

台灣產台灣水龍（柳葉菜科）的保育

彭鏡毅¹ 劉秀玲² 蔣鎮宇^{2,3}

¹中央研究院植物研究所 台北市南港區研究院二段 128 號

²國立成功大學生物系 台南市東區大學路 1 號

³通訊作者

摘要

台灣水龍 ($2n=24$) 為二倍體的黃花水龍 ($n=8$) 及四倍體白花水龍 ($n=16$) 的三倍體天然雜交種，其花色介於二父母種之間，偶具漂浮的氣生根，因染色體分離及配對的困難造成雜交物種的不稔，野外族群或人工雜交產生之後代皆不能結實。台灣水龍雖已知為雜交起源，然其親本之一的黃花水龍並未分布於台灣，推測其起源來自中國大陸東南省份，雜交 F1 世代的種子藉由候鳥或與稻米種子混合藉由人為引入傳播至本島。本研究除調查其族群目前在台灣的分布外，並藉由分子證據顯示其遷徙歷史，根據 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 實驗針對 10 個族群利用 25 個引子進行遺傳多型性偵測，未見任何族群內或族群間的遺傳變異。推測台灣水龍在本島的演化係藉由單一來源之移入後，經由無性繁殖擴大其族群。台灣水龍昔日為習見雜草，近年因受工業及農藥污染水質以及河岸水泥化的影響，其族群正快速退縮中，提升河川水質及棲地的保護為保育本物種最佳策略。

關鍵詞：台灣水龍、雜交起源、RAPD、保育

緒言

台灣第一次水龍的採集記錄可溯至 1864 年英人 Richard Oldham 在基隆的採集品，後被鑑定為 *Ludwigia peploides* ssp. *stipulacea* (cf. Peng 1990)。此一具淡黃色花的植物廣布於台灣中部以北的池塘或溝渠，第一版的台灣植物誌並沿用上述學名 (Raven 1977)。Raven and Tai (1979) 報導此分類群及本屬同組(稀子組)近緣種之染色體細胞學研究，發現其他地區的黃花水龍之單套染色體數目為 $n=8$ ，但 Chuang *et al.* (1962) 的研究

卻指出台灣產的「黃花水龍」染色體數目為 $n=12$ ，Peng (1984) 進一步的確認發現台灣的「黃花水龍」實為不稔，一如 Chao (1966) 之描述，其減數分裂時無法正常聯會及分離，造成胚珠及花粉的不稔，在自然界無法結實，根尖染色體的研究顯示其數目為 $2n=24$ 。Peng (1983) 並報導在台灣發現過往未有分布紀錄的白花水龍 (*L. adscendens*)，且確定其為可稔的四倍體物種 ($n=16$)。

Peng (1990) 根據染色體細胞學的證據及實驗雜交的結果，提出台灣的黃色花水龍實為二倍

體的黃花水龍 (*L. peploides* ssp. *Stipulacea*) 及四倍體的白花水龍 (*L. adscendens*) 在自然界雜交的產物，並將此三倍體的天然雜交種命名為台灣水龍 (*L. x taiwanensis*)。

然而台灣水龍並非只局限於台灣本島，除了澎湖、金門皆有記錄外，中國大陸南部各省包括湖南、江西、四川及浙江等 (Peng 1990; Gu *et al.* 1991) 皆有其分布；相較於局限於花蓮 (Peng 1983) 及南部的白花水龍，台灣水龍往昔為河岸或溝渠的常見雜草。

外部形態上台水龍有別於其父母種，除其淡黃花色介於黃花水龍(鮮黃色花瓣)及白花水龍(白色花瓣，僅基部呈黃色)外，其偶具著生於漂浮水面莖節的海棉狀氣生根 (aerophores)，此特徵亦介於繁生海棉狀氣生根的白花水龍及不具海棉狀氣生根的黃花水龍之間。另外，其花葯不開裂、花粉不稔，迥異其父母種 (Peng 1990)。

形態特徵及染色體證據皆支持台灣水龍雜交起源的假說，我們最近進行 DNA 分子研究，所得數據亦支持此一看法，葉綠體 DNA 證據並進一步指出台灣水龍是以黃花水龍為母本，白花水龍為父本的單向雜交物種 (未發表資料)。然而，黃花水龍並未分布於台灣本島，台灣水龍的起源自然較可能為外來傳入，一如颱風 (Peng 1983)、候鳥或人為攜入 (水龍亦常見於水田，種子易與水稻種子混淆) 等，其究係單次或多次遷徙來台為本文探討之目標。

分子技術在保育生物學上的應用，使保育學者對物種演化歷史有更深一層的瞭解，分子的證據提供了保育工作的重要基本資訊，尤其是指紋技術 (Fingerprinting) 因敏感度高，足以偵測存在於族群內及族群間的遺傳變異。因此，本實驗利用 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 指紋技術極其敏感的特性，用以測驗一次或多次入侵的假說，並依據實驗結果提出對保育工作的建議。

材料及方法

一、 野外調查及取樣

根據文獻紀錄 (Peng 1990) 及各標本館典藏標本資料，至各低海拔河川、池塘及溝渠進行調查，並採集活體。各族群植株分別種植於成功大學生物系溫室旁水桶中。

二、 DNA 萃取、定量及 RAPD

嫩芽由單一植株取得，清潔並擦拭葉表面，並在液態氮下研磨成粉狀。Genomic DNA 以 CTAB 方式 (Doyle and Doyle 1987) 萃取，以 uncut λ DNA marker 為標準，在 0.8% 瓊膠 (agarose) 上定量萃取之 DNA。

DNA 稀釋為濃度 2ng/ μ l，RAPD 每 25 μ l 的反應含 12.6 ng DNA，2.5 μ l MgCl₂ (2M)，2.5 μ l dNTP (10 mM)，2.5 μ l 10 \times reaction buffer，2 pmole primer，及聚合酵素 (Taq polymerase, Promega) 1U。反應條件設定為 94 $^{\circ}$ C 變性 3 分，及重複 45 次下列反應：92 $^{\circ}$ C 變性 20 秒，36 $^{\circ}$ C 黏合 45 秒，72 $^{\circ}$ C 延長 1 分 30 秒後再一次 72 $^{\circ}$ C 延長反應 4 分，及在 4 $^{\circ}$ C 暫存。primer 為 10-mer 的單股 DNA (UBC)。

RAPD 的產物在 3% NuSieve agarose gel 電泳並分離其複製片段，並以 EtdBr 染色，在紫外線燈下顯色及照相並比較其條帶多型性及變異。

結果及討論

一、 野外族群調查

根據 Peng(1990) 的紀錄，台灣水龍廣泛分布於台灣西部各縣市及花蓮新城和澎湖各地之池塘或河岸。本研究的調查卻顯示南部族群 (恆春、高雄、台南北門及嘉義) 的消失，而中、北部族群則逐漸萎縮，各地僅呈零星狀分布 (圖 1)。

本實驗野外採集所得之族群，由北至南

圖 1. 台灣水龍現存族群分布，●：過往有採集記錄現已滅絕的族群，★：現存族群。

Fig. 1. Map showing the distribution of *Ludwigia × taiwanensis* in Taiwan. Full circles indicate the distribution based on literature and asterisks indicate the extant populations.

包括台北的新店、新北投、貴子坑、柑園，苗栗的通霄、苑裡及南窩以及南投縣的埔里及水里等地，比起過往的紀錄，其族群數目及大小有顯著下降的趨勢。其中更值得注意的是，台灣水龍的原始模式標本產地桃園龍潭水塘的大族群，已完全消失。導致族群消失的主要原因判斷係由於池塘堤岸的水泥化，同樣的情形也發生過往有採集記錄的新竹湖口、香山、新埔及壽豐的蓮花池潭等地。

二、極低的族群遺傳變異

本研究利用 25 段不同序列的引子 (表 1) 所進行的 RAPD 分析，顯現出個體內片段的多型性，每一個引子所複製出的片段代表基因座在基因體的數量。由此，不同的引子所複製出的帶狀形式

表 1. 本實驗採用之 25 個引子及其序列

Table 1. Sequences of primers used for the experiments

Primer	Sequence
1	CCT GGG CTT C

2	CCT GGG CTT G
3	CCT GGG CTT A
4	CCT GGG CTG G
5	CCT GGG TTC C
6	CCT GGG CCT A
7	CCT GGG GGT T
8	CCY GGC GGT A
9	CCT GCG CTT A
10	GGG GGG ATT A
11	CCC CCC TTT A
12	CCT GGG TCC A
13	CCT GGG TGG A
14	CCT GGG TTT C
15	CCT GGG TTT G
16	GGT GGC GGG A
17	CCT GGG CCT C
18	GGG CCG TTT A
19	GCC CGG TTT A
20	TCC GGG TTT G
21	ACC GGG TTT C
22	CCC TTG GGG G
23	CCC GCC TTC C
24	ACA GGG GTG A
25	ACA GGG CTC A

因基因座數量及位置差異而有不同 (圖 2)，然而族群內個體之間或族群之間卻未呈現任何的遺傳變異。

極低的遺傳變異可能受幾個演化因子的影響，其中強而有力的基因流傳 (gene flow) 確會造成族群間歧異度的降低，但是台灣水龍為不稔物種，其繁衍悉依賴無性繁殖 (Peng 1990)，因此族群內無遺傳變異，則為一般所預期，換言之，同一族群事實上是由單一個體擴展而來；然而，依機率而言並不能完全排除偶發可稔 F1 世代的可能性，而且「稀有的事件常在演化上扮演重要而決定性的角色」 (Arnold 1997)。另一方面，可能的回交 (back cross) 事件 (介於台灣水龍及白花水龍之間) 亦可能發生並影響物種的演化，然而由於台灣水龍及白花水龍為異域分布 (allopatric distribution)，故回交的可能性不大。事實上，

回交事件常造成族群間或族群內遺傳歧異度的增加而非均質化。因此，在理論上亦應予以排除。

低頻度的可稔台灣水龍 F1 世代似乎可能發生，但是以台灣水龍為蟲媒物種，其族群的基因交流必受限於傳粉昆蟲的遷移能力。根據觀察，蜂類或螞蟻常擔任此一傳粉的工作，此類昆蟲移動範圍常為小地區性。因此，可稔後代容或能夠產生，而族群間亦可能存在基因交流，而導致部分族群間的均質，但是南北差距約 150 km 的台灣水龍族群則應該存在著遺傳變異。

當然，極低的遺傳變異最可能由於其祖先之單一起源，尤其是屬於無性繁殖的物種。但是就台灣水龍這樣的雜交物種，其基因體組成來自父母種雙方，甚至經由基因重組 (recombination)，個體或族群間常因父母種的變異而有遺傳上之差異。根據作者等初步對於白花水龍的遺傳變異研究 (RAPD 及 cpDNA，未發表資料)，族群間的確存可觀之遺傳變異。再根據台灣本島不產黃花水龍

的事實，RAPD 指紋技術針對台灣各台灣水龍族群的低以及遺傳變異證據，顯示台灣水龍較可能藉由在父母種共域生長地區 (大約為中國大陸南部，Gu *et al.* 1991) 行種間雜交後，其種子藉由一次遷入，適應於台灣的溝渠、池塘環境，再經由颱風及河水泛濫 (Peng 1990) 以無性方式拓展其在本島的分布。至於一次遷入的傳播方式，可能由颱風或候鳥傳播外，人為的攜入更為可能，因為在中國南方，其父母種常與水稻混生，且雜交的種子大小與稻米種子相仿，易與水稻混合，在唐山過台灣的遷移歷史中，無意地被攜入本島。

總上所述，根據 RAPD 指紋技術證據，台灣水龍較可能為源自中國大陸的黃花水龍及白花水龍的雜交，並經由一次遷入台灣後，在台灣濕地大肆繁衍。

三、保育的建議

台灣水龍族群雖未具有可稔性及遺傳變異，但天然雜交常扮演提高物種歧異度的角色 (Arnold 1992)。另外，尋常發生的植物物種多倍體化 (polyploidization) 現象，常使得不稔的雜交物種因同源染色體加倍而恢復配對及自由分離的能力，而成為可稔個體。小麥的演化過程即為一例 (Campbell 1996)，在演化不同階段中包含了種間雜交及多倍體化，因此在小麥個體中包含了三個不同來源的基因組 (genome)。

生物的族群是動態的，亦即包含了一切演化的可能，當然也包括了族群的滅絕。不幸的是，台灣本島的台灣水龍正面臨族群銳減的趨勢，水質的污染是重要的可能因子之一，其污染源主要來自中、上游的污水排放及農藥污染。因此，台灣水龍可做為水質指標的價值，更值得我們來保育。造成台灣水龍族群銳減，甚至局部滅絕的其他重要原因之一，為堤岸的水泥化所致，使得生長於水中泥地的台灣水龍頓失棲地。

堤岸的水泥化除了對於台灣水龍的衝擊外 (包括模式標本產地族群的滅絕)，對於大多數水生植物亦有類似的影響。濕地為生產力高、生物多樣性豐富的生物棲地，不論在學術研究或生態保育上皆饒富重要性。在顧及環保及保育的雙重功能之下，建議在護岸工程的設計上應保留相當的棲地，提供濕地物種 (包括植物及動物) 永續的生存。

誌謝

本研究為中央研究院經費補助，感謝劉翠雅、王俊能、陳俊清、劉聖譽、高如柏在野外取樣的幫忙。

引用文獻

- Arnold, M L. 1992. Natural hybridization as an evolutionary process. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 23: 237-261.
- Arnold, M L. 1997. *Natural hybridization and evolution*. Oxford Univ. Press, N. Y.

- Campbell, N. A. 1996. *Biology*. 4th edition. The Benjamin/ Cummings Publ. Co., Menlo Park.
- Chao, J. M. 1966. The *Ludwigia* of Taiwan. *Bull. Taiwan Normal Univ.* 11 (2) : 289-296.
- Chuang, T. I., C. Y. Chao, W. W. L. Hu, and S. C. Kwan. 1962. Chromosome numbers of the vascular plants of Taiwan I. *Taiwania* 8: 51-66.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11-15.
- Gu, H. Y., C. T. Chen, C. Q. Liu, L. J. Qu, and N. S. Pan. 1991. On distribution, cytology, and systematics of *Ludwigia* set. *Oligospermum* in China. *Cathaya* 3: 37-44.
- Peng, C. I. 1983. Triploidy in *Ludwigia* in Taiwan, and the discovery of *Ludwigia adscendens* (Onagraceae). *Bot. Bull. Acad. Sin.* 24: 129-134.
- Peng, C. I. 1984. Yellow-flowered diploid "water-dragon" (*Ludwigia peploides* subsp. *stipulacea*), where are you? *Bot. Soc. ROC Newsletter* 12: 6-7.
- Peng, C. I. 1990. *Ludwigia x taiwanensis* (Onagraceae), a new species from Taiwan, and its origin. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 31: 343-349.
- Raven, P. H. 1977. Onagraceae. In H. L. Li, T. S. Liu, T. C. Huang, T. ; Koyama, and C. E. DeVol (eds.), *Flora of Taiwan*, Vol. 3, Epoch Publ. Co., Taipei, pp. 879-899.
- Raven, P. H., and W. Tai. 1979. Observations of chromosomes in *Ludwigia* (Onagraceae). *Ann. Mission Bot. Gard.* 66: 862-879.

收件日期：1998年8月3日

接受日期：1998年12月7日

Conservation of *Ludwigia* × *taiwanensis* (Onagraceae) in Taiwan

Ching-I Peng¹, Shou-Ling Liu², Tzen-Yuh Chiang^{2,3}

¹Institute of Botany, Academia Sinica, Nankang, Taipei 115, Taiwan

²Department of Biology, Cheng-Kung University, Tainan 700, Taiwan

³Corresponding author

Abstract

Ludwigia × *taiwanensis* ($2n = 24$) is a member of sect. *Oligospermum*, consisting of nine species of widespread, phenotypically plastic herbs that occur in wet habitats in both the New and Old Worlds. It is a natural, triploid hybrid ($2n = 24$) between *L. peploides* ssp. *stipulacea*, a diploid with $n = 8$, and *L. adscendens*, a tetraploid with $n = 16$. Owing to the failure of chromosomal pairing during meiosis, plants of *L. × taiwanensis* have pollen and seed sterile. Although *L. × taiwanensis* has been known as a natural hybrid in Taiwan, *L. peploides* ssp. *stipulacea*, one of its putative parents, does not occur in this island. It was suspected that *L. × taiwanensis* originated from southern provinces of mainland China. Hybridized seeds may have been carried to Taiwan through migratory birds or by accidental human introduction via agricultural (rice) practices. In this study we used RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) fingerprinting to test the single migration hypothesis. Based on banding patterns of ten populations revealed by 25 oligo random primers, no genetic variation was detected either within or among the populations. We suggest that the hybridized seeds dispersed to Taiwan via single introduction, and spread to aquatic habitats subsequently via asexual proliferation. Plants of *L. × taiwanensis* used to be a common weed of river banks, ponds and ditches. Their populations, however, have declined drastically for the past decade owing to the water pollution from industrial wastes and herbicides as well as to the cementation of river banks. Habitat preservation is suggested to be the best approach for conservation of *L. × taiwanensis*.

Key words: Conservation, hybrid origin, *Ludwigia* × *taiwanensis*, RAPD, single invasion event

A

B

C

圖 2. 台灣水龍個體內多型性及族群間單型性 RAPD 片段。引子號碼 10(A)，引子號碼 12(B)，及引子號碼 23(C)。1. 鼓山; 2. 東源; 3. 埔里; 4. 通霄; 5. 南窩; 6. 苑里; 7. 水里; 8. 通霄; 9. 新店; 10. 新北投; 11. 貴子坑; 12. 柑園大橋。

Fig. 2. Polymorphic fragments within individuals and monomorphic pattern among populations of *L. x taiwanensis* revealed by RAPD fingerprinting using primer no. 10 (GGG GGG ATT A) (A), no. 12. (CCT GGG TCC A) (B); and no. 23 (CCC GCC TTC C) (C), (1, Kushan; 2, Tungyuen; 3, Puli; 4 and 8, Tunghsiao; 5, Nanwou; 6, Yuanli; 7, Shuili; 9, Hsingtien; 10, Hsinpeitou; 11, Kuizikeng; 12, Kangyuan Bridge). DNA marker: Bio 100 DNA Ladder (PROtech).