

# 3 台灣產石松科植物之研究

## 石松科之核酸指紋圖譜

中國醫藥學院 中國藥學研究所

研究生 廖江川

### 摘 要

台灣產石松科植物約有廿三種。唯相關之基礎研究並不多，為確定其種原以及促進該科植物藥材資源之開發與利用，乃進行本研究。今採得該科植物十九種及金不換市場品三種，經本草學考察、參考文獻及標本核對，鑑定其學名後，目前獲得如下結論：

#### 1. 其學名列記如下：

- |  |              |
|--|--------------|
| (1) <i>Lycopodium annotinum</i> Linnaeus                                 | 杉葉蔓石松        |
| (2) <i>L. carinatum</i> Desvaux  | 覆葉石松         |
| (3) <i>L. casuarinoides</i> Spring                                       | 木賊葉石松        |
| (4) <i>L. cernuum</i> Linnaeus   | 筋骨草          |
| (5) <i>L. pseudoclavatum</i> Ching                                       | 偽石松          |
| (6) <i>L. japonicum</i> Thunberg ex Murray                               | 日本石松         |
| (7) <i>L. fargesii</i> Herter  | 銳葉石松         |
| (8) <i>L. fordii</i> Baker   | 福氏石松         |
| (9) <i>L. multispicatum</i> Wilce  | 多穗石松         |
| (10) <i>L. yueshanense</i> Kuo<br>( <i>L. wightianum</i> Wallich)        | 玉山地刷子 (偉氏石松) |
| (11) <i>L. obscurum</i> Linnaeus   | 玉柏           |
| (12) <i>L. phlegmaria</i> Linnaeus                                       | 垂枝石松         |
| (13) <i>L. salvinoides</i> (Herter) Tagawa                               | 小垂枝石松        |
| (14) <i>L. squarrosum</i> Forst.   | 杉葉石松         |
| (15) <i>L. taiwanense</i> Kuo  | 台灣石松         |
| (16) <i>L. quasipolytrichoides</i> Hayata                                | 反捲葉石松        |
| (17) <i>L. serratum</i> Thunb. 【 <i>Huperzia serrata</i> (Thunb.) Trev.】 | 千層塔          |
| (a) <i>L. serratum</i> Thunberg var. <i>longipetiolatum</i> Spring       | 長柄千層塔        |
| (b) <i>L. serratum</i> Thunberg var. <i>myriophyllifolium</i> Hayata     | 阿里山千層塔       |
| (18) <i>L. somae</i> Hayata  | 相馬氏石松        |
| (19) <i>L. veitchii</i> D. Christ  | 玉山石松         |

2. 製作檢索表以區別不易辨識或易混淆之本科植物。
3. 配合逢機增幅多型性核酸 (RAPD) 標誌分析, 獲得下列各項研究結果:
  - 使用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09 等八個核酸引子進行 PCR 分析, 結果顯示十六種石松科植物之核酸條帶有其共同性和差異性, 若配合形態標誌, 該核酸指紋圖譜可作為石松科植物鑑定之客觀輔助依據。
  - 就外部形態學而言, 偽石松 (*L. pseudoclavatum* Ching) 和日本石松 (*L. japonicum* Thunb. ex Murray) 不同, 且二者之核酸指紋圖譜 (OPB-15、OPD-08、OPE-08、OPD-15、OPE-12、OPW-09 等六個核酸引子) 亦不同, 其核酸條帶之差異性較大, 可以區別, 因此台灣產石松似應有偽石松和日本石松二種。
  - 就外部形態而言, 多穗石松 (*L. multispicatum* Wilce) 和玉山地刷子 (*L. yueshanense* Kuo) 不同, 且二者之核酸指紋圖譜 (OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPE-08、OPD-15、OPE-12、OPW-09 等七個核酸引子) 亦不同, 其核酸條帶之差異性較大, 可以區別, 因此台灣產地刷子似應有多穗石松和玉山地刷子二種。
  - 台灣產千層塔 (金不換) 之種原複雜, 然經由本研究之結果初次顯示, OPE-12 和 OPD-15 二核酸引子將有助於其篩選與分類鑑定之客觀輔助依據; OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示, 800bp、850bp 為台灣產千層塔 (十個不同採集地點) 之共同條帶, 而 OPD-15 之核酸指紋圖譜顯示, 台灣產千層塔有長柄千層塔、阿里山千層塔兩種, 且長柄千層塔又有 A、B 二族群之別。
  - 由 OPB-15、OPD-08 之核酸指紋圖譜得知, 金不換市場品 1、2 之核酸條帶與台灣產千層塔之核酸條帶差異性較大, 二者似乎為不同種之植物。
  - OPB-08、OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示, 金不換市場品 3 與千層塔 (產於線浸者) 之核酸條帶差異性較大, 二者似為不同之種類。然市場品 1、2、3 之外觀與台灣產長柄千層塔相似。

關鍵詞：石松科、本草學考察、外部形態學、檢索表、聚合 連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 逢機增幅多型性核酸標誌 (random amplified polymorphic DNA, RAPD)

# 台灣產石松科植物之研究

## 石松科之核酸指紋圖譜

中國醫藥學院 中國藥學研究所

研究生 廖江川

### 第一章 緒 言

石松科藥材收載於本草的共有五種，分別為玉柏、石松、過江龍、千層塔、筋骨草<sup>(1)</sup>，自古沿用至今，均指其有疏風勝濕、舒筋活絡、止血、活血之功效。本科植物台灣出產者約有廿三種<sup>(2, 23-26)</sup>。唯相關之基礎研究並不多<sup>(1)</sup>，為確定其種原以及促進該科植物藥材之開發與利用，乃進行本研究。今採得該科植物十九種及金不換（千層塔）市場品三種，擬經本草學考察、參考文獻及標本核對，鑑定其學名後，並試圖藉核酸標誌分析從事下列之研究：

1. 以分子標誌 (molecular markers) 中之 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 探討該科植物之多型性，並提供各個種間、品種間、變種間快速區分之客觀依據。
2. 藉由 RAPD 標誌分析，對台灣產之金不換（千層塔）地刷子和石松分類上的混淆，提供其分類學之輔助依據，期望在這方面的試驗研究，能對石松科植物之分類有所助益。
3. 以 RAPD 作為輔助方法，進行金不換（千層塔）藥材之基原鑑定，核對市場品金不換（千層塔）之原植物。

隨機增幅多型性核酸 (RAPD) 是應用 PCR (polymerase chain reaction) 方法所測得之生物遺傳變異，屬於分子標誌的一種；是研究生物遺傳的有利工具，由於分析方法簡便，廣受學者使用，目前已應用在多種植物與微生物之遺傳和分類的研究上<sup>(3-9)</sup>。本方法若能配合外部形態學、植物解剖學、HPLC、HPLC/MS 等方法，更能精確、有效地鑑定藥用植物之種原及其藥材。中藥材或藥用植物品種之現代鑑定方法有下列三大類：1. 形態標誌：為可直接從外形上辨識之多型性現象、2. 生化標誌：為經由一些生化特性分析所呈現之多型性現象、3. 分子標誌：為在核酸層次上所呈現之多型性現象，而核酸分析為直接分析中藥品種或其來源植物之基因組，亦即是藥用植物或中藥之 DNA 指紋圖譜鑑定，其具有高度之特異性，每個個體或種屬之間（動、植物）之 DNA 指紋圖譜都不一樣，遵循孟德爾遺傳方式並具有體細胞穩定性，為目前最先進之遺傳標誌系統。

## 第二章 總 論

### 第一節 石松科之本草文獻概述

#### 一、概 論

石松科植物收載於本草的共有五種，計有：玉伯著錄於別錄，以下諸家本草均有記載，至綱目改稱玉柏，後世沿用至今，圖考則稱為萬年松；石松始著錄於拾遺，至大觀以降正統本草皆有記載；過江龍著錄於滇南本草，今稱為多穗石松 (*Lycopodium. multispicatum* Wilce) 或偉氏石松 (*L. wightanum* Wallich); 千層塔(金不換); 筋骨草二者則著錄於圖考。此五種藥材沿用至今，均指其有疏風勝濕、疏筋活絡、止血、活血之功效<sup>(10-21)</sup>。

玉伯生於石上，為多年生草本，似石松而較小，其葉似柏葉，故又名萬年松、千年柏，但別錄所載之玉伯有紫花，當與後世所用之玉伯不同。並參考圖考之藥圖，由其習性、葉之形態，可推定後世所用之玉伯為石松科 (*Lycopodiaceae*) 玉柏 (*L. obscurum* L.) 無疑。玉柏性溫，味酸，用莖葉或根莖浸酒、或不浸酒，用於輕身益氣、止渴、祛風邪、除風搔。本植物亦產於台灣之中高海拔玉山箭竹林下。

石松生於石上，外形如松，高約1~2尺，莖伸長，可達丈餘，外形與玉柏相似，但較大，莖上細葉，如毛刺狀，全株呈綠色。從石松之生長習性，莖葉之形態，可推定為石松科之偽石松 (*L. pseudoclavatum* Ching) 或日本石松 (*L. japonicum* Thunb. ex Murray) 無疑。石松性溫，味苦辛，無毒或有小毒。用於祛風散寒，除濕消腫，疏筋活血。治風寒濕痺，關節酸痛，皮膚麻木，四肢軟弱，水腫，跌打損傷。配伍檳榔效果更好。

過江龍收載於滇南本草，正統本草未收載，別名舒筋草、舖地虎、地蜈蚣。據雲南省衛生廳調查，推定為石松科之多穗石松或偉氏石松(亦稱玉山地刷子)。據現代文獻及醫藥文獻，地刷子(多穗石松)生於山地，分布於中國大部份地區，台灣亦有出產，其味辛、性溫，能疏風勝濕、舒筋活絡，散瘀。

千層塔(台灣俗稱金不換)始著錄於圖考，從其文及附圖，依據近代文獻均指為石松科之千層塔(*L. serratum* Thunb.), 台灣出產二變種，海拔600至2600m山區之林下可見。本品性平，味辛，有毒，外用，可煎洗腫毒、跌打及鼻孔作癢。

筋骨草著錄於圖考，滇南本草稱之為鳳尾草。從圖考之文及附圖，依近代

文獻指為石松科之筋骨草（別名垂穗石松）（*L. cernuum* L.），因其效用故又名小伸筋，滇南亦稱之為過山龍。滇南本草所收載之鳳尾草，據雲南省衛生廳調查，推定即為筋骨草。本品味辛、無毒。能調合筋骨，主治跌打損傷、筋斷骨碎、脫肛、潰瘡，外用煎洗，可預防瘡毒、濕癢（兒童），而伸筋草之原植物為石松（*L. japonicum* Thunb.）、華中石松（*L. centrochinense* Ching）、垂穗石松（*L. cernuum* L.）<sup>(21)</sup>。

其他未收載於正統本草，然見於相關文獻者有：覆葉石松、福氏石松、垂枝石松、台灣石松、玉山石松、木賊葉石松、杉葉蔓石松，其學名、性味、功能、主治等述如下：

覆葉石松別名龍骨馬尾杉，收載於新華本草綱要，其學名為 *L. carinatum* Desvauz。味微苦，性溫，小毒。全草祛風除濕，舒筋活絡，消腫止痛（詳見中國藥用孢子植物）。

銳葉石松別名金絲條馬尾杉，收載於廣西本草選編，其學名為 *L. fargesii* Herter。全草味淡，性平，有毒。舒筋活絡，祛風除濕。主治風濕關節痛，跌打扭傷，肥大性脊柱炎，類風濕性關節炎，坐骨神經痛<sup>(21)</sup>。

福氏石松別名華南馬尾杉，收載於新華本草綱要、廣西藥用植物名錄、峨眉藥用植物誌，其學名為 *L. fordii* Baker。全草味苦，性涼。祛風通絡，消腫止痛，清熱解毒。主治關節腫痛，四肢麻木，跌打損傷，咳喘，熱淋，毒蛇咬傷<sup>(21)</sup>。本植物較常見於台灣山區。

垂枝石松別名馬尾杉，收載於新華本草綱要、廣西藥用植物名錄、雲南中草藥，其學名為 *L. phlegmaria* L.。全草味淡，性涼，小毒。祛風除濕，清熱解毒。主治風濕痺痛，跌打損傷，發熱咽痛，水腫和蕁麻疹<sup>(21)</sup>。

台灣石松別名美麗馬尾杉，收載於天目山藥用植物誌、全國中草藥匯編、中國藥用孢子植物，其學名為 *L. taiwanense* Kuo（*L. pulcherrimum* Wall.）。全草味辛，性溫。可活絡祛瘀，透疹解毒。主治跌打損傷，無名腫毒，麻疹不透<sup>(21)</sup>。

玉山石松別名矮小石松，收載於新華本草綱要，其學名為 *L. veitchii* Christ。全草味苦、辛，性溫。可祛風除濕，通筋活絡，消腫止痛。主治風濕腰腿痛，關節疼痛，跌打損傷，刀傷，火燙傷<sup>(21)</sup>。本植物亦分布於台灣海拔 2500 公尺以上之山區。

木賊葉石松別名石子藤、藤石松，收載於四川中藥誌、湖南藥物誌、浙江藥用植物誌、福建藥物誌，其學名為 *L. casuarinoides* Spring。全草味微甘，性平。可祛風除濕，舒筋活血，明目，解毒。主治風濕痺痛，腰肌勞損，跌打損傷，月經不調，盜汗，結膜炎，夜盲症，水火燙傷，瘡瘍腫毒<sup>(21)</sup>。本植物亦分布於台灣中海拔山區之常綠闊葉林或灌木林中。

杉葉蔓石松別名單穗石松，收載於長白山植物藥誌，其學名為 *L. annotinum* L.。全草味苦、辛，性平。可祛風除濕，舒筋活血。主治風濕痺痛，肢體麻木，月經不調，跌打損傷<sup>(21)</sup>。台灣中海拔森林內可見。

## 二、台灣產石松科植物（玉伯、石松、過江龍、千層塔、筋骨草）之本

## 草系統圖：

依歷代諸家本草之著錄，將玉伯、石松、過江龍、千層塔（金不換）、筋骨草之本草系統圖整理如下：

名醫別錄—玉伯（玉逐）

玉 石  
伯 松

本草經集注

（唐）新修本草

玉伯—本草拾遺

本草拾遺—石松

（宋）開寶本草

—

嘉祐本草

經史證類大觀本草—玉伯、石松

（元）重修政和本草

：

：

：

【滇南本草-鳳尾草、過江龍、  
過山龍（穿山藤）】

：

：

本草品彙精要—玉伯、石松

：

玉柏、石松—本草綱目（明）：

：

：

（清）植物名實圖考長編—石松

植物名實圖考 —萬年松、千層塔、筋骨草

圖 1 台灣產石松科植物之本草系統圖

## 第二節 台灣產石松科之藥用植物文獻概述

台灣產石松科植物，依據植物學、藥用植物學文獻<sup>(2, 22-34)</sup>考察，約有 23 種。依據台灣植物誌 第一卷 (1993) 台灣產石松科有 1 屬 20 種，而台灣維管束植物簡誌 第一卷 (2000)，稱本科有 3 屬 23 種，二者對於石松科有幾個屬之說法不一，目前難以定論。關於台灣產石松科植物之分類，本研究暫時以台灣植物誌 第一卷 (1979) 之說法為依據，亦即是本科植物有 1 屬 (石松屬) 23 種。

### 一、台灣產石松科植物之共同特徵

依據文獻<sup>(2, 23, 24)</sup>，台灣產石松科植物之共同特徵為：懸垂性、附生或地生性。植株具地上或地下之根莖。雙叉分歧，無主軸或有主軸和側枝區別。葉小，僅具單脈，螺旋狀排列，呈四列或多列，輪生或十字對生。孢子葉和營養葉混生 (孢子葉和營養相似)，孢子葉生於枝條末端，形成孢子葉球 (strobile) 或稱為孢子葉穗 (sporophyll spike)。

### 二、台灣產石松科植物名錄

依據文獻<sup>(2)(23, 24, 26)</sup>，台灣產石松科植物有下列 23 種：

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. <i>Lycopodium annotinum</i> Linnaeus                                 | 杉葉蔓石松        |
| 2. <i>L. carinatum</i> Desvaux  | 覆葉石松         |
| 3. <i>L. casuarinoides</i> Spring                                       | 木賊葉石松        |
| 4. <i>L. cryptomerianum</i> Maxim.                                      | 柳杉葉蔓石松       |
| 5. <i>L. cunninghamioides</i> Hayata                                    | 寬葉石松         |
| 6. <i>L. cernuum</i> Linnaeus   | 筋骨草          |
| 7. <i>L. pseudoclavatum</i> Ching                                       | 偽石松          |
| 8. <i>L. japonicum</i> Thunberg ex Murray                               | 日本石松         |
| 9. <i>L. fargesii</i> Herter  | 銳葉石松         |
| 10. <i>L. fordii</i> Baker  | 福氏石松         |
| 11. <i>L. multispicatum</i> Wilce                                       | 多穗石松         |
| 12. <i>L. yueshanense</i> Kuo   | 玉山地刷子 (偉氏石松) |
| ( <i>L. wightianum</i> Wallich)   |              |
| 13. <i>L. obscurum</i> Linnaeus   | 玉柏           |
| 14. <i>L. phlegmaria</i> Linnaeus                                       | 垂枝石松         |
| 15. <i>L. salvinoides</i> (Herter) Tagawa                               | 小垂枝石松        |
| 16. <i>L. sieboldii</i> Miq.  | 鱗葉石松         |
| 17. <i>L. squarrosum</i> Forst.   | 杉葉石松         |
| 18. <i>L. taiwanense</i> Kuo ( <i>L. pulcherrimum</i> Wall.)            | 台灣石松         |
| 19. <i>L. quasipolytrichoides</i> Hayata                                | 反捲葉石松        |
| 【 <i>Huperzia quasipolytrichoides</i> (Hayata) Ching】                   |              |
| 20. <i>L. appressum</i> (Desv.) V.Petr.                                 | 小杉葉石松        |
| 【 <i>H. selago</i> (L.) Bernh. var. <i>appressum</i> (Desv.) Ching】     |              |
| 21. <i>L. serratum</i> Thunb. 【 <i>Huperzia serrata</i> (Thunb.) Trev.】 | 千層塔          |
| (a) <i>L. serratum</i> Thunb. var. <i>longipetiolatum</i> Spring        | 長柄千層塔        |
| (b) <i>L. serratum</i> Thunb. var. <i>myriophyllifolium</i> Hayata      | 阿里山千層塔       |
| 22. <i>L. somae</i> Hayata  | 相馬氏石松        |
| 23. <i>L. veitchii</i> D. Christ  | 玉山石松         |

### 三、台灣產石松科植物之形態與分布<sup>(2, 20-34)</sup>



1. *Lycopodium annotinum* Linn. 杉葉蔓石松

形態：為地生、蔓延性草本，植株強韌，不易折斷。主莖蔓生於地表，側生小枝多數、直立。高約 35cm，叢生，二~七回雙叉分岐，走莖長約 80 cm 或更長，走莖間隔長約 7cm，直徑約 3cm。營養葉螺旋狀排列，形似杉木，線狀披針形，長約 7mm，寬約 1mm，革質，綠色，平伸或反折向下，先端漸尖，基部略狹，會刺手，中肋不明顯，細鋸齒緣。孢子囊穗單生於小枝頂端，長約 2.5~4.8cm，直徑 3~6mm，無柄。孢子葉線狀披針形，長 3~4mm，寬 1.5~2 mm，膜質，葉尖尾狀，葉緣呈不規則鋸齒狀。孢子囊生於孢子葉腋，腎形，黃色；孢子四面體形。常見於多雲霧之玉山圓柏、台灣冷杉樹下矮小玉山箭竹林內，周圍伴生杜鵑、一枝黃花、石松、玉柏、高山白珠樹等植物，拓植力低，為稀有植物<sup>(2、21、23、24、28)</sup>。(見彩圖 9)

分布：北半球溫帶，本省中央山脈之中海拔森林內。

2. *L. carinatum* Desvaux 覆葉石松

*Phlegmariurus carinatum* (Desv.) Ching<sup>(21)</sup>

形態：附生，叢狀，幼莖直立，老莖懸垂，四~七回雙叉分岐，長 40~70cm 直徑 3~5mm。根系發達，莖白色、肉質、脆、易折斷。葉片革質，深綠色（新葉淡綠色），輪生，每輪三枚，密覆莖上，輪距約 3.6cm，披針形，長 5~10mm，寬約 2.5mm，幾無柄，先端漸尖，略內彎，全緣，扁平，中肋不明顯。孢子葉與營養葉同形，唯稍小且較柔軟，長約 5mm，寬約 2mm，先端漸尖，基部寬楔形，稍貼生，寬度大於營養葉。孢子囊穗細長，直徑約 2.5mm，孢子囊出現於第二或第三雙叉分岐之中段，著生於孢子葉腋，腎形，淡黃色，長 2mm，寬 1mm。常附生於林下樹幹下<sup>(2、21、23、24、29)</sup>。(見彩圖 3)

分布：亞洲熱帶地區，海南島、琉球和大洋洲群島。本省台東以南之低海拔山區，如太麻里、金針山、屏東等地。

3. *L. casuarinoides* Spring 木賊葉石松

*Lycopodiastrium casuarinoides* (Spring) Holub.<sup>(21)</sup>

別名：石子藤、藤石松

形態：多年生攀緣性藤本，長達丈餘，直徑 2~2.8cm，木質化，淡綠色至黃色，葉似木賊葉木麻黃，根及氣生莖背鱗片、小而散生。營養枝條直徑約 4mm；孢子枝條直徑約 1mm；末端營養枝條長 5~10cm，枝條繁多，多回雙分岐，末回小枝細，扁平狀下垂；末端孢子枝條長 15~20cm，呈長而亞平行排列，自營養葉基部下側密鱗片狀葉芽抽出，多回雙叉分岐，末回枝頂端具孢子葉穗一枚。營養葉三列，革

質，長約 4mm，寬約 0.5~1mm，稀疏，鈷形，二列較大，緊密交互並行，另一列較小，伏生於小枝另一面中央，刺狀，先端具長芒，約 1.5mm。孢子葉寬卵形，長 2.5~3mm，寬約 1.5mm，先端漸尖，葉緣反捲。孢子囊穗（孢子葉穗），圓柱形，長約 2cm，寬約 2.5mm，下垂，黃色至褐色，大多具柄，長約 1cm。孢子囊生於孢子葉腋，腎形，寬約 1.5mm，長約 1mm，厚約 0.5mm，黃色<sup>(2, 20-27)</sup>。孢子成熟期九月。常見於常綠闊葉林或灌木林中。（見彩圖 20）

分布：熱帶亞洲及日本南部，本省北部及中部之中海拔山區。

#### 4. *L. cernuum* L. 垂穗石松

*Palhinhaea cernuum* (L.) Franco et Vasc.<sup>(21)</sup>

別名：筋骨草

形態：地生，主莖粗而直立，多回不等雙叉分岐，高達 40cm，直徑約 2mm，草質，長於叢林或草原內者甚多分枝，長於暴露之山區者呈匍匐狀。孢子葉集生於枝條末端（頂生），形成孢子囊穗，長 3~12mm，寬 1.5~3mm，成熟時下垂，枝條末端彎曲向下。葉細針狀，密生，螺旋狀排列，條狀鈷形，長 2~4mm，寬 0.2~0.5mm，基部下延貼生於小枝上，先端略向上內彎，頂端刺芒狀，全緣，質薄而軟。孢子葉長 2~5mm，寬 0.5~0.7mm，線形，淺黃色，葉片基部呈寬卵狀，錐形，全緣，葉緣被纖毛，先端尾狀。孢子囊生於孢子葉腋，圓腎形，淺黃色，直徑 0.4mm<sup>(2, 20-29)</sup>。（見彩圖 17）

分布：熱帶和亞熱帶地區，全省低海拔山區之暴露草原或灌木林中。

#### 5. *L. crytomerianum* Maxim. 柳杉葉蔓石松

形態：多年生常綠色植物，附生，懸垂，莖單一至三回雙叉分岐，長約 15~30cm，直徑 2~3mm。營養葉螺旋狀排列，密生莖上，長 12~18mm，寬 15~12mm，闊線形至線狀披針形，先端漸尖，基部有關節連接莖上，全緣，葉尖朝外，略捲，有光澤，中肋明顯。孢子葉與營養葉同形，但略小，著生於枝梢，不呈明顯之孢子葉穗。孢子囊生於末端之孢子葉腋，腎形，淡黃色，橫列<sup>(2, 23, 24)</sup>。常附生於林緣樹幹上或老樹桠間，其上著生蘚苔類植物，唯數量不多。

分布：韓國、日本、琉球。本省北部之中海拔山區。

#### 6. *L. cunninghamioides* Hayata 寬葉石松

形態：附生，莖叢生，枝條下垂，長約 60~75cm，直徑 7~8mm（含葉可達 2.5~3mm），通常一回或二回雙叉分岐，頂端漸窄。營養葉披針形，長約 12mm，寬約 2mm，全緣，先端漸尖，基部葉片貼伏莖軸，中段以上葉片朝外展開約呈 45 度。孢子葉與營養葉同形，但較小，且近枝

梢漸小，葉尖尾狀，葉基較寬。孢子囊腎形，生於孢子葉腋，淡黃，孢子囊穗不明顯<sup>(2、21、23、24)</sup>。為台灣特有植物，數量稀少。

分布：本省中海拔山區。

#### 7. *L. fargesii* Herter 銳葉石松

*Phlegmariurus fargesii* (Herter) Ching<sup>(21)</sup>

別名：金絲條馬尾杉

形態：附生植物，莖柔軟下垂，二-七回雙叉分岐，長 30~60cm，直徑 2~4mm，青翠細長，近根部密生交錯之灰白色綿毛，外觀似馬尾。葉小，軟而厚，略具蠟質亮光，側面微呈弓形（葉尖朝向中軸），孢子葉明顯小於營養葉。營養葉線狀披針形，長 2~4mm，寬約 0.8mm，先端漸尖，略內彎，全緣，基部鈍狀龍骨形，有關節連於莖上，螺旋狀密生，中肋不明顯；孢子葉倒卵形或菱狀卵形，長約 2mm，寬約 1mm，先端突尖，基部寬楔形，背部中肋隆起。孢子囊生於孢子葉腋，腎狀球形，黃色，有短柄，約為孢子葉長之 1/2，孢子葉球不很明顯<sup>(2、21、23-26)</sup>，常見於懸崖絕壁或生有苔蘚之古老樹幹上。

（見彩圖 1）

分布：中國大陸、琉球和菲律賓，本省中海拔山區。

#### 8. *L. fordii* Baker 福氏石松

*Phlegmariurus fordii* (Baker) Ching<sup>(21)</sup>

別名：華南馬尾杉

形態：附生，莖二-六回雙叉分岐，幼時直立，後漸懸垂，長 20~40cm，直徑 1~3mm。葉革質，螺旋狀排列，基部扭曲、呈二列狀。營養葉橢圓形至披針形，長 1~1.5cm，寬 2~5mm，中肋明顯，先端漸尖，基部圓楔形，全緣，無柄，微向外展開，枝梢葉漸小。孢子葉明顯小於營養葉，長 4~6mm，寬約 1.5mm，先端漸尖，基部楔形，全緣。孢子葉穗頂生，有時分叉，長 5~25cm，直徑 2~8mm。孢子囊生於孢子葉腋，圓腎形，淺黃色<sup>(2、21-24)</sup>。常附生在樹幹或崖壁上，目前數量逐漸減少。（見彩圖 8）

分布：中國大陸、印度、琉球和日本，本省於中低海拔原始林內。

#### 9. *L. japonicum* Thunb. ex Murray 日本石松

形態：以前將本種和偽石松視為 *L. clavatum* L.，其實它們和林奈所指之 *L. clavatum* L. 不同。其差別主要在於本種主要分佈在森林中，其小葉較密，孢子囊穗較小，而偽石松主要分佈在箭竹林下，其小葉較疏鬆，孢子囊穗較大，且有分枝<sup>(2、21、23、24)</sup>。常見於中高海拔開闊地之岩屑地草本植物區、矮短型玉山箭竹高地草原叢中<sup>(28)</sup>。

(見彩圖 21)

分布：溫帶和熱帶高山，在台灣可見於中高海拔開闊地。

10. *L. obscurum* L. 玉柏

*L. juniperoideum* Swart

別名：樹狀石松

形態：多年生草本，地生，根莖細弱，蔓生。地上莖直立，高 10~25cm。上部分枝多回羽狀分叉，呈扇形向兩側開展（樹冠狀），綠色，被細毛，直徑約 1.5~2mm，基部木質化。葉革質，螺旋狀排列，較稠密，線狀披針形，長 3~5mm，寬約 0.5mm，尖頭，全緣，葉脈不明顯，基部貼生於枝上。孢子葉穗一個或多個，圓柱形，長 5~8cm，直徑 3~4mm，單生於小枝頂端，無柄。孢子葉闊卵形，長約 4mm，寬約 2mm，先端狹尖形，葉緣近全緣或略具不規則鈍齒，膜質，葉片多排，呈覆瓦狀排列。孢子囊生於孢子葉腋，圓腎形，黃綠色，長、寬各 1mm，厚約 0.8mm。常見於中海拔山區岩屑地草本植物區、**短矮型玉山箭竹高地草原叢中**<sup>(21、23、24、28)</sup>。（見彩圖 12）

分布：北半球之溫帶和熱帶山區、或草原地帶。本省中高海拔山區。

11. *L. multispicatum* J. Wilce 多穗石松

別名：地刷子

形態：為多生草本，地生，主莖長達 1m，匍匐、蔓生於地表，被有線狀披針形鱗片。營養枝側生、直立，高 10~30cm，綠色，直徑約 2mm，多回雙叉分枝，基部圓形，末梢枝條（小枝）呈扁平狀，亦被有與匍匐莖相似之鱗片。營養葉著生於末回小枝上，有兩型，十字對生，四行排列，背腹二列葉較小，線狀披針形；側生兩列葉較大，三角形，具尾狀尖，長約 1~3mm，寬約 0.7mm，基部貼生於枝上，先端尖銳略內彎，無長芒，全緣，革質。孢子葉闊三角形，長約 2~2.5mm，寬約 1.5mm，先端尾狀，全緣，但略呈波狀皺曲，膜質。孢子葉密生於孢子枝末端，形成孢子葉穗，穗長 1.5~3cm，直徑 2~4mm。孢子枝通常自第二或第三回分叉之側生營養枝抽出，高約 2cm，比營養枝長很多。孢子囊穗圓柱形，3~6 枚，生於孢子枝之頂端，長約 2cm，寬約 3mm。孢子囊生於孢子葉腋，圓腎形，黃色，長、寬各 0.5mm，厚約 0.2mm；孢子四面體、球形。過去將本種和玉山地刷子視為 *L. complanatum* L. 但此二者和林奈所指之 *L. complanatum* L. 不同。本種特徵：植株懸垂，小葉三形，扁平枝腹背兩面小葉不同，根莖在地表之上，分枝稀少<sup>(23)</sup>。（見彩圖 10）

分布：菲律賓、中國西南、越南等地，台灣之中海拔山區。

12. *L. phlegmaria* L. 垂枝石松

*Phlegmariurus phlegmaria* (L.) Holub. <sup>(21)</sup>

別名：馬尾杉

形態：大型附生、蕨類，植株有營養葉、孢子葉之別，莖二至八回雙叉分岐，枝條細長下垂，長 40~90cm，直徑 2~5mm，枝綠色至淺褐、有溝。營養葉近革質，螺旋狀排列，6~8 行，有短柄（長 0.1cm），三角形至披針形，長 8~1.5mm，寬 4~6mm，主脈明顯，先端短尖，基部平，全緣，微波狀，扁平。孢子葉（卵狀）三角形，長約 2mm，寬約 1mm，無柄，先端漸尖，基部圓形或楔形，全緣，綠色，革質，疏生或密集枝梢，形成孢子葉毬（孢子囊穗），通常多回雙叉分岐，末回分枝纖細，長 10~40cm，直徑約 2mm。孢子囊圓形，黃色。南北兩端低海拔山區之樹幹或岩石亦可見。近年來，由於廣受喜愛而濫採，數量銳減，有瀕危滅種之虞，宜加強保育<sup>(23、24)</sup>。

（見彩圖 18）

分布：舊世界熱帶地區，台灣中低海拔之原始森林內。

13. *L. pseudoclavatum* Ching 偽石松

形態：地生，主莖匍匐狀，長 2~3mm，蔓生於地表，到處生根，側枝直立、極多，高 15cm，直徑約 6mm，多回雙叉分岐。葉密生，葉片長 0.4~0.6cm，寬 0.5~0.7mm，螺旋狀排列，線狀披針形，全緣葉，葉尖細長如長毛狀。孢子葉毬圓柱形、3~6 個、聚生，長 3~5cm、寬 0.5cm，具柄，柄上通常有 3 列苞片、黃色，線狀錐形，螺旋狀排列；孢子葉菱狀卵形，黃色，長約 2mm，寬約 0.5mm，基部闊卵形，頂端漸尖形，葉緣薄、呈不規則齒形，膜質。孢子囊生於孢子葉腋，腎形，黃色，長約 0.8mm，寬約 1.5mm，厚約 0.5mm。孢子期 7~10 月<sup>(23)</sup>。

常見於中海拔山區森林邊緣之峭壁、坡地、路旁和箭竹林下。

（見彩圖 22）

分布：溫帶地區和熱帶山區，本省大屯山和中央山脈。

14. *L. quasipolytrioides* Hayata 反捲葉石松

*L. reflexo-integrum* Hayata <sup>(21)</sup>

*Huperzia quasipolytrioides* (Hay.) Ching <sup>(21)</sup>

形態：多年生、叢生草本，地生，主根多莖下部橫臥或斜上，上部直立，二至多回雙叉分岐，無主軸和側枝之區別，植株呈節狀緊縮，高 10~20cm，直徑 1.8mm，莖脆易斷。葉有長短二型，互生，長葉長約 5mm、寬近 1 mm 短葉長 2mm、寬 0.5mm，中肋不明顯（似有葉脈三條），無葉柄，光滑、淺綠色，線狀披針形，先端漸尖，全緣，長葉短葉交錯密生，先端向葉基部反捲，呈鐮刀形（葉片明顯向

下反折)，具頂生芽數十枚，新生莖具孢子囊。孢子葉與營養葉同型，不形成明顯孢子葉毬（孢子囊穗），孢子囊穗著生於孢子葉腋，較孢子葉寬，闊腎形，淡黃色<sup>(2, 23, 24, 29)</sup>，成熟後橫裂。喜生於岩石上，其上滿布苔蘚植物，成小族群散生，數量小。（見彩圖 15）  
分布：於琉球、台灣，本省中海拔山區原始森林內。

15. *L. salvinoides* (Hert.) Tagawa 小垂枝石松  
形態：外觀特徵似垂枝石松，唯較小型。附生植物，莖二至六回雙叉分岐，懸垂，黑褐色，長 25~60cm，直徑 0.5~1mm，營養葉通常三枚，輪生，光滑，淺綠色，卵形至闊卵形，全緣，中肋明顯，有短柄（1mm），先端漸尖，基部圓，長 5~8mm，寬 3~5mm。孢子葉較小，幾乎覆蓋莖上，三枚輪生，卵形，長約 2mm，寬約 1mm，無柄，密生枝梢，形成孢子葉毬，毬長可達 15cm（通常二至多回雙叉分岐），毬徑 0.5~1mm。孢子囊生於葉腋，黃色。產量日趨減少，為稀有、瀕危滅絕之植物，宜加強保育<sup>(23, 24)</sup>。（見彩圖 19）  
分布：菲律賓、琉球，本省中南部低海拔之原始林內，如屏東之南仁山、台東鬼湖等地。

16. *L. selago* L. var. *arressum* Desv. 小杉葉石松  
*Huperzia selago* (L.) Bernh. var. *appressum* (Desv.) Ching<sup>(2)</sup>  
別名：內曲葉石松  
形態：為典型高山植物，地生之小形蕨類，植株直立或斜上，主莖單一或二回雙叉分岐，高 5~10cm，無主軸、側枝之別。葉片黃綠色，寬鑿形，長 3~6mm，葉尖向上、向內微捲，尾尖細，全緣。孢子葉多集生枝梢，與營養葉相似，不形成明顯孢子葉毬。鑑別容易。為玉山圓柏灌叢下之伴生植物，略耐蔭，需保濕，拓植力不強，數量稀少，亟待保育<sup>(28)</sup>。  
分布：亞洲北部溫帶區域和熱帶高海拔地區，本省中海拔山區，如雪霸、玉山、東能高山、南湖圈谷等地。

17-1. *L. serratum* Thunb. var. *longipetiolatum* Spring 長柄千層塔<sup>(2, 29)</sup>  
形態：為多年生草本，叢生，高 15-25cm，鬚根較不發達。莖直立或下部平臥，一-六回雙叉分岐，直徑約 2mm，具生殖芽、頂生、3-5 枚，落地成新苗，留下芽痕。葉四列，輪生，長短不一，每節節距 2cm（幼株外觀不呈塔形，成株略呈塔形），葉片近紙質、淺綠至深綠色，披針形，具柄（長 2~4mm），長 1.8cm、寬 0.5cm，主脈 1 條、明顯，邊緣鈍鋸齒、微波形，先端銳形，基部漸尖形。小孢子葉生於孢

子囊間，線形，長 2mm，寬 1mm。營養葉和孢子葉同形。孢子囊腎形、單一，每一大節約有 30 粒，橫生於孢子葉之基部，兩端超出葉緣，初生時黃綠色，成熟時黃褐色，光滑，長 1mm、寬 1.8mm，橫裂，孢子同形，孢子期 6-10 月<sup>(12, 21, 23)</sup>。其棲息地常見之植物有石上柏、金線連、合歡山斑葉蘭、芒草、蕨類（樓梯草）伸筋草、偽石松、地刷子（多穗石松）台灣天仙果、杜鵑等。另有一種長柄千層塔，其外觀酷似本種，唯其成株、幼株均高大壯碩，鬚根發達，幼株與成株外觀均明顯呈塔狀，葉片近革質、較厚、較長、較寬，葉緣鈍鋸齒、明顯微波狀。（見彩圖 5 和 7）

分布：中國、印度、中南半島、尼泊爾、喜馬拉雅山、庫頁島、日本、菲律賓群島。本省海拔 600-2500m 之原始森林內，尤其是福杉、柳杉林下，亦見於闊葉林內之腐植土地表，如線浸、卓社、藤枝、阿里山、鹿林山、杉林溪、凌霄殿、向天湖、大雪山、武界、奮起湖、高峰、高台山、觀霧、榛山、司馬庫斯、馬達拉溪登山口等地。

17-2. *L. serratum* Thunb. var. *myriophyllifolium* Hayata 阿里山千層塔  
形態：地生，根系不發達，莖直立，基部微橫臥，二至多回雙叉分岐，高 10~25cm，直徑 2mm，莖上具線紋，上部深綠色。營養葉長 0.6~2cm，寬 1~5mm，狹長橢圓形，先端漸尖形，鋸齒緣，齒片不整齊銳尖形，無柄，質極薄，易脫落。孢子葉與營養葉同形，葉基部稍寬大，著生於枝梢，但不形成明顯之孢子葉毬。孢子囊橫生於孢子葉腋，腎形，無柄，淡黃色，橫裂<sup>(2, 23, 24)</sup>。（見彩圖 6）

分布：中國、韓國、琉球、印度和馬來西亞，本省中央山脈，數量不多。

18. *L. sieboldii* Miq. 鱗葉石松

*Phlegmariurus sieboldii* (Miq.) Ching<sup>(21)</sup>

別名：繩索馬尾杉

形態：附生，莖長 30~50cm，直徑約 1.5mm，懸垂，多回雙叉分岐。營養葉細小，長約 1.5mm，橢圓形，扁平，先端銳尖形，覆瓦狀密生，伏臥莖軸，向上或向外展開。孢子葉與營養葉等長，但較寬。孢子葉毬不明顯<sup>(2, 21, 23, 24)</sup>。常見於森林樹幹上。

分布：中國大陸、日本和琉球，本省北部低海拔山區。

19. *L. somae* Hayata 相馬氏石松

形態：為地生性、多年生草本，植株柔軟，莖直立，高 4~8cm，基部略橫生，通常一回或二回分岐，偶爾多回雙叉分岐，無主軸、側枝之別。營養葉開展，多少朝外反折（基部小葉），線狀披針形，長 2~3.5mm，寬 1mm，全緣，葉尖漸尖形。孢子葉與營養相似，但較小。孢子囊穗不明顯，孢子囊著生於孢子葉腋，較孢子葉寬，腎形，淡黃色，橫裂<sup>(2, 23, 24)</sup>。常見於潮濕岩壁、流水之坡地和地上，有青苔、芒草、偽石松、繁縷伴生。（見彩圖 16）

分布：日本、菲律賓，本省中、高海拔暴露山區。

20. *L. squarrosum* Forst. 杉葉石松

形態：附生，莖叢生，枝下垂，莖基部單一，常在梢處二至五回雙叉分岐，長 25~90cm，直徑 1~5mm，新生莖葉外觀似杉木。營養葉叢生，每輪 8 枚，線狀披針形，綠色、光滑、革質，中肋可見，葉緣完整，無柄，先端漸尖，長 1.2~1.8cm（含葉鞘約 2cm），寬 1~2mm、基部小葉明顯向莖軸伏曲，中段小葉則朝外水平展開。孢子葉與營養葉極為相似，唯較小（長 1.1~1.7cm、寬約 1mm），且生於枝梢，孢子體長約 18cm。孢子囊腋生，初呈綠色，熟時淡黃色，多數，腎形<sup>(2, 23, 24)</sup>。為稀有、瀕危絕種之植物。（見彩圖 2）

分布：亞洲熱帶地區、大洋洲群島及非洲，本省中海拔林下。

21. *L. taiwanense* Kuo 台灣石松

*Phlegmariurus pulcherrimus* (Wall.) Love et Love<sup>(21)</sup>

形態：為多年生常綠、附生草本。莖稍粗壯，黃褐色，高約 25cm，寬 1~4mm，自基部六回雙叉分岐，植株似灌木狀叢生、下垂。營養葉螺旋狀密生於莖上，線狀披針形，灰綠色，長 1~1.5cm，寬約 1mm，先端漸尖，基部幾無柄，有長絨毛，於成熟植株上略開展，不反捲。孢子葉與營養葉相似，大小亦相近，集生於枝梢，但不形成明顯之孢子葉球。孢子囊生於枝端之孢子葉腋，腎形，淡黃色，成熟時橫裂。喜生於林下陰濕之岩石或泥土上。本種和線葉蔓石松 *L. pulcherrimus* Wall. 不同，後者是喜馬拉雅山區之種類，其小葉較長，孢子葉和營養葉等大<sup>(23, 24)</sup>。（見彩圖 14）

分布：印度、尼泊爾和琉球，本省中、高海拔山區。



22. *L. veitchii* D. Christ 玉山石松

別名：矮小石松<sup>(21)</sup>

形態：多年生、地生性草本，主莖長約 40cm，匍匐，蔓生於地表，有時變為地下莖。側枝直立，高 4~8cm，圓筒形，常多回二叉分岐，小枝略呈扁壓狀。葉紙質，螺旋狀排列，斜展，線狀披針形，長 3~4 mm，寬 0.6~1mm，基部附生於莖上，先端漸尖，全緣。孢子囊穗圓柱形，長 2~3cm，頂生於孢子枝，多為 1~2 個，具柄，柄長 2~8cm，柄上有葉、疏生、輪生或螺旋狀排列；孢子葉卵形，長約 4mm，寬約 2mm，先端尖銳，葉緣薄，波狀，膜質。孢子囊生於孢子葉腋，圓腎形，黃色。4-5 月可見去年黃化之莖葉脫落，再萌新莖葉。7 月底孢子囊穗生長，8~9 月成熟，10 月孢粉隨風飄灑。為台灣高山極少數可抗乾旱之低矮伏地蕨類，具走莖長不定根，由是而移動、更新。為高山植物之伴生種，其生育環境由岩屑地草本植物區、矮盤灌叢間隙以迄玉山箭竹高地草原叢（矮短型）<sup>(28)</sup>。（見彩圖 13）

分布：中國西部、緬甸和台灣高海拔（2500m 以上）地區。

23. *L. yueshanense* Kuo 玉山地刷子

形態：本種和多穗石松、地刷子不同，其特徵如下：植株為直立性，小葉二形，扁平枝背腹兩面之小葉相同，根莖在地表以下，分枝密集<sup>(23)</sup>。（見彩圖 11）

分布：為台灣特有種，主要見於高海拔山區，如九九山莊前、合歡山。

#### 四、台灣產石松科植物之科、屬檢索表 (key)

### 台灣產石松科植物屬之檢索表<sup>(23)</sup>

台灣產石松科植物共有三屬二十三種，其屬之檢索表如下：

1. 地生，直立或匍匐
  2. 葉狹長，但不為針狀，孢子葉不集生成穗狀。-----石杉屬 (*Huperzia*)
  2. 葉細，針狀鑿形，孢子葉集生成穗狀
    3. 小葉針刺狀，地上枝之末端彎曲下垂-----燈籠草屬 (*Lycopodiella*)
    3. 小葉線形或鱗片狀-----石松屬 (*Lycopodium*)
1. 著生 (附生)，懸垂-----石松屬 (*Lycopodium*)

### 台灣產石杉屬 (*Huperzia*) 種之檢索表<sup>(23)</sup>

台灣產石杉屬植物共有四種。均為地生性，營養葉和孢子葉混生。

1. 營養葉葉緣不平整，呈不規則鋸齒狀
  2. 地生，直立，植株高約 8-25 公分，基部小葉多少向外 (非向上)  
千層塔【*H. serrata* (Thunb.) Trev.】
  3. 小葉較窄，約 1mm 寬-----阿里山千層塔  
【*L. serratum* (Thunb.) var. *myriophyllifolium* Hayata】
  3. 小葉較寬，3-5mm-----長柄千層塔  
【*L. serratum* (Thunb.) var. *longipetiolatum* Spring】
1. 營養葉葉緣平整
  2. 小葉不反捲--小杉葉石松【*H. selago* (L.) Bernh. var. *appressum* (Desv.) Ching】
  2. 小葉反捲
    3. 部份小葉緊貼莖上，植株呈節狀緊縮，小葉明顯朝下反折-----  
-----反捲葉石松【*H. quasipolytrichoides* (Hayata) Ching】
    3. 非上述特徵-----相馬氏石松【*H. somae* (Hayata) Ching】

### 台灣產燈籠草屬 (*Lycopodiella*) 特徵

台灣有一種，孢子葉集生於枝條末端，形成孢子囊穗。枝條末端彎曲下，葉細針形。

1. *Lycopodiella cernua* (L.) Pichi 筋骨草 (過山龍)  
*Lycopodium cernuum* L.

### 台灣產石松屬 (*Lycopodium*) 種之檢索表<sup>(23)</sup>

台灣產石松屬植物共有十八種。為地生或著生，直立或懸垂。孢子葉集生於枝條末端，但不一定形成孢子囊穗。

1. 具明顯之孢子囊穗
  2. 攀緣性，懸垂，葉小，僅 0.2-0.3cm，鱗片狀，具長尾尖 -----  
-----木賊葉石松 (L. casuarinoides)
  1. 不具孢子囊穗，而為鬆散之結構，孢子枝多少分叉
  2. 非攀緣性，不懸垂
  3. 孢子囊穗有柄
    4. 具腹背面，明顯平面雙叉分枝
      5. 直立，小葉二型，根莖在地表以下，分枝在同一面上-----玉山地刷子  
(L. yueshanense)
      5. 懸垂，小葉三型，根莖在地表之上-----多穗石松 (L. multispicatum)
    4. 小葉螺旋狀排列
      5. 孢子囊穗單軸-----玉山石松 (L. veitchii)
      5. 孢子囊穗具分枝
        6. 小葉疏鬆，通常每一直立枝具孢子囊穗 10 個以上-----偽石松  
(L. pseudoclavatum)
        6. 小葉緻密，通常每一直立枝具孢子囊穗 2-3 個-----日本石松  
(L. japonicum)
    3. 孢子囊穗無柄
      4. 樹冠狀，直立枝分叉一次以上，匍匐枝小葉明顯短縮、呈鱗片狀-----  
-----玉柏 (L. obscurum)
      4. 不呈樹形，直立枝多不分叉，至多三次分叉，匍匐枝小葉和直立枝同型-----  
-----杉葉蔓石松 (L. annotinum)
      5. 孢子葉比營養葉小很多，形成細長分枝
        6. 營養葉 10-15mm，小葉基部平-----垂枝石松 (L. phlegmaria)
        6. 營養葉 5-6mm，小葉基部圓-----小垂枝石松 (L. salvinoides)
      5. 孢子葉和營養葉幾乎等大，或孢子葉逐漸變小
      6. 葉細小，呈鱗片狀
        7. 小葉側面略呈弓型，葉尖朝向中軸-----銳葉石松 (L. fargesii)
        7. 小葉非上述-----鱗葉石松 (L. sieboldii)
      6. 葉線形至橢圓形
        7. 營養葉橢圓形，孢子葉披針形-----福氏石松 (L. fordii)
        7. 營養葉，孢子葉皆為長線形或披針形
        8. 全株小葉完全貼伏莖上-----覆葉石松 (L. carinatum)
        8. 小葉平展或反折，至少僅基部小葉貼伏
      9. 主莖分枝-----柳杉葉石松 (L. cryptomerianum )
      9. 主莖不分枝
        10. 小葉末端朝上-----台灣石松 (L. taiwanense)
        10. 小葉末端朝外或朝下
          11. 基部小葉反折，中段小葉平展-----  
-----杉葉石松 (L. squarrosum)
          11. 基部小葉貼伏，中段小葉平展-----寬葉石松  
(L. cunninghamioides)

圖 2 台灣產石松科植物之寫生圖

圖 2 台灣產石松科植物之寫生圖

圖 2 台灣產石松科植物之寫生圖

第三節 台灣產石松科植物之生藥文獻概述

石松科植物早期分類為一單科屬，即石松科石松屬，現據 Houlb 等近代分類之研究，應為 2 科 11 屬。其中石杉科 Huperziaceae 有 2 屬 40 餘種，石松科有 5 屬，10 餘種，本類植物主含由 啞衍生物之 諾里西定 (quinolizidine) 類生物鹼及由異戊二烯或異戊烷相連形成之 類化合物，生理活性較強。根據臨床應用，在中國 60 餘種石杉類植物中，石杉科之小杉葉石松 *Huperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank et Mart.、蛇足石杉 (千層塔) *H. serrata* (Thunb.) Trev.、錫金石杉 *H. herheriana* (Kumm.) Sen et Sen 及華南馬尾杉 (福氏石松) *Phlegmariurus fordii* (Baker) Ching、龍骨馬尾杉 (覆葉石松) *P. carinatus* (Desv.) Ching、美麗馬尾杉 *P. pulcherrimus* (Wall.) love et Love、繩索馬尾杉 (鱗葉石松) *P. sieboldii* (Miq.) Ching、馬尾杉 (垂枝石松) *P. phlegmaria* (L.) Holub. ; 石松科杉葉蔓石松 *Lycopodium annotinum* L.、樹狀石松 (玉柏) *L. obscurum* L.、扁枝石松 (地刷子) *L. complanatum* (L.) Houlb.、小石松 (玉山石松) *L. veitchii* (Christ) Holub ; 燈籠石松 (垂穗石松) *Palhinhaea cernua* (L.) A. Franco et Vasc. ; 藤子石松 (木賊葉石松) *Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub. 等 14 種，可作正品石松之代用品<sup>(35)</sup>。石杉科植物分布於長江以南，以及廣東、廣西、雲南、台灣；石松科植物分布於中國南北各地。

石松 (*L. japonicum* Thunb.) 莖之橫切面表皮細胞呈 1 層，外被角質層。皮層較長寬，表皮下和近中柱各有 1~10 數層纖維組成之環帶，自外向內纖維壁漸厚，木化程度增強，葉跡維管束散於纖維帶中；內皮層明顯。中柱鞘為薄壁細胞。木質部分呈幾條彎曲不規則帶，與韌皮部大致平行相間排列，韌皮部細胞多角形，近木質部細胞較小<sup>(35)</sup>。

石松之孢子為淡黃色，三角錐形，直徑 25-40 $\mu$ m，三髓線一般細而清楚，外壁有網紋。含肪油 40~50%，油中脂肪酸主要為油酸 (50~60%)、石松子酸 (*Lycopodic acid*, 30~50%)，以及肉豆蔻酸、硬脂酸及二羥基硬脂酸等的甘油酯；另有二氫咖啡酸 (*dihydrocaffeic acid*) 約 3.1%，以及植物固醇、蛋白質<sup>(36)</sup>。

有關台灣產石松科植物內部構造之比較解剖研究，如皮部和木部之比例，纖維之排列、大小、是否木化，假導管之排列、大小及內容物等，詳細內容請參閱林敦生著台灣產石松屬藥材之生藥學研究<sup>(1)</sup>。茲引用台灣產長柄千層塔之組織解剖 (莖橫斷面之顯微鏡檢) 特徵 述如下：

1. 最外層為表皮細胞，細胞呈橢圓形、長橢圓形、卵形、凸鏡形。其外壁微厚化，弱木栓化。
2. 其內側由 2-9 層柔細胞組成，其間散生少數葉跡維管束，柔細胞呈卵圓形、橢圓形、長橢圓形，易形成裂隙。

3. 其下由 7-9 層纖維組成，細胞呈橢圓形、長橢圓形、卵形，其大小與外側之柔細胞相似，細胞壁略增厚，具層紋，弱木化，徑 10-70 $\mu\text{m}$ ，長 200-600 $\mu\text{m}$ 。
4. 內側為大型柔細胞，有 10-12 層，細胞呈橢圓形、卵形，壁略厚，細胞易破碎，形成裂隙。靠維管束周圍之 1-2 層柔細胞較小型。
5. 內皮層明顯，細胞呈長橢圓形，類卵形、類圓形，弱木化。
6. 其下為內鞘，由 1-2 層細胞組成，呈多角形、長多角形、長橢圓形。
7. 維管束呈圓形，為板狀中軸。篩部細胞呈卵形、多角形、橢圓形、不規則形。假導管聚集成 V 字形、W 字形或扇葉形。假導管甚長，靠維管束中心之假導管管徑大，靠邊緣的管徑小，徑 3-20 $\mu\text{m}$ ，呈圓形、橢圓形、卵形，強木化，紋理以階紋為主。
8. 細胞內含物：皮層柔細胞內含葉綠體。

另外由千層塔 *Lycopodium serratum* Thunb. 【*Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.】植物體內提取之活性成分-石杉鹼 (huperzine A)，為一種可逆性膽鹼酯 抑制劑。它易透過血腦屏障，在額顯皮層、海馬分佈高於其他腦區，明顯升高上述腦區之乙醯膽鹼 acetylcholine 濃度。可選擇性抑制乙醯膽鹼酯 。對膽鹼乙醯轉移 、電刺激皮層產生之 Ach. 釋放、皮層 M 與 N 受體均無明顯影響。兔 EEG 總功率明顯下降，皮層區之低頻成分有減少趨勢，主頻率功率也明顯減少。石杉鹼甲不僅加強成年或老年、大小鼠之學習、記憶鞏固和記憶再現效應，並能改善缺氧、電休克及東莨菪鹼處理產生之記憶障礙。

石杉鹼甲可加強間接電刺激神經產生之肌肉收縮振幅，翻轉筒箭毒鹼之神經肌肉阻滯作用。其治療指數大於新斯的明 (neostigmine) 及毒扁豆鹼 (physostigmine) 慢性毒性追 觀察，對大鼠、兔及狗之肝、腎功能，組織切片均未見有意義之病理變化。臨床用於治療精神分裂症、重症肌無力 (療效優於 neostigmine) 及早老性痴呆症 (可增強記憶、認知和行為能力，有可能取代 physostigmine) huperzine 之小鼠  $\text{LD}_{50}$  靜脈注射為 10.2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ，腹腔注射為 7.4 $\mu\text{mg}/\text{kg}$ 。huperzine 對小鼠及大鼠之急性毒性作用明顯低於 hystigmine、neostigmine 及 galanthamine. physostigmine 對小鼠及大鼠之治療指數各為 23.1 及 72.9，分別比 phystigmine 大 7-10 倍<sup>(37-57)</sup>。

有關千層塔之中外研究報告甚多，不下百餘篇，而對於長柄千層塔 *L. serratum* Thunb. var. *longipetiolatum* Spring 之研究文獻<sup>(1,58,59)</sup> 卻十



分有限，只見於組織解剖特徵、活性成分（石杉鹼甲） 抽取和其衍生物之合成等方面，因而激發本研究動機，作者擬先由原植物之鑑定著手，再長期從事後續醫藥學之研究。

依據全國中草藥名鑑<sup>(34)</sup>收載於金不換名目下之植物共有 19 科 24 屬 47 種，其屬名分別為 Huperzia (Lycopodium) Inula Kadsura Cyclea Stephania Tinospora Aristolochia Polygala Sedum Fagopyrum Polygonum Rumex Siraitia Hypericum Ficus Gynura Swertia Plumbago Panax Mentha Asystasiella Anoectochilus Polygonatum Ocimum。而收載於千層塔名目下之植物共有 7 科 9 屬 13 種，其屬名分別為：Lycopodium (Huperzia) Hypericum Euphorbia Tylophora Erigeron Monochasma Leonurus Ocimum Smilax。然千層塔始載於植物名實圖考，其文 述“千層塔生山石間，蔓生綠莖，小葉攢生，四面如刺，間有長葉及梢頭葉，俱如初生之柳葉。可煎洗腫毒跌打及鼻孔作癢。”所述特徵及附圖形態經鑑定為石杉科千層塔<sup>(21)</sup>。

#### 第四節 逢機增幅多型性核酸 (RAPD) 標誌分析與植物分類、鑑定之關係

## 一、分子生物學：

分子生物學是研究生命內在物質之基礎科學，是從分子層面來闡明生命現象的一門基礎學科。分子生物學一詞是在 1945 年由 W. Astbury 首先提出的，當時他所指的生物大分子之化學和物理結構之研究。20 世紀 50 年代，J. D. Watson 和 F. Crick 關於 DNA 雙螺旋結構之發現。60 年代 J. Monod 和 F. Jacob 有關基因調控之操縱子學說之提出，以及 70 年代初期 DNA 限制性內切之問世和 DNA 體外重組技術之形成，推動了分子生物學之快速發展，使得研究者之目光由生命的本質- 蛋白質轉向決定它的最基本的物質- 基因的構造和功能之分析。就狹義而言，只有在基因層面研究之內容方可包含在分子生物學範疇內；但從廣義而言，應包含許多應用分子方面之技術（如單克隆抗體 monoclonal antibody 等），來研究生物體結構與功能。由於分子生物學是研究所有生物學現象之分子基礎，因而它包含了所有之生物學。近年來中醫藥界亦引進了新的生物科技，從事研究，它們包含了核酸探針和分子融合技術、聚合連鎖反應（PCR）、融合瘤（hybridoma）和單克隆抗體技術、基因工程技術等<sup>(60-62)</sup>。

## 二、核酸、基因和蛋白質：

核酸是一類高分子化合物，包括核糖核酸（RNA，ribonucleic acid）及脫氧核糖核酸（DNA，deoxy-ribonucleic acid）兩大類。RNA 和 DNA 全由核酸聚合而成之多核酸長鏈，大多數的 RNA 分子是單鏈的，即一條多核酸鏈，而多數之 DNA 分子則是雙股鏈的。基因（gene）是細胞內 DNA 雙鏈上編碼多勝肽鏈（polypeptide）之區域，係指一個有用的遺傳訊息完整單位。基因之鹼基序列決定著所編碼之遺傳信息，每條 DNA 鏈上都有許多不同之基因，它們決定著不同多勝肽鏈之合成。每個基因首先轉錄成信息 RNA（mRNA，messenger RNA），再轉譯成多勝肽鏈，遵循著分子遺傳學之中心法則。通過遺傳密碼表，我們可以按基因之核 酸順序來推演其所編碼之多勝肽鏈的氨基酸序列；反之，也可通過某一多勝肽鏈的氨基酸序列來推測基因之大概序列。這種轉譯過程對於重組 DNA 技術之設計和應用是很重要的<sup>(63)</sup>。

DNA 鏈是由腺嘌呤（A）、鳥嘌呤（G）、胞嘧啶（C）和胸腺嘧啶（T）4 種鹼基分子靠糖-磷酸骨架相連接所構成。細胞的 DNA 是一個高度、有序之雙股螺旋結構，兩條單股之間靠互補的鹼基之間特異的氫鍵而維持雙股結構，一條鏈上的 A 總是與另一條鏈上的 T 配對，C 則與 G 配對。A 和 T，C 和 G 稱為

互補鹼基，在雙股 DNA 中四種鹼基之組合形式是無限變化的，而配對鹼基總是以同等數量存在。兩條 DNA 單股之間，如果有一段序列可以完全配對，那麼這兩條單股的這一段序列可以形成雙股結構。從單股到形成雙股的這一過程常常稱為融合<sup>(60)</sup>。

從組織和細胞中抽提或分離出來之 DNA，通常是以雙股形式或天然的形式存在。但是，當將 DNA 溶液加熱或是將 DNA 置於一個鹼性環境時，DNA 雙股的鹼基對之間的氫鍵就會斷裂，從而將兩條股分離開，得到變性的（單股的）DNA。變性後之 DNA 單股具有很大的伸展能力，可使其能以正確的方式和準確的配對與其互補鏈融合，將變性的 DNA 溶液緩慢冷卻，互補的兩條單股又將重新配對得到與原有天然 DNA 形成完全相同之雙股螺旋 DNA。這就是融合的基本原理和過程。於生物科技中，融合是一項相當普遍和常用的技術<sup>(60、63)</sup>。

### 三、遺傳標誌之種類：

生物學上，同一性狀在不同個體間之變異性與多樣化稱為多型性（polymorphism），例如同一種作物所呈現之不同花色、不同之抗病性、不同之外形等皆屬之。凡是可作為辨認或推測生物遺傳特色之多型性現象稱為遺傳標誌（genetic markers）。

遺傳標誌大略分為形態標誌<sup>(64、67-69)</sup>（morphological markers）、生化標誌（biochemical markers）<sup>(70-74)</sup>、分子標誌（molecular markers）等三大類。形態標誌為可直接從外形上辨識之多型性現象，例如株高、花色、茸毛之有無等差異性即是；生化標誌為經由化學反應結果所呈現之多型性，例如同功圖譜、ELISA、HPLC 分析結果之差異性等；分子標誌則為核酸層次上所呈現的多型性現象，例如核酸電泳條帶（核酸指紋圖譜）之差異、PCR 分析產物、核酸序列之異同等皆屬之。上述三種標誌中，以分子標誌之種類最多，數量亦最為豐富。近年來分子標誌進步甚為快速，應用亦最為廣泛。

分子標誌因是否與 PCR 技術結合，而分為 non-PCR based markers 和 PCR based markers 兩大類，前者有 RFLP（restriction fragments length polymorphism）；後者包括 RAPD（random amplified polymorphism DNA）、AFLP（amplified fragment length polymorphism）等。

於遺傳標誌分析時，分析產物中若兩相對因子（allele）之遺傳產物不同，在分析上可區分為同型結合子（homozygote）與異型結合子者（heterozygote）稱為共顯性標誌（co-dominant marker）；只出現上列性狀因子產物者稱為顯性標誌（dominant marker）。

#### 四、聚合 連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)<sup>(41, 66, 77)</sup> :

PCR 又稱基因體外擴增技術，是一種快速之基因複製方法，為 Kary Mullis 在 1984 年所發明，因此獲得 1993 年諾貝爾獎。本方法係利用兩個引子 (primer) ，使 DNA 聚合 能以 DNA 之兩股同時作為模板來合成。新的 DNA 合成後，又能當作模板合成下一回合之 DNA。於是 DNA 分子之數目每回合皆加倍，經過二十回合，即可把 DNA 放大 (amplify) 百萬倍。

PCR 需要下列四種條件：1. 由欲放大基因片段兩端互補序列所設計出來之引子，每一種的長度大約在 20 個鹼基左右，其序列各與所要複製之 DNA 區域的 3' 與 5' 端互補。因此用 PCR 複製一個 DNA 區域，需要知道其兩側之序列。2. 大量自由之去氧核糖核 三磷酸 (dNTP)。3. DNA 聚合 。4. 欲複製之 DNA 的模板。因為 PCR 非常靈敏，其量可以很小，通常  $10^{-9}$  克即可。

PCR 每一回合包含下列三個步驟：1. 變性 (denature)：加熱至大約 95 ，使雙股分開。2. 引子 合 (annealing)：降溫使引子與每一股之 3' 與 5' 端 煉合。3. 複製延伸 (extension)：加溫至 72 ，經由 DNA 聚合 延伸引子長度，合成新股。

目前 PCR 已廣泛應用於種原診斷、親子鑑定和古生物學中<sup>(60)</sup>。

#### 五、逢機增幅多型性核酸 (RAPD)<sup>(7, 9, 60, 65)</sup> :

RAPD 是逢機增幅多型性核酸 (Random Amplified Polymorphism DNA) 之文簡稱，它是一種應用 PCR 方法所發展之生物科技，用於偵測生物遺傳變異性。RAPD 分析所根據之原理與方法，其實與一般 PCR 分析並無不同，然其區別在於：1. RAPD 只用隨意設計之單一引子進行增幅反應，因此不需瞭解增幅區之核酸序列。2. RAPD 分析所用的引子通常比較短，常用者為 10 mers 左右。

一般而言，以 10 mer 之逢機引子進行 PARD 分析時，在一般常用之 PCR 反應程式上皆可產生增幅條帶，少則 1~2 條，多則可達十餘條。

RAPD 標誌之分析方法較為簡單易行，且靈敏度極高，為其優點，但不具共顯性現象，且穩定性較低，為其缺點。

它是以待測 (動) 植物之 DNA 為模板，以一組人工合成之隨機序列之寡核 酸為引子進行體外擴增。由於不同之 DNA 模板與隨機引子結合位點不同，PCR 擴增後就會得到若干長度不等之 DNA 分子片段，經凝膠電泳和 ethidium bromide (溴化乙錠) 染色後可在紫外燈下直接觀察電泳圖譜以檢測 DNA 之多態性，從而根據放大的基因組 DNA 片段之差異性將植物不同基因序列予以區別

。應用 RAPD 技術，可以進行物種識別、變異觀察和種群間分析等，可以在不明物種特異 DNA 序列之情況下，進行基因組指紋圖譜之構建，為物種進化和分類提供 DNA 分子層面之證據。

經由 DNA 指紋分析，可以準確地區分不同之物種或品種，且不受環境條件、發育階段等隨機因素之影響；能客觀地用於評價藥用植物或動物藥材之特性，闡明藥用植物（中藥材）之道地性與組群間之實質關係，以及揭示物種個體和種群之變異與進化等，顯示 DNA 指紋技術對中藥鑑定和質量研究具有重要意義（78-85）。

#### 六、生物科技在中藥鑑定和特性研究方面之應用（78-85、93-99）：

以往，中藥鑑定主要是依靠肉眼或顯微鏡之形態學觀察或通過鑑定所含成分（理化分析）來進行鑑定，不能滿足現代需求；因費時、客觀性較少、準確性較差。現代分子分類學之空前發展為中藥鑑定和特性研究帶來新的思維，使得當今中藥鑑定之基本手段- 分類學從傳統之性狀鑑別發展至分子細胞生物學之水準，把生物性狀表徵，擴展至生物信息大分子，其中 DNA 為初級，RNA 為次級，而蛋白質為三級信息物質，反應了遺傳密碼傳遞順序，它們是物種特徵之根本所在，也是最有價值之分類指標。

目前應用電泳法和免疫化學法進行蛋白質分析與中藥品種鑑別已較普遍。然而，由於物種之差異在於其 DNA 之間的核酸序列不同，因此核酸分析對品種鑑別更具決定性之意義。核酸分析就是直接分析中藥品種或其來源植物之基因組，即藥用植物或中藥之 DNA 指紋圖譜鑑定，不僅有助於品種鑑別，澄清混亂，而且對於建立某些地道名貴中藥材之基因庫，了解其品種之遺傳變遷狀況和代用品間血緣關係之遠近，都有重大意義。

由於 DNA 指紋圖譜具有高度之特異性，每個個體或種屬之間（動、植物）之 DNA 指紋圖譜都不一樣，遵循孟德爾遺傳方式並具有體細胞穩定性，為目前最為先進之遺傳標誌系統。

目前最常用之 DNA 指紋圖譜構建方法有多種，尤以 RFLP 和 RAPD 最為常用，前者是生物核酸的限制 切割片段之長度多型性（restriction fragment length polymorphism）的簡稱，它是一種直接在核酸層面上測得的遺傳變異，其分析不需使用 PCR 技術，是一種 non-PCR based 的分子標誌。由於生物核酸為限制（restriction enzyme）完全分解後，會形成無數特稱為限制 切割片段（restriction fragments）的核酸碎片，而相同的染色體部位所產生的限制段在不同的染色體組或生物個體之間可因核酸序列的變異而造成長度上的差異，因而可供辨認，且具有共顯性現象，此即 RFLP 現象。其可作為遺傳標誌，也是遺傳研究和育種工作的有用工具<sup>(100)</sup>。

RFLP 分析須仰仗多項基因工程技術始得實施。首先須藉重組 DNA 以及基因選殖技術以建立生物的基因庫 (gene library), 接著再從基因庫中篩選出所需的核酸探針 (probe), 利用南方氏轉漬法 (Southern blotting) 偵測生物基因組核酸之變異性。偵測時, 須先利用特定的核酸限制 分解生物的基因組核酸 (genomic DNA), 以產生各種不同的切割片段, 再用電泳方法使各片段因長度不同而分開來, 以便於轉漬並與適當的探針結合。探針之目的是用來偵測某一生物的基因組中和它相同或十分近似的核酸序列之兩近側是否有序列上的變異。一般而言, 凡是能偵測到生物基因組中的單套序列或單套基因的探針為最有利於結果的判讀, 其為理想探針的條件。核酸探針須經標示 (例如以放射性元素或非放射性方法標法) 以利偵測。進行南方氏分時, 如果帶有探針序列的生物染色體部位在 解後產生不同長度的片段, 則經過一系列的實驗程序作業後便會顯現出不同之條帶樣式, 形成可供辨認之遺傳標誌。此種長度多型性意謂著: 在生物體或族群中, 其基因組的某一位置存在著核酸序列之差異。其差異可能肇因於染色體片段之倒立 (inversion)、插入 (insertion)、缺失 (deletion) 或氮基對替換 (base pair substitution) 等<sup>(101)</sup>。

與其他多種分子標誌比較, RFLP 除了具有許多共通的優點 (例如標誌量極豐富、具有高靈敏性、其偵測結果不受發育階段影響等), 還具有分析結果極為穩定和共顯性效果 (co-dominant) 之優點<sup>(102, 103)</sup>。然而其分析步驟極為繁複費時, 非一般實驗室可輕易實施, 此為一大缺點。RFLP 分析技術自 1980 年代期間成為最重要的分子標誌, 其應用頗為廣泛, 但進入 1990 年代後, 即逐漸為其他分子標誌所取代。利用 RFLP 技術, 為研究藥用植物類群, 特別是屬間、種間, 甚至品種間之親緣關係、系統發育與進化提供了穩定可靠之依據<sup>(93-99)</sup>; 另一種稱逢機增幅多型性 DNA (RAPD) 標誌, 其作法與用途已如前述。

### 第三章 台灣產石松科植物之形態標誌

## 第一節 植物之採集、觀察與市場品之調查

### 一、植物之採集：

1. 民國 87 年 7 月 5 日作者與妻祝堅如、台中市藥用植物研究會賴民雄、葉源河、廖世雄同行，前往南投縣鹿谷鄉線漫，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
2. 民國 87 年 9 月 26 日與藥用植物研究會郭可遇、葉源河同行，前往南投縣鹿谷杉林溪採集金不換，無功而返。
3. 民國 87 年 10 月 10 日與妻、葉源河夫婦同行，前往南投縣高峰，採得金不換（疑似長柄千層塔品種 A 植物）。
4. 民國 87 年 10 月 31 日與妻、賴民雄、葉源河同行，再訪線漫及其鄰近山區，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
5. 民國 88 年 4 月 3 日與葉源河、廖世雄同行，前往埔里凌霄殿，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
6. 民國 88 年 4 月 24 日與妻、葉源河夫婦、郭可遇前往苗栗向天湖，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
7. 民國 88 年 5 月 16 日友人郭可遇於雪山坑採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
8. 民國 88 年 5 月 28 日與賴民雄、葉源河、郭可遇前往稍來山，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
9. 民國 88 年 4 月 11 日友人郭昭麟於阿里山採得疑似長柄千層塔品種 B 植物。
10. 民國 89 年 2 月 8 日友人余福全於藤枝採得疑似長柄千層塔品種 B 植物。
11. 民國 89 年 2 月 10 日何昭明於南投縣武界採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
12. 民國 89 年 2 月 13 日與妻、友人葉源河夫婦同行，往卓社取得疑似阿里山千層塔植物、疑似長柄千層塔品種 A 和 B 植物、筋骨草 (*L. cernuum* L.)、木賊葉石松 (*L. casuarinoides* Spring)、多穗石松 (*L. multispicatum* Wilce)、偽石松 (*L. pseudoclavatum* Ching)、福氏石松 (*L. fordii* Baker)。
13. 民國 89 年 3 月 25 日與妻，於奮起湖採得福氏石松與疑似長柄千層塔品種 A。
14. 民國 89 年 4 月 2 日與妻、葉源河、葉素明同行前往南投縣合歡山小風口，採得玉柏 (*L. obscurum* L.)、玉山石松 (*L. veitchii* D. Christ)、玉山地刷子 (*L. yueshanense* Kuo)、日本石松 (*L. japonicum* Thunb. ex Murray)。
15. 民國 89 年 4 月 3 日於友人林德寶處取得垂枝石松 (*L. phlegmaria* L.)。
16. 民國 89 年 4 月 16 日與妻、馬鳳儀、官有生同行，往新竹縣尖石鄉宇老，擬採集阿里山千層塔 (*L. serratum* Thunb. var. *myriophyllifolium* Hayata)，無功而返。
17. 民國 89 年 4 月 22 日與妻、馬鳳儀、官有生同行，往尖石鄉高台山採集，再次無功而返。

18. 民國 89 年 4 月 27 日邱年永技正、賴民雄、賴佳慶、葉源河、廖世雄於往小鬼湖途中之阿里採得福氏石松。
19. 民國 89 年 4 月 30 日於友人新社安石園羅順安處取得覆葉石松 (*L. carinatum* Desv. )。
20. 民國 89 年 5 月 1 日官有生於高台山採得金不換。
21. 民國 89 年 7 月 26 日與友人賴民雄、賴佳慶、廖世雄等往桃園縣達觀山 (拉拉山) 自然保護區取得疑似長柄千層塔品種 B 植物。
22. 民國 89 年 8 月 7 日與新竹林區志工張乾榮、友人郭可遇同行，於新竹縣觀霧檜山巨木群取得疑似阿里山千層塔植物。
23. 民國 89 年 8 月 18 日與友人郭可遇往觀霧榛山步道採得相馬氏石松 (小針葉石松) (*L. somae* Hayata) 疑似阿里山千層塔、長柄千層塔、偽石松、多穗石松 (地刷子)。往觀霧途中採得金不換。往榛山途中採得相馬氏石松、疑似長柄千層塔品種 A、阿里山千層塔、偽石松、多穗石松。
24. 民國 89 年 8 月 19 日與友人郭可遇於馬達拉溪登山口 2 公里處採得反捲葉石松 (*L. quasipolytrichoides* Hayata)。於近九九山莊前採得玉山地刷子。
25. 民國 89 年 8 月 28 日與妻往合歡山小風口，採得玉柏、玉山石松、疑似玉山地刷子植物、日本石松。
26. 民國 89 年 9 月 1 日與妻前往合歡山 35~36 公里處，採得杉葉蔓石松 (*L. annotinum* L.)。
27. 民國 89 年 9 月 10 日於 埔里友人 鍾鼎江處取得垂枝石松、杉葉石松 (*L. squarrosum* Forst.)。
28. 民國 89 年 10 月 1 日與妻往靜觀採集，無功而返。
29. 民國 89 年 10 月 10 日友人 陳炳臣於 台東池上山區採得小垂枝石松 (*L. salvinioides* (Hert.) Tagawa)。
30. 民國 89 年 10 月 10 日與妻同行經新中橫往阿里山採得相馬氏石松、偽石松、多穗石松。鹿林山採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。
31. 民國 89 年 10 月 11 日友人陳炳臣於梅峰採得銳葉石松 (*L. fargesii* Hert.)
32. 民國 89 年 10 月 14 日與妻、柯韞和、黃麒逢胞弟同行，於卓社良久林場採得木賊葉石松 (石子藤) 筋骨草、偽石松、疑似長柄千層塔品種 A 和 B 植物、阿里山千層塔、福氏石松。
33. 民國 89 年 10 月 15 日與妻同行往梅峰採得相馬氏石松。
34. 民國 89 年 4 月 7 日高雄醫學大學藥學院顏銘宏副教授於南橫關山三角點途中採得杉葉蔓石松和反捲葉石松。
35. 民國 89 年 12 月 1 日友人何政宏於梅峰採得台灣石松 (*L. taiwanense* Kuo)



36. 民國 89 年 12 月 7 日與嘉義市藥用植物學會，前往藤枝調查，採得疑似長柄千層塔品種 B 植物。
37. 民國 89 年 12 月 24 日與台中市藥用植物學會，前往南投縣杉林溪調查，採得疑似長柄千層塔品種 A 植物。

## 二、植物之觀察：

1. 民國 88 年 4 月 25 日與妻、友人葉源河夫婦同行，再訪凌霄殿，觀察金不換原生地之生態、溫度、光照度、相對濕度和生長情形。
2. 民國 88 年 5 月 22 日與妻驅車前往凌霄殿，觀察金不換之生長情形、濕度、光照度、相對濕度。
3. 民國 88 年 5 月 25 日往農試所送驗金不換原生地之土壤（三個標本）。
4. 民國 88 年 6 月 12 日與妻再訪凌霄殿，觀察金不換之生長情況，並測其溫度、濕度、光照度。
5. 民國 88 年 7 月 31 日與妻同行再訪凌霄殿，觀察金不換之生長情形。
6. 民國 88 年 8 月 26 日送農試所金不換標本，擬做生長箱觀察以了解其生長之適當條件，並為其組織培養預做準備。
7. 民國 88 年 8 月 31 日與張有明博士前往凌霄殿觀察金不換之生態及生長情形。
8. 民國 89 年 10 月 28 日與妻冒險重回 921 地震後之凌霄殿，觀察久違之金不換。沿途所見山崩地裂、柔腸寸斷、塵土飛揚、草木流失之景象令人怵目驚心，原生地之植物更因而大量絕跡，增加了採集觀察之困難。

## 三、金不換市場品之調查：

1. 民國 89 年 5 月 8 日於台中市健行路聯合中西藥局購買金不換市場品 1。
2. 民國 89 年 8 月 11 日於台中市成功路協隆藥行取得市場品金不換 2。
3. 民國 89 年 10 月 14 日埔里南盛街日榮中草藥行黃麒逢贈市場品金不換 3，以為基原鑑定用。
4. 民國 89 年 12 月 5 日於台中市健行路聯合中西藥局購買伸筋草市場品 1。
5. 民國 89 年 12 月 5 日於台中市成功路協隆藥行取得伸筋草市場品 2。

## 第二節 台灣產石松科植物之採集、調查研究

台灣產石松科植物約有廿三種。唯相關之基礎研究並不多，為確定其基

原以及促進該科植物藥材資源之開發與利用，乃進行本研究。今採得該科植物十九種及金不換（千層塔）市場品三種，經本草學、植物學、藥用植物學和生藥學文獻考察，確定其學名後，目前獲得如下結果：

一、本研究就台灣產石松科植物進行全面調查、採集、整理，共計獲得十九種原植物，經外部形態學鑑定其種類，列記如下：

學 名	中 名	地 點
1. <i>Lycopodium annotinum</i> Linnaeus	杉葉蔓石松	合歡山
2. <i>L. carinatum</i> Desvaux	覆葉石松	太麻里
3. <i>L. casuarinoides</i> Spring	木賊葉石松	卓 社
4. <i>L. cernuum</i> Linnaeus	筋骨草	凌霄殿
5. <i>L. pseudoclavatum</i> Ching	偽石松	高台山
6. <i>L. japonicum</i> Thunberg ex Murray	日本石松	小風口
7. <i>L. fargesii</i> Herter	銳葉石松	梅 峰
8. <i>L. fordii</i> Baker	福氏石松	奮起湖
9. <i>L. multispicatum</i> Wilce	多穗石松	榛 山
10. <i>L. yueshanense</i> Kuo ( <i>L. wightianum</i> Wallich) 玉山地刷子(偉氏石松)		九九山莊
11. <i>L. obscurum</i> Linnaeus	玉 柏	小風口
12. <i>L. phlegmaria</i> Linnaeus	垂枝石松	茶 山
13. <i>L. salvinoides</i> (Herter) Tagawa	小垂枝石松	池上山區
14. <i>L. squarrosum</i> Forst.	杉葉石松	太魯閣
15. <i>L. taiwanense</i> Kuo ( <i>L. pulcherrimum</i> Wall.)	台灣石松	梅 峰
16. <i>L. quasipolytrichoides</i> Hayata	反捲葉石松	馬達拉溪
【 <i>Huperzia quasipolytrichoides</i> (Hayata) Ching】		
17. <i>L. serratum</i> Thunb. 【 <i>Huperzia serrata</i> (Thunb.) Trev.】		千層塔
(a) <i>L. serratum</i> Thunberg var. <i>longipetiolatum</i> Spring	長柄千層塔	藤 枝
(b) <i>L. serratum</i> Thunberg var. <i>myriophyllifolium</i> Hayata	阿里山千層塔	榛 山
18. <i>L. somae</i> Hayata	相馬氏石松	阿里山
19. <i>L. veitchii</i> D. Christ	玉山石松	小風口

然本研究至今尚有四種未採集到，其分別如下：

1. <i>L. cryptomerianum</i> Maxim.	柳杉葉蔓石松
2. <i>L. cunninghamioides</i> Hayata	寬葉石松
3. <i>L. sieboldii</i> Miq.	鱗葉石松
4. <i>L. appressum</i> (Desv.) V. Petr.	小杉葉石松
【 <i>Huperzia selago</i> (L.) Bernh. var. <i>appressum</i> (Desv.) Ching】	

## 二、台灣產石松科十九種植物彩色圖片



### 三、台灣產石松科藥材及金不換市場品之彩色圖片

#### 四、結果和討論

本調查研究依據外部形態學鑑定結果，顯示已採得台灣產十九種石松科植物。但有些仍具爭議性，擬藉逢機增幅多型性核酸 RAPD 分子標誌分析之結果，提供輔助該科植物種原之客觀辨識依據。

相馬氏石松和反捲葉石松很類似，擬藉 RAPD 分子標誌分析之結果，提供其輔助之客觀辨識依據。

玉柏和玉山石松很類似，擬藉 RAPD 分子標誌分析之結果，提供其輔助之客觀辨識依據。

#### 台灣產千層塔（金不換）之種原複雜，值得進一步研究

1. 依據文獻記載，台灣產千層塔有二變種，其分別為 (a): *L. serratum* Thunberg var. *longipetiolatum* Spring 長柄千層塔 (b) *L. serratum* Thunberg var. *myriophyllifolium* Hayata 阿里山千層塔。而其原植物為 *L. serratum* Thunb. 【*Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.】千層塔，未記記載於台灣植物文獻中。
2. 就本採集、調查研究發現，長柄千層塔似有二個品種（依據外部形態學判斷），擬藉逢機增幅多型性核酸 RAPD 標誌分析之結果，以提供其輔助分類鑑別之客觀依據。

#### 台灣產地刷子之種原，文獻說法不一，值得進一步探討

1. 台灣植物誌 第一版將多穗石松 *L. multispicatum* Wilce 與玉山石松（偉氏石松）*L. yueshanense* Kuo (*L. wightianum* Wallich) 分開記載，而台灣植物誌之第二版又將前二者合併，稱為地刷子 *L. complanatum* De Vol non L.，其後，行政院農業委員會編印、郭城孟教授著作之台灣維管束植物簡誌認為，台灣產之地刷子應有多穗石松和玉山地刷子（或稱偉氏石松）之別；因為二者之外部形態特徵不相似，可以區別，然缺乏有力之客觀證據。
2. 擬藉逢機增幅多型性核酸 RAPD 標誌分析之結果，提出佐證。

#### 台灣產石松之種原，文獻說法不一，值得深入探討

1. 以往台灣植物誌（第一版及第二版）將偽石松、日本石松合併，稱為石松 *L. clavatum* De Vol non L.，其後台灣維管束植物簡誌主張台

灣產石松有二種，分別為偽石松 *L.pseudoclavatum* Ching 和日本石松 *L.japonicum* Thunb. ex Murray。

2. 擬藉逢機增幅多型性核酸 RAPD 標誌分析之結果，提出客觀佐證。

市場品千層塔（金不換）藥材之來源植物，有待客觀方法求証

1. 依據台灣市場品調查及外部形態鑑定結果顯示，金不換（千層塔）之來源植物比較接近台灣產之長柄千層塔（*L. serratum* Thunb. var.

*longipetiolatum* Spring）。據中華本草<sup>(21)</sup>及中盤商協隆藥行黃煥耀稱，千層塔來源於廣西省，其結論有待深入研究。

2. 擬藉逢機增幅多型性核酸 RAPD 標誌分析之結果，提出客觀佐證。

## 五、台灣產石松科藥材之開發與利用

台灣產石松科藥材，以筋骨草、偽石松、多穗石松產量最為豐富，值得開發利用。福氏石松、長柄千層塔分佈廣泛，但產量不及前三者，其中長柄千層塔台灣民間視為貴重藥材，且因受 921 地震和土石流影響，產量自然稀少。而木賊葉石松、玉山石松、反捲葉石松、小杉葉石松、杉葉蔓石松、玉柏、相馬氏石松（小針葉石松）分佈於中、高海拔之局部山區，產量少、採集不易。其他尚有覆葉石松、銳葉石松、鱗葉石松、台灣石松、垂枝石松、小垂枝石松、杉葉石松、寬葉石松、柳杉葉蔓石松和阿里山千層塔等，近年來由於人為生態環境之破壞、天災、商業行為之濫採等因素，以致於瀕臨絕跡，採集不易，就研究立場而言，當加強環保觀念，教導育種、栽培、繁殖方法，落實產銷制度。重視千層塔之生活史，以便於為組織培養、大量繁殖預做準備。

### 第三節 台灣產石松科植物之形態標誌

一、就外部形態而言，相馬氏石松（小針葉石松）和反捲葉石松類似，不易區別，其異同點如下：

表 1 相馬氏石松和反捲葉石松之異同點（外部形態）

	相馬氏石松	反捲葉石松
相同點	1.地生，直立 2.小葉反捲	1.地生，直立 2.小葉反捲
相異點	1.直株高 4~8cm，較柔軟 2.基部小葉多少朝外反折 3.植株不呈節狀緊縮 4.小葉不緊貼莖上	1.植株高 8~25cm 2.小葉明顯朝下反折 3.植株呈節狀緊縮 4.部份小葉緊貼莖上

二、就外部形態而言，玉柏和玉山石松類似，然仍有差異，其異同點如下：

表 2 玉柏和玉山石松之異同點（外部形態）

	玉柏	玉山石松
相同點	1.地生，直立	1.地生，直立
相異點	1.植株呈樹冠狀（上部分枝多回羽狀分叉） 2.孢子囊穗多枚、無柄	1.植株不呈樹冠狀 2.孢子囊穗頂生 1~2 枚、具柄

三、就外部形態而言，垂枝石松和小垂枝石松類似，然仍有差異，其異同點如下：

表 3 垂枝石松和小垂枝石松之異同點（外部形態）

	垂枝石松	小垂枝石松
相同點	1.附生植物 2.植株下垂（2~多回雙叉分歧） 3.有營養葉、孢子葉穗之別	1.附生植物 2.植株下垂（2~多回雙叉分歧） 3.有營養葉、孢子葉穗之別
相異點	1.植株粗大 2.營養葉長 10~15mm、寬約 5mm 3.小葉基部平	1.植株纖細 2.營養葉長 5~6mm、寬約 1mm 3.小葉基部圓

四、就外部形態而言，鱗葉石松與銳葉石松類似，然仍有差異點，其異同



點如下：

表 4 鱗葉石松和銳葉石松之異同點（外部形態）

	鱗 葉 石 松	銳 葉 石 松
相 同 點	1. 附生，懸垂，細長	1. 附生，懸垂，細長
相 異 點	1. 葉覆瓦狀密生、伏臥莖軸 2. 葉向上或向外展開 3. 孢子葉較寬	1. 葉不呈覆瓦狀、不伏臥莖軸 2. 葉側面略呈弓形（葉尖朝向中軸） 3. 孢子葉明顯小於營養葉

五、就外部形態而言，長柄千層塔與阿里山千層塔類似，然仍有差異，其區別如下：

表 5 長柄千層塔和阿里山千層塔之異同點（外部形態）

	長 柄 千 層 塔	阿 里 山 千 層 塔
相 同 點	1. 地生，莖直立 2. 葉緣呈不規則鋸齒狀	1. 地生，莖直立 2. 葉緣呈不規則鋸齒狀
相 異 點	1. 根系較發達 2. 莖不具線紋 3. 葉較寬（3~5mm） 4. 葉片較厚，不易脫落 5. 具葉柄	1. 根系不發達 2. 莖具線紋 3. 葉較窄（寬約 1mm） 4. 葉片薄，易脫落 5. 不具葉柄

六、台灣產千層塔種原複雜，其中長柄千層塔，依其外部形態特徵可分為族群 A 和族群 B，其區別如下：

表 6 長柄千層塔族群 A、B 之區別（外部形態）

	族群 A（線浸、觀霧、凌霄殿、武界）	族群 B（卓社、阿里山、藤枝、達觀山）
1. 植株	高大壯碩（成株）	高大壯碩（成株、幼株）
2. 塔形	成株明顯、幼株不呈塔形	明顯（幼株、成株）
3. 鬚根	不發達	較發達
4. 葉片	近膜質、較薄，較短、窄	近革質、較厚，較長、寬
5. 葉緣	鈍鋸齒、微波形不明顯	明顯呈鈍鋸齒、微波形

七、就外部形態特徵判斷，台灣產地刷子可能有二種，有近似於多穗石松

L. multispicatum Wilce 和玉山地刷子 (偉氏石松) L. yueshanense Kuo (L. wightianum Wallich) 等二類，其區別如下：

表 7 多穗石松和玉山地刷子之異同點 (外部形態)

	多穗石松	玉山地刷子
相同點	1. 枝條明顯扁平、雙叉分岐 2. 植株具腹背面	1. 枝條明顯扁平、雙叉分岐 2. 植株具腹背面
相異點	1. 植株懸垂，分枝稀少 2. 根莖在地表之上 3. 小葉三形 4. 扁平枝腹背兩面之小葉不同	1. 植株直立，分枝密 2. 根莖在地表之下 3. 小葉二形 4. 扁平枝腹背兩面之小葉相同

八、就外部形態特徵而言，台灣產石松可能有二種，有近似於日本石松 L. japonicum Thunberg ex Murray 和偽石松 L. pseudoclavatum Ching 等二類，其區別如下：

表 8 偽石松和日本石松之異同點 (外部形態)

	偽石松	日本石松
相同點	1. 地生，匍匐，具分枝 2. 孢子囊穗有柄	1. 地生，匍匐，具分枝 2. 孢子囊穗有柄
相異點	1. 小葉較鬆 2. 孢子囊穗較大、且有分枝 3. 每一直立枝具孢子囊穗 10 個以上	1. 小葉較密 2. 孢子囊穗較小 3. 每一直立枝具孢子囊穗 2-3 個

#### 第四章 逢機增幅多型性核酸標誌分析實驗

## 第一節 材料與方法

### 一、植物材料：

台灣產石松科植物經本草學考察、參考文獻及標本核對，確定其學名無誤後，取其新鮮嫩葉（或含莖及孢子囊），作為萃取全核酸之材料，該原生植物列記如下：

#### 台灣產千層塔（金不換）之原植物

- 1.長柄千層塔品種A (*Lycopodium serratum* Thunb. var. *longipetio-latum* Spring):
  - (a) 民國87年7月5日於南投縣鹿谷鄉線浸採得。
  - (b) 民國88年4月3日前往埔里凌霄殿採得。
  - (c) 民國89年2月10日於南投縣武界採得。
  - (d) 民國89年8月18日於新竹縣觀霧途中採得
  - (e) 民國89年10月14日於南投縣卓社良久林場採得。
- 2.長柄千層塔品種B (*Lycopodium serratum* Thunb. var. *longipetio-latum* Spring):
  - (a) 民國88年4月11日於嘉義縣阿里山採得。
  - (b) 民國89年2月8日於屏東縣藤枝採得。
  - (c) 民國89年7月26日於桃園縣達觀山（拉拉山）自然保護區採得。
  - (d) 民國89年10月14日於南投縣卓社良久林場採得。
- 3.阿里山千層塔 (*Lycopodium serratum* Thunb. var. *myriophyllifolium* Hayata) 疑似物：
  - (a) 民國89年2月13日於南投縣卓社採得。
  - (b) 民國89年8月18日於新竹縣觀霧榛山採得。

#### 台灣產石松之原植物

- 1.偽石松 (*L. pseudoclavatum* Ching):
  - (a) 民國89年2月13日於南投縣卓社採得。
  - (b) 民國89年4月22日於新竹縣尖石鄉高台山採得。
- 2.日本石松 (*L. japonicum* Thunb. ex Murray):
  - (a) 民國89年4月2日於南投縣合歡山小風口採得。
  - (b) 民國89年8月28日於南投縣合歡山 35~36公里處採得。

#### 台灣產地刷子之原植物

- 1.多穗石松 (*L. multispicatum* Wilce):

- (a) 民國 89 年 8 月 18 日於新竹縣觀霧榛山採得。
  - (b) 民國 89 年 8 月 18 日於新竹縣觀霧途中採得。
2. 玉山地刷子 (L. yueshenense Kuo):
- (a) 民國 89 年 8 月 19 日於新竹縣九九山莊採得。
  - (b) 民國 89 年 8 月 28 日於合歡山小風口採得。

#### 其他台灣產石松科之原生植物

1. 杉葉蔓石松 (L. annotinum L.): 民國 89 年 9 月 1 日前往合歡山 35~36 公里處採得。
2. 覆葉石松 (L. carinatum Desv.): 民國 89 年 4 月 30 日於台中縣新社安石園羅順安處取得。
3. 木賊葉石松 (石子藤)(L. casuarinoides Spring): 民國 89 年 10 月 14 日於卓社良久林場採得。
4. 垂穗石松 (筋骨草)(L. cernuum Linnaeus): 民國 88 年 4 月 11 日於埔里凌霄殿採得。
5. 銳葉石松 (L. fargesii Hert.): 民國 89 年 10 月 11 日於南投縣梅峰採得。
6. 福氏石松 (L. fordii Baker): 民國 89 年 3 月 25 日於 嘉義縣奮起湖採得。
7. 玉柏 (L. obscurum L.): 民國 89 年 8 月 28 日往合歡山小風口採得。
8. 垂枝石松 (L. phlegmaria L.): 民國 89 年 4 月 3 日於霧峰百草谷藥園林德寶處取得。
9. 反捲葉石松 (L. quasipolytrioides Hayata): 民國 89 年 8 月 19 日於馬達拉溪登山口 2 公里處採得。
10. 相馬氏石松 (L. somae Hayata): 民國 89 年 8 月 18 日於新竹縣觀霧榛山採得。
11. 杉葉石松 (L. squarrosum Forst.): 民國 89 年 9 月 10 日於埔里山城園藝鍾鼎江處取得。
12. 玉山石松 (L. veitchii D. Christ): 民國 89 年 8 月 28 日於合歡山小風口採得。

## 二、金不換市場品：

1. 民國 89 年 5 月 8 日於台中市健行路聯合中西藥局購買金不換市場品 1。

2. 民國 89 年 8 月 11 日於台中市成功路協隆藥行取得金不換市場品 2。
3. 民國 89 年 10 月 14 日埔里南盛街日榮中草藥行贈送金不換市場品 3，以為基原鑑定用。

依據台灣市場品調查及外部形態鑑定結果顯示，金不換（千層塔）之來源植物比較接近台灣產之長柄千層塔(*L. serratum* Thunb. var. *longipetio-latum* Spring)。據中華本草<sup>(21)</sup>及中盤商協隆藥行黃煥耀稱，千層塔來源於廣西省，結果如何，有待深入研究證明之。

### 三、藥品與其配置：

1. 液態氮
2. EB 萃取緩衝液 (Extraction Buffer ,4 ):  
100 mM Tris-HCl pH 8.0 , 50 mM Na-EDTA pH 8.0 ,  
500 mM NaCl , 10 mM beta-mercaptoethanol  
預先配製好，殺菌後，於無菌條件下混勻
3. TE 緩衝液：  
50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM Na-EDTA (pH 8.0)
4. 20 % (W/V) SDS (溶解細胞)
5. K-solution (4 ):  
(由 3 M 醋酸鉀 60 ml、冰醋酸 11.5 ml 和  
蒸餾水 28.5 ml 組成，含鉀離子 3 M 和醋酸根 5M)
6. PVP (Sigma No. P-67555)
7. 異丙醇 (isopropanol)
8. 酚 (phenol, pH 8.0)
9. 三氯甲烷 ( $\text{CHCl}_3$ , 含 4% 之 isoamyl alcohol)
10. 無水酒精或 95% 酒精
11. 7.5 M 醋酸銨 (ammonium acetate)(4 )
12. Beta-mercaptoethanol
13. Rnase A (10mg/ml)(-20 )
14. TE 100~200  $\mu$ l (室溫)

### 四、儀器與器材：

1. 磁研鉢和杵

2. 液氮分裝瓶
3. 恆溫水浴槽 ( 65 )
4. 冰桶
5. 高速離心機
6. 不織布 ( 每樣品需一塊 , 約 10x10 cm )
7. 漏斗 ( 每樣品需 1 支 )
8. 微量離心機 ( Microfuge )
9. 振盪器
10. 乾燥器及抽氣機
11. 離心管
  - ( 1 ) Oak Ridge tube , 每樣品需 2 支 , 管子容積為 30~50ml
  - ( 2 ) 1.5ml Eppendorf tube 每樣品需 4 支
12. 微量分注器及其吸管 ( Repeating pipets , 1 ml、100  $\mu$ l 和 20  $\mu$ l )
13. 試管架 ( 1 ) 可放置 Oak Ridge tube 者
  - ( 2 ) 可放置 Eppendorf tube 者
14. 定時器

## 五、全植物核酸之萃取與純化<sup>(65、86-90)</sup>

根據 Dellaporta 等人<sup>(86)</sup>所發表之 DNA 萃取方法，經局部修改後，用以萃取所需之植物 DNA。主要修改處是在萃取過程前期加入 PVP (polyvinylpyrrolidone)(Sigma No.P-67555)，後期加入酚洗步驟以提高 DNA 純度。

### 磨碎萃取

1. 摘取幼嫩葉片 1 至 4 克，添加 PVP 約 1g，以液態氮磨碎後，迅速置入 Oak Ridge 離心管中。
2. 加入 15 ml 之 EB 萃取緩衝液及 1 ml 20% SDS 和抗氧化劑 0.5 ml，並用力搖晃約 50 次使之混合，再以 65 水浴 10 分鐘。
3. 加 5.0 ml 之 K-solution，並強力搖晃使之混合均勻，再冰浴 20 分鐘。
4. 經離心沉澱 ( 以 12,000rpm 離心 20 分鐘 ) 過濾 ( 利用不織布 ) 後，取出上清液置入另一個離心管中，再加入 10 ml isopropanol 於濾液中，輕搖使之混勻，離心管靜置於 -80 、 10 分鐘，以利 DNA 沉澱。
5. 經離心沉澱 ( 以 12,000 離心 15 分鐘 ) 過濾後，輕倒上清液 ( 保留固體 )，將離心管於室溫中倒放 10 分鐘，以晾乾 DNA。
6. 加入 0.5 ml 之 TE 緩衝液後，將離心管置於振盪器上緩慢搖動使沉澱

物逐漸溶解。

酚洗（戴手套在抽氣櫥中操作）

7. 待沉澱完全溶解後，將溶液小心移入 Eppendorf tube 中，加入 0.5 ml 之 phenol，混勻後以 10,000rpm 離心 5 分鐘，取出上清液至另一乾淨之 Eppendorf tube 中。

8. 重複程序 7，但分別使用 0.25 ml phenol 和 0.25 ml chloroform、0.5 ml chloroform，以代替 0.5 ml phenol，

酒精沉澱

9. 加入 0.9ml 無水酒精及 7.5M ammonium acetate 0.15ml，輕輕搖晃使之混合，此時應可看到白色懸浮狀之 DNA 沉澱物及小氣泡；否則，放置於 -80 約 10 分鐘，再行檢視。

10. 經離心（用 12,000rpm 15 分鐘）沉澱後，倒掉上清液，再加入 70%酒精 1 ml，於室溫下靜置 1~3 分鐘，倒掉上層液，並將管子倒立瀝乾。

真空乾燥

11. 使用真空乾燥器乾燥約 2 分鐘，以使酒精充分揮發。

TE 溶解

12. 加入適量之 TE 以溶解 DNA。

13. 加入適量 Rnase A。

14. 成品保存於 -20 凍箱中備用。

## 六、DNA 濃度測定<sup>(65, 90)</sup>

使用 Fluorometer（螢光測定儀，或稱 DNA 濃度測定儀），型號 DyNa Quant™200，簡稱 DQ200 儀器，為 Hoefer Pharmacia Biotech 公司產品。

DQ200 儀器之緩衝液配製法

1. Solution A (Assay Solution)

10 X TNE (pH 7.4) 10 ml

Working dye (H33258 Stock Solution) 10 µl

無菌水 90 ml

總體積 100 ml

2. DNA Stock Solution (100 µg/ml)

10 x TNE (pH 7.4)	100 $\mu$ l
小牛胸腺核酸溶液 (calf thymus DNA, DNA 濃度: 1mg/ml)	100 $\mu$ l
無菌水	800 $\mu$ l
總體積	1 ml

### 3. Working dye (H33258 Srock Solution)

Hoechst 33258	10 mg
無菌水	10 ml
總體積	10 ml

### 4. 10 x TNE (pH 7.4)

蒸餾水	約 800 ml	<u>濃度</u>
Tris-base (MW=121.14)	12.11 g	(100 mM)
EDTA Na <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (MW=372.2)	3.72 g	(10 mM)
NaCl (MW=58.44)	116.89 g	(2 M)
用濃鹽酸 (conc.HCl) 調 pH 至 7.4		
加蒸餾水使總體積達到 1000 ml (裝罐置 4 冰箱中)		

### 5. 小牛胸腺核酸溶液 (Calf thymus DNA Solution) (濃度為 1mg/ml)

Calf thymus DNA standard	250 $\mu$ g
(Pharmacia Biotech 之 Sigma 產品)	
TE 或無菌水	250 $\mu$ l

總體積                      250  $\mu$  l

#### DNA 濃度計算方法：

讀值 (ng/ml) x 1000 x 稀釋倍數 (若有稀釋時) =  $\mu$ g/ml = ng/ $\mu$ l

## 七、聚合 連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)

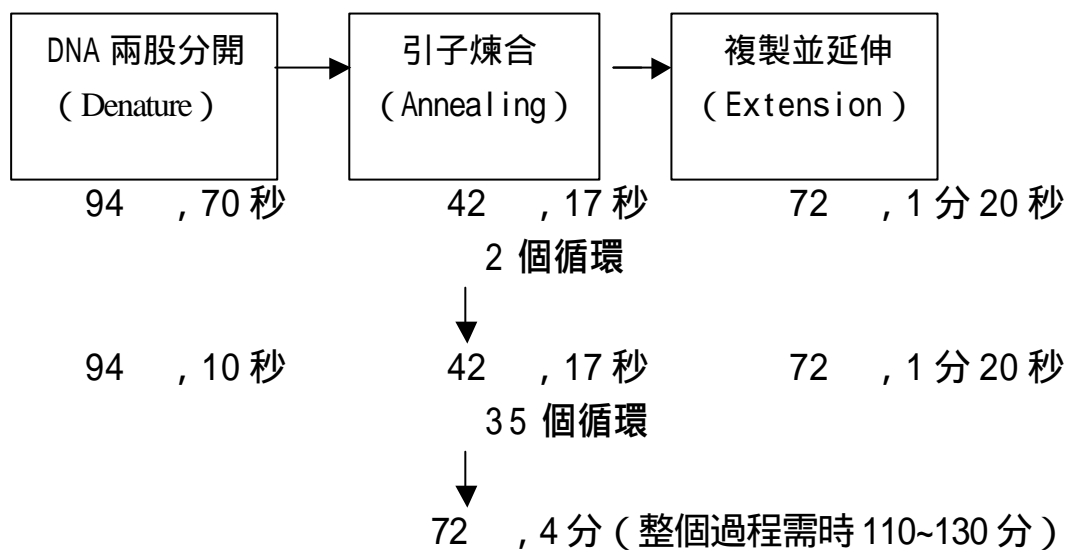
分析時根據 Skroch 和 Niehuis<sup>(91)</sup>、Witter<sup>(92)</sup> 等所發表之方法，並採



用 Idaho Technology 公司之 #1605 型 Air Thermo-Cycler 機器進行 PCR 反應。

20  $\mu$ l 之 PCR 反應液含 50 mM Tris (pH 8.3), 0.25mg/ml BSA, 0.5% Ficoll 400, 1.0 mM tetrazine, 3.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 n mole dNTPs, 0.8 unit Super Taq 聚合 (HT Biotechnology LTD), 20ng 之植物 DNA (作為板模 DNA), Operon 10-mer Kits (Operon Technologies, Inc.) 之 10-mer 核酸引子。PCR 反應液皆為新鮮配製, 經混勻後裝入毛細管, 用酒精燈將管子兩端燒熔, 以封閉再進行反應。所有步驟均在冰上 (約 0-4 ) 進行。

PCR 反應條件如下:



## 八、電泳分析 (Electrophoresis Analysis)<sup>(66, 89, 90)</sup>

藥品配製:

1. 6 X dye

40% (g/ml) sucrose, 0.25% (g/ml) bromophenol blue

2. 10 X TPE

0.89M Tris base, 0.026g/ml phosphoric acid, 0.02M EDTA (pH8.0)

3. 1 X TPE

取 10 X TPE 稀釋十倍即可

4. 1.4% 瓊脂膠片

4.2g agarose in 300ml 1 X TPE,

操作步驟:

1. 取 10  $\mu$ l 之 PCR 產物與 2  $\mu$ l 之 6 X dye 混勻。

2. 將上列之 PCR 產物以 1.4% 瓊脂膠進行電泳分離 (使用微量電泳槽 COSMO B10, Mupid-2; 100 伏特, 約 2.5 小時)。

3.以數位化影像分析系統 (Alpha Imager™ 2200 Documentation & Analysis) 拍照並電腦存檔，以便於作為判讀與分析之依據。



## 第二節 實驗結果

### 一、台灣產石松科植物核酸引子 (primers) 之篩選：

本研究經由百餘次之實驗，篩選出十六個核酸引子，又經過七十二次實驗，再篩選出下列 13 個核酸引子適用於石松科植物之 RAPD 標誌分析：

- 1.OPB-08 2.OPB-13 3.OPB-15 4.OPB-16 5.OPB-17 6.OPC-02 7.OPD-08  
8.OPD-15 9.OPE-01 10.OPE-08 11.OPE-12 12.OPE-15 13.OPW-09。

其中，最適宜 (DNA 指紋圖譜重複性較高者) 的為：OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09。

表 9 台灣產石松科 34 個樣品經 13 種引子分析之結果

植物材料	核酸引子												
	OPB-08	OPB-13	OPB-15	OPB-16	OPB-17	OPC-02	OPD-08	OPD-15	OPE-01	OPE-08	OPE-12	OPE-15	OPW-09
1.金不換 - 市 1	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
2.金不換 - 市 2	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3.長柄千層塔 (線漫) (87.7.5)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
4.長柄千層塔 (高峰)	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+
5.長柄千層塔 (線漫) (87.10.31)	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+
6.長柄千層塔 (凌霄殿)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	±	+	-	+
7.長柄千層塔 (武界)	+	-	±	-	+	+	+	+	+	±	±	-	+
8.長柄千層塔 (卓社)	+	-	+	-	+	+	+	+	+	±	+	-	+
9.長柄千層塔 (高台山)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10.長柄千層塔 (觀霧途中)	-	-	+	-	-	-	+	+	-	±	+	-	-
11.長柄千層塔 (阿里山)	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
12.長柄千層塔 (藤枝)	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
13.長柄千層塔 (達觀山)	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
14.阿里山千層塔 (檜山巨木群)	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
15.阿里山千層塔 (榛山)	-	-	+	-	-	-	+	+	-	±	+	-	-
16.玉 柏 (小風口)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
17.玉山石松 (小風口)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
18.杉葉蔓石松 (合歡山 35-36 公里處)	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
19.多穗石松 (榛山)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-

表 9 續

台灣產石松科 34 個樣品經 13 種引子分析之結果

植物材料	核酸引子												
	OPB-08	OPB-13	OPB-15	OPB-16	OPB-17	OPC-02	OPD-08	OPD-15	OPE-01	OPE-08	OPE-12	OPE-15	OPW-09
20. 多穗石松 (觀霧途中)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
21. 玉山地刷子 (九九山莊前)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
22. 玉山地刷子 (合歡山 35-36 公里處)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
23. 偽石松 (卓社)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
24. 偽石松 (高台山)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
25. 日本石松 (小風口)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
26. 日本石松 (合歡山 35-36 公里處)	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
27. 垂穗石松 (凌霄殿)	+	+	+		+	+	+	+	+	-	+	+	-
28. 木賊葉石松 (卓社)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
29. 垂枝石松 (百草谷藥園)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	±	+	-
30. 福氏石松 (龍雲山莊)	+	-	±	-	-	-	+	+	-	±	+	+	-
31. 杉葉石松 (太魯閣)	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
32. 相馬氏石松 (榛山)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
33. 反捲葉石松 (馬達拉溪登山口)	+	-	±	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
34. 覆葉石松 (新社)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	±	+	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、± 條帶不明顯、-無條帶

### 適於台灣產石松科 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

經實驗結果顯示，下列八個核酸引子適用於台灣產石松科 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 10 適用台灣產石松科 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核酸引子	核 酸 序 列
1. OPB-08	5' GTCCACACGG 3'
2. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
3. OPD-08	5' GTGTGCCCCA 3'
4. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
5. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
6. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'
7. OPE-15	5' ACGCACAACC 3'
8. OPW-09	5' GTGACCGAGT 3'

適於台灣產相馬氏石松和反捲葉石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列經本實驗結果顯示，下列五個核酸引子適合於台灣產相馬氏石松和反捲葉石松之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 11 適於相馬氏石松及反捲葉石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
2. OPD-08	5' GTGTGCCCCA 3'
3. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
4. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
5. OPE-15	5' ACGCACAACC 3'

適於台灣產玉柏和玉山石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列經由本研究顯示，下列八個核酸引子適用於台灣產玉柏和玉山石松之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 12 適用台灣產玉柏和玉山石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPB-08	5' GTCCACACGG 3'
2. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
3. OPD-08	5' GTGTGCCCCA 3'
4. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
5. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
6. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'
7. OPE-15	5' ACGCACAACC 3'
8. OPW-09	5' GTGACCGAGT 3'

適於台灣產杉葉石松和反捲葉石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列經由本研究顯示，下列四個核酸引子適用於台灣產杉葉石松和反捲葉石松之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 13 適於杉葉石松及反捲葉石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
2. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
3. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
4. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'

適於台灣產千層塔（金不換）RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列經由本研究顯示，下列二個核酸引子適用於台灣產千層塔（金不換）之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 14 適於千層塔（金不換）RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
2. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'

適於市場品千層塔（金不換）RAPD 標誌分析之核酸引子其及序列經由本研究顯示，下列二個核酸引子適用於市場品千層塔（金不換）之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 15 適於千層塔（金不換）RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
2. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'

適於台灣產偽石松和日本石松 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列  
經由本實驗結果顯示，下列四個核酸引子適用於台灣產偽石松和日本石松  
之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 16 適於偽石松和日本石松 RAPD  
標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
2. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
3. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
4. OPW-09	5' GTGACCGAGT 3'

適於台灣產地刷子和玉山地刷子 RAPD 標誌分析之核酸引子及其序列  
經由本實驗結果顯示，下列七個核酸引子適用於台灣產地刷子和玉山地刷  
子之 RAPD 標誌分析，其名稱及序列如表所示：

表 17 適用台灣產地刷子和玉山地刷子 RAPD  
標誌分析之核酸引子及其序列

核 酸 引 子	核 酸 序 列
1. OPB-08	5' GTCCACACGG 3'
2. OPB-15	5' GGAGGGTGTT 3'
3. OPD-08	5' GTGTGCCCCA 3'
4. OPD-15	5' CATCCGTGCT 3'
5. OPE-08	5' TCACCACGGT 3'
6. OPE-12	5' TTATCGCCCC 3'
7. OPW-09	5' GTGACCGAGT 3'

## 二、台灣產石松科植物之 RAPD 標誌分析

### 目的：

取適量植物 DNA, 利用 OPB-08 OPB-15 OPD-08 OPD-15 OPE-08 OPE-12 OPE-15 OPW-09 等八個核酸引子進行 PCR 分析, 擬初步了解並建立台灣產石松科植物之核酸指紋分析圖譜。

### 植物 DNA 材料：

- |                   |                     |
|-------------------|---------------------|
| 1.L.1：長柄千層塔（線浸）   | 9.L.9：木賊葉石松（卓社）     |
| 2.L.2：玉柏（小風口）     | 10.L.10：杉葉蔓石松（合歡山）  |
| 3.L.3：玉山石松（小風口）   | 11.L.11：垂枝石松（百草谷藥園） |
| 4.L.4：多穗石松（榛山）    | 12.L.12：覆葉石松（新社）    |
| 5.L.5：玉山地刷子（九九山莊） | 13.L.13：福氏石松（龍雲山莊）  |
| 6.L.6：偽石松（卓社）     | 14.L.14：杉葉石松（太魯閣）   |
| 7.L.7：日本石松（小風口）   | 15.L.15：相馬氏石松（榛山）   |
| 8.L.8：垂穗石松（凌霄殿）   | 16.L.16：反捲葉石松（登山口）  |



### 台灣產石松科植物之核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列八個核酸引子 1. OPB-08 2.OPB-15 3.OPD-08 4.OPD-15 5.OPE-08 6.OPE-12 7.OPE-15 8.OPW-09 將有助於本科之偵測與辨識。茲引用 OPE-15 之核酸指紋分析圖譜說明如下：

圖 3 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPE-15)

本指紋圖譜之核酸引子為 OPE-15，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (標準核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 長柄千層塔 (線漫) 2. 玉柏 (小風口) 3. 玉山石松 (小風口) 4. 多穗石松 (榛山) 5. 玉山地刷子 (九九山莊) 6. 偽石松 (卓社) 7. 日本石松 (小風口) 8. 垂穗石松 (凌霄殿) 9. 木賊葉石松 (卓社) 10. 杉葉蔓石松 (合歡山) 11. 垂枝石松 (百草谷藥園) 12. 覆葉石松 (新社) 13. 福氏石松 (龍雲山莊) 14. 杉葉石松 (太魯閣) 15. 相馬氏石松 (榛山) 16. 反捲葉石松 (馬達拉溪登山口)

使用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09 等八個核酸引子跑 PCR，PCR 產物經電泳後，進行核酸條帶分析，結果顯示十六種石松科植物彼此間有其共同性和差異性 (詳見下列各圖表說明) 若配合分子標誌，該核酸指紋圖譜可作為石松科植物鑑定之客觀輔助依據。

表 18

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-15)

電泳條帶 植物材料	500bp	600bp	650bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1250bp	1400bp	1500bp	1700bp	2100bp
1.長柄千層塔 (線漫)	+ 450	-	-	++	++	++	++ 950	++ 1100	+	+ 1550	-	+ 1850
2.玉柏 (小風口)	-	-	-	+	+	+	++	-	+	-	-	-
3.玉山石松 (小風口)	-	-	-	±	-	-	+	-	±	+ 1600	-	-
4.多穗石松 (榛山)	-	-	+	±	±	±	±	±	±	-	±	-
5.玉山地刷子 (九九山莊)	-	±	-	-	+	+	++	+	-	-	-	-
6.偽石松 (卓社)	±	-	+	±	+	-	++ 1100	+	-	-	-	-
7.日本石松 (小風口)	±	-	+	+	±	-	±	+	-	-	-	-
8.垂穗石松 (凌霄殿)	±	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
9.木賊葉石松 (卓社)	±	-	-	-	++	+++	+	+++	-	++	-	-
10.杉葉蔓石松 (合歡山)	+	-	-	-	++	++	-	+	-	++	-	-
11.垂枝石松 (百草谷藥園)	-	+	-	++	++	+++	+++ 1100	-	-	-	-	-
12.覆葉石松 (新社)	-	-	-	+	+	++	++ 1100	+	-	-	-	+
13.福氏石松 (龍雲山莊)	-	±	-	-	+	++	-	-	-	+	-	-
14.杉葉石松 (太魯閣)	±	-	-	++	++	++	++	++	-	-	+	-
15.相馬氏石松 (榛山)	-	±	-	-	-	++	++	±	-	-	±	-
16.反捲葉石松 (登山口)	-	±	-	±	±	-	±	±	-	-	±	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 19

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電泳條帶 植物材料	300bp	400bp	500bp	550bp	600bp	650bp	700bp	800bp	850bp	900bp	1000bp
1. 長柄千層塔 (線漫)	-	-	++	-	-	-	+	+++	-	-	+
2. 玉柏 (小風口)	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
3. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	-	-	+	++	++	-	-	+
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+++	+++ 950
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-
6. 偽石松 (卓社)	-	-	-	++	++	-	-	++	-	-	-
7. 日本石松 (小風口)	-	-	-	+	++	-	-	++	-	+++	-
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	+	+	-	-	++	-	-	+	-
9. 木賊葉石松 (卓社)	-	+	+++	-	-	-	+	-	-	++ 950	-
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	+	-	++	-	-	+	+++	-	+	-
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
12. 覆葉石松 (新社)	-	-	+++	-	-	-	+	-	-	+	-
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	-	-	+	-	-	+++	+++	-	-	++ 950	++
15. 相馬氏石松 (榛山)	-	-	++	-	-	-	+	+++	-	+++	++
16. 反捲葉石松 (登山口)	-	-	+	-	-	+++	+++	-	-	-	++

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 19 續

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電泳條帶 植物材料	1170bp	1250bp	1300bp	1400bp	1500bp	1600bp	1670bp	1840bp	2000bp	2200bp
1. 長柄千層塔 (線漫)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
2. 玉柏 (小風口)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3. 玉山石松 (小風口)	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	+++	+++	-	-	+	+	-	-
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	+	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-
6. 偽石松 (卓社)	-	-	-	+	+++	-	+	+	-	-
7. 日本石松 (小風口)	+++ 1100	-	-	-	-	-	-	-	+	-
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
9. 木賊葉石松 (卓社)	-	+++	-	++	-	-	-	-	+	++
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
	1100								2100	
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	+++	-	++	-	-	-	-	-
12. 覆葉石松 (新社)	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	-	-	++	-	-	++	-	-	-	-
15. 相馬氏石松 (榛山)	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
16. 反捲葉石松 (登山口)	-	-	++	-	-	+	-	-	-	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 20

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPB-08)

電泳條帶 植物材料	300bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1170bp	1200bp	1500bp	1750bp	1830bp	2000bp
1. 千層塔 (市3)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2. 長柄千層塔 (線漫)	-	±	-	±	±	±	-	-	+	-	-	-	-	-
3. 玉柏 (小風口)	-	-	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	±
4. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	-	±	-	-	-	+++	-	+++	-	±	-
5. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	+++	+	+++	+	-	++	+++	-	-	-
6. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	-	±	-	-	-	+++	-	-	-	+++	-
7. 偽石松 (卓社)	-	-	+	-	+++	-	-	+++	+++	-	±	-	+	-
8. 日本石松 (小風口)	-	-	+	-	+++	-	-	+++	+++	-	±	-	±	-
9. 垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. 木賊葉石松 (卓社)	-	-	-	+++	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-
11. 杉葉蔓石松 (合歡山)	±	±	±	±	++	+	++	++	+	++	-	±	-	-
12. 垂枝石松 (百草谷樂園)	-	-	+	+	+	±	+	-	-	-	±	-	-	-
13. 覆葉石松 (新社)	-	-	+	+	+	±	++	-	-	±	++	-	-	-
14. 福氏石松 (龍雲山莊)	±	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-
15. 杉葉石松 (太魯閣)	+	-	±	+	+	±	-	±	+	-	-	-	-	-
16. 反捲葉石松 (登山口)	+	-	±	+	+	±	-	±	+	-	-	-	-	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 21

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPW-09)

電泳條帶 植物材料	300bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1100bp	1170bp	1250bp	1340bp	1500bp	1600bp	1730bp	2000bp
	1. 長柄千層塔 (線浸)	+++ 550	-	-	-	-	+++	++	+++	-	-	++	-	-	++	-
2. 玉柏 (小風口)	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+
3. 玉山石松 (小風口)	-	±	-	++	-	+	-	+	-	-	-	+++	-	+	-	-
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	-	-	-	++	-	++	+++	-	-	-	-	-
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	++	+	+	-	-	-	++	++	++ 1400	-	-	-	-
6. 偽石松 (卓社)	-	-	-	+	-	+++	++	++	-	++	-	-	-	-	-	-
7. 日本石松 (小風口)	-	-	-	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	-	+	-	+++	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
9. 木賊葉石松 (卓社)	± 320	±	-	-	+	+++	-	-	-	++	±	++	-	-	-	-
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	±	+	-	+	-	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	+	-	+	++	++	-	+	-	-	+	+	±	±	-
12. 覆葉石松 (新社)	-	-	+	+	-	+++	++	+	+	-	++	++ 1400	+	±	-	-
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	++	±	-	-	-	±	-	-	±	-	±	-	+++	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	±	±	±	+	-	-	+	+	-	-	+	+	±	-	-	-
15. 反捲葉石松 (登山口)	±	±	±	+	-	-	+	+	-	-	+	+	±	-	-	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. + 表示有條帶存在、+++ 很明顯、++ 明顯、± 不明顯、- 無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 22

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-08)

電泳條帶 植物材料	250bp	300bp	350bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1170bp	1250bp	1400bp	1600bp	1800bp	2000bp	
	1.長柄千層塔 (線浸)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+ 950	-	-	-	-	-	-
2.玉柏 (小風口)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-	
3.玉山石松 (小風口)	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	+ 1000	-	-	-	-	-	
4.多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	+	-	-	-	-	-	
5.玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	±	-	-	-	-	±	-	+	+ 1000	-	-	-	-	-	
6.偽石松 (卓社)	-	-	-	+	±	+	-	±	+	+	-	-	±	-	-	-	
7.日本石松 (小風口)	-	-	-	±	-	+ 580	-	±	-	-	+ 1000	-	±	-	-	-	
8.垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	-	±	+	-	-	-	-	+	+++	-	-	-	-	-	
9.木賊葉石松 (卓社)	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
10.杉葉蔓石松 (合歡山)	-	-	-	-	-	± 550	+ 650	+++	+++	-	-	-	+	-	-	-	
11.垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	-	-	-	±	+ 680	-	+	+	++	-	-	-	-	-	+ 2100
12.覆葉石松 (新社)	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+++	-	-	++	-	
13.福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
14.杉葉石松 (太魯閣)	±	-	-	+	-	+	-	-	-	++	-	-	+	±	-	+ 1900	
15.相馬氏石松 (榛山)	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	1330
16.反捲葉石松 (登山口)	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+ 1900	

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 23

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPB-15)

電泳條帶 植物材料	300bp	350bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1100bp	1330bp	1500bp	1670bp
1. 長柄千層塔 (線浸)	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-
2. 玉柏 (小風口)	-	-	-	-	±	±	-	+	-	±	-	-	-
3. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	-	+++	+	-	-	±	-	-	-	-
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	++	+	+++	++ 950	+	+	±	-	-
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	-	+++	-	-	-	+	±	-	-	-
6. 偽石松 (卓社)	-	-	-	-	+++	-	++	-	-	++	-	±	±
7. 日本石松 (小風口)	+	-	± 450	-	±	-	-	-	++	++ 1170	±	±	±
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	+	-	-	-	+++	-	+	+	-	±	-	-	-
9. 木賊葉石松 (卓社)	±	±	±	-	±	-	±	-	-	±	+++	+	-
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	-	-	±	±	+	-	-	+++	+++	+++	++	+
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	-	-	+	+	-	-	++	++	±	-	-
12. 覆葉石松 (新社)	-	-	±	-	+++	-	-	-	+++	+++	±	-	+
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	++	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	-	-	±	-	±	-	±	-	±	-	-	±	-
15. 相馬氏石松 (榛山)	+	-	-	-	±	-	+	-	-	++ 1170	++	-	±
16. 反捲葉石松 (登山口)	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶



表 24

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-12)

電泳條帶 植物材料	300bp	400bp	500bp	550bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1250bp	1400bp	1500bp	1670bp	2000bp
1. 千層塔 (市3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2. 長柄千層塔 (線漫)	-	-	+	-	+	-	-	-	±	-	+	±	-	-
3. 玉柏 (小風口)	-	-	-	-	-	+++	+++	++	+++	-	-	-	-	-
4. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	+	-	-	± 1900
5. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	-	-	++	+	-	+	+	+	+	-	+
6. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	-	-	+	++	++	++	±	±	-	+	-
7. 偽石松 (卓社)	-	-	+	+	-	-	-	+++	-	+++	+	+	+	+
480														
8. 日本石松 (小風口)	-	-	+	++	-	±	-	+++	-	+	+	±	-	±
9. 垂穗石松 (凌霄殿)	-	-	-	-	+	+++	-	±	-	-	-	±	-	-
10. 木賊葉石松 (卓社)	+	±	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	±
380														
11. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	++	-	-	+	-	-	-	+	+	++	-	±	-
450													1600	
12. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	-	-	-	++	+	+	+	±	+	-	+	-
13. 覆葉石松 (新社)	-	-	-	+	-	+	++	++	+++	+	+	-	+	-
14. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	±	±	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-
15. 杉葉石松 (太魯閣)	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	±	±	-
16. 反捲葉石松 (登山口)	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	±	±	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 25

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-08)

電泳條帶 植物材料	400BP	500bp	600bp	650bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1100bp	1170bp
1. 長柄千層塔 (線漫)	-	±	+	-	+	-	+	-	-	±
2. 玉柏 (小風口)	++	± 550	±	-	±	±	+	+	±	-
3. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+++
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	+	-	-	-	++	-	-
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+++
6. 偽石松 (卓社)	±	-	-	-	+++	-	-	-	-	++
7. 日本石松 (小風口)	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	++
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	±	-	-	-	-	-	+++	-	-	+
9. 木賊葉石松 (卓社)	+	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	-	-	-	++	+	-	-	-	++
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	-	-	++	-	-	+	-	+	-
12. 覆葉石松 (新社)	-	-	-	-	++ 680	-	-	-	+	-
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	-	-	-	-	-	-	+++	++	-	-
15. 相馬氏石松 (榛山)	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-
16. 反捲葉石松 (登山口)	-	-	-	-	++	-	-	-	±	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 25 續

台灣產石松科植物之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPD-08 )

電泳條帶 植物材料	1250bp	1300bp	1400bp	2000bp	2250bp	2500bp	2670bp
1. 長柄千層塔 (線漫)	-	-	±	-	-	-	-
2. 玉柏 (小風口)	-	-	-	+	-	-	-
3. 玉山石松 (小風口)	-	+++	-	±	++	+	-
4. 多穗石松 (榛山)	-	-	-	+	-	++	-
5. 玉山地刷子 (九九山莊)	+++	-	-	+ 750	-	-	-
6. 偽石松 (卓社)	-	-	-	-	+++	-	-
7. 日本石松 (小風口)	+	-	-	-	-	-	-
8. 垂穗石松 (凌霄殿)	±	-	-	-	-	-	±
9. 木賊葉石松 (卓社)	±	-	-	-	-	-	-
10. 杉葉蔓石松 (合歡山)	-	-	-	-	-	-	-
11. 垂枝石松 (百草谷藥園)	-	+++ 1330	-	-	-	-	-
12. 覆葉石松 (新社)	±	-	-	-	-	-	-
13. 福氏石松 (龍雲山莊)	±	-	-	-	-	-	-
14. 杉葉石松 (太魯閣)	±	-	-	-	-	-	-
15. 相馬氏石松 (榛山)	±	-	-	-	-	-	-
16. 反捲葉石松 (登山口)	±	-	-	-	-	-	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

### 三、台灣產相馬氏石松和反捲葉石松之 RAPD 標誌分析

#### 目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08 及 OPE-15 等五個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解台灣產相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜，及其客觀輔助鑑別方法。

#### 植物 DNA 材料：

- 1.L.1：杉葉石松（太魯閣）
- 2.L.2：相馬氏石松（榛山）
- 3.L.3：反捲葉石松（登山口）
- 4.L.4：覆葉石松（新社）

#### 台灣產相馬氏石松和反捲葉石松之核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列五個核酸引子：1.OPB-15 2.OPD-08 3.OPD-15 4.OPE-08 5.OPE-15 將有助於二者之偵測與辨識。茲引用 OPD-15 之核酸分析指紋圖譜說明如下：

#### 甲、實驗組：

1. 實驗組包含相馬氏石松和反捲葉石松。
2. 條帶類型 (band type) 顯現多型性 (polymorphism)。
3. 條帶類型相似性低。

#### 乙、對照組：

1. 對照組包含杉葉石松和覆葉石松
2. 條帶類型顯示多型性。
3. 條帶類型與實驗組不同。

圖 4 台灣產相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜 (OPD-15)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-15，電泳跑道 L.100bp、M.1kb (標準核酸分子量標誌)，電泳跑道 1.杉葉石松(太魯閣) 2.相馬氏石松(榛山) 3.反捲葉石松(登山口) 4.覆葉石松(新社)，2.、3.為實驗組，1.、4.為對照組。

### 丙、台灣產相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜

表 26 相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電泳條帶	相馬氏石松	反捲葉石松
相似處	1.700bp	++
	2.1000bp	++
	3.1600bp	+
相異處	1.500bp	++
	2.650bp	-
	3.800bp	+++
	4.900bp	+++
相異處	5.1250bp	+++
	6.1300bp	-
	7.1400bp	+
	8.2000bp	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

由圖 17 及表 26 顯示出相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜條帶之差異性較，共同性較少；於 500bp、650bp、800bp、900bp、1250bp、1300bp、1400bp、2000bp 二者之表現不同，可以區別。於 700bp、1000bp、1600bp 二者均有條帶。

表 27 相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-08)

電泳條帶	相馬氏石松	反捲葉石松
相似處	1.1330bp	+++
	2.1400bp	+
相異處	1.350bp	+
	2.600bp	-
	3.700bp	+
	4.1000bp	-
相異處	5.1600bp	-
	6.1900bp	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、-無條帶

由圖 15 及表 27 顯示出相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜條帶之差異性較，共同性較少；於 350bp、600bp、700bp、1000bp、1600bp、1900bp、二者之表現不同，可以區別。於 1300bp、1400bp 二者均有條帶。

表 28 相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPE-15 )

電 泳 條 帶		相 馬 氏 石 松	反 捲 葉 石 松
相 似 處	1.600bp	+	+
	2.1250bp	+	+
	3.1700bp	+	+
相 異 處	1.750bp	-	+
	2.900bp	++	-
	3.1000bp	++	-

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、-無條帶

由圖 3 表 28 顯示出相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜條帶之差異性與共同性相當；於 750bp 900bp 1000bp 二者之表現不同，可以區別。於 600bp、1250bp、1700bp 二者均有條帶。

表 29 相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-15 )

電 泳 條 帶	相 馬 氏 石 松	反 捲 葉 石 松
1.300bp	+	-
2.800bp	+	-
3.1173bp	++	-
4.1330bp	++	-
5.600bp	±	±

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、±不明顯、-無條帶

由圖 16 及表 29 顯示出相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜條帶之差異性較多，共同性較少；於 300bp、800bp、1170bp、1330bp 二者之表現不同，可以區別。於 600bp、二者之條帶均不明顯。

表 30 相馬氏石松與反捲葉石松之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPD-08 )

電 泳 條 帶	相 馬 氏 石 松	反 捲 葉 石 松
相 似 處		
1.1100bp	-	-
2.1250bp	±	±
相 異 處		
1.700bp	-	++
2.900bp	++	-

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. ++ 表示條帶明顯、± 不明顯、- 無條帶

由圖 19 及表 30 顯示出相馬氏石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜條帶之差異性與共同性相當；於 700bp 900bp 二者之表現不同，可以區別。於 1100bp 1250bp 二者均無條帶或條帶不明顯。

依據核酸引子 OPD-15、OPE-08、OPE-15、OPB-15、OPD-08 所作之核酸分析指紋圖譜及表 26、27、28、29、30 等顯示出，相馬氏石松和反捲葉石松之條帶相似性不高，此點印證了二者外部形態分類之論點，也就是說，相馬氏石松和反捲葉石松應是不同種之植物，其核酸指紋圖譜自然也就有差異。

#### 四、台灣產玉柏和玉山石松之 RAPD 標誌分析

目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15 及 OPW-09 等八個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解台灣產玉柏和玉山石松之核酸指紋圖譜，及其客觀輔助鑑別方法。

植物 DNA 材料：

- 1.L.1：千層塔（線浸）
- 2.L.2：玉柏（小風口）
- 3.L.3：玉山石松（小風口）
- 4.L.4：多穗石松（榛山）

#### 台灣產玉柏和玉山石松核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列八個核酸引子：1.OPB-08、2.OPB-15、3.OPD-08、4.OPD-15、5.OPE-08、6.OPE-12、7.OPE-15、8.OPW-09 將有助於玉柏和玉山石松之偵測與鑑識。茲提供 OPW-09 之核酸指紋圖譜說明如下：

甲、實驗組：

1. 實驗組包含玉柏和玉山石松。
2. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
3. 條帶類型相似性低。

乙、對照組：

1. 對照組包含長柄千層塔和多穗石松。
2. 條帶類型顯示多型性。
3. 條帶類型與實驗組不同。

圖 5 台灣產玉柏和玉山石松之核酸指紋圖譜（OPW-09）

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPW-09，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb（標準核酸分子量標誌），電泳跑道 1. 長柄千層塔（線浸） 2. 玉柏（小風口） 3. 玉山石松（小風口） 4. 多穗石松（榛山），2.、3. 為實驗組，1.、4. 為對照組。



### 丙、台灣產玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜

表 31 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPW-09)

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
相 似 處	1.700bp	-
	2.800bp	+ (780)
	3.1600bp	+
相 異 處	1.500bp	+
	2.600bp	-
	3.900bp	+
	4.1000bp	±
	5.1170bp	+
	6.1250bp	+
	7.1370bp	-
	8.2000bp	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

圖 13 及表 31 顯示出，玉柏和玉山石松之核酸條帶共同性小、差異性較大，其共同性為：於 800bp、1000bp、1600bp 二者均有條帶或條帶不明顯，700bp 二者均無條帶。其差異性則為：於 500bp、900bp、1170bp、1250bp、2000bp 等五處，玉柏均有條帶，而玉山石松則無條帶。於 600bp、1370bp，玉柏均有條帶，而玉山石松均條帶明顯。可見，二者似應為不同之品種。

表 32 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
1.130bp	+	-
2.400bp	+	-
3.600bp	+	-
4.650bp	-	+
5.700bp	-	++
6.800bp	-	++
7.900bp	+	-
8.1300bp	-	+++
9.1400bp	-	+++
10.1500bp	+	-
11.1000bp	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

圖 7 及表 32 顯示，二者核酸條帶幾無共同性（1000bp 除外，二者均有條帶），差異性很大：於 130bp、400bp、600bp、900bp、1500bp 等五處，玉柏均有條帶，而玉山石松則無條帶。於 650bp、700bp、800bp、1300bp、1400bp 等五處，玉柏無條帶，而玉山石松則有條帶，且有些很明顯。可見，二者似應為不同之品種。

表 33 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPB-08）

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
1.500bp	+	-
2.700bp	-	+
3.800bp	+	-
4.1170bp	-	+++
5.1500bp	+	+++
6.1830bp	-	+
7.2000bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、-無條帶

圖 14 及表 33 顯示，二者之差異性很大，無共同性，其差異性如下：於 500bp、800bp、1500bp、2000bp 等四處，玉柏均有條帶，而玉山石松均無條帶（然 1500bp 條帶很明顯）。於 700bp、1170bp、1830bp 等三處，玉柏均無條帶，而山石松有條帶或條帶很明顯。可見，二者似應為不同之品種。

表 34 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPD-08）

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
相 似 處	1.950bp	+
	2.1000bp	+
	3.2000bp	+
相 異 處	1.400bp	++
	2.1100bp	+
	3.1170bp	-
	4.1300bp	-
	5.2250bp	++
	6.2500bp	+
	7.>3000bp	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

圖 21 及表 34 顯示，玉柏和玉山石松之共同性小、差異性較大，其共同性為：於 950bp、1000bp、2000bp 二者均有條帶。其差異性為：於 1170bp、1300bp、2250bp、2500bp、>3000bp 等五處，玉柏均無條帶，而玉山石松則有條帶或條帶明顯。於 400bp、1100bp 玉柏均有條帶或條帶明顯，而玉山石松則均無條帶。由核酸條帶之差異性大判斷，二者似應為不同之品種。

表 35 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPE-12）

電泳條帶	玉柏	玉山石松
1.700bp	+++	-
2.800bp	+++	++
3.900bp	++	+
4.1000bp	+++	-
5.1400bp	-	+
6.1900bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

圖 20 及表 35 顯示二者之共同性小、差異性較大，其共同性為：於 800bp、900bp 二者皆有條帶或條帶明顯。其差異性為：於 700bp、800bp、900bp、1000bp 等四處，玉柏呈++或+++，而玉山石松呈-、+或++（顯示無條帶或條帶明顯程度不同，與玉柏之條帶可以區別）。於 1400bp、1900bp 玉柏無條帶，而玉山石松均有條帶，可見玉柏和玉山石松核酸條帶之差異性較大，二者似應為不同之種原。

表 36 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPE-15）

電泳條帶	玉柏	玉山石松
1.700bp	+	+
2.800bp	+	±
3.900bp	+	-
4.1000bp	++	-
5.1400bp	+	-
6.1600bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 3 表 36 玉柏和玉山石松之差異性較大，其共同性為：於 700bp、800bp 二者均有條帶。其差異性為：於 900bp、1000bp、1400bp，玉柏均有條帶，而玉山石松則無條帶。於 1600bp 玉柏無條帶，而玉山石松則有條帶。由二者之核酸條帶差異性大顯示出，玉柏和玉山石松似應為二個不同之品種。

表 37 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPE-08）

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
1.400bp	-	+
2.500bp	-	+
3.1100bp	-	+
4.1170bp	++	-
5.1600bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、-無條帶

圖 15 及表 37 顯示，玉柏和玉山石松之核酸條帶差異性很大，幾無共同性，二者似應為不同之種類。其差異性說明如下：於 400bp、500bp、1100bp，玉柏皆無條帶，而玉山石松則有條帶。於 1170bp、1600bp 玉柏均有條帶或條帶明顯，而玉山石松則均無條帶。

表 38 玉柏與玉山石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPB-15)

電 泳 條 帶	玉 柏	玉 山 石 松
1.600bp	+	+++
2.700bp	+	++
3.900bp	+	-
4.1000bp	-	±
5.1100bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 16 表 38 顯示，玉柏和玉山石松之差異性較大，二者似應為不同之種類。其共同性為：於 600bp、700bp 二者均有條帶或條帶很明顯。於 900bp、1100bp 玉柏有條帶，而玉山石松則無條帶。於 1000bp 玉柏無條帶，而玉山石松則條帶不明顯。

綜合上列核酸分析圖譜 (OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09 等八個核酸引子) 得知，玉柏和玉山石松之核酸指紋圖譜差異性很大 (尤其是 OPB-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12 之核酸指紋圖譜幾無共同性，偵測效果最好)，此點與以外部形態學作為分類之依據相吻合，亦即是玉柏和玉山石松之外部形態差異性較大，其核酸指紋圖譜相對地差異性亦較大，二者可以區別。

## 五、台灣產杉葉石松和反捲葉石松之 RAPD 標誌分析

## 目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-08、OPD-15、OPE-08 及 OPE-12 等四個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解台灣產杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜，及其客觀輔助鑑別方法。

## 植物 DNA 材料：

- |                 |                  |
|-----------------|------------------|
| 1.L.1：覆葉石松（新社）  | 3.L.3：杉葉石松（太魯閣）  |
| 2.L.2：福氏石松（奮起湖） | 4.L.4：反捲葉石松（登山口） |

## 台灣產杉葉石松和反捲葉石松之核酸分析指紋圖譜

就外部形態而言，台灣產杉葉石松與反捲葉石松很不相同，然其核酸指紋圖譜卻很相似。依據本實驗結果顯示下列四個核酸引子：1.OPB-08、2.OPD-15、3.OPE-08、4.OPE-12 將有助於玉柏和玉山石松之偵測與鑑識。茲提供 OPB-08 之核酸指紋圖譜說明如下：

### 甲、實驗組：

1. 實驗組包含杉葉石松和反捲葉石松。
2. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
3. 條帶類型相似性大、差異性小。

### 乙、對照組：

1. 對照組包含覆葉石松和福氏石松。
2. 條帶類型顯示多型性。
3. 條帶類型與實驗組不同。

圖 6 台灣產杉葉石松和反捲葉石松之核酸分析指紋圖譜（OPB-08）

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPB-08，電泳跑道：L. 100bp、M.1kb（標準核酸分子量 誌），電泳跑道：1.覆葉石松（新社）2.福氏石松（奮起湖）3.杉葉石松（太魯閣）4.反捲葉石松（登山口），3.4. 為實驗組，1.2. 為對照組。

## 丙、台灣產杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜

表 39 杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPB-08)

電 泳 條 帶	杉 葉 石 松	反 捲 葉 石 松
1.400bp	+	+
2.500bp	±	±
3.550bp	+	+
4.600BP	+	+
5.700bp	±	± (750)
6.1000bp	±	±
7.1170bp	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、±不明顯、

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

依據圖 6 及表 39 顯示出，杉葉石松和反捲葉石松之核酸條帶的共同性較大、差異性較小，二者似應為同一種植物。其共同性為：於 400bp、550bp、600bp、1170bp 等四處，二者均有條帶，於 500bp、1000bp，二者之條帶均不明顯。其差異性為：於 700bp 杉葉石松之條帶不明顯，而反捲葉石松則無條帶，於 750bp 杉葉石松無條帶，而反捲葉石松之條帶則不明顯。

表 40 杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電 泳 條 帶	杉 葉 石 松	反 捲 葉 石 松
1.500bp	+	+
2.650bp	+++	+++
3.700bp	+++	+++
4.1000bp	++ (950)	++
5.1300bp	++	++
6.1600bp	++	+
7.950bp	++	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

依據圖 17 表 40 顯示出，杉葉石松和反捲葉石松之核酸條帶的共同性較大、差異性較小，二者似應為同一種植物。其共同性為：於 500bp、650bp、700bp、1300bp、1600bp 等五條帶，二者均有反應，呈 +、++ 或 +++。其差異性為：於 950bp 杉葉石松之條帶明顯，而反捲葉石松則無條帶，於 1000bp 杉葉石松無條帶，而反捲葉石松之條帶則明顯。

表 41 杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPE-08）

電 泳 條 帶	杉 葉 石 松	反 捲 葉 石 松
1.250bp	±	-
2.400bp	+	+
3.600bp	+	+
4.1000bp	++	+
5.1400bp	+	+
6.1600bp	±	+
7.1900bp	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、±不明顯、-無條帶

依據圖 15 及表 41 顯示出，杉葉石松和反捲葉石松之核酸條帶的共同性較大、差異性較小，二者似應為同一種植物。其共同性為：於 400bp、600bp、1000bp、1400bp 和 1900bp 等五處，二者均有條帶。其差異性為：於 250bp 杉葉石松之條帶不明顯，而反捲葉石松則無條帶，於 1600bp 杉葉石松之條帶不明顯，而反捲葉石松之條帶則明顯。

表 42 杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPE-12 )

電 泳 條 帶	杉 葉 石 松	反 捲 葉 石 松
1.600bp	+	+
2.700bp	+	+
3.1250bp	+	+
4.1500bp	±	±
5.1670bp	±	±

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、±不明顯、

依據圖 18 及表 42 顯示出，杉葉石松和反捲葉石松之核酸指紋條帶的共同性很大，無差異性存在，二者似應為同一種植物。其共同性為：於 600bp、700bp、1250bp 等三處，二者均有條帶，於 1500bp、1670bp，二者之條帶均不明顯。

就 OPB-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12 等之核酸指紋圖譜顯示，二者條帶之共同性大、差異性小 (OPB-15、OPD-15、OPE-08 等三個引子之核酸圖譜，有兩個條帶顯現出二者之反應不同，而 OPE-12 之核酸圖譜條帶則無差異性存在)，此點暗示二者之血緣關係很接近，亦即是杉葉石松和反捲葉石松似應為同一種植物，然二者之外部形態卻截然不同，其種原之客觀鑑定依據有賴更多研究提出佐證。



## 六、台灣產千層塔（金不換）RAPD 之標誌分析

目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-12 等核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解並建立台灣產金不換之核酸指紋分析圖譜。

植物 DNA 材料：

- |                   |                     |
|-------------------|---------------------|
| 1.L.1：長柄千層塔（線浸）   | 7.L.7：長柄千層塔（藤枝）     |
| 2.L.2：長柄千層塔（觀霧途中） | 8.L.8：長柄千層塔（達觀山）    |
| 3.L.3：長柄千層塔（凌霄殿）  | 9.L.9：阿里山千層塔（檜山巨木群） |
| 4.L.4：長柄千層塔（武界）   | 10.L.10：阿里山千層塔（榛山）  |
| 5.L.5：長柄千層塔（卓社）   | 11.L.11：玉山石松（小風口）   |
| 6.L.6：長柄千層塔（阿里山）  | 12.L.12：杉葉蔓石松（合歡山）  |

### 台灣產千層塔（金不換）核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列二個核酸引子：OPD-15、OPE-12 將有助於台灣產千層塔之偵測。由 OPE-12 引子所得之核酸指紋圖譜，顯示出台灣產兩種千層塔（來自十個不同產地）之條帶特徵十分一致，具有共同之條帶 800bp、850bp。而 OPD-15 之核酸指紋分析圖譜，除印證台灣產千層塔有長柄千層塔和阿里山千層塔外，似乎尚可將長柄千層塔區分為 A、B 兩族群。至於 OPB-15、OPD-08 二個引子之核酸分析結果顯示，與台灣產千層塔之外部形態分類之結果相去甚遠，茲引用 OPD-15 說明如下：

甲、實驗組：

1. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
2. 條帶類型相似。
3. 實驗組植物來源於不同地點，分為 A、B、C 三組：  
實驗組 A（線浸、觀霧、凌霄殿、武界）之條帶相似性較高。  
實驗組 B（卓社、阿里山、藤枝、達觀山）之條帶相似性較高。  
實驗組 C（檜山巨木群、榛山）之條帶相似性較高，與 A、B 組不相同
4. A、B 兩組之條帶類型存在有差異性，此點可直接印證，該兩組植物之

外部形態不同之說法，亦即是，就外部形態之比較（請見本論文 p. 15、29）和核酸指紋圖譜之共同性而言，A、B 兩組似應為不同之族群。

## 乙、對照組：

1. 條帶類型顯示多型性。
2. 條帶類型與實驗組不同。

圖 7 台灣產千層塔（金不換）之核酸指紋圖譜（OPD-15）

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-15，電泳跑道為 L.100bp、M.1kb（核酸分子量標誌），電泳跑道為長柄千層塔（來自於 8 個不同採集地點）及阿里山千層塔（來自於兩個不同採集地點：1.線浸、2.觀霧、3.凌霄殿、4.武界、5.卓社、6.阿里山、7.藤枝、8.達觀山、9.檜山巨木群、10.榛山（電泳跑道 1 至 10 為實驗組），電泳跑道 11.玉柏（*Lycopodium obscurum* L.） 12.玉山石松（*L.veitchii* D. Christ） 13.杉葉蔓石松（*L. annotinum* L.）為對照組，三者皆為石松科、石松屬植物，與千層塔（*L. serratum* Thunb.）之親緣關係較接近。

## 丙、台灣產千層塔（金不換）核酸分析指紋圖譜

表 43 台灣產千層塔（金不換）核酸指紋圖譜（核酸引子 OPD-15）

電泳條帶 植物材料	220bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	950bp	1000bp	1170bp	1300bp	1400bp	1500bp	1750bp
	1.長柄千層塔 （線浸）	-	-	+	-	-	-	++	-	±	-	+	-	-
2.長柄千層塔 （觀霧途中）	-	-	+	-	-	-	++	-	±	-	+	-	-	-
3.長柄千層塔 （凌霄殿）	-	-	+	-	-	-	++	-	+	-	+	-	-	-
4.長柄千層塔 （武界）	-	-	+	-	+	-	++	-	±	-	+	-	-	-
5.長柄千層塔 （卓社）	-	-	±	-	++	-	-	+	±	-	++	-	-	±
6.長柄千層塔 （阿里山）	-	±	+	-	++	+	++	-	±	-	++	-	-	-
7.長柄千層塔 （藤枝）	-	±	-	-	++	++	++	-	±	-	++	-	-	-
8.長柄千層塔 （達觀山）	-	±	++	-	++	+++	-	++	+	-	++	-	-	-
9.阿里山千層塔 （檜山）	-	±	+	-	++	-	+	+	±	-	-	-	-	-
10.阿里山千層塔 （榛山）	-	±	++	-	++	-	+	+	+	+	+	-	-	-
11.玉柏 （小風口）	+	-	+	-	±	-	-	-	+	-	+	-	+	-
12.玉山石松 （小風口）	-	-	+	-	-	+	++	-	+	-	+++	+++	-	+
13.杉葉蔓石松 （合歡山）	-	±	-	+	-	+	-	+++	+	+	-	-	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 44

長柄千層塔與阿里山千層塔之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電泳條帶	植物材料	長柄千層塔 A				長柄千層塔 B				阿里山千層塔	
		線浸	觀霧途中	凌霄殿	武界	卓社	阿里山	藤枝	達觀山	檜山	榛山
1.500bp		+	+	+	±	+	+	-	++	+	++
2.700		-	-	-	+	++	++	++	++	++	+
3.800		-	-	-	-	-	+	++	+++	-	-
4.900		++	++	++	++	+ 950	++ 950	++ 900 950	++ 950	+	+
5.1000		±	±	+	±	±	±	±	+	±	+
6.1170		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7.1300		+	+	+	+	++	++	++	++	-	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

依據圖 7 及表 43 顯示，由外部形態所區分之三個千層塔族群，其共同保有之條帶為 500bp (藤枝除外) 和 1000bp，而由條帶 1300bp 可區分長柄千層塔和阿里山千層塔的不同。長柄千層塔除武界和卓社外，其餘產地的 A 群和 B 群可藉由條帶 700bp 和 800bp 區分之。而族群內其核酸指紋圖譜類似，然經仔細觀察後發現彼此間仍有差異，其異同點如下 (見表 44)：

線浸、觀霧途中、凌霄殿、武界自成一族群 (長柄千層塔 A)：

1.條帶類型 (band type) 很相似：

500bp 皆為 (+)、700bp 一般為 (-)、900bp 皆為 (+)

1000bp 一般為 (+) 或 (±)、1300bp 均為 (+)。

2.個體間存在著差異性：

700bp 一般為 (-) (產於武界者為+)

1000bp 一般為 (±) (產於凌霄殿者為+)。

### 卓社、阿里山、藤枝、達觀山自成一族群（長柄千層塔 B）

#### 1. 條帶類型（band type）很相似：

500bp 一般為（+）、700bp 皆為（+）、800bp 一般為（+）、  
950bp 皆為（+）、1000bp 一般為（±）（產於達觀山者為+）、  
1170bp 均為（-）、1300bp 均為（+）。

#### 2. 個體間存在著差異性：

500bp 一般為（+）（產於藤枝者為-）、  
800bp 一般為（+）（產於卓社者為-）、  
1000bp 一般為（±）（產於達觀山、阿里山者為+）、  
950bp 均為（+）（產於藤枝者 900bp 亦為+）。

### 檜山、榛山自成一族群（阿里山千層塔）

#### 1. 條帶類型（band type）很相似：

500bp 均為（+）、700bp 均為（+）、800bp 皆為（-）、900bp 皆為（+）、  
1000bp 皆為（+）或（±）、1300bp 皆為（-）。

#### 2. 個體間存在著差異性：

1000bp 檜山為（±）、榛山為（+）、1170bp 檜山為（-）、榛山為（+）。

可見本核酸指紋圖譜分析之結果與外部形態學分類之結果是一致的。亦就是台灣產金不換（千層塔）可分為有三個族群：長柄千層塔 A、長柄千層塔 B（*L. serratum* Thunberg var. *longipetiolatum* Spring）和阿里山千層塔（*L. serratum* Thunberg var. *myriophyllifolium* Hayata）。

由 OPE-12 引子所得之核酸指紋圖譜（p. 116 圖 20），顯示出來自十個不同產地之長柄千層塔和阿里山千層塔，其條帶特徵十分一致，具有共同之條帶 800bp、850bp。該條帶似乎可以作為初步篩選台灣產千層塔之依據。

表 45 台灣產千層塔（金不換）之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPD-08）

電泳條帶 植物材料	300bp	400bp	500bp	600bp	700bp	800bp	900bp	1000bp	1100bp	1200bp	1330bp	1500bp	2000bp	2330bp	3000bp 以上
1. 金不換 (市 1)	-	+	-	+ 650	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. 金不換 (市 2)	+	+	+	+	+	-	++ 850	-	-	-	-	+	-	-	-
3. 長柄千層塔 (線浸)	-	-	+	±	+ 750	-	+	++	-	-	+	-	-	-	-
4. 長柄千層塔 (觀霧途中)	-	-	+	-	+ 750	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
5. 長柄千層塔 (凌霄殿)	-	-	+	-	+ 750	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
6. 長柄千層塔 (武界)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. 長柄千層塔 (卓社)	-	+ 450	-	-	+++	+++	+++ 950	-	-	-	+++	-	-	-	+
8. 長柄千層塔 (阿里山)	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. 長柄千層塔 (滕枝)	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. 長柄千層塔 (達觀山)	-	+ 450	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
11. 阿里山千層塔 (檜山)	-	+ 450	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
12. 阿里山千層塔 (榛山)	-	+ 450	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
13. 玉柏 (小風口)	-	+++	+	-	-	-	-	+	+	+++	-	-	++	-	-
14. 玉山石松 (小風口)	-	-	-	±	-	+	-	-	+++	+++	-	+	-	+	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 46

台灣產千層塔 A、B 族群之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-08)

植物 材料 電泳 條帶	千層塔 A 族群							千層塔 B 族群		
	線浸	觀霧 途中	凌霄殿	卓社	達觀山	檜山	榛山	武界	阿里山	藤枝
1.400bp	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++
2.450	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
3.750	+	+	+	+++	-	-	-	-	-	-
4.800	-	-	-	+++	+	+	+	-	-	-
5.900	+	+	+	+++ 950	+	+	+	-	-	-
6.1000	++	+	+	+++	+	+	+	-	-	-
7.1400	+	+	+	+++ 1330	+	+	+	-	-	-
8.3000 以上	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

依據圖 21 及表 45 顯示，台灣產千層塔 (金不換) 應可歸類為兩種，其歸類與區別見表 46，可分為千層塔 A 和 B 群，A 群又可細分為三類，線浸、觀霧途中和凌霄殿一類，卓社自成一類，達觀山、檜山、榛山又是一類。然而一般之長柄千層塔與產於檜山和榛山的阿里山千層塔，其核酸指紋圖譜雖然近似，但其外部形態卻相去甚遠，尤其是產於武界之長柄千層塔與之相差更遠。產於武界、阿里山、藤枝之長柄千層塔屬於 B 群。

至於用 OPB-15 核酸引子所作之核酸分析指紋圖譜 ( p.94 圖 9 ), 亦顯示台灣產千層塔分為三個族群, 即千層塔 A ( 產於線浸、觀霧途中、凌霄殿者 ) 千層塔 B ( 產於檜山、榛山者 ) 及千層塔 C ( 產於卓社、達觀山者 ), 然而 B 和 C 族群之外觀特徵與其核酸標誌分析結果, 相去甚遠, 另外產於武界、阿里山、藤枝之長柄千層塔, 其 OPB-15 核酸指紋圖譜之條帶差異性較大, 很難一致。台灣產千層塔之種原複雜, 目前難下結論, 有待更多實驗佐證之。其詳細說明如下:

1. 千層塔 A 族群:

其外部形態和核酸指紋圖譜較一致, 包含產於線浸、觀霧途中、和凌霄殿之長柄千層塔, 三者之外部形態相同, 疑為同一種植物。其核酸條帶之共同性為: 於 500bp、600bp 三者之條帶均很明顯, 於 800bp 三者均有條帶。其差異性為: 於 900bp 僅凌霄殿有條帶, 於 950bp 僅線浸、觀霧途中有條帶。可見其共同性較大, 差異性較小, 二者似應為同一種植物。詳見表 47。

2. 千層塔 B 族群:

其外部形態和核酸指紋圖譜較一致, 包含產於檜山、榛山之長柄千層塔, 二者之外部形態相同, 疑為同一種植物。其核酸條帶之共同性為: 於 500bp、600bp、950bp、1170bp 及 1250bp 二者之條帶均明顯或很明顯, 於 700bp、800bp、>3000bp 二者均無條帶。其差異性為: 於 300bp 檜山之條帶不明顯, 而榛山則無條帶, 於 1800bp 檜山無條帶, 而榛山則有條帶。可見其共同性較大, 差異性較小, 二者似應為同一種植物。詳見表 48。

3. 千層塔 C 群:

其外部形態和核酸指紋圖譜較不一致, 包含產於卓社、達觀山之長柄千層塔, 二者之外部形態不相同, 可以區別。其核酸條帶之共同性為: 於 500bp、600bp、950bp、1170bp 二者均有條帶, 甚至條帶很明顯, 於 300bp、1250bp 二者均無條帶。其差異性為: 於 700bp、800bp、1800bp、>3000bp, 卓社皆有條帶或條帶明顯, 而達觀山則無條帶。可見其共同性較大, 差異性較小。就 OPB-15 之核酸指紋圖譜而言, 二者似應為同一種植物, 然其外部形態不同。詳見表 49。

4. 其他產地之千層塔:

其外部形態和核酸指紋圖譜較不一致, 包含產於武界、阿里山、藤枝之長柄千層塔, 前者與後二者之外部形態不相同, 可以區別。其核酸條帶之共同性為: 於 700bp、800bp 三者均有條帶或條帶明顯。其差異性則見於 700bp、800bp 以外之各條帶。



阿里山、藤枝之長柄千層塔，其外部形態相同，然其核酸條帶之差異性大。其差異性為：於 300bp、950bp 產於藤枝者有條帶或條帶明顯，而產於阿里山者則無條帶，於 350bp、450bp、500bp、900bp，產於藤枝者無條帶，而產於阿里山者則有條帶或條帶明顯。其共同性為：於 550bp、700bp 二者皆有條帶或條帶明顯，於 600bp、900bp 二者皆無條帶。就 OPB-15 之核酸指紋圖譜而言，二者似為不同之種類。就產於武界和阿里山之長柄千層塔而言，其外部形態不甚相似，其核酸條帶之差異性較大。其差異性為：於 350bp、500bp、550bp，產於阿里山者皆有條帶或條帶明顯，而產於武界者則無條帶，於 300bp、600bp、900bp 產於阿里山者無條帶，而產於武界者則有條帶。其共同為：於 450bp、700bp、800bp，產於阿里山者皆有條帶或條帶明顯，而產於武界者則無條帶，於 950bp 二者皆無條帶。因此就 OPB-15 之核酸條帶之差異性較大而言，二者似應為不同之種類。詳見表 50。

表 47 台灣產千層塔 A 族群之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPB-15）

植物材料 電泳條帶	線	浸觀霧途中	凌霄殿
1.500bp.	+++	+++	+++
2.600bp	+++ 550	+++	+++
3.800bp	+	+	+
4.950bp	+	+	++

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、

3.符號下方之數字表示條帶微偏離原標定條帶

表 48 台灣產千層塔 B 族群之

表 49 台灣產千層塔 C 族群之

核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-15 )

電泳條帶	植物材料	
	阿里山千層塔	檜山
1. 300bp	±	-
2. 500bp	++	++
3. 600bp	++	++
4. 700bp	-	-
5. 800bp	-	-
6. 950bp	++	+++
7. 1170bp	++	+++
8. 1250bp	+	++
9. 1800bp	-	+
10. >3000bp	-	-

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 )

之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯

、±不明顯、-無條帶

核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-15 )

電泳條帶	植物材料	
	長柄千層塔	卓社
1. 300bp	-	-
2. 500bp	+++	++
3. 600bp	++	++
4. 700bp	++	-
5. 800bp	++	-
6. 950bp	++	++
7. 1170bp	++	+
8. 1250bp	-	-
9. 1800bp	+	-
10. >3000bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 )

之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯

、±不明顯、-無條帶

表 50 其他台灣產千層塔之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-15 )

電泳條帶	植物材料		
	武界	阿里山	藤枝
1. 300bp	++	-	++
2. 350bp	-	+	-
3. 450bp	+	++	-
4. 500bp	-	++	-
5. 550bp	-	++	++
6. 600bp	+	-	-
7. 700bp	+	++	+
8. 800bp	+	+	+
9. 900bp	+	-	-
10. 950bp	-	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、-無條帶

台灣產千層塔(金不換)之種原複雜，然經由本研究之結果初次顯示，OPE-12 和 OPD-15 二核酸引子將有助於其篩選與分類鑑定之客觀輔助依據；OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示，800bp、850bp 為台灣產千層塔 ( 十個不同採集地點 ) 之共同條帶，而 OPD-15 之核酸指紋圖譜顯示台灣產千層塔有長柄千層塔、阿里山千層塔兩種，且前者又有 A、B 族群之別。

## 七、金不換市場品之 RAPD 標誌分析

### 目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-12、OPW-09 等六個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解市場品金不換之來源植物。

### 植物 DNA 材料：

- |                   |                       |
|-------------------|-----------------------|
| 1.L.1：金不換（市 1）    | 8.L.8：長柄千層塔（阿里山）      |
| 2.L.2：金不換（市 2）    | 9.L.9：長柄千層塔（藤枝）       |
| 3.L.3：長柄千層塔（線浸）   | 10.L.10：長柄千層塔（達觀山）    |
| 4.L.4：長柄千層塔（觀霧途中） | 11.L.11：阿里山千層塔（檜山巨木群） |
| 5.L.5：長柄千層塔（凌霄殿）  | 12.L.12：阿里山千層塔（榛山）    |
| 6.L.6：長柄千層塔（武界）   | 13.L.13：玉柏（小風口）       |
| 7.L.7：長柄千層塔（卓社）   | 14.L.14：玉山石松（小風口）     |

### 台灣金不換市場品之核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果，僅 OPB-15、OPD-08 二引子顯現出市場品金不換（千層塔）之核酸指紋圖譜，可藉此初步了解其種原與台灣產金不換（千層塔）種原之關係。茲說明如下：

#### 甲、實驗組：

1. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
2. 條帶類型不相似。
3. 實驗組植物來源為不同地點之市場品（市 1、市 2）

#### 乙、對照組：

1. 條帶類型顯示多型性。
2. 條帶類型與實驗組不同。
3. 對照組為金不換（來自台灣全島不同採集地點之千層塔）玉柏和玉山石松。

### 圖 8 台灣金不換市場品之核酸指紋圖譜 (OPD-08)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-08，分為實驗組、對照組兩組，實驗組為金不換市場品 1 及市場品 2，對照組為來自台灣全島不同採集地點之金不換、玉柏和玉山石松。電泳跑道 L.100bp、M.1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道 1.市場品 1、2.市場品 2、3.線浸、4.觀霧途中、5.凌霄殿、6.武界、7.卓社、8.阿里山、9.藤枝、10.達觀山，11.檜山巨木群、12.榛山、13.玉柏 (*L. obscurum* L.)、14.玉山石松 (*L. veitchii* D. Christ)。

### 丙、市場品千層塔（金不換）之核酸分析指紋圖譜

表 51 市場品千層塔（金不換）之核酸分析指紋圖譜（核酸引子 OPD-08）

植物材料	電泳條帶												
	300bp	400bp	500bp	600bp	700bp	750bp	800bp	900bp	1000bp	1330bp	1400bp	1500bp	3000bp 以上
1. 金不換 (市 1)	-	+	-	+ 650	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. 金不換 (市 2)	+	+	+	+	+	-	-	++ 850	-	-	-	+	-
3. 長柄千層塔 (線浸)	-	-	+	±	-	+	-	+	++	-	+	-	-
4. 長柄千層塔 (觀霧途中)	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
5. 長柄千層塔 (凌霄殿)	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
6. 長柄千層塔 (武界)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. 長柄千層塔 (卓社)	-	+ 450	-	-	+++	-	+++	+++ 950	+++	+++	-	-	+
8. 長柄千層塔 (阿里山)	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. 長柄千層塔 (藤枝)	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. 長柄千層塔 (達觀山)	-	+ 450	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
11. 阿里山千層塔 (檜山巨木群)	-	+ 450	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
12. 阿里山千層塔 (榛山)	-	+ 450	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-

符號說明：1. bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2. +表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶、

3. 符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

依據圖 8 (p. 92) 及表 51 之核酸 (OPD-08) 指紋圖譜可知：

1. 台灣產千層塔分為 A、B 二個族群，A 群又細分為三類，線浸、觀霧途中、凌霄殿為一類，卓社自成一類，達觀山、檜山、榛山又是一類，產於武界、阿里山、藤枝者屬於千層塔 B 群。其核酸條帶詳見表 46。
2. 金不換市場品之外觀與長柄千層塔（產於武界、阿里山、藤枝者）相似，然二者之核酸條帶不同，詳見表 51。

3. 金不換市場品與其他千層塔（產於線浸、觀霧途中、凌霄殿、武界、卓社、達觀山、檜山、榛山者）相比較，其核酸條帶之差異性更大（詳見表 51）。

表 52 市場品金不換與台灣產千層塔之核酸指紋圖譜（OPD-08）

植物材料 電泳條帶	金不換（千層塔）		長柄千層塔		
	市場品 1	市場品 2	武界	阿里山	藤枝
1. 300bp	-	±	-	-	-
2. 400bp	+	+	+	+++	+++
3. 500bp	-	-	-	+++	+++
4. 600bp	-	±	+	±	-
5. 700bp	+	+	-	±	-
6. 800bp	-	-	-	±	-
7. 900bp	-	++	-	-	-
8. 1000bp	-	±	-	-	-
9. 1250bp	-	±	-	-	-
10. 1500bp	-	±	-	-	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 9 台灣金不換市場品之核酸指紋圖譜（OPB-15）

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPB-15，分為實驗組、對照組兩組，實驗組為金不換市場品 1 及市場品 2，對照組為來自台灣全島不同採集地點之金不換、玉柏和玉山石松。

電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb（核酸分子量標誌），電泳跑道 1. 市場品 1、2. 市場品 2、3. 線浸 4. 觀霧途中、5. 凌霄殿、6. 武界、7. 卓社、8. 阿里山、9. 藤枝、10. 達觀山、11. 檜山巨木群、12. 榛山、13. 玉柏（*Lycopodium obscurum* L.）、14. 玉山石松（*L. veitchii* D. Christ.）。

表 53 市場品千層塔（金不換）核酸分析指紋圖譜（核酸引子 OPB-15）

電泳條帶 植物材料	300bp	450bp	500bp	600bp	700bp	800bp	950bp	1000bp	1170bp	1250bp	1500bp	1800bp	3000bp 以上
	1. 金不換 (市1)	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. 金不換 (市2)	± 350	++ 400	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3. 長柄千層塔 (線漫)	-	-	+++	+++ 550	-	+	+	-	-	-	-	-	-
4. 長柄千層塔 (觀霧途中)	-	-	+++	+++	-	+	+	-	-	-	-	-	-
5. 長柄千層塔 (凌霄殿)	-	-	+++	+++	-	+	++	-	-	-	-	-	-
6. 長柄千層塔 (武界)	++ 300 350	+	-	+	+	+	+	900	-	-	-	-	-
7. 長柄千層塔 (卓社)	-	-	+++	++	++	++	++	++	+++	-	+	+	+
8. 長柄千層塔 (阿里山)	+	++	++	++ 550	++	+	-	-	-	-	-	-	-
9. 長柄千層塔 (藤枝)	++	-	++ 550	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
10. 長柄千層塔 (達觀山)	-	-	++	++	-	-	++	-	+	-	-	-	-
11. 阿里山千層塔 (檜山)	±	-	++	++	-	-	++	-	++	+	-	-	-
12. 阿里山千層塔 (榛山)	±	-	++	++	-	-	++	-	+++	++	-	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

表 54 市場品 1 與武界之異同點  
(OPB-15 核酸指紋圖譜)

電泳條帶	市場品 1	武界
1.300bp	±	+
2.350bp	±	+
3.400bp	+	+
4.450bp	+	+
5.700bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，

為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、±不明顯、-無條帶

表 55 市場品 2 與阿里山之異同點  
(OPB-15 核酸指紋圖譜)

電泳條帶	市場品 2	阿里山	
相異處	1.450bp	++	+++
	2.500bp	+	++
	3.800bp	+	+
相似處	4.350bp	-	+
	5.550bp	-	++

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，

為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

依據圖 9 及表 53 得知：

- 1.市 1 之 OPB-15 核酸指紋圖譜的條帶類型與產於武界之長柄千層塔有點相似。其共同處為：於 400bp、450bp 二者均有條帶，於 300bp、350bp 市場品 1 條帶不明顯，而產於武界者則有條帶。其相異處為：於 700bp 市場品 1 無條帶，而產於武界者則有條帶，詳見表 54。
- 2.市 2 之 OPB-15 核酸指紋圖譜的條帶類型與產於阿里山之長柄千層塔有點相似。其共同處為：於 350bp、550bp 二者市場品 2 均無條帶，而產於阿里山者則有條帶或條帶明顯。其相異處為：於 450bp、500bp、800bp 二者均有條帶甚或條帶很明顯，詳見表 55。

至於 OPB-08 之核酸指紋圖譜顯示，金不換市場品 3 於 700bp 條帶不明顯，於 800bp 條帶明顯。而與產於線漫之長柄千層塔條帶類型差異性較大，於 550bp、700bp、800bp、1000bp 和 2330bp 線漫之條帶均不明顯，於 1100bp、1400bp 線漫均有條帶 (參考 p.113 圖 14)。

至於 OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示，金不換市場品 3 於 1500bp 條帶明顯。而與產於線漫之長柄千層塔條帶類型差異性較大，於 500bp、630bp 線漫均有條帶，於 900bp、1250bp 線漫之條帶明顯，於 1000bp、1400bp、1500bp 線漫之條帶不明顯 (參考 p.112 圖 12)。

綜合 OPB-15、OPD-08 之核酸指紋分析圖譜得知，金不換市場品 1、2 之核酸條帶與台灣產千層塔之核酸條帶差異性較大，二者似乎為不同種之植物。然而其核酸指紋圖譜仍可考慮作為鑑定金不換 (千層塔) 之客觀輔助依據。



## 八、台灣產石松之 RAPD 標誌分析

### 目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-15、OPD-15、OPE-08、OPW-09 等四個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解並建立台灣產石松之核酸指紋分析圖譜。

### 植物 DNA 材料：

- |                  |                     |
|------------------|---------------------|
| 1. L.1：偽石松（卓社）   | 5. L.5：多穗石松（榛山）     |
| 2. L.2：偽石松（高台山）  | 6. L.6：多穗石松（觀霧途中）   |
| 3. L.3：日本石松（小風口） | 7. L.7：玉山地刷子（九九山莊前） |
| 4. L.4：日本石松（合歡山） | 8. L.8：玉山地刷子（小風口）   |

### 台灣產石松之核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列四個核酸引子：1.OPB-15 2.OPD-15 3.OPE-08 4.OPW-09 將有助於偽石松與日本石松之區別。其核酸指紋圖譜不相同，可作為客觀輔助鑑別之依據，茲以 OPD-15 之核酸分析指紋圖譜說明如下：

### 甲、實驗組：

1. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
2. 條帶類型相似，然可區別。
3. 實驗組植物來自於不同地點，分為 A、B 兩組：  
實驗組 A（偽石松）（卓社、高台山）之條帶相似性較高。  
實驗組 B（日本石松）（小風口、合歡山 35-36 公里處）之條帶相似性較高。
4. A、B 兩組間之條帶類型的差異性較大，此點似乎可以印證，該兩組植物之外部形態不同之說法，亦即是，就外部形態的比較及核酸指紋圖譜的差異性而言，A、B 兩組似應為不同之品種。

### 乙、對照組：

1. 條帶類型顯示多型性。
2. 條帶類型與實驗組不同。
3. 對照組包含多穗石松（榛山、觀霧途中）和玉山地刷子（九九山莊前、小風口）。

圖 10 台灣產石松之種原及其核酸分析指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-15，電泳跑道 L.100bp、M.1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道 1.多穗石松 (榛山)、2.多穗石松 (觀霧途中)、3.玉山地刷子 (九九山莊前)、4.玉山地刷子 (小風口)、5.偽石松 (卓社)、6.偽石松 (高台山)、7.日本石松 (小風口)、8.日本石松 (合歡山)。5至8為實驗組，1至4為對照組，後者皆為石松科、石松屬植物，與石松之親緣關係較接近。

### 丙、不同採集地點之石松核酸指紋圖譜

表 56 不同採集地點偽石松之核酸指圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電 泳 條 帶	卓 社	高 台 山
相 似 處		
1.550 bp	++	++
2.600 bp	++	++
3.800 bp	++	+
4.1400 bp	+	+
5.1500 bp	+++	+++
6.1670 bp	+	+
7.1840 bp	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯

圖 10 及表 56 顯示，來自卓社和高台山之偽石松，其核酸指紋條帶共同性很高，幾無差異性。其共同性為：於 550bp、600bp、800bp、1400bp、1500bp、1670bp、1840bp 等七處，二者皆有條帶，甚至很明顯。

表 57 不同採集地點日本石松之核酸指紋圖譜 (OPD-15)

電 泳 條 帶	小 風 口	合 歡 山
相 似 處	1.550 bp	+
	2.600 bp	++
	3.1000 bp	+++
	4.1500 bp	-
	5.1840 bp	-
	6.2000 bp	+
相 異 處	1.800 bp	+++
	2.1100 bp	-
	3.1170 bp	++
	4.1300 bp	+
	5.1670 bp	++

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

圖 10 及表 57 顯示，不同採集地點之日本石松，其核酸指紋圖譜共同性稍多。其共同性為：於 550bp、600bp、1000bp、2000bp 二者均有條帶，其至很明顯，於 1500bp、1840bp 二者均無條帶。其個體間差異性為：於 800bp 小風口 之條帶明顯，而合歡山之條帶則很明顯，於 1100bp 小風口 之條帶很明顯，而合歡山則無條帶。於 1170bp、1300bp、1670bp 等三處，小風口均無條帶，而合歡山則有條帶。

#### 丁、偽石松和日本石松之異同點

表 58 偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPD-15）

電 泳 條 帶	偽石松（卓社）	日本石松（小風口）
相 似 處	1.500bp	++
	2.550bp	++
	3.800bp	++
相 異 處	1.1000bp	-
	2.1170bp	-
	3.1400bp	+
	4.1500bp	+++
	5.1670bp	+
	6.1840bp	+
	7.2000bp	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

圖 10 及表 58 顯示，偽石松和日本石松核酸條帶之差異性較大，可以區別，二者似乎應為不同之種類。其共同性為：於 500bp、550bp 和 800bp 等三處，二者均有條帶。其差異性為：於 1000bp、1100bp 和 2000bp 等三處，偽石松無條帶，而日本石松則有條帶，甚至很明顯，於 1400bp、1500bp、1670bp、1840bp 等四處，偽石松均有條帶，而日本石松則無條帶。

#### 戊、不同核酸引子之石松核酸指紋圖譜

本實驗使用不同的核酸引子：1.OPB-08 2.OPB-15 3.OPD-08 4.OPD-15 5.OPE-08 6.OPE-12 7.OPW-09 經過聚合 連鎖反應、電泳後獲得下列石松核酸指紋圖譜，除 OPB-08、OPE-08、OPE-12 外，其餘核酸引子之核酸指紋圖譜皆可作為偽石松和日本石松之客觀輔助鑑別依據。

表 59 台灣產偽石松日本石松之核酸指紋圖譜 ( OPB-08 )

電 泳 條 帶	偽石松 ( 卓社 )	日本石松 ( 小風口 )
1.500bp	+	+
2.700bp	+++	+++
3.1000bp	+++	+++
4.1170bp	+++	+++
5.1500bp	±	±
6.1830bp	±	±

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、±不明顯

圖 14 及表 59 顯示出，偽石松和日本石松之核酸條帶共同性很大，幾無差異，二者無法區別，對偽石松和日本石松之鑑別無助益。

表 60 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜 ( OPB-15 )

電 泳 條 帶	偽石松 ( 卓社 )	日本石松 ( 小風口 )
相 似 處	1.1500bp	±
	2.1670bp	±
相 異 處	1.300bp	-
	2.450bp	±
	3.600bp	+++
	4.800bp	++
	5.1000bp	-
	6.1170bp	+++
	7.1330bp	±

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 16 及表 60 顯示出，偽石松和日本石松核酸條帶之共同性少，差異性大，二者似乎應為不同之種類。其共同性為：於 1500bp、1670bp 二者之條帶均不明顯。其差異性為：300bp、600bp、800bp 和 1330bp 等四處，偽石松均有條帶，甚至很明顯，而日本石松則無條帶或條帶不明顯。於 450bp 偽石松無條帶，而日本石松則條帶不明顯。於 1000bp 偽石松之條帶明顯，而日本石松則無條帶，於 1170bp 偽石松無條帶，而日本石松之條帶明顯。

表 61 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜 ( OPE-08 )

電 泳 條 帶		偽石松 ( 卓社 )	日本石松 ( 小風口 )
相 似 處	1.400bp	+	±
	2.600bp	+	+ ( 580 )
	3.800bp	±	±
	4.1400bp	±	±
相 異 處	1.900bp	+	-
	2.1000bp	+	-
	3.1170bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、±不明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

圖 15 及表 61 顯示，二者核酸條帶之共同性多於差異性，然仍可區別。其共同性為：於 400bp、600bp、800bp、1400bp 等四處，二者均有條帶或條帶不明顯。其差異性為：於 900bp、1000bp 偽石松有條帶，而日本石松則無條帶。於 1170bp 偽石松無條帶，而日本石松則有條帶。

表 62 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPW-09 )

電 泳 條 帶		偽石松 ( 卓社 )	日本石松 ( 小風口 )
相 似 處	1.600bp	+	+ ( 650 )
	2.800bp	+++	+++
相 異 處	1.900bp	++	-
	2.1000bp	++	-
	3.1170bp	++	-
	4.1500bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

3.符號下方數字表示該條帶微偏離原標定條帶

圖 13 及表 62 顯示，二者核酸條帶之共同性小、差異性較大，然可以區別，二者似應為不同之品種，其共同性為：於 600bp、800bp，二者均有條帶或很明顯，其差異性為：於 900bp、1000bp、1170bp 偽石松之條帶明顯，而日本石松則無條帶。於 1500bp 偽石松無條帶，而日本石松則有條帶。

表 63 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-12)

電 泳 條 帶	偽石松 (卓社)	日本石松 (小風口)
相 似 處	1.500bp	+
	2.550bp	++
	3.900bp	+++
	4.1250bp	+++
	5.1400bp	+
相 異 處	1.1500bp	±
	2.1670bp	-
	3.2000bp	±

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 18 及表 63，二者之核酸指紋圖譜顯示，其差異性小於共同性，然二者仍可區別。其共同性為：於 500bp、550bp、900bp、1250bp 和 1400bp 等五處，二者均有條帶，甚至很明顯。其差異性為：於 1500bp、1670bp 和 2000bp 等三處，偽石松均有條帶，而日本石松則無條帶或條帶不明顯。

表 64 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-08)

電 泳 條 帶	偽石松 (卓社)	日本石松 (小風口)
1.400bp	±	±
2.900bp	+++	+++
3.1170bp	++	++
4.1250bp	-	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 19 及表 64 顯示，偽石松和日本石松核酸指紋圖譜不同，其共同性較多。於 400bp 二者條帶均不明顯，於 900bp、1170bp 二者之條帶明顯或很明顯。其差異性較少，於 1250bp 偽石松無條帶，日本石松則有條帶。

綜合上列各核酸指紋圖譜分析（核酸引子 OPB-15、OPD-15、OPE-08、OPW-09）之結果顯示：

1. 台灣產偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜不相同，其差異性較大，共同性較小，二者可以區別（詳見上列各表及其說明）。
2. 其個體間之基因組亦存在有差異性。例如日本石松之核酸條帶特徵顯示：於 1100bp 小風口條帶很明顯，而合歡山則無條帶。於 1170bp、1300bp、1670bp 小風口無條帶，而合歡山則有條帶。
3. 本核酸指紋圖譜分析之結果與外部形態分類之結果相吻合。
4. 根據本實驗結果顯示，二者之核酸指紋圖譜（OPB-15、OPD-15、OPE-08、OPW-09）似可作為偽石松和日本石松客觀輔助之鑑別依據。



## 九、台灣產地刷子之 RAPD 標誌分析

目的：

取適量植物 DNA，利用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPW-09 等七個核酸引子進行 PCR 分析，擬初步了解並建立台灣產地刷子之核酸指紋分析圖譜。

植物 DNA 材料：

- |                             |                          |
|-----------------------------|--------------------------|
| 1.L.1：多穗石松（ <u>榛山</u> ）     | 5.L.5：偽石松（ <u>卓社</u> ）   |
| 2.L.2：多穗石松（ <u>觀霧途中</u> ）   | 6.L.6：偽石松（ <u>高台山</u> ）  |
| 3.L.3：玉山地刷子（ <u>九九山莊前</u> ） | 7.L.7：日本石松（ <u>小風口</u> ） |
| 4.L.4：玉山地刷子（ <u>小風口</u> ）   | 8.L.8：日本石松（ <u>合歡山</u> ） |

### 台灣產地刷子之核酸分析指紋圖譜

依據本實驗結果顯示下列七個核酸引子：1.OPB-08 2.OPB-15 3.OPD-08 4.OPD-15 5.OPE-08 6.OPE-12 7.OPW-09 將有助於多穗石松與玉山地刷子之區別。其核酸指紋圖譜不相同，可作為客觀輔助鑑別之依據，茲以 OPD-15 之核酸分析指紋圖譜說明如下：

甲、實驗組：

1. 條帶類型（band type）顯現多型性（polymorphism）。
2. 條帶類型相似，然可區別。
3. 實驗組植物來源於不同地點，分為 A、B 兩組：  
實驗組 A（多穗石松）（榛山、觀霧途中）之條帶相似性較高。  
實驗組 B（玉山地刷子）（九九山莊前、小風口）之條帶相似性較高。
4. A、B 兩組之條帶類型差異性較大，此點似乎可以印證，該兩組植物之外部形態不同之說法，亦即是，就外部形態的比較及核酸指紋圖譜的差異性而言，A、B 兩組似應為不同之品種。

乙、對照組：

1. 條帶類型顯示多型性。
2. 條帶類型與實驗組不同。
3. 對照組包含偽石松（卓社、高台山）和日本石松（小風口、合歡山）。

圖 11 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜 (OPD-15)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-15, 電泳跑道 L.100bp、M.1kb (核酸分子量標誌), 電泳跑道  
 1.多穗石松(榛山) 2.多穗石松(觀霧途中) 3.玉山地刷子(九九山莊前) 4.玉山地刷子(小風口)  
 5.偽石松(卓社) 6.偽石松(高台山) 7.日本石松(小風口) 8.日本石松(合歡山), 1至4為實驗組  
 , 5至8為對照組, 後者皆為石松科、石松屬植物, 與地刷子之親緣關係較接近。

丙、不同採集地點地刷子之核酸指紋圖譜

表 65 多穗石松之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電 泳 條 帶	榛 山	觀 霧 途 中
1. 650 bp	+	+
2. 900 bp	+++	+++
3. 950 bp	+++	+++
4. 1000 bp	+++	+++
5. 1300 bp	+++	+++
6. 1400 bp	+++	+++
7. 1670 bp	+	+
8. 1840 bp	+	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯

圖 11 及表 65 顯示來自榛山和觀霧途中之多穗石松，其核酸指紋圖譜之條帶十分一致，二者似應為同一種植物。

表 66 玉山地刷子之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPD-15)

電 泳 條 帶	九 九 山 莊 前	合 歡 山 小 風 口
1.800 bp	+++	+++
2.850 bp	+++	+++
3.1170 bp	+	+
4.1300 bp	+++	++
5.1400 bp	+++	+

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯

圖 11 及表 66 顯示，來自九九山莊前和合歡山小風口之玉山地刷子，其核酸指紋圖譜條帶，十分一致，二者似應為同一種植物。

由以上核酸指紋圖譜得知，不同地點之同一植物（多穗石松或玉山地刷子），其外部形態相似性愈高者，其內部基因組亦愈相似。

#### 丁、多穗石松和玉山地刷子之異同點

表 67 台灣產多穗石松與玉山地刷子之核酸指紋圖譜（OPD-15）

電 泳 條 帶	多 穗 石 松	玉 山 地 刷 子
相似處		
1.1300 bp	+++	+++
2.1400 bp	+++	+++
相 異 處		
1.800 bp	-	+++
2.850 bp	-	+++
3.900 bp	+++	-
4.950 bp	+++	-
5.1000 bp	+++	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+++表示有條帶很明顯、-無條帶

由圖 11 及表 67 得知，多穗石松和玉山地刷子之核酸指紋圖譜的差異性較大，可以區別，二者似應為不同之品種。其共同性見於 1300bp 和 1400bp 二條帶，二者均反應很明顯。其差異性為：於 800bp、850bp 二條帶，多穗石松無反應，而玉山地刷子則反應很明顯。於 900bp、950bp、1000bp 等三條帶，多穗石松均反應很明顯，而玉山地刷子則無反應。可見，外部形態相似性愈小者，其內部基因組差異性亦愈大。

#### 戊、不同核酸引子之地刷子核酸指紋圖譜（RAPD）

表 68 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPD-08）

電 泳 條 帶	多穗石松（榛山）	玉山地刷子（九九山莊前）
1.650bp	+	-
2.750bp	-	+
3.1000bp	++	-
4.1250bp	-	+++

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、-無條帶

由圖 19 及表 68 顯示，多穗石松和玉山地刷子之核酸指紋圖譜的差異性很大，幾無共同性，二者似應為不同之種類。其差異性為：於 650bp、1000bp 二處，多穗石松均有條帶或條帶明顯，而玉山地刷子則無條帶。於 750bp、1250bp 二處，多穗石松無條帶，而玉山地刷子則有條帶或條帶明顯。

表 69 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜（核酸引子 OPE-12）

電 泳 條 帶		多穗石松（榛山）	玉山地刷子 （九九山莊前）
相 似 處	1. 700bp	++	+
	2. 800bp	+	++
	3. 1250bp	+	±
	4. 1400bp	+	±
相 異 處	1. 900bp	-	++
	2. 1000bp	-	++
	3. 1500bp	+	-
	4. 1670bp	-	+
	5. 2000bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair（鹼基對）之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 20 及表 69 顯示二者之核酸指紋圖譜的差異性較大，可以區別。其共同性為：於 700bp、800bp、1250bp 和 1400bp 等四處，二者均有條帶或條帶不明顯。其差異性為：於 900bp、1000bp 和 1670bp 等三處，多穗石松無條帶，而玉山地刷子則有條帶或條帶明顯。於 1500bp、2000bp 二處，多穗石松有條帶，而玉山地刷子則無條帶。二者似應為不同之品種。

表 70 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPE-08)

電 泳 條 帶		多穗石松 (榛山)	玉山地刷子 (九九山莊前)
相似處	1.800bp	±	±
相 異 處	1.350bp	-	±
	2.500bp	±	-
	3.1000bp	-	+
	4.1170bp	+	-

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、± 不明顯、-無條帶

圖 15 及表 70 顯示二者核酸指紋圖譜之差異性較大，可以區別。其共同性為：800bp 二者之條帶均不明顯。其差異性為：350bp、1000bp，多穗石松無條帶，而玉山地刷子則有條帶或不明顯，500bp 多穗石松之條帶不明顯，而地刷子則無條帶，1170bp 多穗石松有條帶，而地刷子則無條帶，故二者似應為不同種之植物。

表 71 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜 (核酸引子 OPW-09)

電 泳 條 帶		多穗石松 (榛山)	玉山地刷子 (九九山莊前)
相 似 處	1.1170bp	+++	++
	2.1250bp	+++	++
相 異 處	1.600bp	-	++
	2.700bp	-	+
	3.800bp	-	+
	4.1000bp	++	-
	5.1500bp	-	++

符號說明：1.bp 為 base pair (鹼基對) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很顯、++明顯、-無條帶

圖 13 及表 71 顯示，台灣產地刷子似乎有二種；因其核酸指紋圖譜之條帶差異性較大。其共同性為：於 1170bp、1250bp 二者均條帶明顯或很明顯。其差異性為：600bp、700bp、800bp 和 1500bp 等四處，多穗石松均無條帶，而玉山地刷子則有條帶或條帶明顯。於 1000bp 多穗石松條帶明顯，而玉山地刷子則無條帶。

表 72 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-08 )

電 泳 條 帶	多穗石松 ( 榛山 )	玉山地刷子 ( 九九山莊前 )
1.700bp	+++	±
2.800bp	+	-
3.900bp	+++	-
4.1000bp	+	-
5.1170bp	-	+++
6.1200bp	++	-
7.1500bp	+++	-
8.1830bp	-	+++

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

圖 14 及表 72 顯示多穗石松和玉山地刷子之核酸條帶，差異性很大，幾無共同性，二者似應為不同種之植物。其差異性為：於 700bp、800bp、900bp、1000bp、1200bp 和 1500bp 等六處，多穗石松均有條帶，甚至很明顯，而玉山地刷子則無條帶，於 1170bp 和 1830bp 二處，多穗石松均無條帶，而玉山地刷子則條帶很明顯。

表 73 台灣產地刷子之核酸指紋圖譜 ( 核酸引子 OPB-15 )

電 泳 條 帶	多穗石松 ( 榛山 )	玉山地刷子 ( 九九山莊前 )
相 似 處	1.600bp	+++
	2.1000bp	+
	3.1100bp	±
相 異 處	1.700bp	-
	2.800bp	-
	3.950bp	-
	4.1330bp	-

符號說明：1.bp 為 base pair ( 鹼基對 ) 之簡稱，為表示 DNA 片段長度之單位

2.+表示有條帶存在、+++很明顯、++明顯、±不明顯、-無條帶

3.數字表示該條帶微偏離原標定條帶

圖 16 及表 73 顯示，台灣產地刷子似乎有二種，其核酸指紋圖譜條帶之差異

性較大，可以區別。其共同性為：600bp、1000bp 和 1100bp 二者均有條帶。其差異性為：700bp、800bp、950bp 和 1330bp，多穗石松均有條帶，甚至條帶很明顯，而玉山地刷子則無條帶。

依據上列各核酸指紋圖譜分析（核酸引子 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPW-09）之結果顯示：

1. 台灣產多穗石松和玉山地刷子之核酸指紋圖譜不相同（詳見上列各表及其說明），其差異性較大，甚至無共同性（OPB-08、OPD-08 之核酸指紋圖譜），可以區別。
2. 其個體間之基因組亦存在有差異性。如台灣產地刷子之核酸指紋圖譜（OPD-15）所示：於1300bp、1400bp，玉山地刷子產於九九山莊前者之條帶很明顯，而產於合歡山小風口者則有反應或反應很明顯。
3. 核酸指紋圖譜分析之結果與外部形態分類之結果相吻合。
4. 根據本實驗，此二者之核酸指紋圖譜似可作為多穗石松和玉山地刷子之客觀輔助鑑別佐證。

## 十、台灣產石松科、千層塔及金不換市場品之核酸指紋圖譜

圖 12 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPE-12)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPE-12，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 金不換市場品-3、2. 長柄千層塔 (線浸) 3. 玉柏 (小風口) 4. 玉山石松 (小風口) 5. 多穗石松 (榛山) 6. 玉山地刷子 (九九山莊前) 7. 偽石松 (卓社) 8. 日本石松 (小風口) 9. 垂穗石松 (凌霄殿) 10. 木賊葉石松 (卓社) 11. 杉葉蔓石松 (合歡山) 12. 垂枝石松 (百草谷藥園) 13. 覆葉石松 (新社) 14. 福氏石松 (奮起湖) 15. 杉葉石松 (太魯閣)、16. 反捲葉石松 (登山口)。

圖 13 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPW-09)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPW-09，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 金不換市場品-3、2. 長柄千層塔 (線浸) 3. 玉柏 (小風口) 4. 玉山石松 (小風口) 5. 多穗石松 (榛山) 6. 玉山地刷子 (九九山莊前) 7. 偽石松 (卓社) 8. 日本石松 (小風口) 9. 垂穗石松 (凌霄殿) 10. 杉葉蔓石松 (合歡山) 11. 木賊葉石松 (卓社) 12. 垂枝石松 (百草谷藥園) 13. 覆葉石松 (新社) 14. 福氏石松 (奮起湖) 15. 杉葉石松 (太魯閣)、16. 反捲葉石松 (登山口)。



#### 圖 14 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPB-08)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPB-08，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 金不換市場品-3、2. 長柄千層塔 (線漫) 3. 玉柏 (小風口) 4. 玉山石松 (小風口) 5. 多穗石松 (榛山) 6. 玉山地刷子 (九九山莊前) 7. 偽石松 (卓社) 8. 日本石松 (小風口) 9. 垂穗石松 (凌霄殿) 10. 杉葉蔓石松 (合歡山) 11. 木賊葉石松 (卓社) 12. 垂枝石松 (百草谷藥園) 13. 覆葉石松 (新社) 14. 福氏石松 (奮起湖) 15. 杉葉石松 (太魯閣)、16. 反捲葉石松 (登山口)。

#### 圖 15 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPE-08)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPE-08，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 長柄千層塔 (線漫) 2. 玉柏 (小風口) 3. 玉山石松 (小風口) 4. 多穗石松 (榛山) 5. 玉山地刷子 (九九山莊前) 6. 偽石松 (卓社) 7. 日本石松 (小風口) 8. 垂穗石松 (凌霄殿) 9. 木賊葉石松 (卓社) 10. 杉葉蔓石松 (合歡山) 11. 垂枝石松 (百草谷藥園) 12. 覆葉石松 (新社) 13. 福氏石松 (奮起湖) 14. 杉葉石松 (太魯閣) 15. 相馬氏石松 (榛山) 16. 反捲葉石松 (登山口)。

### 圖 16 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPB-15)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPB-15，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 長柄千層塔 (線漫) 2. 玉柏 (小風口) 3. 玉山石松 (小風口) 4. 多穗石松 (榛山) 5. 玉山地刷子 (九九山莊前) 6. 偽石松 (卓社) 7. 日本石松 (小風口) 8. 垂穗石松 (凌霄殿) 9. 木賊葉石松 (卓社) 10. 杉葉蔓石松 (合歡山) 11. 垂枝石松 (百草谷藥園) 12. 覆葉石松 (新社) 13. 福氏石松 (奮起湖) 14. 杉葉石松 (太魯閣) 15. 相馬氏石松 (榛山) 16. 反捲葉石松 (登山口)。

### 圖 17 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPD-15)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-15，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 多穗石松 (榛山) 2. 多穗石松 (觀霧途中) 3. 玉山地刷子 (九九山莊前) 4. 玉山地刷子 (合歡山) 5. 偽石松 (卓社) 6. 偽石松 (高台山) 7. 日本石松 (小風口) 8. 日本石松 (合歡山) 9. 垂穗石松 (凌霄殿) 10. 木賊葉石松 (卓社) 11. 垂枝石松 (百草谷藥園) 12. 福氏石松 (奮起湖) 13. 杉葉石松 (太魯閣) 14. 相馬氏石松 (榛山) 15. 反捲葉石松 (馬達拉西登山口) 16. 覆葉石松 (新社)。

### 圖 18 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPE-12)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPE-12，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 多穗石松 (榛山)、2. 多穗石松 (觀霧途中)、3. 玉山地刷子 (九九山莊前)、4. 玉山地刷子 (合歡山)、5. 偽石松 (卓社)、6. 偽石松 (高台山)、7. 日本石松 (小風口)、8. 日本石松 (合歡山)、9. 垂穗石松 (凌霄殿)、10. 木賊葉石松 (卓社)、11. 垂枝石松 (百草谷藥園)、12. 福氏石松 (奮起湖)、13. 杉葉石松 (太魯閣)、14. 相馬氏石松 (榛山)、15. 反捲葉石松 (馬達拉西登山口)、16. 覆葉石松 (新社)。

### 圖 19 台灣產石松科之核酸指紋圖譜 (OPD-08)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-08，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 多穗石松 (榛山)、2. 多穗石松 (觀霧途中)、3. 玉山地刷子 (九九山莊前)、4. 玉山地刷子 (合歡山)、5. 偽石松 (卓社)、6. 偽石松 (高台山)、7. 日本石松 (小風口)、8. 日本石松 (合歡山)、9. 垂穗石松 (凌霄殿)、10. 木賊葉石松 (卓社)、11. 垂枝石松 (百草谷藥園)、12. 福氏石松 (奮起湖)、13. 杉葉石松 (太魯閣)、14. 相馬氏石松 (榛山)、15. 反捲葉石松 (馬達拉西登山口)、16. 覆葉石松 (新社)。

### 圖 20 台灣產千層塔之核酸指紋圖譜 (OPE-12)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPE-12，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 金不換市場品-1、2. 金不換市場品-2、3. 長柄千層塔 (線浸) 4. 長柄千層塔 (觀霧途中) 5. 長柄千層塔 (凌霄殿) 6. 長柄千層塔 (卓社) 7. 長柄千層塔 (武界) 8. 長柄千層塔 (阿里山) 9. 長柄千層塔 (藤枝) 10. 長柄千層塔 (達觀山) 11. 阿里山千層塔 (檜山巨木群) 12. 阿里山千層塔 (榛山) 13. 玉柏 (小風口) 14. 玉山石松 (小風口) 15. 杉葉蔓石松 (合歡山)。電泳跑道 1 至 12 為實驗組，13 至 15 為對照組。

### 圖 21 台灣產千層塔之核酸指紋圖譜 (OPD-08)

本核酸指紋圖譜之核酸引子為 OPD-08，電泳跑道 L. 100bp、M. 1kb (核酸分子量標誌)，電泳跑道：1. 金不換市場品-1、2. 金不換市場品-2、3. 長柄千層塔 (線浸) 4. 長柄千層塔 (觀霧途中) 5. 長柄千層塔 (凌霄殿) 6. 長柄千層塔 (卓社) 7. 長柄千層塔 (武界) 8. 長柄千層塔 (阿里山) 9. 長柄千層塔 (藤枝) 10. 長柄千層塔 (達觀山) 11. 阿里山千層塔 (檜山巨木群) 12. 阿里山千層塔 (榛山) 13. 玉柏 (小風口) 14. 玉山石松 (小風口) 15. 杉葉蔓石松 (合歡山)。電泳跑道 1 至 12 為實驗組，13 至 15 為對照組。

## 圖 22 台灣產長柄千層塔之核酸指紋圖譜 (OPD-15)

圖 (一)、圖 (二) 來自於同一張電泳膠膜之核酸指紋圖譜 (其核酸引子為 OPD-15), 為解說方便起見, 將其分割為兩張, 圖 (一) 為實驗組、圖 (二) 為對照組。圖 (一) 為長柄千層塔 8 個不同採集地點之核酸指紋圖譜, 電泳跑道 L.100bp、M.1kb (核酸分子量標誌), 電泳跑道 1. 線浸、2. 觀霧途中、3. 凌霄殿、4. 武界、5. 卓社、6. 阿里山、7. 藤枝、8. 達觀山。圖 (二) 電泳跑道 L.100bp、M.1kb (核酸分子量標誌), 電泳跑道 9. 玉山石松 (*L. veitchii* D. Christ)、10. 杉葉蔓石松 (*L. annotinum* L.), 後二者皆為石松科、石松屬植物, 與長柄千層塔 (*L. serratum* Thunb. var. *longipetiolatum* Spring) 之親緣關係較接近。

## 第五章 討論與結論

本研究試圖從藥用植物學之立場，配合外部形態學、RAPD 標誌分析，為台灣產石松植物提供基本資訊，以及提供客觀輔助之種原鑑別依據。今採集到該科植物 19 種及千層塔（金不換）市場品 3 種藥材，從事本研究。對於辨識容易、爭議性較小之本科植物，經由本草學考察、外部形態分類學、標本核對後確定其學名，對辨識不易、爭議性較大之本科植物，則除經由上述各種方法外，並藉由逢機增幅多型性核酸標誌分析，建立不同種間之核酸圖譜，以協助其學名之認定，並作為分類之參考。

### 第一節 討 論

#### 一、研究特色：

1. 本研究所獲得之各項實驗結果，為一種「定性」陳述，僅適宜作為石松科植物客觀輔助鑑定之依據。
2. 本研究經由百餘次之實驗，篩選出十六個核酸引子，又經過七十二次實驗，再篩選出下列 8 個核酸引子適用於石松科植物之 RAPD 標誌分析，其包含 OPB-08 OPB-15 OPD-08 OPD-15 OPE-08 OPE-12 OPE-15 OPW-09。其中，最適宜（DNA 指紋圖譜重複性較高者）的為：OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08。
3. 對於台灣產石松科辨識不易、有爭議性之藥用植物，如金不換（千層塔）、地刷子、石松等，採用逢機增幅多型性核酸標誌分析（RAPD），可提供核酸指紋圖譜，以便於配合形態標誌，提供客觀輔助鑑別方法。
4. 例如偽石松和日本石松、多穗石松和玉山地刷子等。就外部形態學而言，偽石松（*L. pseudoclavatum* Ching）和日本石松（*L. japonicum* Thunb. ex Murray）不同，且二者之核酸指紋圖譜之條帶亦不同，因此，一般認為台灣產石松（*L. clavatum* DeVol non L.）只有一種之說法似欠妥當。此點與郭城孟教授之說法相吻合。多穗石松（*L. multispicatum* Wilce）和玉山地刷子（*L. yueshanense* Kuo）亦然。
5. 就台灣產石松科植物而言，分子標誌（RAPD）相似者，其外部形態未必相同，如杉葉石松（*L. squarrosum* Forst）和反捲葉石松（*L. quasipolytrichoides* Hayata），二者之外部形態差異性很大，然其核酸指紋圖譜之條帶顯示，其共同性卻很高，表示它們血緣相近，但被視為同屬不同種之植物。因此，核酸標誌分析與外部形態在分類上孰重孰輕有待商榷。

6. 台灣產千層塔（金不換）之種原複雜，然經由本研究之結果初次顯示，OPE-12 和 OPD-15 二核酸引子將有助於其篩選與分類鑑定之客觀輔助依據；OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示，800bp、850bp 為台灣產千層塔（十個不同採集地點）之共同條帶，而 OPD-15 之核酸指紋圖譜顯示台灣產千層塔有長柄千層塔、阿里山千層塔兩種，且前者又有 A、B 二族群之別。至於 OPB-15、OPD-08 二核酸引子所作之核酸指紋圖譜顯示，與台灣產千層塔之外部形態分類結果相去甚遠；其核酸條帶之共同性小，且外部形態之差異性大，二者很難一致，目前難下結論，有待更多實驗佐證之。
7. 由 OPB-15、OPD-08 之核酸指紋分析圖譜得知，金不換市場品 1、2 之核酸條帶與台灣產千層塔之核酸條帶差異性較大，二者似乎為不同種之植物。然而其核酸指紋圖譜仍可考慮作為鑑定金不換（千層塔）之客觀輔助依據。
8. 由 OPB-08、OPE-12 之核酸指紋圖譜顯示，金不換市場品 3 與千層塔（產於線浸者）之核酸條帶差異性較大，二者似為不同之種類。然市場品 1、2、3 之外觀與台灣產長柄千層塔相似。
9. 於金不換市場品之 RAPD 標誌分析，若採用台灣產千層塔之乾燥品作對照組進行實驗，其結果或許不同，值得嘗試。

## 二、DNA 萃取與純化

1. DNA 之萃取、純化與 RAPD 標誌分析之結果有密切關係。DNA 純度愈高，其核酸指紋圖譜愈明顯，其條帶之差異之差異性亦愈顯著。
2. DNA 之濃度與檢品採集之季節、取樣（幼株或老株）或許有關，亦影響到 RAPD 標誌分析之結果。
3. 由乾燥之中藥材萃取、純化 DNA 不易，此為市場品核酸指紋圖譜鑑定關鍵處；檢品之乾燥方法，會影響 DNA 之質或量，亦影響 RAPD 標誌分析之結果。

## 三、其他遺傳標誌分析

1. 本研究僅採用 RAPD 標誌分析進行台灣產石松科植物之種原鑑定，
2. 若能配合染色體之數目、Flow Cytometry（流式細胞儀偵測）HPLC（高效液相層析）HPLC/MS（高效液相層析/質譜聯用）和植物解剖學等分析方法，當可更準確、有效的鑑定台灣產藥用植物及其藥材之種原。

## 第二節 結論

依據本研究所鑑定之十九種植物的外部形態特徵，以及參考台灣植物誌(第二版) 郭城孟教授所著台灣維管束植物簡誌(第一卷)等文獻，製作本檢索表，並配合核酸分析指紋圖譜，以便於石松科植物之辨識。

### 台灣產石松屬植物種之檢索表 (Key to the species of Lycopodium)

#### 一、台灣產石松屬植物種之檢索表(表74)

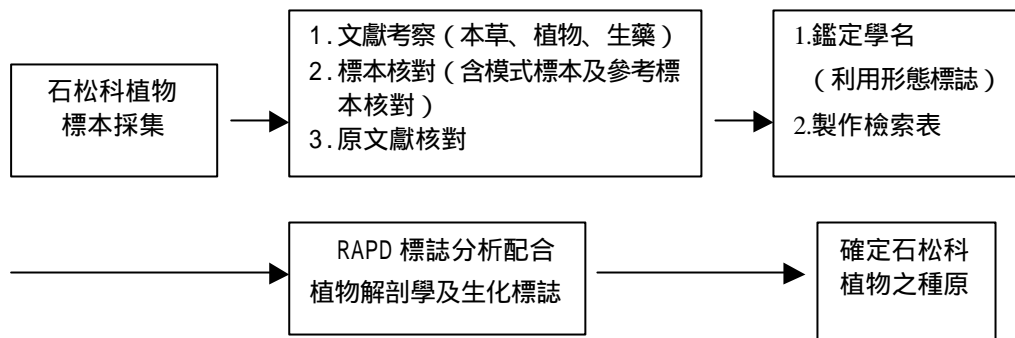
1. 孢子葉與營養葉大不相同，具明顯之孢子囊穗，孢子囊生於孢子葉之基部
  2. 營養葉很窄，錐型，螺旋狀排列；孢子囊穗單生、下垂、無柄，孢子囊穗4-9 mm長，..... 垂穗石松  
RAPD 標誌分析(OPD-08): 450bp、1000bp 均無條帶，而1100bp 有條帶 *L. cernuum*
  2. 營養葉扁平或鱗片狀；孢子囊穗長度大於1cm
    3. 攀緣性，懸垂，葉小、僅2-3mm、鱗片狀、具長尾尖..... 木賊葉石松  
RAPD 標誌分析(OPD-08): 450bp 有條帶，1000bp、1100bp 條帶很明顯 *L. casuarinoides*
    3. 地生性；地上莖直立，由匍匐根莖或枝分歧長出
      4. 具腹背面，側枝扁平狀，雙叉分歧，孢子囊穗有柄，著生於長鱗片狀枝梗上。RAPD 標誌分析(OPE-12): 1100bp 條帶很明顯
        5. 直立，小葉二型，根莖在地表以下，分枝密集，孢子囊穗多為二枚..... 玉山地刷子  
RAPD 標誌分析(OPE-12): 700bp 有條帶，800bp 無條帶 *L. yueshanense*
        5. 懸垂，小葉三型，根莖在地表之上，分枝稀少，孢子囊穗八至十二枚..... 多穗石松  
RAPD 標誌分析(OPE-12): 700bp 無條帶，800bp 有條帶 *L. multispicatum*
      4. 葉螺旋狀排列，營養葉、孢子葉同型；孢子囊穗無柄或生於莖軸上
        5. 孢子囊穗無柄
          6. 植株成樹冠狀(直立枝上部重複分叉)，匍匐枝小葉明顯短縮、呈鱗片狀..... 玉柏  
*L. obscurum*
          6. 植株不呈樹冠狀(直立側枝單一或二~七回雙叉分歧) 匍匐枝小葉和直立枝同型..... 杉葉蔓石松  
*L. annotinum*
        5. 孢子囊穗有柄(長於莖軸上)
          6. 孢子囊穗單軸，主莖匍匐，漫生於地表，有時變為地下莖..... 玉山石松  
*L. veitchii*
          6. 孢子囊穗具分枝、二~六枚。RAPD 標誌分析(OPE-12): 900bp 條帶明顯或很明顯
            7. 小葉疏鬆，通常每一直立枝具孢子囊穗十個以上，孢子囊穗較大..... 偽石松  
RAPD 標誌分析(OPE-12): 1500bp 條帶明顯 *L. pseudoclavatum*
            7. 小葉緻密，通常每一直立枝具孢子囊穗二~三個，孢子囊穗較小..... 日本石松  
RAPD 標誌分析(OPE-12): 1500bp 無條帶 *L. japonicum*
    1. 孢子葉和營養葉相同；孢子囊穗不明顯，孢子囊著生於孢子葉基部
      2. 地生性，莖直立



3. 營養葉全緣
4. 小葉反捲。RAPD 標誌分析 (OPE-12): 1200bp、1400bp 均有條帶
5. 莖高 10~20cm, 部份小葉緊貼莖上, 植株呈節狀緊縮, 莖脆易折斷, 小葉明顯朝下反折 (呈鐮刀狀)  
RAPD 標誌分析 (OPE-12): 600bp 無條帶, 而 700bp、800bp 條帶很明顯. 捲葉石松 *L. quasipolytrichoides*
5. 非上述特徵, 植株柔軟, 莖高 4~8cm ..... 相馬氏石松  
RAPD 標誌分析 (OPE-12): 600bp、700bp 均條帶很明顯, 而 800bp 無條帶 *L. scrae*
3. 營養葉葉緣呈不規則鋸齒狀。RAPD 標誌分析 (OPE-12): 800bp、850bp 均條帶很明顯
4. 葉具線紋, 葉片薄、易脫落, 不具葉柄, 葉較窄、約 1mm 寬 ..... 阿里山千層塔  
*L. myriophyllifolium*
4. 非上述特徵, 葉較寬、3~5mm ..... 長柄千層塔  
*L. longipetiolatum*
2. 附生植物, 莖叢生, 下垂或斜上
3. 孢子葉明顯小於營養葉, 孢子葉生於枝梢, 形成孢子葉穗, 枝條細長
4. 營養葉長 10~15mm, 小葉基部平 ..... 垂枝石松  
RAPD 標誌分析 (OPD-08): 950bp、1250bp 均有條帶 *L. phlegmaria*
4. 營養葉長 5~6mm, 小葉基部圓 ..... 小垂枝石松  
*L. salvinoides*
3. 孢子葉和營養葉幾乎同樣大小, 或孢子葉逐漸變小
4. 葉細小, 呈鱗片狀
5. 小葉側面略呈弓型, 葉尖朝向中軸, 孢子葉明顯小於營養葉 ..... 銳葉石松  
*L. fargesii*
4. 葉線形至橢圓形
5. 莖長超過 60cm; 葉披針形
6. 莖白色、肉質、脆易折斷, 全株小葉完全貼伏莖上 ..... 覆葉石松  
*L. carinatum*
5. 莖長不及 60cm; 葉線形或橢圓形
6. 孢子葉明顯小於營養葉; 營養葉橢圓形, 孢子葉披針形; 孢子葉穗頂生 ..... 福氏石松  
RAPD 標誌分析 (OPD-08): 950bp、1250bp 均無條帶 *L. fordii*
6. 營養葉、孢子葉皆為長線形或披針形
7. 基部小葉反折, 中段小葉朝外水平展開 ..... 杉葉石松  
*L. squarrosum*
7. 小葉向外展開
8. 基部多回雙叉分歧, 植株似灌木狀叢生、下垂 ..... 台灣石松  
*L. taiwanense*

## 二、石松科植物鑑定流程

表 75 石松科植物鑑定流程表：



## 三、十六種石松科植物之核酸分析指紋圖譜

使用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09 等八個核酸引子進行 PCR 分析，結果顯示十六種石松科植物之核酸條帶有其共同性和差異性（詳見 p.56~67 及 p.112~115），若配合形態標誌（詳見 p.9~22），該核酸指紋圖譜可作為石松科植物鑑定之客觀輔助依據。

#### 四、偽石松、日本石松、垂穗石松、木賊葉石松、垂枝石松和福氏石松等六種植物之種原鑑定方法

表 76

OPD-08 核酸引子進行核酸條帶分析之流程表

五、偽石松、日本石松、多穗石松、玉山地刷子、相馬氏石松和反捲葉石松等  
六種植物之種原鑑定方法

表 77

OPE-12 核酸引子進行核酸條帶分析之流程表

## 六、台灣產千層塔（金不換）之種原鑑定方法

表 78

台灣產千層塔（金不換）之核酸條帶分析流程表

然而 OPD-08、OPB-15 所作之核酸分析指紋圖譜（參考 p82、92）顯示，台灣產千層塔（金不換）之種原複雜，其形態標誌（參考 p.41）與分子標誌（p.86-90）很不一致，難以區別有待其他方法進一步研究。目前唯一的發現是，OPE-12 引子所作之核酸分析指紋圖譜（參考 p.116 圖 20）顯示，台灣產千層塔之核酸條帶特徵十分一致，在條帶 800bp、850bp 均有反應，且十分明顯。

## 七、千層塔（金不換）市場品之 RAPD 標誌分析

以 OPD-08、OPB-15 核酸引子，經 PCR 放大之核酸電泳圖譜顯示，二者之結果不同（詳見 p.91~96），目前難下定論，有待進一步研究探討之。不過，台灣產千層塔（來自十個不同採集地點），其核酸條帶之共同性較多，而金不換市場品 1、2 之共同性則較少，且台灣產千層塔與金不換市場品 1、2 之核酸條帶之差異性較大，顯示二者之種原不同。

## 八、偽石松和日本石松之鑑別方法

利用 OPB-15、OPD-08、OPE-08、OPD-15、OPE-12、OPW-09 等六個核酸引子，所作之核酸分析指紋圖譜顯示，偽石松和日本石松之條帶差異性大，尤其是 OPB-15、OPE-08、OPD-15、OPW-09 等四個核酸引子所作之核酸分析指紋圖譜最明顯（參考 p.112~115）。茲舉引子 OPD-15 所作之核酸指紋圖譜說明如下：

共同性：於 500bp、550bp、800bp 二者均有條帶。

差異性：於 1000bp、1170bp、2000bp 偽石松均無條帶，而日本石松均有條帶，且很明顯。於 1400bp、1500bp、1670bp 及 1840bp 偽石松均有條帶，而日本石松則無條帶。

其他引子之核酸指紋圖譜，大都顯現出二者不同（詳見實驗之部）。可見偽石松和日本石松之核酸指紋圖譜差異性大，可以區別，若能配合形態標誌（詳見 p.97~104），更有助於台灣產石松種原之鑑定。

## 九、多穗石松和玉山地刷子之鑑別方法

利用 OPB-15、OPB-08、OPD-08、OPE-08、OPD-15、OPE-12、OPW-09 等七個核酸引子，所作之核酸分析指紋圖譜顯示，多穗石松和玉山地刷子之條帶差異性大，尤其是 OPB-15、OPD-15、OPW-09、OPD-08、OPE-12 等五個核酸引子所作之核酸分析指紋圖譜最明顯。茲舉引子 OPD-15 所作之核酸指紋圖譜說明如下：

共同性：於 1300bp、1400bp 二處，二者均條帶很明顯。

差異性：於 800bp、850bp 二處，多穗石松無條帶，而玉山地刷子有條帶，且很明顯。於 900bp、950bp、1000bp 多穗石松有條帶，且很明顯，

而玉山地刷子則無條帶。

其他引子之核酸指紋圖譜，大都顯現出同樣情形，二者不同（詳見 p.105~110 及 p.112~115）。可見多穗石松和玉山地刷子之核酸指紋圖譜差異性大，可以區別，若能配合形態標誌，更有助於台灣產地刷子種原之鑑定。

#### 十、相馬氏石松和反捲葉石松之鑑別方法

二者之外觀相似，容易混淆，茲利用 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-15 等五個核酸引子，作核酸分析指紋圖譜，結果顯示二者之共同性小，差異性大，尤其 OPB-15、OPD-15 及 OPE-08 等三個引子之核酸條帶特徵更明顯，茲以核酸指紋分析圖譜（OPD-15）舉例說明如下：

共同性：於 700bp、1000bp、1600bp 等三處，二者均條帶明顯。

差異性：於 500bp、800bp、900bp、1250bp、1400bp、2000bp 等六處，相馬氏石松有條帶，而反捲葉石松則無條帶。於 600bp、1300bp 二處，相馬氏石松無條帶，反捲葉石松則條帶明顯。

顯示二者條帶類型之共同性小，差異性大，此點似乎可以印證，二者之外部不同之說法，亦即是，就外部形態之比較（詳見 p.40）及核酸指紋圖譜之差異性而言，相馬氏石松和反捲葉石松，似乎應為不同的品種。

其他核酸引子所作之核酸指紋圖譜亦顯示出，類似之結果（詳見 p.68-71），因此 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-15 等五個核酸引子，所作之核酸分析指紋圖譜，可作為相馬氏石松和反捲葉石松辨識之客觀輔助依據。

#### 十一、玉柏和玉山石松之鑑別方法

二者之外部形態尚可區別，若配合核酸分析指紋圖譜，則更易辨識。本實驗利用 OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-12、OPE-15、OPW-09 等八個引子，作核酸分析指紋圖譜，結果顯示，玉柏和玉山石松之條帶類型差異性很大，可以區別，尤其是 OPB-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12 等四個引子，所作之核酸分析指紋圖譜，幾無共同性，檢測效果最好（詳見 p.72~76），結果顯示玉柏和玉山石松之核酸指紋圖譜幾乎完全不相同，此點與外部形態學作為分類之依據相吻合，茲引用核酸指紋圖譜（OPB-08）說明如下：

共同性：無。

差異性：於 500bp、800bp、1500bp、2000bp 等四處，玉柏均有條帶，而玉山石松無條帶（然 1500bp 條帶很明顯）。於 700bp、1170bp、1830bp 等三處，玉柏無條帶，而玉山石松則有條帶或很明顯。

可見二者核酸條帶之差異性很大，可以區別，二者似應為不同之品種。若

能配合形態標誌（詳見 p.40），當更能提供玉柏和玉山石松鑑定之客觀輔助依據。

## 十二、適合於本研究之核酸引子及其序列

1. 於台灣產石松科植物之核酸標誌分析中，前後歷經百餘次之實驗，二階段之核酸引子篩選得知，下列核酸引子可用於石松 DNA 指紋圖譜之分析，其包含：OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPE-15、OPW-09，其中最適宜( DNA 指紋圖譜重複性較高者)的為：OPB-08、OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08。
2. 於台灣產千層塔（金不換）之核酸標誌分析中，篩選了 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-12 等四個引子，其中對分析結果有助益的為 OPE-12、OPD-15。
3. 於千層塔（金不換）市場品之核酸標誌分析中，篩選了 OPB-15、OPD-08、OPD-15 等三個引子，然而分析實驗結果卻難以下定論，有待進一步之研究。
4. 於台灣產石松之標誌分析中，篩選了 OPB-15、OPD-15、OPE-08、OPW-09 等四個核酸引子，經實驗結果顯示，台灣產石松分為偽石松和日本石松，其核酸指紋圖譜條帶之差異較大，可以區別。該四個核酸引子所作之核酸指紋圖譜，可作為偽石松和日本石松鑑定之客觀輔助依據。
5. 於台灣產地刷子之標誌分析中，篩選了 OPB-15、OPD-08、OPD-15、OPE-08、OPE-12、OPW-09、OPB-08 等七個核酸引子，經實驗結果顯示，台灣產地刷子分為多穗石松和玉山地刷子，其核酸指紋圖譜條帶之差異性較大，尤其是 OPD-08 和 OPB-08 之核酸指紋圖譜條帶幾無共同性，而差異性極大，容易區別。該七個核酸引子所作之核酸指紋圖譜，可作為多穗石松和玉山地刷子鑑定之客觀輔助依據。  
以上各標誌分析實驗所使用之核酸引子及其序列詳見實驗之部（參考 p.53）。



## 參考文獻

1. 林敦生 台灣產石松屬藥材之生藥學研究 1990 中國醫藥學院中國藥學研究所
2. 台灣植物誌編輯委員會 台灣植物誌 1979 1993 第一卷 P.29 現代關係出版社
3. Gmitter, F.G. Jr, S.Y. Xiao, S. Huang, X.L. Hu, S.M. Garnsey, and Z. Deng. 1996 Alocalized linkage map of the citrus tristeza virus resistance gene region. *Theor. Appl. Genet*, 92 : 688-695
4. Hu, J., and C.F. Quiros. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant Cell Reports* 10:505-511.
5. Stanley, D. 1993. Mapping blueberry genes. *Agri. Res.* 1993 (9) : 20-21
6. Talemori, N., K. Shinoda, and N. Kadotani. 1994 RAPD markers for confirmation of somatic hybrids in the dihaploid breeding of potato (*solanum tuberosum* L.) *Plant Cell Rep.* 13 : 367-371
7. Tingey, S.V., and J.P. del Tufo. 1993. Genetic analysis with random amplified polymorphic DNA markers. *Plant Physiol.* 101 : 349-352
8. Torres, A.M., N.F. Weeden, and A. Martin. 1993. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba*. *Theor. Appl. Genet.* 85 : 937-945
9. Williams. J.G.K.M.K. Hanafey, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1993. Genetic analysis using RAPD markers. *Methods in Enzymology* 218:704-740.
10. 魏晉 名醫別錄 那琦、謝文全 重輯名醫別錄 1977 卷之三有名無用 27/173 p.189
11. 齊 陶弘景 本草經集注 小 尚真 森立之重輯岡西為人訂補解題 本草經集注 1972 卷七 P.133 南大版印刷株式會社
12. 唐 新修本草 岡西為人重輯 重輯新修本草 1964 有名無用卷二十草木類 1/132 P.452 國立中國醫藥研究所出版
13. 唐 陳藏器 本草拾遺 那琦 謝文全 林麗玲重輯重輯本草拾遺 1988 卷之七有名未用 1/22 P.271 華夏文獻資料出版社
14. 宋 唐慎微撰 艾晟校定 岡西 難波 李煥燊考訂經史類大觀本草 1977 卷之三十有名未用 草木類 1/132 P.575 正言出版社印行
15. 宋 唐慎微原著 金 張存惠重刊 那琦解題並序魏德文索引並刊 重修政和經史 證類備用本草 1976 卷三十有名未用草本類 1/132 P.539 南天書局有限公司
16. 明 李時珍撰 張紹棠重訂 本草綱目 1981 草部卷廿一草之十 14/16 P.816 國立中國醫藥研究所印行
17. 清 吳其濬撰 植物名實圖考上 1974 卷十六石草類 41/64 P.421 世界書局印行

18. 清 吳其濬撰 植物名實圖考長編下 1974 卷廿一木類諸木 12/49 P.1192 世界書局印行
19. 明 蘭茂著 雲南省衛生廳修訂重版 滇南本草 第二卷 P.9
20. 江蘇新醫學院 中藥大辭典 1978 P.553 香港商務印書
21. 國家中醫藥管理局中華本草編委會 中華本草 1999 第二冊、29、0355 上海科學技術出版社
22. 甘偉松校訂 中國高等植物圖誌 P.109 宏業書局印行
23. 郭城孟 台灣維管束植物簡誌 2000 第一卷 37 頁行政院農業委員會
24. 鄭武燦 台灣植物圖鑑上冊 2000 P.1 茂昌圖書有限公司
25. 王雲五名譽總編輯 中山自然科學大辭典 第八冊 1972 植物學 P.540 台灣商務印書
26. 楊再義 台灣植物名彙 1982 P.2 天然書局
27. 蕭培根等編 中國本草圖錄 1988 卷三 P.32 卷四 P.42~43 卷五 P.24 台灣商務印書
28. 陳玉峰著 台灣植被誌 1997 第二卷 高山植被帶與高山植物 下 P.598~604 晨星出版
29. 邱年永、張光雄 台灣原色藥用植物圖鑑 (4) 1995 P.4~14 台北南天書局發行
30. 嚴仲鎧 李萬林 中國長白山藥用植物彩色圖誌 1997 P.80~84 人民衛生出版社
31. 黃燮才 中國民間生草藥原色圖譜 1998 P.12~15 廣西科學技術出版社
32. 全國中草藥匯編編寫組 全國中草藥匯編 1983 人民衛生出版社
33. 全國中草藥匯編彩色圖譜編寫組 全國中草藥匯編彩色圖譜 1996 人民衛生出版
34. 謝宗萬 余友苓 全國中草藥名鑑 1996 人民衛生出版社
35. 徐國鈞等主編 中國藥材學下 1996 p.1323~1325
36. 南京藥學院 中草藥學中冊 1976 p.24
37. Liu JS, et al. The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. Can J Chem 1986; 64:837
38. 王月娥等 石杉鹼甲的抗膽鹼酯 作用 中國藥理學報 1986; 7:110
39. 唐希 等 石杉鹼甲對大鼠辨別學習和再現過程的影響 中國藥理學報 1986; 7:507
40. 程源深等 石杉鹼甲治療重症肌無力症 128 例 新藥與臨床 1986; 5:197
41. 張慈祿 石杉鹼甲治療老年性記憶功能減退 新藥與臨床 1986; 5:260
42. 嚴孝方等 石杉鹼甲和乙對骨骼肌及腦電的作用 中國藥理學報 1987; 8:117
43. 王月娥等 石杉鹼甲在大鼠及小鼠的藥物動力學 中國藥理學報 1988; 9:193
44. 郝曉勇等 石杉鹼甲對小鼠和狗血漿膽鹼酯 同功 的作用 中國藥理學報 1988; 9:312
45. Tang X C, et al. Studies on the nootropic effects of huperzine A and B: two selective AChE inhibitors In: Current Research in Alzheimer Therapy. E. Giacobini and R. Becker Eds. New York Taylor & Francis 1988;189

46. 陸維華等 石杉鹼甲改善老齡大鼠及實驗性識別損害大鼠的明暗分辨行為 中國藥理學報 1988; 9:11
47. 朱曉東等 石杉鹼甲和乙對小鼠記憶損害的改善作用 中國藥理學報 1988; 9:492
48. 管林初等 石杉鹼甲對兔腦電圖及其功率譜的影響 中國藥理學報 1989; 10:496
49. Tang XC, et al. Effect of huperzine A, a new cholinesterase inhibitor, on the central cholinergic system of the rat. *J Neurosci Res* 1989; 24:275
50. Laganier S, et al. Acute and chronic studies with the anticholinesterase huperzine A: effect on central nervous system cholinergic parameters. *Neuropharmacology* 1991; 30:763
51. Hanin E, et al. Clinical and preclinical studies with huperzine. In: *Cholinergic Basis for Alzheimer Therapy*. R. Becker and E. Giacobini Eds, Boston, Birkhauser 1991; 305
52. 張銳武等 石杉鹼甲治療老年期記憶障礙的藥物評價 中國藥理學報 1991; 12:250
53. 唐希 中草藥千層塔活性成分石杉鹼甲之藥理與臨床研究 中藥藥理與臨床研究進展 1993 p.118
54. Zhou BN, et al. *Phytochemistry*, 1993, 34 ( 5 ): 1425
55. 徐振榮 石杉鹼甲類似物的研究 藥學學報 1996
56. 劉建農 石杉鹼甲片治療阿耳茨海默的臨床療效 中國臨床藥學雜誌 1998 7 卷 6 期
57. 韓怡凡等 石杉鹼甲到乙醯膽鹼酯 新型二聚體抑制劑 中藥研究與開發綜述 2000; p.162 科學出版社
58. 潘承中 抗乙醯膽鹼生物鹼衍生物之合成 1993 國立台灣大學
59. 劉吉勝 石松生物鹼 Huperzine A 衍生物之合成 1994 國立台灣大學
60. 張文康總編 中西藥結合醫學 2000 p.551 中國中醫藥出版社
61. 田蔚城主編 生物技術之發展與應用 1999 p.75~119 九州圖書文物有限公司
62. 王自正主編 現代醫學標誌免疫學 2000 人民軍醫出版社
63. 陳惠黎主編 生物大分子的結構和功能 1999 p.391 上海醫科大學出版社
64. J.Hutchinson *The Families of Flowering Plants* 1973 Oxford At The Clarendon Press
65. 張均田主編 現代藥理實驗方法 上冊 1998 p.29 北京醫科大學 中國協和醫科大學聯合出版社
66. 李權益編著 分子生物學 2001 p.445 合記圖書出版社
67. 黃增泉著 高等植物分類學原理 1983 國立編譯
68. 黃增泉著 植物分類學 1993 南天出版社

69. Authur Cronquist An Integrated system of Classification of Flowering plants  
1981 Columbia University Press
70. 吳征鎰 新華本草綱要 1988 上海科學技術出版社
71. 周榮漢 藥用植物學分類學 1988 上海科學技術出版社
72. 陳孝泉編著 植物化學分類學 1990 高等教育出版社
73. T.Swin Chemical Plant Taxonomy 1963 Academic Press
74. T.Swin Comparative Phytochemistry 1966 Academic Press
75. Henry A. Erlich PCR Technology: Principles and applications for DNA  
amplification 1989 M stockto Press
76. 黃培堂等 PCR 技術的原理和應用 1990 中國科學出版社
77. 朱平主編 PCR 基因擴增實驗操作手冊 1992 中國科學出版社
78. 李隆雲 中藥材之分子生物學研究 1997; 4 ( 3 ) :169~171 中國中醫藥科技
79. 李杰芬 分子生物學技術在中藥研究中的應用 1996; 13 ( 3,4 ) :97~109  
廣州中醫藥大學學報
80. 王培訓 DNA 指紋圖技術在中藥鑑別中的應用 1995; 6 ( 3 ) :45~47 中藥新藥  
與臨床藥理
81. 王士友等 PCR 產物的 RFLP 分析在黃亞族 ( 豆科 ) 系統學研究中的應用初探  
1995; 37 ( 2 ) :97~102 植物學報
82. 肖小河等 中國地道藥材研究概論 1995; 20 ( 26 ) :323~326 中國中藥雜誌
83. 吳謙 應當重視分子生物學在中藥新藥質量研究中的應用 1995; 6 ( 4 ) : 9~11  
中藥新藥與臨床藥理
84. Pang-Chui Shaw and Paul Pui-Hay But 1995 Authentication of Panax Species  
and their Adulterants by Random-Primed Polymerase Chain Reaction Planta  
Med.61 : 66-69
85. Kur-Ta Cheng et al.1998.Determination of the Components in a Chinese  
Prescription, Yu Ping-Feng San, by RAPD Analysis Planta Med. 64 : 563-565
86. Dellaporta, S.L., J.Wood, and J.B.Hicks.1983. A plant DNA minipreparation :  
Version .PI. Mol.Biol.Rep.1 ( 4 ) : 19-21.
87. Thomas H.Tai and Steven D. Tanksley A.Rapid and Inexpensive Method for  
Isolation of Total DNA from Dehydrated Plant Tissue 1990 Plant Molecular  
Biology Report volume 8 ( 4 ) p.297~303
88. Pierre Guillemant and Laurence Marechal-Drouard Isolation of Plant DNA:  
A Fast, Inexpensive ,and Reliable Method 1992 Plant Molecular Biology  
Report volume 10 ( 1 ) p.60~65

89. 孫衛民、王惠琴 細胞因子研究方法 1999 人民衛生出版社
90. 李永明、趙玉琪 實用分子生物學方法手冊 1999 科學出版社
91. Skroch, P.W., and J. Niehuis. 1992. A RAPD protocol for the air thermo-cycler. *The Rapid Cyclist* 1 (1): 9-10.
92. Witter, C.T. 1992. Buffer and reaction components for rapid cycling. *The Rapid Cyclist* 1 (1): 6
93. F. Ngan et al. Molecular authentication of Panax species *Phytochemistry* 50 (1999) 787~791
94. Rong-Zhao Fu et al. Differentiation of Medicinal Codonopsis Species from Adulterants by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism *Planta Medica* 65 (1999) 648-650
95. Hirotooshi Fushimi et al. Application of PCR-RFLP and MASA Analyses on 18S Ribosomal RNA Gene Sequence for the Identification of Three Ginseng Drugs *Biol. Pharm. Bull.* 20 (7) 765~769 (1997)
96. H. Fushimi et al. A new approach for the identification of a Chinese Traditional Medicine, "Chuanxiong" by 18S ribosomal RNA Gene Sequences *Phytomedicine* Volume 3 (4), p.387~389 1996/97
97. Hirotooshi Fushimi et al. 18S Ribosomal RNA Gene Sequences of Three Panax Species and The Corrospounding Ginseng Drugs *Biol. Pharm. Bull.* 19 (11) 1530~1532 (1996)
98. Cheng Hwei-Fa and Lin Chia-Po The Identification of Polyporus in Chinese Herbal Medicine by PCR Method 1997 NHAG
99. Kur-Ta Cheng Molecular Identification of Common Buplerum Species Medicines 1998 Taipei Medical College
100. Botstein, D., R. L. White, M. skolnick, and R. W. Davis. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32 : 314-331 (1980)
101. 劉邦基 生物技術在果樹育種上之應用 台灣果樹之生產及研究發展研討會專刊 183~202 (1991)
102. Helentjaris, T. A genetic linkage map for maize based on RFLPs. *Trents in genetics* 3 (8): 217-221 (1987)
103. Roose, M. L. Isozymes and DNA restriction fragment length polymorphisms in Citrus breeding and systematics. In : R. Goren and K. Mendel (eds. ), *Proceedings of the sixth international Citrus congress.* Margraf Sci.Books. Weikersheim PP.57-67 (1988)

# Studies on Lycopodiaceae in Taiwan

## DNA Fingerprints of Lycopodiaceae Revealed by RAPD Analysis

Chiang-Tsuan Liao

Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Science

China Medical College\*

### Abstract

There are about 23 species of Lycopodiaceae in Taiwan. Up to now, we have collected and identified 19 species based on morphological study. They are listed as follows: (1) *Lycopodium annotinum* Linnaeus (2) *L. carinatum* Desvaux (3) *L. casuarinoides* Spring (4) *L. cernuum* Linnaeus (5) *L. pseudoclavatum* Ching (6) *L. japonicum* Thunberg ex Murray (7) *L. fargesii* Herter (8) *L. fordii* Baker (9) *L. multispicatum* Wilce (10) *L. yueshanense* Kuo (11) *L. obscurum* Linnaeus (12) *L. phlegmaria* Linnaeus (13) *L. salvinoides* (Herter) Tagawa (14) *L. quasipolytrchoides* Hayata (15) *L. taiwanense* Kuo (16) *L. serratum* Thunberg var. *longipetiolatum* Spring (17) *L. serratum* Thunberg *myriophyllifolium* Hayata (18) *L. somae* Hayata (19) *L. veitchii* D. Christ.

The following studies have been performed, through RAPD approach:

1. to discover the polymorphism of Lycopodiaceae and to provide a rapid way to differentiate the species of Lycopodiaceae by molecular markers, e.g. RAPD.
2. to distinguish the difference between the varieties of *Lycopodium serratum* L. in Taiwan.
3. to use molecular marker as a new approach for the identification in Chinese Crude Drug "Jing-bu-huan".
4. to study if the difference between two species "Shisong" and "Diswa gi" in Taiwan could be revealed by RAPD markers.

**Key words:** Lycopodiaceae, Macromorphology, Key, Qiancenta (*Lycopodium serratum* Thunb.) *Lycopodium serratum* Thunb. var. *longipetiolatum* Spring, *L. pseudoclavatum* Ching, *L. japonicum* Thunberg ex Murray, *L. multispicatum* Wilce, *L. yueshanense* Kuo, PCR (polymerase chain reaction), RAPD (randomly amplified polymorphic DNA).

\* No. 91 Hsueh-Shih Road, Taichung 404, Taiwan, R.O.C.

## 歷年研究成果

1. 甘偉松、那琦、廖江川 台中縣藥用植物資源 2079  
中國醫藥學院
2. 謝明村、廖江川等編著 中國藥材學 1988 國立編譯館
3. 甘偉松、那琦、張賢哲、吳偉任、廖江川 台北縣藥用植物資源之調查研究  
1993 中國醫藥學院
4. 廖江川編輯 藥用植物學概論 1993 中國醫藥學院
- 調 5. 甘偉松、那琦、張賢哲、林新旺、廖江川 宜蘭縣藥用植物資源之  
1994 中國醫藥學院
6. 廖江川等 台灣產石松科 Lycopodiaceae 植物之生藥學研究 2000 天然藥物研討會
7. Liao, C.-T., and Chiu, T.-H. Botanical Study on Lycopodiaceae of Taiwan  
2001 Journal of Chinese Medical Sciences (Accepted)
8. Liao, C.-T., and Liou, B.-C. DNA Fingerprints of Qiancenta Revealed by  
RAPD Analysis 2001 Journal of Chinese Medical Sciences (Accepted)