

台灣原生枇杷之遺傳親緣關係及分類研究¹

張坤城^{2,3} 邱輝龍^{4,6} 曾彥學² 鄧書麟⁵

摘 要

張坤城、邱輝龍、曾彥學、鄧書麟。2012。台灣原生枇杷之遺傳親緣關係及分類研究。台灣農業研究 61:12–28。

台灣原生枇杷屬 (*Eriobotrya*) 植物是枇杷作物的野生近緣種，廣泛分布於整個台灣。過去有被歸類為2個不同種、或3個不同變種、或3個不同型或被建議歸類為2個變種1個型。本研究利用核糖體DNA內轉錄區 (internal transcribed spacers, ITS) 序列、葉綠體內 $matK$ 基因部分序列及葉部、花序與花粉粒等形態性狀探討台灣原生枇杷屬之分類地位。結果顯示，14份台灣原生枇杷屬植物均可獲得593個鹼基對 (base pair) 的ITS序列，僅有7個變異位點 (variation sites)，而 $matK$ 基因部分序列658個鹼基對中並無任何的差異位點；以鄰接法所建構的親緣關係樹 (phylogenetic tree) 指出台灣原生枇杷屬植物為單源群 (monophyletic group)，然卻無法有效區分台灣枇杷、武威山枇杷及恆春山枇杷等種下分類群。綜合前述資料表明台灣原生枇杷為同一個種，至於種下的分類群則有待其他分子層次的資料來釐清。

關鍵詞：台灣枇杷、薔薇科、ITS序列、 $matK$ 序列、親緣關係。

前 言

枇杷屬 (*Eriobotrya*) 為薔薇科 (Rosaceae) 梨族 (Pyreae) 常綠喬木植物，全屬約有32種，分布於亞洲溫帶及亞熱帶地區 (Badenes *et al.* 2009; Li *et al.* 2011a; Lin *et al.* 2004)。其中枇杷 [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.] 為重要的經濟果樹 (Badenes *et al.* 2009)，台灣多栽培於中部海拔200–1000 m之坡地 (Shih 2007)。

台灣原生的枇杷最早由 Hemsley (1895) 發

表為石楠屬 (*Photinia*)，學名為 *Photinia deflexa* Hemsl. (台灣枇杷)，模式標本採自台灣；之後Henry (1896) 紀錄台灣有兩種，即 *P. deflexa* Hemsl.及栽培種枇杷 [*E. japonica* (Thunb.) Lindl.]。而Matsumura & Hayata (1906) 及Kawakami (1910) 亦均有 *P. deflexa* Hemsl. 的紀錄。Hayata (1913) 則發表一新種 *P. buisanensis* Hayata (武威山枇杷)。Nakai (1916) 將 *P. deflexa* Hemsl. 轉移至枇杷屬中，並將 *P.*

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第2617號。接受日期：100年12月29日。
2. 國立中興大學森林系前博士班研究生與副教授。台灣 台中市。
3. 國立嘉義大學森林暨自然資源學系助理教授。台灣 嘉義市。
4. 本所作物種原組助理研究員。台灣 台中市。
5. 林業試驗所中埔研究中心助理研究員。台灣 嘉義縣。
6. 通訊作者，電子郵件：chl@tari.gov.tw；傳真機：(04)23331705。

buisanensis Hayata新組合為其型 (forma)，即 *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai f. *buisanensis* (Hayata) Nakai。Kanehira (1917) 仍沿用 *P. deflexa* Hemsl. 及 *P. buisanensis* Hayata。Sasaki (1928) 則使用 *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai 及 *E. buisanensis* (Hayata) Kanehira。Kanehira (1936) 將武威山枇杷歸類為台灣枇杷變種 (variety) *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai var. *buisanensis* (Hayata) Kanehira & Sasaki，並發表一新變種 *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai var. *koshunensis* Kanehira & Sasaki (恆春山枇杷)。Masamune (1954) 將武威山枇杷及恆春山枇杷歸類為台灣枇杷的型。Li (1963) 將台灣枇杷分為三個型，即 *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai f. *deflexa* (台灣枇杷)、*E. deflexa* (Hemsl.) Nakai f. *buisanensis* (Hayata) Nakai (武威山枇杷) 及 *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai f. *koshunensis* (Kanehira & Sasaki) H. L. Li (恆春山枇杷)，在此之後台灣枇杷大致沿用 Li (1963) 的分類。Liu (1972) 及 Yu *et al.* (1974) 均使用同 Li (1963) 的學名歸類。Liu & Su (1977) 將台灣枇杷處理為兩個型，即台灣枇杷及武威山枇杷，將恆春山枇杷歸類為台灣枇杷的異名 (synonym)。Ying (1985) 訂正台灣產薔薇科植物時，沿用 Li (1963) 的歸類將台灣枇杷分為三個型。Ohashi (1993) 將台灣枇杷分為兩個型，將恆春山枇杷歸類為台灣枇杷的異名 (synonym)。Liu *et al.* (1994) 及 Lu *et al.* (2000) 則將台灣枇杷分為三個型，即台灣枇杷、武威山枇杷及恆春山枇杷。Lu *et al.* (2003) 另將武威山枇杷及恆春山枇杷歸類為台灣枇杷的異名不分變種或型。Hong *et al.* (2009) 以逢機擴大多型性去氧核糖核酸標誌 (RAPD) 分析台灣原生枇杷族群之遺傳變異，結果將台灣枇杷與恆春山枇杷分為兩型，武威山枇杷因遺傳距離與栽培種枇杷較近而建議處理為變種。

整理過去台灣原生枇杷屬的分類歸類 (表 1) 可以發現台灣枇杷及其種下分類群的分類

歸類至今仍存在許多的紛歧。由於過去的分類歸類主要以外形態作為依據，近年來已有利用 SSR (Soriano *et al.* 2005)、RAPD (Hong *et al.* 2009; Yang *et al.* 2007a, 2009b)、ISSR (Xie *et al.* 2007)、AFLP (Yang *et al.* 2007a, 2009a) 與 Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) (Qiao *et al.* 2011) 等分子標誌或 DNA 片段序列 (Li *et al.* 2007, 2009, 2011b; Yang *et al.* 2011) 進行枇杷屬的分類研究與遺傳歧異度分析。

核糖體 RNA 基因 (ribosomal RNA gene, rDNA) 片段之內轉錄間隔區內 (internal transcribed spacer, ITS) 序列與長度在物種間差異很大，已廣泛應用於近緣物種間親緣關係之研究 (Alvarez & Wendel 2003; Baldwin 1992; Baldwin *et al.* 1995; Hamby & Zimmer 1992; Li *et al.* 2009; Yang *et al.* 2011)，而葉綠體中的 *matK* 基因長度約 1500 bp，位於 *trnK* 基因的插入子 (intron) 區域 (Hilu & Liang 1997)，是葉綠體基因組中演化最快速的編碼區域 (Neuhaus & Link 1987; Olmstead & Plamer 1994)，適合做為植物親緣關係分析的依據 (Johnson & Soltis 1995; Kron 1997; Liang & Hilu 1996; Plunkett *et al.* 1997; Steel & Vilgalys 1994)。

隨著經濟發展、人口增加與氣候變遷等，台灣地區許多野生種原的棲息地已遭破壞，益顯野生種原保育的重要性，而分類地位的釐清，則為種原保育所必需 (Mac 2004)。本研究即針對台灣原生枇杷屬植物進行親緣關係及分類上的整合研究，希望藉此研究作為台灣原生枇杷屬分類鑑定及保育的依據。

材料與方法

試驗材料

台灣原生枇杷材料採自野外之新鮮標本 (圖 1, 表 2)，引證標本存放於中興大學森林系標本館 (TCF) 中。除採集之材料外並查閱國內

表 1. 台灣枇杷之學名處理沿革

Table 1. History of taxonomic treatment of native *Eriobotrya* in Taiwan

Year	Author	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1895	Hemsley	<i>Photinia deflexa</i> n. s. ^z		
1896	Henry	<i>P. deflexa</i>		
1906	Matsumura & Hayata	<i>P. deflexa</i>		
1910	Kawakami	<i>P. deflexa</i>		
1913	Hayata	<i>P. deflexa</i>	<i>Photinia buisanensis</i> n. s.	
1916	Nakai	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i> n. c.	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i> n. c.	
1917	Kanehira	<i>P. deflexa</i>	<i>P. buisanensis</i>	
1928	Sasaki	<i>Eriobotrya deflexa</i>	<i>Eriobotrya buisanensis</i>	
1936	Kanehira	<i>E. deflexa</i> var. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> var. <i>buisanensis</i> n. c.	<i>E. deflexa</i> var. <i>koshunensis</i> n. var.
1954	Masamune	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1963	Li	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1972	Liu	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1974	Yu <i>et al.</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1977	Liu & Su	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	syn. of <i>E. deflexa</i>
1985	Ying	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
1993	Ohashi	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	syn. of <i>E. deflexa</i>
1994	Liu <i>et al.</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
2000	Lu <i>et al.</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
2003	Lu <i>et al.</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	syn. of <i>E. deflexa</i>	syn. of <i>E. deflexa</i>
2009	Hong <i>et al.</i>	<i>E. deflexa</i> var. <i>deflexa</i>	<i>E. deflexa</i> var. <i>buisanensis</i>	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>

^z c.: combination; n.: new; f.: forma; s.: species; syn.: synonym; var.: variety.

各標本館中所典藏之臘葉標本，收藏於國外之模式標本則透過網路資料庫查閱照片影像檔。

本研究檢視之標本館及其國際代號包括：

- (1) 中央研究院植物研究所標本館，台灣、台北 (HAST)；
- (2) 行政院農業委員會林業試驗所植物園標本館，台灣、台北 (TAIF)；
- (3) 國立台灣大學生命科學系標本館，台灣、台北 (TAI)；
- (4) 國立中興大學森林系標本館，台灣、台中 (TCF)；
- (5) 國立自然科學博物館標本館，台灣、台中 (TNM)；
- (6) 國立屏東科技大學森林資源管理技術系標本館，台灣、屏東 (PPI)。

花粉形態觀察

將採集到的新鮮標本花朵以FAA液浸泡固定，經過30%、50%、70%、80%、90%、95%酒精序列脫水處理（每處理20分鐘），然後

以解剖針將花藥中之花粉粒挑出，靜置於放有矽膠乾燥劑之乾燥箱內隔夜，再將乾燥後之花粉沾黏在貼上錫箔膠帶的載檯 (stab) 上之後將花粉以鍍膜儀鍍金 (coating) 90秒 (厚度約20 nm)，再以掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM) (HITACHI S-3000N, Japan) 觀察花粉粒的形態，使用加速電壓15 kv 進行照片拍攝。

親緣關係分析

植物總DNA的抽取：每樣品取2.5 g葉片，依照Gawel & Jarret (1991) 之流程並做適當調整之CTAB方法抽取植物總DNA，並貯存於-20°C冰箱中備用。DNA濃度以分光光譜儀 (HITACHI, model 3000, Japan) 測定。

ITS序列之擴增：ITS區域片段序列的擴



圖 1. 本研究採集材料地理分布圖。

Fig. 1. Samples of native *Eriobotrya* in Taiwan collected for use in this study. Note differences in latitudinal and altitudinal distributions among these samples.

表 2. 參試樣本清單

Table 2. List of native *Eriobotrya* samples used in this study

Taxon	Collection No./GenBank Accession No.	Collection site	Code/Note
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	C4624	Yangmingshan, Taipei	01D
	C4678	Beichatianshan, Taoyuan	02D
	CHL0001	Hehuanshan, Taichung	03D
	C0130	Meifeng, Nantou	04D
	C0134	Qingqingcaoyuan, Nantou	05D
	C4645	Lushui, Hualian	06D
	C4622	Lidau, Taidong	07D
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	C1140	Beidawushan, Pingtung	01B
	C4649	Laiyilindao, Pingtung	02B
	C2325	Dahanlindao 9K, Pingtung	03B
	C4713	Shizi, Pingtung	04B
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	C0001	Banpingshan, Kaohsing	01K
	C4615	Guanshan, Pingtung	02K
	C4616	Eluanbi, Pingtung	03K
<i>Eriobotrya japonica</i> cv. Bianco	FJ449734	NCBI ^z	ITS
<i>Eriobotrya bengalensis</i>	FJ571503	NCBI	ITS
<i>Eriobotrya cavaleriei</i>	FJ810022	NCBI	ITS
<i>Eriobotrya fragrans</i>	FJ810024	NCBI	ITS
<i>Eriobotrya seguinii</i>	FJ571507	NCBI	ITS
<i>Photinia serratifolia</i>	FJ810021	NCBI	ITS
<i>Eriobotrya japonica</i>	GQ434196	NCBI	matK
<i>Photinia serratifolia</i>	AM288111	NCBI	matK

^z NCBI: National Center for Biotechnology Information.

增採用ITS1與ITS4引子對，其序列分別為ITS1：TCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG (Hsiao *et al.* 1995) 及ITS4：TCCTCCGCTTATTGATATGC (White *et al.* 1990)。PCR的反應條件為100 ng模板DNA，0.3 μ M引子對，200 μ M dNTPs (Stratagene, Germany)，1.5 mM $MgCl_2$ ，1.0單位的*Taq* DNA聚合酶 (polymerase) 及1 \times PCR buffer (Phusion, Finnzymes, Finland)，反應總體積為50 μ L。擴增 (amplification) 步驟依產品說明為98 $^{\circ}C$ 下30秒初變性 (initial denaturing)，接著98 $^{\circ}C$ 10秒，鍊合時間為49 $^{\circ}C$ 20秒，72 $^{\circ}C$ 30秒，連續進行35循環，最後以72 $^{\circ}C$ 7分鐘結束反應。所有反應均在熱循環反應器 (thermocycler) 進行 (TC-9600-G, Labnet International Inc. Edison, NJ, USA)，產物以1.5%瓊膠 (Seakem LE Agarose Cambrex Bio Science Rockland Inc., ME, USA) 在0.5 \times TBE buffer (BDH, England) 中電泳分離。電泳條件為在室溫下以100 V電壓分離35–40分鐘 (Mupip, Tokyo, Japan)。分子量標誌為採50 bp ladder (Promega, USA)。電泳完後以10 mg/mL溴化乙錠 (ethidium bromide, EtBr) (BDH, England) 染色，並在260 nm波長之紫外光中，觀察DNA條帶，並以影像分析系統進行照相及存檔，再以熱感相片紙輸出記錄。

matK序列之擴增：採用Hu *et al.* (2000) 所設計的引子進行擴增反應，其中*matK*-forward的序列為CGTAAACAGTCTTCTTATTTACG，*matK*-backward的序列為TATGTTTACGAGC-CAAAGTTCTA。PCR的反應條件則參考Potter *et al.* (2002) 發表的方法。反應條件為50 ng模板DNA，1.0 μ M引子對，200 μ M dNTPs (Stratagene, Germany)，1.5 mM $MgCl_2$ ，1.0單位的*Taq* DNA聚合酶及1 \times PCR buffer (Invitrogen, USA)，反應總體積為25 μ L。擴增步驟為95 $^{\circ}C$ 下1.5分鐘初變性，接著95 $^{\circ}C$ 30秒，鍊合時間為42 $^{\circ}C$ 30秒，72 $^{\circ}C$ 1.5分鐘，連續進行40循環，最後以72 $^{\circ}C$ 10分鐘結束反應。其餘方法與條件與ITS序

列增幅反應相同。

擴增片段之選殖與分析：以等量pGEM[®]-T vector、2 \times ligation buffer及T4 DNA ligase (Promega, WI, USA)，加水至體積為10 μ L，置於16 $^{\circ}C$ 下4小時進行接合反應 (ligation)。取5 μ L已完成接合反應的溶液，加入50 μ L勝任細胞 (competent cell) (*E. coli* DH5 α)，緩慢混合均勻後置於0 $^{\circ}C$ 下，再以42 $^{\circ}C$ 水浴進行熱休克 (heat shock)，接著加入S.O.C Medium於37 $^{\circ}C$ 培養1小時，然後塗布於含有IPTG、X-gal及Ampicillin之LB (Luria-Bertani Broth, Miller) 篩選培養基上，置於37 $^{\circ}C$ 下培養過夜。

選殖菌株之篩選與確認：挑取篩選培養基上白色菌落，利用聚合酶連鎖反應 (Econo-Taq[®] 2X Master Mix, Lucigen, WI, USA) 及電泳挑選出分子量正確之選殖菌株，進一步利用限制酶*EcoR* I (BioLabs, New England) 將插入DNA片段兩端切下，經電泳再次確認此DNA片段能與質體接合及隨質體複製。然後進行質體的抽取與純化利用 (miniprep purification kit, Protech., USA)，並以電泳判定其品質。每一樣品均選取5個經確認之選殖菌株送交台灣波仕特生物科技股份有限公司進行解序，以ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer定序，並將5次結果進行相互驗證。

DNA序列資料分析：參試樣品之序列先以BioEdit (v.7.0.9, Tom Hall, Ibis Bioscience, CA, USA) 軟體進行對齊與多重序列排序 (multiple sequence alignment)，再利用Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA v.4.0) (Tamura *et al.* 2007) 軟體進行親緣關係分析及平均遺傳距離的計算，並從National Center for Biotechnology Information (NCBI) 下載之栽培種枇杷 (*E. japonica*) 與石楠 (*P. serratifolia*) 之ITS與*matK*序列，及栽培種枇杷品種 (*E. japonica* cv. 'Bianco') 與4份同屬不同種的南亞枇杷 (*E. bengalensis*)、大花枇杷 (*E. cavaleriei*)、香花

枇杷 (*E. fragrans*) 及小葉枇杷 (*E. seguinii*) 的 ITS 序列分別當做外群進行比對 (表2)。任兩序列間的距離 (pairwise distance) 以 Kimura's two-parameter 模型 (Kimura 1980) 計算, 再以 complete deletion 方式建構鄰接樹 (Neighbor-joining tree, NJ tree) (Saito & Nei 1987), 並進行 interior branch test 重複 1000 次檢定樹型分枝 (node) 的可信度 (Sitnikova *et al.* 1995)。

結 果

花粉形態觀察

台灣原生枇杷屬植物之花粉均為近球形或至略扁球形, 且為三溝孔粒 (tri-colporate), 內孔為長方形, 溝較長, 兩端較窄; 極面觀則呈三裂圓形 (tri-lobed circular)。極軸 (polar axis) 長約為 21.2–25.1 μm , 赤道軸 (equatorial axis) 長約為 22.0–26.3 μm 。外壁紋飾有皺波及散條紋, 具孔穴至無孔穴 (圖2–4)。

台灣枇杷 (*E. deflexa* f. *deflexa*) 的花粉 (圖2) 極軸長約 25.1 μm , 赤道軸長約 26.3 μm , PE 比值為 0.95, 外壁紋飾為皺波有淺散條紋無刺穿孔 (表3); 武威山枇杷 (*E. deflexa* f. *buisanensis*) 的花粉 (圖3) 極軸長約 22.3 μm , 赤道軸長約 22.8 μm , PE 比值 0.98, 外壁紋飾為較深之散條紋具稀疏刺穿孔 (表3); 恆春山枇杷 (*E. deflexa* f. *koshunensis*) 的花粉 (圖4) 極軸長約 21.2 μm , 赤道軸長約 22.0 μm , PE 比值 0.96, 外壁紋飾為較深之散條紋具明顯較多的刺穿孔 (表3)。

台灣枇杷外壁紋飾為皺波有淺散條紋無刺穿孔, 與武威山枇杷、恆春山枇杷的外壁紋飾有較深的散條紋且具刺穿孔可以區別。另武威山枇杷及恆春山枇杷的刺穿孔分別為稀疏的刺穿孔及明顯較多的刺穿孔, 亦可作為區分之依據 (表3)。

親緣關係分析

ITS DNA 序列親緣關係分析: 每一群各選取 5 個再次確認之選殖菌株進行解序, 這些選

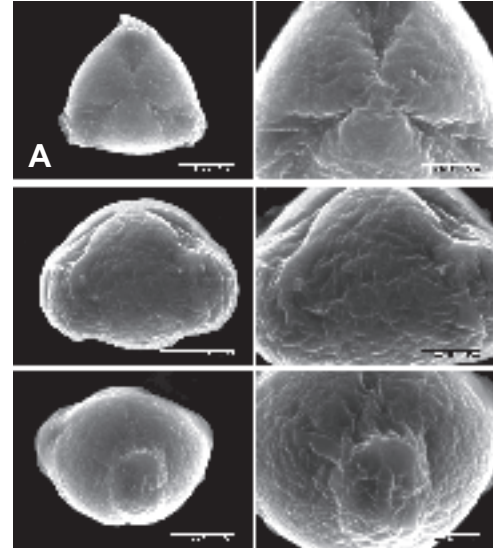


圖 2. 台灣枇杷花粉的掃描式電子顯微鏡照片。(A、B) 極面; (C、D) 赤道面; (E、F) 溝孔。

Fig. 2. SEM-micrographs of pollen grains of *Eriobotrya deflexa* f. *deflexa*, showing polar view (A, B), equatorial view (C, D), and colporate view (E, F).

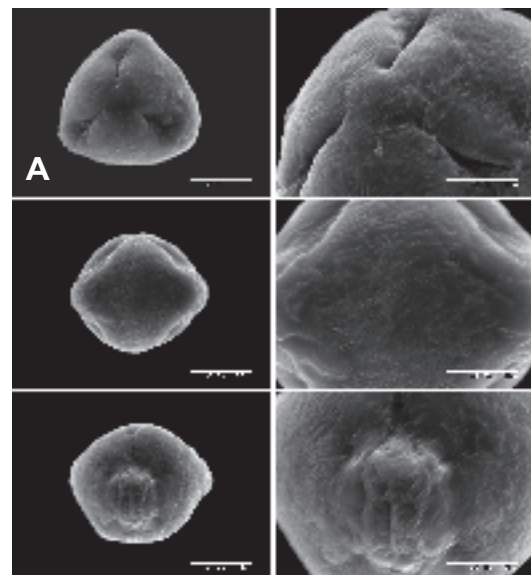


圖 3. 武威山枇杷花粉的掃描式電子顯微鏡照片。(A、B) 極面; (C、D) 赤道面; (E、F) 溝孔。

Fig. 3. SEM-micrographs of pollen grains of *Eriobotrya deflexa* f. *buisanensis*, showing polar view (A, B), equatorial view (C, D), and colporate view (E, F).

殖菌株經定序後，以BioEdit軟體進行對齊排列，產生一致性序列 (consensus sequences)，並參考NCBI網站中序列比對資料庫 (BLAST) 中栽培種枇杷 (*E. japonica*) Bianco品種的序列 (GenBank accession number: FJ449734) 區分其ITS1、ITS2及5.8S的序列。本試驗綜合14份台灣原生枇杷材料之ITS一致性序列分別獲得593鹼基對 (base pair, bp)，其中ITS1的序列長度均為223 bp，GC含量為64.57–65.02%，僅出現1個變異位點 (variation sites) (位於205 bp)；ITS2

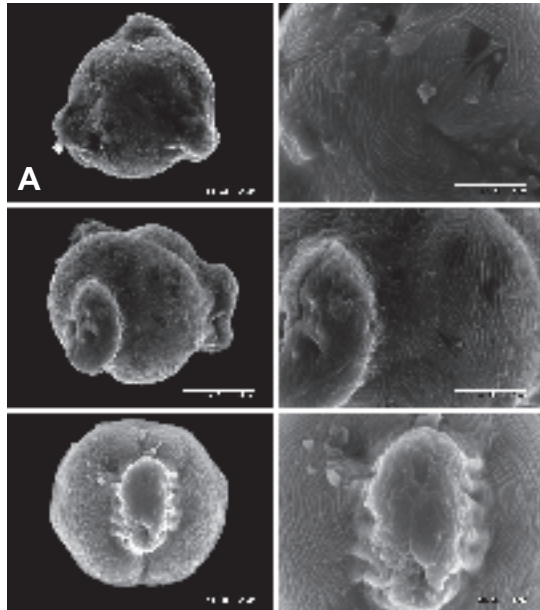


圖 4. 恆春山枇杷花粉的掃描式電子顯微鏡照片。(A、B) 極面；(C、D) 赤道面；(E、F) 溝孔。

Fig. 4. SEM-micrographs of pollen grains of *Eriobotrya deflexa* f. *koshunensis*, showing polar view (A, B), equatorial view (C, D), and colporate view (E, F).

表 3. 台灣原生枇杷之花粉形態

Table 3. Pollen morphology of native *Eriobotrya* in Taiwan

Taxon	Polar axis (P)/ μm	Equatorial axis (E)/ μm	P/E	Shape	Sculptural type	Puncture
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	25.1	26.3	0.95	Nearly spherical	Wrinkle wave and shallow bulk stripe	None
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	22.3	22.8	0.98	Nearly spherical	Scattered deep stripes	Sparse
<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	21.2	22.0	0.96	Nearly spherical	Scattered deep stripes	Dense

的序列長度為204 bp，GC含量為69.12–70.59%，出現6個變異位點 (分別位於78 bp, 94 bp, 96 bp, 164 bp, 176 bp, 198 bp)；而5.8 S的序列長均為166 bp，GC含量均為65.45%，無變異位點 (表4)。

以本試驗14份台灣原生枇杷及NCBI下載枇杷屬植物之ITS序列建構各序列間之親緣關係樹 (phylogenetic tree)，並依Kimura's twoparameter (Kimura 1980)方法計算出距離指數，由此矩陣為基礎並以1份栽培種枇杷、4份原生於中國大陸同屬不同種的枇杷及1份石楠 (表2) 為外群建構鄰接樹 (NJ tree) (圖5)，並以in-terior branch test重複1000次評估各分枝點的可信度。結果指出各地採集的台灣原生枇杷聚結為一群，其可信度高達96%，與其他參考材料分開。

參試的三份恆春山枇杷樣品，其中採自南部鵝鑾鼻的恆春山枇杷與採自北部北插天山、中部梅峰和合歡山的台灣枇杷群聚為第一群；而採自北大武山及關山的另外二份樣品則與採自南迴公路獅子鄉路段、來義林道與北大武山的武威山枇杷及採自台東利稻的台灣枇杷樣品無差異而成一群，另一份參試的武威山枇杷是採自大漢林道9公里處，卻與採自北部陽明山的台灣枇杷聚結為一群，此二群再與採自花蓮綠水步道的台灣枇杷聚結為第二群；採自中部青青草原的台灣枇杷單獨自成一群而為第三群。

計算台灣原生枇杷三群間平均遺傳距離 (average pairwise genetic distance) (表5) 指出，

表 4. 台灣原生枇杷 ITS 序列長度及其 GC 含量

Table 4. Length and GC content of ITS sequence of native *Eriobotrya* in Taiwan

Code ^z	Length of ITS1 (bp)	GC Content of ITS1 (%)	Length of ITS2 (bp)	GC Content of ITS2 (%)	Length/GC Content of 5.8 S (bp)/(%)
01D	223	64.57	204	70.59	165/65.45
02D	223	64.57	204	69.12	165/65.45
03D	223	65.02	204	70.09	165/65.45
04D	223	65.02	204	70.59	165/65.45
05D	223	65.02	204	70.59	165/65.45
06D	223	64.57	204	69.61	165/65.45
07D	223	64.57	204	70.59	165/65.45
01B	223	64.57	204	70.09	165/65.45
02B	223	64.57	204	70.09	165/65.45
03B	223	64.57	204	70.59	165/65.45
04B	223	64.57	204	70.09	165/65.45
01K	223	64.57	204	70.09	165/65.45
02K	223	64.57	204	70.09	165/65.45
03K	223	65.02	204	69.12	165/65.45

^z Code: see Table 2.

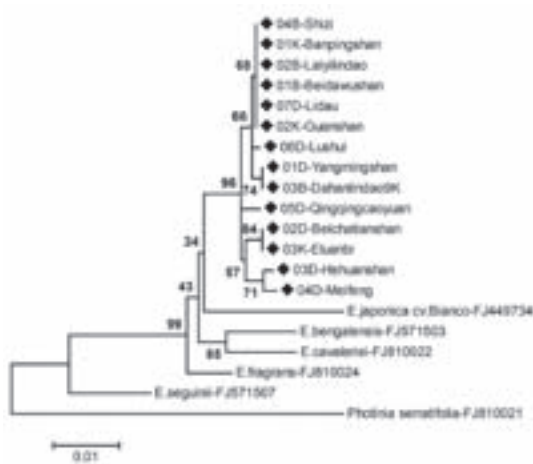


圖 5. 由 ITS 序列建構之台灣原生枇杷及枇杷之鄰接法親緣關係樹。

Fig. 5. Neighbour-joining phylogenetic tree inferred from ITS data. The value of the interior branch tests > 50% is shown on each branch. Branch lengths are proportional to the number of base changes along each branch. The solid diamond (◆) indicates the native *Eriobotrya* in Taiwan. (Code: see Table 2).

台灣枇杷與武威山枇杷間為0.0041，台灣枇杷與恆春山枇杷間為0.0044，武威山枇杷與恆春

山枇杷間為0.0022，約是台灣枇杷與武威山枇杷間及台灣枇杷與恆春山枇杷間平均遺傳距離的1/2；而台灣枇杷不同樣品間之平均遺傳距離則為0.0058，武威山枇杷為0.0009，恆春山枇杷間為0.0035。

*matK*部分序列親緣關係分析：以前述相同方法解序14份台灣原生枇杷之*matK*部分序列並進行栽培種枇杷 (*E. japonica*) 之此部分*matK*序列 (GenBank accession number: GQ434196) 比對，共獲得658 bp，所有序列於排序後並無任何的變異位點，GC含量為34.2%。

此資料進一步以NCBI下載之栽培種枇杷與石楠為外群，以其部分*matK*序列建構鄰接親緣關係樹 (圖6)，同樣以interior branch test重複1000次評估各分枝點的可信度。結果也顯示各地採集之台灣原生枇杷樣品聚結為一群，其可信度達92%，並與其他參考材料分開。

討 論

台灣原生枇杷屬過去常被區分為2至3個型

表 5. 台灣原生枇杷三群及群間之平均遺傳距離

Table 5. Average genetic distance among the three taxa of native *Eriobotrya* in Taiwan and among samples of each taxon (diagonal)

Taxon	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	<i>Eriobotrya deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>
<i>E. deflexa</i> f. <i>deflexa</i>	0.0058		
<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	0.0041	0.0009	
<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	0.0044	0.0022	0.0035

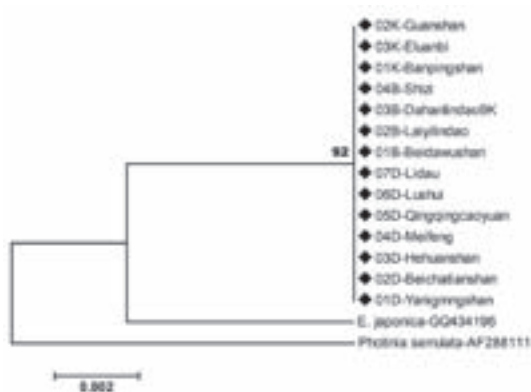


圖 6. 由 *matK* 部分序列建構之台灣原生枇杷及枇杷之鄰接法親緣關係樹。

Fig. 6. Neighbour-joining phylogenetic tree inferred from partly *matK* data. The value of the interior branch tests > 50% is shown on each branch. Branch lengths are proportional to the number of base changes along each branch. The solid diamond (◆) indicates the native *Eriobotrya* in Taiwan. (Code: see Table 2).

或變種，本試驗整合形態特性、花粉形態及分子層次的資料，期望能進一步釐清其分類階級與遺傳親緣關係。

枇杷屬植物主要起源於亞洲中國，其中至少有 21 分類群 (taxa) 即原生於此 (Badenes *et al.* 2009; Li *et al.* 2011a; Lin *et al.* 2004; Yang *et al.* 2005, 2007b, 2007c; Yang & Lin 2007)。雖然中國大陸的枇杷屬遺傳資源研究將 *E. deflexa* 材料加入分析，但僅含台灣枇杷及恆春山枇杷等二份材料。本試驗之 *E. deflexa* 參試材料為採自台灣各地之台灣枇杷及其種下分類群樣品共 14 份材料，並加入原生亞洲大陸的物種參與分析。ITS 序列與 *matK* 基因部分序列分析結果均指出

台灣原生枇杷為單源群 (monophyletic group)，沒有混入參考的原生於亞洲中國的種或一些栽培種，此結果不僅支持 Li *et al.* (2007, 2009, 2011a) 的推論，並指出台灣原生枇杷在遺傳上的獨立性，顯示台灣原生枇杷應為同一種。

雖然台灣原生枇杷為單源群，但由花序之被毛情形 (圖 7-9)、葉部形態 (圖 10) 及花粉外壁紋飾 (表 3) 可清楚地將其區分出台灣枇杷 (圖 2、7)、武威山枇杷 (圖 3、8) 及恆春山枇杷 (圖 4、9) 等三群。武威山枇杷的分布範圍從屏東大武山以南，恆春山枇杷的分布範圍則侷限於恆春及高雄低海拔高位珊瑚礁岩區，兩間的平均遺傳距離最小 (0.0022)，雖然形態上兩者花序皆被淡褐色至灰白色短毛，但兩者的葉片與花粉粒形態可明顯地區分。武威山枇杷的葉片為圓披針形，長 9-14 cm，寬 1.5-2.5 cm，葉緣鋸齒狀，先端銳尖至漸尖 (圖 10)，花粉外壁刺穿孔較稀疏 (圖 3)；而恆春山枇杷的葉片呈倒卵長圓形，長 7-14 cm，寬 3-7 cm，葉緣淺圓齒狀或近全緣，先端圓鈍或鈍尖 (圖 10)，花粉外壁刺穿孔較多 (圖 4)。台灣枇杷廣泛分布於屏東大武山以北各地，與其他兩群間的平均遺傳距離皆為武威山枇杷與恆春山枇杷間者 2 倍 (0.0041, 0.0044)。形態上，台灣枇杷的花序為密被棕色長絨毛，葉長橢圓形，長 10-25 cm，寬 3-7 cm，葉緣鋸齒狀，先端銳尖至漸尖 (圖 10)，花粉外壁紋飾為皺波散條紋較淺且無刺穿孔 (圖 2)，可以清楚地與武威山枇杷及恆春山枇杷區別。

武威山枇杷與恆春山枇杷的分布與範圍大

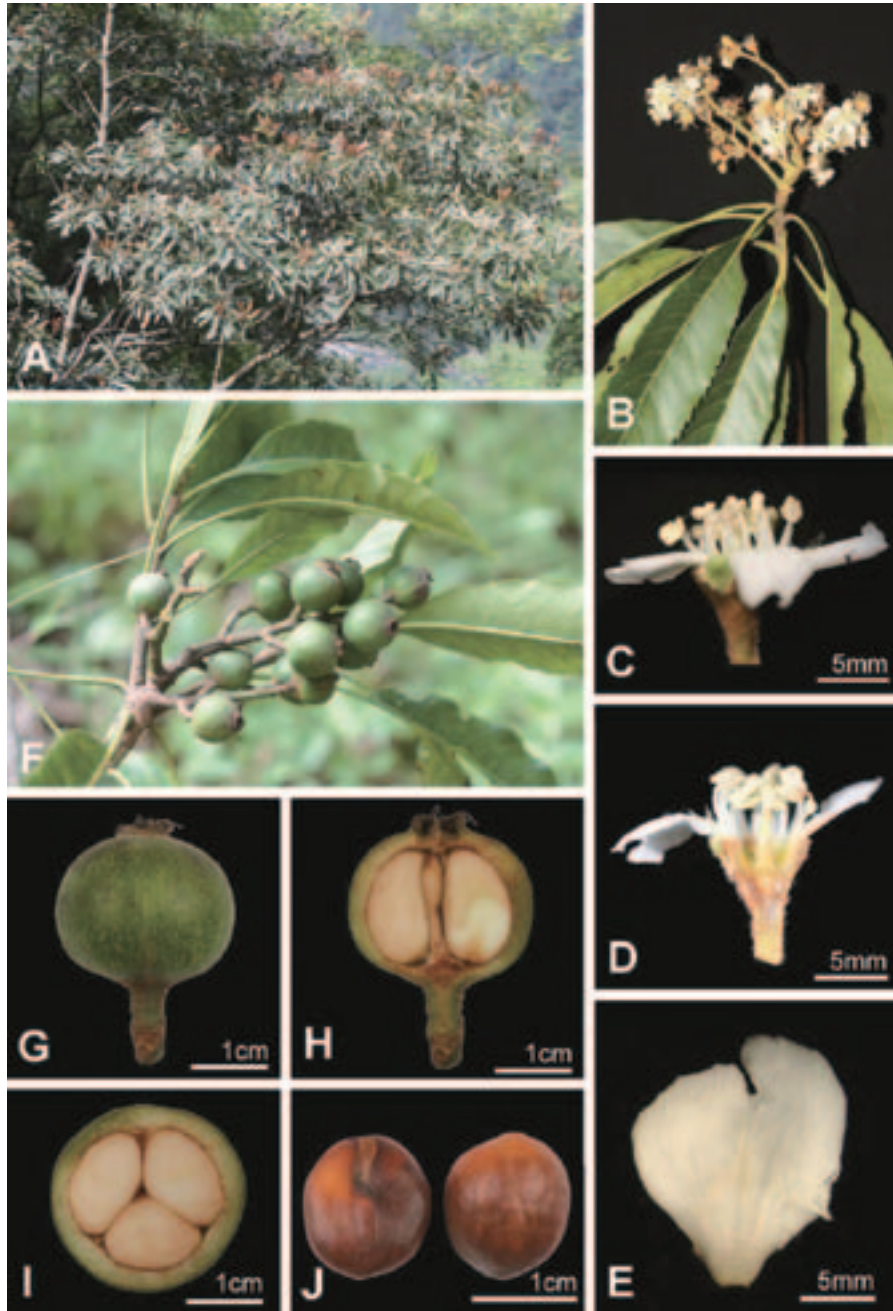


圖 7. 台灣枇杷。(A) 樹形；(B) 花序；(C) 花；(D) 花縱剖；(E) 花瓣；(F) 果序；(G) 果；(H) 果縱剖面；(I) 果橫剖面；(J) 種子。

Fig. 7. *Eriobotrya deflexa* f. *deflexa*. (A) Tree shape; (B) Inflorescence; (C) A flower; (D) Vertical-section of a flower; (E) A flower petal; (F) A fruit bunch; (G) Surface view of a fruit; (H) Vertical section of a fruit; (I) Cross-section of a fruit and (J) Seeds.

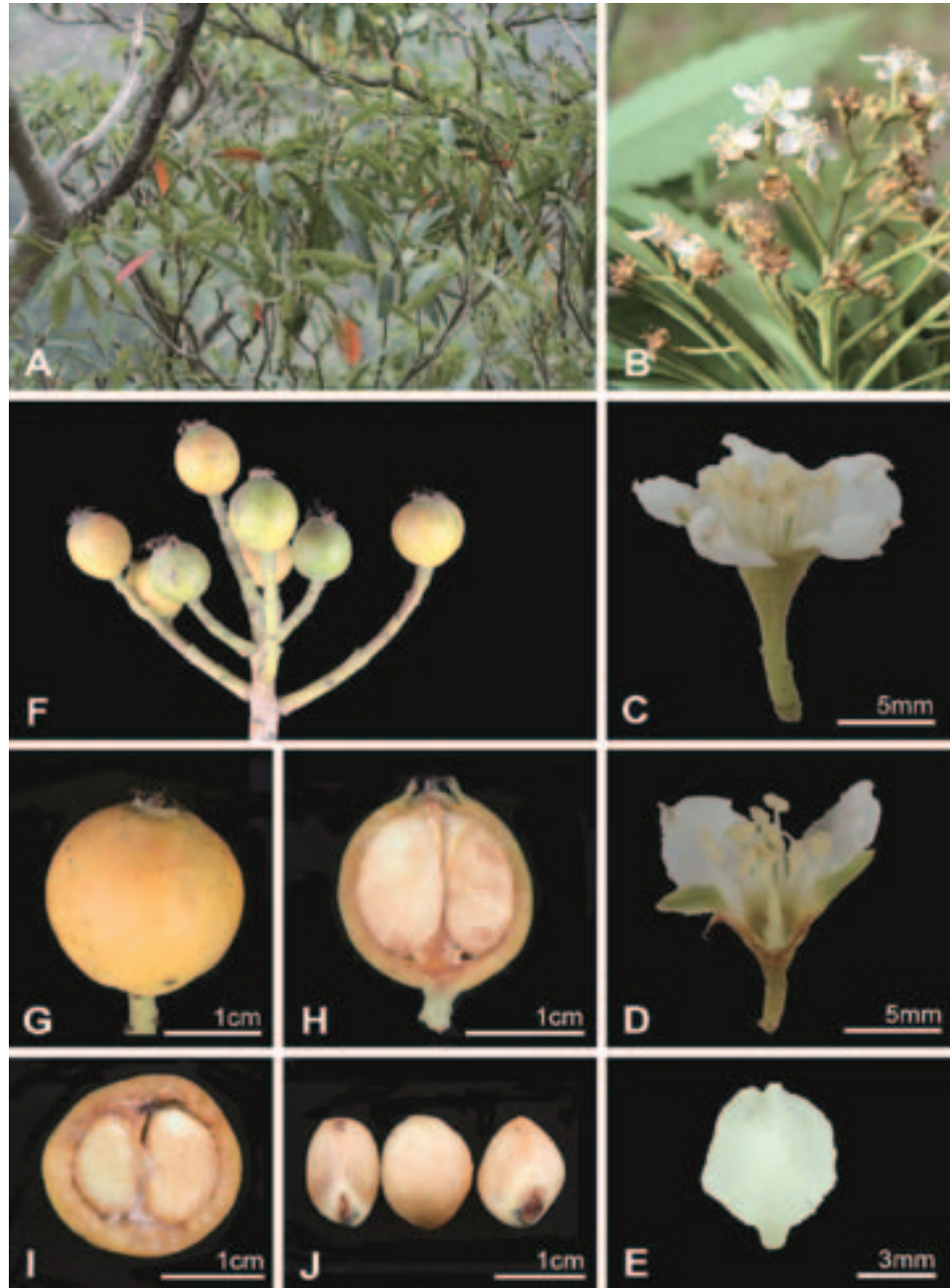


圖 8. 武威山枇杷。(A) 樹形；(B) 花序；(C) 花；(D) 花縱剖；(E) 花瓣；(F) 果序；(G) 果；(H) 果縱剖面；(I) 果橫剖面；(J) 種子。

Fig. 8. *Eriobotrya deflexa* f. *buisanensis*. (A) Tree shape; (B) Inflorescence; (C) A flower; (D) Vertical-section of a flower; (E) A flower petal; (F) A fruit bunch; (G) Surface view of a fruit; (H) Vertical section of a fruit; (I) Cross-section of a fruit and (J) Seeds.

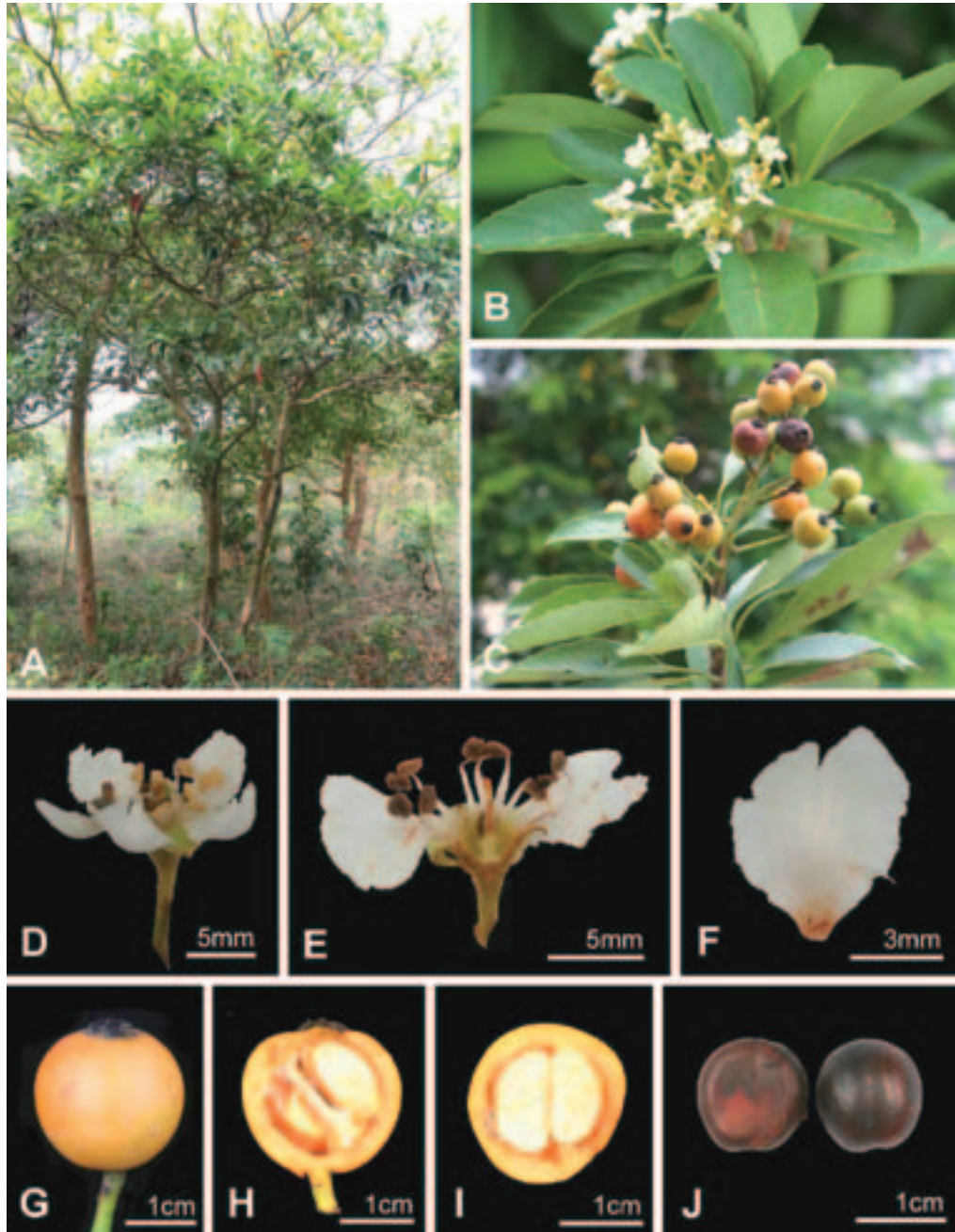


圖 9. 恆春山枇杷。(A) 樹形；(B) 花序；(C) 花；(D) 花縱剖；(E) 花瓣；(F) 果序；(G) 果；(H) 果縱剖面；(I) 果橫剖面；(J) 種子。

Fig. 9. *Eriobotrya deflexa* f. *koshunensis*. (A) Tree shape; (B) Inflorescence; (C) A flower; (D) Vertical-section of a flower; (E) A flower petal; (F) A fruit bunch; (G) Surface view of a fruit; (H) Vertical section of a fruit; (I) Cross-section of a fruit and (J) Seeds.



圖 10. 台灣原生枇杷分類群之葉部形態比較。(A) 台灣枇杷；(B) 恆春山枇杷；(C) 武威山枇杷。

Fig. 10. Comparison of leaf morphology of native *Eriobotrya* in Taiwan. (A) *f. deflexa*; (B) *f. koshunensis* and (C) *f. buisanensis*.

小相當接近，然而恆春山枇杷樣品間的平均遺傳距離卻是武威山枇杷者的4倍(表5)，此種高度歧異化的情形值得進一步的探討；台灣枇杷分布範圍廣泛，但在大武山以南幾乎不見蹤跡，其樣品間的平均遺傳距離(0.0058)則分別是恆春山枇杷(0.0035)與武威山枇杷(0.0009)者的1.7與6.4倍左右(表5)，此種區域性的分布情形是否受氣候環境(Su *et al.* 2009; Wendel & Dolye 1998)或其他因素所造成，則有待進一步的分析。

Lin *et al.* (2004)、Li *et al.* (2009) 及Yang & Lin (2007) 依據形態特徵及分子標誌分析的結果，將台灣原生枇杷歸屬於多雄蕊、少柱頭與葉片大小中等組(section)之西江亞組，其特徵為雄蕊數多於20枚、柱頭數少於(含)4枚。Li *et al.* (2009) 並指出台灣原生枇杷是後生種，分

布範圍包括台灣、海南與廣東信宜等地。演化途徑為其原始種*E. serrate* Vidal (齒葉枇杷)與*E. kwangsiensis* Chun (廣西枇杷)沿著西江流域與周邊輻射散布，並發生DNA序列的交換而演化發生。惟*E. kwangsiensis* Chun至今仍未明確描述(Lin *et al.* 2004)，而台灣原生枇杷甚至曾被稱為台廣枇杷(Yu 1979)，在廣東鳳凰山(Fenghuanshan)也有採集的紀錄(Yang & Lin 2007)，且*E. kwangsiensis* Chun的葉形為長橢圓葉，與恆春山枇杷葉形相似；又*E. serrate* Vidal至今仍難以歸類(Yang & Lin 2007)，其葉片倒卵形或倒披針形及葉緣有鋸齒的特徵則與台灣枇杷及武威山枇杷葉形相似。因此*E. serrate* Vidal與*E. kwangsiensis* Chun是否為台灣原生枇杷的原始種仍有待釐清。

本研究整合形態性狀、花粉粒形態、核基因組ITS序列及葉綠體基因組*matK*基因部分序列之資料，確認台灣枇杷、武威山枇杷及恆春山枇杷等三群之親緣關係非常相近，且屬同一個種，雖然在葉部形態、花序之被毛情形及花粉外壁紋飾有明顯差異，但目前之分子資料仍無法有效區分種下分類群，未來將增加其他分子資料，做進一步的釐清。

引用文獻 (Literature cited)

- Alvarez, I. and J. F. Wendel. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29:417–434.
- Badenes, M. L., S. Q. Lin, X. H. Yang, C. M. Liu, and X. M. Huang. 2009. Loquat (*Eriobotrya* Lindl.). p.525–538. *in: Genetics and Genomics of Rosaceae.* (Folta, K. M. and S. E. Gardiner, eds.) Springer Press. New York. 636 pp.
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the compositae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 1:3–16.
- Baldwin, B. G., M. J. Sanderson, J. M. Porter, M. F. Wojciechowski, C. S. Campbell, and M. J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ri-

- bosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82:247–277.
- Gawel, N. J. and R. L. Jarret. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9:262–266.
- Hamby, R. K. and E. A. Zimmer. 1992. Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics. p.50–91. *in: Molecular Systematics of Plants.* (Soltis, P. S., D. E. Soltis, and J. J. Doyle, eds.) Chapman and Hall Pub. New York. 448 pp.
- Hayata, B. 1913. *Icones Plantarum Formosanarum III.* Bureau of Productive Industry, Government of Formosa Press. Taihoku (Taipei). 222 pp.
- Hemsley, W. B. 1895. Descriptions of some new plants from Eastern Asia, chiefly from the island of Formosa, presented by Dr. Augustine Henry, F. L. S., to the herbarium, Royal Gardens, Kew. *Ann. Bot.* 9:143–160.
- Henry, A. 1896. A list of plants from Formosa with some preliminary remarks on the geography nature of the flora and economic botany of the island. *Trans. Asiatic Soc. Japan.* 24(suppl.):1–118.
- Hilu, K. W. and H. P. Liang. 1997. The *matK* gene: sequence variation and application in plant systematics. *Am. J. Bot.* 84:830–839.
- Hong, K. Y., J. Y. Hsiao, and C. H. Ou. 2009. An assessment of genetic variation of the genus *Eriobotrya* in Taiwan. *J. Natl. Taiwan Muse.* 62:27–41. (in Chinese with English abstract)
- Hsiao, C., N. J. Chatterton, K. H. Asay, and K. B. Jensen. 1995. Phylogenetic relationships of 10 grass species: an assessment of phylogenetic utility of the internal transcribed spacer region in nuclear ribosomal DNA in monocots. *Genome* 37:112–120.
- Hu, J. M., M. Lavin, M. F. Wojciechowski, and M. J. Sanderson. 2000. Phylogenetic systematics of the tribe Millettieae (Leguminosae) based on *matK* sequences, and implications for evolutionary patterns in Papilionoideae. *Am. J. Bot.* 87:418–430.
- Johnson, L. A. and D. E. Soltis. 1995. Phylogenetic inference in Saxifragaceae *Sensu Stricto* and Gilia (Polemoniaceae) using *matK* sequences. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82:149–175.
- Kanehira, R. 1917. *Formosan Trees.* Bureau of Productive Industry, Government of Formosa Press. Taihoku (Taipei). 651 pp. (in Japanese)
- Kanehira, R. 1936. *Formosan Trees: Indigenous to the Island (revised).* Dept. of Forestry, Government Research Institute Press. Taipei. 754 pp. (in Japanese)
- Kawakami, T. 1910. *A List of Plants of Formosa.* Bureau of Productive Industry, Government of Formosa Press. Taihoku (Taipei). 119 pp. (in Japanese)
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16:111–120.
- Kron, K. A. 1997. Phylogenetic relationships of Rhododendroideae (Ericaceae). *Am. J. Bot.* 84:830–839.
- Li, G. F., Z. K. Zhang, and S. Q. Lin. 2011a. Origin and evolution of *Eriobotrya*. *Acta Hort.* 887:33–38.
- Li, H. L. 1963. *Woody Flora of Taiwan.* Livingston Pub. Co. Press. Narberth. 974 pp.
- Li, P., S. Q. Lin, G. B. Hu, and Y. H. He. 2007. A preliminary phylogeny study of the *Eriobotrya* based on the ITS sequence. *Acta Hort.* 750:241–244.
- Li, P., S. Q. Lin, X. H. Yang, G. B. Hu, and Y. M. Jiang. 2009. Molecular phylogeny of *Eriobotrya* Lindl. (Loquat) inferred from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosome. *Pak. J. Bot.* 41:185–193.
- Li, P., X. H. Yang, G. B. Hu, and S. Q. Lin. 2011b. A preliminary phylogenetic study of the *Eriobotrya* based on cpDNA *rbcL* and *trnL-F* sequences. *Acta Hort.* 887:79–84.
- Liang, H. and K. W. Hilu. 1996. Application of the *matK* gene sequences to grass systematics. *Canad. J. Bot.* 74:125–134.
- Lin, S. Q., X. G. Yang, C. M. Liu, Y. L. Hu, Y. H. He, G. B. Hu, H. L. Zhang, X. L. He, Y. U. Liu, and Z. L. Liu. 2004. Natural geographical distribution of genus *Eriobotrya* plants in China. *Acta Hort. Sin.* 31:569–573. (in Chinese with English abstract)
- Liu, I. Z., F. Y. Lu, and C. H. Ou. 1994. *Taiwan Tree.* Chung Hsing Univ. Taichung. 925 pp. (in Chinese)
- Liu, T. S. and H. J. Su. 1977. Rosaceae. p.57–144. *in: Flora of Taiwan, 1st ed. Vol. 3.* (Li, H. L., T. S. Liu, T. S. Huang, T. Koyama, and C. E. DeVol, eds.) Epoch Pub. Co. Press. Taipei. 1000 pp.
- Liu, Y. C. 1972. *Woody Plants in Taiwan.* Chung Hsing Univ. Taichung. 887 pp. (in Chinese)
- Lu, F. Y., C. H. Ou, Y. C. Chen, Y. S. Chi, and J. C. Lu.

2000. Rosaceae. p.86–273. *in*: Trees of Taiwan. Vol. 1. Ou, C. H. Pub. Taichung. 339 pp. (in Chinese)
- Lu, L. T., C. Z. Gu, C. L. Li, C. Alexander, B. Bartholomew, A. R. Brach, D. E. Boufford, H. Ikeda, H. Ohba, K. R. Robertson, and S. A. Spongberg. 2003. Rosaceae. p.46–434. *in*: Flora of China, Vol. 9. (Wu, Z. Y., P. H. Raven, and D. Y. Hong, eds) Science Press. Beijing, and Missouri Botanical Garden Press. St. Louis. 393 pp.
- Mac, G. M. 2004. The role of taxonomy in species conservation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 359:711–719.
- Masamune, G. 1954. A List of Vascular Plant of Taiwan. Kanazawa Univ. Press. Kanazawa. 137 pp.
- Matsumura, J. and B. Hayata. 1906. *Enumeratio Plantarum Formosanarum*. Vol. 22. *J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo.* 702 pp.
- Nakai, T. 1916. *E. deflexa* (Hemsl.) Nakai form *buisanensis* (Hayata) Nakai. *Bot. Mag. Tokyo* 30:18.
- Neuhaus, H. and G. Link. 1987. The chloroplast tRNA^{Lys} (UUU) gene from mustard (*Sinapis alba*) contains a class II intron potentially coding for a maturase-related polypeptide. *Curr. Genet.* 11:251–257.
- Ohashi, H. 1993. Rosaceae. p.69–157. *in*: Flora of Taiwan, 2nd ed., Vol. 3. (Hsieh, C. F., T. C. Huang, Y. Z. Li, H. C. Lo, H. Ohashi, C. F. Shen, and J. C. Wang, eds.) Editorial Committee of the Flora of Taiwan. Taipei. 1084 pp.
- Olmstead, R. G. and J. D. Palmer. 1994. Chloroplast DNA systematics: A review of methods and data analysis. *Am. J. Bot.* 84:830–839.
- Plunkett, G. M., D. E. Soltis, and P. S. Soltis. 1997. Clarification of the relationship between Apiaceae and Araliaceae based on *matK* and *rbcL* sequence data. *Am. J. Bot.* 84:565–580
- Potter, D., F. Gao, P. E. Bortiri, S. H. Oh, and S. Baggett. 2002. Phylogenetic relationships in Rosaceae inferred from chloroplast *matK* and *trnL-trnF* nucleotide sequence data. *Plant Syst. Evol.* 231:77–89.
- Qiao, Y. C., S. Q. Lin, and C. M. Liu. 2011. SRAP markers in genus *Eriobotrya*. *Acta Hort.* 887:39–42.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Bio. Evol.* 4:406–425.
- Sasaki, S. 1928. List of Plants of Formosa. Nat. Hist. Soc. Formosa Press. Taipei. 562 pp.
- Shih, J. C. 2007. Loquat production in Taiwan. *Acta Hort.* 750:203–208.
- Sitnikova, T., Rzhetsky A., and M. Nei. 1995. Interior-branch and bootstrap tests of phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 12:319–333.
- Soriano, J. M., C. Romero, S. Vilanova, G. Llacer, and M. L. Badenes. 2005. Genetic diversity of loquat germplasm [*Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl] assessed by SSR markers. *Genome* 48:108–114.
- Steele, K. P. and R. Vilgalys. 1994. Phylogenetic analyses of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. *Syst. Bot.* 19:126–142.
- Su, M. H., C. F. Hsieh, and C. H. Tsou. 2009. The confirmation of *Camellia formosensis* (Theaceae) as an independent species based on DNA sequence analyse. *Bot. Stud.* 50:477–485.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24:1596–1599.
- Wendel, J. F. and J. J. Doyle. 1998. Phylogenetic incongruence: Window into genome history and molecular evolution. p.265–296. *in*: *Molecular Systematics of Plants II*. (Soltis, P. E., P. S. Soltis, and J. J. Doyle, eds.) Kluwer Academic Pub. Norwell. 574 pp.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. p.315–322. *in*: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds) Academic Press. San Diego. 482 pp.
- Xie, J. H., X. H. Yang, X. Q. Lin, and W. Wang. 2007. Analysis of genetic relationships among *Eriobotrya* germplasm in China using ISSR markers. *Acta Hort.* 750:203–208.
- Yang, X. H. and S. Q. Lin. 2007. New ideas on the classification of Loquat. *South China Fruits* 36:28–31. (in Chinese with English abstract)
- Yang, X. H., C. M. Liu, and S. Q. Lin. 2007a. The genetic relationship among common loquat, Daduhe loquat and Oak leaf loquat, according to RAPD and AFLP analysis. *Subtropical Plant Sci.* 36:9–12. (in Chinese with English abstract)

- Yang, X. H., C. M. Liu, and S. Q. Lin. 2009a. Genetic relationships in *Eriobotrya* species as revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Sci. Hort.* 122:264–268.
- Yang, X. H., C. M. Liu, J. C. Wu, S. Q. Lin. 2007b. Yunnan *Eriobotrya* resources and their distribution. *J. Fruit Sci.* 24:324–328.
- Yang, X. H., K. Glakpe, S. Q. Lin, Y. L. Hu, Y. H. He, T. C. N. Nguyen, Y. X. Liu, G. B. Hu, and C. M. Liu. 2005. Taxa of plants of genus *Eriobotrya* around the world and native to south-eastern Asia. *J. Fruit Sci.* 22:55–59. (in Chinese with English abstract)
- Yang, X. H., P. Li, C. M. Liu, and S. Q. Lin. 2009b. Genetic diversity in *Eriobotrya* genus and its closely related plant species using RAPD markers. *J. Fruit Sci.* 26:55–59. (in Chinese with English abstract)
- Yang, X. H., P. Li, S. Q. Lin, and X. L. He. 2007c. Complementary description of the botanical morphology of *Eriobotrya*. *J. Fruit Sci.* 24:151–156. (in Chinese with English abstract)
- Yang, X. H., S. Q. Lin, G. B. Hu, P. Li, and S. J. Xu. 2011. Preliminary study on ITS sequencing and characterization of *Eriobotrya*. *Acta Hort.* 887:85–88.
- Ying, S. S. 1985. A Revision of the Family Rosaceae in Taiwan. *J. Exp. Forest Natl. Taiwan Univ. Pub.* No. 160. Taipei. 67 pp. (in Chinese)
- Yu, D. C. 1979. Taxonomy of Fruit Trees of China. Xin Hwa Bookstore Co. Pub. Beijing. 421 pp. (in Chinese)
- Yu, D. C., L. D. Lu, C. Z. Gu, C. L. Li, and S. X. Chen. 1974. *Eriobotrya*. p.260–274. in: *Flora of China*, Vol. 36. (Wu, Z. Y., P. H. Raven, and D. Y. Hong, eds) Science Press. Beijing. 393 pp. (in Chinese)

Phylogenetic and Taxonomic Study of Native *Eriobotrya* in Taiwan¹

Kun-Cheng Chang^{2,3}, Hui-Lung Chiu^{4,6}, Yen-Hsueh Tseng², and Shu-Lin Deng⁵

Abstract

Chang, K. C., H. L. Chiu, Y. H. Tseng, and S. L. Deng. 2012. Phylogenetic and taxonomic study of native *Eriobotrya* in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 61:12–28.

The native *Eriobotrya* plants in Taiwan are the wild relative of loquat crop, and they distribute across the entire island of Taiwan. The taxon of native *Eriobotrya* in Taiwan was treated inconsistently in past decades, either as species, variety, or forma. This study was conducted to reassess the systematic status of native *Eriobotrya* plants in Taiwan by investigations of the internal transcribed spacers (ITS) region sequences of nuclear ribosomal DNA (nrDNA), partly *matK* gene sequences of chloroplast DNA (cpDNA), and morphological features of leaves, inflorescences, and pollens. Results of ITS sequences analysis showed that only 7 variation sites were detected in 593 base pairs (bp) of ITS sequences obtained from the 14 samples of *Eriobotrya* plants collected in Taiwan. In addition, no variation sites were detected in 658 bp of partial *matK* gene sequences. Phylogenetic analysis showed that the native *Eriobotrya* in Taiwan belonged to one monophyletic group which was well separated from other referenced taxa from National Center for Biotechnology Information (NCBI). However, the distinction among three taxa of the native *Eriobotrya* in Taiwan was still unclear. If affirmed by more other nucleotide sequences would support to clarify the taxon under *Eriobotrya deflexa*.

Key words: *Eriobotrya deflexa*, Rosaceae, ITS sequences, *matK* sequences, Phylogeny.

-
1. Contribution No. 2617 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: December 29, 2011.
 2. Ex-graduate Student and Associate Professor, Department of Forestry, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Assistant Professor, Department of Forestry and Natural Resources, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, ROC.
 4. Assistant Researcher, Plant Germplasm Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
 5. Assistant Researcher, Chung Pu Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.
 6. Corresponding author, e-mail: chl@tari.gov.tw; Fax: (04)23331705.