

台灣各地小花蔓澤蘭族群變異分析

陳富永 林孟姿 蔣慕琰
農委會 農業藥物毒物試驗所

摘 要

在台灣各地危害嚴重的小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth)，為菊科蔓澤蘭屬蔓藤性草本植物，原產南美洲，約在 1980 年代中期以前已侵入台灣，目前在台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，全台 17 個縣市 56,000 餘公頃的土地均受到危害，以苗栗以南及花東地區較多。自台灣地區十個縣市採集得之 64 個族群之小花蔓澤蘭為材料，以逢機增幅多型性核酸 (RAPD-PCR) 技術、簡單序列重複 (ISSR-PCR) 技術、及病原菌侵染性測試，分析台灣各地區小花蔓澤蘭之核酸均一性，推測在台灣地區小花蔓澤蘭族群變異情形；逢機引子 OPA2、OPA3、OPA10、OPB1、OPB5、OPB6、OPB8、OPB14、及 SSR 引子 UBC807、UBC810、UBC835、UBC884 等引子能有效增幅各個採點族群之小花蔓澤蘭核酸，其中以 OPA3 引子產生之 RAPD 多型性，可將小花蔓澤蘭歸群為四個小群，分別包含 17、12、12、及 9 個族群植株；UBC810 引子產生之 ISSR 多型性將小花蔓澤蘭歸群為一個包含 35 個族群的大群及其它小群、而以 MIKMI-67、71、82 三個真菌菌株對小花蔓澤蘭葉片之侵染性歸納之多型性，將小花蔓澤蘭歸群為各包含 15、13、10 個族群的三個小群；各歸群結果之間並無相似性，與小花蔓澤蘭之地理分布亦無相關性，推測有可能是小花蔓澤蘭當初侵入台灣地區時，即是一個遺傳組成複雜的族群、或可能在這入侵之二、三十年間，小花蔓澤蘭已快速變異，因此無法在分析中找出很好的族群相關性。另外，病原菌侵染性試驗，顯示各地不同族群小花蔓澤蘭對同一病原菌之感染性反應並不一致，可提供未來小花蔓澤蘭生物防治研究之參考。

關鍵詞：小花蔓澤蘭、RAPD、ISSR、族群變異。

Study on Population Variation of *Mikania micrantha* Kunth in Taiwan

Fu-Yung Chen Meng-Tzu Lin Mou-Yen Chiang

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute,
Council of Agriculture, Taichung, Taiwan, ROC

Abstract

Mikania micrantha Kunth, an invasive plant originated from South America, has infested many lowland forests and waste areas in Taiwan. In this study, we collected 64 populations of *M. micrantha* from 10 counties of Taiwan. Population variation was analyzed based on UPGMA clustering according to RAPD-PCR, ISSR-PCR, and microbes infectivity assays. Dendrogram made by random primer OPA3 led to 4 groups contained 17, 12, 12, and 9 populations, respectively. Another SSR primer UBC810 grouping to one major group contained 35 populations and other individuals. The microbes Infectivity assay, using fungal isolates MIKMI-67, 71, 82, resulted in three major groups consisted of 15, 13, 10 populations, respectively. This implicated that either rapid differentiation of *M. micrantha* population happened during the 2 or 3 decades, or the foremost invader consisted of a complex populations. Population grouping based on PCR and infectivity were different and no geographically related.

Key Words: *Mikania micrantha*, RAPD-PCR, ISSR-PCR, population variation.

前 言

小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth) 近幾年來在台灣地區造成大面積的危害，佔據了許多低海拔林地、道路邊坡、荒廢地、管理粗放之果園...等，短時間覆蓋所依附的植物冠層，影響該植物的光合作用及正常的生長發育，造成植物死亡，也因此被稱為「森林殺手」、「綠癌」。

根據農委會特有生物保育研究中心的調查，2002 年台灣地區小花蔓澤蘭的危害面積已達 56,000 餘公頃，涵蓋全台 17 個縣市，危害範圍還在持續擴大中。這幾年來，小花蔓澤蘭著實在農業界、學術界、甚至政界以及媒體間引起相當大的震撼，投注在它身上的人力、物力也相當可觀；農政及學術單位也陸續完成入侵小花蔓澤蘭植物種類的確認^(8, 12)、防治方法的研究^(1, 6, 7)；但對於小花蔓澤蘭在極短的時間能夠佔據全省這麼大的面積，究竟小花蔓澤蘭侵入台灣多少時間了？究竟當初進入台灣地區是幾個侵入點？究竟它是如何傳播開來的？不同地區的小花蔓澤蘭是同一個來源嗎？其遺傳組成相關性如何？這些問題都是農政單位、農業研究學者亟欲解答的疑惑。核酸技術是近幾年來在生物學研究的各項領域中普遍被使用的工具^(2, 3, 4, 5, 9, 10, 11)，利用生物基因體 DNA 的操作，探討生物的生理特性、親緣關係及與環境互動...等等課題；在雜草科學的研究上也頗多應用⁽¹⁹⁾，利用分子標誌對單一草種或近似類源植物的探討，例如探討某一屬植物的環境適應性及演化趨勢⁽¹³⁾、同屬植物間的遺傳變異^(14, 15, 16, 17, 20)、雜草入侵起源的探討⁽²¹⁾、生物防治應用的探討⁽¹⁸⁾...等等。本研究針對全台代表性地區之小花蔓澤蘭族群，藉由小花蔓澤蘭基因體核酸及真菌寄主反應的分析，探討族群間之均一性，及族群在地區間之差異。

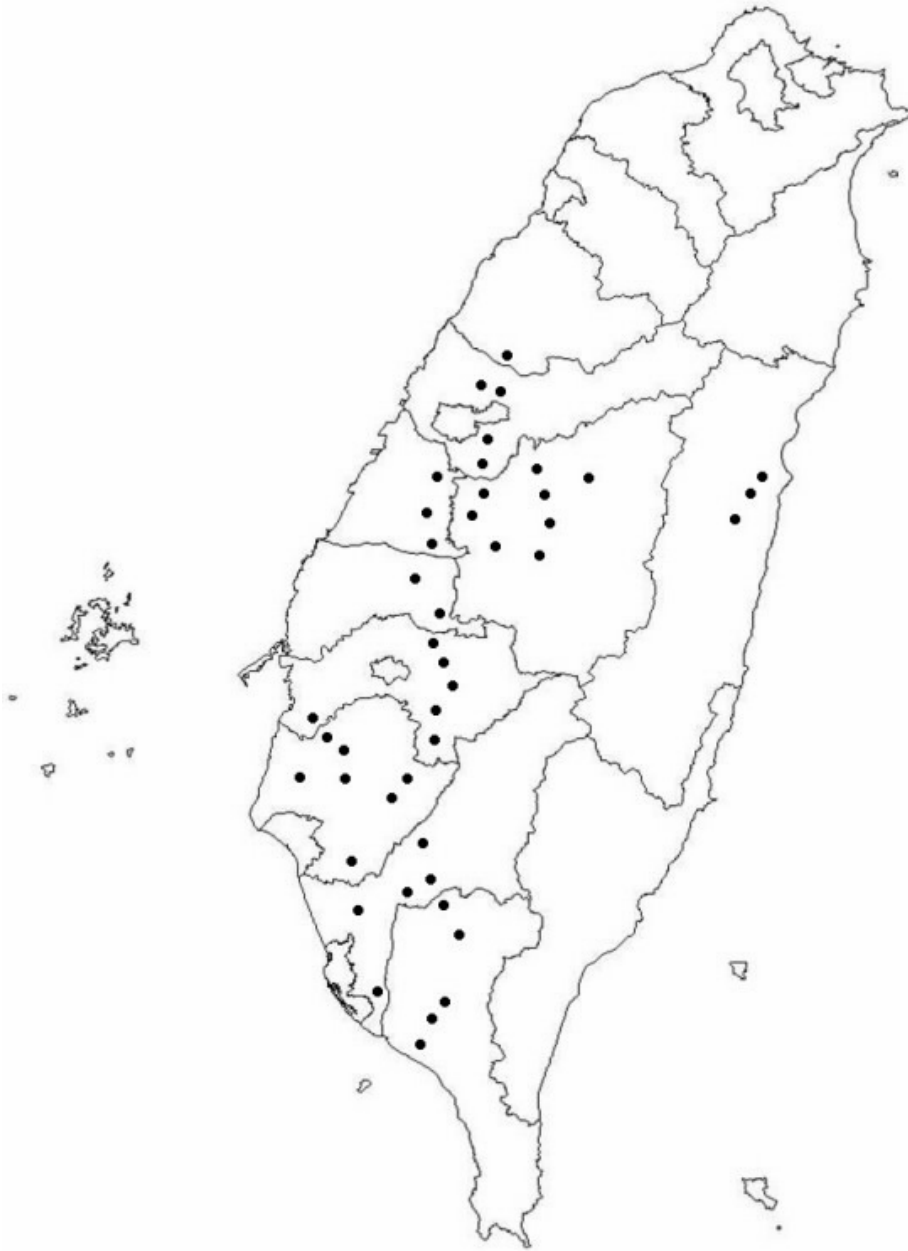
材料與方法

植物材料來源

小花蔓澤蘭植物材料自野外採集得，移回溫室中種植於盆鉢中。採集地點在台灣地區包括苗栗縣、臺中縣、彰化縣、南投縣、雲林縣、嘉義縣、臺南縣、高雄縣、屏東縣、花蓮縣等縣市的鄉鎮共計 64 個採點（圖一、表一）；採集得之植物樣品為莖葉組織，將之個別加以編號標示族群，扦插於栽培介質中，成活後種植於盆鉢中並移至戶外進行外觀形態觀察及植體分析試驗。另外，特別針對最早採得小花蔓澤蘭標本的屏東縣萬巒地區⁽¹²⁾進行族群分析，分別在該地區各方向採集 12 處小花蔓澤蘭植株樣品，同樣移回溫室種植進行分析。

植物 DNA 製備

以植物 DNA 萃取試劑組（Plant Genomic DNA Extraction Miniprep System, Viogene 公司生產）進行植物 DNA 製備。各族群小花蔓澤蘭取葉片 0.2g，以液態氮研磨成粉狀，移入微量離心管，加入 400 μ l PX1 緩衝液及 4 μ l RNase A(100mg/ml)，振盪混合均勻，置於 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分鐘。



圖一、小花蔓澤蘭採樣點位置圖。

Fig. 1. Collection sites of *Mikania micrantha* populations in Taiwan.

表一、小花蔓澤蘭 64 個採樣點之採集資料。

Table 1. Geographic data and collecting date of 64 *Mikania micrantha* samples.

編號	採集地點	採集年月	編號	採集地點	採集年月	編號	採集地點	採集年月
1	花蓮鳳林	90.6	23	台中太平	90.7	45	雲林林內	91.1
2	台中霧峰	90.6	24	台中太平	90.7	46	台南楠西	91.1
3	南投水里	90.6	25	台中太平	90.7	47	嘉義竹崎	91.1
4	南投仁愛	90.6	26	台中霧峰	90.12	48	嘉義梅山	91.1
5	南投集集	90.6	27	高雄燕巢	90.12	49	台南玉井	91.1
6	南投埔里	90.6	28	台南麻豆	90.12	50	高雄茂林	91.1
7	南投埔里	90.6	29	屏東佳冬	90.12	51	屏東高樹	91.10
8	南投水里	90.6	30	彰化芬園	90.12	52	屏東瑪家	91.10
9	花蓮市	90.6	31	屏東內埔	90.12	53	高雄美濃	91.10
10	花蓮吉安	90.6	32	彰化芬園	90.12	54	高雄旗山	91.10
11	屏東內埔	90.6	33	屏東內埔	90.12	55	苗栗卓蘭	92.4
12	南投草屯	90.6	34	高雄大寮	90.12	56	台中石岡	92.4
13	日月潭	90.6	35	雲林古坑	91.1	57	台中新社	92.4
14	花蓮壽豐	90.6	36	屏東潮州	90.12	58	台南麻豆	92.4
15	台中太平	90.6	37	嘉義中埔	91.1	59	南投市	92.4
16	屏東內埔	90.6	38	嘉義中埔	91.1	60	彰化田中	92.4
17	南投國姓	90.7	39	雲林斗六	91.1	61	台南新營	92.4
18	南投國姓	90.7	40	嘉義番路	91.1	62	台南鹽水	92.4
19	台中太平	90.7	41	彰化二水	91.1	63	台南鹽水	92.4
20	台中霧峰	90.7	42	台南官田	91.1	64	嘉義義竹	92.4
21	南投仁愛	90.6	43	嘉義大埔	91.1			
22	台中太平	90.7	44	嘉義大埔	91.1			

之後加入 130 μ l PX2 緩衝液，震盪混勻，置於-20 $^{\circ}$ C 反應 5 分鐘，離心 10,000rpm 30 秒，將上清液移至新的收集管上的分離管 (shearing tube) 中，離心 13,000rpm 2 分鐘，將流出液 (約 450 μ l) 移至新的微量離心管，加入 0.5 倍體積的 PX3 緩衝液和 1 倍體積的 100% 酒精，混勻後移至收集管上的收集管柱 (plant genomic DNA mini column) 中，離心 10,000rpm 1 分鐘，加入 700 μ l WS 緩衝液，離心 13,000rpm 30 秒，重複 2 次，丟棄過濾液，離心 13,000rpm 2 分鐘，使清洗液去除乾淨，最

後將收集管柱置於新的微量離心管中，加入 200 μ l 65 $^{\circ}$ C 之 TE 緩衝液 (10mM Tris-HCl pH8.0, 1mM EDTA)，離心 13,000rpm 1 分鐘洗出 DNA，保存於-20 $^{\circ}$ C。

PCR反應

聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 以 MJ Research 公司製造之 PTC-200 Peltier Thermal Cycler 儀器進行。以小花蔓澤蘭之 DNA 為樣品，探討各地區小花蔓澤蘭植株之核酸經 PCR 反應後其增幅之核酸片段型式之異同，探討小花蔓澤蘭族群之均一性。樣品 DNA 取 200 ng 做為模版 (template DNA)，依不同試驗取用特定核酸引子 (primer)，以 KlenTaq DNA 聚合酶 (購自 Protech 公司) 為反應酵素，最終反應液之各成分濃度為 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 25 μ l，置於 0.2 ml 之微量離心管。

RAPD反應

選用購自 Operon 公司之隨機引子組 (random primer)，引子組每組有 20 種核酸引子，共有 A-Z 不同的組合，本試驗使用 OPA 及 OPB 兩組引子，每次使用單一引子進行反應，引子最終反應濃度為 0.5 mM。連鎖反應之循環首先為 94 $^{\circ}$ C 加熱 4 分鐘，接著為 40 個循環的 95 $^{\circ}$ C 1 分鐘、52 $^{\circ}$ C 1 分鐘、72 $^{\circ}$ C 1 分鐘，最後為 72 $^{\circ}$ C 7 分鐘。

ISSR反應

使用的核酸引子為 University of British Columbia 設計之 UBC SSR primer oligonucleotide Set #9，本組核酸引子共有 100 種，編號 UBC801-900，其序列結構主要為 2-5 個核苷酸的重複序列，重複 4-8 次，引子長度為 17-22 個核苷酸。由此 100 種核酸引子中，找出能同時擴增所有族群小花蔓澤蘭的引子；PCR 試驗每次使用單一引子進行反應，引子最終反應濃度為 0.2 mM。連鎖反應之循環首先為 94 $^{\circ}$ C 加熱 4 分鐘，接著為 40 個循環的 95 $^{\circ}$ C 30 秒、54.8 $^{\circ}$ C 45 秒、72 $^{\circ}$ C 1 分鐘，最後為 72 $^{\circ}$ C 7 分鐘。

電泳分析

經 PCR 後之反應液取 8 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×TBE；電泳結束後以 Gel-Pro analyzer (Media Cybernetics) 影像軟體，擷取電泳核酸條帶成影像檔，並進行條帶分子量大小及核酸片段型態分析。

病原菌侵染性試驗

由田野間採集得之自然罹病之小花蔓澤蘭組織分離病原微生物，以菌株編號 MIKMI-38、47、51、53、54、67、71、82 等真菌（未發表資料），培養於 PDA 培養基 2 週後，以打孔器切下菌絲圓盤做為接種源。採取小花蔓澤蘭各族群植株葉片，置於含保濕紙中之塑膠盤上，每片葉片以中肋為界，兩側各放一菌絲圓盤，兩重複，塑膠盤上覆保鮮膜，置於室溫下，於四至五天後，由菌絲圓盤周圍之病斑表現，記錄病原菌侵染情形。

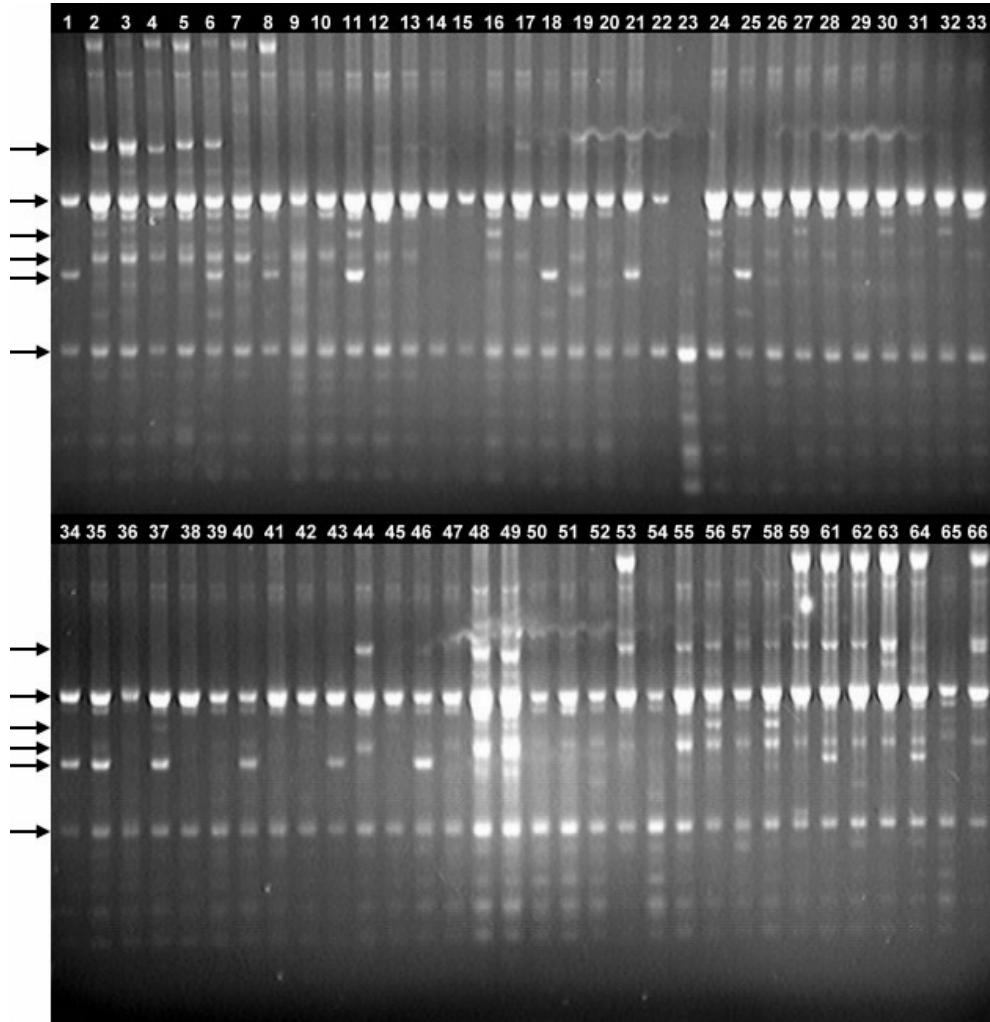
資料分析

根據 RAPD 反應及 ISSR 反應後在電泳膠片上呈現之條帶有無，以及病原菌對小花蔓澤蘭葉片侵染與否，比較兩兩植株族群間之相關性。以 Jaccard's 係數 ($S_j = N_{AB} / (N_{AB} + N_A + N_B)$ ， N_{AB} 代表兩菌株共有的條帶數， N_A 、 N_B 分別代表兩菌株各自獨有的條帶數) 計算兩兩菌株之相似度，再將所有比較結果排列成一個三角矩陣，以 Statistica 統計軟體之不加權平均重方式 (unweighted pair-group method analysis, UPGMA) 進行群叢分析 (clustering)，繪出樹狀關係圖。

結果與討論

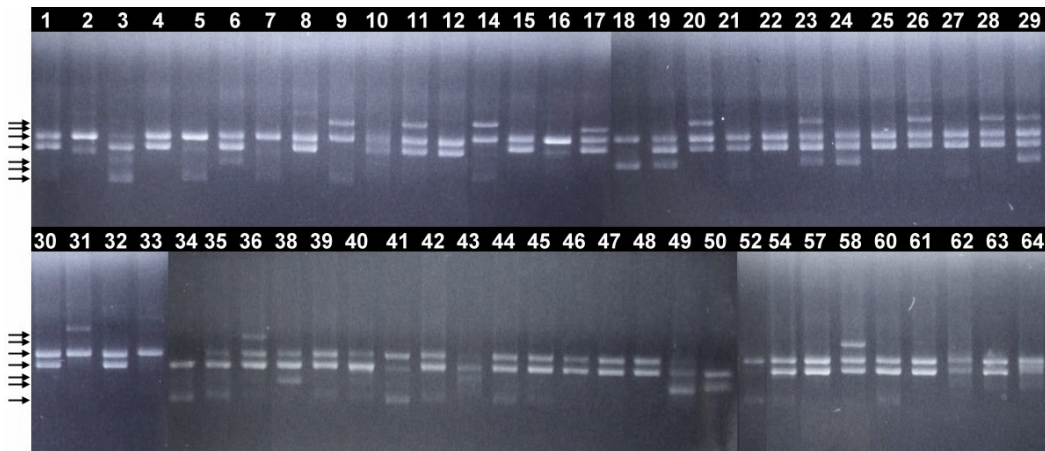
RAPD 與 ISSR 分析

由全省十個縣市所採集得之 64 個族群之小花蔓澤蘭，以隨機引子組 OPA 及 OPB 組增幅後，OPA2、OPA3、OPA10、OPB1、OPB5、OPB6、OPB8、OPB14 等引子，能夠使 80% 以上之族群都有增幅片段產生；其中又以 OPA3 使所有族群都有反應，提供 6 種大小的核酸片段 (圖二)，可用以分析族群間之差異。而以 SSR 引子增幅，在已試驗之引子中，UBC807、UBC810、UBC835、UBC884 等引子，能夠使 80% 以上之族群都有增幅片段產生；其中又以 UBC810 使所有族群都有反應，提供 7 種大小的核酸片段 (圖三)，可用以分析族群間之差異。



圖二、各族群小花蔓澤蘭核酸經 OPA3 逢機引子 PCR 增幅後之 DNA 電泳圖。箭頭所指為群叢分析所使用之六個 DNA 片段。

Fig 2. Electrophoresis gel of PCR products of different *Mikania micrantha* populations DNA using random primer OPA3. Arrows indicated 6 DNA pieces used for clustering analysis.



圖三、各族群小花蔓澤蘭核酸以簡單序列重複引子(SSR primer)UBC810 PCR 增幅後之 DNA 電泳圖。箭頭所指為群叢分析所使用之七個 DNA 片段。
 Fig 3. Electrophoresis gel of PCR products of different *Mikania micrantha* populations DNA using SSR primer UBC810. Arrows indicated 7 DNA pieces used for clustering analysis.

RAPD-PCR 分析技術乃是利用任意組合的十個核苷酸做為引子，進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，由於引子的核苷酸數目僅有十個，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。而 ISSR 分子標誌，為近年來新發展出的技術，其乃利用生物基因組中有大量的重複序列，其中微衛星序列 (microsatellite，或稱 simple sequence repeat, SSR 簡單序列重複) 是一種串聯重複序列，重複的單位為 2-6 個核苷酸，分佈在真核生物的基因組中，ISSR 技術乃是以 SSR 為基礎設計引子，以 2-3 個核苷酸重複數次，再於 3' 或 5' 端加 1-4 個核苷酸作成引子，ISSR 技術則是以此引子黏合基因組中的重複單位，PCR 增幅後產生多型性。RAPD 與 ISSR 都是目前被廣泛使用的分子標誌技術^(2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 14, 16)，RAPD 使用的是隨機引子，引子黏合溫度較低 (本實驗中為 52°C)，因此產生之多型性較多，但也較易產生非專一性增幅、或者有再現性不佳的問題；ISSR 的引子長度較長 (17-20 個核苷酸)，引子黏合溫度亦較高 (本實驗中為 54.8°C)，因此 ISSR 的再現性較高，所產生之多型性亦較 RAPD 可靠。

小花蔓澤蘭群叢分析 (clustering)

由 RAPD-PCR、ISSR-PCR 及病原菌侵染試驗所得到的結果，以增幅核酸片段之有無，做為群叢分析之個別因子；計算兩兩植株之 Jaccard's 相關係數，可得到 0 至 1 的數字，若係數為 0 代表兩植株的評估因子組成完全不同、若係數為 1 則代表兩植株的評估因子組成完全相同，介於 0 與 1 之間則顯示其相關聯之親疏，愈接近 1 則兩者之遺傳關聯性較接近。再將所得係數排列而成之三角矩陣帶入 Statistica 統計軟體，運算後即可得一樹狀關係圖。

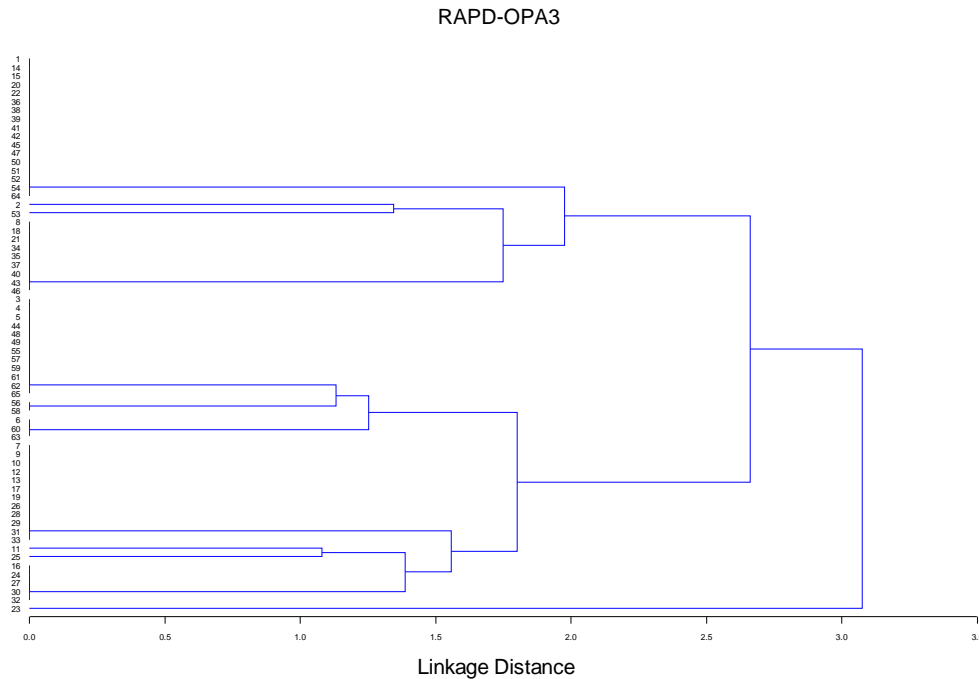
在 RAPD 的結果中，以 OPA3 引子的試驗具較佳之增幅效果，電泳膠片上共有 6 個可供區別之核酸片段，資料分析後，小花蔓澤蘭各植株族群分成幾個小群組 (圖四)，包括其中花蓮鳳林等 17 個族群為一群、南投水里等 12 個、南投埔里等 12 個族群、南投國姓等 9 個族群植株亦各為一群，以及其他幾個小群，各族群分群的結果，與地理分布並無相關性。

ISSR 的結果以 UBC810 引子之試驗具有較佳之增幅效果，電泳膠片上共有 7 個可供區別之核酸片段，資料分析後，小花蔓澤蘭各植株族群分成一個較大的群組 (圖五)，包含花蓮鳳林、臺中霧峰在內的 35 個族群，以及另外 7 個及 5 個族群的小群，各族群分群的結果，與地理分布亦無相關性。

小花蔓澤蘭族群幾乎遍佈全台灣，其族群之演化方向、親緣關係、基因混雜情形...等，都是研究學者極感興趣的課題。本研究藉由 RAPD 及 ISSR 之多型性圖譜，研究小花蔓澤蘭族群之均一性；經逢機引子 OPA、OPB，及 SSR 引子 UBC Set#9 等之反應，繪出樹狀關係圖。在 OPA3 引子所產生的樹狀圖，小花蔓澤蘭各植株族群分成幾個小群組，包括其中主要的四個群，以及其他幾個小群。在 UBC810 引子所產生的樹狀圖，小花蔓澤蘭各植株族群分成一個較大的群組，以及另外 2 個小群。在這兩種以核酸片段多型性為基礎的分子標誌技術中，歸群結果並不一致，也無法顯現與地理分布有任何相關性，其可能原因包括樣品數量不足、樣品族群代表性不夠、核酸引子選擇不當等因素，另外也有可能是小花蔓澤蘭當初侵入台灣地區時，即是一個遺傳組成複雜的族群、或可能在這入侵之一二十年間，小花蔓澤蘭已快速變異，因此無法在分析中找出很好的族群相關性。

病原菌侵染性試驗

由田野間採集得自然罹病之小花蔓澤蘭材料，葉部表現水浸狀病斑，經組織分離獲得微生物菌株，取其中 8 株真菌菌株 MIKMI-38、47、51、53、54、67、71、82 進行試驗。菌株在 PDA 培養基培養 2 週後，已長滿整個平板培養基，將此菌絲塊移於小花蔓澤蘭葉片上 (圖六 A)，

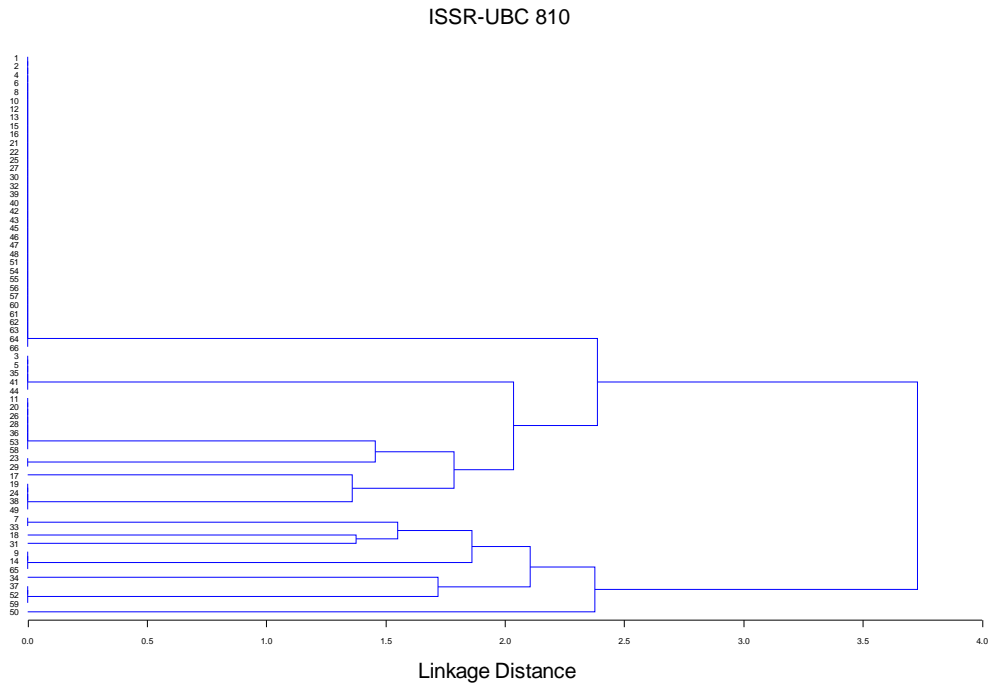


圖四、以隨機引子 OPA3 增幅各族群小花蔓澤蘭所產生之 RAPD 核酸片段型式，經 UPGMA 群叢分析所繪出之樹狀關係圖。圖左之數字為表一所列之各採樣點位置。

Fig. 4. Dendrogram of *Mikania micrantha* populations made by UPGMA clustering based on RAPD-PCR pattern using random primer OPA3. Numbers indicated samples collecting sites listed in table 1.

置於室溫 3 天後，部分葉片在菌絲塊周圍開始出現水浸狀病斑（圖六 B），並隨時間而逐漸擴大，部分葉片則無任何病徵表現；其中 MIKMI-67 及 71 兩株菌株對小花蔓澤蘭的葉片侵染性最強，幾乎所有族群植株之葉片均表現病徵；其次為 MIKMI-82 菌株，有 62% 的葉片表現病徵。記錄下此病徵表現之有無，做為群叢分析之依據，以及未來生物防治研究之參考。以病原菌在小花蔓澤蘭葉片上是否造成病斑，做為群叢分析之個別因子，計算兩兩植株之 Jaccard's 相關係數，可得到 0 至 1 的數字，若係數為 0 代表兩植株的評估因子組成完全不同、若係數為 1 則代表兩植株的評估因子組成完全相同，介於 0 與 1 之間則顯示其相關聯之親疏，藉此繪製樹狀關係圖；取其中 3 個菌株 MIKMI-67、71、82 的結果進行分析，小花

蔓澤蘭各植株族群分成三個小群（圖七），各包含 15 個、13 個、及 10 個採樣點，各族群分群的結果，同樣與地理分布無相關性。



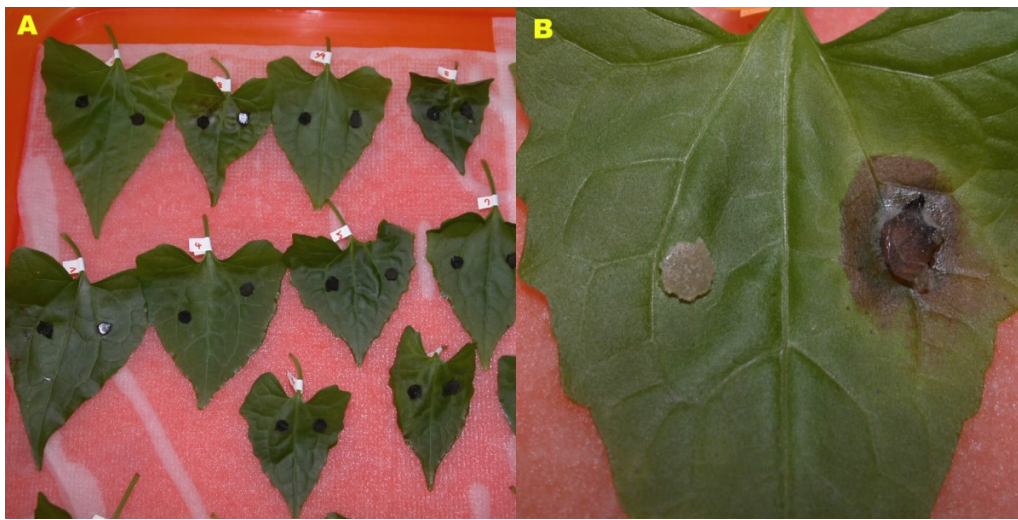
圖五、以簡單序列重複引子（SSR primer）UBC810 增幅各族群小花蔓澤蘭所產生之 ISSR 核酸片段型式，經 UPGMA 群叢分析所繪出之樹狀關係圖。圖左之數字為表一所列之各採樣點位置。

Fig. 5. Dendrogram of *Mikania micrantha* populations made by UPGMA clustering based on ISSR-PCR pattern using SSR primer UBC810. Numbers indicated samples collecting sites listed in table 1.

小花蔓澤蘭入侵起源地族群探討

小花蔓澤蘭最早的採集記錄是 1986 年在屏東縣萬巒鄉所採得⁽¹²⁾，該地區極有可能是小花蔓澤蘭族群最早建立的地區之一；在這些地區的小花蔓澤蘭族群之均一性如何？是否已產生族群之分化？在萬巒地區的 12 個採樣點，涵蓋萬巒鄉境內及周邊地區分散的 12 個地點，再加上先前 64 個採點中在萬巒鄉附近的內埔鄉 4 個採點及潮州的 1 個採點，共 17 個族群的小花蔓澤蘭，經 RAPD、ISSR 分析及病原菌侵染性試驗，

再依其進行群叢分析，結果均未有一致之歸群結果，圖八中顯示，依據逢機引子 OPA3 增幅後之多型性所繪製之樹狀關係圖，小花蔓澤蘭族群仍呈現複雜而多樣，未能有明確的歸群及地理分布關係，此結果與先前 64 個族群的結果相似，小花蔓澤蘭有可能在侵入台灣的這二、三十年間，已產生大幅度的變異，或在入侵當初即是一個遺傳組成複雜的族群。曾氏的報告⁽¹⁰⁾推測，台灣地區小花蔓澤蘭的入侵點可能在屏東鄰近台東附近地區，隨後向中央山脈兩側水平或垂直散佈，他同時也指出台灣地區小花蔓澤蘭族群的親緣性與地理無關，可能是人為活動隨機擴散的結果。

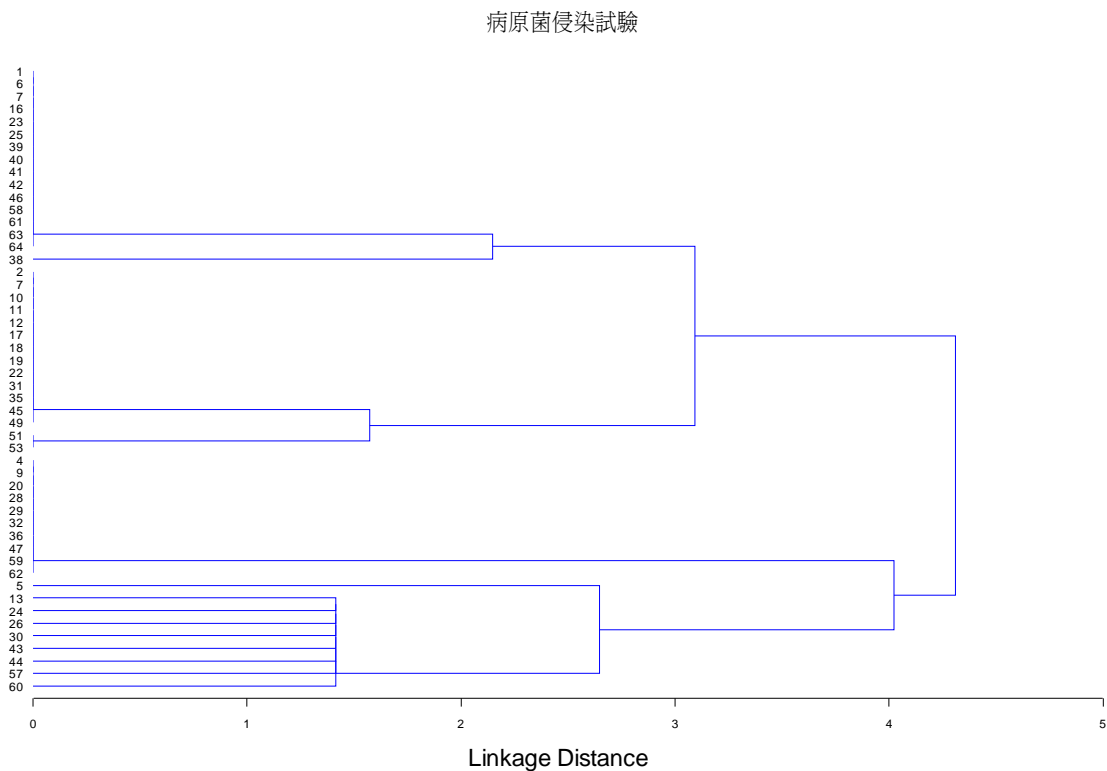


圖六、病原菌侵染性試驗 (A)，部分菌株在菌絲塊周圍產生病斑 (B)。

Fig. 6. Infectivity assay of pathogenic microbes to *Mikania micrantha* leaves (A). Some microbe isolates exhibit infectivity on leaf (B).

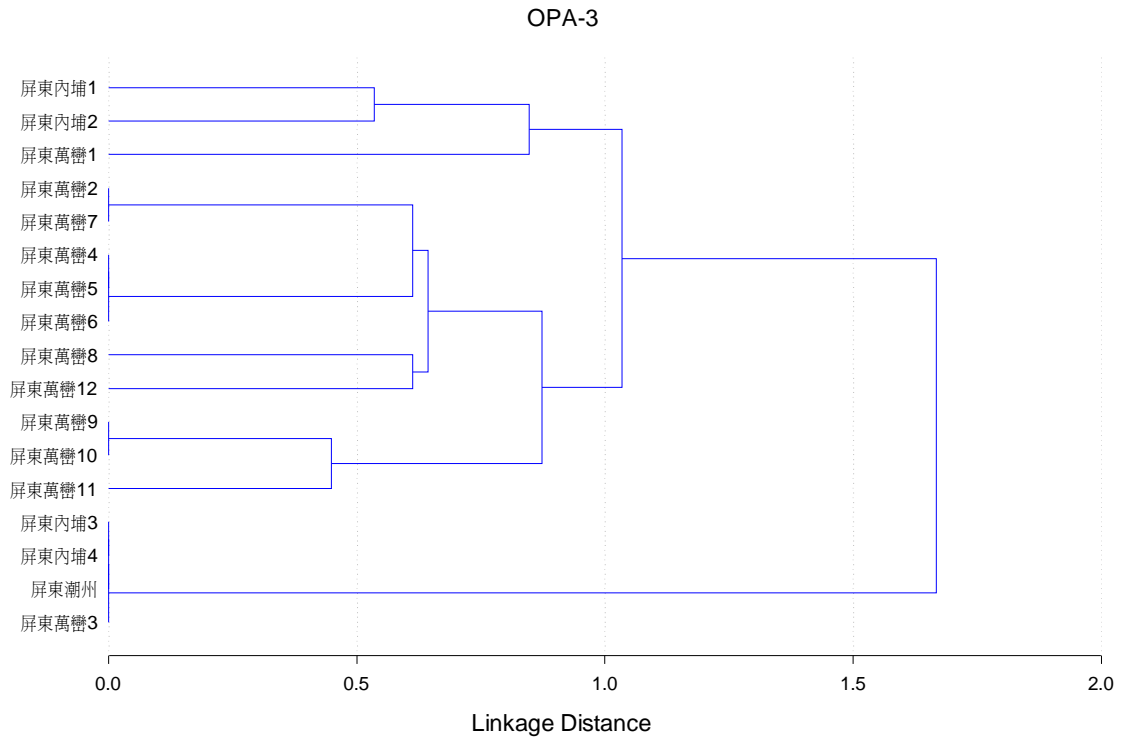
特別值得一提的是本研究另以病原菌侵染性 (infectivity) 測試，探討小花蔓澤蘭之族群均一性；由於病原菌與寄主植物的關係，病原菌是否能完成對植物的侵染，取決於植物與病原菌是否親和，而植物本身的基因組成更是決定因子，決定了植物的抗病或免疫；相對於植物，微生物本身有寄生與腐生之區別，而多數微生物則兼具寄生與腐生的能力，因而造就了微生物病原性的強弱；利用數個微生物菌株侵染各不同族群之小花蔓澤蘭，由其病徵反應，評估族群間之差異。小花蔓澤蘭各植株族群依據病徵反應主要區分成三個小群，雖然同樣沒有地理相關性，但由於病原菌的侵染與否是植株實際的

表現型，此結果代表的意義，值得提供小花蔓澤蘭生物防治研究人員參考，由於族群間的差異，在挑選生物防治用微生物時，必須挑選對所有小花蔓澤蘭族群均有強致病力的菌株，才能有較好的防治效果；另一方面，或許單一菌種或許無法有效對抗所有的小花蔓澤蘭族群，綜合性的防治技術或許更能有效地控制小花蔓澤蘭。小花蔓澤蘭在短短的一二十年間遍佈了台灣地區，其強勢的生命力與傳播力令人印象深刻，也必將是一個探討族群演化很好的材料。



圖七、以三種微生物菌株 (MIKMI-67、71、82) 對各族群小花蔓澤蘭葉片侵染與否，經 UPGMA 群叢分析所繪出之樹狀關係圖。圖左之數字為表一所列之各採樣點位置。

Fig. 7. Dendrogram of *Mikania micrantha* populations made by UPGMA clustering based on the response of leaves to tree microbe isolates (MIKMI-67, 71, 82). Numbers indicated samples collecting sites listed in table 1.



圖八、以隨機引子 OPA3 增幅屏東縣萬巒鄉附近地區 17 個族群小花蔓澤蘭所產生之 RAPD 核酸片段型式，經 UPGMA 群叢分析所繪出之樹狀關係圖。

Fig. 8. Dendrogram of 17 *Mikania micrantha* populations collected from Wanluan Pintung made by UPGMA clustering based on RAPD-PCR pattern using random primer OPA3.

引用文獻

1. 王均琍、陳昭源。2002。台灣林地雜草—小花蔓澤蘭生物防治可行性之研究。中華民國雜草學會會刊 23(2)：118。
2. 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。
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、蘭海明。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. 徐玲明、蔣慕琰。2002。台灣主要除草劑防治小花蔓澤 (*Mikania micrantha* Kunth) 之效果。中華民國雜草學會會刊 23(2)：73-81。
 7. 郭耀綸、陳志遠、林杰昌。2002。藉連續切蔓法及相剋作用防治外來入侵的小花蔓澤蘭。台灣林業科學 17：171-181。
 8. 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。
 9. 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毛捕植蟎 (*Amblyseius longispinosus*) 及溫氏捕植蟎 (*A. womersleyi*) (蟎蟬亞綱；捕植蟎科) 的遺傳變異。中華昆蟲 20：335-345。
 10. 曾國洋。2003。台灣蔓澤蘭屬植物之族群遺傳變異。國立中山大學生物科學研究所碩士論文。70 頁。
 11. 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。
 12. 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。
 13. Chou, C. H., Chiang, T. Y., and Chiang, Y. C. 2001. Towards an integrative biology research: a case study on adaptive and evolutionary trends of *Miscanthus* populations in Taiwan. *Weed Biology and Management* 1: 81-88.
 14. Lai, J. A., Yang, W. C., and Hsiao, J. Y. 2001. An assessment of genetic relationships in cultivated tea clones and native wild tea in Taiwan using RAPD and ISSR markers. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42: 93-100.
 15. 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.
 16. 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.
 17. Moodie, M., and Finch, R. P. 1997. Analysis of genetic variation in wild mustard (*Sinapis arvensis*) using molecular markers. *Weed Science* 45: 102-107.
 18. Nissen, S. J., Masters, R. A., Lee, D. J., and Rowe, M. L. 1995.

-
- DNA-based markers systems to determine genetic diversity of weedy species and their application to biocontrol. *Weed Science* 43: 504-513.
19. O'Hanlon, P. C., Peakall, R., and Briese, D. T. 2000. A review of new PCR-based genetic markers and their utility to weed ecology. *Weed Research* 40: 239-254.
20. Okoli, C. A. N., Shilling, D. G., Smith, R. L., and Bewick, T. A. 1997. Genetic diversity in purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). *Biological Control* 8: 111-118.
21. Scott, L. J., Lange, C. L., Graham, G. C., and Yeates, D. K. 1998. Genetic diversity and origin of Siam weed (*Chromolaena odorata*) in Australia. *Weed Technology* 12: 27-31.