

利用葉綠體DNA序列探討菲律賓樟 之分類地位

朱麗萍^{1,4} 王亞男² 潘富俊³ 楊正釗¹ 呂勝由¹

(收件日期：民國 94 年 9 月 27 日、接受日期：民國 95 年 4 月 26 日)

【摘要】菲律賓樟 (*Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang) 在分類上隸屬樟科，曾被歸類於楨楠屬 (*Machilus*) 與酪梨屬 (*Persea*)。本研究利用植物葉綠體 DNA 中的 *PetD* ~ *PetB* 基因間序列、*TrnV* ~ *TrnM* 序列以及 *TrnS* ~ *TrnT* 序列分析菲律賓樟與樟屬、楨楠屬以及酪梨屬之親緣關係，以確定菲律賓樟的分類歸屬及楨楠屬和酪梨屬的關係。上述 3 個葉綠體 DNA 片段的定序結果顯示菲律賓樟較靠近楨楠屬，在 3 個片段多達 31 處變異處可供辨識的位置上菲律賓樟與楨楠屬植物序列之間沒有任何變異，而兩者與樟樹有 15 處發生序列變異或插入缺失，與酪梨亦有 14 處發生變異或缺失。菲律賓樟在遺傳距離上與楨楠屬植物之距離為 0.00，與樟樹為 0.006，與酪梨為 0.004。Neighbor joining 以及 maximum parsimony 之分析方式都可得三個分群：第一群包含樟樹、香桂；第二群將菲律賓樟與楨楠屬植物聯結在一起；第三群則將酪梨獨立於楨楠屬旁，另月桂為外群。在外部形態方面，經過標本比對採自菲律賓呂宋島初島住彥，所提供的菲律賓樟的標本與台灣地區所產的菲律賓樟外部形態相同，台灣產的與菲律賓產的應可處理為同一分類群。根據菲律賓樟的種子外形表面有斑紋及其生理特性與一般之楨楠屬相近，支持本研究將菲律賓樟歸併到楨楠屬，成為菲律賓楠 (*Machilus philippinensis* Merr.)。楨楠屬和酪梨屬仍有些遺傳距離，樹狀圖分析結果並不互相隸屬，或許可視為相互獨立的兩個屬或是組。

【關鍵詞】樟屬、楨楠屬、菲律賓樟、菲律賓楠、葉綠體 DNA、分類

MOLECULAR PHYLOGENY OF *CINNAMOMUM PHILIPPINENSE* BASED ON CHLOROPLAST DNA SEQUENCES

Li-Ping Ju^{1,4} Ya-Nan Wang² Fuh-Jiunn Pan³
Jeng-Chuang Yang¹ Sheng-You Lu¹

¹ 行政院農業委員會林業試驗所助理研究員。

Assistant Research Fellow, Taiwan Forestry Research Institute.

² 國立台灣大學森林環境暨資源學研究所教授。

Professor, Dept. of Natural Resource and Forestry, National Taiwan University.

³ 行政院農業委員會林業試驗所研究員 (通訊作者)。

Senior Research Fellow, Taiwan Forestry Research Institute. Corresponding Author.

⁴ 國立台灣大學森林環境暨資源學研究所博士候選人。

Ph. D. candidate, Dept. of Natural Resource and Forestry, National Taiwan University.

(Received: September 27, 2005; Accepted: April 26, 2006)

【Abstract】 *Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang (Lauraceae) had been treated as the member of the genus *Machilus* or *Persea*. In this study, segments *PetD*~*PetB*, *TrnV*~*TrnM* and *TrnS*~*TrnT* of chloroplast DNA were used to analyze the relationship of *C. philippinense* with the species of the genera *Cinnamomum*, *Machilus* and *Persea* in an attempt to resolve its taxonomic status. At the same time, the relationship between genera *Machilus* and *Persea* was also discussed. The result of chloroplast DNA analysis indicated that *C. philippinense* was closer to *Machilus* than to *Cinnamomum*. There was no difference between *C. philippinense*, *Machilus thunbergii*, *M. japonica* and *M. zuihoensis* in 31 variable sites from 3 sequenced fragments observed. However, there were 15 sites or indels differences between the species with the genus *Cinnamomum*. The genetic distance between *C. philippinense* and *Machilus* spp. was 0, whereas, 0.006 between the species and *C. camphora*, and 0.004 compared to *Persea americana*. Both cluster trees of NJ and MP analyses clearly revealed three groups of the materials analyzed: one group included *Cinnamomum camphora*, *C. subavenium*; another *Cinnamomum philippinense*, *Machilus thunbergii*, *M. japonica* and *M. zuihoensis*; and the third *Persea americana*. From the above results and carefully comparing the morphology of the related species, we highly recommend *C. philippinense* to be treated under the genus *Machilus*. Furthermore, based on the differences in chloroplast DNA, as well as cluster analysis, *Machilus* and *Persea* could not be treated as the same genus.

【Key words】 Chloroplast DNA, *Cinnamomum*, *Cinnamomum philippinense*, *Machilus*, *machilus philippinensis*, Systematics

I、前言

樟科主要分布在泛熱帶地區，僅少數分布在溫帶區。全科約 50 個屬，種數介於 2500 到 3500 之間 (Rohwer, 1993)。台灣有 13 屬，約 60 種，引進 8 種，為中低海拔闊葉樹林中主要之樹種，極具經濟價值 (劉業經等, 1994)。樟屬台灣有原生 12 種，引進 2 種，共有 14 種；檳楠屬有 5 至 6 種及 1 至 2 變種 (劉業經等, 1994; Liao, 1996)。但是大多數國外的植物分類學者認為檳楠屬 (*Machilus*) 隸屬於酪梨屬 (*Persea*)，將檳楠屬、酪梨屬及 *Eriodaphne* 屬處理成 *Persea* 屬下的 3 個亞屬 (subgenera) (Rohwer, 1993)。其中，樟屬 (*Cinnamomum*) 又依花被片的宿存與否，鱗芽為覆瓦狀排列或對生、近對生，

脈腋的腋窩有無將本屬區分為樟組 (Sect. *Camphora*) 及肉桂組 (Sect. *Cinnamomum*) (中國植物誌編輯委員會, 1982)。

菲律賓樟 (*Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang) 在分類上隸屬樟科，最早由 Merrill 在 1906 發表為新種 *Machilus philippinensis*。根據 Merrill 發表的論文及當地文獻記載，本種主要分布在菲律賓呂宋島北部之奎松省 (Quezon) 至明多羅 (Mindoro)，海拔 900-1000 m 的森林林緣，有時可達 2300 m (de Guzman *et al.*, 1986)。本種在台灣首度出現的名稱是 *Cinnamomum acuminatissima*，是由早田氏在 1913 年所發表的新種，主要分布在台灣南部中低海拔闊葉林 (Hayata, 1913)；接著金平氏在 1936 年將其移至檳楠屬

(*Machilus*) (Kanehira, 1936)。Kostermans 氏在 1957 將 *Machilus* 併入 *Persea*，本種的學名跟著改成 *Persea acuminatissima* Kostermans (Kostermans, 1957)。李惠林氏將原來為阿里山樟 *C. arisanensis* Hay. 的阿里山楠 (*Machilus arisanensis* (Hay.)) Kanehira 和當時稱為尖葉楠的 *Cinnamomum acuminatissima* 合併為 *Persea acuminatissima* Kostermans (Li, 1971)。接著張慶恩氏根據菲律賓所產的標本將尖葉楠與菲律賓的 *Machilus philippinensis* Merr. 合併，又因本種具有淺杯狀果托且花被片早落等特性而將本種移入樟屬 (*Cinnamomum*) (張慶恩, 1976)。從張慶恩氏以降，大部份分類學者皆將本種處理成 *Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang。只有廖日京氏根據植物體所含化學成分接近檳楠屬 (廖日京, 個人通訊) 且其脈形接近檳楠屬認為本種該隸屬於檳楠屬，因而使用 *Machilus philippinensis* Merr. 為學名 (Liao, 1996)。除廖日京氏外，大多數分類學者皆將本種列入樟屬迄今。本種之學名變遷如表 1。

陸生植物的葉綠體 DNA (chloroplast DNA) 大小在 120-217 kb 左右 (Downie & Palmer, 1992)，葉綠體基因次序和組成很少變化，而變化經常是由基因組的一部分發生倒位或基因丟失造成。在葉綠體的非編碼區序列常因插入 (insertion) 及缺失 (deletion) 造成長度多型性，可適用於屬間或屬內，甚至種間關係的探討。本研究即是以葉綠體 DNA 的非編碼區序列對菲律賓樟的分類地位及檳楠屬 (*Machilus*) 與酪梨屬 (*Persea*) 是否應該合併等作進一步的探討。

II、材料與方法

(I) 參試材料

本研究之菲律賓樟 (*Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang) 台灣的主要產地在高雄縣六龜鄉，另外還分布嘉義縣以南地區。因本種在分類處理上曾被處理為檳楠屬 (*Machilus*)、樟屬 (*Cinnamomum*) 以及酪梨屬 (*Persea*)。本試驗以分布廣泛的紅楠 (*Machilus thunbergii* Sieb &

表 1 菲律賓樟 *Cinnamomum philippinense* (Merr.) Chang 之學名變遷一覽表

Table 1 An overview on the scientific names changing of *Cinnamomum philippinense* in different publications

Icon. Pl. Form.	Form. Tree rev.	Reinwardtia	Woody Fl. Taiwan	Flora of Taiwan 1 st ed	Woody Fl. Taiwan	Flora of Taiwan 2 nd ed	Woody Fl. Taiwan
Hayata 1913	Kanehira 1936	Kostermans 1962	Li, Hui-Lin 1971	Chang 1970	Liao, Jih-Ching 1981	Liao, Jih-Ching 1988	Liu, Yeh-Ching 1988
<i>Cinnamomum acuminatissima</i> Hayata	<i>Machilus acuminatissima</i> (Hay.) Kanehira	<i>Persea acuminatissima</i> (Hay.) Kostermans	<i>Persea acuminatissima</i> (Hay.) Kostermans	<i>Cinnamomum philippinense</i> (Merr.) Chang	<i>Cinnamomum philippinense</i> (Merr.) Chang	<i>Machilus philippinensis</i> Merr.	<i>Cinnamomum philippinense</i> (Merr.) Chang
<i>Cinnamomum caudatifolium</i> Hayata	<i>Machilus arisanensis</i> (Hay.) Kanehira	<i>Persea arisanensis</i> (Hay.) Kostermans					? 未處理

Zucc.)、香楠 (*M. zuihoensis* Hay.)、日本檳楠 (*M. japonica* Sieb. & Zucc) 代表檳楠屬，以樟樹 (*Cinnamomum camphora* L.) 代表樟屬 (*Cinnamomum*) 之樟組植物，以香桂 (*C. subavenium* Miq.) 代表樟屬之肉桂組植物，以酪梨 (*Persea americana* Mill.) 代表 *Persea* 屬，用月桂 (*Laurus nobilis* L.) 作群外對照。材料來源如表 2。

(II) DNA 萃取方法

抽取葉片 DNA 步驟參照 Doyle and Doyle (1990) 的 CTAB 法，並稍作修改。取新鮮材料樣本 100 mg 加入 400 μ l 的 2X CTAB (2%CTAB, 1.4M NaCl, 20mM EDTA, Tris HCl (pH8.0) 100 mM, β -Mercaptoethanol)，以萃取 DNA。再以酒精沉澱 DNA，最後將 DNA 溶於 TE 溶液之中備用，並以 Gene Quant II 核酸計算儀測 DNA 濃度以定量。

(III) 葉綠體 DNA 基因間區間序列

本試驗所使用的葉綠體 DNA 參試的引子共 3 對。產生可辨識位點的引子有 3 對序列，其黏合溫度皆為 55°C：第一對引子 *PetD* ~ *PetB* 序列為 5'-GCG GGCTCTCCATAATAAT-3' 和 5'-

ACGCGGAAGTGTTAG TGTGGG-3'；第二對 *TrnV*~*TrnM* 序列為 5'-GCTATACG GGCTCGAACC-3' 和 5'-TACCTACTATTGGATTTGAACC-3'；第三對為 *TrnS* ~ *TrnT* 序列為 5'-CATAACCTTGAGGTCA CGGG-3'和 5'-AACCACTCGGCCATCTCT CCTA-3' (Demesure *et al.*, 1995)。

(IV) PCR 之反應條件及步驟

PCR 反應液含有以下各成分：總體積 50 μ l 內含 60 ng 的 DNA 模板，3 μ M 核酸引子 (各含 1.5 μ M)、4 mM MgCl₂、3 mM dNTPs (包含 dATP、dTTP、dCTP、dGTP) 及 1.5U 之 *Taq* DNA polymerase (Life Technologies)。PCR 反應以德國 Biometra 2000 之溫度循環器 (T3 Thermocycler) 進行，採用之溫度週期及流程如下：

1. 先以 94°C 處理 5 分鐘，使雙股 DNA 變性。
2. 再以 92°C (變性溫度) 45 秒，55°C (鏈合溫度) 45 秒，72°C (延展溫度) 1 分 30 秒，進行 35-40 次的擴增循環。
3. 最後保持 72°C 處理 10 分鐘
4. 反應物溫度降至室溫。

表 2 本試驗之參試材料來源

Table 2 Sources of materials used in this study

中 名	學 名	採集地 (來源)
紅 楠	<i>Machilus thunbergii</i> Sieb & Zucc.	台北植物園 (北部地區)
樟 樹	<i>Cinnamomum camphora</i> L.	台北植物園 (北部地區)
香 桂	<i>Cinnamomum subavenium</i> Miq.	台北植物園 (埔里地區)
菲律賓樟	<i>Cinnamomum philippinense</i> (Merr.) Chang	六龜研究中心扇平工作站
日本檳楠	<i>Machilus japonica</i> Sieb. & Zucc.	日本 石垣島
香 楠	<i>Machilus zuihoensis</i> Hay.	台北縣 瑞芳地區
酪 梨	<i>Persea americana</i> Mill.	台東縣太麻里鄉 (栽培)
月 桂	<i>Laurus nobilis</i> L.	台北植物園 (義大利)

先取出 5 μ l 之 PCR 產物進行確認，其餘 PCR 產物則以 ABI 自動定序儀進行定序，PCR 及定序各進行 2-3 次以進行確認序列之重複性。

(V) 葉綠體 DNA 定序資料分析

葉綠體 DNA 之 3 個片段，定序結果以 Bioedit 軟體進行排序 (Multiple Sequence Alignment)。遺傳距離矩陣以 Kimura's 2-parameter (Kimura, 1980) 方法進行演算，將已完成的序列，進行兩兩比較，計算序列間發生取代變異的比例，以此比例為演化距離值。分子資料之距離矩陣及建構樹狀圖以 MEGA 軟體 3.0 版 (Kumar and Nei, 2004) 進行演算。本研究採用 Neighbor joining 法 (簡稱 NJ) (Saitou and Nei, 1987)，為距離矩陣法中，被廣泛使用的方法。NJ 方法並不假設演化速率相等，所以獲得的樹狀圖並非齊頭式。另外，最大簡約法 (Maximum parsimony, 簡稱 MP) 由重複的次數中搜尋最簡約樹，並採用靴帶 (Bootstrap) 分析法對每個節 (node) 進行 1000 次顯著性測試，計算建構親緣關係樹譜的可信度 (Felsenstein, 1985)。

III、結果與討論

本試驗定序所得之葉綠體 DNA 屬非編譯區 (non-coding)，在 3 片段中，*PetD-PetB* 片段總長介於 593-605 bp 之間，多型性位點為 8 個，約佔 1.3%。其中單一核苷酸變異 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 有 6 個，約佔 1.0%，而有效的變異 (informative site) 有 2 個，佔 0.3%。*TrnV-TrnM* 片段總長在 580-597 bp

之間，多型性位點為 9 個，約佔 1.5%。其中單一核苷酸變異 (SNP) 有 6 個，約佔 1.0%，而有效的變異有 3 個，佔 0.5%。*TrnS-TrnT* 片段序列總長介於 611-635 bp 之間，多型性位點為 15 個，約佔 2.6%。其中單一核苷酸變異 (SNP) 有 11 個，約佔 1.8%，而有效的變異有 10 個，佔 1.5%。本研究共有 31 處多型性位點可供辨識 (如表 3)。

(I) 菲律賓樟與樟屬、槿楠屬的關係

在 *PetD-PetB* 片段的 272 bp 位置，菲律賓樟與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物及其他樹種皆為 C，而樟樹及香桂則為 T。*TrnV-TrnM* 片段在 19 bp 位置，菲律賓樟與槿楠屬植物及其他樹種皆為 C，而樟樹及香桂為 T；在同一片段之 20 bp，酪梨為 A 的位點菲律賓樟及其他樹種為 T；160-176 bp 段菲律賓樟與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物有 GTTAATATGTCTATGAC 的小片段，其他樹種則無；419 bp 位置菲律賓樟與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物及酪梨皆為 G，而樟屬植物與月桂則為 T；495 bp 及 532 bp 位置 G 而僅有香桂分別為 T 及 A。在 *TrnS-TrnT* 片段之 92 bp 及 101 bp 位置，菲律賓樟與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物皆為 C 及 T，其他樹種則為 T 及 G；在其他樹種 600-603 bp、610-629 bp 及 631-632 bp 分別有 CTTG、AAAAAAGGAAGAATCTAATA 及等 3 個小片段，而菲律賓樟與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物則是無此段。

根據 Kimura (1980) 法所計算之遺傳距離矩陣列在表 4。結果顯示菲律賓樟的遺傳距離和月桂最遠，為 0.010，而香桂次

表 3 菲律賓樟及其鄰近各屬植物之葉綠體 DNA 序列變異及位置

Table 3 Variable sites in the aligned sequences among *C. philippinense* and related species

引子代號 及 長度	變異位置 Variation site	序 列 variation	種名縮寫							
			<i>L.n</i>	<i>M.j</i>	<i>M.z</i>	<i>P.a</i>	<i>C.c</i>	<i>C.s</i>	<i>M.t</i>	<i>C.p</i>
<i>PetD</i>	191		T	A	A	A	A	A	A	T
<i>PetB</i>	272		C	C	C	C	T	T	C	C
	322-328	AATACAA	+	-	-	-	-	-	-	-
593bp	489		A	A	A	A	A	C	A	A
~	503-507	TTATT	-	-	-	+	-	-	-	-
605bp	517		T	C	C	C	C	C	C	C
	591		-	-	-	G	-	-	-	-
	592		G	G	G	C	G	G	G	G
	15		A	G	G	G	G	G	G	G
<i>TrnV</i>	19		C	C	C	C	T	T	C	C
	20		T	T	T	A	T	T	T	T
<i>TrnM</i>	48		G	T	T	T	T	T	T	T
	160-176	GTTAATATGTCTATGAC	-	+	+	-	-	-	+	+
580bp	419		T	G	G	G	T	T	G	G
}	495		G	G	G	G	G	T	G	G
597bp	532		G	G	G	G	G	A	G	G
	580		G	G	G	A	G	G	G	G
	14		A	A	A	A	A	C	A	A
<i>TrnS</i>	24		A	G	G	G	G	G	G	G
	92		T	C	C	C	T	T	C	C
<i>TrnT</i>	101		G	T	T	G	G	G	T	T
	108		A	C	C	C	C	C	C	C
	261		C	G	G	G	G	G	G	G
611bp	508		C	C	C	A	A	C	C	C
}	509		A	A	A	A	A	C	A	A
635bp	514		G	T	T	T	T	T	T	T
	515		A	C	C	C	G	C	C	C
	553		T	C	C	C	C	C	C	C
	555		C	A	A	A	A	A	A	A
	600-603	CTTG	+	-	-	+	+	+	-	-
	610-629	AAAAAAGGAAGAATCTAATA	+	-	-	+	+	+	-	-
	631-632	AA	+	-	-	+	+	+	-	-

L. n = *Laurus nobilis* 月桂
C. s = *C. subavenium* 香桂
M. j = *M. japonica* 日本檳楠

P. a = *Persea americana* 酪梨
M. t = *Machilus thunbergii* 紅楠
M. z = *M. zuihoensis* 香楠

C. c = *Cinnamomum camphora* 樟樹
C. p = *C. philippinense* 菲律賓樟

表 4 下方為各試材之間的距離矩陣

Table 4 Genetic distances calculated using the Kimura 2-parameter model of base substitution

species	<i>C.s</i>	<i>C.c</i>	<i>C.p</i>	<i>M.j</i>	<i>M.z</i>	<i>L.n</i>	<i>M.t</i>	<i>P.a</i>
<i>C. subavenium</i>	--							
<i>C. camphora</i>	0.006	--						
<i>C. philippinense</i>	0.008	0.006	--					
<i>M. japonica</i>	0.008	0.006	0.000	--				
<i>M. zuihoensis</i>	0.008	0.006	0.000	0.000	--			
<i>L. nobilis</i>	0.014	0.010	0.010	0.010	0.010	--		
<i>M. thunbergii</i>	0.008	0.006	0.000	0.000	0.000	0.010	--	
<i>P. americana</i>	0.010	0.006	0.004	0.004	0.004	0.010	0.004	--

L.n = *Laurus nobilis* 月桂

C.s = *C. subavenium* 香桂

M.j = *M. japonica* 日本槿楠

P.a = *Persea americana* 酪梨

M.t = *Mchilus thunbergii* 紅楠

M.z = *M. zuihoensis* 香楠

C.c = *Cinnamomum camphora* 樟樹

C.p = *C. philippinense* 菲律賓樟

之，為 0.008。菲律賓樟和樟樹間的遺傳距離為 0.006，但與紅楠、香楠及日本槿楠等槿楠屬植物之間則無距離。

圖 1 及圖 2 係分別以 NJ 方法及 MP 方法及 1000 次 bootstrap 作出之樹狀圖。兩圖中都可得 3 個主要分群，大部份分枝 bootstrap 的可信度都在 50% 以上。圖 1 及圖 2 都得到一群包含菲律賓樟 (*Cinnamomum philippinense*) 與紅楠 (*Machilus thunbergii*)、日本槿楠 (*M. japonica*) 及香楠 (*M. zuihoensis*) 等槿楠屬植物；第 2 群酪梨 (*Persea americana*) 是獨立的分群；另一群將樟樹 (*Cinnamomum camphora*) 及香桂 (*C. subavenium*) 連結在一起。月桂 (*Laurus nobilis*) 則為外群對照。圖 1 和圖 2 中菲律賓樟皆與槿楠屬植物歸類為同一類群而與樟樹屬相距甚遠，顯示其與槿楠屬有較近之親緣關係。

在外部形態方面，經過標本比對經由原台灣大學森林系，樹木分類學家廖日京菲律賓呂宋島初島住彥所採的本種標本

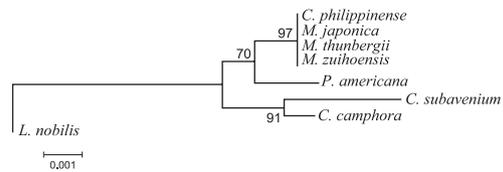


圖 1 以 NJ 方法作出的樹狀圖；BOOTSTRAP 取樣 1000 次

Fig. 1 Neighbor-joining tree based on cpDNA sequences. Percentage of bootstrap values (1000 replicates) are given above the nodes

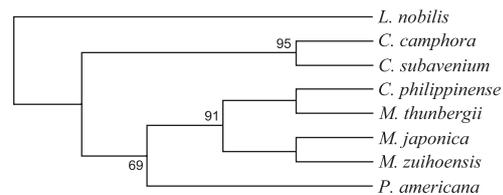


圖 2 以 MP 方法以及 1000 次重複取樣作出之 Bootstrap 樹狀圖

Fig. 2 Maximum parsimonious tree based on cpDNA sequences. Percentage of bootstrap values (1000 replicates) are given above the nodes

(Elmer. No 17485 equall paratypus)，與高雄六龜地區所產的菲律賓樟外部形態相

同，應為同一樹種。但是經比對林業試驗所所藏之早田文藏先生 1913 年所採之 *Cinnamomum acuminatissima* 之模式標本和本種並不是同一種。雖然菲律賓樟在阿里山地區有分布，但原採自阿里山的模式標本 *Cinnamomum caudatifolium* 和紅楠較為接近，此即金平亮三所稱的阿里山楠 (*Machilus arisanensis* Hay.) 而非菲律賓樟。

雖然在分類上的處理，有部份分類學者，皆以本種為羽狀脈而將其併入槿楠屬。但是就如同許多分類學者所言，樟科為一自然的分類群，所以在各屬內皆有三出脈及羽狀脈的樹種，以此一特徵來區分樟屬與槿楠屬，似稍嫌不足。本種有時果梗膨大，本種之種子外型為扁球形，與一般樟屬植物圓形或者橄欖型有所不同，其種子表面有斑紋及其生理特性與一般之槿楠屬相近。有了葉綠體 DNA 分析資料的佐證，更可確定菲律賓樟隸屬於槿楠屬而不是樟屬。

根據文獻及標本館臘葉標本檢視本種，在台灣除六龜扇平一帶外，尚分布於奮起湖至枋寮浸水營海拔 500-1,600 m 之間，屬中低海拔分布 (Liao, 1996)。在菲律賓分布呂宋島北部之奎松省 (Quezon) 至明多羅 (Mindoro)，900-1000 m 森林林緣，有時可達 2300 m (de Guzman *et al.*, 1986) 亦屬中低海拔分布。由於本屬種子靠鳥類傳播，而現有分布之生育地並不特殊，是故推論本種的分布不應僅限於菲律賓及台灣地區，尚應包含大陸地區及中南半島其他地區，但大陸並無本種分布之紀錄 (中國科學院中國植物誌編輯委員會，

1982)。中南半島的文獻資料不足，目前尚無法討論。在中國大陸的樟屬植物中，尾葉樟 (*Cinnamomum caudiferum* Kosterm.) 是分布貴州、雲南海拔 800-950 m 森林中的種類，其形態及習性和本種類似，花被片亦早落，果托邊緣波狀，有趣的是該種也有槿楠屬的異名 (*Machilus comphoratus* Levl.) (中國植物誌編輯委員會，1982)。尾葉樟是否即為菲律賓樟，或兩者為近緣種值得深入研究。

(II) 槿楠屬和酪梨屬的關係

從表 3 之葉綠體 DNA 非編譯區之分析結果顯示，在 *PetD-PetB* 片段在槿楠屬內之紅楠、香楠及日本槿楠等均無差異，但在 503-507 bp 處，酪梨有 TTATT 而槿楠屬植物、菲律賓樟及其他樹種則為無。在 *TrnV-TrnM* 片段之 20 bp 處，酪梨為 A 而槿楠屬植物、菲律賓樟及其他樹種則為 T；在同一片段之 160-176 bp 處，菲律賓樟與其紅楠有 GTTAATATGTCTATGAC，酪梨則產生缺失。在 *TrnS-TrnT* 片段之 92 bp、101 bp、及 508 bp 酪梨與槿楠屬植物均不同。酪梨在 *TrnS-TrnT* 片段第 600-603 bp、第 610-629 bp 及第 631-632 bp 分別有 CTTG、AAAAAAGGAAGAATCTAATA 及 AA 3 個片段，菲律賓樟與紅楠則此段缺失。圖 1 及圖 2 之樹狀圖，槿楠屬植物之間列在同一歸群與酪梨有差別。由此可見槿楠屬與酪梨屬是否應合併尚待探討。

在形態上，酪梨屬和槿楠屬相似之處為葉互生、羽狀脈，花序均為頂生之密繖花序 (fascicle)，花藥 4 室，果熟後花被片宿存。Kostermans (1963) 根據槿楠屬花被片宿存且不膨大，而且在酪梨 (*Persea*

americana) 也可以發現到花被片展開或反捲的情形，以及槿楠屬葉的網狀脈紋 (reticulation) 和酪梨屬相似，而將槿楠屬併入酪梨屬。在李惠林的 *Woody flora of Taiwan* (Li, 1971) 以及台灣植物誌第一版 (Chang, 1978) 皆將槿楠屬併入酪梨屬。但兩屬其他形態相異處極為明顯，如槿楠屬有顯著宿存的花被，且具有明顯之鱗芽保護過冬，而酪梨屬則是芽裸露或有不明顯之鱗芽，兩者不易混淆。由葉綠體 DNA 之分析結果，也顯示兩者親緣關係較遠。因此，僅由花被片展開與否及葉的網狀脈紋相似之特徵就將兩屬合併，合理性頗值商榷。

IV、結論

經由本研究之葉綠體 3 個 DNA 片段 (*PetD-PetB*、*TrnV-TrnM*、*TrnS-TrnT*) 定序結果，根據 Kimura's 2-parameter distance (Kimura, 1980) 法所計算之遺傳距離顯示菲律賓樟和樟屬之遺傳距離大於菲律賓樟和槿楠屬之間的距離，Neighbor joining 法及 Maximum parsimony 法的分枝圖都顯示菲律賓樟和樟屬分屬不同之分群，而是與槿楠屬聯結在一起。綜合以上結果顯示菲律賓樟 (*Cinnamomum philippinense*) 應改隸為槿楠屬，學名應為菲律賓楠 (*Machilus philippinensis* Merr.)。

針對部份中外學者將槿楠屬與酪梨屬合併為同一屬的論點，在葉綠體 3 個片段 (*PetD-PetB*、*TrnV-TrnM*、*TrnS-TrnT*) 定序結果以及 Kimura's 2-parameter distance 遺傳距離顯示，酪梨屬和槿楠屬之遺傳距離較近。且在 NJ 法及 MP 法的分枝圖都將

酪梨屬與靠近，但在形態上兩屬仍有很大的差異點，槿楠屬是不是應併在酪梨屬之下仍有待商榷。

V、致謝

本研究係由行政院農業委員會公務預算編號 94 農科-9.2-1 森-G2 計畫提供經費支持外投稿件編號 442 號，軟體分析部分由本組鄭育斌先生提供，並由邱輝龍先生指導使用方法，謹致最誠摯的謝意。

VI、參考文獻

- 中國植物誌編輯委員會 (1982) 中國植物誌。第 31 卷。科學出版社。北京。
- 張慶恩 (1976) Notes on the Lauraceae of Asia. 科學發展月刊。3(11): 1952-1956.
- 劉業經、歐辰雄、呂福原 (1994) 台灣樹木誌。國立中興大學農學院。
- Chang, C. E. (1978) Lauraceae. Flora of Taiwan Vol.2 1st ed., Epoch Publishing Co., Ltd., Taipei, Taiwan.
- De Guzman, E. D., R. M. Umali and E. D. Sotalbo (1986) Guide to Philippine Flora and Fauna. Vol. III p.109. Natural Resources and Univ. of Philippines, Philippines.
- Demesure, B., N. Sodji and R. J. Petit (1995) A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. Mol. Ecol. 4: 129-131.
- Downie, S. R. and D. Palmer (1992) Re-

- striction site mapping of the chloroplast DNA inverted repeat: a molecular phylogeny of the Asteridae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79: 266-283.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focue* 12: 13-15.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenetics: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Hayata, B. (1913) *Icones Plantarum Formosarum III*. Civil Government of Formosa, Japan.
- Kanehira, R. (1936) *Formosan Tree Indigenous to the Island*. Dept. of Forestry, Government Research Institute, Taihoku, Formosa.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Kostermans, A. J. G. H. (1957) *Lauraceae*. *Commun. For. Res. Inst.* 57: 1-64.
- Kumar, S. K. and T. Nei (2004) MEGA 3: Integrated Software for Molecular Evolution Genetics Analysis and Sequence Alignment Briefings in Bioinformatics 5: 150-163.
- Li, H. L. (1971) *Woody flora of Taiwan*. 974pp. Livingston Publ. Co., Narberth, PA. USA.
- Liao, J. C. (1996) *Lauraceae*. *Flora of Taiwan*, 2nd ed., Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, Taiwan.
- Merrill, E. D. (1906) *The flora of the Lamao forest reserve*. *Philip. Journ. Sci. I. Suppl. I*: 1-141.
- Rohwer, J. G. (1993) *Lauraceae*. In *The Families and Genera of Vascular Plants. II, Flowering Plants* pp.366-391. K. Kubitzki, J. G. Rohwer and V. Bittrich, eds. Springer-Verlag,.
- Saitou, N. and M. Nei (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.