

小花蔓澤蘭與蔓澤蘭形態區別及 RAPD - PCR 分析

陳富永* 徐玲明 蔣慕琰

台中縣霧峰鄉 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

(接受日期：中華民國 91 年 3 月 26 日)

摘 要

陳富永*、徐玲明、蔣慕琰 2002 小花蔓澤蘭與蔓澤蘭形態區別及 RAPD - PCR 分析 植保會刊 44 : 51 - 60

近年來，在臺灣中南部及東部危害嚴重的小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth)，為菊科蔓澤蘭屬一年生草本植物，原產南美洲，約在 1990 年以前侵入臺灣，目前在臺灣全島低海拔地區之廢耕、休閒農地、管理粗放之果園、林地、山坡地普遍發生，以苗栗以南及花東地區較多。臺灣地區原有同屬的蔓澤蘭 (*Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob.) 與小花蔓澤蘭生長習性與莖葉外觀形態相似，唯小花蔓澤蘭枝條節位突起為半透明薄膜狀撕裂形突起，蔓澤蘭則為皺褶耳狀突起；而且蔓澤蘭的總苞、頭花、瘦果、冠毛之長度皆比小花蔓澤蘭大。除了以花器特徵鑑別外，利用隨機增幅多型性核酸 (RAPD - PCR) 技術輔助確認兩不同種之蔓澤蘭屬植物。以臺中縣太平市，南投縣埔里鎮、國姓鄉、南投市等地採集得之小花蔓澤蘭及蔓澤蘭植株為材料，分離純化 DNA，以 20 個隨機引子組配對分別進行 PCR 反應，再經由電泳圖譜分析兩種蔓澤蘭 DNA 所產生的核酸條帶型式；部分之引子對所產生的核酸條帶無法區分兩種蔓澤蘭，而部分引子對在 PCR 反應後的核酸條帶型式則顯現明顯的歧異，其中 OPA-10、OPA-11 的配對及 OPA-15、OPA-16 的配對兩組所擴增的核酸條帶型式清晰簡單，可明確區分小花蔓澤蘭及蔓澤蘭，做為種間鑑別之分子標誌，也提供做為在非開花時期之鑑定工具。

(關鍵詞：小花蔓澤蘭、蔓澤蘭、RAPD 分析、形態區別)

* 通訊作者。E-mail: fyc@tactri.gov.tw

緒 言

小花蔓澤蘭(大陸名:薇甘菊;學名:*Mikania micrantha* Kunth)及蔓澤蘭(大陸名:假澤蘭;學名:*Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob.)均為菊科蔓澤蘭屬(*Mikania*)一年生蔓藤性草本植物,蔓澤蘭屬植物全球約 430 種⁽¹¹⁾,主要分佈於熱帶地區。臺灣、大陸及東南亞原僅有蔓澤蘭一種⁽¹⁶⁾,近年大陸廣東及香港嚴重危害之種類為小花蔓澤蘭,原產中南美洲,1960 年代後侵入東南亞並在亞洲熱帶地區、大洋洲及澳洲北部擴散。此兩種與分佈侷限於北美之 *Mikania scandens* (L.) Willd. 為蔓澤蘭屬危害潛力最高之三种植物^(9, 10)。臺灣地區最近幾年爆發大面積為害的也是小花蔓澤蘭⁽⁸⁾,在苗栗以南的西部地區以及花蓮、台東地區均有大量的族群發生,佔據了許多低海拔林地、道路邊坡、荒廢地等,短時間覆蓋所依附的植物冠層,影響該植物生長,甚至被稱為「森林殺手」;1998 年新出版之「臺灣植物誌」仍無小花蔓澤蘭的記載⁽¹⁶⁾,不同種類蔓澤蘭之區分,需依據國外之文獻。此類資料建立於境外材料之形態研究,且文獻取得不易;過去半年間,媒體及民眾多未將本土及侵入種區分,而混稱為「蔓澤蘭」。已積極推動之砍除「蔓澤蘭」活動中,可能對本土原有之弱勢物種造成衝擊。小花蔓澤蘭與蔓澤蘭外觀形態極為相似,生長習性亦相近,主要之鑑別依據為花器,因此有必要對於這兩种植物形態上的區別做正確地歸納,並輔以核酸層次之 RAPD 分析技術,期能將二者明確而快速地加以鑑別。

材料與方法

植物材料來源

小花蔓澤蘭及蔓澤蘭均自野外採集

得,移回溫室中種植於盆鉢中。小花蔓澤蘭採集自臺中縣太平市、南投縣國姓鄉、南投縣埔里鎮;蔓澤蘭則採集自臺中縣太平市、南投縣國姓鄉、南投縣南投市等地區。採集得之植物樣品為莖葉組織,將之扦插於栽培介質中,成活後進行外觀形態觀察及核酸分析試驗。

外觀形態觀察

以目視觀察小花蔓澤蘭及蔓澤蘭外觀形態之差異,包括植株性狀、生長習性、葉型、花色等特徵。另外,在實體顯微鏡(Leica MS5)下觀察花器微細構造,以測微尺測量瘦果、冠毛、總苞等長度。

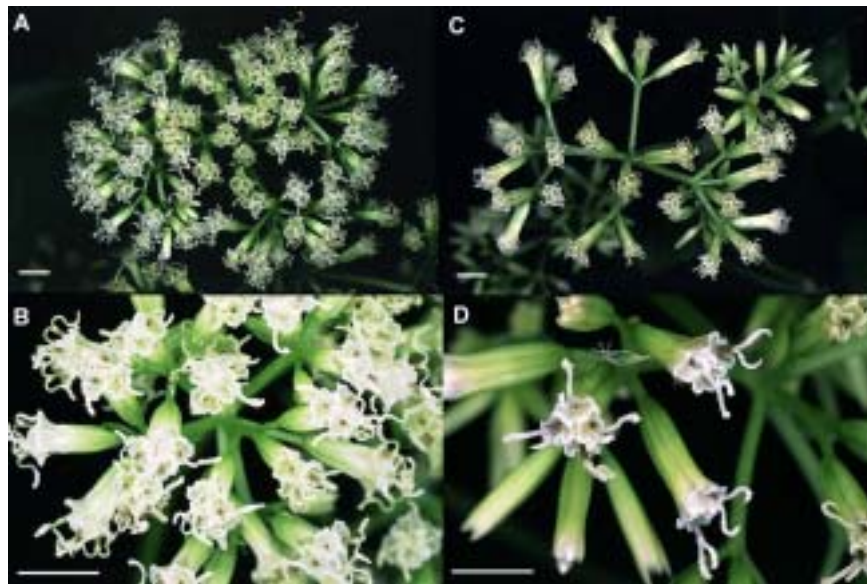
植物 DNA 製備

抽取植物全 DNA 之方法主要依據 Lee 及 Taylor⁽¹²⁾之流程再加以修改而成;秤取植物葉片 0.5 g,以液態氮在研鉢中磨成粉末,加入 1 ml 解離緩衝液(lysis buffer, 50 mM Tris-HCl pH7.2, 50 mM EDTA, 3 % SDS, 1 % 2-mercaptoethanol),混勻後移入微量離心管中,置於 65 °C 水浴中 40 min,加入 1 ml phenol (TE buffer saturated),振盪混勻後以 10,000 rpm 離心 10 min,取上層液,再加入等體積 phenol 重覆一次;取上層液加入 2 µl RNase A (ribonuclease A, 4 mg/ml, GeneMark)於 37 °C 處理 30 min,再加入等體積 phenol/chloroform (1:1,v:v),振盪混勻後以 10,000 rpm 離心 10 min,取上層液,加等體積 chloroform/isoamylalcohol (24:1,v:v, Amresco)振盪混勻後以 10,000 rpm 離心 10 min,取上層液(約 600 µl),加 0.6 倍體積的 isopropanol 及 20 µl 的 3 M NaOAc (pH8.0),靜置於零下 20 °C 中 60 min,以 10,000 rpm 離心 10 min,倒掉液體,加入少許 70 % ethanol 潤洗後即倒出,沉澱物於抽氣櫃中風乾後,溶於 400 µl TE 緩衝液 [10 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM EDTA]中。



圖一、小花蔓澤蘭 (A、C) 及蔓澤蘭 (B、D) 在野外的植株外觀。未開花前，兩者的葉形、顏色、著生方式等特徵並無助於辨認；而在相似的生長環境下，小花蔓澤蘭的生長勢顯得較蔓澤蘭為強。

Fig. 1. Field view of *Mikania micrantha* (A, C) and *M. cordata* (B, D). These two species are not easily recognized by gross morphological features such as shape, color and arrangement of leaves at preflowering stages. *M. micrantha* often appeared much vigorous than *M. cordata* at the similar habitats.



圖二、小花蔓澤蘭 (A、B) 及蔓澤蘭 (C、D) 複繖房花序之比較。白色線段相當於 5 mm。

Fig. 2. Comparison of compound corymb of *Mikania micrantha* (A, B) and *M. cordata* (C, D). Bar is equal to 5 mm.

表一、小花蔓澤蘭與蔓澤蘭花序與花部特徵

Table 1. Head and flower characteristics of *Mikania micrantha* and *M. cordata*

Features	<i>M. micrantha</i>	<i>M. cordata</i>
color of corollas	white	white - milky
length of heads	4.7 - 5.2 mm	7.1 - 7.7 mm
length of involucre bracts	3.4 - 4 mm	5.9 - 6.7 mm
length of achenes	1.3 - 1.5 mm	2.7 - 3.2 mm
length of pappus	2.4 - 2.7 mm	3.9 - 4.1 mm

DNA 定量

溶於 TE buffer 之 DNA，各取 5 μ l 進行 2 % 瓊脂膠 (agarose) 電泳分析，以 DNA 標準品 (marker) 做為比對，估計樣品 DNA 之濃度，並以之為依據，取量進行 PCR 反應

PCR 反應

聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 以 PerkinElmer DNA Thermal Cycler 480 儀器進行。樣品 DNA 取 200 ng 做為模板 (template DNA)，核酸引子 (primer) 則選用購自 Operon 公司之隨機引子組 (random primer, kit A)，兩兩為一對進行反應，引子最終反應濃度為 0.5 mM；以 KlenTaq DNA 聚合酶購自 Protech 公司) 為反應酵素，最終反應液之離子濃度為 50 mM Tris-HCl pH9.1, 16 mM ammonium sulfate, 3.5 mM MgCl₂, 150 μ g/ml BSA 以及 200 μ M dATP、200 μ M dTTP、200 μ M dCTP、200 μ M dGTP；反應體積為 50 μ l，置於 0.6 ml 之微量離心管，液面再加 25 μ l 之礦物油，以防止反應液體蒸散。連鎖反應之循環首先為 94 加熱 4 min，接著為 40 個循環的 95 1 min、52 1 min、72 1 min，最後為 72 7 min。

電泳分析

經 PCR 後之反應液取 10 μ l 進行電泳分析，加入 2 μ l 追蹤染劑，以 2 % 之瓊脂膠 (agarose) 膠片 [0.8g agarose 溶於 40 ml 0.5 \times TBE 緩衝液 (1 \times : 0.089 M Tris, 0.089 M Borate, 0.002 M EDTA) 中，內含染劑 EtBr

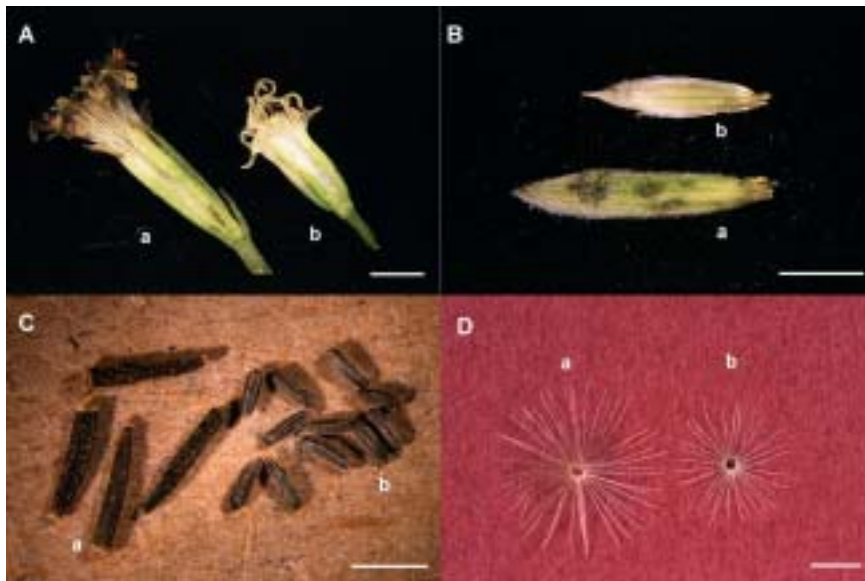
(ethidium bromide) 5 μ g/ml]，在 100V 之電壓下進行，電泳槽中之緩衝液亦為 0.5 \times TBE；電泳進行 30 min 後，膠片取出放在紫外光燈箱上觀察，並以拍立得底片 (Polaroid 667) 拍照記錄。

結 果

小花蔓澤蘭與蔓澤蘭形態區別

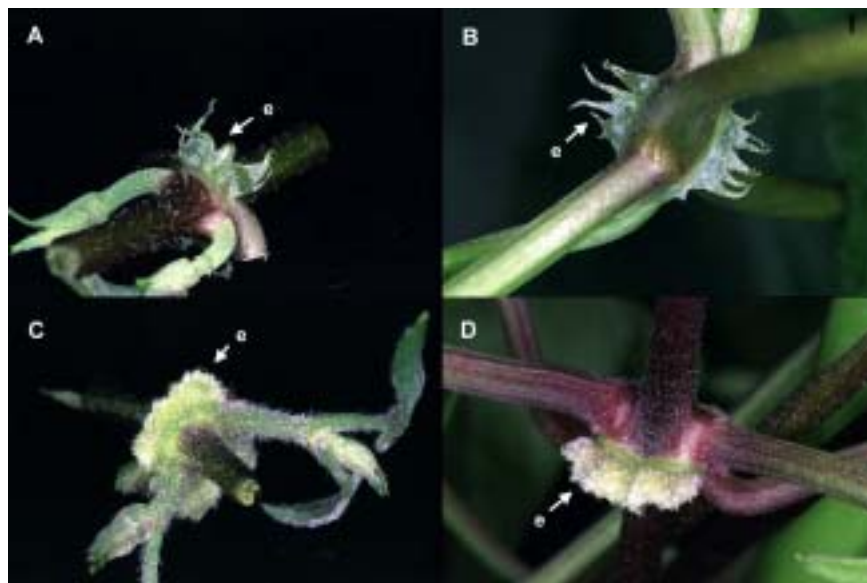
同為蔓澤蘭屬植物之小花蔓澤蘭與蔓澤蘭均為一年生蔓藤性草本植物，生態習性相近，多生長於低海拔森林邊緣、次生林、道路邊坡、雜木灌叢、荒廢耕地等環境；莖葉形態亦近似 (圖一)，葉對生，莖中部葉三角狀卵形至卵形、基部葉心形近戟形；頭狀花序多數，在枝端常排列成複繖房花序狀 (圖二)。兩種植物在外觀上主要依據花器構造加以區分，經肉眼觀察及顯微鏡觀察及測量，花器上的幾點特徵可以做為鑑別兩種蔓澤蘭的依據 (表一)：小花蔓澤蘭在整個複繖房花序的頭狀花數目常比蔓澤蘭多而密，因此整體花序的形態，蔓澤蘭所顯現的感覺較為疏散；至於花冠的顏色，兩者主要皆為白色，開花後期漸呈黃色而枯黃，但在盛花期蔓澤蘭的花色略偏乳白色，小花蔓澤蘭則顯較純白色；頭狀花、總苞、瘦果及冠毛的長度，蔓澤蘭均大於小花蔓澤蘭 (圖三)，在各測量 50 個樣品的記錄值顯示，蔓澤蘭的頭狀花長為 7.1 - 7.7 mm，小花蔓澤蘭則為 4.7 - 5.2 mm；蔓澤蘭的總苞長為 5.9 - 6.7

mm，小花蔓澤蘭則為 3.4 - 4 mm；蔓澤蘭的瘦果長為 2.7 - 3.2 mm，小花蔓澤蘭則為 1.3 - 1.5 mm；蔓澤蘭的冠毛長為 3.9 - 4.1 mm，小花蔓澤蘭則為 2.4 - 2.7 mm。



圖三、蔓澤蘭 (a) 及小花蔓澤蘭 (b) 頭花 (A)、總苞 (B)、瘦果 (C)、冠毛 (D) 之比較。白色線段相當於 2mm。

Fig. 3. Comparison of (A) head, (B) involucral bracts, (C) achenes, and (D) pappus of *Mikania cordata* (a) and *M. micrantha* (b). Bar is equal to 2mm.



圖四、小花蔓澤蘭 (A、B) 與蔓澤蘭 (C、D) 的節位突起 (e) 形態略有差異。

Fig. 4. The different shape of enation structure (e) at nodes on *Mikania micrantha* (A, B) and *M. cordata* (C, D).

小花蔓澤蘭與蔓澤蘭花器之特徵足以供區別兩種植物，但在非開花期則非常類似。事實上，小花蔓澤蘭在營養體枝條上的節位突起 (enation) 是一項可供辨識的特殊構造 (圖四)；在較幼嫩的非開花莖枝上，小花蔓澤蘭在節位會有一對半透明撕裂狀的突起，類似羽狀薄膜，而蔓澤蘭則是略不規則的耳狀突起，較厚而有皺褶，表面佈柔毛。這樣的構造通常可見，但在較成熟枝條或開花枝上則沒有，若植株生長的環境較惡劣也有可能無法發現。

RAPD-PCR 分析

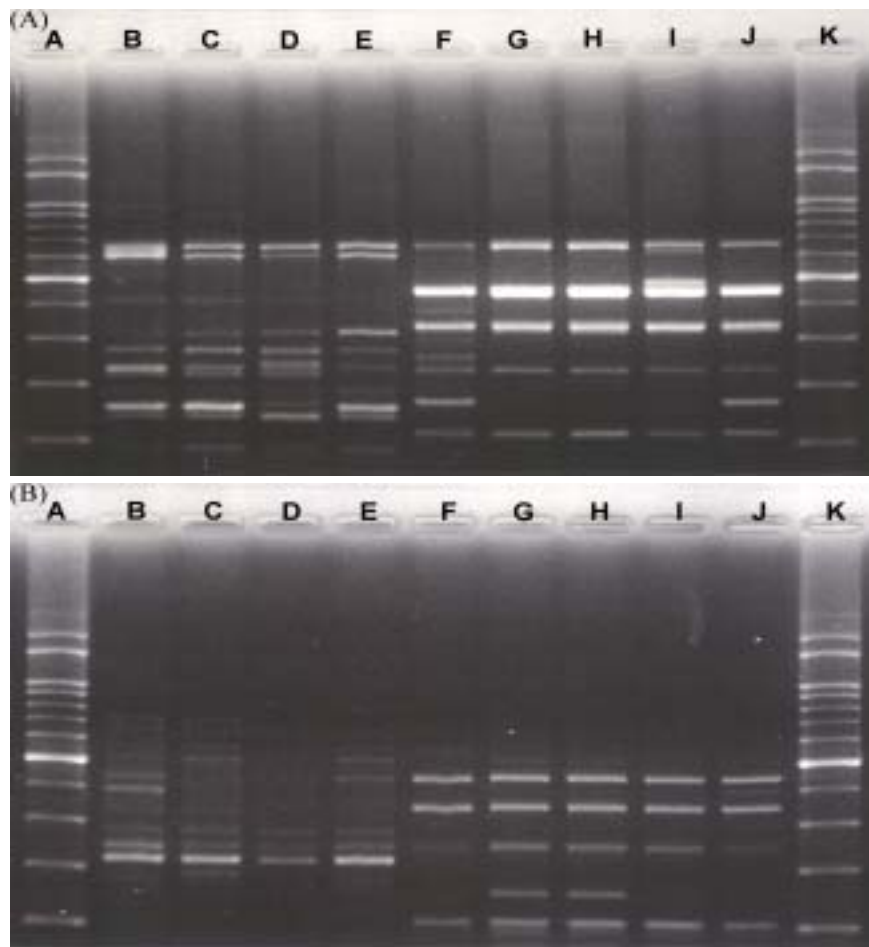
小花蔓澤蘭及蔓澤蘭的植體 DNA 經 phenol/chloroform 方法萃取後，以瓊脂膠片電泳分析，藉以估計 DNA 濃度；以最後溶於 400 μ l TE buffer 之狀況，DNA 濃度約為 10 - 20 ng/ μ l，取量 200 ng DNA 做為模板進行 PCR 反應；Operon 公司生產之隨機引

子組以 A - Z 編號，有多種引子組可供選擇，本研究中先以 A 組進行試驗 (表二)；PCR 分析之儀器為 PerkinElmer 公司製造之 DNA Thermal Cycler 480 型儀器，執行完所設定之循環程式約需時 3.5 小時。試驗結果顯示，小花蔓澤蘭及蔓澤蘭之 RAPD 型式可以明顯區別，經過 PCR 反應後，放大之核酸片段與組合兩者並不相同，圖五為其中利用 OPA10 - OPA11 及 OPA15 - OPA16 兩組引子對進行 PCR 反應後之結果，部分之 DNA 條帶 (band) 為蔓澤蘭屬植物共有之條帶，而部分則為蔓澤蘭或小花蔓澤蘭專一性之條帶；例如在(A)膠片中，蔓澤蘭在約 320bp (base pair) 及 450bp 的位置各有一條特有的主要條帶 (unique major band)，在相對位置小花蔓澤蘭則無。又如(B)膠片中，蔓澤蘭特有的條帶則出現在約 100bp、340bp 及 440bp 的位置，小花蔓澤蘭則在約 210bp 的位置有一特有條帶。

表二、RAPD 反應中所使用之引子名稱、序列、G+C 百分比以及分子量

Table 2. Primers used in RAPD analysis

primers	sequence 5' to 3'	G+C %	M.W. (g/mol)
OPA-01	CAGGCCCTTC	70	2955
OPA-02	TGCCGAGCTG	70	3035
OPA-03	AGTCAGCCAC	60	2988
OPA-04	AATCGGGCTG	60	3059
OPA-05	AGGGGTCTTG	60	3090
OPA-06	GGTCCCTGAC	70	2995
OPA-07	GAAACGGGTG	60	3108
OPA-08	GTGACGTAGG	60	3099
OPA-09	GGGTAACGCC	70	3044
OPA-10	GTGATCGCAG	60	3059
OPA-11	CAATCGCCGT	60	2979
OPA-12	TCGGCGATAG	60	3059
OPA-13	CAGCACCCAC	70	2933
OPA-14	TCTGTGCTGG	60	3041
OPA-15	TTCCGAACCC	60	2939
OPA-16	AGCCAGCGAA	60	3037
OPA-17	GACCGCTTGT	60	3010
OPA-18	AGGTGACCGT	60	3059
OPA-19	CAAACGTCGG	60	3028
OPA-20	GTTGCGATCC	60	3010



圖五、以 RAPD - PCR 分析小花蔓澤蘭 (B 欄~E 欄) 與蔓澤蘭 (F 欄~J 欄) 植體 DNA。A、K 欄為 100bp 之 DNA 標示片段；B、C、D、F、G、H 欄樣品採集自臺中縣太平市，E 欄樣品採集自南投縣埔里鎮，I 欄樣品採集自南投縣國姓鄉，J 欄樣品採集自南投縣南投市。電泳膠片 (A) 及 (B) 分別為使用 OPA10 - OPA11 及 OPA15 - OPA16 二組引子對之反應結果。

Fig. 5. RAPD-PCR analysis of *Mikania micrantha* (Lane B-E) and *M. cordata* (Lane F-J). Photos showing gel plates of DNA fragments resulted from primer pairs OPA10-OPA11(A) and OPA15-OPA16(B); Band patterns of the two comparing species were clearly distinguishable. Lane A, K were DNA marker with 100bp DNA pieces. Different lanes were samples collecting from separated sites in central Taiwan.

討 論

小花蔓澤蘭與蔓澤蘭在非開花期的外觀形態極為相似，巨觀的乍視往往無法立即辨認，常造成民眾與媒體在名稱上的誤用；近年來，報章雜誌大肆報導「薇甘菊」(或

「蔓澤蘭」) 在花東地區以及中部地區大面積發生，這個混淆的問題才被凸顯出來；蔣等人⁽⁸⁾的報告中，小花蔓澤蘭多於十月下旬開花，而蔓澤蘭的花期較分散可出現於不同月份，此項差異有助於田野間辨認蔓澤蘭族群；開花後的植株，兩者的花序外觀略有不

同，蔓澤蘭的花序較為鬆散，小花蔓澤蘭的則較繁多而密，顏色皆為白色但蔓澤蘭較偏乳白色或淡黃色；除了花序疏密程度與花色的判斷較為主觀外，其他頭花長、總苞長、瘦果長、及冠毛長的幾項性狀，均是兩種蔓澤蘭在開花期間明顯而容易分辨的特徵。在中國大陸孔氏等人⁽²⁾的報告中亦曾對蔓澤蘭屬中三種植物 *M. scandens*、*M. cordata* 及 *M. micrantha* 之辨認特徵加以敘述，其有關小花蔓澤蘭及蔓澤蘭所陳述的數據，蔓澤蘭的頭狀花長為 6 - 9 mm，小花蔓澤蘭則為 4.5 - 6 mm；蔓澤蘭的總苞長為 5 - 6 mm，小花蔓澤蘭則為 2 - 4 mm；蔓澤蘭的瘦果長為 2 - 3 mm，小花蔓澤蘭則為 1.5 - 2 mm；蔓澤蘭的冠毛長為 4 mm，小花蔓澤蘭則為 2 - 4 mm，與本研究中所記錄之資料大同小異，而第三種植物 *M. scandens* 目前僅分佈於美洲地區，在亞洲及臺灣則尚未被記錄。

在採集與調查的過程中，小花蔓澤蘭與蔓澤蘭有幾項生態特性值得觀察；這兩種蔓澤蘭屬植物生長習性十分接近，也常會發現二者共同生長在相鄰的環境中，然而小花蔓澤蘭族群的生長勢十分旺盛，開花、結實的能力遠高於蔓澤蘭，可以預期在這些二者共存的環境中，小花蔓澤蘭將快速佔據其生態空間 (ecological niche)，蔓澤蘭的生長必受到壓迫，甚至極有可能在這環境中滅絕。另外，小花蔓澤蘭的花朵具有特殊之香味甚於蔓澤蘭，其龐大的花朵數量亦常吸引蜂群探訪，似是生態危害之外的一項特色。在多次的觀察記錄中，可在蔓澤蘭的葉片上發現許多蟲癭，小花蔓澤蘭上則未發現這種情形，其生態意義或有待昆蟲學者探討。

RAPD - PCR 分析技術乃是利用任意組合十個核 88 酸做為引子，進行聚合連酶連鎖反應 (PCR)，由於引子的核 88 酸數目僅有十個，在植物基因體 DNA 上的結合機會增加，反應後所產生的 DNA 片段較多、

組合型式也較複雜，因此提供了多型性 (polymorphism) 分析更多線索，也成為現今在動物、植物或微生物各種生物性領域的研究上一項重要的工具。本研究利用此一技術做為兩種同屬植物間的輔助鑑別工具，使用的引子為 Operon 公司生產的隨機引子，該產品在世界各國的研究中也多被採用，而反應中所設定之循環程式，為參照 Martinez - Culebras⁽¹⁵⁾ 等人之報告所設定，引子之黏合溫度為 52℃，一般進行 RAPD 分析之試驗中所設定之黏合溫度約在 50℃ 以下，以增加所合成 DNA 片段之多型性，但另一方面卻也增加試驗結果分析之複雜性；本研究之目的希望藉由 PCR 擴增，產生小花蔓澤蘭及蔓澤蘭不同之多型性 DNA 片段，獲得足以區別此二種植物之 DNA 分子標誌 (RAPD marker)，所設定之溫度條件不影響引子之黏合，也減少非專一性條帶之產生，因此 95℃、52℃、72℃ 之循環條件至為恰當。

在 PCR 結果中，小花蔓澤蘭與蔓澤蘭之 RAPD 圖譜有明顯之不同，也各自擁有一些專屬該植物的 DNA 片段，這些特有的專屬 DNA 片段，都可以做為一特定物種之鑑定依據，甚至可以將之序列訂出，合成物種專一性探針，做為快速篩檢、偵測的工具，這項技術在昆蟲⁽³⁾、病原微生物等領域均已被廣泛使用。另外在本研究中，藉由 RAPD 之多型性圖譜明顯區別兩種植物，同時找到專屬於個別植物之分子標誌，然而在電泳膠片中亦可發現，在不同採樣點採集得的同一種植物體中，條帶數目略有不同，部分樣品會有增或減一條帶的現象，這樣的差異，使得 RAPD 的應用更擴大到種內族群演化與變異的相關研究，同一物種 (植物、動物、或微生物) 不同來源的樣品在經過 RAPD - PCR 分析後，根據電泳圖譜型式，進行群叢分析 (clustering analysis)，研判族群之演化

方向、親緣關係、基因混雜情形等，目前這樣的探討正廣泛地在各個領域中探討^(1, 4, 5, 6, 7, 13, 14)，未來也將是探討蔓澤蘭或小花蔓澤蘭入侵、演化等課題的工具之一。

參考文獻

1. 王昭月、莊耿彰、范明仁。2001。以 ISSR 與 RAPD 分子標誌分析火鶴花栽培種間遺傳相似性。中華農業研究 50 : 54 - 67。
2. 孔國輝、吳七根、胡啟明、葉萬輝。2000。薇甘菊 (*Mikania micrantha* H.B.K.) 的形態、分類與生態資料補記。熱帶亞熱帶植物學報 8 : 128 - 130。
3. 邱一中、吳文哲、蕭旭峰、石正人。2000。RAPD-PCR 在六種斑潛蠅 (*Liriomyza* spp.) (雙翅目：潛蠅科) 快速鑑定技術之應用。中華昆蟲 20 : 293 - 309。
4. 林政潔、張武男、宋妤。2000。RAPD 標誌在番椒品種鑑別應用之研究。植物種苗 2 : 19 - 35。
5. 桂枝、袁慶華、藺海明。2001。RAPD 標記技術及其在牧草研究中的應用。草業科學 18 : 50 - 55。
6. 葉文斌、何佳霖、許祖法、何琦琛。2000。運用逢機擴增多形性核酸分析長捕蠅 (*Amblyseius longispinosus*) 及溫氏捕植蠅 (*A. womersleyi*) 亞綱；捕植蠅科) 的遺傳變異。中華昆蟲 20 : 335 - 345。
7. 蔡奇助、邱建中、林深林。1998。RAPD 分子標誌在百慕達草品種鑑別之應用。臺中區農業改良場研究彙報 60 : 19 - 27。
8. 蔣慕琰、徐玲明、陳富永。2002。入侵植物小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* kunth) 之確認。植保會刊 44 : 61 - 65。
9. Holm, L. G., Pluchnett, D. L., Pancho, J. V., and Herberger, J. P. 1977. *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Robinson, *Mikania scandens* (L.) Willd., and *Mikania micrantha* H.B.K., pp. 320-327. In: The World's Worst Weeds, The University Press of Hawaii, Honolulu.
10. Holmes, W. C. 1993. The genus *Mikania* (Compositae: Eupatorieae) in the greater Antilles. Botanical Research Institute of Texas, Texas, USA. 69pp.
11. Holmes, W. C. 1995. A review preparatory to an infrageneric classification of *Mikania* (Tribe: Eupatorieae). pp. 239-254. In: D. J. N. Hind, C. Jeffrey, and G. V. Pope eds. Advances in Compositae Systematics, Royal Botanic Gardens, Kew.
12. Lee, S. L., and Taylor, J. W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. pp. 282-286. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White eds. PCR protocols, A guide to methods and applications, Academic Press, San Diego, CA.
13. Lin, T. K., Wu, S. T., Hu, T. K., and Thseng, F. S. 2001. Analysis of genetic distance among four *Glycine* species collected from Taiwan: revealed by DNA polymorphisms. J. Agri. Forst. 50: 55-65.
14. Liu, C. C., and Huang, T. C. 2001. Evaluation of a natural hybrid of *Dumasia* DC. (Fabaceae) from Taiwan based on the isozymes and RAPD studies. Taiwania 46: 114-124.
15. Martinez-Culebras, P. V., Barrio, E., Garcia, M. D., and Querol, A. 2000. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose of strawberry

- based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region. FEMS Microbiology Letters 189: 97-101.
16. Peng, C. I., Chung, K. F., and Li, H. L. 1998. Compositae. pp. 807-1101. *In*: Flora of Taiwan 2nd ed. Vol.4, Dept. of Botany, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

ABSTRACT

Chen, F. Y.*, Hsu, L. M., and Chiang, M. Y. 2002 Morphological distinction and RAPD-PCR analysis of *Mikania micrantha* and *M. cordata*. Plant Prot. Bull. 44: 51-60. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung, Taiwan, ROC)

Mile-a-minute (*Mikania micrantha* Kunth), an invasive weed originated from South America, was first reported in Taiwan in 2001. This alien species was mixed up with an indigenous species *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob., and un-distinguishably treated for more than a decade in Taiwan. In this current studies, we compared morphological characteristics and DNA fragments of *M. micrantha* and *M. cordata* based on plant material collected in central Taiwan. Features of head flowers such as head, involucre bracts, achenes, and pappus of *M. cordata* were larger than those of *M. micrantha*. *M. micrantha* possessed a semi-translucent enation-structure at nodes and the *M. cordata* had ear-like one. Fresh leaves of *M. micrantha* and *M. cordata* at pre-flowering stage were used for RAPD-PCR studies. Of the 20 primers tested, OPA-10, OPA-11 and OPA-15, OPA-16 primer pairs provided best distinguishable band patterns of DNA fragments of the two comparing species. RAPD-PCR was conducted on this study for clear and rapid identification based on molecular markers. Polymorphic DNA of *M. micrantha* and *M. cordata* showed distinct pattern, and several unique DNA bands belonged to each will be specific DNA probes to them.

(Key word: *Mikania micrantha*, *Mikania cordata*, RAPD analysis, morphological distinction)

*Corresponding author. E-mail: fyc@tactri.gov.tw