪山族群和中央山脈北段族群呈現中度分化(0.0802)，而中央山脈北段和南段族群也呈現中度分化(0.1289)，但比較雪山山脈和中央山脈南段族群則呈現高度分化情況(0.2616)。

肆、討論

(一) 玉山水苦賈及其相關類群形態比較及親緣關係探討

A. 形態分析

根據 ANOVA 和 HSD 檢測結果，此三物種在葉片長寬比和節間長度可明顯分成三大群，在 PCA 分析和歸群分析大致分成兩群，但在玉山水苦賈和玉山前山水苦賈所組合的大群中，還是具有稍微的分別(圖二、圖三)，僅有少數個體較不明顯，故在形態證據支持將本研究的物種區分為三個分類群。

比較三者差異，玉山水苦賈和玉山前山水苦賈在 HSD 檢測中(表八)，大部分的特徵都為同一型，僅在葉片寬度、葉片長寬比和節間長度不同，表示此兩物種差異較不明顯，但仍然可從上述有變異的特徵及植株形態和花冠筒顏色區分兩者。植株形態上，玉山前山水苦賈較為纖細；而花冠筒顏色，在玉山水苦賈為藍色到紫色，玉山前山水苦賈為淡粉紅色是可明顯區分的。雪山水苦賈和其他兩物種的差異，主要在於植株明顯矮於其他兩者，且在葉片長度、節間長度、總花梗長度和果實數量均較兩者短或少，故此物種是可以明顯區分的。

B. 分子資料

本研究根據葉綠體 DNA 的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段所重建的親緣關係樹(圖四、圖五)，玉山前山水苦賈和玉山水苦賈為最近緣的物種，雪山水苦賈的親緣關係和其他兩者差異較遠。檢視和玉山前山水苦賈以及玉山水苦賈親緣關係較近的 *V. officinalis* 形態發現此物種的形態特徵(Alonso *et al.*, 2003)與台灣產的兩者相近，在葉片長度、葉片寬度、果實數量和花冠/花萼特徵中較為相似，顯示形態差異與分子證據是可以相互吻合的。而雪山水苦賈在親緣關係樹中和 *V. bellidioides* 較相近，檢閱其物種的形態特徵發現和雪山水苦賈較為相近，但缺乏 *V. bellidioides* 的描述資料，僅能從照片觀察中推斷此兩物種形態較為相近，顯示形態證據和分子資料是相吻合的。但 *V. officinalis* 或 *V. bellidioides* 均產自歐洲或北美，並無在東亞分佈，故台灣產的三個物種的最近緣種尚待補齊東亞分佈物種，作更深入的研究。

在前人研究中，認為玉山前山水苦賈和雪山水苦賈，僅是玉山水苦賈因環境差異而呈現的形態差異，但本研究比較形態差異和分子資料，在分子資料中，作者利用此三類群在各族群之間不同基因型所建構的葉綠體 DNA 親緣關係樹狀圖

(圖六、圖七)，雪山水苦蕒分佈於雪山圈谷和大霸尖山的個體，具有相同的基因型；玉山前山水苦蕒分佈於玉山前山登山口和大霸尖山的個體，也具有相同的基因型，且此兩分類群的基因型與玉山水苦蕒的基因型有明顯差異，代表此三類群為明確的物種。在玉山水苦蕒方面，結果雖然呈現兩大分支，但並無地理區域的關係，且檢測造成此兩分支的差異發現，此兩分支僅具 1 個位點的差異，故玉山水苦蕒在各族群的基因型近乎相同。

(二) 玉山水苦蕒形態變異探討

根據前人研究及作者觀察，玉山水苦蕒的形態變異程度較其他兩者大，尤其在葉片長度、葉片寬度、總花梗長度、萼片長度和苞片長度最為明顯，標準差均比其他兩者高出許多(表九)，顯示其形態變異範圍較大。由 PCA 分析圖(圖二)顯示，玉山水苦蕒樣本較偏離中心位置的個體中，除了一個為塔塔加的樣本，其餘均採自於合歡山區，檢視其形態資料，這些個體的總花梗長度(10.9 公分)、苞片(0.78 公分)和萼片長度(0.57 公分)均明顯高於平均值，其他特徵的平均值則相近於平均值，另外還是有採自於合歡山區的大部分樣本，形態特徵值相近於平均值，故僅有少數個體具有較大的形態差異。由分子資料結果，採自於合歡山區的樣本數共有 20 個，有 4 個是作者由形態觀察中認為差異較大的個體，但在分子資料中並無法區分出此 4 個個體和其他個體的差異，故在分子證據中是無法顯現出此差異的。本研究認為合歡山區的少數樣本可能是環境差異所造成的變化，並不足以探討其分類位階的問題。

(三) 玉山水苦賈族群遺傳探討

A. 族群遺傳檢測

根據遺傳檢測結果，葉綠體 DNA 方面，玉山水苦賈各族群的基因型歧異度為 0.437；核苷酸歧異度為 0.00057 低於前人研究的平均值($\pi = 0.00775$) (表二十六)。核 DNA 方面，基因型歧異度為 0.893；核苷酸歧異度為 0.00998 低於前人研究的平均值($\pi = 0.05262$) (表二十七)。從 Grand and Bowen (1998) 的理論中，依據基因型歧異度和核苷酸歧異度的值，分成四個情況探討，本研究中所使用的葉綠體 DNA 資料顯示，族群可能遭受到瓶頸效應($h < 0.5, \pi < 0.005$)，而在族群變異分佈檢測 (圖九、十) 也呈現相同的結果。在核 DNA 結果顯示，雖然在 π 值並沒有低於 0.005，但低於前人研究的平均值，故本研究仍然認為玉山水苦賈族群具有高度的 h 和低度的 π 值，顯示族群可能在早期受到瓶頸效應，但一直維持一定的有效族群量，之後再擴張形成。雖具有基因型的差異，但所經歷的時間無法在核苷酸序列中累積足夠的變異，造成歧異度低於前人研究平均之原因。

在 Tajima's test 結果顯示，在此兩段片段的 D 值均無顯著偏離中性假說，表示此兩片段的遺傳改變不受到天擇的選汰作用，只受到遺傳漂變(genetic drift) 的隨機影響，代表玉山水苦賈為一個族群大小逐漸穩定的物種。檢測各族群的 D 值也均無明顯偏離中性假說，顯示各族群達到突變和漂變平衡的逢機交配族群。

由 AMOVA 檢測(表二十一、表二十二)和族群分化指數檢測結果(表十七~表二十)，玉山水苦賈的遺傳變異主要來自於族群內，佔總變異的 69.4%~99.17%，且由 F_{ST} 值及 N_m 值計算，在三大地理區間的分化指數為 0.0006~0.0798，屬低度分化到中度分化程度，顯示三大地理區之間的基因交流順暢。在葉綠體 DNA 重複片段中的族群分化指數為 0.0802~0.2612，屬中度到高度分化。根據前人研究(Provan, 1999)，葉綠體的重複片段演化速率為 $3.2\sim 7.9 \times 10^{-5}$ site/year，較葉綠體 DNA 及核 DNA 的演化速率快，故可能是造成葉綠體中的重複片段分化程度較其他兩片段高出許多的原因。

B. 玉山水苦賈基因型分佈情況

檢測由 ITS 片段建構的各族群基因型分佈圖(圖八)，各族群主要由基因型 3、4、5、6 組成。雪山山脈的族群具有較高的基因型多樣性，且具有最多的特有基因型；加上由葉綠體 DNA 的 *trnD-trnT* 片段中重複序列所建構的各族群基

因分佈圖(圖十七)也顯示雪山山脈的族群具有較高的基因型多樣性，且具有最多的特有基因型，顯示雪山山脈為玉山水苦賈的多樣性中心。另外根據前人研究(Cheng *et al.*, 2006)的推斷雪山山脈可能為冰河時期的一個避難所(refugia)。另外由 *trnD-trnT* 片段中重複序列所建構的各族群基因分佈圖推斷雪山山脈和中央山脈具有明顯的地理屏障，而南部族群則呈現基因僵化情況。

C. 玉山水苦賈族群變動歷史

核DNA建構的MSN圖(圖十三)結果，並無地理區域和族群的關連性，玉山水苦賈的基因型大致可分成兩大群，此兩大群具有16步的差異，顯示玉山水苦賈的基因型由兩群主要的基因型所構成，但A群所佔的比例(68%)遠大於B群(18.5%)，另外根據族群變異分佈檢測(圖十、圖十一)，也呈現出分成兩群的情況。造成此現象可能有幾種原因，1.為雜交現象所造成，2.可能為具有隱藏種(cryptic species)，3.或目前所看到的族群為兩次起源所造成。檢視本研究資料，若為雜交所造成，在DNA定序波形圖可能會在同一位點發現具有雙峰的現象，本研究的資料並未顯示此情況。而隱藏種的探討中，根據前人研究，隱藏種是指在形態上幾乎沒有差異，但分子證據上可以分成兩類群，而在兩大群在地理區的分佈上，可能具有過渡帶，但因為很難從形態上區分此兩者，必須再結合更多的形態特徵以及不同的分子工具驗證之後，才能推斷是否具有隱藏種(Fernandez *et al.*, 2006)。在兩次起源探討，根據前人研究(Rowe *et al.*, 2004)，兩次起源的物種可能是因為環境變化造成，例如冰期的變動會造成物種的遷移，當冰期來臨時，物種將會遷移至較溫暖的避難所；當冰期退卻時，物種則可能會再遷移至原本的棲息地，但原本棲息地的物種不一定會全部滅絕，若有機會存留，則當兩族群再次相遇時，就有可能進行基因交流，成為在一個族群中，具有兩大類群的基因型情況。

檢視兩大群基因型組成，A群的數量較多，MSN圖(圖十三)呈現放射狀結構，表示族群有擴張的趨勢；而B群的數量較少，但MSN圖(圖十三)不具有放射狀結構。而根據Bayesian Skyline結果(圖十四)玉山水苦賈可能在1.3百萬年左右開始擴張，形成目前所看到的分佈情況，擴張的時間點和最後一次的冰河退卻時間相吻合，再進一步檢視A、B兩群的Bayesian Skyline結果，結果顯示，A群在0.01百萬年左右開始擴張，而B群的數量從0.03百萬年至今沒有太大的變化。故本研究推斷玉山水苦賈為兩次起源之後，A群發生擴張情況而B群則維持一個穩定的狀態。另外從各族群的基因型分佈情況(圖八、圖十七)，無論是核DNA的ITS片段或

葉綠體中的重複片段均顯示桃山族群和合歡山族群為兩大山系的多樣性中心，推斷此兩地區可能為此物種的多樣性中心。

伍、結論

1. 根據形質分析與分子資料的結果，本研究將 Huang and Huang (1998)認定的玉山水苦賈訂正為兩個種，一個變種，分別是玉山水苦賈(*V. morrisonicola*)、玉山前山水苦賈(*V. morrisonicola* var. *yushanchiense*)和雪山水苦賈(*V. tsugitakensis* Masamune)。
2. 玉山水苦賈、雪山水苦賈和玉山前山水苦賈，主要的形態差異在於葉片長寬比和節間長度，而玉山水苦賈和玉山前山水苦賈的形態較為相似，雪山水苦賈則與其他兩者有較大的差異。而在分子資料與形態特徵的結果相吻合，另外玉山水苦賈和玉山前山水苦賈的親緣關係較相近，而雪山水苦賈則非最近緣的物種。
3. 玉山水苦賈的核苷酸歧異度較低於前人研究平均值。檢視各族群基因型分佈情況，雪山山脈以桃山族群的基因型歧異度最高；中央山脈則以合歡山族群的歧異度最高。從網狀關連圖結果，玉山水苦賈的基因型可分成 A、B 兩大群，再加上 Bayesian Skyline 的結果，A 群呈現族群擴張；B 群則呈現穩定不變的趨勢。

陸、參考文獻

- 王唯匡 2002 台灣特有水生植物大安水蓼衣的族群分化與親緣地理學探討。成功大學生物學研究所。碩士論文。
- 江友中 2002 八丈芒分子地理親緣研究。國立台灣師範大學生命科學系。博士論文。
- 余惠如 2008 喜岩董菜複合群之親緣關係與分類研究。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 吳瑞娥 2001 東亞地區之昆欄樹及其相關類群進行的親緣關係研究。國立台灣師範大學生命科學系。博士論文。
- 吳家進 2005 台灣產婆婆納族之分類研究。國立中興大學生命科學系。學士論文。
- 林瓊玲 2001 香杉與杉木葉綠體 DNA 基因譜係分析。中國文化大學生物科技研究所。碩士論文。
- 林雅芳 2006 以形態及分子證據探討玉山蠅子草種複合群的分類問題。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 陳燕珍 2000 東亞地區水筆仔族群的遺傳變異研究。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 陳致仁 2003 玉山箭竹親緣地理學之研究。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 陳怡雁 2004 鈴木草屬(唇形科)台灣及琉球特有屬之親緣地理學研究。國立成功大學生物學研究所。碩士論文。
- 黃淑芬 2002 青剛櫟葉綠體DNA變異的空間分佈模式。國立台灣大學植物學研究所。碩士論文。
- 韓中梅 2001 包籜矢竹族群遺傳變異之研究。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 曾柏彰 2006 台灣產附地草屬之親緣關係與分類研究。國立台灣師範大學生命科學系。碩士論文。
- 謝長富 2002 臺灣維管束植物的物種多樣性。2002 年生物多樣性保育研討會論文集: 15-30。行政院農業委員會特有生物研究保育中心。
- Albach, D. C., H. M. Meudt, and B. Oxelman. 2005. Piecing together the 'new' Plantaginaceae. *Am. J. Bot.* 97 (2): 297-315.

- Albach, D. C., C. Schonswetter and A. Trubsch 2006. Comparative phylogeography of the *Veronica* alpine complex in Europe and North America. *Mol. Ecol.* 15: 3269–3286.
- Alonso, R., C. Lence, M. J. Lopenz, E. Puente and A. Penas. 2003. A new species of *Veronica* L. (Scrophulariaceae) in the Cantabrian range (Spain). *Bot. J. Linn. Soc.* 141: 119-124.
- Avise, J. C., J. Arnold and R. M. Ball. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York.
- Berli, P. 2006. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics* 22: 341-345.
- Cruzan, M. B. and A. R. Templeton. 2000. Paleoecology and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *Trends. Ecol. Evol* 15: 491-496.
- Cheng, Y. P., S. Y. Hwang, W. L. Chiou, and T. P. Lin. 2006. Allozyme variation of populations of *Castanopsis carlesii* (Fagaceae) corroborating diversity centers and potential divergence areas in Taiwan. *Ann. Bot.* 98: 601–608.
- Dumolin-Lapegue, S., B. Demesure, S. Fineschi, V. L. Corre, and R. J. Petit. 1997. Phylogeographic structure of the white oaks throughout the European continent. *Genetics.* 146: 1475-1487.
- Drummond, A. J. and A. Rambaut 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol.* 7:214.
- Excoffier, L., G. Laval, and S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinf. Online* 1: 47-50.
- Fernandez, C. C., J. R. Shevock, A. N. Glazer and J. N. Thompson. 2006. Cryptic species within the cosmopolitan desiccation-tolerant moss *Grimmia laevigata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 637-642.
- Grand, W. S. and B. W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from the sardines and anchovies and lessons for conservation. *J. Hered.* 89: 415-426.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and

- analysis program for Window 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41: 95-98.
- Hennig, W. 1965. Phylogenetic systematics. Ann. Rev. Entomol. 10: 97-116.
- Huang, S. F. and T. C. Huang, 1998. *Veronica*, pp.631-642, Flora of Taiwan IV. Epoch Pub. Co. Taipei.
- Huang, S. F. and T. C. Huang. 1994. Notes on the flora of Taiwan (15)-the *Veronica* L. (Scrophulariaceae). Taiwan. 38: 5-17.
- Hayata, 1908. Flora Montana Formose. Journ. Coll. Sci. Univ. Tokyo 25 :174. pl. 29.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. J. Mol. Evol. 16: 111-120.
- Kimura, M. 1983. Rare variant alleles in the light of neutral theory. Mol. Biol. Evol. 1: 84-93.
- Kumar, P. S., K. Tamura and M. Nei. 2004. MEGA3: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software, Bioinformatics.
- Li, H. L. 1950. studies in the *Scrophulariaceae* of Taiwan. Quart. Taiwan Mus. 3: 50-81.
- Lin, T. P. 2001. Allozyme variation of *Michelia formosana* (Kanehira) Masamine (Magnoliaceae), and inference of the glacial refugium in Taiwan. Theor. Appl. Genet. 102: 450-457.
- Magri, D., S. Fineschi, R. Bellarosa, A. Buonamici, F. Sebastiani, B. Schirone, M. C. Simeone and G. G. Vendramin. 2007. The distribution of *Quercus suber* chloroplast haplotypes matches the palaeogeographical history of the western Mediterranean. Mol. Ecol. 16: 5259-5266.
- Marhold, K., J. Lihva, M. Perny, R. Grupe, and B. Neuffer. 2002. Natural hybridization in *Cardamine* (Brassicaceae) in the Pyrenees: evidence from morphological and molecular data. Biol. J. Linn. Soc. 139: 275-294.
- Masamune, 1933. Contribution to our knowledge of the flora of the southern part of Japan IV. Soc. Trop. Agr. 3: 21.
- Ohwi, 1934. Plantse novae Japonicae. Rep. Sp. Nov. 36: 55.
- Otieno, D. F., K. Balkwill and A. J. Paton. 2006. A multivariate analysis of morphological variation in the *Hemizygia bracteosa* complex (Lamiaceae, Ocimeae). Pl. Syst. Evol. 261: 19-38.
- Planes, S., P. J. Doherty. 1997. Genetic and color interaction at a contact zone of

- Acanthochromis polyacanthus*: a marine fish lacking pelagic larvae. *Evolution*. 51: 1232-1243.
- Peng, C. I., C. M. Kuo and Y. P. Yang. 1994. Botanical diversity and inventory of Taiwan Pp. 75–85 in: Peng, C. I. & Chou, C. H. (eds.), *Biodiversity and Terrestrial Ecosystems*. Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Ser. 14, Taipei.
- Provan, J., N. Soranzo, N. J. Wilson, D. B. Goldstein and W. Powell. 1999. A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics*. 153: 943-947.
- Rogers, A. R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution*. 49: 608-615.
- Rogers, A. R. and H. C. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9: 552-569.
- Rousst, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.* 8: 103-106.
- Rowe, K. C., E. J. Heske, P. W. Brown and K. N. Paige. 2004. Surviving the ice: Northern refugia and postglacial colonization. *Proc. Natl. Acad. Sci.* vol. 101 28: 10355-10359.
- Rozas, J., J. C. Sánchez-DelBarrio, X. Messeguer and R. Rozas. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Schaal, B. A. 1980. Measurement of gene flow in *Lupinus texensis*. *Nature*. 284: 450-451.
- Shall, J., A. Lehman and L. Creighton. 2001. *JMP Start Statistics*. Pacific Grove CA: Duxbury Press.
- Shaw, J., E. B. Lickey, J. T. Beck, S. B. Farmer, W. Liu, J. Miller, K. C. Siripun, C. T. Winder, E. E. Schilling, & R. L. Small. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am. J. Bot.* 92: 142–166.
- Shaw, J., E. B. Lickey, E. E. Schilling., R. L. Small. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *Am. J. Bot.* 94(3): 275-288.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural population. *Science*. 236: 787-792.

- Sue, Y. S., K. Fang and S. Huang. 2000. Patterns of genetic variation of *Alnus formosana* in Taiwan. *Taiwania*. 45:95-106.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony. Version 4.0. Sinauer, Sunderland, Mass. Computer software.
- Taberlet, P., Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 1991 Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Pl. Mol. Boil.* 17: 1105-1109.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123: 585-595.
- Tamura, K., Dudley J., Nei M. and Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24:1596-1599
- Tsoong, P. C. and D. Y. Hong. 1979. *Veronica*. In Tsoong, P. C. and H. P. Yang (eds.), *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*. Science Press, Peiking. Vol.67 (2). pp. 252-325.
- Tsukada, M. 1966 Late Pleistocene vegetation and climate in Taiwan (Formosa). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 55: 543-548.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. D. Innis et al. (eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications*. pp. 315-322. San Diego, Academic Press.
- Wolfe, K. H., W. H. Li and P. M. Sharp. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast and nuclear DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 9054-9058.
- Wu, J. E., S. Huang, J. C. Wang and W. F. Tong. 2001. Allozyme variation and population genetic structure in *Trochodendron aralioides*. *J. Plant Res.* 114: 45-57.
- Yamazaki, T. 1957. Taxonomical and phylogenetic studies of Scrophulariaceae -Veronicae with special reference *Veronica* and *Veronicastrum* in Eastern Asia. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sect. III.* 7(2): 91-162.
- Ying, S. S. 1989(a). Miscellaneous notes on the flora of Taiwan (XII). *Mem. Coll. Agr., NTU* 29(1): 78, *Pl.* 2.
- Ying, S. S. 1989(b). Miscellaneous notes on the flora of Taiwan (XII). *Mem. Coll. Agr., NTU* 29(2): 60, *Pl.* 7.

Zwettler, D., C. P. Vieira, and C. Schlötterer. 2002. Polymorphic microsatellites in *Antirrhinum* (Scrophulariaceae), a genus with low levels of nuclear sequence variability. *J. Hered.* 93: 217-221.

表一、玉山水苦蕒及其相關類群學名沿革表

1908	1933	1934	1950	1957	1978	1989	1994	1998
Hayata, B.	Masamune, G.	Ohwi, J.	H. L. Li	Yamazaki, T.	H. L. Li	S. S. Ying	S. F. Huang & T. C. Huang	S. F. Huang & T. C. Huang
* <i>V. morrisonicola</i>			<i>V. morrisonicola</i>	<i>V. morrisonicola</i>	<i>V. morrisonicola</i>		<i>V. morrisonicola</i>	<i>V. morrisonicola</i>
	* <i>V. tsugitakensis</i>		<i>V. morrisonicola</i> var. <i>tsugitakensis</i>					
		* <i>V. morrisonicola</i> var. <i>kojima</i>		<i>V. morrisonicola</i> f. <i>kojima</i>				
						* <i>V. taiwanalpina</i>		
						* <i>V. yushanchiense</i>		

* 代表新學名發表

表二、玉山水苦蕒及其相關類群形態差異比較表

	<i>V. morrsionicola</i>	<i>V. tsugitakensis</i>	<i>V. taiwanalpina</i>	<i>V. yushanchienshanica</i>
植株高度	10-20公分	約5公分	6-10公分	7-12公分
節間長度	0.5-2 公分	0.4-2 公分	0.6-2.8公分	1.2-3.5公分
葉形	匙形到披針形	卵形到披針形	卵形到線形或寬卵形	線形或線形至披針形
葉長	1.5-2.5公分	0.3-1.3 公分	0.8-1.2公分	1.5-1.2公分
葉寬	0.6公分	0.1-0.5公分	0.3-0.4公分	0.2-0.3公分
花序長度	5-6公分	1公分	2-3公分	5-6公分
萼片長度	0.4公分	0.2公分	0.4-0.6公分	0.25-0.35公分
花瓣長度	0.4公分	0.35公分	0.5-0.7公分	0.25-0.35公分
蒴果形態	心形，頂端內凹		橢圓形	心形，頂端內凹
花冠筒顏色	藍色到藍紫色			粉紅色

註：此表參考模式標本特徵描述和實際測量模式標本之結果

表三、形質測量的樣本數量及其採集地點

物種名稱	測量數量	樣本採集地點
<i>V. morrsionicola</i>	131	大霸尖山、雪山、奇萊群峰、南湖大山、合歡山、玉山群峰、關山嶺山
<i>V. tsugitakensis</i>	25	南湖大山、雪山
<i>V. yushanchienshanica</i>	11	玉山前山

表四、分子資料的族群代號及樣本數量

物種名稱	採集地點	族群代號	座標	葉綠體 DNA	核 DNA	微衛星 DNA
<i>V. morrsionicola</i>	大霸尖山	MDB	24°24'37" N 121°15'15"E	9	10	9
	桃山、品田山	MTS	24°26'04"N 121°17'48"E	20	23	22
	雪山	MSS	24°23'32"N 121°14'04"E	12	13	13
	雪山圈谷	MOS	24°23'16"N 121°13'36"E	2	2	2
	大雪山林道	MDS	24°16'53"N 121°01'05"E	11	13	11
	南湖大山	MNF	24°22'19"N 121°26'08"E	9	6	9
	中橫大禹嶺	MCC	24°20'57"N 121°17'50"E	14	12	14
	合歡山	MHH	24°08'41"N 121°16'31"E	20	25	24
	能高越嶺	MNK	24°02'53"N 121°16'16"E	16	15	16
	玉山	MYS	23°28'05"N 120°56'32"E	8	8	8
	關山嶺山	MKL	23°16'22"N 120°57'04"E	18	16	18
	北大武山	MBT	22°37'43"N 120°45'13"E	3	3	3
<i>V. tsugitakensis</i>	雪山圈谷	TOS	24°23'16"N 121°13'36"E	14	/	/
	大霸尖山	TDB	24°24'37"N 121°15'15"E	1	/	/
<i>V. yushanchienshanica</i>	玉山前山	YTY	23°28'33"N 120°54'42"E	13	/	/
	大霸尖山	YDB	24°24'37"N 121°15'15"E	1	/	/
合計				171	146	147

* 葉綠體 DNA 的選用片段為 *trnL-trnF* 和 *trnL intron*，核 DNA 選用的片段為 ITS 片段，微衛星 DNA 選用的片段為 *trnD-trnT* 中的重複片段，重複順序為「AT」，其中「/」並未進行實驗。

表五、NCBI 資料庫中，選用 DNA 序列(*trnL-trnF* 和 *trnL intron*)的物種和編號

NCBI No.	species	NCBI No.	species
AY850091.1	<i>V. cymbalaria</i>	AY486442.1	<i>V. lanosa</i>
AY850081.1	<i>V. panormitana</i>	AY486441.1	<i>V. macrostemon</i>
AY850071.1	<i>V. lycica</i>	AF486393.1	<i>V. scutellata</i>
AY850067.1	<i>V. trichadena</i>	AF486392.1	<i>V. japonensis</i>
AY540872.1	<i>V. javanica</i>	AF486391.1	<i>V. officinalis</i>
AY540871.1	<i>V. davisii</i>	AF486390.1	<i>V. piroliformis</i>
DQ227337.1	<i>V. mampodrensis</i>	AF486389.1	<i>V. urticifolia</i>
DQ232750.1	<i>V. bellidioides</i>	AF486388.1	<i>V. montana</i>
DQ232749.1	<i>V. wormskjoldii</i>	AF486385.1	<i>V. ciliata</i>
AY847155.1	<i>V. alpina</i>	AF486384.1	<i>V. saturejoides</i>
AY847149.1	<i>V. stelleri</i>	AF486383.1	<i>V. fruticulosa</i>
AF482606.1	<i>V. tauricola</i>	AF486380.1	<i>V. arvensis</i>
AY673633.1	<i>V. krumovii</i>	AF486379.1	<i>V. verna</i>
AY673632.1	<i>V. chamaedrys</i> subsp. <i>micans</i>	AF486378.1	<i>V. magna</i>
AY673630.1	<i>V. opaca</i>	AF486375.1	<i>V. austriaca</i>
AY673629.1	<i>V. intercedens</i>	AF486374.1	<i>V. turrilliana</i>
AY673626.1	<i>V. ceratocarpa</i>	AF486373.1	<i>V. thymoides</i>
AY673625.1	<i>V. biloba</i>	AF486371.1	<i>V. czerniakowskiana</i>
AY673624.1	<i>V. campylopoda</i>	AF486368.1	<i>V. filiformis</i>
AY673623.1	<i>V. arguteserrata</i>	AF486366.1	<i>V. sublobata</i>
AY776287.1	<i>V. vandellioides</i>	AF513350.1	<i>V. abyssinica</i>
AY776286.1	<i>V. nipponica</i>	AF513349.1	<i>V. aphylla</i>
AY776283.1	<i>V. farinosa</i>	AF513348.1	<i>V. allionii</i>
AY776282.1	<i>V. densiflora</i>	AF513347.1	<i>V. morrisonicola</i>
AY557598.1	<i>V. stamatiadae</i>	AF513344.1	<i>V. copelandii</i>
AY540876.1	<i>V. sibthorpioides</i>	AF513343.1	<i>V. thessalica</i>
AY540875.1	<i>V. stewartii</i>	AF513342.1	<i>V. bombycina</i> subsp. <i>bolgardagensis</i>
AY486450.1	<i>V. kellereri</i>	AF513341.1	<i>V. jacquinii</i>
AY486449.1	<i>V. incana</i>	AF513340.1	<i>V. paederotae</i>
AY486448.1	<i>V. schistosa</i>	AF513339.1	<i>V. oltensis</i>
AY486447.1	<i>V. reuterana</i>	AF513338.1	<i>V. rubrifolia</i>
AY486446.1	<i>V. pusilla</i>	AF513336.1	<i>V. persica</i>
AY486445.1	<i>V. rubra</i>	AF513335.1	<i>V. agrestis</i>
AY486444.1	<i>V. miqueliana</i>	AF513334.1	<i>V. amoena</i>
AY486443.1	<i>V. cusickii</i>	AF513333.1	<i>V. triloba</i>

表六、各序列片段反應條件

Primer pairs (5' -3')	Primer name	Number of PCR cycles	Annealing temp. (°C)
TCCTC CGCTTATTGATATGC GGAAGGAAGAAGTCGTAACAAGG	ITS	38	56
CGAAATCGTAGACGCTACG GGGATAGAGGGACTTGAAC	<i>trn</i> L intron	38	56
GGTTCAAGTCCCTCTATCCC ATTTGAACTGGTGACACGAG	<i>trn</i> L - <i>trn</i> F	38	56
TTAGATCCGAGGGATCTTTCCG ATTTAACATAAAAAGAAATTCACG	<i>trn</i> D - <i>trn</i> T	38	56

表七、PCR 反應試藥成分表

試藥	所需體積	濃度
10× PCR buffer (with 15 mM MgCl ₂ , Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 1% Trition X-100, 50% glycerol)	1.5 μL	1×
2.5 mM dNTP mixture	1.5 μL	0.25 mM each
Primer mix (10 μM)	0.2 μL	0.2 μM each
Template DNA	0.8-1.2 μL	
VioTaq DNA polymerase	0.3 μL	2 units
Adjust ddH ₂ O to	15 μL	

表八、玉山水苦賈及其相關類群之 ANOVA 檢測和 HSD test

A. 葉片長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	22.8985	0.4118	22.085	23.712	<.0001	A
雪山水苦賈	10.4032	0.9426	8.542	12.264		B
玉山前山水苦賈	24.0918	1.4211	21.286	26.898		A

B. 葉片寬度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	9.53374	0.26636	9.0078	10.060	<.0001	A
雪山水苦賈	3.51960	0.60973	2.3157	4.724		B
玉山前山水苦賈	5.06545	0.91920	3.2505	6.880		B

C. 葉片長寬比

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	2.57946	0.06357	2.4539	2.7050	<.0001	C
雪山水苦賈	3.00927	0.14552	2.7219	3.2966		B
玉山前山水苦賈	4.97105	0.21938	4.5379	5.4042		A

D. 節間長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	18.2088	0.7273	16.773	19.645	<.0001	B
雪山水苦賈	7.5784	1.6649	4.291	10.866		C
玉山前山水苦賈	25.6691	2.5100	20.713	30.625		A

E. 總花梗長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	69.7039	2.8175	64.141	75.267	<.0001	A
雪山水苦賈	18.7668	6.4496	6.032	31.502		B
玉山前山水苦賈	78.9673	9.7231	59.769	98.166		A

F. 花序長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	39.1374	1.8566	35.47	42.803	<.0001	A
雪山水苦賈	5.2960	4.2499	-3.10	13.688		B
玉山前山水苦賈	44.2545	6.4070	31.60	56.905		A

G. 花梗長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	30.5665	1.2390	28.120	33.013	<.0001	A
雪山水苦賈	13.4708	2.8361	7.871	19.071		B
玉山前山水苦賈	34.7127	4.2756	26.270	43.155		A

表八(續)、玉山水苦賈及其相關類群之 ANOVA 檢測和 HSD test

H. 花序/總花梗長度

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	0.53631	0.01050	0.51559	0.55704	<.0001	A
雪山水苦賈	0.28693	0.02403	0.23949	0.33438		B
玉山前山水苦賈	0.55315	0.03622	0.48162	0.62468		A

I. 苞片長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	5.21679	0.10173	5.0159	5.4177	0.0011	A
雪山水苦賈	4.83200	0.23288	4.3722	5.2918		A B
玉山前山水苦賈	3.90000	0.35108	3.2068	4.5932		B

J. 萼片長度(mm)

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	4.21527	0.05393	4.1088	4.3217	0.0854	A
雪山水苦賈	4.08000	0.12345	3.8363	4.3237		A
玉山前山水苦賈	3.80909	0.18610	3.4416	4.1766		A

K. 果實數量

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	10.4198	0.3490	9.7307	11.109	<.0001	A
雪山水苦賈	3.1200	0.7989	1.5425	4.698		B
玉山前山水苦賈	11.6364	1.2045	9.2581	14.015		A

L. 果實數量
/花序長度

Taxa	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%	Prob > F	HSD test
玉山水苦賈	0.31608	0.01519	0.28610	0.34607	<.0001	B
雪山水苦賈	0.60463	0.03476	0.53600	0.67328		A
玉山前山水苦賈	0.28540	0.05241	0.18193	0.38888		B

表九、玉山水苦賈及其相關類群形態特徵測量平均值比較表

物種名稱 形態特徵	玉山水苦賈 Mean ± SD (mm)	雪山水苦賈 Mean ± SD (mm)	玉山前山水苦賈 Mean ± SD (mm)
葉片長度	22.9 ± 5.16	10.4 ± 2.04	22.7 ± 4.01
葉片寬度	9.53 ± 3.40	3.53 ± 0.70	5.36 ± 1.67
葉片長寬比	2.58 ± 0.68	3.03 ± 0.59	4.59 ± 1.59
節間長度	18.2 ± 8.93	7.3 ± 2.97	25.6 ± 8.84
總花梗長度	69.7 ± 35.3	18.4 ± 8.71	78.9 ± 25.5
花序長度	39.1 ± 23.3	5.19 ± 2.26	44.2 ± 16.6
花梗長度	30.5 ± 15.2	13.3 ± 6.55	34.7 ± 12.3
花序/總花梗長度	0.54 ± 0.13	0.29 ± 0.04	0.55 ± 0.08
苞片長度	5.22 ± 1.30	4.85 ± 0.17	3.90 ± 0.17
萼片長度	4.22 ± 0.69	4.08 ± 0.20	3.81 ± 0.09
果實數量	10.4 ± 4.34	3.16 ± 1.89	11.6 ± 2.84
果實數量/花序長度	0.32 ± 0.13	0.17 ± 0.08	0.15 ± 0.03

表十、主成分分析各變數的特徵向量及各軸累積可解釋的變異量

	PC1	PC2	PC3	PC4
Eigenvalue	6.2948	1.7281	1.2616	0.9094
Percent	52.4569	14.4004	10.5130	7.5782
Cum Percent	52.4569	66.8574	77.3703	84.9485
葉片長度	0.34164	-0.12977	-0.15098	0.03824
葉片寬度	0.32597	0.13346	-0.36387	-0.25277
葉片長寬比	-0.12176	-0.41907	0.47260	0.53227
節間長度	0.26024	-0.26143	-0.12059	0.21728
總花梗長度	0.36595	-0.05115	0.30441	-0.13204
花序長度	0.37662	-0.04213	0.15247	0.00343
花梗長度	0.28216	-0.05608	0.48927	-0.32235
花序長度/總花梗長度	0.30088	-0.17199	-0.36104	0.24963
苞片長度	0.19584	0.57512	0.21756	0.20586
萼片長度	0.16928	0.55664	0.08575	0.44758
果實數量	0.33649	-0.13299	0.16514	-0.21107
果實數量/花序長度	-0.26143	0.16113	0.19823	-0.36496

表十一、玉山水苦蕒及其相關類群使用 DNA 的片段區域之樣本數量(sample size)、長度(length)、多型性位點數(polymorphic sites)、單一點突變(singleton mutation)、插入或缺失(indel)、資訊位點數(informative site)、基因型數目(haplotype)、基因型歧異度(haplotype diversity)、核苷酸歧異度(nucleotide diversity)、核苷酸多型性(nucleotide polymorphism)和中性假說測定(Tajima's D test)。

DNA region	sample size	length (bp)	polymorphic sites	singleton mutation	indel	informative site	haplotype (H)	haplotype diversity (h)	nucleotide diversity(π)	nucleotide polymorphism(θ)	Tajima's D test
<i>trnL</i> intron	171	511-517	12	1	2	7	4	0.294±0.05	0.00416	0.00452	-0.21071
<i>trnL-trnF</i> spacer	171	348-367	24	0	2	7	4	0.534±0.05	0.01487	0.01273	0.50054
cp DNA combined	142	803-804	3	2	0	1	4	0.437±0.06	0.00057	0.00068	-0.27440
ITS	146	729-731	41	9	1	31	29	0.89±0.011	0.00998	0.00972	0.28224

表十二 A、玉山水苦賈及其相關類群 *trnL* intron 片段基因型變異位點組成

Haplotype	17	59	239	241~245	258	376	388	393
1	C	G	-	T T T T T	C	C	T	T
2	T	G	-	- - - - -	T	T	C	G
3	C	C	-	T T T T T	C	C	T	T
4	C	G	T	T T T T T	C	C	T	T

表十二 B、玉山水苦賈及其相關類群 *trnL-trnF* 片段基因型變異位點組成

Haplotype	33	53~62	65	81	93	111	184~192
1	A	- - - - -	G	C	G	C	T T T T T G A A G
2	C	- - - - -	G	C	G	C	T T T T T G A A G
3	A	T T A C A A A T G T	A	A	T	A	T T T T T G A A G
4	A	- - - - -	G	C	G	C	- - - - -

表十三、玉山水苦賈 ITS 片段基因型變異位點組成

Haplotype	38	51	62	73	81	82	99	100	103	108	126	160	166	178	184	224	232	233	269	367	421	423	465	467	470	471	482	516	537	548	552	557	581	584	588	589	598	602	603	611
1	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	C	A	T	T	G	C
2	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	A	A	T	G	C	T	A	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
3	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	A	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
4	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	G	A	T	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
5	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	G	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
6	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
7	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	C	T	G	C	T	C	T	C	T	A	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
8	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	C	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
9	C	C	A	C	C	G	G	C	C	C	G	A	C	C	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
10	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	C	-	C	G	A	C	C	C	G	C
11	C	C	A	T	T	G	G	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	A	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
12	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	A	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	T	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
13	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	A	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	G	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
14	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	A	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
15	C	C	A	C	C	G	G	C	C	C	G	A	C	C	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	A
16	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	T	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
17	C	C	A	C	C	G	G	C	T	C	G	A	C	C	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
18	C	C	A	T	C	G	G	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
19	C	T	T	T	C	G	G	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C

表十三(續)、玉山水苦賈 ITS 片段基因型變異位點組成

Haplotype	38	51	62	73	81	82	99	100	103	108	126	160	166	178	184	224	232	233	269	367	421	423	465	467	470	471	482	516	537	548	552	557	581	584	588	589	598	602	603	611
20	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
21	T	C	A	C	C	A	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	G	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
22	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	C	-	C	G	A	A	C	C	G	C
23	C	T	A	T	C	G	G	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	A	T	C	C	C	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
24	C	T	T	T	C	G	G	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	C	T	C	C	G	C	T	C	G	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	A	C
25	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	C	T	G	C	T	C	T	C	T	A	G	G	A	A	C	T	T	T	A	C	A	T	T	G	C
26	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	C	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
27	C	T	T	T	C	G	T	C	C	C	G	A	C	T	T	A	T	G	C	T	C	C	C	C	T	C	A	A	G	C	C	-	C	G	C	C	C	C	G	C
28	T	C	A	C	C	G	G	T	C	T	G	T	T	C	T	A	T	T	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C
29	T	C	A	C	C	G	G	T	T	T	G	A	T	C	T	A	T	G	C	T	C	T	C	T	T	G	G	A	A	C	T	T	T	A	A	A	T	T	G	C

表十四、玉山水苦賈各族群 ITS 片段的基因型分佈情況

Haplotype	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL	MBT	總計
1						1 (0.08)	1 (0.04)					2 (0.014)
2			2 (0.13)				1 (0.04)					3 (0.021)
3		2 (0.09)	4 (0.27)		2 (0.33)	5 (0.42)	2 (0.08)		2 (0.25)			17 (0.116)
4	4 (0.4)	2 (0.09)	2 (0.13)	2 (0.15)			5 (0.20)	2 (0.13)		1 (0.06)	1 (0.33)	19 (0.130)
5	1 (0.1)	5 (0.22)	3 (0.20)	3 (0.23)		1 (0.08)	6 (0.24)	4 (0.27)	4 (0.50)	4 (0.25)		31 (0.212)
6	1 (0.1)	3 (0.13)	1 (0.07)	3 (0.23)		2 (0.17)	5 (0.20)	2 (0.13)	2 (0.25)	4 (0.25)	1 (0.33)	24 (0.164)
7		2 (0.09)		1 (0.08)			2 (0.08)	2 (0.13)				7 (0.048)
8							1 (0.04)	1 (0.07)		1 (0.06)		3 (0.021)
9	1 (0.1)	1 (0.04)	2 (0.13)			1 (0.08)	1 (0.04)	1 (0.07)		2 (0.13)		9 (0.062)
10							1 (0.04)					1 (0.007)
11								1 (0.07)				1 (0.007)
12								1 (0.07)				1 (0.007)
13								1 (0.07)				1 (0.007)
14										1 (0.06)		1 (0.007)
15	1 (0.1)	1 (0.04)								1 (0.06)	1 (0.33)	4 (0.027)
16		1 (0.04)								1 (0.06)		2 (0.014)
17		1 (0.04)								1 (0.06)		2 (0.014)
18		1 (0.04)										1 (0.007)
19		2 (0.09)		2 (0.15)	2 (0.33)	1 (0.08)						7 (0.048)
20		1 (0.04)										1 (0.007)

表十四(續)、玉山水苦賈各族群 ITS 片段的基因型分佈情況

Haplotype	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL	MBT	總計
21		1 (0.04)										1 (0.007)
22				1 (0.08)								1 (0.007)
23				1 (0.08)								1 (0.007)
24	1 (0.1)											1 (0.007)
25	1 (0.1)											1 (0.007)
26						1 (0.08)						1 (0.007)
27			1 (0.07)									1 (0.007)
28					1 (0.17)							1 (0.007)
29					1 (0.17)							1 (0.007)
總計	10	23	15	13	6	12	25	15	8	16	3	146
基因型	7	13	7	7	4	7	10	9	3	9	3	29
特有基因型	2	3	1	2	2	1	1	3	0	2	0	17

註：() 中代表此基因型在此族群的比例

表十五、玉山水苦賈各族葉綠體 DNA 的遺傳檢測，表中縮寫代表如下：樣本數 (N)、基因型數目(H)、基因型歧異度(h)、核苷酸歧異度(π)、核苷酸多型性(θ)和中性假說測定(Tajima's D test)。

population	N	H	h	π	θ	Tajima's D
MDB	9	1	0	0	0	-
MTS	20	2	0.173	0.00021	0.00034	-0.641
MSS	14	2	0.494	0.00061	0.00039	1.211
MDS	11	2	0.484	0.0006	0.00041	1.065
MNF	9	2	0.555	0.00069	0.00045	1.401
MCC	14	2	0.512	0.00063	0.0004	1.3
MHH	20	2	0.526	0.00065	0.00035	1.565
MNK	16	2	0.325	0.0004	0.00037	0.155
MYS	8	2	0.535	0.00066	0.00048	1.166
MKL	18	1	0	0	0	-
MBT	3	1	0	0	0	-
NSS	57	4	0.434	0.00058	0.0008	-0.549
NCC	49	2	0.474	0.00059	0.00028	1.506
SCC	29	2	0.34	0.00042	0.00031	0.527
Total	142	4	0.437	0.00057	0.00068	-0.274

NSS 代表雪山山脈族群、NCC 代表中央山脈北段族群、SCC 代表中央山脈南段族群。

表十六、玉山水苦賈各族核 DNA 的遺傳檢測，表中縮寫代表如下：樣本數(N)、基因型數目(H)、基因型歧異度(h)、核苷酸歧異度(π)、核苷酸多型性(θ)和中性假說測定(Tajima's D test)。

population	N	H	h	π	θ	Tajima's D
MDB	10	7	0.911	0.01425	0.01307	0.428
MTS	23	13	0.933	0.01211	0.01039	0.624
MSS	15	7	0.91	0.01177	0.01192	-0.055
MDS	13	7	0.885	0.01289	0.01104	0.729
MNF	6	4	0.733	0.01598	0.0132	1.322
MCC	12	7	0.833	0.0087	0.01043	-0.737
MHH	25	10	0.877	0.00513	0.00798	-1.302
MNK	15	9	0.914	0.00892	0.01095	-0.773
MYS	8	3	0.75	0.00132	0.00106	0.931
MKL	16	9	0.892	0.01057	0.00908	0.664
MBT	3	3	1	0.01735	0.01735	-
NSS	61	20	0.906	0.01207	0.01032	0.558
NCC	58	15	0.885	0.00817	0.00921	-0.368
SCC	27	11	0.883	0.00887	0.00817	0.282
Total	146	29	0.893	0.00998	0.00972	0.078

NSS 代表雪山山脈族群、NCC 代表中央山脈北段族群、SCC 代表中央山脈南段族群。

表十七、葉綠體 DNA 估算玉山水苦賈各族群之間的族群分化指數(F_{ST})和基因交流值(Nm)

	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL	MBT
MDB		-	0.397	1.674	0.5	1.293	0.841	6.324	1.125	*	0
MTS	0		0.366	1.382	0.471	1.074	0.704	3.851	1.042	13.942	0.081
MSS	0.557*	0.577*		0.503	-	8.572	-	1.119	11.692	0.268	5.249
MDS	0.229	0.265*	0.498*		0.695	1.138	0.781	1.667	1.265	0.972	0.199
MNF	0.500*	0.514*	0	0.418*		-	-	2.02	-	0.302	2.249
MCC	0.278	0.317*	0.055	0.305*	0		-	19.677	-	0.792	0.761
MHH	0.372*	0.415*	0	0.390*	0	0		2.994	-	0.59	1.5
MNK	0.073	0.114*	0.308*	0.230*	0.198	0.024	0.143		-	2.911	0.237
MYS	0.307	0.324*	0.041	0.283*	0	0	0	0		0.617	0.705
MKL	0	0.034	0.650*	0.339*	0.623*	0.386*	0.458*	0.146	0.447*		0
MBT	1*	0.860*	0.086	0.714*	0.181	0.396	0.250	0.677*	0.414	1*	

註：*代表具有顯著差異，-代表無法計算，表的上方為 Nm 值，下方為 F_{ST} 。

表十八、以葉綠體 DNA 估算玉山水苦賈三大地理區的分化指數(F_{ST})和基因交流值(Nm)

	NSS	NCC	SCC
NSS		5.765	-
NCC	0.0798*		15.076
SCC	0	0.0321	

註：*代表具有顯著差異，-代表無法計算，表的上方為 Nm 值，下方為 F_{ST} 。

NSS 代表雪山山脈族群、NCC 代表中央山脈北段族群、SCC 代表中央山脈南段族群。

表十九、以核 DNA 估算玉山水苦賈各族群之間的族群分化指數(F_{ST}) 和基因交流值(N_m)

	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL	MBT
MDB		-	-	-	-	59.415	2.132	-	1.115	-	-
MTS	0		-	-	-	-	3.523	-	1.831	-	-
MSS	0	0		-	-	-	4.857	-	2.523	-	-
MDS	0	0	0		-	29.127	2.913	-	1.3	-	-
MNF	0	0	0	0		38.934	1.121	10.106	0.701	-	-
MCC	0.004	0	0	0.008	0.006		3.155	11.228	8.733	-	-
MHH	0.104*	0.066	0.048	0.079*	0.182*	0.073		-	2.088	3.779	2.178
MNK	0	0	0	0	0.024	0.021	0		2.043	-	-
MYS	0.183	0.120*	0.090	0.161	0.261*	0.027	0.106	0.109		1.547	0.597
MKL	0	0	0	0	0	0	0.062	0	0.139		-
MBT	0	0	0	0	0	0	0.102	0	0.295*	0	

註：*代表具有顯著差異，-代表無法計算，表的上方為 N_m 值，下方為 F_{ST} 。

表二十、以核 DNA 估算玉山水苦賈三大地理區的分化指數(F_{ST})和基因交流值(N_m)

	NSS	NCC	SCC
NSS		0.796	41.416
NCC	0.0239*		-
SCC	0.0006	0	

註：*代表具有顯著差異，-代表無法計算，表的上方為 N_m 值，下方為 F_{ST} 。

NSS 代表雪山山脈族群、NCC 代表中央山脈北段族群、SCC 代表中央山脈南段族群。

表二十一、玉山水苦賈葉綠體 DNA 的 AMOVA 檢測表

Source of variation	d. f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
地理區	2	1.967	0.00921	-3.81
各族群間	8	9.555	0.08312	34.40
族群內	132	22.311	0.16775	69.42
Total	142	33.833	0.24166	

表二十二、玉山水苦賈核 DNA 的 AMOVA 檢測表

Source of variation	d. f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
地理區	2	14.862	0.1026	2.69
各族群間	8	23.167	-0.0710	-1.86
族群內	136	502.429	3.77766	99.17
Total	146	540.458	3.80924	

表二十三、玉山水苦賈各族群的葉綠體 *trnD-trnT* 片段中重複序列片段的基因型分佈情況

基因型	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL	MBT	總計
A	7 (0.77)	17 (0.77)	4 (0.31)		7 (0.77)	6 (0.43)	18 (0.75)	15 (0.94)	8 (1.00)	18 (1.00)	3 (1.00)	103 (0.70)
B		1 (0.04)										1 (0.006)
C		2 (0.09)	8 (0.62)			4 (0.29)	5 (0.21)	1 (0.06)				20 (0.14)
D	1 (0.11)		1 (0.07)	11 (1.00)								13 (0.08)
E		1 (0.04)			2 (0.23)							3 (0.02)
F						4 (0.29)	1 (0.04)					5 (0.03)
G	1 (0.11)	1 (0.04)										2 (0.013)
總計	9	22	13	11	9	14	24	16	8	18	3	147 (1.00)

註：() 中代表此基因型在此族群的比例

表二十四、以葉綠體 *trnD-trnT* 片段中重複序列片段估算各族群之間的族群分化指數(F_{ST})

	MDB	MTS	MSS	MDS	MNF	MCC	MHH	MNK	MYS	MKL
MDB										
MTS	0									
MSS	0.3390	0.3249								
MDS	0.7872	0.7406	0.6743							
MNF	0	0	0.3626	0.8241						
MCC	0.1450	0.1499	0.0838	0.6173	0.1635					
MHH	0.0094	0	0.2535	0.7334	0.0399	0.0968				
MNK	0.0316	0.0050	0.5089	0.9258	0.0867	0.3003	0.0438			
MYS	0.0464	0.0226	0.5264	1	0.1072	0.3043	0.0810	0		
MKL	0.1628	0.0880	0.6408	1	0.2387	0.4253	0.1525	0.0076	-	
MBT	0	0	0.4077	1	0	0.1663	0	0	-	-

註：-代表無法計算。

表二十五、以葉綠體 *trnD-trnT* 片段中重複序列片段估算三大地理區的分化指數(F_{ST})

	NSS	NCC
NSS		
NCC	0.0802	
SCC	0.2616	0.1289

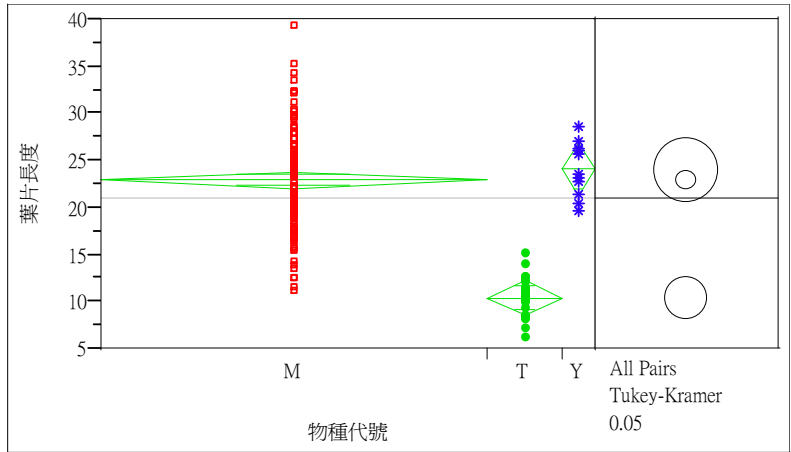
註：NSS 代表雪山山脈族群、NCC 代表中央山脈北段族群、SCC 代表中央山脈南段族群。

表二十六、前人研究中所使用的葉綠體 DNA 核苷酸歧異度比較

物種	選用葉綠體 DNA 片段	核苷酸歧異度	作者
水筆仔	<i>atpB-rbcL</i> spacer	0.00049	陳(2000)
	<i>trnL-trnF</i> spacer	0.02895	
香杉	<i>trnV-trnM</i> spacer	0.00666	林(2001)
包籜矢竹	<i>trnT-trnL</i> spacer	0.00865	韓(2001)
	<i>trnD-trnT</i> spacer	0.00019	
八丈芒	<i>atpB-rbcL</i> spacer	0.00279	江(2002)
青剛櫟	<i>trnV-trnM</i> spacer、 <i>trnT-trnL</i> space 和 <i>petG-trnP</i> spacer	0.00065	黃(2002)
玉山箭竹	<i>trnT-trnL</i> spacer	0.03317	陳(2003)
	<i>trnD-trnT</i> spacer	0.00805	
大安水蓑衣	<i>atpB-rbcL</i> spacer	0.00343	王(2003)
台灣鈴木草	<i>trnD-trnT</i> spacer	0.02217	陳(2004)
玉山蠅子草	<i>trnL-trnF</i> spacer	0.00660	林(2006)
	<i>rps16</i> spacer	0.00270	
玉山水苦賈	<i>trnL</i> intron	0.00034	本研究
	<i>trnL-trnF</i> spacer	0.00087	
平均		0.00775	

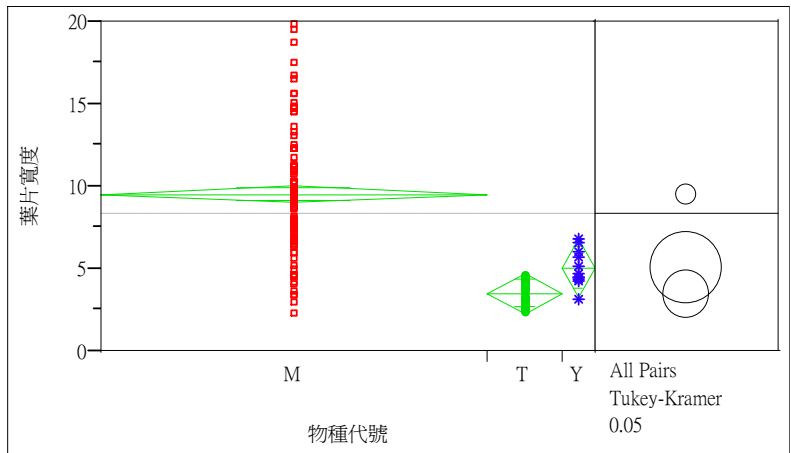
表二十七、前人研究中所使用的核 DNA 核苷酸歧異度比較

物種	選用核 DNA 片段	核苷酸歧異度	作者
台東蘇鐵	ITS	0.17000	謝(2000)
昆欄樹	ITS	0.01400	吳(2001)
八丈芒	<i>adh1</i> intron	0.10633	江(2002)
台灣鈴木草	G3PDH	0.01391	陳(2004)
玉山水苦賈	ITS	0.00998	本研究
平均		0.05262	

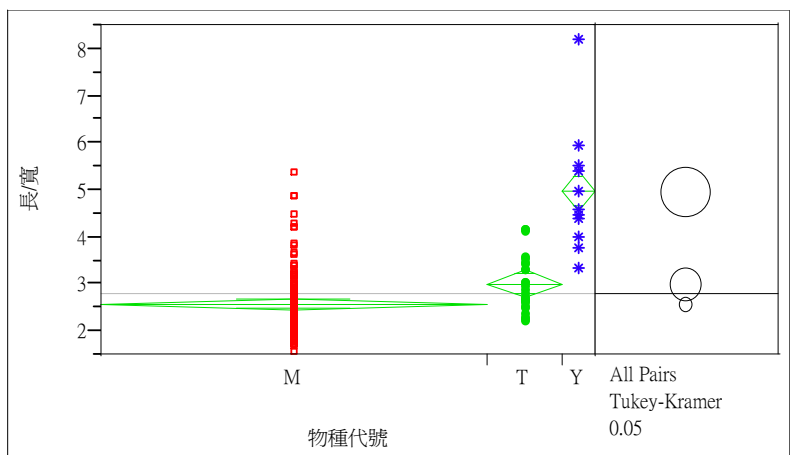


圖一A、玉山水苦蕒及其相關類群葉片長度分佈圖

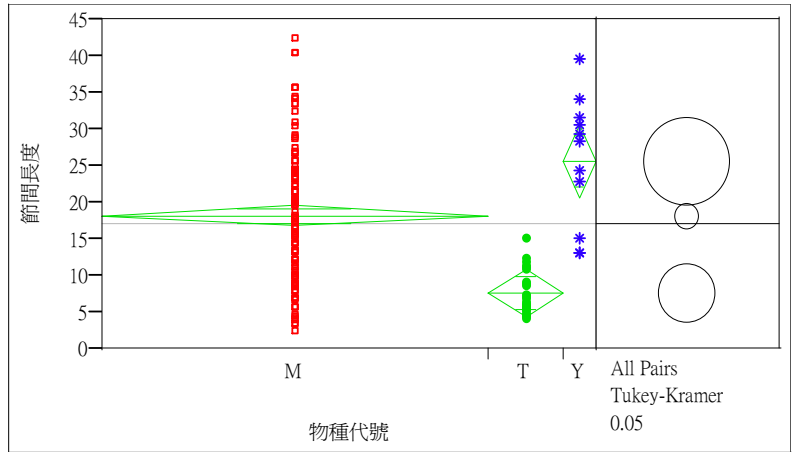
物種代號：M-玉山水苦蕒、T-雪山水苦蕒、Y-玉山前山水苦蕒，
測量單位 mm



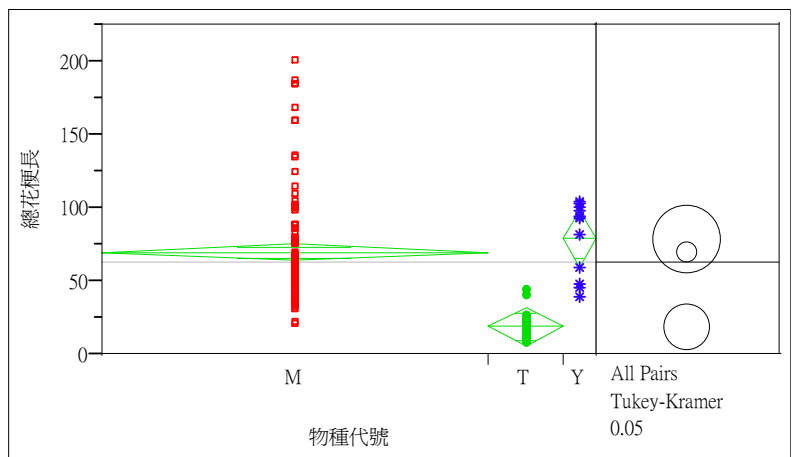
圖一B、玉山水苦蕒及其相關類群葉片寬度分佈圖



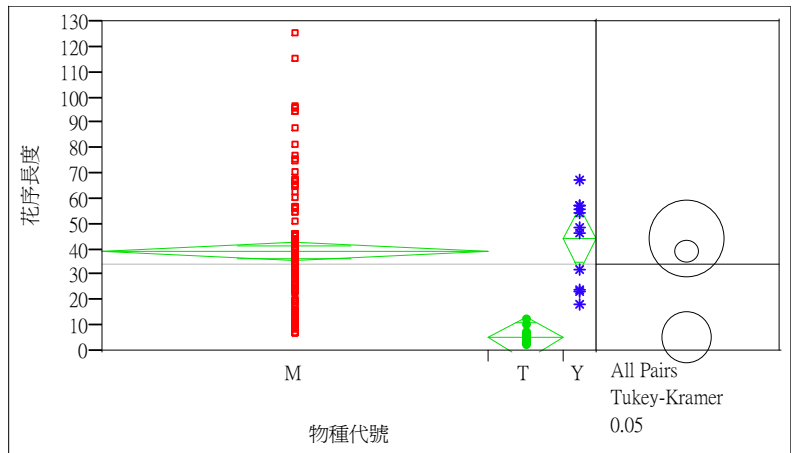
圖一C、玉山水苦蕒及其相關類群葉片長寬比分佈圖



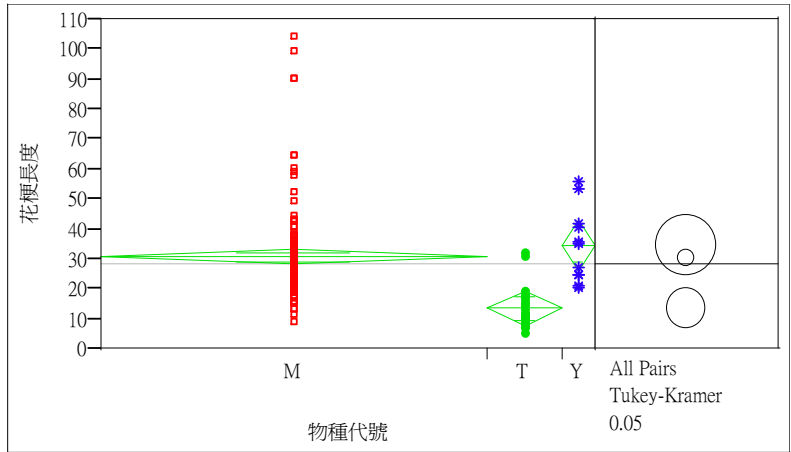
圖一D、玉山水苦蕒及其相關類群節間長度分佈圖



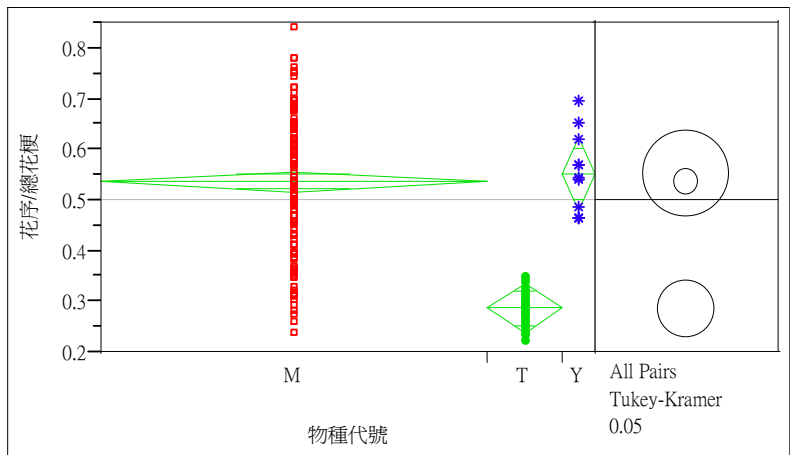
圖一E、玉山水苦蕒及其相關類群總花梗長度分佈圖



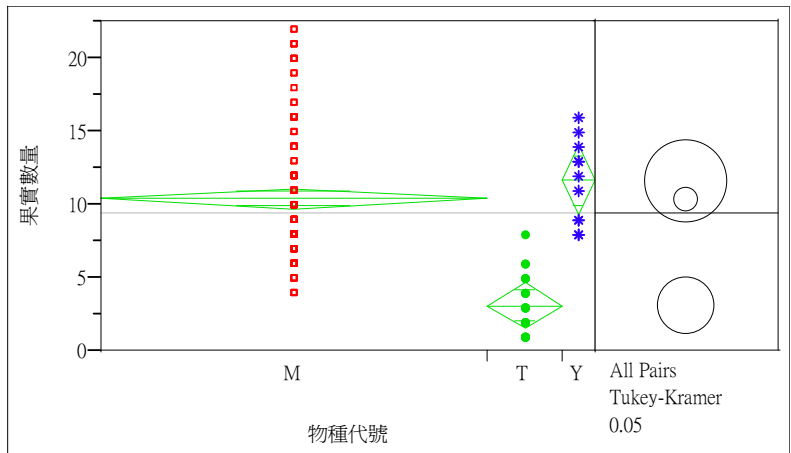
圖一F、玉山水苦蕒及其相關類群花序長度分佈圖



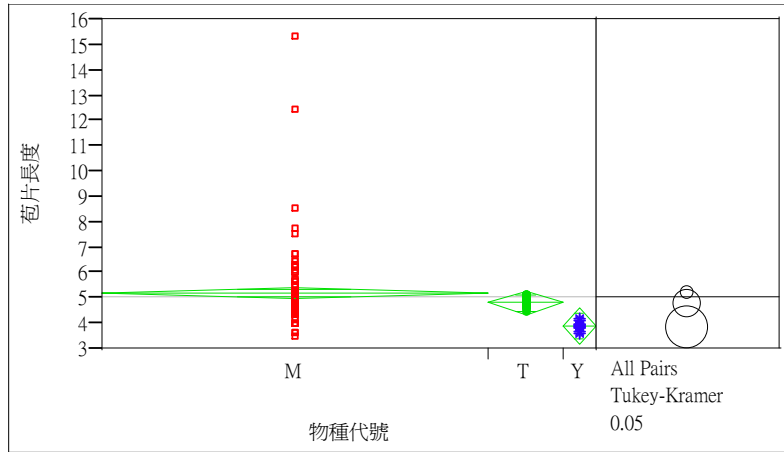
圖一G、玉山水苦賈及其相關類群花梗長度分佈圖



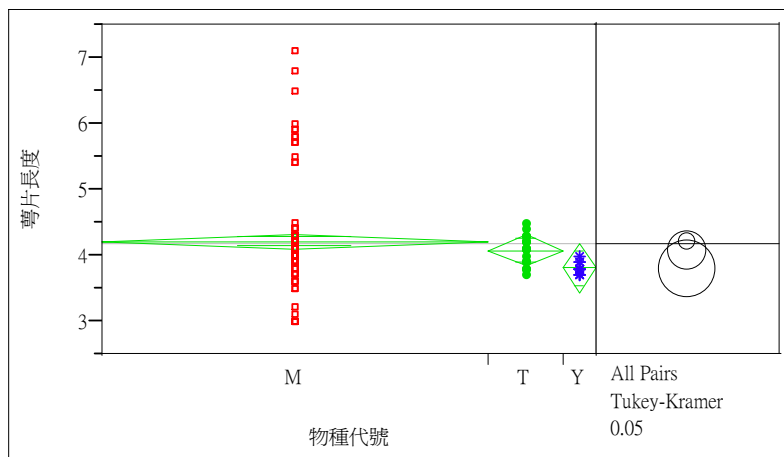
圖一H、玉山水苦賈及其相關類群花序/總花梗長度分佈圖



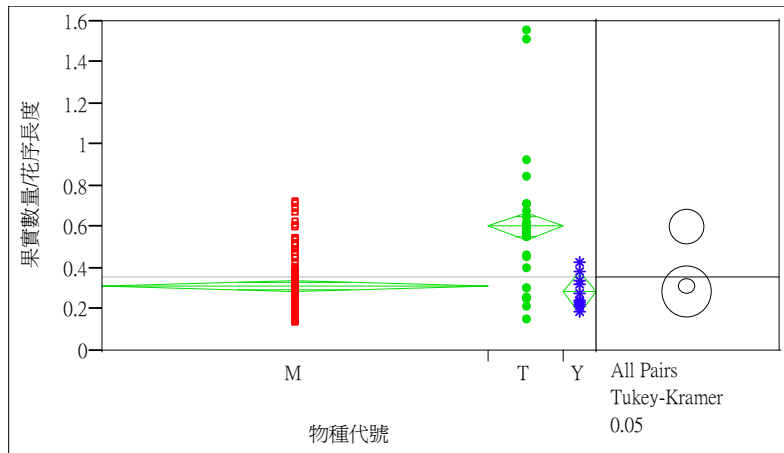
圖一I、玉山水苦賈及其相關類群苞片長度分佈圖



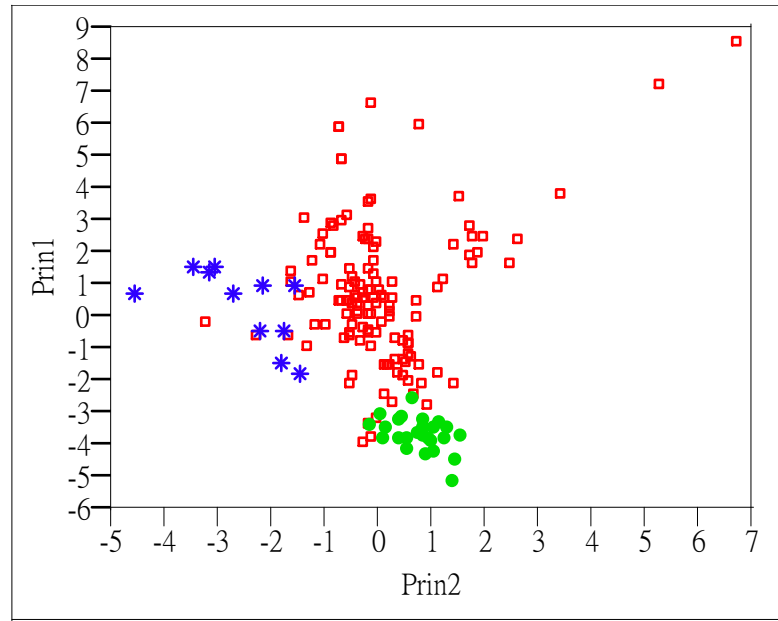
圖一J、玉山水苦賈及其相關類群萼片長度分佈圖



圖一K、玉山水苦賈及其相關類群果實數量分佈圖



圖一L、玉山水苦賈及其相關類群果實數量/花序長度分佈圖

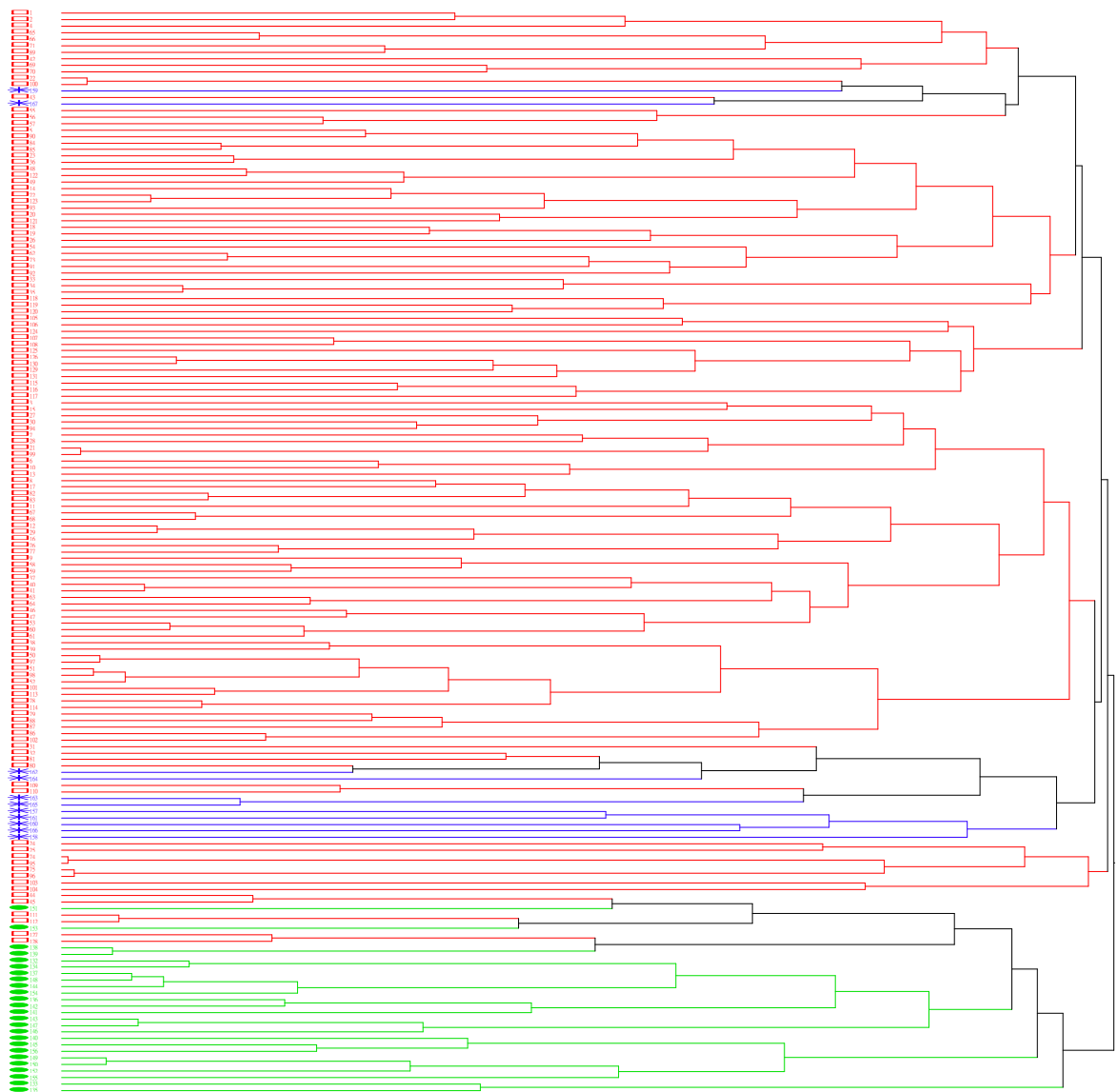


圖二、玉山水苦賈及其相關類群形質分析之主成分分析座標圖

□ 代表玉山水苦賈

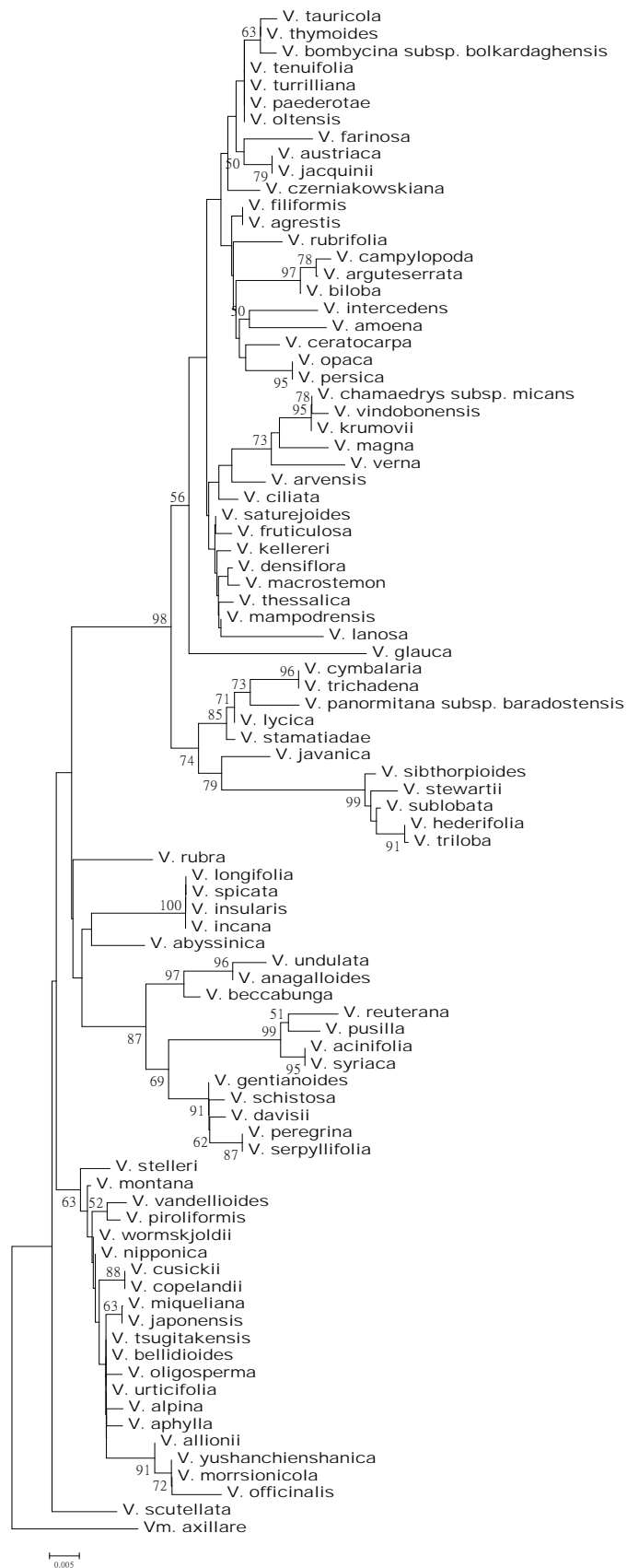
● 代表雪山水苦賈

* 代表玉山前山水苦賈

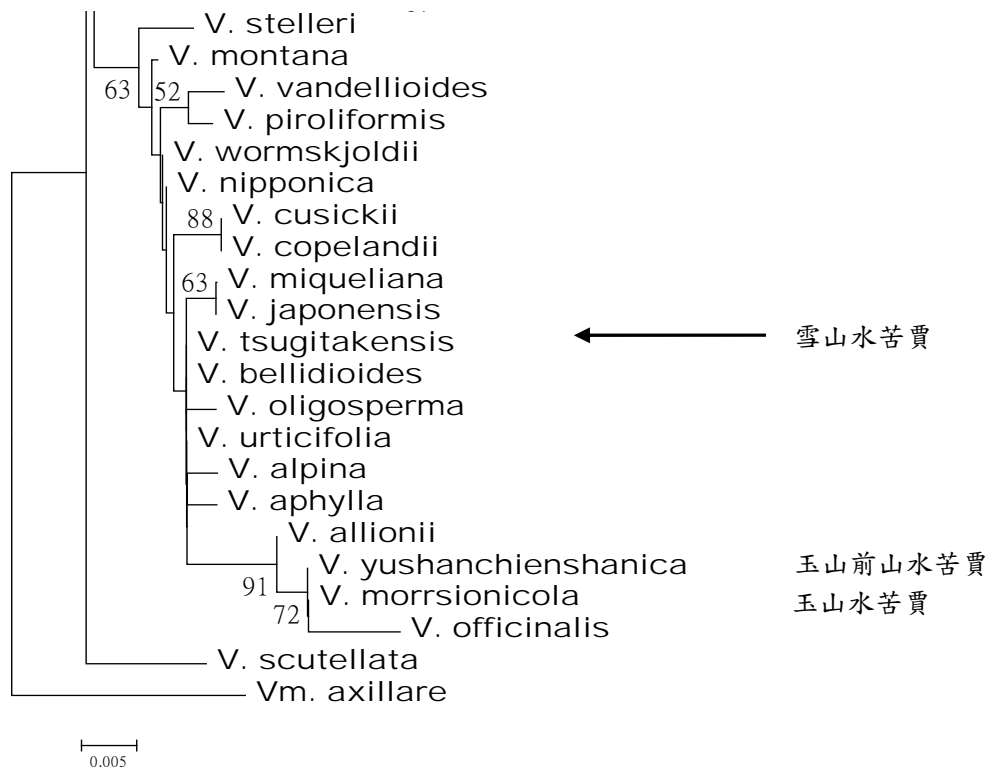


圖三、玉山水苦賈及其相關類群形質分析之歸群樹分析圖

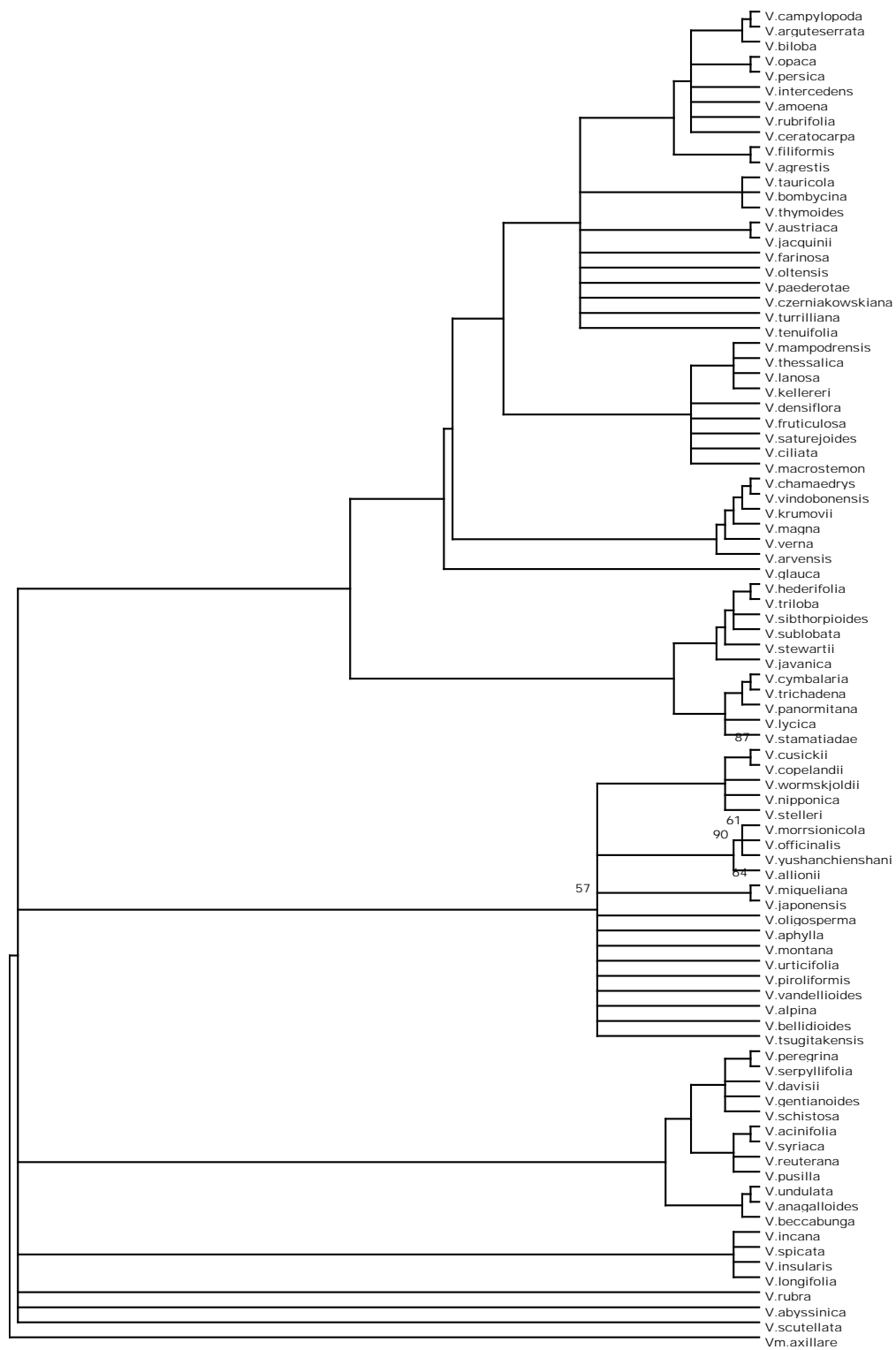
- 代表玉山水苦賈
- 代表雪山水苦賈
- * 代表玉山前山水苦賈



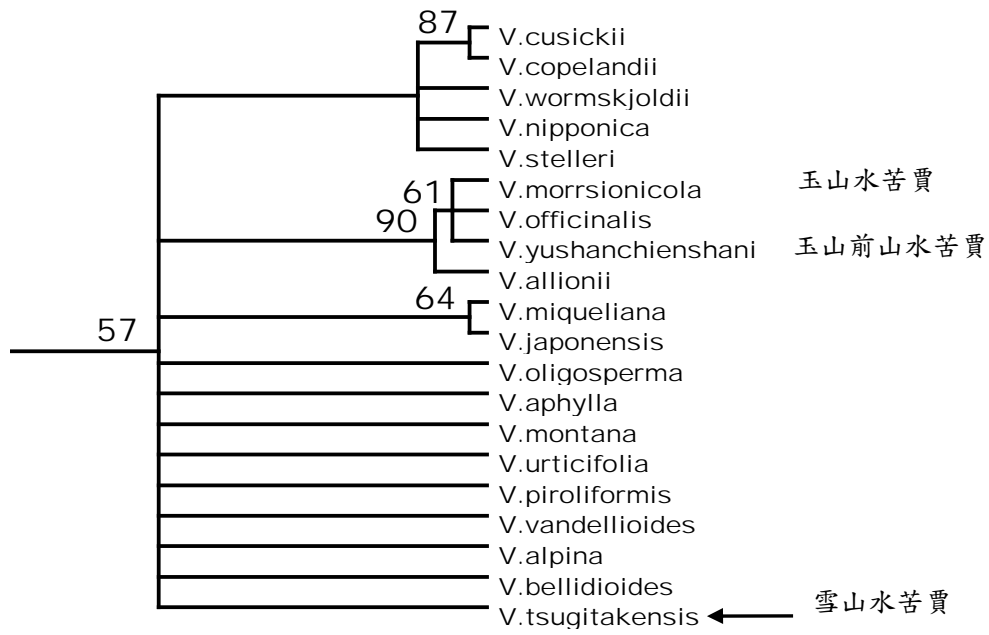
圖四、利用葉綠體DNA的



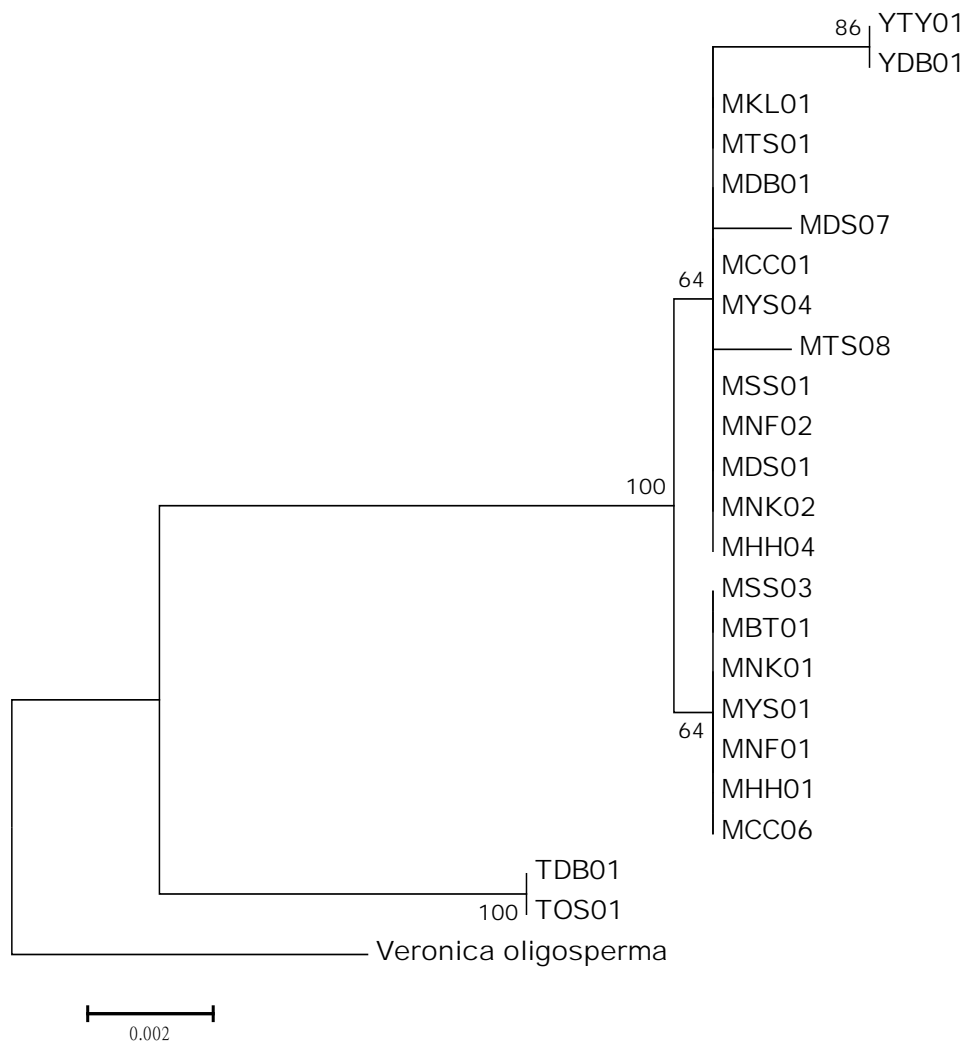
圖四續、利用葉綠體DNA的



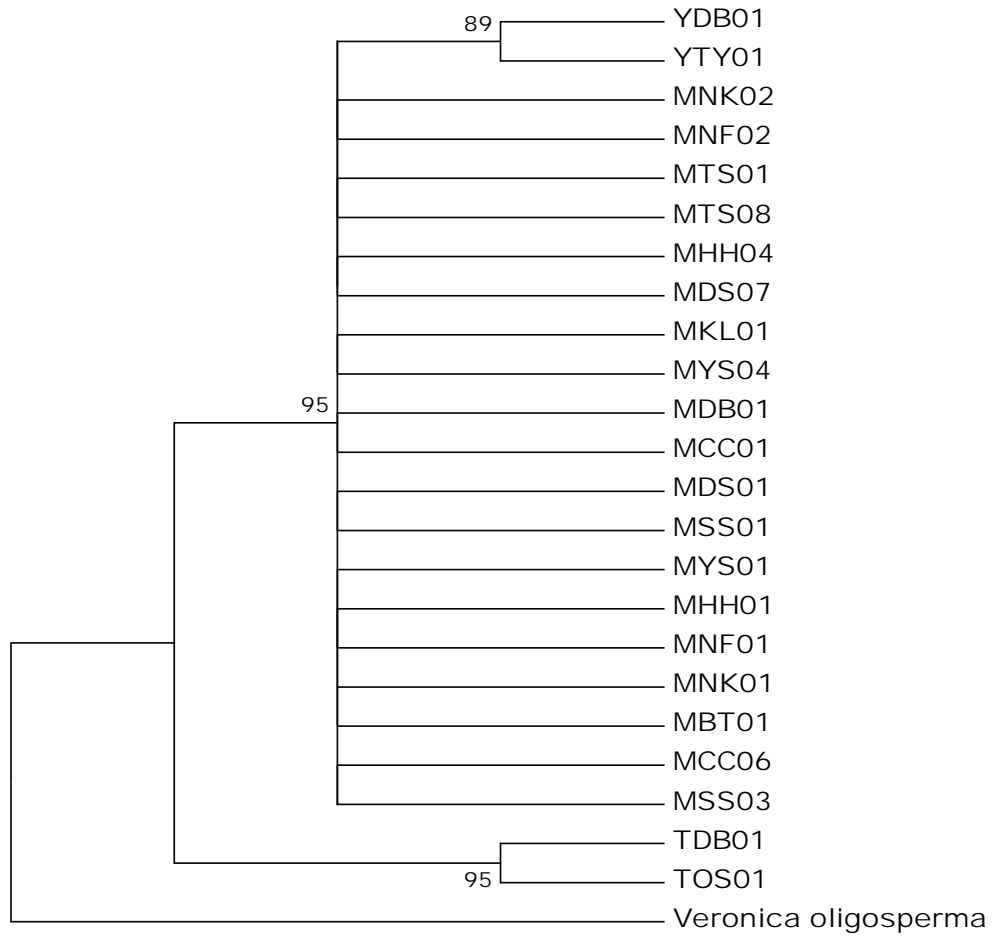
圖五、利用葉綠體DNA的



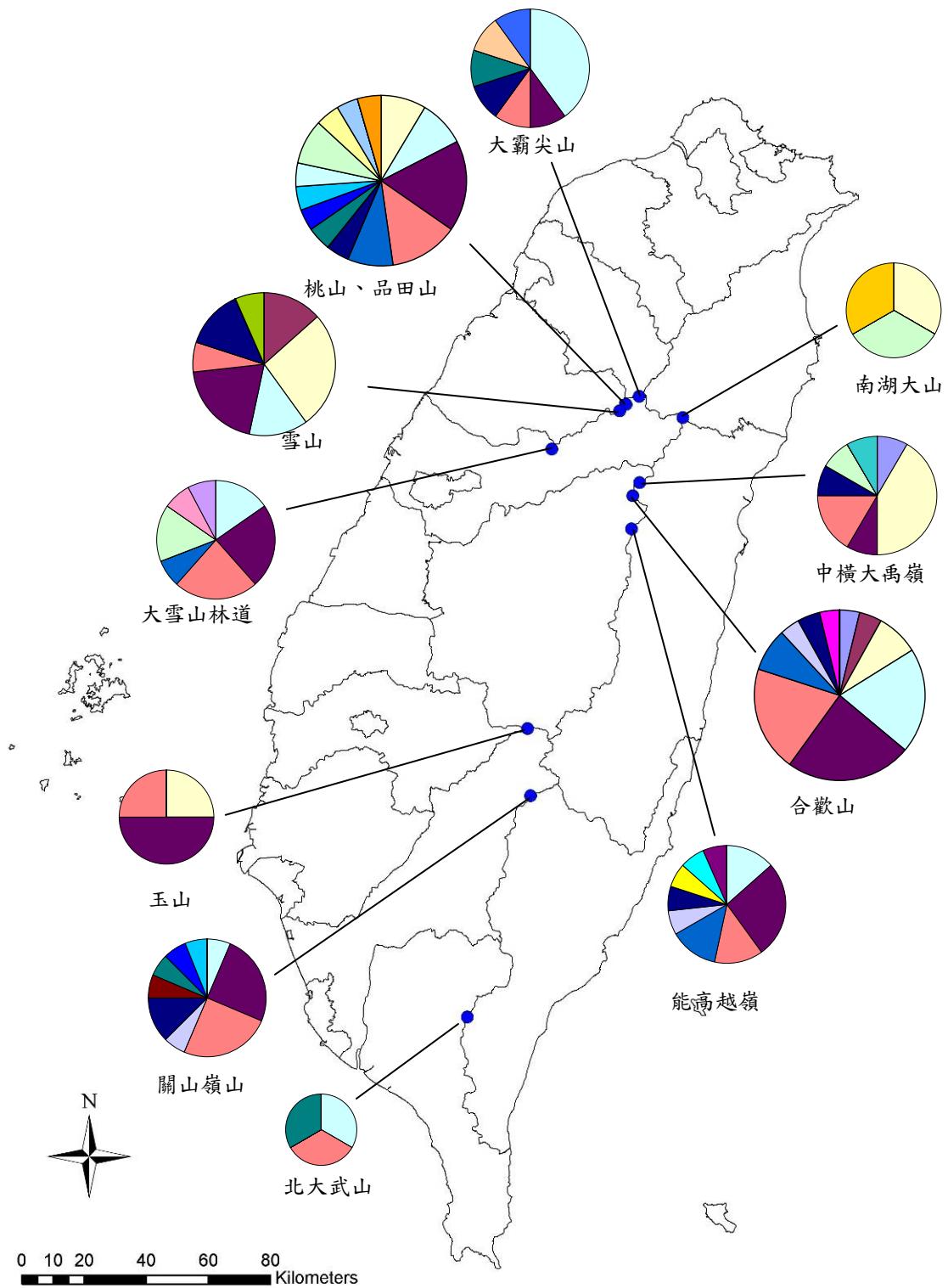
圖五續、利用葉綠體DNA的



圖六、利用葉綠體DNA的圖中M代表玉山水苦蕒、T代表雪山水苦蕒、Y代表玉山前山水苦蕒。

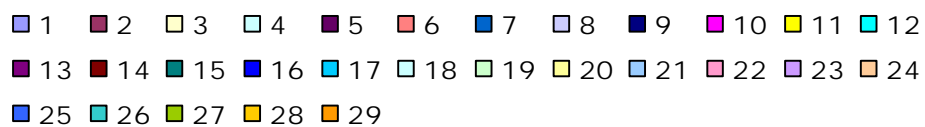


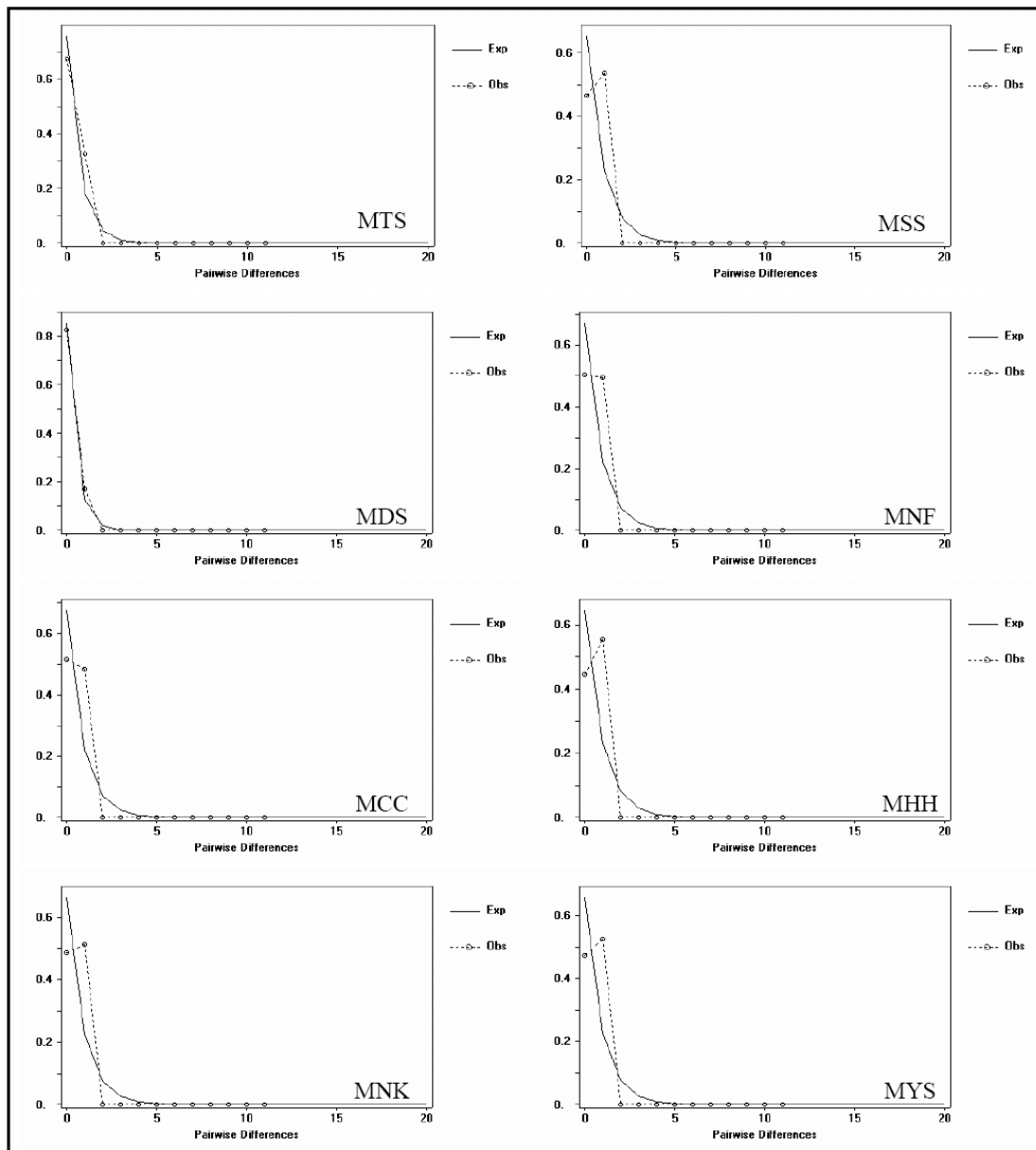
圖七、利用葉綠體 DNA 的 *trnL* intron 和 *trnL-trnF* 片段，根據 MP 方法所建構的玉山水苦蕒及其相關類群在不同族群中的基因型親緣關係樹狀圖。
圖中 M 代表玉山水苦蕒、T 代表雪山水苦蕒、Y 代表玉山前山水苦蕒。



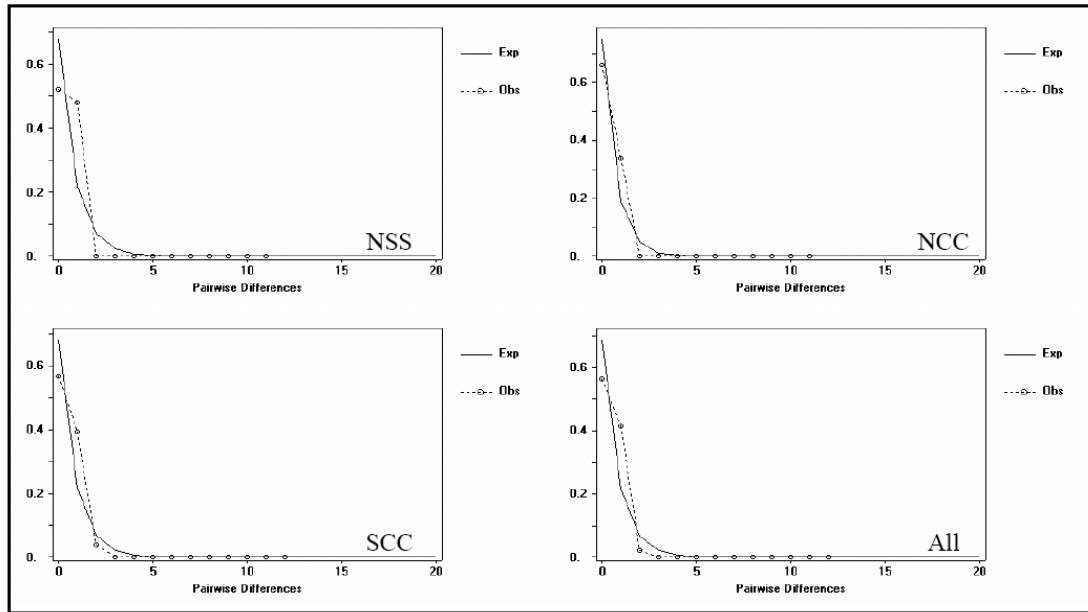
圖八、玉山水苦賈ITS片段在各族群的基因型分佈圖

族群的樣本數越大，則面積越大，顏色代表的基因型如下

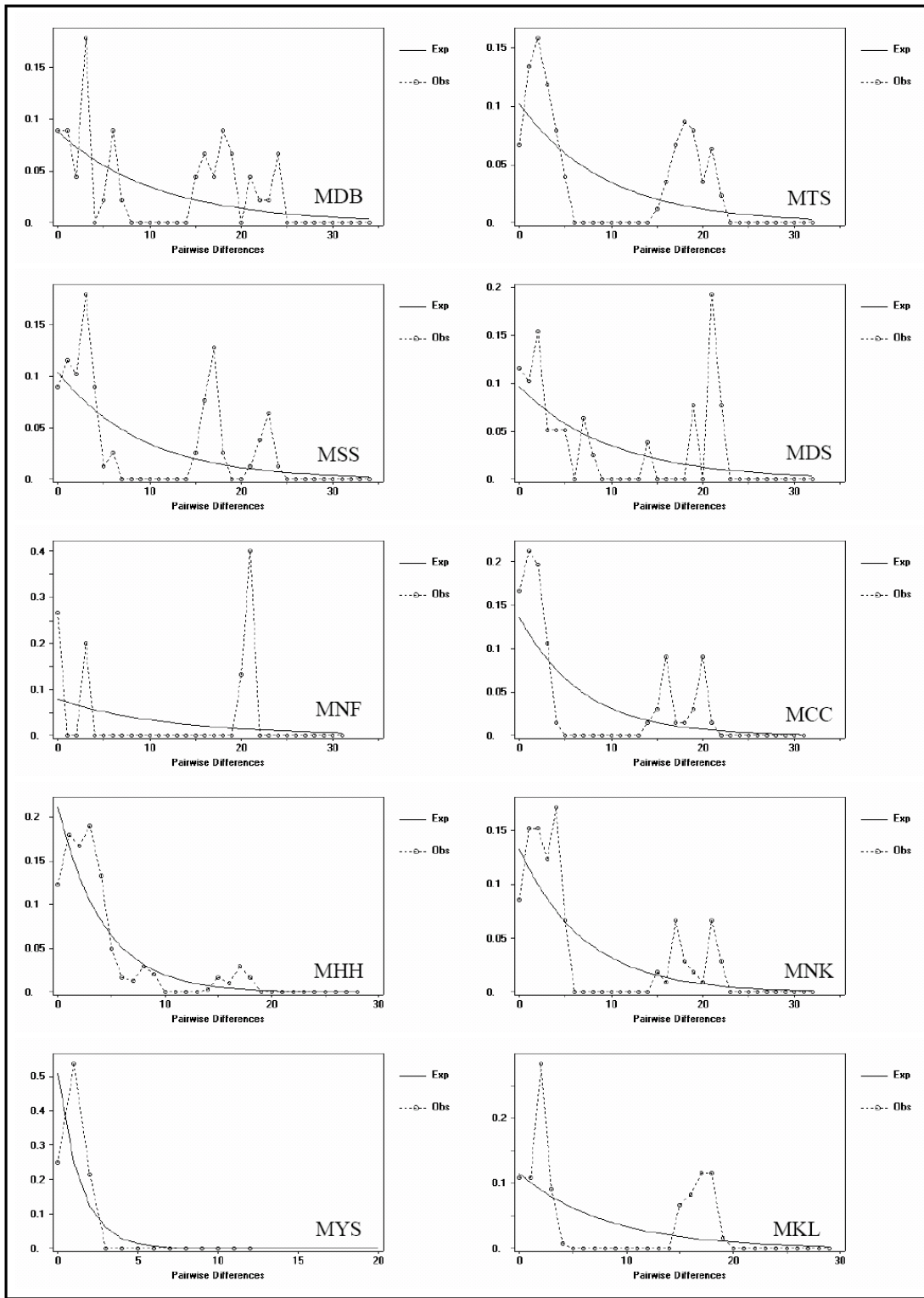




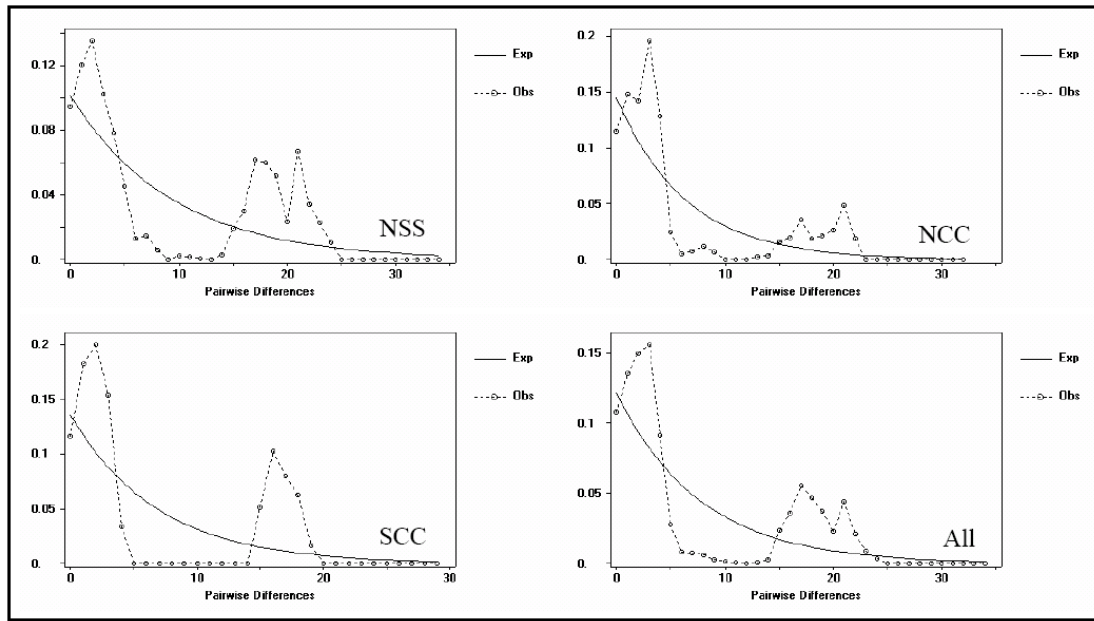
圖九、玉山水苦賈各族群的葉綠體DNA片段之族群遺傳檢測圖



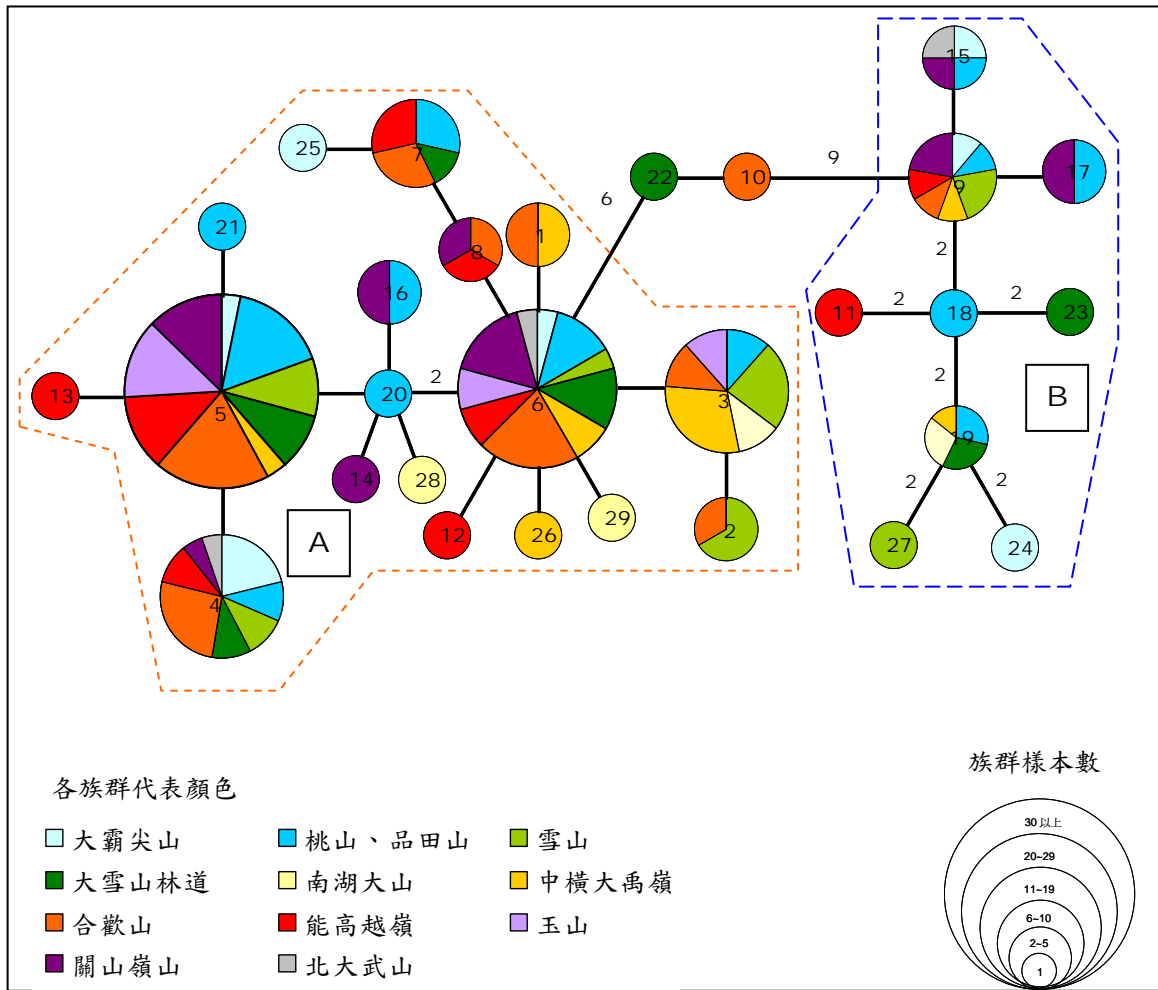
圖十、玉山水苦賈三大地理區及總樣本數的葉綠體DNA片段之族群遺傳檢測圖



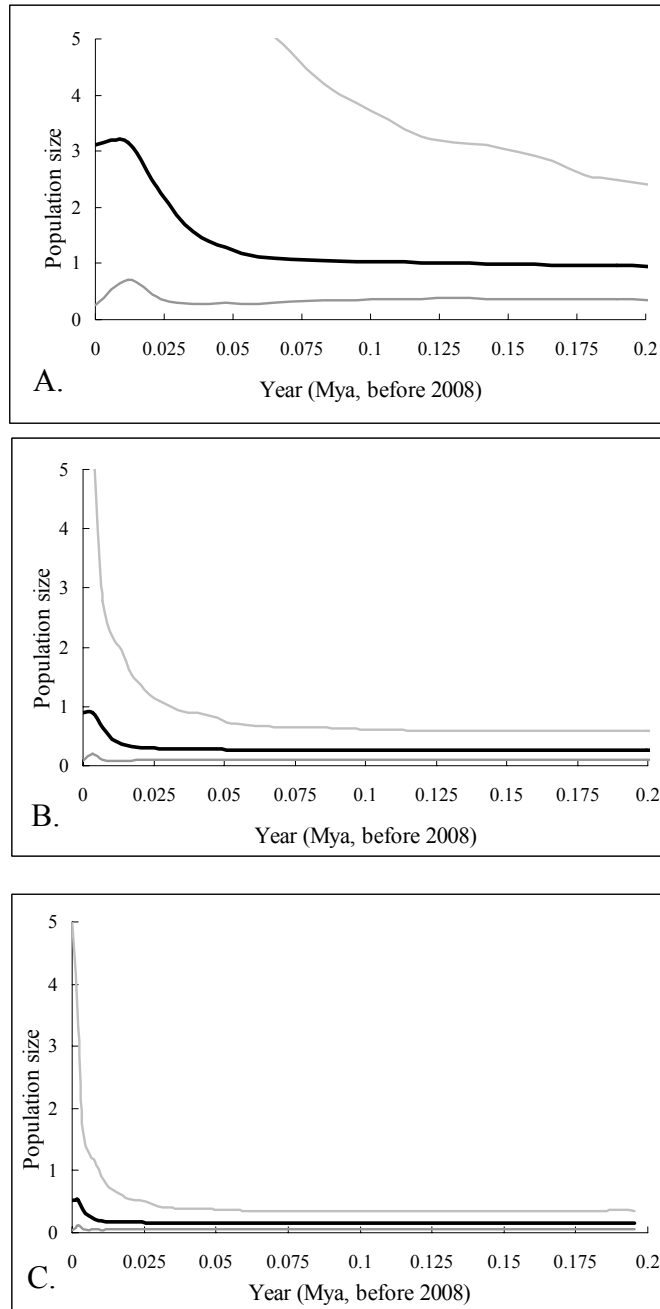
圖十一、玉山水苦賈各族群的核DNA片段之族群遺傳檢測圖



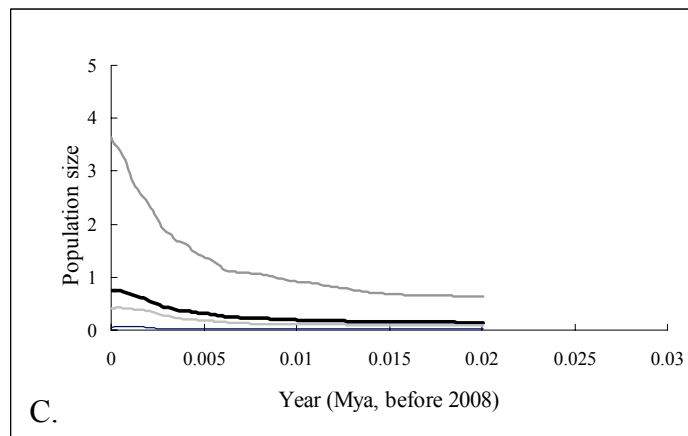
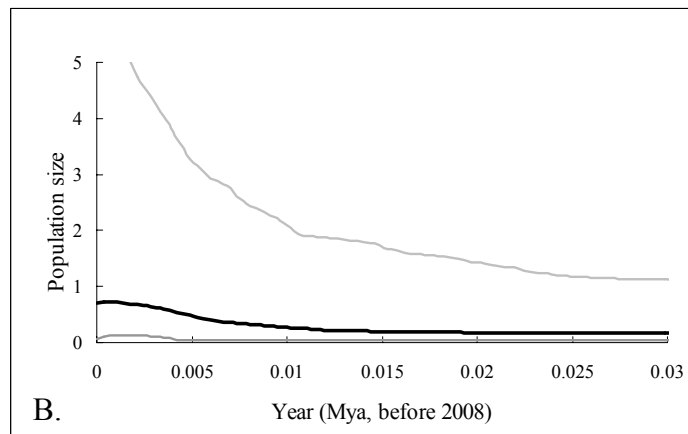
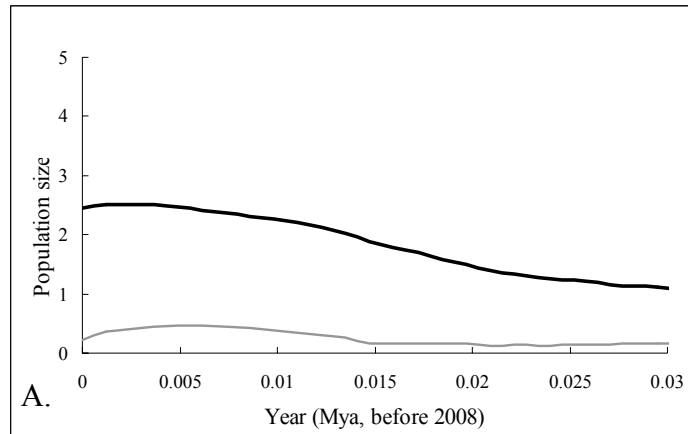
圖十二、玉山水苦賈三大地理區及總樣本數的核DNA片段之族群遺傳檢測圖



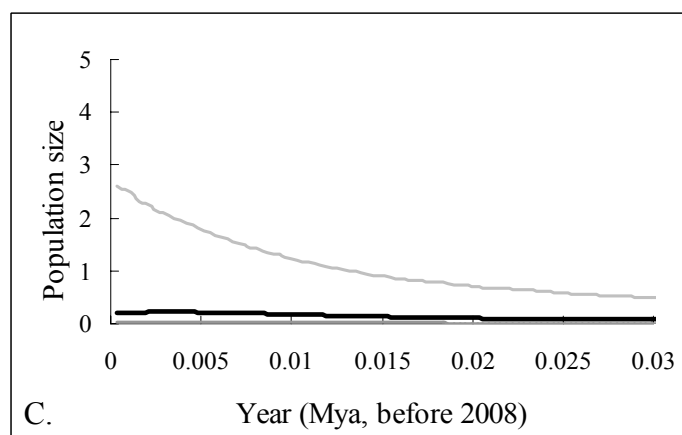
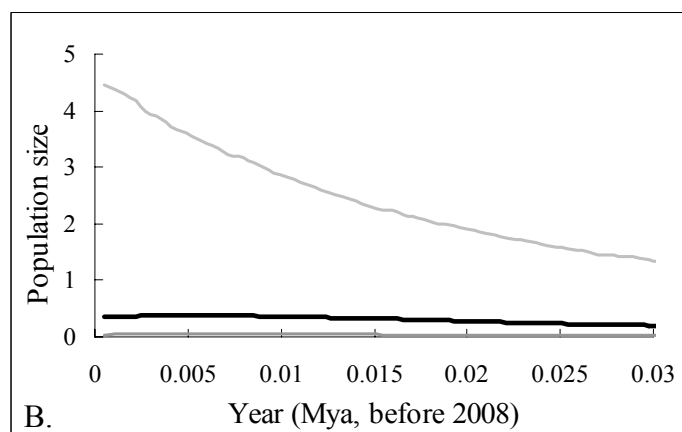
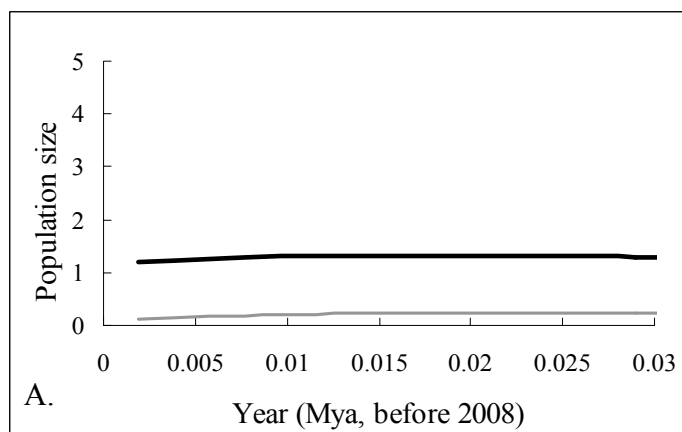
圖十三、玉山水苦蕒核DNA的ITS片段所建構的網狀親緣關係圖



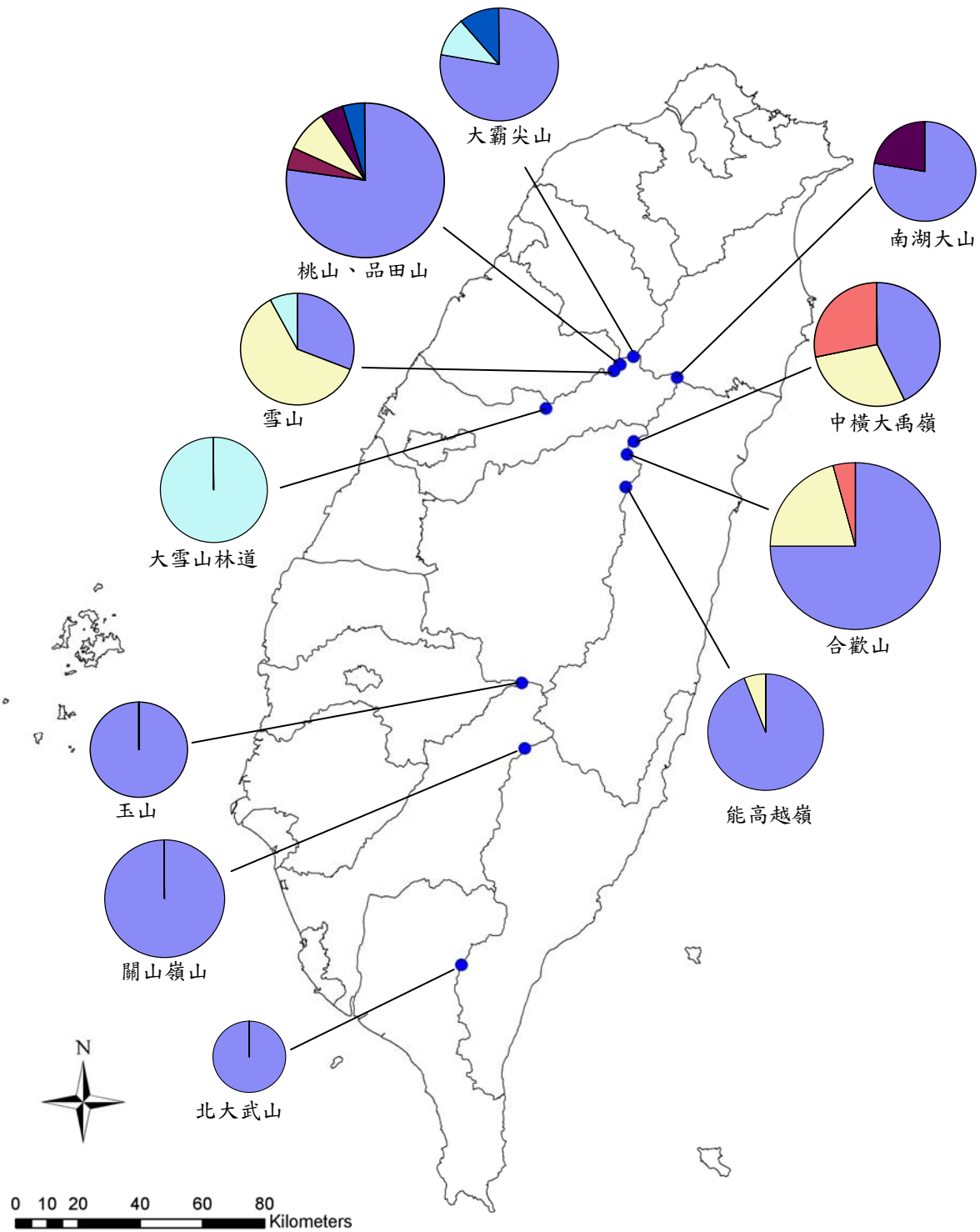
圖十四 A ~ C、玉山水苦賈核DNA所有樣本所建構的Bayesian Skyline圖
 圖A的DNA置換率 5×10^{-9} site/year，圖B的DNA置換率 1.75×10^{-8} site/year，
 圖C的DNA置換率 3×10^{-8} site/year。圖中灰線代表95% HPD upper和95% HPD
 lower，黑色實線為median line。X軸單位：百萬年，Y軸單位：百萬（個）。



圖十五 A ~ C、玉山水苦賈核DNA，A群所建構的Bayesian Skyline圖
 圖A的DNA置換率 5×10^{-9} site/year，圖B的DNA置換率 1.75×10^{-8} site/year，
 圖C的DNA置換率 3×10^{-8} site/year。圖中灰線代表95% HPD upper和95% HPD
 lower，黑色實線為median line。X軸單位：百萬年，Y軸單位：百萬（個）。



圖十六 A ~ C、玉山水苦賈核DNA，B群所建構的Bayesian Skyline圖
 圖A的DNA置換率 5×10^{-9} site/year，圖B的DNA置換率 1.75×10^{-8} site/year，
 圖C的DNA置換率 3×10^{-8} site/year。圖中灰線代表95% HPD upper和95% HPD
 lower，黑色實線為median line。X軸單位：百萬年，Y軸單位：百萬（個）。



圖十七、葉綠體 $trnD-trnT$ 片段中重複序列片段在各族群的分佈圖

族群的樣本數越大，則面積越大，顏色代表的基因型如下

■ A ■ B ■ C ■ D ■ E ■ F ■ G