

台灣產薯蕷屬植物親緣關係之研究

Phylogenetic Relationship of the Genus *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) of Taiwan

徐光明^{1,2} 蔡進來^{1,*} 陳明義¹

Kuang-Ming Hsu^{1,2}, Jinn-Lai Tsai^{1,*} and Ming-Yih Chen¹

¹ 國立中興大學生命科學系 台中市國光路 250 號

² 行政院農業委員會特有生物研究保育中心 南投縣集集鎮民生東路 1 號

¹ Department of Life Sciences, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan

² Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

* 通訊作者: jltsai@dragon.nchu.edu.tw

* Corresponding author: jltsai@dragon.nchu.edu.tw

摘 要

多種薯蕷屬植物為經濟作物。為探討台灣產薯蕷屬植物之親緣關係，本研究以 *matK* 與 *rbcL* 二段葉綠體基因片段作為遺傳標誌，自台灣本島及離島採集 16 種薯蕷屬植物，並從 GenBank 下載 8 種薯蕷屬植物序列進行比對，使用 PAUP 軟體進行 neighbor joining、maximum parsimony 及 maximum likelihood 親緣關係分析，並與 Bayesian 樹狀圖整合呈現。結果顯示台灣產薯蕷屬植物主要分為二大分支，一為根狀莖節(section *Stenophora*)；另一分支包含丁字形毛節(section *Combilium*)、基生翅節(section *Opsophyton*)、複葉節(section *Botryosicyos*)、白薯榔節(section *Lasiophyton*)及周生翅節(section *Enantiophyllum*) 5 節，這 5 節之親緣關係在此分支中亦可明確區分開來。本研究之分子數據演算結果與形態分類相吻合，支持台灣產薯蕷屬植物，在屬階層之下分屬 6 節的分類架構。

Abstract

Several species of the genus *Dioscorea* (Dioscoreaceae) are commercially important cultivated plants. We used DNA sequences of the chloroplast genes *rbcL* and *matK* to conduct phylogenetic analysis of 16 species of *Dioscorea* from Taiwan with 8 species of China, Thailand and Madagascar retrieved from GenBank as the referent species. The phylogenetic trees were constructed with the neighbor joining, maximum parsimony, maximum likelihood, and Bayesian methods. The phylogenetic tree reconstructed revealed that Taiwan's *Dioscorea* were divided into two clades; clade A is the section *Stenophora* and clade B is composed of the sections *Combilium*, *Opsophyton*, *Botryosicyos*, *Lasiophyton* and *Enantiophyllum*. The phylogenetic relationship of the *Dioscorea* in Taiwan based on the cpDNA sequences agreed with that derived from the morphological characters. The datasets also supported the infrageneric structure.

關鍵詞：薯蕷屬、葉綠體基因片段、親緣關係、台灣

Key words: *Dioscorea*, chloroplast genes, phylogeny, Taiwan

收件日期：98年12月17日

接受日期：99年2月24日

Received: December 17, 2009

Accepted: February 24, 2010

緒 言

薯蕷科(Dioscoreaceae)為纏繞草質或木質藤本之單子葉植物。本科在全球分類處理上為3-20屬，約650種(Huber 1998)。2003年被子植物APG II (Angiosperm Phylogeny Group)分類法將Taccaceae和Trichopodaceae二科併入薯蕷科。薯蕷屬(*Dioscorea*)為本科中種類最多且分布最廣泛的1屬，全球約600種，大多分布在熱帶及亞熱帶地區，以中南美洲最多，其次為東南亞及非洲。

薯蕷俗稱山藥，為全球10大根莖類作物之一，其根莖或塊莖除可供食用，亦為重要之保健藥用植物。薯蕷富含蛋白質、氨基酸、礦物質、酵素及粘質多糖體，另含有薯蕷皂苷(diosgenin)等成分，具有抗氧化及增強免疫功能，

另可消除蛋白尿、抑制細胞突變及降低膽固醇等藥效，極具研發價值(劉等1999;曾2005;郭2008; Xie *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2010)。

本屬植物在台灣的分類研究，最早可追溯到1861年，Swinhoe所採的*Dioscorea doryphora* Hance標本(Hance 1866)。Henry (1896)列述台灣原生本屬植物共有5種及1未知種；之後多位日本學者列述到薯蕷屬植物的有Matsumura and Hayata (1906)的6種1變種；Kawakami (1910) 6種1變種；Hayata (1921) 10種；Yamamoto (1927) 9種2變種及Masamune (1954)發表的13種5變種。台灣學者Liu and Huang (1962)列出14種4變種；第一版《台灣植物誌》中列出13種4變種(Liu and Huang 1978)；《台灣植物誌》第二版共記載14種4變種(Huang and Hsiao 2000)。近年來雖有廖俊奎

(2000)、蕭錦隆(2001)、陳慧婷(2003)及謝寰羽(2008)針對台灣產薯蕷屬植物作分類處理，但仍有不同的見解。

薯蕷屬下的分類系統，Knuth (1924)共記錄 603 種，以種翅與根莖或塊莖的形態將本屬分為 *Helmia* (Knuth) Benth.、*Eudioscora* Pax.、*Stenophora* (Uline) R. Knuth 及 *Testudinaria* (Salisb.) Uline 等 4 亞屬(subgenus)及 58 節(section)；後來 Huber (1998)將本屬分為 25 節。Ding and Gilbert (2000)依照植物體毛、種翅、地下部形態及單複葉，將產於中國地區的本屬區分為 8 節。若依照 Ding and Gilbert (2000)的分類處理，台灣產薯蕷屬植物可細分為 6 節：根狀莖節(*Stenophora* Uline)、丁字形毛節(*Combilium* Prain & Burkill)、基生翅節(*Opsophyton* Uline)、複葉節(*Botryosicyos* (Hochstetter) Uline)、白薯榔節(*Lasiophyton* Uline)及周生翅節(*Enantiophyllum* Uline)。

本屬部分分類群的外部形態特徵相近，枝葉特徵變異範圍重疊，若缺少花、果或地下塊莖等加入比對，難確定分類群。近年來，DNA 序列資料的獲得比以往更加快速，並大量地被使用在重新探討植物的親緣關係(Soltis and Soltis 1995)。位於葉綠體 DNA 單拷貝區之非轉錄區 DNA (noncoding region of chloroplast DNA)，由於其演化速率較快，常應用於屬內種間之親緣關係探討(Wolfe *et al.* 1987)。Caddick *et al.* (2002)曾利用 *rbcL* 序列探討薯蕷科植物之親緣，Wilkin *et al.* (2005)以 *matK* 與 *rbcL* 序列探討本屬的親緣關係。本研究試以 *matK* 與 *rbcL* 二段葉綠體 DNA 作為遺傳標誌，探討台灣產薯蕷屬植物的親緣關係。

材料與方法

本研究自台灣本島及離島採集 16 種薯蕷屬植物(表 1)，並從 NCBI GenBank 下載 8 種薯蕷屬植物序列作為比對參考(表 2)；另外，

選用百部科(Stemonaceae)百部屬(*Stemona*)的百部(*S. tuberosa*)及 2 種隸屬於蒟蒻薯科(Taccaceae)蒟蒻薯屬(*Tacca*)的植物：蒟蒻薯(*T. leontopetaloides*)、箭根薯(*T. chantieri*)為外群材料。DNA 萃取樣本取用新鮮葉片或以矽膠進行快速乾燥之材料，葉組織以液態氮研磨，依 Doyle and Doyle (1987) CTAB 的萃取方式將 DNA 萃取出，並定量。使用的引子參考 Wilkin *et al.* (2005)所定序之 *Dioscorea*、*Tacca* 與 *Burmanna* 的 *matK* 與 *rbcL* 序列，以 Bioedit 軟體排序後，分別設計長度 24 核苷酸之引子 *matK*-F (5' ACCCATCCCATCCATCTGGAAAT 3')、24 核苷酸引子 *matK*-R (5' TATCCAAATACCAAATGCGTCCTG 3')、27 核苷酸引子 *rbcL*-F (5' GTTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGAT 3')及 20 核苷酸引子 *rbcL*-R (5' CGTCCCTCATTACGAGCTTG 3')。聚合酶鏈鎖反應(PCR)的條件設定為：94°C 5 min 變性後，進行 94°C 變性 1 min、50°C 黏合 45 sec、72°C 延伸反應 1 min，重複 40 個循環，最後 72°C 進行完全的延伸聚合 10 min。25 ul 反應體積中加入 0.5 ng 的模板 DNA，2.5 ul 的 10x buffer，2.5 ul MgCl₂ (25 mM)，2.5 ul dNTP mix (8 mM)，0.1 uM 的 primer 及 0.7 U 的 *Taq* polymerase (Promega, Madison, USA)。以 1% 瓊脂凝膠，內含溴化乙啶螢光染劑(ethidium bromide, 0.5 mg/ml)，取 5 ul PCR 反應溶液加上 1 ul 6 倍的染色溶液(6x loading dye)，進行電泳分析。使用 *Taq* Dye Deoxy Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied biosystems)之方法，並以自動核酸分析儀(ABI 3730 DNA Sequencer)進行定序。

葉綠體 DNA 序列以 BioEdit 軟體 7.0.5.3 版 ClustalW (Hall 1999)進行排序，並經由人工校正，再使用軟體 MEGA 4.0 版(Tamura *et al.* 2007)套裝軟體，估算出核苷酸百分比組成、核苷酸變異數目及遺傳距離，而遺傳距離矩陣是採 Kimura two-parameter 模式估算(Kimura 1980)，去除 gap 將序列進行兩兩比較，計

算序列間發生鹼基取代變異的比例，以比例不同加以演算遺傳距離。使用 PAUP v. 4.0 b10 (Swofford 1998) 軟體進行 ILD test，P 值為 0.15，經由序列分子演化統計檢測結果，可將 *matK* 與 *rbcL* 序列合併分析，以鄰近連接法(neighbor joining, NJ) (Saitou and Nei 1987)、最大簡約法(maximum parsimony, MP)、最大似然法(maximum likelihood, ML)等 3 種方法建構親緣樹。以 Bayesian 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist 2001) 程式建構貝氏親緣樹(Bayesian tree)。為

求最佳化親緣樹，利用 Modeltest 3.7 程式得到最佳模式參數，作為建構親緣樹之參考，經 hLRTs test 建議最佳模式為 TVM + G。樹狀圖中每一個分支之可信度利用靴帶分析法(bootstrap)，進行 1,000 次的隨機取樣測試，以計算建構親緣樹狀圖的可信度(Felsenstein 1985)。同時也計算一致指數(consistency index, CI) (Kluge and Farris 1969)與保留指數(retention index, RI) (Farris 1989)用以評估親緣關係圖與數據矩陣的吻合程度。

表 1. 薯蕷屬植物採集地點

Table 1. Sampling locations of the *Dioscorea* plants used in this study

Species	Chinese names	Locations	Longitudes	Latitudes
Section <i>Stenophora</i> 根狀莖節				
<i>D. colletii</i> Hook. f.	華南薯蕷	Dongpu, Nantou	120°55'50"E	23°33'40"N
<i>D. futschauensis</i> Uline ex R. Knuth	福州薯蕷	Mazu Nangan, Lienchiang	119°54'20"E	26°09'40"N
Section <i>Combilium</i> 丁字形毛節				
<i>D. esculenta</i> var. <i>spinosa</i> R. Knuth	刺薯蕷	Lanyu Yeyin, Taitung	121°33'10"E	22°02'14"N
Section <i>Opsophyton</i> 基生翅節				
<i>D. bulbifera</i> L.	黃獨	Baiguo Mountain, Changhua	120°36'24"E	23°56'58"N
Section <i>Botryosicyos</i> 複葉節				
<i>D. cumingii</i> Prain & Burkill	蘭嶼田薯	Lanyu Hongtong, Taitung	121°34'05"E	22°01'00"N
Section <i>Lasiophyton</i> 白薯榔節				
<i>D. hispida</i> Dennst.	大苦薯	Sun Moon Lake, Nantou	120°54'37"E	23°51'58"N
Section <i>Enantiophyllum</i> 周生翅節				
<i>D. alata</i> L.	大薯	Datong, Nantou	121°09'35"E	24°03'54"N
<i>D. batatas</i> Decne.	家山藥	Yangmingshan, Taipei	121°32'37"E	25°09'28"N
<i>D. benthamii</i> Prain & Burk.	大青薯	Saikung, Hong Kong	114°16'01"E	22°22'29"N
<i>D. cirrhosa</i> Lour.	裏白葉薯榔	Caoling, Yunlin	120°43'10"E	23°36'50"N
<i>D. doryphora</i> Hance	戟葉田薯	Bagua Mountains, Changhua	120°36'50"E	23°53'10"N
<i>D. formosana</i> Knuth	台灣薯蕷	Manyueyuan, Taipei	121°26'36"E	24°49'11"N
<i>D. japonica</i> Thunb.	日本薯蕷	Tengzhi, Kaohsiung	120°44'20"E	23°03'35"N
<i>D. persimilis</i> Prain & Burk.	假山藥薯	Shilin, Taipei	121°32'42"E	25°06'12"N
<i>D. polystachya</i> Turcz.	淮山	Mazu Nangan, Lienchiang	119°54'20"E	26°09'40"N
<i>D. sp.</i>		Dahu, Miaoli	120°51'11"E	24°25'40"N

表 2. 從 GenBank 下載與本研究相關類群之葉綠體基因 *matK* 與 *rbcL* DNA 序列分子資料Table 2. Chloroplast genome *matK* and *rbcL* DNA sequences of the *Dioscorea* species retrieved from GenBank

No	Taxon	Accession No. of NCBI		Country
		<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	
	Section <i>Stenophora</i>			
1	<i>D. tokoro</i>	<u>DQ974186</u>	<u>DQ408180</u>	China
	Section <i>Combilium</i>			
2	<i>D. esculenta</i>	<u>AY956497</u>	<u>AY904794</u>	Thailand
	Section <i>Opsophyton</i>			
3	<i>D. bulbifera</i>	<u>AY956488</u>	<u>AY904791</u>	Madagascar
	Section <i>Botryosicyos</i>			
4	<i>D. melanophyma</i>	<u>EF614210</u>	<u>DQ408176</u>	China
5	<i>D. pentaphylla</i>	<u>AY972483</u>	<u>AF307470</u>	Thailand
	Section <i>Lasiophyton</i>			
6	<i>D. hispida</i>	<u>AY957589</u>	<u>AF307463</u>	Thailand
	Section <i>Enantiophyllum</i>			
7	<i>D. polystachya</i>	<u>EF028331</u>	<u>DQ408181</u>	China
	Section <i>Opsophyton</i>			
8	<i>D. sansibarensis</i>	<u>AY972489</u>	<u>AY939883</u>	Madagascar

結果與討論

為確定本研究之 DNA 序列是否具個體或族群間的明顯差異，進行不同族群及個體的序列檢測，發現除了華南薯蕷在蘭嶼的族群與台灣其他族群在 *matK* 序列上有 1 個鹼基的差異，其餘類群之族群及個體均無差異，故下述葉綠體基因序列之研究均以單一個體的資料作為代表。

本研究之 16 種台灣產薯蕷屬植物，其 *matK* 序列長度介於 895-901 鹼基之間，除華南薯蕷為 901 鹼基，其餘皆為 895 鹼基；而 *rbcL* 序列片段皆為 1097 鹼基，顯示這二段葉綠體基因序列 *matK* 與 *rbcL* 的長度，在各類群間頗為一致。至於鹼基 G + C 組成百分比，*matK* 序列片段介於 31.4-32.0% 之間，*rbcL* 序列片段 G + C 組成百分比則較高，為 44.2-44.6%。*matK* 與 *rbcL* 這二段序列排序結果顯示，各物種間

核酸長度的差異，僅有一小片段(6 個鹼基)在 *matK* 序列片段出現缺失或插入，其餘的變異全為鹼基取代(substitutions)之情形。這二段序列的鹼基對替換(transition)與鹼基對顛換(transversion)比值為 2.025 (表 3)，此值若是大於期望值 0.5，顯示此段 DNA 序列仍持續演化中，尚未飽和(Graur and Li 2000)。依據 Kimura two-parameter 模式估算之遺傳距離(表 3)，台灣 16 種薯蕷屬植物之遺傳距離範圍由 0-0.042。遺傳距離最大的是華南薯蕷與大薯(0.042)及蘭嶼田薯(0.042)，其核苷酸變異數目均為 81；遺傳距離最小的是家山藥與淮山，距離值與核苷酸變異數目皆為 0。台灣文獻紀錄將家山藥的學名處理為 *D. batatas* Decne.，然而 Ding and Gilbert (2000)將 *D. batatas* Decne. 處理成 *D. polystachya* Turcz. 的同物異名；究竟家山藥與淮山是否為同一栽培種？若根據植物命名法規及分子序列之研究結果(家山藥與淮山之 *matK*

表 3. 遺傳距離矩陣採 K2P 模式估算台灣產薯蕷屬植物葉綠體基因 *matK* 與 *rbcl* 整合後序列之遺傳距離及核苷酸變異數目
Table 3. Genetic distances calculated using the Kimura two-parameter model of base substitution (above the diagonal) and the number of base differences (below the diagonal) in the combined chloroplast *matK* and *rbcl* sequences among *Dioscorea* species of Taiwan

Species	<i>D. alata</i>	<i>D. batatas</i>	<i>D. bentha-mii</i>	<i>D. bulbifera</i>	<i>D. cirrhosa</i>	<i>D. collettii</i>	<i>D. cumingii</i>	<i>D. dory-phora</i>	<i>D. esculenta</i>	<i>D. formo-sana</i>	<i>D. futschauensis</i>	<i>D. hispida</i>	<i>D. japonica</i>	<i>D. persimilis</i>	<i>D. polystachya</i>	<i>D. sp.</i>
<i>D. alata</i>		0.004	0.005	0.017	0.004	0.042	0.020	0.005	0.012	0.004	0.039	0.017	0.005	0.001	0.004	0.014
<i>D. batatas</i>	8		0.003	0.014	0.002	0.040	0.018	0.002	0.010	0.002	0.037	0.015	0.001	0.004	0.000	0.012
<i>D. benthamii</i>	9	5		0.015	0.002	0.040	0.018	0.003	0.011	0.003	0.038	0.016	0.003	0.004	0.003	0.013
<i>D. bulbifera</i>	33	27	30		0.014	0.039	0.017	0.015	0.013	0.014	0.037	0.017	0.014	0.016	0.014	0.015
<i>D. cirrhosa</i>	7	3	4	28		0.039	0.017	0.002	0.010	0.001	0.037	0.015	0.002	0.003	0.002	0.011
<i>D. collettii</i>	81	77	78	76	76		0.042	0.040	0.035	0.040	0.005	0.039	0.040	0.041	0.040	0.038
<i>D. cumingii</i>	39	35	36	34	34	81		0.018	0.014	0.018	0.040	0.014	0.018	0.019	0.018	0.014
<i>D. doryphora</i>	9	3	6	30	4	77	36		0.011	0.003	0.037	0.016	0.002	0.004	0.002	0.013
<i>D. esculenta</i> var. <i>spinosa</i>	24	20	21	25	19	68	27	21		0.010	0.033	0.012	0.011	0.012	0.010	0.009
<i>D. formosana</i>	8	4	5	27	1	77	35	5	20		0.037	0.015	0.002	0.004	0.002	0.011
<i>D. futschauensis</i>	76	72	73	71	71	10	78	72	65	72		0.037	0.038	0.039	0.037	0.036
<i>D. hispida</i>	34	30	31	33	29	76	27	31	24	30	72		0.016	0.017	0.015	0.012
<i>D. japonica</i>	9	1	6	27	4	78	36	4	21	4	73	31		0.004	0.001	0.012
<i>D. persimilis</i>	1	7	8	32	6	80	38	8	23	7	75	33	8		0.004	0.014
<i>D. polystachya</i>	8	0	5	27	3	77	35	3	20	4	72	30	1	7		0.012
<i>D. sp.</i>	28	23	25	30	21	73	27	25	18	22	70	23	24	27	23	

(Transition/transversion R=2.025)

與 *rbcL* 二段序列完全相同)，本研究擬採用 Ding and Gilbert (2000) 之分類處理，將家山藥與淮山視為同一栽培種；那麼在台灣產薯蕷屬植物中，遺傳距離最小的則應改為大薯與假山藥薯、裏白葉薯榔與台灣薯蕷、日本山藥與家山藥(或淮山)等 3 組，其遺傳距離均為 0.001，核苷酸變異數目也都只有 1 個變異。

依照 Ding and Gilbert (2000) 的分類處理，台灣的薯蕷屬植物可在屬的階層之下再細分為 6 節(表 1)：根狀莖節 2 種、丁字形毛節 1 種、基生翅節 1 種、複葉節 1 種、白薯榔節 1 種及周生翅節 9 種。為驗證這幾節之層級親緣關係，另外從 GenBank 下載 8 種薯蕷屬植物序列作為比對參考，加上台灣這 16 種薯蕷屬植物及 3 種外群植物，以 27 個分類單元(operational taxonomic units, OTUs)一併進行排序演算，據此建立之 NJ、MP、ML 及 Bayesian 親緣關係樹狀圖；由於各樹狀圖差異不大，僅少數幾個分支因 bootstrap 值低於 50% 而有所差異，故將 NJ、MP、ML 及 Bayesian 之樹狀圖整合後，薯蕷屬植物之親緣關係以 Bayesian 樹狀圖呈現(圖 1)。此樹狀圖統計資料如表 4 所列，*matK* 與 *rbcL* 二段序列合併後排序，包含 gaps 長度為 2005 characters，計有 342 個變異位點(variable sites)及 209 個有效的訊息位點(parsimony informative sites)， $R=1.9$ ，樹長為 457， $CI=0.84$ ， $RI=0.88$ 。*matK* 序列排序後在 907 個鹼基長度中有 129 個訊息位點可辨識，*rbcL* 序列在 1098 個鹼基長度中卻只有 80 個訊息位點；就葉綠體基因所提供的遺傳變異訊息而言，本研究以 *matK* 序列所提供的遺傳訊息較多。

從圖 1 所示，無論是 NJ、MP、ML 或 Bayesian 親緣關係樹狀圖，均支持薯蕷屬植物為一單系群，與外群 *Tacca* 屬植物成為姊妹群(sister group)。薯蕷屬植物親緣關係分為二大分支(clade-A 及 clade-B)，此二大分支的支持度均相當高(bootstrap value > 99%)；clade-A 為根狀莖節，clade-B 包含：丁字形毛節、基

生翅節、複葉節、白薯榔節及周生翅節等。從分子親緣樹，可看出 clade-A 根狀莖節為薯蕷屬植物中最先獨立的一群，與 clade-B 其他薯蕷屬植物類群明顯有所區隔，此分子證據與 Wilkin *et al.* (2005) 的結果相吻合。就遺傳分化的相對距離而言，clade-B 的薯蕷屬植物在親緣樹狀圖中，顯示出彼此的關係較親近；雖然如此，clade-B 中各節所屬的植物類群依然可獨自歸在同一群，形成許多側分支(subclade)，其 bootstrap 值分別為：丁字形毛節的 96-100% (node 4)、基生翅節為 99-100% (node 13)、複葉節為 95-100% (node 11)、白薯榔節為 100% (node 10) 及周生翅節為 97-100% (node 15)，分支的可信度都很高。

在形態分類上，丁字形毛節的形態特徵為莖左旋，被丁字形毛，種類只有甘薯(*D. esculenta* var. *esculenta*)一原變種及其變種刺薯蕷(*D. esculenta* var. *spinosa*)，在親緣樹狀圖中，此分支的 bootstrap 值都高於 96%。複葉節與白薯榔節在 clade-B 中被視為彼此關係較近緣的一群(node 9)，其形態特徵均為複葉；丁等(1985)的分類處理，原本將白薯榔節的薯蕷類群放在複葉節內，後來 Ding and Gilbert (2000) 將複葉只有 3 片小葉的白薯榔節與複葉通常超過 3 片小葉的複葉節，分成二個不同的節。從分子遺傳的證據，再次驗證複葉節與白薯榔節的親緣關係確實較近緣，但仍可將其區分開來。

本研究於苗栗縣大湖鄉山溝邊坡採集到 1 種在台灣植物文獻未曾記載描述的薯蕷屬植物，其形態為左旋莖、2 形葉、具零餘子表皮紫色，但花與果實特徵未見，暫時處理成 *Dioscorea* sp.。此樣本經 DNA 定序比對後，發現無論是分子序列或莖葉外部形態，均與產於東非馬達加斯佳島(Madagascar)的 *D. sansibarensis* 完全相似。Knuth (1924) 將本屬植物區分為 58 節，其中的 section *Opsophyton* (基生翅節) 又可細分成：subsections *Macroureae*、*Euopsophyton* 及 *Isocantha* 等 3 個亞節(subsection)，依該分

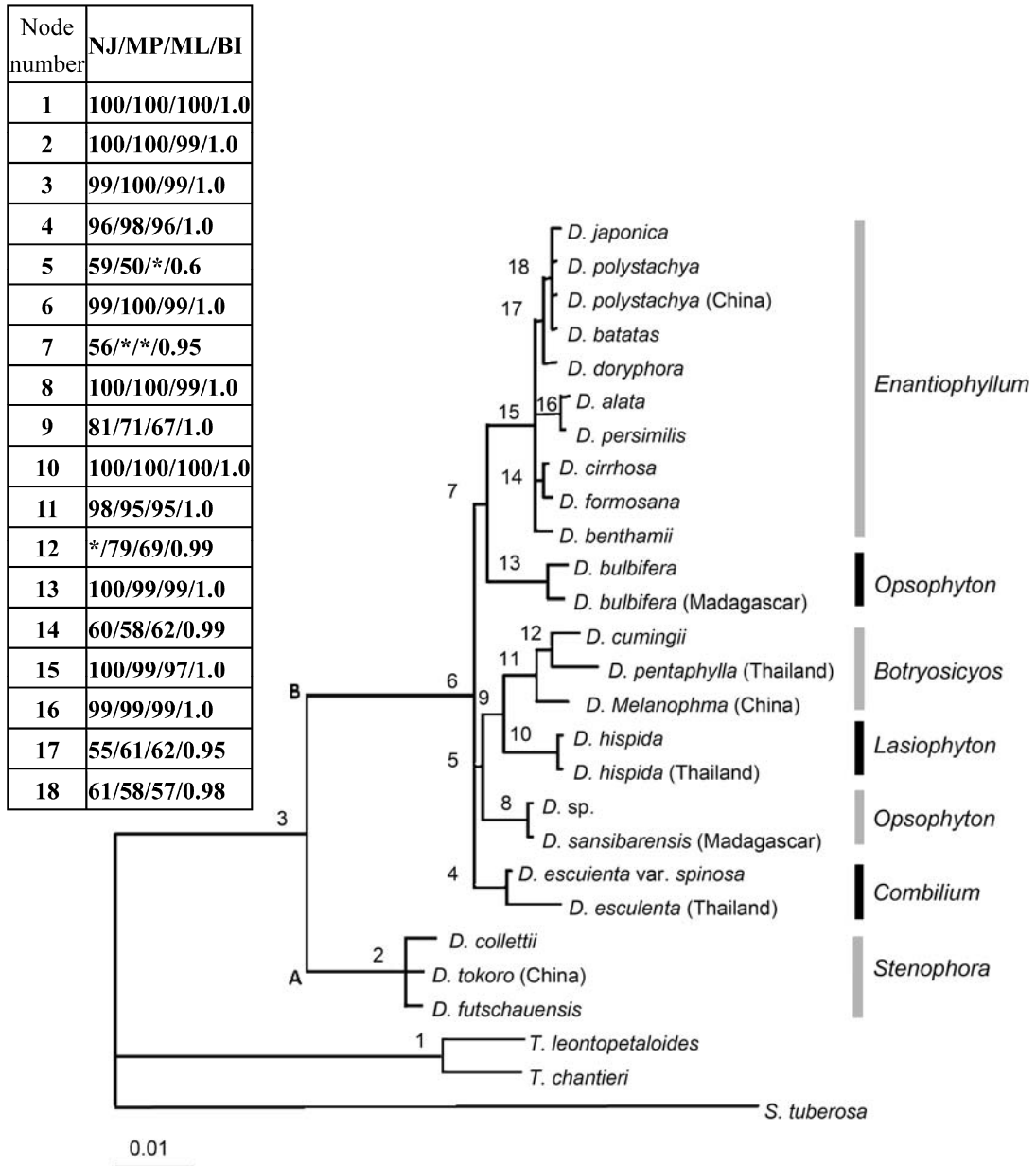


圖 1. 合併葉綠體基因片段(*matK* + *rbcL*)所建立薯蕷屬類群之 Bayesian 親緣關係樹狀圖。分支上的代號為(NJ/MP/ML/BI) bootstrap value 數值，僅顯示 50% 以上之數值，(*)號表示此方法不具該分支。左下方 bar 代表類群間 DNA 序列置換的比率。

Fig. 1. Phylogenetic tree of the *Dioscorea* species reconstructed from the Bayesian method with combined chloroplast genome *matK* and *rbcL* DNA sequences (the upper left corner table, bootstrap values of NJ, MP, ML and BI for each node (node numbers on the branches of the tree); *, bootstrap value < 50%, indicating the collapse of the nodes in the phylogenetic tree.

表 4. 葉綠體基因樹狀圖統計資訊

Table 4. Tree statistics for analyses of the chloroplast genome

	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	Combined dataset
Total alignment length (bp) (including gaps)	907	1098	2005
Variable sites (bp)	220	122	342
Parsimony informative sites (bp)	129	80	209
A%	30.2	26.9	28.4
T%	37.9	28.8	32.9
C%	15.5	19.4	17.7
G%	16.3	24.9	21.1
Transitions (ts)	23	17	40
Transversions (tv)	15	6	21
Transition/transversion (R)	1.53	2.83	1.90
Tree length	287	173	457
Consistency index (CI)	0.87	0.69	0.84
Retention index (RI)	0.89	0.84	0.88

類處理意見，*D. sansibarensis* 屬於 *Macroureae* 亞節，黃獨(*D. bulbifera*)屬於 *Euopsophyton* 亞節；雖然黃獨與 *D. sansibarensis* 在形態分類上同屬於基生翅節，但從分子樹狀圖所示，它們卻隸屬於不同的分支(node 8 & 13)，此結果與傳統形態分類法稍有不同；若從分子親緣的資料研判，這 3 個不同亞節的分類階層似乎可以提升到不同節這階層。至於新發現的 *Dioscorea* sp. 究竟是否與 *D. sansibarensis* 為同一種，有待收集到更完整的分類資訊，再進一步確認。

上述各節的薯蕷植物其形態全部為左旋莖，僅有周生翅節的薯蕷為右旋莖；周生翅節薯蕷種類繁多，全世界估計超過 120 種(Ding and Gilbert 2000)，這節薯蕷的分類處理，長久以來一直有許多紛爭，主要問題在於部分分類群形態特徵相近，且兼具中間型，進而影響類群間區別的準確性。例如，大青薯(*D. benthamii*)的模式標本採集於香港，台灣最早的採集紀錄為 1906 年，由 Matsumura 與 Hayata 所記錄，當時鑑定為 *D. oppositifolia* L.，至 1921 年才於台灣植物圖譜中出現大青薯的學名；同時，Hayata (1921)於花蓮太魯閣所採的一份標本，發表為新種 *D. tarokoensis* Hayata，

至 1927 年 Yamamoto 將上述分類群併入大青薯中，一直沿用至今。作者參考香港植物標本館提供(館藏於屏東科技大學植物標本館，館號 69613)的大青薯標本後，發現台灣各標本館的大青薯採集紀錄〔例如，林業試驗所標本館(TAIF)，館號 75368、91577；國立自然科學博物館植物標本館(TNM)，館號 S12984、S12985、S53619；國立台灣大學植物標本館(TAI)，館號 31200；國立中興大學生命科學系植物標本館(TCB)，TC147、TC196〕，此物種在鑑定上有許多問題存在，絕大部分應更正為裏白薯榔，另一部分則是與日本薯蕷混淆，少部分標本由於枝葉毀損嚴重，難以檢視。研究期間並未於野外採集到大青薯標本，僅有 2 份日本薯蕷標本其枝條頂端的葉子或部分葉形與大青薯極為相似；但經分子序列比對後，證實這些疑似的標本都不是大青薯；究竟台灣是否有大青薯的分布，值得更進一步探究。

利用葉綠體基因片段(*matK* + *rbcL*)所建立薯蕷屬類群之親緣關係樹狀圖中，雖然周生翅節的分支有很高的支持度(bootstrap 值 97-100%)；然而在此分支內許多類群間的遺傳距離及變異卻很小，例如大薯的莖為四方形或多邊形且莖

上具有翅，與形態差異頗大的假山藥薯，其遺傳距離為 0.001，核苷酸變異數目也只有 1 個變異；同樣地，裏白葉薯榔與台灣薯蕷、日本山藥與家山藥(或淮山)，其遺傳距離也是 0.001、核苷酸也都只有 1 個變異。從分子資料研判，這群薯蕷應該是近期才快速種化(rapid speciation)的一群相關種，Wilkin *et al.* (2005)也曾對周生翅節的分類群提出此論證。

綜合以上分子資訊，可獲得以下結論，藉由葉綠體基因片段(*matK* + *rbcL*)序列所建立台灣產薯蕷屬植物之親緣關係，支持 Ding and Gilbert (2000)對本屬的形態分類處理，也就是台灣產薯蕷屬植物在屬階層之下，可更進一步細分為：根狀莖節(*Stenophora* Uline)、丁字形毛節(*Combilium* Prain & Burkill)、基生翅節(*Opsophyton* Uline)、複葉節(*Botryosicyos* (Hochstetter) Uline)、白薯榔節(*Lasiophyton* Uline)及周生翅節(*Enantiophyllum* Uline)等 6 節的分類架構。

謝 誌

感謝二位審查委員提供寶貴修改意見；實驗期間承蒙蔡奇立先生在實驗設備與數據分析上的協助；陳頤靜小姐協助實驗室工作；王秋美、呂碧鳳小姐、梁珣碩、謝寰羽及廖俊奎先生協助標本之蒐集。

引用文獻

- 丁志遵、張美珍、凌萍萍。1985。薯蕷科。斐鑑、丁志遵編。中國植物誌第 16 卷第 1 分冊。54-120 頁。科學出版社。
- 郭政峰。2008。台灣栽培山藥之免疫促進作用活性研究。高雄醫學大學天然藥物研究所碩士論文。
- 陳蕙婷。2003。台灣產薯蕷科植物核酸多形性與形態表現之研究。國立中興大學生命科學系碩士論文。
- 曾千容。2005。台灣栽培數種山藥之降血糖活性研究。高雄醫學大學天然藥物研究所碩士論文。
- 廖俊奎。2000。台灣產薯蕷屬(薯蕷科)之分類研究。國立中山大學生物科學系碩士論文。
- 劉新裕、張同吳、林義恭、陳淑芬、王昭月、朱戩良、王順成。1999。山藥之品種特性、生產潛力、物化性質與抗氧化研究。中華農業研究 48: 1-22。
- 蕭錦隆。2001。台灣產薯蕷屬植物之分類研究。國立台灣大學植物學研究所碩士論文。
- 謝寰羽。2008。台灣產薯蕷屬(薯蕷科)數值分類研究。國立屏東科技大學森林系碩士論文。
- Caddick, L. R., P. Wilkin, P. J. Rudall, T. A. J. Hedderson and M. W. Chase. 2002. Yams reclassified: A recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon* 51: 103-114.
- Ding, Z. and M. G. Gilbert. 2000. Dioscoreaceae. In: Z. Wu and P. H. Raven (eds.). *Flora of China* 24: 276-296. Missouri Botanical Garden Press (St. Louis) and Science Press (Beijing).
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Farris, J. S. 1989. The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5: 417-419.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Graur, D. and W. H. Li. 2000. *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer Association, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic*

- Acids Symposium Series 41: 95-98.
- Hance, F. 1866. Dioscoreaceae. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique Series 5*: 244.
- Hayata, B. 1921. *Icones Plantarum Formosanarum X*. pp. 335. Bureau of Productive Industries, Taihoku.
- Henry, A. 1896. A List of Plants from Formosa. *Transactions of the Asiatic Society of Japan* 24: 1-118.
- Huang, T. C. and J. L. Hsiao. 2000. Dioscoreaceae. pp. 87-98. *In: Huang et al.* (ed.). *Flora of Taiwan*. 2nd ed. Vol. 5: 87-98. Department of Botany, National Taiwan University, Taipei.
- Huber, H. 1998. Dioscoreaceae. pp. 216-235. *In: K. Kubitzki* (ed.). *The Families and Genera of Vascular plants*, Vol. III. Springer-Verlag, Berlin Germany.
- Huelsenbeck, J. P. and F. Ronquist. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Kawakami, T. 1910. A List of Plants of Formosa. pp.121-122. Bureau of Productive Industries, Taihoku.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Kluge, A. G. and J. S. Farris. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* 18: 1-32.
- Knuth, R. G. P. 1924. Dioscoreaceae. *In: A. Engler* (ed.). *Das Pflanzenreich IV*. 43: 1-387.
- Liu, T. S. and T. C. Huang. 1962. On the Taiwan species of *Dioscorea*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 3: 133-149.
- Liu, T. S. and T. C. Huang. 1978. Dioscoreaceae. pp. 99-109. *In: Li et al.* (ed.). *Flora of Taiwan*. Vol. V. Epoch Publishing Cooperation, Taiwan.
- Masamune, G. 1954. A List of Vascular Plants of Taiwan. pp.137.
- Matsumura, J. and B. Hayata. 1906. *Enumeratio Plantarum Formosanarum*. *Journal College of Science, Imperial University of Tokyo* 22: 432-433.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Soltis, P. S. and D. E. Soltis. 1995. Alternative genes for phylogenetic reconstruction in plant: Introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 147-148.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony version 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Wilkin, P., P. Schols, M. W. Chase, K. Chayamarit, C. A. Furness, S. Huysmans, F. Rakotonasolo, E. Smets and C. Thapayai. 2005. A plastid gene phylogeny of the yam genus, *Dioscorea*: roots, fruits and Madagascar. *Systematic Botany* 30: 736-749.
- Wolfe, K. H., W. H. Li and P. M. Sharp. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondria, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 84: 9054-9058.
- Xie, C. X., C. M. Dong, S. L. Gao, H. Z. Qin and Y. Bai. 2009. Analysis of biochemical indices and efficient ingredients in autotetraploid of *Dioscorea zingibiernsis*. *Zhong Yao Cai* 32: 840-843.

- Yamamoto, Y. 1927. Supplement a Iconum Plantarum Formosanarum 3: 5-9.
- Zhang, X. Y., C. G. Hu and J. L. Yao. 2010. Tetraploidization of diploid *Dioscorea* results in activation of the antioxidant defense system and increased heat tolerance. *Journal of Plant Physiology* 167: 88-94.