

國立臺灣大學生命科學院生命科學系
碩士論文

Department of Life Science College of Life Science
National Taiwan University
Master Thesis



評估 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 分子條碼對台灣蕨類鑑種之效力

**Assessment on DNA discriminatory powers of *matK*, *rbcL*, and *trnL-L-F* on
Taiwanese ferns**

林祐如

Yu-Ju Lin

指導教授：王俊能 博士

Advisors: Ph.D. Chun-Neng Wang

中華民國 105 年 6 月

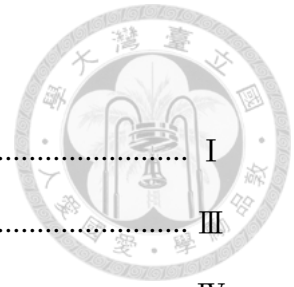
June, 2016

致謝

在這兩年的碩士班生涯，無論研究或生活，受惠於許多恩人。首先，我要感謝我的指導教授王俊能老師，謝謝他無私耐心的指導與教誨，研究上指點迷津，生活上鼓勵打氣，讓我得以在研究上全力以赴；第二位要感謝的是郭立園博士，謝謝郭博士帶我進入林試所蕨類分類實驗室，並幫助我尋找到感興趣的論文題目和協助研究材料之取得，衷心感謝；第三位要感謝的是林試所蕨類分類實驗室主持人黃曜謀老師，感謝他與他的實驗室成員郭立園、劉威廷、唐德妍、徐昇圓、陳正為、高資棟、李沛軒、呂碧鳳等共同協力取得樣本，提供我可以進行論文題材與分析之用途，也非常謝謝黃老師在實驗上給予提醒與建議，並於生活上給予關懷與鼓勵；第四位要感謝的人是前台北植物園生物組組長邱文良老師，謝謝邱老師對我在研究上給予彈性自主，也感謝老師在實驗室會議上給予蕨類專業之建議；接者要感謝的人是王俊能老師實驗室擔任博士後的郭浩志博士，感謝郭博士對於我在研究分析上給予莫大的協助與解惑，使我在研究上的疑惑與困難能迎刃而解，豁然開朗；在此，也特別感謝王俊能老師實驗室 R1207 的全體研究人員及林試所蕨類分類研究室 R701 及 R809 全體同仁，謝謝大家對我在研究上的建議與幫忙、生活上的關心與包容；最後，感謝我的碩士學位口試委員之其二，黃俊霖博士及張和明博士，於口試給予專業的回饋建議，得以讓我順利完成此論文，萬分感激。



目錄



目錄.....	I
摘要.....	III
Abstract.....	IV
第一章、前言.....	1
一、分子條碼對蕨類植物研究之重要性.....	1
二、分子條碼法則與應用.....	1
三、評估分子條碼之準則與策略.....	2
四、分子條碼研究現況.....	4
五、具潛力候選分子條碼.....	5
六、研究理論策略架構及目的.....	6
第二章、材料與實驗方法.....	9
一、取樣材料.....	9
二、實驗方法流程.....	9
(一) DNA 萃取.....	9
(二) 聚合酶鏈鎖反應及定序.....	11
(三) 序列排列與分析.....	11
第三章、分析方法.....	13
一、聚合酶連鎖反應擴增序列成功率.....	13
二、重複鹼基序列中斷讀序比例.....	13
三、物種鑑別成功率.....	13
(一) 種間及種內遺傳距離差距 (barcoding gap) 物種對比例.....	13
(二) 成功鑑別物種單系群比例.....	14
第四章、結果.....	16
一、引子通用性之測試.....	16

二、定序品質之評估.....	16
三、物種區別效力之計算.....	17
(一)Barcoding gap 物種對比例.....	17
(二)成功鑑別物種單系群之比例.....	19
第五章、討論.....	22
一、引子通用性 <i>trnL-L-F</i> 最高.....	22
二、定序品質 <i>rbcL</i> 最佳.....	23
三、物種區別效力 <i>trnL-L-F</i> 最佳.....	24
四、 <i>trnL-L-F</i> 、 <i>rbcL</i> 和 <i>matK</i> 優缺點.....	29
五、結合數段分子條碼以達最高蕨類物種區別效力評估.....	30
第六章、貢獻與展望.....	32
參考文獻.....	34
圖.....	41
表.....	44
附錄.....	53





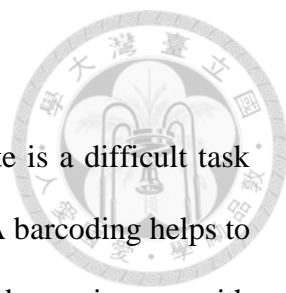
摘要

蕨類配子體型態矮小相似，無足夠外型特徵以成功鑑別物種，但使用 DNA 分子條碼可提供較足夠的分子特徵，解決外部型態特徵鑑別蕨類配子體與未鑑別物種之困難。然而目前蕨類植物無一個通用所有物種的分子條碼，本研究以蕨類研究常用的 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 三個分子條碼區段，依據引子通用性(PCR 成功率高低)、定序序列品質(扣除因重複鹼基造成讀序失敗後之成功率)、與物種區別效力(最小種間遺傳距離是否大於最大種內距離、種內個體能否形成單系群)三項標準加以評估效力，選取最有潛力發展為通用的蕨類植物分子條碼。

本研究樣囊括分類階層範圍為台灣蕨類植物 28 科 77 屬 217 種。第一項評估 PCR 成功率結果，*trnL-L-F* 可成功放大 99.33% 物種、*rbcL* 達 88.55%、*matK* 為 67.34%，若採取通用性加類群專一性兩階段引子放大 *matK*，PCR 成功率提高為 85.86%。第二項定序品質成功率，在 *rbcL* 為 100%、*matK* 為 98.01%、*trnL-L-F* 為 86.69%。第三項物種區別效力中，種間大於種內遺傳距離差距(Barcoding gap 物種對)比例 *trnL-L-F* 為 95.61%、*rbcL* 為 95.42%、*matK* 為 87.70%。種內個體形成單系群比例 *trnL-L-F* 為 90%、*rbcL* 為 85%、*matK* 為 82%。綜合三項標準，*trnL-L-F* 具最高分子條碼效力。本研究因廣泛取樣跨類群之台灣蕨類植物，對比過去其他研究大多僅採用一項標準的結果更為可信，由於 *trnL-L-F* 物種區別效力之種間種內遺傳距離差距比例與單系群比例，均超過 90%，單一條碼 *trnL-L-F* 即可在蕨類通用性鑑種。

關鍵字：分子條碼、台灣蕨類植物、*matK*、*rbcL*、*trnL-L-F*、引子通用性、定序序列品質、(物種)區別成功、(物種)區別效力

Abstract



Identification of fern species, and particularly fern gametophyte is a difficult task because there are not many morphological characters available. DNA barcoding helps to identify morphologically related gametophytes and unidentified specimens with molecular characters. However, there is only a few works on developing universal DNA-barcode in ferns. In this study, I evaluated discriminatory powers of three chloroplast barcodes, *matK*, *rbcL* and *trnL-L-F*, by proposed criteria such as primer universality (PCR success rate), sequence quality (mononucleotide repeats disrupting individual sequencing reads) and discrimination success. The discrimination success of species is assessed by two different methods for comparison. A distance-based analysis checks if the minimum uncorrected interspecific *P*-distance involving a species was larger than its maximum intraspecific distance (indication of a barcoding gap); and a Bayesian phylogenetic analysis examines whether individuals of the same species can be clustered together (checking for proportions of well-supported monophyly of species).

28 families 77 genera 217 species of the Taiwanese ferns were selected to assess DNA discriminatory powers of *matK*, *rbcL* and *trnL-L-F*. Primer universality assessment resulted in 99.33% PCR success rate for *trnL-L-F*, the highest among three; meanwhile, 88.55% for *rbcL* and 67.34% for *matK*. To improve the success rate of *matK*, two-stage PCR (universal primer pairs then lineage-specific primer pairs) were performed, the new *matK* success rate increased to 85.86%. Sequence quality checking resulted in 100% *rbcL* sequences no disrupting reads caused by mononucleotide repeat (tandem repeat), whereas 98.01% in *matK* and 86.69% in *trnL-L-F*. Barcoding gaps can be found in 95.61% *trnL-L-F* pairwise distance, 95.42% by *rbcL* and 87.70% by *matK*. On the other hand, the discrimination success inferred by Bayesian monophyly indicated

90% of within-species *trnL-L-F* sequences were successfully resolved when forming a monophyletic group with sufficient bootstrap support, in *rbcL* this was 85% and in *matK* this was 82%. To sum up, *trnL-L-F* has the highest discriminatory power to tell different fern species apart. Because the discrimination success of *trnL-L-F* in our well-sampled Taiwanese ferns is above 90%, higher enough to be the most universal DNA barcode for ferns.

Key words: DNA barcode, barcoding gap, primer universality, sequencing quality, discrimination success, discriminatory power

第一章、前言

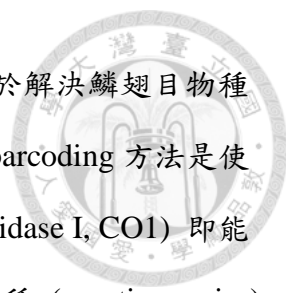


一、分子條碼對蕨類植物研究之重要性

全世界蕨類植物(包含石松類)種數(13000 種)約佔維管束植物種類的 4% (13000/32000)(The Plant List, 2013), 蕨類植物不同於種子植物, 生活史由獨立的孢子體及配子體世代交替循環完成, 傳統分類以孢子體外部形態鑑定物種, 相對於孢子體, 配子體不僅型態較小且可供物種鑑定特徵較少, 因此不同分類群之間配子體通常具高度的形態相似性, 難以辨識區別, 往往需要藉由其他方法加以辨別, 其中之一的方法 DNA barcoding 被認為可成功鑑定配子體物種 (Chen et al., 2012), 以往蕨類植物地理分布的資訊, 多來自孢子體, 配子體相對有限 (Farrar et al., 2008), 如能透過 DNA barcoding 鑑別配子體, 對於蕨類植物完整的野外生活史、生育地偏好及與環境因子的交互作用將更加了解。台灣蕨類植物為 747 種 (Knapp et al., 2011; Zhang et al., 2013), 僅佔全世界蕨類植物物種近 5.75% (747/13000), 包含大多數的科(86.84%, 33/38) (Kramer et al., 1990; Knapp et al., 2011), 如用台灣多樣的蕨類分類群為研究對象, 可以提供評估 DNA barcode 對蕨類植物的適用性。另外, 使用 DNA barcode 鑑別蕨類物種, 可提供較傳統型態鑑別更多基因體內的分子特徵訊息, 以協助外部形態特徵鑑定研究工作, 釐清分類關係, 例如以分子條碼成功地鑑定台灣假鱗毛蕨屬物種 (Li et al., 2011) 和鳳尾蕨科物種 (Chen et al., 2012), 故發展分子條碼為蕨類植物研究之現代趨勢。

二、分子條碼法則與應用

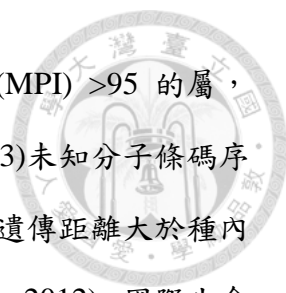
分子條碼法則 (DNA barcoding) 係指由分子實驗流程步驟, 經 DNA 分離萃取、引子擴增大該區段序列、序列比對分析, 發展出標準化短遺傳 DNA 序列區段 (即分子條碼 DNA-barcode), 得到一個分子條碼序列對應於一個特定物種之工具方法學。此工具學於未鑑定樣本比對特定已知物種標準化基因 DNA 序列區段, 具快速正確之功效。DNA barcode 的研究最早起源於 2003 年 Hebert 等人研究鱗翅目等動



物分類問題時，以商場裡商品條碼作為靈感來源，成功地應用於解決鱗翅目物種鑑定的問題 (Hebert et al., 2003)。Hebert et al. (2003) 提出 DNA barcoding 方法是使用粒線體的單一 DNA 片段細胞色素 c 氧化酶 I (cytochrome c oxidase I, CO1) 即能夠充分地區別物種，解決以形態為基礎鑑定上相似物種或隱蔽物種 (cryptic species) 鑑定限制與分類研究的問題。其他研究也驗證了單一 DNA 片段可解決物種形態鑑定的困難，例如蕨類鳳尾蕨類群中，不同物種的配子體通常具高度的形態相似性，難以辨識區別，藉由 DNA barcoding 方法，可成功解決以形態特徵區別配子體物種之困難 (Chen et al., 2012)，進一步分子條碼序列的蒐集也可以建立完整的地區性蕨類物種 DNA 資料庫。而使用更短片段的 DNA 迷你分子條碼 (DNA mini-barcode)，更可以克服高度裂解 DNA 樣本無法使用 DNA barcode 進行 PCR 擴增之困難、解決標本館破碎未知物種鑑別問題、應用於草食動物糞便消化道食物碎屑 DNA 物種鑑別 (Valentini et al., 2009)、經森林大火的殘破土壤中或從空氣中蕨類孢子萃取出環境 DNA (eDNA) 物種鑑定 (Handley et al., 2015) 等，甚至結合次世代定序 (Next Generation Sequencing) 等新穎技術發展具備迅速及高通量特性的超條碼方法學 (metabarcoding methodology) (Latinne et al, 2014)。

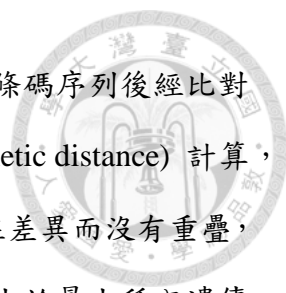
三、評估分子條碼效力之準則與策略

植物分子條碼效力的評估策略之發展，開始於 Kress & Erickson (2007) 分子實驗過程採用聚合酶連鎖反應兩階段條件策略，PCR 反應條件第一階段使用標準的 DNA 聚合酶 (non-hot-start)，第二階段採用起始加熱 (hot-start) DNA 聚合酶並改變 PCR 反應條件，將第一階段無法 PCR 擴增樣本，降低黏合溫度至 50C⁰、改變 PCR 循環次數至 40 個循環再 PCR，並將第一階段產生多個 PCR 產物樣本，提高黏合溫度至 55C⁰、改變 PCR 循環次數至 30 個循環再 PCR，以評估測試分子條碼於陸生植物引子擴增效能 (Kress & Erickson, 2007)。爾後，評估植物分子條碼效力的策略，其中包含(1)計算同屬內種間蕨類配子體遺傳距離與種內遺傳距離的比值



(ratio);(2)使用最大簡約法重建親緣關係策略，選出最大或然率 (MPI) >95 的屬，評估這些屬內蕨類配子體物種區別效力 (de Groot et al., 2011)；(3)未知分子條碼序列比對資料庫吻合度 (Ebihara et al., 2010)；(4)計算同屬內種間遺傳距離大於種內遺傳距離(Barcoding gap) 物種對比例 (Li et al., 2011; Chen et al., 2012)。國際生命條碼聯盟 (Consortium for the Barcode of Life, CBOL Plant Working Group) 於 2009 年提出評估 DNA barcode 效能的三個準則：引子的通用性、定序序列品質及區別物種能力 (CBOL Plant Working Group, 2009)，為眾多研究欲評估選取有潛力分子條碼之全球化標準方針。該評估準則與相關研究內容如下：


第一個評估準則：引子的通用性。因一個具效力的通用標準化分子條碼，能使用單一組引子對，經聚合酶連鎖反應即可成功地放大所有物種產物 (CSHL, 2014)，則該引子對通用性能由聚合酶連鎖反應成功地放大產物百分比計算，依電泳分析產生目標產物亮帶即該筆 PCR 成功之評估原則，計算每筆 PCR 成功擴增出目標產物的樣本總和為分子，除以分母為取樣樣本個體總數，所得比值的百分比即 PCR 成功率。通用引子的 PCR 成功率，是能否被成功定序的先決條件 (Valentini et al., 2009; Chariton, 2012)，故引子的通用性視為分子條碼效力評估判準之首。第二個評估準則：定序序列品質。判讀序列品質除了考慮定序獲得的序列能經手動編輯微調得到正確序列外，因在非編碼 (non-coding) 區段分子條碼可能出現受六個以上重複鹼基干擾產生定序序列錯誤位移 (shift)，造成定序中斷情形，例 *trnL-L-F* 受重複鹼基 G 影響，接續序列向前位移造成無法讀序 (圖一)，故須加以評估，其計算方式：(所有單端定序序列數-受連續重複鹼基干擾中斷定序序列數/所有分析序列總數×100%)，計算影響序列樣本讀序正確性佔分析序列總數正確率，作為序列品質評估方法。第三個評估準則：區別物種能力。根據 CBOL Plant Working Group 該聯盟於 2009 年利用已廣泛提出之分子條碼計算物種間及物種內序列的遺傳距離是否有所差異，遺傳距離是計算序列兩兩之間核苷酸突變累積次數的多寡；且假定同種內序列間遺傳變異的累積小於同屬內種間序列遺傳變異的



累積 (Meyer & Paulay, 2005)。該方法實驗步驟是採得到分子條碼序列後經比對 (alignment) 整理，進行兩兩序列配對遺傳距離差異 (pairwise genetic distance) 計算，評估同屬內種間及種內遺傳距離分佈 (Barcoding gap) 是否存在差異而沒有重疊，上述方法，已在被子植物研究提出，使用最小同屬內種間距離大於最大種內遺傳距離方法能成功區別物種的分子條碼，稱為理想分子條碼 (Dong et al., 2015)。該方法檢驗上量化運算方式為每物種配對組的種間遺傳距離要大於零，且大於種內所有遺傳距離為分子，表示同屬種間與種內遺傳距離沒有重疊區域，具有種間內遺傳距離差距 (Barcoding gap) 的概念定義，例蕨類假鱗毛蕨屬內物種對的種間遺傳距離大於零，且總是大大於種內遺傳距離，即為物種區別成功之定義標準 (Li et al. 2011)；同屬內有兩個個體樣本以上的物種，任兩物種間序列為一配對為分母，計算分子與分母比之百分比，即物種區別成功率。另一區別物種效力方法為重建核苷酸取代演化過程 (亦考慮鹼基 A、T、C、G 取代權重比例不同)，以序列同源性核苷酸特徵重建親緣關係樹，以此親緣關係策略方法計算同屬內同一物種中不同個體序列能形成單系群的比例 (monophyletic proportion)，計算方式以有兩個以上個體樣本的物種經重建親緣關係所形成單系群總數為分子，除以有這些樣本物種總數為分母，所得百分比即單系群比例。以此策略方法可計算蕨類書帶蕨屬內單系群比例 (Chen et al., 2012)，檢驗以兩兩序列遺傳差距，作為未知物種序列配對資料庫物種，序列相似度的精確性，免除因物種鑑定錯誤，卻僅以序列遺傳距離差距而造成錯誤比對差異對應於趨同演化形成的序列相似、非同源性核苷酸特徵相同之非目標物種 (Brown et al., 2011)。

四、分子條碼研究現況


在動物研究中，以粒線體基因的細胞色素 c 氧化酶 I (cytochrome c oxidase I, COI) 為最通用 DNA barcode，但 COI 序列無法適用於所有植物物種區別 (Chase & Fay, 2009; Chen et al., 2010)，因植物 COI 的同義鹼基取代 (synonymous substitution)



速率比葉綠體 DNA 的速率慢 2~3 倍以上 (Drouin et al., 2008)，使得植物 COI 序列演化突變速率明顯緩慢 (Kress et al., 2005)，物種間序列變異度很低，鑑別效力變差。因此，過往研究之植物 DNA barcode 大多是選取自細胞核基因或葉綠體 DNA，但核內 DNA barcode (例如:ITS) 可能會受到其他物種 (例如:菌類存在 ITS 基因區段) 的 DNA 感染及 PCR 擴增困難，可能存在多個拷貝植物 DNA barcode，使得不同物種 DNA 難以區別，導致物種鑑別率下降 (Hollingsworth et al., 2011; Li et al., 2015)，故植物分子條碼候選區段多以單一拷貝 (Single-copy) 基因組的葉綠體 DNA 為主，如常用的 *atpF-H*、*matK*、*psbK-I*、*rbcL*、*rpoB*、*rpoC1*、*trnL-F*、*trnL* (Hollingsworth et al., 2011)，近期更有陸生植物研究提出 *ycf1* 分子條碼區段可能是最具潛力開花植物的「COI」(Dong et al., 2015)；即使如此，目前蕨類植物研究仍無一個作為跨類群蕨類植物通用標準化分子條碼以成功鑑別所有蕨類植物；因此，本研究認為選取出一個最具潛力的蕨類植物通用分子條碼，是現今蕨類植物研究應致力發展的目標。

五、具潛力候選分子條碼


植物分子條碼候選區段研究始於 Kress et al. (2005) 提出 COI 不適合於植物物種鑑別，而後一系列植物候選分子條碼如 *trnH-psbA*、*matK*、*rbcL*、*trnL* 及 *trnL-F* 等相繼被研究提出 (Kress et al., 2007; Ebihara et al., 2010; de Groot et al., 2011; Hollingsworth et al., 2011; Taberlet et al., 1991)，其中廣為接受的植物候選分子條碼為 CBOL Plant Working Group 2009 年嘗試選取陸生植物最具潛力分子條碼研究所提出位在葉綠體 DNA 的 *rbcL* 及 *matK* 兩個區段組合成多位點 (multiple-locus) 分子條碼，會有最高物種區別成功率，即 *rbcL* + *matK* 組合可能是陸生植物最可發展之通用性分子條碼。評估 PCR 引子擴增結果顯示，非編碼區段 *trnH-psbA* 具有高度引子通用性，但隱花植物 *matK* 的 PCR 擴增效力特別低僅 10%；使用單一分子條碼區段的物種鑑別率結果，*trnH-psbA* 最高，*rbcL* 最低。因此以標準化準則評估



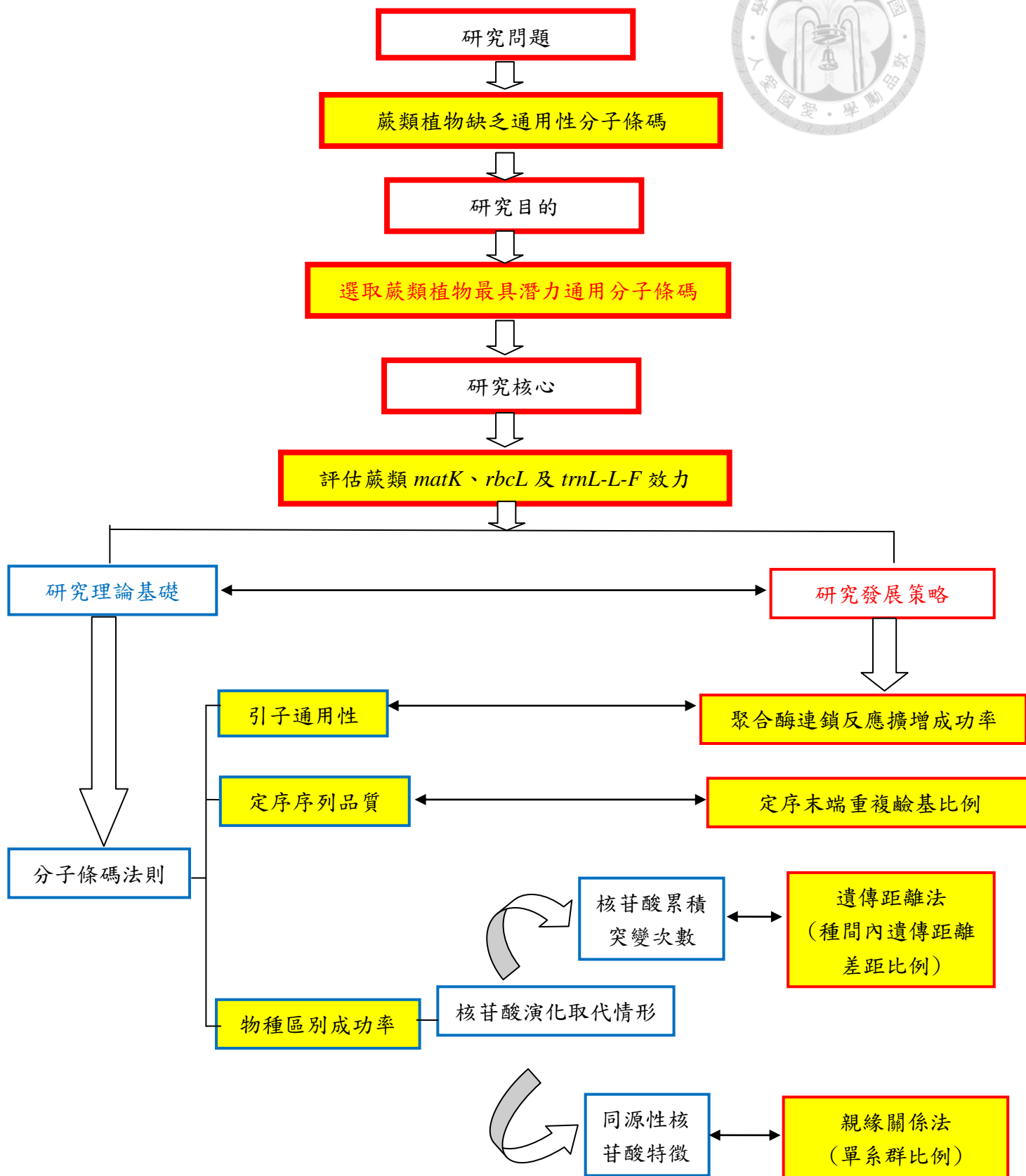
DNA 分子條碼區段而言，*rbcL* + *matK* 組合及單一 *trnH-psbA* 適合通用陸生植物的分子條碼。而蕨類植物研究中，最早提出適合膜蕨科類群的分子條碼區段為 *trnH-psbA* (Nitta et al., 2008)，欲提高 *trnH-psbA* 物種區別效力，更發展出將非編碼區段 *trnH-psbA* 及結合編碼區段 *rbcL* 之結合性位點 (combine-locus) 分子標記，可有效提高物種區別成功率，解決蕨類配子體形態鑑別困難 (de Groot et al., 2011)；然 *trnH-psbA* 分子條碼序列位在顛倒重複序列 (Inverted repeat region) 區域，使 *trnH-psbA* 鹼基取代速率變得顯著緩慢，故 *trnH-psbA* 非適當的蕨類分子條碼 (Li et al., 2011)；同陸生植物 *matK* 及 *rbcL* 結合兩者而成的多位基因點 (Multiple-locus) *matK+rbcL* 分子條碼在蕨類特定的 *Cheilanthes marginata* 類群及 *Deparia* 有高度物種鑑別率，尤其假鱗毛蕨屬 (*Deparia*) 內物種鑑別率高達 100% (Li et al., 2011)，但該研究單一分子標記 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 區別假鱗毛蕨屬內物種區別成功率分別僅 75%、67.9% 及 57.1%，該研究建議後續相關分子條碼區段研究，應增加分析樣本類群數與發展 *matK* 專一性引子。但在特定類群鳳尾蕨科類群植物配子體生活史時期，葉綠體 *trnL-L-F* 區段 PCR 成功率達 100%，即引子通用性高；且鳳尾蕨科內的車前蕨屬於遺傳距離法和親緣關係樹法物種鑑別效力分別達 95%、85.7%，高度物種區別效力 (Chen et al., 2012)，但該研究樣本僅特定類群鳳尾蕨科蕨類植物，進行分析的類群樣本數少，該研究結果可能不足以代表 *trnL-L-F* 於蕨類植物的效力。基於上述研究文獻回顧與探討總結，本研究認為蕨類植物常用的 *trnL-L-F*、*matK* 與 *rbcL* 三個區段分子條碼效力仍須再加以檢驗評估。

六、研究理論策略架構及目的

依據前述文獻回顧與欲解決問題，本研究根據分子條碼法則、採取 CBOL Plant Working Group. (2009) 三項評估準則發展策略為研究理論基礎：測試引子擴增序列成功率、定序序列讀序正確百分比及遺傳距離法 barcoding gap 之物種區別成功率，另外，本研究再加入系統生物學之親緣關係分析方法，重建貝式親緣關係樹，



計算形成的單系群物種比例，多一項評估物種區別成功率之策略，此為與 CBOL Plant Working Group. (2009)、Li et al., (2011)和 Chen et al., 2012 不同之處，以發展對應於理論基礎的策略方法分別為聚合酶連鎖反應擴增成功率、未受定序末端重複鹼基比例、種間內遺傳距離差距比例及單系群比例，構成本研究理論基礎與發展策略架構，並依此擴展後續第三章研究方法(詳第三章)。基於本研究理論基礎與發展策略架構(如下頁所示)，本研究提出研究目的為根據分子條碼效力之引子通用性、序列品質與物種區別力三項評估準則，對台灣跨類群蕨類植物之 *rbcL*、*matK* 及 *trnL-L-F* 分子條碼於 PCR 擴增成功率、受定序末端重複鹼基影響及物種區別功效力進行評估，並以評估結果發展選定適用台灣跨類群蕨類植物最具潛力的通用標準化分子條碼，促進蕨類配子體區別與未知物種鑑定等相關研究發展。



第二章、材料與實驗方法



一、取樣材料


本研究材料取由行政院農委會林業試驗所邱文良博士與黃曜謀博士共同主持的蕨類研究團隊提供，樣本囊括分類階層範圍為蕨類植物的 28 科 77 屬 217 種 297 個樣本，取樣來源三地點為台灣福山植物園、南投蓮華池及屏東南仁山。每個物種於各採集地僅取一個體樣本，並將採集所得之證據標本存放於林業試驗所植物蠟葉標本館 (TAIF)。取樣個體資訊及物種被成功放大出各分子標記之數目表一所示，*trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 個體放大成功分別為 295、263、255，定序序列成功可分析的個體 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 為 293、263、252，而有兩個以上樣本的物種數可進行分析於 *trnL-L-F* 為 60 種、*rbcL* 為 60 種及 *matK* 為 50 種。

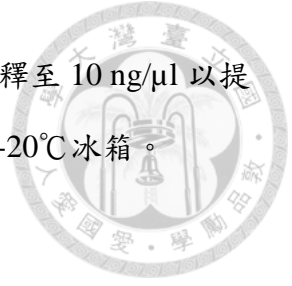
二、實驗方法流程

DNA 萃取、PCR 擴增由林業試驗所蕨類研究團隊協助完成。實驗方法使用 DNA 萃取及 PCR 擴增方法，DNA 以 CTAB 方式萃取 (Wang et al., 2004)，最後以異丙醇沉降析出 DNA 或者以植物基因體 DNA 萃取迷你 kit 組 (Qiagen) 純化 DNA，再將萃取出的 DNA 樣本進行 PCR 反應測試，該反應所選取使用的通用及專一性引子序列與標準化條件於表二所示，其 15 μ L PCR 反應溶液配方如下：20 ng 基因組 DNA、1 倍 PCR 緩衝液、200 μ M dNTP、每個引子各 15 pmol、1 U DNA 聚合酶。將反應完之 PCR 產物於 1% 洋菜膠進行電泳，後續於 EtBR 溶液中進行染色，確認 PCR 之成功率，接者切膠純化處理得 PCR 之目標產物後，委由基龍米克斯公司 (台北) 以毛細管電泳技術 ABI 3730XL 系統進行定序。詳細實驗流程步驟如下：

(一) DNA 萃取

1. 每一材料配製緩衝液：1ml 之 2% CTAB 溶液加入 5 μ l mercaptoethanol 與 0.05g 的 Poly-vinylpolypyrrolidone(PVPP)，並將此緩衝液製於 65°C 預熱。

- 
2. 取適量之新鮮或矽膠乾燥植物葉片放入研鉢中，加入液態氮將葉片研磨至粉末狀。
 3. 吸取 500 μ l 緩衝液加入研鉢中與粉末一起研磨，至冰晶狀粉末融化為液狀後，再加入 500 μ l 緩衝液混合均勻。
 4. 將上述植物溶液吸取至 2ml 離心管中，置於 65°C 乾浴槽至少 30 分鐘。
 5. 在離心管內加入 500 μ l PCI (phenol-chloroform-isoamyl alcohol 體積比 25:24:1, pH 8.0)。
 6. 將離心管移置震盪機，以轉速 100 轉/分震盪 2 小時。
 7. 於室溫下離心 10 分鐘，轉速 13000rpm。將上清液移至新的 2ml 離心管，丟棄沉澱物。
 8. 加入 500 μ l chloroform-isoamylalcohol (體積比 24:1)於上述之上清液中，將離心管移置震盪機，以轉速 100 轉/分震盪 30 分鐘。
 9. 於室溫下離心 1 分鐘，轉速 13000rpm。將上層溶液(水層)移至新的 2ml 離心管，丟棄下層溶液(有機層)。
 10. 加入 500 μ l chloroform 於上述之上層溶液中，將離心管移置震盪機，以轉速 100 轉/分震盪 30 分鐘，自步驟 5 至步驟 10 共清洗三次。
 11. 於室溫下離心 1 分鐘，轉速 13000rpm。將上層溶液(水層)移至新的 1.5ml 離心管，丟棄下層溶液(有機層)。
 12. 加入步驟 11 所得上層溶液體積 2/3 的 isopropanol 沉降 DNA，若是在此步驟所得的溶液顏色較深的話，只加入 1/2 體積的 isopropanol，並觀察 DNA 沉降狀況，已有沉澱產生的深色溶液立刻離心倒掉溶液，其餘可放置於-20°C 冰箱 2 小時靜待沉降。
 13. 沉降後以轉速 13000rpm 離心 10 分鐘，可得到白色的 DNA 沉澱。
 14. 去除上清液，並抽氣離心 10 分鐘以完全去除 isopropanol。
 15. 加入 100 μ l 的無菌水並放置於 65°C 乾浴槽以回溶 DNA 沉澱。



16. 利用電泳及超微量分光光度計(Nanodrop)確認產物濃度，稀釋至 10 ng/ μ l 以供 PCR 反應使用，DNA 原液及稀釋後 DNA 溶液皆保存於-20°C 冰箱。

(二) 聚合酶連鎖反應及定序

1. 反應試藥：每次聚合酶連鎖反應 (PCR) 反應的總體積為 15 μ l，其中包含 20ng genomic DNA，1 倍 PCR 緩衝液，200 μ M 的 dNTP，各股 1.5pmol 的雙方引子，1U 的 DNA 聚合酶(GENET BIO ExPrime Taq DNA Polymerase)，7.2 μ l 的無菌水。
2. 反應條件(PCR 反應條件資訊表二)：先以 94°C 處理 10 分鐘，使雙股 DNA 呈現單股狀態，再以 94°C 處理 30 秒、再依照不同分子條碼進行黏合，不同分子條碼反應溫度和時間：*matK* 以 53°C 處理 30 秒、*rbcL* 以 50°C 處理 30 秒、*trnL-L-F* 以 55°C 處理 30 秒，進行 40 次循環，再處理 72°C 時間 10 分鐘後，降溫至 4°C 時間 5 分鐘，最後保存 PCR 產物在 4°C 冰箱。
3. 電泳條件：PCR 產物與長度參考分子標記(ladder)，在 1×TBE buffer 的電泳槽中以 120V 電壓進行電泳 25 分鐘後，置於含有溴化乙啶螢光染劑(Ethidium bromide, EtBr)之避光染缸中染色約 5 分鐘後並移至 TBE 清洗缸中洗去多餘染劑，於紫外光下，從 PCR 產物長度、濃度研判是否為目標產物條帶，並於燈箱內拍照記錄。
4. 進行毛細管電泳技術 ABI 3730XL 系統進行定序。

(三) 序列排列與分析

將定序所得序列於國際生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 基因資料庫 (GenBank) 比對序列正確性及搜尋物種名稱，再將所得 DNA 序列以 Mega6.0 程式使用 Muscle 演算法，分科進行核苷酸同源性

(homologous) 排序 (alignment) 比對形成序列矩陣，加以人工手動調整確認序列矩陣，以達到最大的相似性與合理性。



第三章、分析方法



一、聚合酶連鎖反應擴增序列成功率

本研究引子通用性效力測試，採計聚合酶連鎖反應 (PCR) 成功率，計算每個體樣本是否能該特定分子條碼引子對放大，若在電泳圖下產物亮帶出現於預測產物位置長度附近 (跨類群 *matK* 約 800~900bp、*rbcL* 約 650~700bp、*trnL-L-F* 約 1100~1200bp)，即算該筆樣本擴增成功；否則為 PCR 失敗。再將成功的樣本總數除以所有測試的樣本總數，得到擴增 (PCR) 成功率。

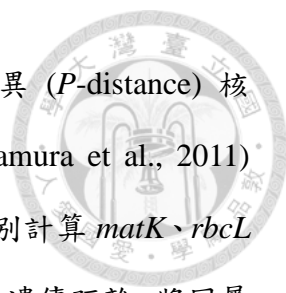
二、重複鹼基序列無中斷讀序比例

將 PCR 產物送定序後，無法定出完整序列個體樣本剔除。留下可得序列的樣本，再確認該定序結果是否因重複鹼基序列干擾而中斷讀序；其計算方式是以所有單端定序所得之序列個數(N)，扣除受六個以上連續重複鹼基序列干擾而中斷讀序 (圖一)的序列個數(Ne)，除以 N 後百分比，計算序序列之正確率 $\{ [(N - Ne)/N] \times 100\%$ (表三)，以評估定序序列品質。

三、物種鑑別成功率

(一) 種間及種內遺傳距離差距 (barcoding gap) 物種對比例


本研究進行物種區別效力評估分析方法有二：遺傳距離評估法與單系群親緣關係評估法。遺傳距離 (genetic-distance approach) 係由實驗所得可進行分析的完整序列，進行兩兩分子條碼序列配對，以計算成對遺傳距離差異。首先，遺傳距離的計算，是以未經校正同位點鹼基差異 (*P*-distance) 核苷酸取代模型進行。根據 collin et al. (2012) 遺傳距離核苷酸取代模型測試結果，發現未經校正 (uncorrected) 同位點鹼基差異 (*P*-distance, Parameter genetic distance) 之 DNA 核苷酸取代模型，幾乎接近真實取代情形；且同屬內不同物種間的同源鹼基取代 (homoplasy) 發生次數不多，及本研究結果期望能與過去大多研究結果比較情況下，例如 Li et al.



(2011) 與 de Groot et al. (2011), 故採用未經校正之同位點鹼基差異 (*P*-distance) 核苷酸取代模型, 將沒有校正之序列矩陣輸入 MEGA 6.0 軟體 (Tamura et al., 2011) 進行兩兩序列位點配對遺傳距離 (pairwise distance) 之分析, 分別計算 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 同屬內種間 (interspecific) 與同種內 (intraspecific) 之遺傳距離。將同屬種間兩兩序列, 依變異位點比例表示遺傳距離, 接者再以同樣方式計算種內個體間成對之遺傳距離, 若種間最小遺傳距離, 大於種內個體間最大遺傳距離, 則存在遺傳距離差距 (barcoding gap), 代表能成功區別物種 (Hollingsworth et al., 2009)。本研究並參照蕨類特定類群研究 Li et al. (2011) 與 Chen et al. (2012) 遺傳距離法之計算物種區別成功定義與評估方法, 稍加修改成更嚴謹的物種區別成功定義標準: 以同屬物種任兩者配成一對的物種對總數為分母, 各物種配對種間遺傳距離大於 0 且能大於種內遺傳距離(具 Barcoding gap) 的物種對總數為分子, 相除所得百分比率為物種區別成功率, 作為實際評估該分子條碼具物種區別之效力。計算公式如下: 【Barcoding gap 物種對比例 = (任兩物種配對最小種間遺傳距離 (物種對的種間遺傳距離 > 0) 大於最大種間遺傳距離的總對數 / 各屬內任兩物種配對的總對數) × 100% = 遺傳距離法之物種區別成功率】。

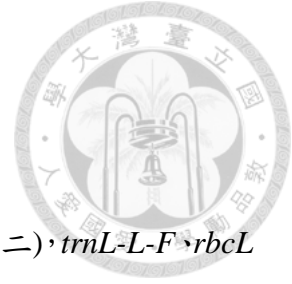
(二) 成功鑑別物種單系群之比例

本研究重建親緣採用貝氏法推導 (Bayesian inference) 分析法, 物種內不同個體在以該分子條碼序列重建後的親緣樹內, 若能聚在一起形成單系群, 則該條碼對該物種有單系群鑑別力; 特定分子條碼若能鑑別出較高比例的物種單系群, 則表示該條碼鑑有較高的單系群物種區別效力。首先假設各特定分子標記樣本在相同分類層級演化模式相似, 故選取 *trnL-L-F*、*matK* 及 *rbcL* 各分子標記樣本數最多的鱗毛蕨科 (Dryopteridaceae) 序列, 使用 Jmodeltest. 2.1.9 軟體程式 (Posada et al., 2008) 進行或然率法則的演算, 再根據 AIC 標準 (Akaike information criterion) 的測試結果, 選擇出最適合的核苷酸替代模型於 *trnL-L-F* 為 GTR+G、*matK* 為 GTR+G



及 *rbcL* 為 GTR+I+G；因 *matK*、*rbcL* 為編碼轉譯區段，可進行跨科比對出正確可信的同源性核苷酸序列 (alignment)，但 *trnL-L-F* 的基因間空間 (intergenic spacer, IGS) 及內隱子 (intron) 之非編碼區段，跨科核苷酸序列比對 (alignment) 困難，易形成似趨同演化之非同源性核苷酸錯誤對齊，且無法經手動微調序列修正。若以不可信的比對序列檔 (附錄八) 重建錯誤親緣關係樹，將造成單系群分析錯誤，故本研究欲避免上述非同源性核苷酸對齊與過少同源性核苷酸特徵無法重建親緣關係之不可信序列比對結果 (alignment 序列檔)，將 *trnL-L-F* 各科序列分科各自進行核苷酸同源性之比對；再分別將 *matK*、*rbcL* 跨科比對完成的序列檔及 *trnL-L-F* 各科比對完成的序列檔，分別輸入軟體程式 MrBayes ver. 3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) 進行分析，採用馬爾科夫蒙特卡洛鏈 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 演算法，隨機啟用一棵樹，做兩百萬個世代，預設為每 500 個世代取一次值，貝葉氏後測試驗 (posterior probabilities, PPs) 從所有採樣樹計算，以軟體 Tracer 確認不同 run 是否趨於穩定，再將前 25% 未達穩定的樹丟去 (burn in)，選取出貝氏推導之主法則共識親緣關係樹 (50 % major-rule concensus tree)；而單系群物種區別效力可由所得各親緣關係中，帶入計算比例公式：有兩個以上樣本的物種總數量為分母，形成單系群的物種總數為分子【即單系群比例 = (形成單系群的物種總數 / 兩個以上個體樣本的物種總數量) × 100% = 親緣關係法之物種區別成功率】。單系群物種區別效力方法另一優點是可鑑定出是否有非目標物種 DNA 片段 (或樣本遭污染) 與目標物種 DNA 片段比對相似度高過實際值物種，造成物種鑑定誤判的可能性；故單系群物種區別效力計算實際單系群比例，可再檢驗確認序列差異配對資料庫物種相似程度之鑑定精確性。

第四章、結果



一、聚合酶連鎖反應擴增序列成功率

本研究測試個體樣本為 297，在標準化 PCR 程序條件下 (表二)，*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 分別使用一組通用性引子對，進行聚合酶連鎖反應擴增產物成功率測試，以得出引子通用性高低。結果 *trnL-L-F* 只有 2 個樣本 (Kuo2504 及 Kuo2342) 沒有放大成功，*rbcL* 有 34 個樣本沒有放大成功，*matK* 有 97 個樣本沒有放大成功 (附錄一)。而分子條碼序列擴增成功樣本數 *trnL-L-F* 為 288 個、*rbcL* 為 280 個及 *matK* 為 255 個 (表一)，即 PCR 成功率測試評估結果為 *trnL-L-F* (99.33%) > *rbcL* (88.55%) > *matK* (67.34%) (圖二)；再將 *matK* 通用引子對無法 PCR 擴增成功之 97 個樣本包含水龍骨科、碗蕨科、鱗始蕨科、裡白科及膜蕨科類群，依類群專一性特定引子 (fSIH、fDAP、rGLR、rNRD) (表二)，以兩階段引子 PCR 擴增策略 (第一階段先進行通用性引子對 PCR 擴增測試，再將無法成功樣本，於第二階段搭配特定類群專一性引子再進行 PCR 擴增產物) 獲得 *matK* 產物，則該 *matK* 新 PCR 擴增成功率為 85.86%，較原只採用通用引子對所得 PCR 擴增成功率提高 18.52%，而最終新 PCR 成功率由高至低排序仍為 *trnL-L-F* (99.33%) > *rbcL* (88.55%) > *matK* (85.86%)。

二、定序品質之評估

經由台北基隆米克斯公司單端定序獲得之序列，可作分析的 *rbcL*、*matK* 及 *trnL-L-F* 序列樣本數分別為 263 個、252 個及 293 個 (表一)。受序列末端之重複鹼基 (tandem repeat) 序列影響，*matK* 有 5 個樣本序列受影響，*trnL-L-F* 有 48 個序列無法正確讀出序列 (附錄二)。將所得可分析序列扣除受單端的定序末端六個以上重複鹼基序列被干擾無法正確讀序之序列個數，除以所有定序所得完整序列總數之百分比，經分析結果，所有樣本 *rbcL* 均可正確讀序，而 *matK* 只存在於 *Dryopteridaceae* 受重複鹼基影響而無法正確讀序的序列，*trnL-L-F* 存在於 *Aspleniaceae*、*Athyriaceae*、*Davalliaceae*、*Dryopteridaceae*、*Gleicheniaceae*、*Hymenophyllaceae*、

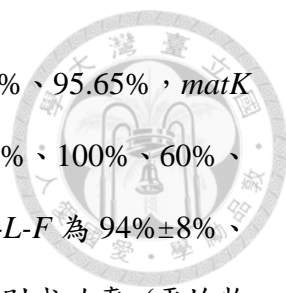
Lygodiaceae、Plagiogyriaceae、Polypodiaceae、Psilotaceae、Pteridaceae、Tectariaceae 及 Thelypteridaceae 樣本序列受影響無法正確讀序分別為、11、2、3、5、1、4、1、1、7、1、1、3 及 8 個。計算三個區段分子標記得到序列之正確率(表三)，*rbcL* 為 100%、*matK* 為 98.01% 及 *trnL-L-F* 為 86.69%，其中 *trnL-L-F* 受重複鹼基序列影響讀序比例最高的科為 Tectariaceae (66.67%)。

三、物種區別效力之計算

(一) Barcoding gap 物種區別效力

依據同屬種間遺傳累積的變異應大於種內遺傳累積的變異(Meyer & Paulay, 2005) 之假設原則，分析種間遺傳距離是否與種內遺傳距離有差距(barcoding gap)，再使用 Barcoding gap 物種對比例公式計算結果 (附錄三) 得 *trnL-L-F* 有 319 對物種對，其中 305 對具 barcoding gap，物種區別成功率 95.61%；*rbcL* 有 239 對物種對，其中 228 對具 barcoding gap，物種區別成功率 95.40%；*matK* 有 244 對物種對，其中 214 對具 barcoding gap，物種區別成功率 87.70%，具種間內遺傳距離差距 (barcoding gap) 標準評估結果之效力大小排序 *trnL-L-F* (95.61%) \geq *rbcL* (95.40%) $>$ *matK* (87.70%)，該評估台灣跨類群蕨類植物物種區別成功率結果，*trnL-L-F*、*rbcL* 在跨類群台灣蕨類植物的物種區別效力似乎相當，但兩者都較 *matK* 物種區別成功率高。

更進一步分析本評估標準於科分類階層 (Kramer & Green, 1990) 之區別成功率—分科區別效力 (圖三)：鐵角蕨科 (Aspleniaceae)、蹄蓋蕨科 (Athyriaceae)、桫欏科 (Cyatheaceae)、骨碎補科 (Davalliaceae)、碗蕨科 (Dennstaedtiaceae)、鱗毛蕨科 (Dryopteridaceae)、膜蕨科 (Hymenophyllaceae)、鱗始蕨科 (Lindsaeaceae)、腎蕨科 (Nephrolepidaceae)、水龍骨科 (Polypodiaceae)、鳳尾蕨科 (Pteridaceae)、金星蕨科 (Thelypteridaceae)，*trnL-L-F* 分別是 100%、95.83%、100%、90%、80%、86.05%、81.82%、100%、100%、100%、90.48%、97.83%，*rbcL* 分別是 75%、91.11%、33.33%、



66.67%、80%、55.81%、100%、81.82%、100%、71.43%、92.31%、95.65%，*matK* 分別是 97.78%、93.75%、100%、50%、0%、39.53%、100%、40%、100%、60%、85.71%、73.33%，本評估結果 12 科平均物種區別成功率於 *trnL-L-F* 為 $94\% \pm 8\%$ 、*rbcL* 為 $79\% \pm 20\%$ 、*matK* 為 $70.01\% \pm 32\%$ ，12 科平均科內物種區別成功率（平均物種區別成功率 \pm 標準差）高低為 *trnL-L-F* ($94\% \pm 8\%$) $>$ *rbcL* ($79\% \pm 20\%$) $>$ *matK* ($70.01\% \pm 32\%$)，*trnL-L-F* 平均科內物種區別成功率最高，且 *trnL-L-F* 標準差 8% 是 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 三者標準差中最小者，12 科物種區別成功率與平均科內物種區別成功率離散程度最小，相較 *matK*、*rbcL* 最接近平均科內物種區別成功率 94%，表示 *trnL-L-F* 各科物種區別率，各科物種區別成功率是齊一接近；而 *rbcL* 平均科內物種區別成功率次高，但各科物種區別成功率較不齊一，桫欏科甚至只有 33.33% 區別成功率；*matK* 平均科內物種區別成功率最低，且各科物種區別率歧異度大（標準差 32%）。分析各科區別物種效力情形（圖三&附錄四），*trnL-L-F* 於 *Aspleniaceae*、*Cyatheaceae*、*Lindsaeaceae*、*Nephrolepidaceae*、*Polypodiaceae* 科內物種區別成功率皆達 100%，即 5 個科的科內所有物種完全成功地被區別，且沒有任何科的物種區別成功率低於 50%，*trnL-L-F* 在科的分類階層可成功區別不同科的效力為 41.67%；*rbcL* 於 *Hymenophyllaceae*、*Nephrolepidaceae* 科內物種區別成功率皆達 100%，即 2 個科的科內所有物種完全成功地被區別，但 *Cyatheaceae* 此 1 科的物種區別率低於 50%，*rbcL* 在科的分類階層可成功區別不同科的效力為 16.67%；*matK* 於 *Cyatheaceae*、*Hymenophyllaceae*、*Nephrolepidaceae* 科內物種區別成功率皆達 100%，即 3 個科的科內所有物種完全成功地被區別，在科的分類階層可成功區別不同科的效力為 25%，但 *Dennstaedtiaceae*、*Dryopteridaceae*、*Lindsaeaceae* 這 3 個科的物種區別率低於 50%，尤其 *Dennstaedtiaceae* 物種區別率甚至非常低僅 0%，故 *matK* 較不適合發展通用所有科的蕨類分子條碼。故本研究分析 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 於更高階的分類階層「科」之台灣蕨類植物分科區別效力大小排序 *trnL-L-F* (41.67%) $>$ *matK* (25%) $>$ *rbcL* (16.67%)，表示 *trnL-L-F* 可以完全區別蕨類 41.67% 科的蕨類植

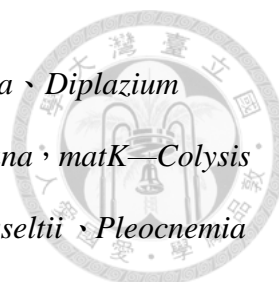
物，且 *trnL-L-F* 該區別成功率高於 *rbcL*、*matK* 能完全區別 16.67% 科、25% 科蕨類植物之比例，代表 *trnL-L-F* 具科分類階層之整個科內所有物種完全區別成功的最高效力，*trnL-L-F* 更適合成為蕨類科分類階層通用的分子條碼。

本結果對於各科蕨類植物而言，*trnL-L-F*、*matK* 皆 100% 完全成功地區別 *Cyatheaceae* 的物種，但 *rbcL* 僅成功區別 33.33% *Cyatheaceae* 物種；而 *trnL-L-F* 於 *Hymenophyllaceae* 物種區別效力 81.82% (18.18% 的 *Hymenophyllaceae* 物種無法區別)，似乎差於 *rbcL* (100%) 和 *matK* (100%)；此外，*matK* 對於 *Dennstaedtiaceae*、*Dryopteridaceae*、*Lindsaeaceae* 物種區別成功率 0%、39.53%、40% 皆很低，不適用於此三科，特別是 *Dennstaedtiaceae* 物種，*matK* 完全無法成功地區別。

即本評估結果具 barcoding gap 物種對策略於台灣跨類群蕨類物種區別效力與分科區別效力大小排序皆為 *trnL-L-F* > *rbcL* > *matK*。上述各評估結果總結，遺傳距離法之具 barcoding gap 物種對比例高低排序 *trnL-L-F* (95.61%) > *rbcL* (95.42%) > *matK* (87.70%)，且各評估結果證實 *trnL-L-F* 具最高蕨類植物區別成功之效力，即最有潛力發展為蕨類通用的分子條碼。


(二) 成功鑑別物種單系群之比例

本研究進行演化核苷酸取代速率之貝氏推導親緣關係策略方法分析 *trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 重建的貝式親緣關係樹(附錄五)，於所得的共識樹計算 *trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 有兩個以上樣本為 62 種、*rbcL* 為 60 種及 *matK* 為 50 種台灣蕨類植物(附錄六)，形成單系群物種數 *trnL-L-F* 為 56 個、*rbcL* 為 51 個及 *matK* 為 41 個 (表四)，再代入計算公式：【單系群比例 = (形成單系群的物種總數 / 兩個以上樣本的物種總數) × 100% = 親緣關係法之物種區別成功率】，求得 *trnL-L-F* 單系群比例為 90%、*rbcL* 單系群比例為 85% 及 *matK* 單系群比例為 82%。三分子條碼皆無法區別成功的物種為 *Cyclosorus wilfordii*、*Diplazium petri*、*Pteris fauriei*，另外，各分子條碼無法成功區別的物種還包括：*trnL-L-F*—*Diplazium doederleinii*、*Diplazium mettenianum*、



Sphenomeris chusana , *rbcL*—*Cyclosorus dentatus* 、*Deparia lancea* 、*Diplazium mettenianum* 、*Dryopteris sparsa* 、*Lindsaea chienii* 、*Pteris grevilleana* , *matK*—*Colysis wrightii* 、*Diplazium doederleinii* 、*Deparia lancea* 、*Dryopteris hasseltii* 、*Pleocnemia rufinervis* 、*Pteris grevilleana* ; 僅 *trnL-L-F* 能區別成單系群的物種是 *Deparia lancea* 與 *Pteris grevilleana* 、僅 *rbcL* 能區別成單系群的物種是 *Diplazium dilatatum* 與 *Diplazium doederleinii* 及僅 *matK* 能區別成單系群的物種是 *Cyclosorus dentatus* 與 *Diplazium mettenianum* 。

進一步評估超過 4 個以上可分析物種 (為了避免可能因選取科目可分析的物種數過少, 造成所得物種區別成功率與實際情形有很大的誤差值, 故本研究分析科分類階層的區別成功率, 不探討 3 個物種以下的科) 的 6 大科 (表五): 鐵角蕨科 (*Aspleniaceae*)、蹄蓋蕨科 (*Athyriaceae*)、鱗毛蕨科 (*Dryopteridaceae*)、水龍骨科 (*Polypodiaceae*)、鳳尾蕨科 (*Pteridaceae*)、金星蕨科 (*Thelypteridaceae*) , 各科有兩個以上個體樣本可進行分析的物種數, 作為各科單系群比例計算公式的分母於 *trnL-L-F* 分別 8 個、7 個、9 個、8 個、4 個、8 個, *rbcL* 分別 7 個、7 個、9 個、7 個、4 個、8 個及 *matK* 分別 8 個、7 個、9 個、5 個、4 個、8 個; 各科形成單系群物種於 *trnL-L-F* 分別 8 個、4 個、9 個、8 個、3 個、7 個, *rbcL* 分別 7 個、4 個、8 個、7 個、2 個、6 個及 *matK* 分別 8 個、4 個、7 個、4 個、2 個、7 個, 各科單系群比例 *trnL-L-F* 分別為 100%、57.14%、100%、100%、75%、87.50% , *rbcL* 分別為 100%、57.14%、88.89%、100%、50%、75% , *matK* 分別為 100%、57.14%、77.78%、80%、50%、87.50% 。其中 *trnL-L-F* 於 *Aspleniaceae*、*Dryopteridaceae*、*Polypodiaceae* , 此 3 個科形成單系群物種的比例達 100% , 即 50% 科物種可以完全形成單系群, *trnL-L-F* 成功地區別 50% 科; *rbcL* 於 *Aspleniaceae*、*Polypodiaceae* , 此 2 個科形成單系群物種的比例達 100%、即 33 % 科物種可以完全形成單系群, *rbcL* 成功地區別 33% 科; *matK* 於 *Aspleniaceae* 此 1 個科形成單系群物種的比例達 100% , 即 17% 科物種可以完全形成單系群, *matK* 成功地區別 17% 科; 故各科物種區別成



功率評估結果於科分類階層之物種區別成功率大小排序 *trnL-L-F* (50%) > *rbcL* (33%) > *matK* (17%)，且 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 於此 6 大科科內單系群比例之物種區別效力 (表五)，Aspleniaceae: *trnL-L-F* (100%)、*matK* (100%)、*rbcL* (100%)，Athriaceae: *trnL-L-F* (57%)、*matK* (57%)、*rbcL* (57%)，Dryopteridaceae: *trnL-L-F* (100%)、*matK* (89%)、*rbcL* (78%)，Polypodiaceae: *trnL-L-F* (100%)、*matK* (100%)、*rbcL* (80%)，Pteridaceae: *trnL-L-F* (75%)、*matK* (50%)、*rbcL* (50%)，Thelypteridaceae: *trnL-L-F* (88%)、*matK* (75%)、*rbcL* (88%)，*trnL-L-F* 所有科之物種區別率皆大於 57%，相較於 *matK*、*rbcL* 區別該 6 科科內物種效力，*trnL-L-F* 於此 6 大科皆為每科科內物種區別成功具最大效力 (最高單系群比例) 的分子條碼。

總結本評估單系群比例之物種區別成功率結果，使用單一分子條碼 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 區別物種成功率皆大於 82%，即大部分蕨類植物可使用單一短序列片段獲得正確物種鑑定；此外，本研究評估 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 於跨類群台灣蕨類植物物種區別效力之遺傳距離策略方法結果，形成單系群物種比例高低排序為 *trnL-L-F* (90%) > *rbcL* (85%) > *matK* (82%)，即物種區別效力大小排序 *trnL-L-F* > *rbcL* > *matK*，*trnL-L-F* 有最高的成功區別蕨類植物之效力，最有潛力發展為蕨類植物通用分子條碼。

第五章、討論



一、引子通用性 *trnL-L-F* 最高

(一) *trnL-L-F* 潛力與適用性

本研究 *trnL-L-F* 具最高 PCR 成功率 (99.33%)，其次為編碼區段 *rbcL* (因 *rbcL* 引子序列保守性高，引子設計較容易)，而 *matK* 即使採兩階段引子策略仍最差。相較於過往其他蕨類研究，本研究 *trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 之 PCR 成功樣本涵蓋 28 科跨類群蕨類植物，除了成功擴增特定類群假鱗毛蕨屬 (Li et al., 2011) 及特定類群書帶蕨屬 (Chen et al., 2012) 外，更成功擴增跨類群 217 種蕨類植物，故 *trnL-L-F* 有發展為跨類群蕨類植物最佳引子通用性之潛力。

本研究 *trnL-L-F* 引子通用性效力呼應 de Groot et al. (2011) 使用相同分子條碼 *trnL-L-F* 進行跨類群蕨類配子體植物測試高度引子擴增成功率 93%。733 個日本蕨類類群植物的研究，使用具潛力的 *trnH-psbA*，該引子擴增成功率測試結果 99.4% (Ebihara et al., 2010)，而本研究 *trnL-L-F* 似乎也具成功擴增台灣跨類群蕨類類群的潛力；為了使 *trnL-L-F* 的引子通用性更廣泛適用於不同地域，未來建議本研究可以合併日本跨類群蕨類植物樣本，加以測試 *trnL-L-F* 效力，發展全球化通用的蕨類分子條碼。

此外，*trnL-L-F* 成功地擴增書帶蕨屬 *Haplopteris anguste-elongata*、*Haplopteris elongata*、*Haplopteris ensiformis* 及 *Haplopteris flexuosa* 所有物種(即書帶蕨屬物種 PCR 成功率 100%)，與 Chen et al. (2012) 提出 *trnL-L-F* 在鳳尾蕨科書帶蕨屬類群具高度 PCR 成功率結果是相同。

(二) *matK* 敗因與實驗設計建議

由本研究結果，*matK* 雖採取兩階段引子策略(通用引子對輔以專一性特定類群引子對)，*matK* 引子擴增成功率仍是最低，可能影響 *matK* 擴增後，獲得的分析序列數量僅剩 252 個樣本，少於 *rbcL*、*trnL-L-F* 可分析的 263 個、293 個序列樣本。

原因為 *matK* 引子序列變異高不保守，設計困難 (CBOL Plant Working Group, 2009)，本研究結果驗證蕨類特定類群假鱗毛蕨屬研究 (Li et al., 2011) 及陸生植物研究針對包含石松類 (石松綱、水韭綱、卷柏綱) 與廣義真蕨類 (松葉蕨綱、木賊綱、合囊蕨綱、真蕨綱) 之隱花植物類群極低的 PCR 成功率 10% (CBOL Plant Working Group, 2009)。

成功萃取分離出 DNA，對於 PCR 是否成功放大目標產物，扮演很重要的角色 (Bafeel et al., 2011)；當植物體欲被分離的 DNA 包含了色素物質、多醣類、酚類化合物和次級代謝物等，會干擾植物 DNA 萃取，進而影響 PCR 放大結果 (Vanijajiva et al., 2005)。另一個 PCR 無法成功的重要原因是引子設計的偏差 (bias) 和通用性不足 (Soininen et al., 2009)，造成引子序列和 DNA 模板黏合在不正確配對位點 (Bru et al., 2008)。本研究 PCR 尚未成功的樣本，建議未來可考慮相近物種使用不同的 DNA 萃取方案 (protocol)，分離出乾淨無雜質的 DNA (Bhau et al., 2015)，再改良本研究成功率最低的 *matK* 引子對序列設計，或使用多重 *matK* 引子似雞尾酒式的 PCR 方法 (Heckenhauer et al., 2016)，加以確認引子通用性評估結果。


二、定序品質 *rbcL* 最佳

(一) *rbcL* 可信

本研究定序序列品質評估結果，*matK* 編碼區段 98.01% 及 *trnL-L-F* 非編碼區段 86.69% 皆低於 100% 的 *rbcL*。此外，*rbcL* 序列間差異小較為保守，沒有任何連續六個重複鹼基序列影響定序情形，故定序序列皆可以獲得且清楚地正確讀序。

de Groot et al. (2011) 提出 *rbcL* 對於跨類群蕨類植物具高度定序品質比例 83% 結果，可清楚正確讀序的 *trnL-L-F* 序列比例 88%，提供本研究結果 *rbcL* 與 *trnL-L-F* 定序序列品質評估結果之支持。

(二) *trnL-L-F* 敗因與改變 PCR 條件



因 *trnL-L-F* 區段序列變異度大，皆有重複鹼基序列於定序獲得序列，故序列獲得品質 *trnL-L-F* 最低，且出現重複鹼基序列中斷定序情形最多，以至跨類群 *trnL-L-F* 無法正確讀序的比例特別低，其中，三叉蕨科 (66.67%) 超過半數的定序序列品質是不可信，其次，金星蕨科 (25.81%) 也有定序中斷的序列，呼應蕨類配子體研究金星蕨科存在重複鹼基造成定序中斷的序列；但本研究 *trnL-L-F* 烏毛蕨科沒有任何有重複鹼基干擾定序序列判讀，不同於之前研究發現烏毛蕨科有重複鹼基 C 存在而干擾序列判讀之情形 (de Groot et al., 2011)。

植物葉綠體 DNA 的非編碼區段序列中，相同鹼基重複序列區段的基因間空間，通常會受微衛星潛在的影響，降低定序獲得的序列品質 (Shaw et al., 2007; Liu et al., 2010; de Groot et al., 2011)，而實務的實驗操作上，對於不同重複鹼基數目或序列區段的類群 DNA 樣本，PCR 藥劑配方的 DNA 濃度劑量與黏合溫度，不易調整至適合所有類群，則 PCR 產物可能發生錯誤，影響定序序列品質；本研究受不同長度或鹼基的重複序列而影響讀序的 *trnL-L-F* 樣本 (附錄二)，未來建議可以改善 PCR 實驗條件，採取融合不同聚合酶配方 (fusion enzymes)，降低重複鹼基干擾定序的序列品質 (Fazekas et al., 2010)。

三、物種區別效力 *trnL-L-F* 最佳

(一) Barcoding gap 物種區別效力之討論


trnL-L-F 於跨類群台灣蕨類植物物種區別成功率 95.61%，雖然和 *rbcL* 於跨類群台灣蕨類植物物種區別成功率 95.42% 相當，且更進一步以分類階層科分析各科區別成功率，依據平均科內物種區別成功率 *trnL-L-F* ($94\% \pm 8\%$) 最高，且 *trnL-L-F* 於各科物種區別成功率相當齊一 (標準差 8%，為三者中最小)，有潛力發展為所有科蕨類，區別科內物種通用的分子條碼，台灣蕨類植物平均科內物種區別效力高低排序亦 *trnL-L-F* ($94\% \pm 8\%$) > *rbcL* ($79\% \pm 20\%$) > *matK* ($70.01\% \pm 32\%$)，且本研究分析了更高階的分類階層「科」於台灣蕨類植物之「科」區別效力高低排序 *trnL-L-F*



(41.67%) > *matK* (25%) > *rbcL* (16.67%), *trnL-L-F* 仍有最高的區別科之效力, 但 *rbcL* (16.67%) 區別科之效力低於 *matK* (25%), 似乎較跨類群蕨類的物種區別效力排序 *rbcL* > *matK* 不同。

初步建議欲評估台灣跨類群不分科蕨類植物之物種區別效力, *trnL-L-F* 或 *rbcL* 效力相當, 似乎都可以考慮選取使用; 而進行特定科類群物種區別研究, 可參考本研究分科物種區效力評估結果, 對於不同科的蕨類類群, 選取使用最適合該科物種鑑別的分子條碼; *trnL-L-F* 可以 100% 成功地區別近 50% 科蕨類植物, 高於 *rbcL* 的 16.67% 科、*matK* 的 25% 科蕨類植物, 似乎台灣跨類群蕨類植物於更高階的分類階層之科區別效力大小排序, *trnL-L-F* 也是具有最高的科區別成功效力, 故進行區別跨科類群工作時, *trnL-L-F* 是可以優先考使用的通用分子條碼。

相較於採取相同 *P*-遺傳距離法 (Barcoding gap 物種對比例) 策略方法, 評估蕨類特定類群分子條碼效力之其他研究 (表六): (1) Li et al. (2011) 研究 *matK*、*rbcL* 於蕨類特定類群假鱗毛蕨屬計算物種對具 Barcoding gap 效力結果, 顯示使用單一片段分子條碼 *matK* (75%)、*rbcL* (67.9%)、*trnL-L-F* (57.1%) 物種區別效力皆低於本研究跨類群物種區別效力。雖略高於本研究假鱗毛蕨屬 *matK* (66.67%) 物種區別效力 (見附錄四), 但低於本研究假鱗毛蕨屬物種區別成功率 *rbcL* (80%), 此外, 也低於本研究假鱗毛蕨屬物種區別成功率 *trnL-L-F* (100%); (2) Chen et al. (2012) 提出 *trnL-L-F* 於蕨類特定類群鳳尾蕨科書帶蕨屬有高度物種區別效力 (100%), 接近於本研究 *trnL-L-F* 於跨類群台灣蕨類植物物種區別效力 95.61% 結果, 且本研究書帶蕨屬物種區別效力 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 也皆達 100% (見附錄七), 證實本研究 *trnL-L-F* 似乎與 Chen et al. (2012) *trnL-L-F* 效力相同的高; (3) CBOL Plant Working Group (2009) 陸生植物研究使用 *P*-遺傳距離法最小種間傳距離大於最大種內遺傳距離之 Barcoding gap 策略評估依 Smith et al. (2006) 結合現代基因系統學與形態學資料所建立的植物分類法之蕨類類群—石松類 (石松綱、水韭綱、卷柏綱) 與廣義真蕨類 (松葉蕨綱、木賊綱、合囊蕨綱、真蕨綱) 植物的 67 種隱花植物,



物種區別效力於單一片段 *matK* (57%)、*rbcL* (58%) 效力也很差，但本研究使用相同評估策略: *matK* (87.70%)、*rbcL* (95.42%) 皆較陸生植物研究中，隱花植物使用單一片段 *matK* (57%)、*rbcL* (58%) 物種區別效力來得高，雖本研究沒有評估 CBOL Plant Working Group (2009) 研究分析的擬蕨類石松門蕨類植物，但本研究與該陸生植物研究比較，使用相同 Barcoding gap 策略評估跨類群蕨類物種區別效力於單一片段 *matK* (87.70%)、*rbcL* (95.42%) 具有高度效力，似乎不同於過往特定蕨類類群研究 (Li et al., 2011) 與廣義涵蓋擬蕨類與真蕨綱類群的陸生植物研究 (CBOL Plant Working Group, 2009) 認為使用 *matK+rbcL* 才能具高度成功區別蕨類類群植物的效力。

相較於使用相似的 Barcoding gap 策略評估蕨類跨類群配子體物種區別效力研究(表六): de Groot et al. (2011) 評估樣本為 24 個蕨類類群，該研究 *rbcL +trnL-L-F* 物種區別成功率 100%，接近於本研究單一序列片段分子條碼 *trnL-L-F* 物種區別成功率 95.61%，雖本研究並未結合 *rbcL* 和 *trnL-L-F* 進行物種區別效力評估測試，但本研究 *trnL-L-F* 已將絕大部分 (95.61%) 蕨類植物成功地解析，與 de Groot et al. (2011) 蕨類配子體研究的比較，間接佐證支持本研究單一片段 *trnL-L-F* 於跨類群蕨類植物之物種區別效力 95.61% 結果。

相較不同於本研究評估策略本研究以 *P-distance* 模型計算 Barcoding gap 物種分子條碼效力的其他研究 (表六): 其他如 Ebihara et al. (2010) 針對日本跨類群蕨類植物以 *K-2-P* 遺傳距離取代模型計算物種對 Barcoding gap，使用 *trnH-psbA* 所建立的 DNA 資料庫，比對物種序列的吻合程度，達 83.75% 物種成功比例，本研究 *trnL-L-F* 成功區別 95.61% 台灣跨類群蕨類植物的結果，是可以接受的。故經由本評估結果與其他研究之討論，*trnL-L-F* 區別物種效力於遺傳距離法 Barcoding gap 物種對比例，評估結果最佳，有最大潛力發展為成功區別所有蕨類物種之分子條碼。



(二) 成功鑑別物種單系群比例之討論


本研究單系群物種區別效力結果大小排序為 *trnL-L-F*(90%) > *rbcL*(85%) > *matK* (82%)，雖然 *matK* 分析物種數略低於 *rbcL*，但 *rbcL*、*matK* 形成單系群比例接近，兩者區別物種效力相當；而 *trnL-L-F* 雖然仍無法成功區別 9.68% 台灣蕨類物種，但其可成功區別涵蓋分類階層達 21 科 76 屬 57 種蕨類植物。

若以科分類階層來看單系群區別效力，6 大科別為例：鐵角蕨科 (*Aspleniaceae*)、假蹄蓋蕨科 (*Athyriaceae*)、鱗毛蕨科 (*Dryopteridaceae*)、水龍骨科 (*Polypodiaceae*)、鳳尾蕨科 (*Pteridaceae*)、金星蕨科 (*Thelypteridaceae*)，*trnL-L-F* 於該 6 大科皆為具最大區別效力的分子條碼(表五)，*trnL-L-F* 區別成功率至少有 57%(假蹄蓋蕨科)於科分類階層(表五)，此評估效力大小排序同 Barcoding gap 物種對比例於各科區別成功率分析結果(見圖三)。同故本研究採取兩種不同策略評估物種區別效力具有一致性的結果。

matK 具 barcoding gap 物種對比例 87.70%、單系群物種比例 82% 的物種區別效力評估結果，對比於 *trnL-L-F* 具 barcoding gap 物種對比例 95.61%、單系群物種比例 90%，*rbcL* 具 barcoding gap 物種對比例 95.42%、單系群物種比例 85%，則 *matK* 無論於 barcoding gap 物種對比例或單系群物種比例皆低於同為編碼轉譯區段 *rbcL* 的物種區別效力。

過往計算單系群物種比例的其他研究(表六)：de Groot et al. (2011) 蕨類跨類群配子體研究，本研究目前雖沒有評估組合式分子條碼，但單一序列片段 *trnL-L-F*，計算出單系群區別效力 90% 仍高於 de Groot et al., (2011) 蕨類跨類群配子體結合 *rbcL+trnL-L-F* 的複合複合種群的單系群物種區別成功率 56%，雖然本研究目前尚未探討分析台灣蕨類複合種群的單系群物種比例，但對台灣跨類群 217 種蕨類植物，本研究單一區段分子條碼 *trnL-L-F* 單系群物種比例達 90%，評估結果最佳，未來有潛力進一步分析對蕨類複合種群鑑別的效力。

本研究 Barcoding gap 物種對比例和單系群物種比例之物種區別成功率至少大




於 82%，即 82% 以上的台灣跨類群蕨類植物可由本研究任何單一分子條碼 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 成功地區別，亦台灣跨類群蕨類植物於物種鑑別工作，可以不需具備完整蕨類葉綠體 DNA 基因體 (genome) 資料庫的建立，即能由一小片段物種 DNA 迅速且有效地成功區別跨類群蕨類物種，且可以少量花費定序 PCR 成功的片段，獲得物種序列，完成蕨類物種鑑別的工作，故提供研究實務的節省時間與減少經費支出之經濟效益。

小結本研究所有物種區別效力評估結果之討論，分子條碼 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 於台灣跨類群蕨類物種的區別效力，*trnL-L-F* 和 *rbcL* 皆較 *matK* 高，其中 *trnL-L-F* 優於 *rbcL*，本研究認為 *trnL-L-F* 有潛力發展成為成功區別跨類群蕨類植物通用的分子條碼。

(三)物種區別效力缺失與敗因之改善建議

建議後續研究，將本研究僅一個個體樣本的物種和更齊全台灣蕨類植物 747 物種樣本的採樣與序列獲得工作，增加評估物種區別效力可分析的序列樣本數，以更精確地評估 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 於台灣跨類群蕨類植物物種區別之效能，尤其 *matK* 引子通用性差，不易獲得分析序列，增加可分析的物種序列樣本，對於 *matK* 的物種區別效力評估結果之正確性會更有幫助；不僅如此，也可以避免因分析樣本數可能不夠齊全，造成 barcoding gap 物種對比例與實際區別效力間，可能有潛在的誤差，如本研究 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 能 100% 成功區別 Nephrolepidaceae 物種，但該科分析具 barcoding gap 物種對僅 1 對，建議未來須取得更多可分析的 Nephrolepidaceae 物種對序列樣本，加以評估確認該科區別效力之正確性；補足本研究重建的貝式親緣關係樹中，只有一個個體序列而尚未分析的 115 種蕨類植物序列樣本，確認 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 跨類群物種區別效力的完整性。

另外，即使綜合了本研究三段分子標誌序列，還是有部分物種難以鑑定(表七)，代表在這些類群必須開發新的分子條碼。如 *Diplazium petri* 兩序列樣本 Kuo2349



與 Kuo3361、*Pteris fauriei* 兩序列樣本 Kuo934 與 Kuo2322、*Cyclosorus wilfordii* 兩序列樣本 Kuo2368 與 Kuo3362，上述序列皆已至 NCBI 資料庫比對物種身分，確認為 *Diplazium petri*、*Pteris fauriei*、*Cyclosorus wilfordii*，但本研究 *trnL-L-F*、*rbcL*、*matK* 皆無法成功地區別此三物種，故後續研究應對選取可成功鑑別物種 *Cyclosorus wilfordii*、*Diplazium petri* 與 *Pteris fauriei* 適用的分子條碼，須作更深入的研究。

蕨類植物受雜交與多倍體演化機制(Levin, 2002; Sotis et al., 2004):因相近物種高頻率雜交 (Barrington et al., 1989)，造成雜交起源的親本來源無法追溯，與二倍體和高頻率的行程無融合生殖譜系之多倍體 (Lovis et al., 1987)，皆可能共用相同葉綠體 DNA 捐贈者，而無法由葉綠體 DNA 區分出相近物種等原因，經常形成蕨類複合種群，使得相近的物種不容易區分開來，而解決此問題的方法，除了以外部型態特徵，進行二形鳳尾蕨複合群研究外 (Chao et al., 2010)，分子資料也被提出來解析蕨類複合種群親緣關係，例如保有共同祖先遺傳特徵而形成不完整譜系分類(incomplete lineage sorting)的台灣產陰石蕨複合群種群並非單系群，可明顯分為兩個支序(Chen, 2010)；本研究 *Diplazium petri*、*Pteris fauriei*、*Cyclosorus wilfordii* 三個物種群，在 *matK*、*rbcL*、*trnL-L-F* 親緣關係樹無法形成單系群，可能是複合種群所導致結果，然詳細機制尚待後續研究進行加以確認。

四、*trnL-L-F*、*rbcL* 和 *matK* 優缺點

根據本研究三項評估結果之各分子條碼優缺點與建議 (表七)，*trnL-L-F* 具最高 PCR 成功率 (99.33%)，其次為編碼區段 *rbcL*，而 *matK* 即使採兩階段引子策略仍最差，因 *matK* 引子序列變異高不保守。於定序序列品質，因 *trnL-L-F*、*matK* 序列會受重複鹼基序列造成定序中斷使定序序列品質較差，而 *rbcL* 沒有任何受重複鹼基干擾讀序情形，故 *rbcL* 定序序列品質 (100%) 最可信，獲得序列品質最優良。

至於兩種評估物種區別效力方法所得結果具一致性:*trnL-L-F* 最佳 (barcoding gap 物種對比例 95.61%、單系群物種比例 90%)，使得 *trnL-L-F* 具發展成通用蕨類植物之潛力是更加可信。

除此，本研究 *matK* 物種序列樣本雖然在引子通用性測試結果最低，但在區別效力 Barcoding gap 評估策略結果中，*matK* 對於各科的區別效力大小排序似乎較 *rbcL* 高，即 *matK* 在較低分類階層的區別效力，可能會受限於引子序列不保守難以設計的困難，但在較高分類階層，*matK* 的區別效力可以不受引子設計不易的影響，故 *matK* 對於台灣蕨類植物之鑑別仍是適用的。

而 *trnL-L-F* 特別適用的物種為 *Deparia lancea*、*Pteris grevilleana*，*matK* 特別適用的物種為 *Diplazium doederleinii*、*Diplazium dilatatum*，*rbcL* 特別適用的物種為 *Cyclosorus dentatus*、*Diplazium mettenianum*，但本研究 *trnL-L-F*、*rbcL* 和 *matK* 皆無法成功區別 *Cyclosorus wilfordii*、*Diplazium petri*、*Pteris fauriei*，後續研究需再鑑別確認種身分與是否形成蕨類複合種群。

對比過去研究結論，認為需結合多段分子條碼才能達到一定的蕨類植物鑑別能力，本研究採用單一片段 *trnL-L-F* 就可以達到超過 90% 蕨類物種可成功地區別，至少以台灣跨類群蕨類植物鑑定工作而言，*trnL-L-F* 已是足夠，這是本研究最重要的發現。

五、結合數段分子條碼以達最高蕨類物種區別效力評估


未來後續研究可以考慮結合 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 各分子條碼組合，進行台灣跨類群蕨類植物物種區別效力之評估，可望能提高本研究目前使用單一分子條碼 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 對於台灣跨類群蕨類物種區別效力，成功地解析出更多台灣蕨類植物物種。

而由本研究結果可觀察到 *rbcL*、*matK* 對於特定類群雙蓋蕨屬物種似乎皆可以成功鑑別為單系群物種，結果相同於使用遺傳距離策略評估組合式 *rbcL+matK* 物

種區別效力的假鱗毛蕨屬研究 (Li et al., 2011)，即本研究採用單一片段 *matK*、單一片段 *rbcL* 也有相當於使用組合片段 *rbcL+matK* 可成功有效地鑑別特定類群假鱗毛蕨屬物種之效力。



第六章、貢獻與展望



matK、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 三者分子條碼效力，除了耐旱被子植物於同篇研究一起進行評估 (Heise et al., 2015) 外，本研究特色為率先將 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 三段分子條碼於同篇跨類群蕨類植物研究進行效力之評估；此外，本研究取材為跨類群 28 科所有蕨類物種，有別於過往單一特定類群研究，故本研究結果對於整個蕨類植物研究更具廣泛適用之價值；再者，本研究評估結果證實 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 分子條碼於台灣跨類群蕨類植物皆具效力，於定序序列品質評估結果 *rbcL* 最佳，但在引子通用性評估結果與物種區別效力評估結果，*trnL-L-F* 接具有最大潛力發展成蕨類植物通用的分子條碼；依據本研究引子通用性、定序序列品質及物種區別效力之三項評估分子條碼效力準則結果，選取 *trnL-L-F* 最有潛力發展為蕨類植物通用分子條碼，有助於未來解決跨類群台灣蕨類配子體物種鑑別問題，此外，本研究評估物種區別效力之親緣關係法計算單系群比例策略結果 *trnL-L-F* 單系群物種比例達 90%，也許有助於台灣蕨類植物親緣關係重建之了解；而由本研究結果，係以單一短序列片段 *trnL-L-F* 可成功地鑑別出絕大部分 (90%) 台灣跨類群蕨類物種，於研究實務之貢獻，即大多數一般性的實驗室皆能順利的使用單一短片段分子條碼之簡便易行的分子實驗過程條件，迅速且正確地完成蕨類植物物種區別工作。

對於森林生態環境中的蕨類孢子、草食動物排遺中碎裂植物 DNA 片段，使用更短迷你片段分子條碼 (mini-barcode) 可以克服使用較長 DNA 序列進行 PCR 成功擴增之困難，相對於使用整個完整基因體資料庫方法進行殘破 DNA 之物種鑑別是更有效的 (Valentini et al., 2009; Handley et al., 2015)；且使用單一短片段分子條碼進行分子實驗的過程條件，普遍簡便易行，對於一般分子實驗室幾乎都能順利進行單一短片段分子條碼物種區別之工作。此方法原理為先選取適合 mini-barcode 片段大小的鹼基長度為單位視窗大小，搭配滑動視窗 (Sliding window) 分析方法 (Boyer et al., 2012)，經每次滑動固定數個鹼基位點，形成一系列不同位點候選 DNA

mini-barcode 區段視窗。


至於 *matK*、*rbcL* 雖然效力沒有 *trnL-L-F* 佳，但對於破裂 DNA 片段難以用 *trnL-L-F* 清楚解析的某些需鑑定物種，未來可用來設計適合台灣蕨類植物的 DNA mini-barcode 候選區段，以選取物種序列變異最大的區段作為最具潛力可區別所有台灣蕨類植物之 mini-barcode。

本研究建議也許在 *rbcL* 與 *matK* 編碼轉譯區段適合採用滑動視窗分析方法可以順利地選取出物種序列變異高之最適合的候選區段，但 *trnL-L-F* 非編碼區段 IGS 之序列變異度高，且進行跨類群序列比對困難(如附錄八)，可能無法使用滑動視窗法選取適合跨類群通用的 mini-barcode 片段，也許需進一步研究發展其他分析方法選取 *trnL-L-F* 可行的 mini-barcode 區段。

參考文獻



- Atkinson, L. R., & Stokey, A. G. (1964). Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology*, *14*, 51-70.
- Bafeel, S. O., Arif, I. A., Bakir, M. A., Khan, H. A., Al Farhan, A. H., Homaidan, A. A., Ahamed, A., Thomas, J., & Thomas, J. (2011). Comparative evaluation of PCR success with universal primers of maturase K (*matK*) and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit (*rbcL*) for barcoding of some arid plants. *Plant Omics*, *4*(4), 195.
- Barrington, D. S., Haufler, C. H., & Werth, C. R. (1989). Hybridization, reticulation, and species concepts in the ferns. *American Fern Journal*, *79*(2), 55-64.
- Bhau, B. S., Gogoi, G., Baruah, D., Ahmed, R., Hazarika, G., Borah, B., Gogoi, B., Sarmah, D.K., Nath, S.C., & Wann, S. B. (2015). Development of an effective and efficient DNA isolation method for *Cinnamomum* species. *Food chemistry*, *188*, 264-270.
- Boyer, S., Brown, S. D., Collins, R. A., Cruickshank, R. H., Lefort, M. C., Malumbres-Olarte, J., & Wratten, S. D. (2012). Sliding window analyses for optimal selection of mini-barcodes, and application to 454-pyrosequencing for specimen identification from degraded DNA. *PLoS One*, *7*(5), e38215.
- Brown, S. D., & Collins, R. A. (2011). *Spider: Species Identity and Evolution in R..A Tutoria*. Retrieved from <http://spider.r-forge.r-project.org/tutorial/tutorial.pdf>.
- CBOL Plant Working Group, Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank M., Chase M. W., Cowan R. S., Erickson D. L., Fazekas A. J., Graham S.W., James K.E., Kim K.J., Kress W. J., Schneider H., van Alphen S. J., Barrett S.C., van den Berg C., Bogarin D., Burgess K. S., Cameron K.M., Carine M., Chacón J., Clark A., Clarkson J.J., Conrad F., Devey

- 
- D.S., Ford C.S., Hedderson T.A., Hollingsworth M.L., Husband B.C., Kelly L.J., Kesanakurti P.R., Kim J.S., Kim Y.D., Lahaye R., Lee H.L., Long D.G., Madriñán S., Maurin O., Meusnier I., Newmaster S.G., Park C.W., Percy D.M., Petersen G., Richardson J.E., Salazar G.A., Savolainen V., Seberg O., Wilkinson M.J., Yi D.K., Little D.P. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794-12797.
- Chao, Y. S., Liu, H. Y., Huang, Y. M., & Chiou, W. L. (2010). Reproductive traits of *Pteris cadieri* and *P. grevilleana* in Taiwan: Implications for their hybrid origin. *Botanical Studies*, 51(2), 209-216.
- Chariton, A. (2012). Short and informative DNA products to indirectly measure vascular plant biodiversity. *Molecular ecology*, 21(15), 3637-3639.
- Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., van den Berg, C., Madriñán, S., Petersen, G., Seberg, O., Jørgensen T., Cameron, K. M., (2007). A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon*, 56(2), 295-299.
- Chase, M. W., & Fay, M. F. (2009). Barcoding of plants and fungi. *Science*, 325(5941), 682-683.
- 陳正為. (2010). 探討台灣產陰石蕨複合種群之演化歷史. 中興大學園藝學系所學位論文, 1-101.
- Chen, C. W., Huang, Y. M., Kuo, L. Y., Nguyen, Q. D., Luu, H. T., Callado, J. R. Callado, D. R. Farrar & Chiou, W. L. (2012). *trnL-F* is a powerful marker for DNA identification of field vittarioid gametophytes (Pteridaceae). *Annals of botany*, 111(4), 663-673.
- Collins, R. A., Boykin, L. M., Cruickshank, R. H., & Armstrong, K. F. (2012). Barcoding's next top model: an evaluation of nucleotide substitution models for specimen identification. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(3), 457-465.



CSHL DNA Learning Center : Barcoding 101 of Cold Spring Harbor Laboratory (2014).

DNA Barcodes to Identify and Classify Living Things: introduction. Retrieved from

[http:// www.dnabarcoding101.org/introduction.html](http://www.dnabarcoding101.org/introduction.html).

de Groot, G. A., During, H. J., Maas, J. W., Schneider, H., Vogel, J. C., & Erkens, R. H.

(2011). Use of *rbcL* and *trnL-F* as a two-locus DNA barcode for identification of NW-European ferns: an ecological perspective. *PLoS one*, 6(1), e16371.

Dong, W., Liu, H., Xu, C., Zuo, Y., Chen, Z., & Zhou, S. (2014). A chloroplast genomic strategy for designing taxon specific DNA mini-barcodes: a case study on ginsengs. *BMC genetics*, 15(1), 138.

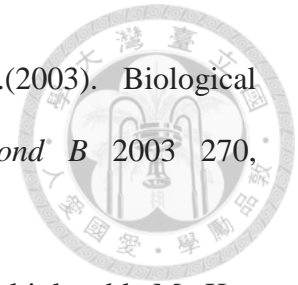
Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T & Zhou, S. (2015). *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific Reports* (5), Article number: 8348 (2015). Drouin, G., Daoud, H., & Xia, J. (2008). Relative rates of synonymous substitutions in the mitochondrial, chloroplast and nuclear genomes of seed plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(3), 827-831.

Ebihara, A., Nitta, J. H., & Ito, M. (2010). Molecular species identification with rich floristic sampling: DNA barcoding the pteridophyte flora of Japan. *PLoS one*, 5(12), e15136.

Farrar, D. R., Dassler, C., Watkins Jr, J. E., & Skelton, C. (2008). Gametophyte ecology. *Biology and evolution of ferns and lycophytes. Cambridge University Press, Cambridge*, 222-256.

Fazekas, A. J., Steeves, R., & Newmaster, S. G. (2010). Improving sequencing quality from PCR products containing long mononucleotide repeats. *Biotechniques*, 48(4), 277-285.

Hebert, P. D., Cywinska, A., & Ball, S. L. deWaard JR.(2003). Biological identifications through DNA barcodes. In *Proc R Soc Lond B* 2003 270, 313-321.doi:10.1098/rspb.2002.2218.



Heckenhauer, J., Barfuss, M. H., & Samuel, R. (2016). Universal Multiplexable MatK Primers for DNA Barcoding of Angiosperms. *Applications in Plant Sciences*, 4(6), 1500137.

Heise, W., Babik, W., Kubisz, D., & Kajtoch, L. (2015). A three-marker DNA barcoding approach for ecological studies of xerothermic plants and herbivorous insects from central Europe. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(4), 576-592.

Hollingsworth, M. L., ANDRA CLARK, A. L. E. X., Forrest, L. L., Richardson, J., Pennington, R., Long, D. G., Cowan, R., Chase, M. W., Gaudeul, M. & Hollingsworth, P. M. (2009). Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Molecular Ecology Resources*, 9(2), 439-457.

Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PloS one*, 6(5), e19254.

Knapp, R. (2011). *Ferns and Fern Allies of Taiwan* (英文版). KBCC Press.

Zhang, L. B., & He, H. (2013). Ferns and Fern Allies of Taiwan. *American Fern Journal*, 103(3), 191-192.

Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(23), 8369-8374.

Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region.

Plos one, 2(6), e508.

Latinne, A., Galan, M., Waengsothorn, S., Rojanadilok, P., Eiamampai, K., Sribuarod, K., & Michaux, J. R. (2014). Diet analysis of *Leopoldamys neilli*, a cave-dwelling rodent in Southeast Asia, using Next-Generation Sequencing from feces. *Journal of Cave and Karst Studies*, 76(2), 139.

Lawson Handley, L. (2015). How will the 'molecular revolution' contribute to biological recording?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 115(3), 750-766.

Levin, D. A. (2002). The role of chromosomal change in plant evolution. *Oxford University Press, Oxford, UK*.240pp.

Li, F. W., Kuo, L. Y., Rothfels, C. J., Ebihara, A., Chiou, W. L., Windham, M. D., & Pryer, K. M. (2011). *rbcL* and *matK* earn two thumbs up as the core DNA barcode for ferns. *PLoS One*, 6(10), e26597.

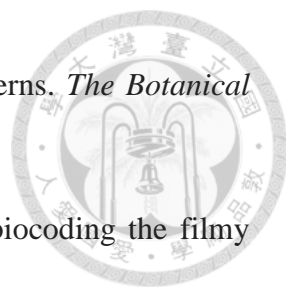
Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90(1), 157-166.

Liu Y, Yan H-F, Cao T, Ge X-J (2010) Evaluation of 10 plant barcodes in Bryophyta (Mosses). *J Syst Evol* 48: 36–46.

Lovis, J. D. (1978). Evolutionary patterns and processes in ferns. *Advances in botanical research*, 4, 229-415.

Meusnier, I., Singer, G. A., Landry, J. F., Hickey, D. A., Hebert, P. D., & Hajibabaei, M. (2008). A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC genomics*, 9(1), 214.

Meyer, C. P., & Paulay, G. (2005). DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS biol*, 3(12), e422.

- 
- Nayar, B. K., & Kaur, S. (1971). Gametophytes of homosporous ferns. *The Botanical Review*, 37(3), 295-396.
- Nitta, J. H. (2008). Exploring the utility of three plastid loci for biocoding the filmy ferns (Hymenophyllaceae) of Moorea. *Taxon*, 57(3), 725-725.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *Am J Bot* 94: 275–288.
- Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., & Wolf, P. G. (2006). A classification for extant ferns. *Taxon*, 705-731.
- Soininen, E. M., Valentini, A., Coissac, E., Miquel, C., Gielly, L., Brochmann, C., Brysting, A. K., Sønstebo, H. J., Ims, R. A., Yoccoz, N. G., & Taberlet, P. (2009). Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures. *Frontiers in Zoology*, 6(1), 1.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., & Tate, J. A. (2004). Advances in the study of polyploidy since plant speciation. *New phytologist*, 161(1), 173-191.
- Stokey, A. G. (1951). The contribution by the gametophyte to classification of the homosporous ferns. *Phytomorphology*, 1(1-2), 39-58.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(5), 1105-1109.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731-2739.

The Plant List (2013). Version 1.1 Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org> /(accessed 1st January).

Valentini, A., Pompanon, F., & Taberlet, P. (2009). DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(2), 110-117.

Valentini, A., Miquel, C., Nawaz, M. A., Bellemain, E., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Cruaud, C., Nascetti, G., Wincker, P., Taberlet, P. & Swenson, J. E. (2009). New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular Ecology Resources*. 2009 Jan;9(1):51-60. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02352.x. Epub 2008 Oct 22.

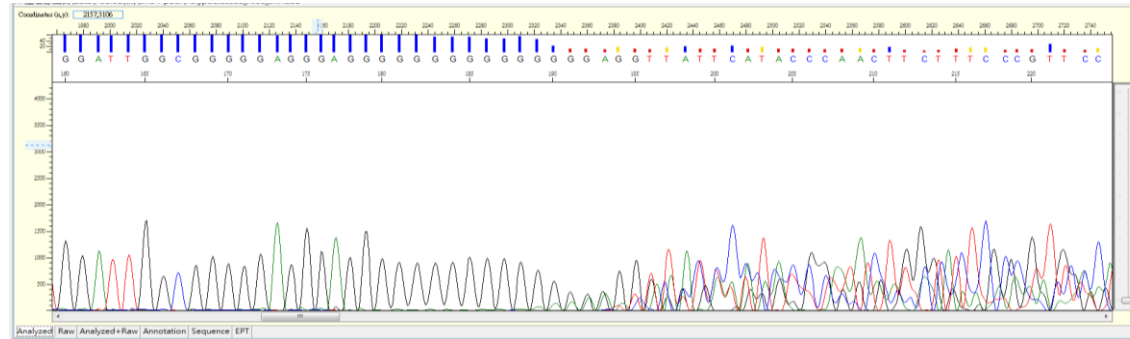
Vanijajiva, O., Sirirugsa, P., & Suvachittanont, W. (2005). Confirmation of relationships among *Boesenbergia* (Zingiberaceae) and related genera by RAPD. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(2), 159-170.

Wang, C. N., Möller, M., & Cronk, Q. C. (2004). Phylogenetic position of *Titanotrichum oldhamii* (Gesneriaceae) inferred from four different gene regions. *Systematic Botany*, 29(2), 407-418.

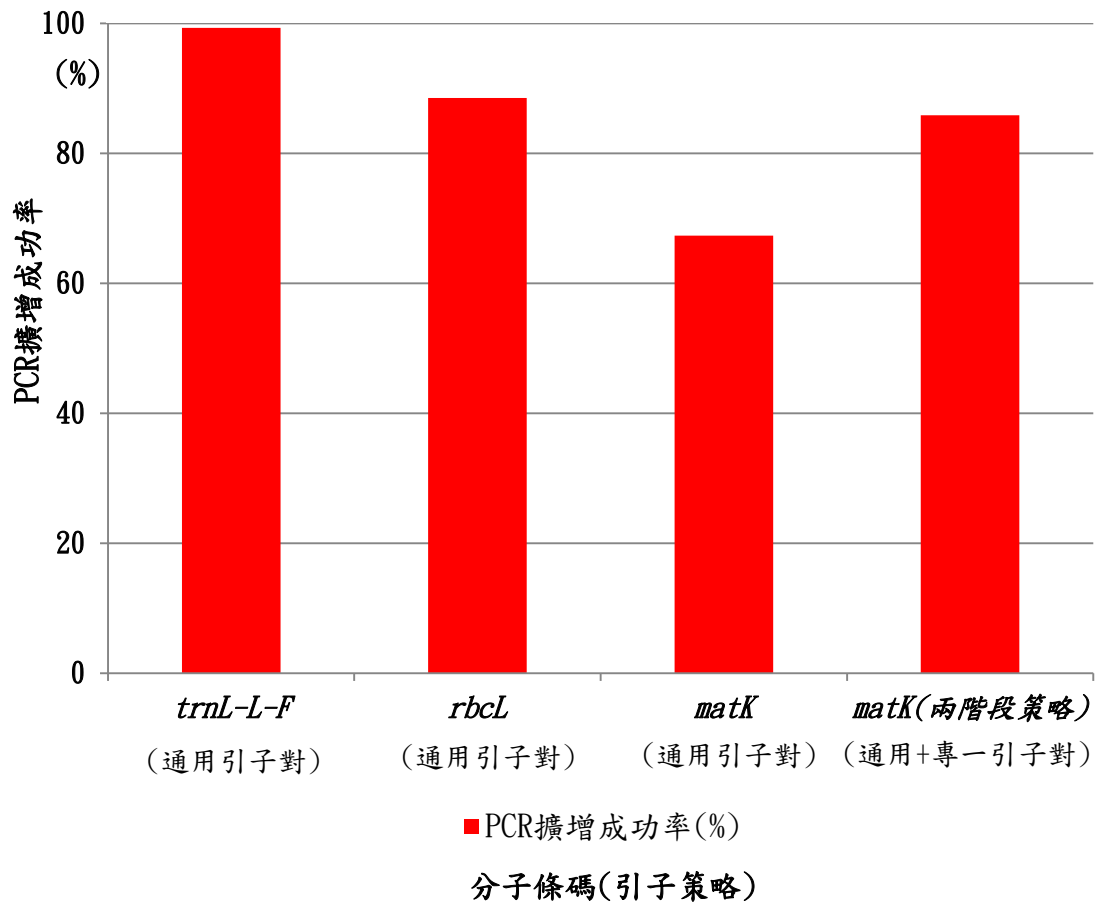
Watkins, J. E., Mack, M. K., & Mulkey, S. S. (2007). Gametophyte ecology and demography of epiphytic and terrestrial tropical ferns. *American Journal of Botany*, 94(4), 701-708.



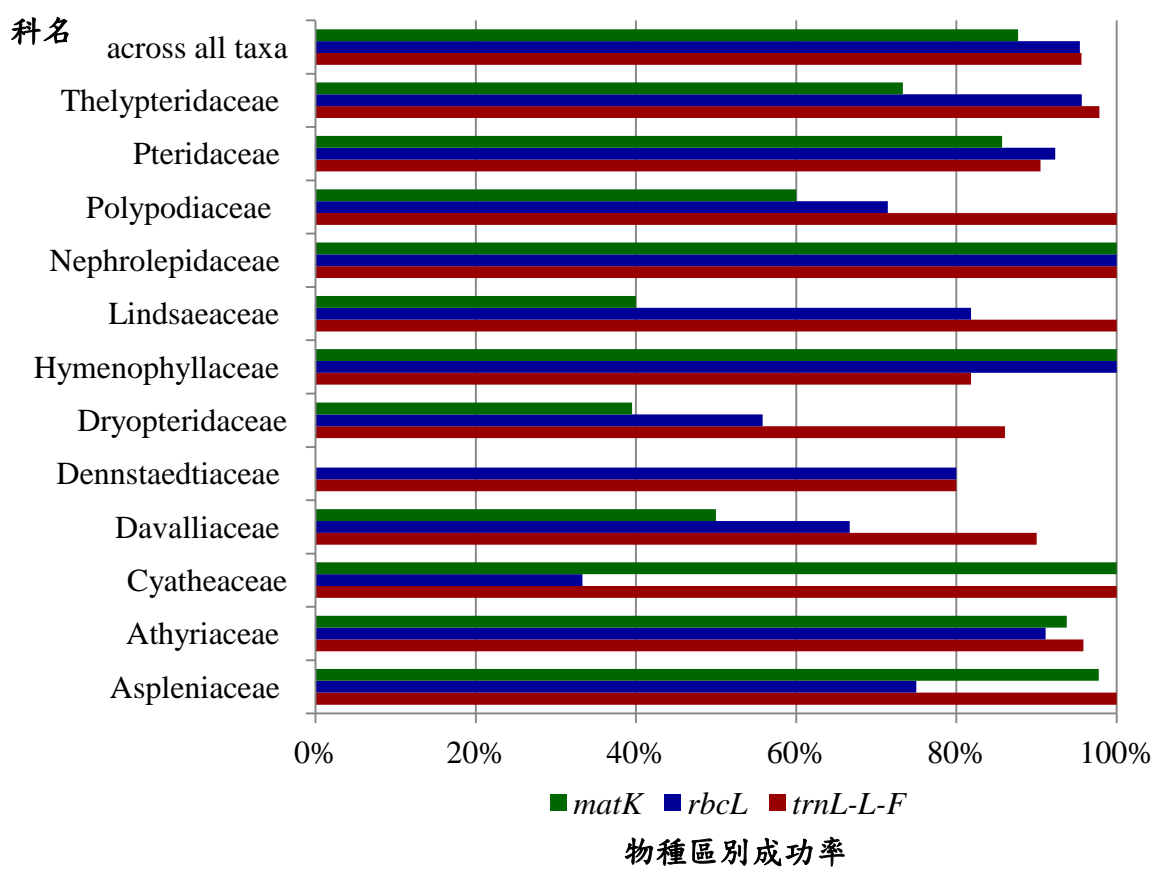
圖



圖一、*trnL-L-F* 分子條碼定序序列受六個以上重複鹼基干擾讀序
該序列自第十九位點鹼基 G 開始出現六個以上重複鹼基 G 情形(tandem repeat)
，接續的第十六位點鹼基 A 起，產生序列位移(shift)造成定序中斷干擾讀序



圖二、*matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 引子擴增序列成功率



圖三、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 各科及跨類群 Barcoding gap 物種對比例之區別成功率評估結果

表一、*matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 取樣與分析樣本資訊

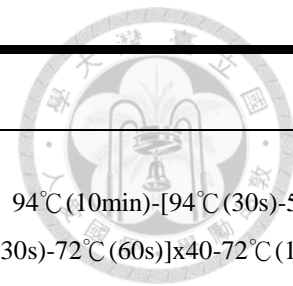
分子標記分析樣本資訊		<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>
取樣樣本	樣本數		297	
	物種數	219	215	210
PCR 成功 (有目標產物亮帶)	樣本數	295	263	200
	物種數	217	206	180
定序成功 (可分析之完整序列)	樣本數	293	263	252
	物種數	175	206	176
物種區別效力	物種對數	319	240	244
	Barcoding gap 物種對數	305	229	214
	兩個以上樣本的物種數	60	60	50
	單系群物種數	54	51	41



表二、PCR 反應條件及引子序列、來源及條件資訊

分子條碼	引子對適用類群	引子序列及來源	內部引子相對於序列的位點 (Internal primer site)	PCR 循環三階段條件
<i>matK</i>	第一階段 通用性	FERmatK fEDR (Kuo et al., 2011) 5'-ATTCATTTCRATRTTTTTATTTHTGGARGAYAGATT- 3'		
		FERmatK rAGK (Kuo et al., 2011) 5'-CGTRTTGTACTYYTRTGTTTTRCVAGC- 3'		
	第二階段 專一性 (水龍骨科類群)	水龍骨科: fSIH (Rothfels et al., 2012) 5'-TCRAAAATBTCRCAGTCTATTCATTC- 3'	418~426	
		水龍骨科: rGLR (Kuo et al., 2011) 5' -ATCTCAATCTMCGCAATCCAT- 3'	464~472 (反向:481~489)	94°C (10min)-[94°C (30s)-53°C (30s)-72°C (60s)]x40-72°C (10min)
第二階段 專一性 (膜蕨科+裏白科類群)	膜蕨科+裏白科: fDAP (Kuo et al., 2011) 5' -GATGCTYCGTTTTCYACAT- 3'	58~66		
	FERmatK rAGK (Kuo et al., 2011) 5'-CGTRTTGTACTYYTRTGTTTTRCVAGC- 3'			
第二階段 專一性 (碗蕨科+鱗始蕨科類群)	FERmatK fEDR (Kuo et al., 2011) 5'-ATTCATTTCRATRTTTTTATTTHTGGARGAYAGATT- 3'			
	碗蕨科+鱗始蕨科: rNRD (Kuo et al., 2011) 5' -CTACGCAAYSCATCYCGATTT- 3'	712~720 (反向:232~240)		
<i>rbcL</i>	通用性	F1F (Wolf et al., 1994) 5'-ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGCAAGT- 3'		94°C (10min)-[94°C (30s)-50°C (30s)-72°C (90s)]x40-72°C (10min)
		1379R (Pryerr et al, 2001)		

		5'-TCACAAGCAGCAGCTAGTTCAGGACTC- 3'	
<i>trnL-L-F</i>	通用性	trnF (Taberlet et al., 1991) 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG- 3' FernL 1Ir1 (Li, et al., 2009) 5'-GGYAATCCTGAGCCAAATC- 3'	94°C (10min)-[94°C (30s)-55°C (30s)-72°C (60s)]x40-72°C (10min)





表三、*matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 單端定序序列品質

本評估結果將定序獲得完整序列，將定序序列受六個以上重複鹼基干擾讀序剔除，留下可清楚讀續的序列之比例進行定序序列品質評估，*rbcL* 為 100%、*matK* 為 91.25%、*trnL-L-F* 為 89.42%

分子條碼	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>trnL-L-F</i>
受串聯式重複序列影響序列樣本數(Ne)	0	5	48
未受重複鹼基影響的序列樣本數(N-Ne)	263	247	245
正確的序列樣本比例 { [(N-Ne)/N] ×100% }	100%	98.01%	86.69%
<i>rbcL</i> 、 <i>matK</i> 跨科(<i>trnL-L-F</i> 各科)alignment 最長序列全長	1227bp	952bp	1140bp



表四、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 之親緣關係法(單系群比例)評估結果

本評估結果將有兩個以上個體之物種，重建親緣關係獲得的單系群物種即物種區別成功，再將單系群個數代入計算公式:單系群比例(物種區別成功率)=(形成單系群的物種總數/兩個以上樣本的物種總數)x 100%，求得單系群比例 *trnL-L-F* 為 90%、*rbcL* 為 85% 及 *matK* 單系群比例為 82%

親緣關係法評估結果	<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>
經 Jmodel test(AIC 標準) 選取之最適合模型	GTR+G	GTR+G+I	GTR+G
該分子條碼無法區別成功的物種	<i>Diplazium doederleinii</i> <i>Diplazium mettenianum</i> <i>Sphenomeris chusana</i>	<i>Cyclosorus dentatus</i> <i>Deparia lancea</i> <i>Diplazium mettenianum</i> <i>Dryopteris sparsa</i> <i>Lindsaea chienii</i> <i>Pteris grevilleana</i>	<i>Colysis wrightii</i> <i>Deparia lancea</i> <i>Diplazium doederleinii</i> <i>Dryopteris hasseltii</i> <i>Pleocnemia rufinervis</i> <i>Pteris grevilleana</i>
僅該分子條碼能區別成功的物種	<i>Deparia lancea</i> <i>Pteris grevilleana</i>	<i>Diplazium doederleinii</i> <i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Cyclosorus dentatus</i> <i>Diplazium mettenianum</i>
三者皆無法成功區別的物種	<i>Diplazium petri</i> 、 <i>Pteris fauriei</i> 、 <i>Cyclosorus wilfordii</i>		
兩個以上個體的物種數	60	60	50
單系群物種數	54	51	41
單系群比例(物種區別成功率)	90%	85%	82%

表五、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 之親緣關係法於 6 大科(可分析物種數 4 個以上的科)單系群比例之區別成功率評估結果

科名	兩個個體以上物種數			單系群物種數			單系群物種比例			最大效力分子條碼
	<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	
Aspleniaceae	8	7	8	8	7	8	100%	100%	100%	<i>trnL-L-F</i> 、 <i>matK</i> 、 <i>rbcL</i>
Athyriaceae	7	7	7	4	4	4	57.14%	57.14%	57.14%	<i>trnL-L-F</i> 、 <i>matK</i> 、 <i>rbcL</i>
Dryopteridaceae	9	9	9	9	8	7	100%	88.89%	77.78%	<i>trnL-L-F</i>
Polypodiaceae	8	7	5	8	7	4	100%	100%	80%	<i>trnL-L-F</i> 、 <i>matK</i>
Pteridaceae	4	4	4	3	2	2	75%	50%	50%	<i>trnL-L-F</i>
Thelypteridaceae	8	8	8	7	6	7	87.50%	75%	87.50%	<i>trnL-L-F</i> 、 <i>rbcL</i>



表六、比較其他研究分子條碼物種區別成功率(效力)、樣本類群、區別成功定義及評估方法策略

公開發表研究	物種區別成功率	分子條碼區段	樣本類群	區別成功之定義	評估策略方法
本研究(未發表)	95.61%	<i>trnL-L-F</i>	蕨類植物 28 科 77 屬 217 種	同屬內物種對最小種間遺傳距離大於 0 且大於最大種內遺傳距離	P-遺傳距離(barcoding gap 物種對比例)
	95.40%	<i>rbcL</i>			
	87.70%	<i>matK</i>			
	90%	<i>trnL-L-F</i>		單系群物種	貝氏推導親緣關係(單系群比例)
	85%	<i>rbcL</i>			
	82%	<i>matK</i>			
Li et al.(2011)	75%	<i>matK</i>	蕨類特定類群 假鱗毛蕨屬	同屬內物種對的種間遺傳距離總是大於種內遺傳距離	P-遺傳距離(barcoding gap 物種對比例)
	67.90%	<i>rbcL</i>			
	57.10%	<i>trnL-L-F</i>			
	100%	<i>matK+rbcL</i>			
Chen et al. (2012)	100%	<i>trnL-L-F</i>	蕨類特定類群 書帶蕨屬	同屬內物種對的種間遺傳距離總是大於種內遺傳距離	K-2-P 遺傳距離(barcoding gap 物種對比例)
	100%		蕨類特定類群 書帶蕨屬	單系群物種	最大簡約(MP)與最大或然率(ML)親緣關係(單系群比例)
	85.7%		蕨類特定類群 車前蕨屬		



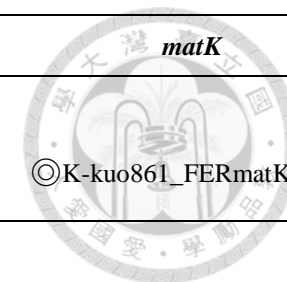
de Groot et al. (2011)	100%	<i>rbcL+trnL-L-F</i>	蕨類植物配子體 23 屬 52 類群	同屬內姊妹群最小種間遺傳 距離除以最大種內遺傳 距離比值大於 0	<i>P</i> -遺傳距離(barcoding gap 比值)
	56%			最大百分比相似度(MPI)>95 的屬內，Boostrap 值>70 形 成單系群物種	
Ebihara et al. (2010)	83.75%	<i>rbcL+trnH-psbA</i>	蕨類植物 733 類群	物種完整序列只 100%和參 考資料庫吻合	makeblastDB(平均種間 <i>K</i> -2- <i>P</i> 遺傳 距離、barcoding gap 物種對策略， 建立物種序列比對吻合度的參考 資料庫)
CBOL Plant Working Group, (2009)	57%	<i>matK</i>	隱花植物 (石松類與廣義真 蕨類植物)	最小種間遺傳距離大於最大 種內遺傳距離	<i>P</i> -遺傳距離(barcoding gap 物種對 比例)
	58%	<i>rbcL</i>	67 種		
	66%	<i>matK</i>			
	61%	<i>rbcL</i>	陸生植物		
	69%	<i>trnH-psbA</i>	550 種		
	72%	<i>matK+rbcL</i>			

表七、本研究效力評估結果 *trnL-L-F*、*matK* 和 *rbcL* 優缺點與建議

評估結果優缺點與建議	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>
三項評估結果	PCR 成功率最高	PCR 成功率最低	PCR 成功率次高
	定序序列品質最差	定序序列品質較 <i>trnL-L-F</i> 佳	定序序列品質最高
	物種區別率之種間內遺傳距離差異最大、物種區別率單系群比例最高	物種區別率之種間內遺傳距離差異居中、物種區別率單系群比例最低	物種區別率之種間內遺傳距離差異最小、物種區別率單系群比例略差 <i>trnL-L-F</i>
優點	引子序列保守性佳且物種間序列變異度高，有利物種區別，適合發展通用性條碼	物種間序列變異度高，定序獲得的序列品質佳	引子序列保守性高，定序獲得的序列品質優良
缺點	同源性序列比對困難；重複鹼基序列存在，定序序列品質不佳	引子序列不保守，設計困難，PCR 成功率低，序列不易取得	種間序列變異度低，物種鑑別效力差
未來研究發展建議			
特別適用類群	<i>Deparia lancea</i> <i>Pteris grevilleana</i>	<i>Diplazium doederleinii</i> <i>Diplazium dilatatum</i> 科鑑別效力優於物種鑑別效力	<i>Cyclosorus dentatus</i> <i>Diplazium mettenianum</i>
再鑑別物種	<i>Cyclosorus wilfordii</i> 、 <i>Diplazium petri</i> 、 <i>Pteris fauriei</i>		
通用 mini-barcode 發展	編碼區段，跨類群序列同源性核苷酸特徵可比對，適合發展	編碼區段，跨類群序列同源性核苷酸特徵可比對，適合發展	非編碼區段，跨類群序列同源性核苷酸特徵難以比對，不適合發展

附錄一、PCR 引子擴增樣本資訊(F, Fushan; L, Lienhuichi; N, Nanjenshan; *、序列編號 : PCR success; no : PCR fail; © : 須採取兩階段 matK 引子擴增)

類群	中文名	採集號 採集地		序列編號		
		(館藏 TAIF)		<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	
Arthropteridaceae						
<i>Arthropteris palisotii</i> (Desv.) Alston	藤蕨	Kuo861	N	Kuo861_FernL1	r-kuo861_rbcLaF r-kuo861_rbcL1379R	©K-kuo861_FERmatKfEDR
Aspleniaceae						
<i>Asplenium antiquum</i> Makino	山蘇花	Kuo2444	L	F-kuo2444_FernL-1Ir1 asp	R-kuo2444_rbcL-aF R-kuo2446_rbcL-1379R	078_B10_G861_FERmatK-fEDR
<i>Asplenium antiquum</i> Makino	山蘇花	Kuo3702	F	070_F10_kuo3702_FernL1Ir1	no	095_A11_K3702_FERmatK-fEDR
<i>Asplenium australasicum</i> (J. Sm.) Hook.	南洋山蘇花	Kuo942	N	f-Kuo942_FernL1Ir1	r-kuo942_rbcLaF r-kuo942_rbcL1379R	093_B11_K942_FERmatK-fEDR
<i>Asplenium boreale</i> (Ohwi ex Sa.Kurata) Nakaike		Kuo3338	L	066_H10_F3338_FernL1Ir1	*	050_H08_K3338_FERmatK-fEDR
<i>Asplenium cuneatifforme</i> Christ	大蓬萊鐵角蕨	Kuo2309	F	kuo2309_FernL-1Ir1	R-kuo-2309_rbcL-aF R-kuo-2309_rbcL-1379R	©K-kuo-2309_FERmatKfEDR
<i>Asplenium cuneatifforme</i> Christ	大蓬萊鐵角蕨	Kuo936	N	f-Kuo936_FernL1Ir1	K-kuo936_FERmatKfEDR	K-kuo936_FERmatKfEDR
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i> Tard.-Blot et Ching	大黑柄鐵角蕨	Kuo2351	F	Kuo2351_trn-F kuo2351_FernL-1Ir1	R-kuo-2351_rbcL-aF R-kuo-2351_rbcL-1379R	K-kuo-2351_FERmatkfEDR
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i> Tard.-Blot et Ching	大黑柄鐵角蕨	Kuo947	N	f-Kuo947_FernL1Ir1	r-kuo947_rbcLaF r-kuo947_rbcL1379R	050_H08_H947_FERmatK-rAGK
<i>Asplenium nidus</i>	台灣山蘇花	kuo2367	F	kuo2367_FernL-1Ir1	R-kuo-2367_rbcL-aF R-kuo-2367_rbcL-1379R	©H-kuo-2367_EullmatKfSIH
<i>Asplenium normale</i> Don	生芽鐵角蕨	Kuo2346	F	Kuo2346_trn-F kuo2346_FernL-1Ir1	R-kuo-2346_rbcL-aF R-kuo-2346_rbcL-1379R	K-kuo-2346_FERmatkfEDR
<i>Asplenium normale</i> Don	生芽鐵角蕨	Kuo3363	L	021_F03_F3363_FernL1Ir1	*	093_B11_K3363_FERmatK-fEDR

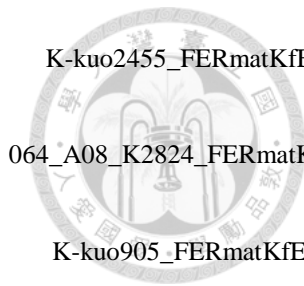


<i>Asplenium serricula</i> Fée	蘭嶼鐵角蕨	Kuo867	N	046_B06_F867_FernL1Ir1	r-kuo867_rbcLaF r-kuo867_rbcL1379R	K-kuo867_FERmatKfEDR
<i>Asplenium wilfordii</i> Mett. ex Kuhn	威氏鐵角蕨	Kuo2359	F	Kuo2359_trnF asp kuo2359_FernL-1Ir1	R-kuo-2359_rbcL-aF R-kuo-2359_rbcL-1379R	©K-kuo-2359_FERmatKfEDR
<i>Asplenium wrightii</i> Eaton ex Hook.	萊氏鐵角蕨	Kuo3381	L	045_B05_F3381_FernL1Ir1	no	052_G08_H3381_FERmatK-rAGK
<i>Asplenium wrightii</i> Eaton ex Hook.	萊氏鐵角蕨	Kuo2813	F	018_H04_F2813_FernL1Ir1	no	028_C04_G2813_FERmatK-fEDR
<i>Hymenasplenium apogamum</i> (N. Murakami et S. Hatanaka) Nakaik	無配鐵角蕨	Kuo929	N	f-kuo929_FernL1Ir1	r-kuo929_rbcLaF r-kuo929_rbcL1379R	©K-kuo929_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium apogamum</i> (N. Murakami et S. Hatanaka) Nakaik	無配鐵角蕨	Kuo2430	L	F-kuo2430_FernL-1Ir1	R-kuo2430_rbcL-aF R-kuo2430_rbcL-1379R	K-kuo2430_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium cheilosorum</i> (Kunze ex Mett.) Tagawa	薄葉孔雀鐵角蕨	Kuo2326	F	kuo2326_FernL-1Ir1	R-kuo-2326_rbcL-aF R-kuo-2326_rbcL-1379R	K-kuo-2326_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium cheilosorum</i> (Kunze ex Mett.) Tagawa	薄葉孔雀鐵角蕨	Kuo2431	L	F-kuo2431_FernL-1Ir1	R-kuo2431_rbcL-aF R-kuo2431_rbcL-1379R	K-kuo2431_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium excisum</i> (C. Presl) S. Lindsay	剪葉鐵角蕨	Kuo2426	L	F-kuo2426_FernL-1Ir1	R-kuo2426_rbcL-aF R-kuo2426_rbcL-1379R	K-kuo2426_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium excisum</i> (C. Presl) S. Lindsay	剪葉鐵角蕨	Kuo860	N	Kuo860_FernL1Ir1	r-kuo860_rbcLaF r-kuo860_rbcL1379R	K-kuo860_FERmatKfEDR
<i>Hymenasplenium excisum</i> (C. Presl) S. Lindsay	剪葉鐵角蕨	Kuo2815	F	045_B05_F2815_FernL1Ir1	no	053_F07_K2815_FERmatK-fEDR
<i>Hymenasplenium filipes</i> (Copel.) Sugimoto	絲柄鐵角蕨	Kuo2811	F	065_H09_kuo2811_FernL1Ir1	no	no
<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i> Nakaik	湍生鐵角蕨	Kuo966	N	F-kuo966_FernL1Ir1	no	no
<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i> Nakaik	湍生鐵角蕨	Kuo2511	F	F-kuo2511_FernL1Ir1	no	K-kuo2511_FERmatKfEDR

Athyriaceae

<i>Athyrium palustre</i> Seriz.		Kuo2527	F	F-kuo2527_FernL1Ir1	R-kuo2527_rbcLaF R-kuo2527_rbcL1379R	K-kuo2527_FERmatKfEDR
<i>Cornopteris opaca</i> (Don) Tagawa	黑柄貞蕨	Kuo2323	F	kuo2323_FernL-1Ir1	RKuo2323_rbcLaF RKuo2323_rbcL1379R	074_D10_K2323_FERmatK-fEDR

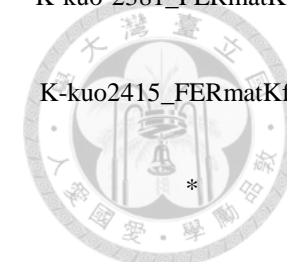
<i>Deparia formosana</i> (Rosenst.) R. Sano	假腸蕨	Kuo2306	F	kuo2306_FernL-1Ir1	R-kuo-2306_rbcL-aF R-kuo-2306_rbcL-1379R	} 	◎*
<i>Deparia lancea</i> (Thunb.) R. Sano	單葉雙蓋蕨	Kuo2455	L	F-kuo2455_FernL-1Ir1	R-kuo2455_rbcL-aF R-kuo2455_rbcL-1379R	} 	K-kuo2455_FERmatKfEDR
<i>Deparia lancea</i> (Thunb.) R. Sano	單葉雙蓋蕨	Kuo2824	F	033_H05_F2824_FernL1Ir1	057_D07_r2824_rbcLF1F 069_F09_r2824_rbcL1379R	} }	064_A08_K2824_FERmatK-fEDR
<i>Deparia lancea</i> (Thunb.) R. Sano	單葉雙蓋蕨	Kuo905	N	f-Kuo905_FernL1Ir1	r-kuo905_rbcLaF r-kuo905_rbcL1379R	} }	K-kuo905_FERmatKfEDR
<i>Deparia petersenii</i> (Kunze) M. Kato	假蹄蓋蕨	Kuo2386	F	kuo2386_FernL-1Ir1	R-kuo-2386_rbcL-aF R-kuo-2386_rbcL-1379R	} }	K-kuo-2386_FERmatKfEDR
<i>Deparia petersenii</i> (Kunze) M. Kato	假蹄蓋蕨	Kuo964	N	F-kuo964_FernL1Ir1	R-kuo964_rbcLaF R-kuo964_rbcL1379R	} }	K-kuo964_FERmatKfEDR
<i>Deparia tomitaroan</i> (Masamune) R. Sano	羽裂葉單葉雙蓋蕨	Kuo912	N	f-Kuo912_FernL1Ir1	r-kuo912_rbcLaF r-kuo912_rbcL1379R	} }	K-kuo912_FERmatKfEDR
<i>Diplazium amamanum</i> Tagawa	奄美雙蓋蕨	Kuo2318	F	kuo2318_FernL-1Ir1	R-kuo-2318_rbcL-aF R-kuo-2318_rbcL-1379R	} }	K-kuo-2318_FERmatKfEDR
<i>Diplazium dilatatum</i> Blume	廣葉鋸齒雙蓋蕨	Kuo2302	F	F-kuo-2302_FernL-1Ir1	R-kuo-2302_rbcL-Af R-kuo-2302_rbcL-1379R	} }	K-kuo-2302_FERmatKfEDR
<i>Diplazium dilatatum</i> Blume	廣葉鋸齒雙蓋蕨	Kuo2414	L	F-kuo2414_FernL-1Ir1	R-kuo2414_rbcL-aF R-kuo2414_rbcL-1379R	} }	K-kuo2414_FERmatKfEDR
<i>Diplazium doederleinii</i> (Luerss.) Makino	德氏雙蓋蕨	Kuo2440	L	F-kuo2440_FernL-1Ir1	R-kuo2440_rbcL-aF R-kuo2440_rbcL-1379R	} }	K-kuo2440_FERmatKfEDR
<i>Diplazium doederleinii</i> (Luerss.) Makino	德氏雙蓋蕨	Kuo859	N	Kuo859_FernL1Ir1	r-kuo859_rbcLaF r-kuo859_rbcL1379R	} }	K-kuo859_FERmatKfEDR
<i>Diplazium doederleinii</i> (Luerss.) Makino	德氏雙蓋蕨	Kuo2313	F	kuo2313_FernL-1Ir1	no		K-kuo-2313_FERmatKfEDR



<i>Diplazium donianum</i> (Mett.) Tard.-Blot	細柄雙蓋蕨	Kuo2314	F	kuo2314_FernL-1Ir1	R-kuo-2314_rbcL-aF R-kuo-2314_rbcL-1379R	K-kuo-2314_FERmatKfEDR
<i>Diplazium donianum</i> (Mett.) Tard.-Blot	細柄雙蓋蕨	Kuo2446	L	F-kuo2446_FernL-1Ir1	R-kuo2446_rbcL-aF R-kuo2446_rbcL-1379R	K-kuo2446_FERmatKfEDR
<i>Diplazium esculentum</i> (Retz.) Sw.	過溝菜蕨	Kuo2826	F	065_H09_Kuo2826_FernL1Ie1	055_E07_r2826_rbcLF1F 067_G09_r2826_rbcL1379R	062_B08_K2826_FERmatK-fEDR
<i>Diplazium incomptum</i> Tagawa	翅柄雙蓋蕨	Kuo2500	F	F-kuo2500_FernL1Ir1	R-kuo2500_rbcLaF R-kuo2500_rbcL1379R	K-kuo2500_FERmatKfEDR
<i>Diplazium kawakamii</i> Hayata	川上氏雙蓋蕨	Kuo2372	F	kuo2372_FernL-1Ir1	R-kuo-2372_rbcL-aF R-kuo-2372_rbcL-1379R	K-kuo-2372_FERmatKfEDR
<i>Diplazium mettenianum</i> (Miq.) C. Chr.	深山雙蓋蕨	Kuo930	N	f-Kuo930_FernL1Ir1	r-kuo930_rbcLaF r-kuo930_rbcL1379R	K-kuo930_FERmatKfEDR
<i>Diplazium mettenianum</i> (Miq.) C. Chr.	深山雙蓋蕨	Kuo2300	F	F-kuo2500_FernL1Ir1	R-kuo-2300_rbcL-aF R-kuo-2300_rbcL-1379R	K-kuo-2300_FERmatKfEDR
<i>Diplazium petri</i> Tard.-Blot	廣葉深山雙蓋蕨	Kuo2349	F	kuo2349_FernL-1Ir1	R-kuo-2349_rbcL-aF R-kuo-2349_rbcL-1379R	K-kuo-2349_FERmatKfEDR
<i>Diplazium petri</i> Tard.-Blot	廣葉深山雙蓋蕨	Kuo3361	L	002_H02_F3361_FernL1Ir1	044_C06_r3361_rbcLF1F 042_D06_r3361_rbcL1379R	066_H10_K3361_FERmatK-fEDR
<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i> Hayata	擬德氏雙蓋蕨	Kuo2311	F	kuo2311_FernL-1Ir1	RKuo2311_rbcLaF RKuo2311_rbcL1379R	076_C10_K2311_FERmatK-fEDR
<i>Diplazium pullinger</i> (Bak.) J. Sm.	樸氏雙蓋蕨	Kuo2299	F	kuo2299_FernL-1Ir1	RKuo2299_rbcLaF RKuo2299_rbcL1379R	K-kuo-2299_FERmatKfEDR
<i>Diplazium virescens</i> Kunze	綠葉雙蓋蕨	Kuo3359	L	027_C03_F3359_FernL1Ir1	no	068_G10_K3359_FERmatK-fEDR
Azollaceae						
<i>Azolla mexicana</i> Schlecht. & Cham.	覆瓦滿江紅	Kuo2510	F	F-kuo2510_FernL1Ir1	R-kuo2510_rbcLaF R-kuo2510_rbcL1379R	K-kuo2510_FERmatKfEDR

Blechnaceae

<i>Blechnum orientale</i> L.	烏毛蕨	Kuo2381	F	kuo2381_FernL-1Ir1	R-kuo-2381_rbcL-aF R-kuo-2381_rbcL-1379R	K-kuo-2381_FERmatKfEDR
<i>Blechnum orientale</i> L.	烏毛蕨	Kuo2415	L	F-kuo2415_FernL-1Ir1	R-kuo2415_rbcL-aF R-kuo2415_rbcL-1379R	K-kuo2415_FERmatKfEDR
<i>Blechnum orientale</i> L.	烏毛蕨	Kuo889	N	Kuo889_FernL1Ir1	r-kuo889_rbcLaF r-kuo889_rbcL1379R	*
<i>Woodwardia orientalis</i> Sw. var. <i>formosana</i> Rosenst.	臺灣狗脊蕨	Kuo2809	F	F-kuo2809_FernL-1Ir1	R-kuo2809_rbcL-aF R-kuo2809_rbcL-1379R	K-kuo2809_FERmatKfEDR
<i>Woodwardia harlandii</i> Hook.	哈氏狗脊蕨	Kuo2520	F	F-kuo2520_FernL1Ir1	R-kuo2520_rbcLaF R-kuo2520_rbcL1379R	©K-kuo2520_FERmatKfEDR

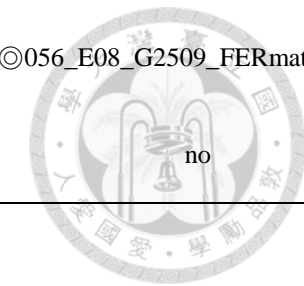
**Cibotiaceae**

<i>Cibotium barometz</i> (L.) J. Sm.	金狗毛蕨	Kuo2416	L	F-kuo2416_FernL-1Ir1	R-kuo2416_rbcL-aF R-kuo2416_rbcL-1379R	K-kuo2416_FERmatKfEDR
<i>Cibotium cumingii</i> Kunze	菲律賓金狗毛蕨	Kuo3375	L	024_E04_F3375_FernL1Ir1	060_C08_r3375_rbcLF1F 058_D08_r3375_rbcL1379R	081_H11_K3375_FERmatK-fEDR

Cyatheaceae

<i>Alsophila spinulosa</i> (Wall. ex Hook.) R. Tryon	臺灣桫欏	Kuo2807	F	F-kuo2807_FernL-1Ir1	R-kuo2807_rbcL-aF R-kuo2807-1_rbcL-1379R	K-kuo2807_FERmatKfEDR
<i>Alsophila spinulosa</i> (Wall. ex Hook.) R. Tryon	臺灣桫欏	Kuo3346	L	081_H11_F3346_FernL1Ir1	019_G03_r3346_rbcLF1F 017_H03_r3346_rbcL1379R	067_G09_K3346_FERmatK-fEDR
<i>Sphaeropteris lepifera</i> (J. Sm. ex Hook.) R. Tryon	筆筒樹	Kuo2808	F	F-kuo2808_FernL-1Ir1	R-kuo2808_rbcL-aF R-kuo2808_rbcL-1379R	K-kuo2808_FERmatKfEDR
<i>Gymnosphaera denticulata</i> (Bak.) Copel.	韓氏桫欏	Kuo2829	F	076_C10_kuo2829_FernL1Ir1	051_G07_r2829_rbcLF1F 080_A10_r2829_rbcL1379R	060_C08_K2829_FERmatK-fEDR
<i>Gymnosphaera metteniana</i> (Hance) Tagawa	臺灣樹蕨	Kuo2391	F	kuo2391_FernL-1Ir1	R-kuo-2391_rbcL-aF R-kuo-2391_rbcL-1379R	©G-kuo-2391_FERmatKfEDR

<i>Gymnosphaera metteniana</i> (Hance) Tagawa	臺灣樹蕨	Kuo3356	L	002_H02_F3356_FernL1Ir1	035_G05_r3356_rbcLF1F 034_H06_r3366_rbcL1379R	} 072_E10_K3356_FERmatK-fEDR
<i>Gymnosphaera podophylla</i> (Hook.) Copel.	鬼抄羅	Kuo2509	F	F-kuo2509_FernL1Ir1	R-kuo2509_rbcLaF R-kuo2509_rbcL1379R	} ©056_E08_G2509_FERmatK-fEDR
<i>Gymnosphaera podophylla</i> (Hook.) Copel.	鬼抄羅	Kuo2456	L	F-kuo2456_FernL-1Ir1	R-kuo2456_rbcL-aF R-kuo2456_rbcL-1379R	



Cystopteridaceae

<i>Acystopteris tenuisecta</i> (Blume) Tagawa	禾桿亮毛蕨	Kuo2525	F	F-kuo2525_FernL1Ir1	R-kuo2525_rbcLaF R-kuo2525_rbcL1379R	K-kuo2525_FERmatKfEDR
---	-------	---------	---	---------------------	---	-----------------------

Davalliaceae

<i>Davallia griffithiana</i> Hook.	杯狀蓋骨碎補	Kuo3339	L	095_A11_F3339_FernL1Ir1	012_C02_r3339_rbcLF1F 010_D02_r3339_rbcL1379R	} 027_C03_K3339_FERmatK-fEDR
<i>Davallia mariesii</i> Moore ex Bak.	海州骨碎補	Kuo2338	F	kuo2338_FernL-1Ir1	R-kuo-2338_rbcL-aF R-kuo-2338_rbcL-1379R	} ©G-kuo-2338_FERmatKfEDR
<i>Davallia formosana</i> Moore ex Bak.	台灣骨碎補	Kuo2433	L	F-kuo2433_FernL-1Ir1	R-kuo2433_rbcL-aF R-kuo2433_rbcL-1379R	} ©K-kuo2433_FERmatKfEDR
<i>Davallia perdurans</i>	臺灣小膜蓋蕨	Kuo2820	F	037_F05_F2820_FernL1Ir1	061_B07_r2820_rbcLF1F 073_D09_r2820_rbcL1379R	} 050_H08_G2820_FERmatK-fEDR
<i>Davallia repens</i> (L. f.) Kuhn	陰石蕨	Kuo868	N	Kuo868_FernL1Ir1	r-kuo868_rbcLaF r-kuo868_rbcL1379R	} ©G-kuo868_FERmatKfEDR
<i>Davallia repens</i> (L. f.) Kuhn	陰石蕨	Kuo2507	F	F-kuo2507_FernL1Ir1	R-kuo2507_rbcLaF R-kuo2507-1379R	} K-kuo2507_FERmatKfEDR
<i>Davallia solida</i> (Forst.) Sw.	闊葉骨碎補	Kuo863	N	Kuo863_FernL1Ir1	r-kuo863_rbcLaF r-kuo863_rbcL1379R	} ©G-kuo863_FERmatKfEDR

Dennstaedtiaceae

<i>Dennstaedtia scandens</i> (Blume) Moore	刺柄碗蕨	Kuo2806	F	F-kuo2806_FernL-1Ir1	R-kuo2806_rbcL-aF R-kuo2806_rbcL-1379R	} K-kuo2806_FERmatKfEDR
--	------	---------	---	----------------------	---	-------------------------

<i>Dennstaedtia scabra</i> (Wall.) Moore	碗蕨	Kuo2352	F	kuo2352_FernL-1Ir1	R-kuo-2352_rbcL-aF R-kuo-2352_rbcL-1379R	K-kuo-2352_FERmatKfEDR
<i>Dennstaedtia smithii</i> (Hook.) Moore	司氏碗蕨	Kuo2319	F	F-kuo-2319_FernL-1Ir1	R-kuo-2319_rbcL-aF R-kuo-2319_rbcL-1379R	K-kuo-2319_FERmatKfEDR
<i>Histiopteris incisa</i> (Thunb.) J. Sm.	栗蕨	Kuo2523	F	F-kuo2523_FernL1Ir1	R-kuo2523_rbcLaF R-kuo2523_rbcL1379R	©K-kuo2523_FERmatKfEDR
<i>Histiopteris incisa</i> (Thunb.) J. Sm.	栗蕨	Kuo3336	L	070_F10_F3336_FernL1Ir1	003_G01_r3336_rbcLF1F 001_H01_r3336_rbcL1379R	052_G08_K3336_FERmatK-fEDR
<i>Hypolepis punctata</i> (Thunb.) Merr.	姬蕨	Kuo2388	F	F-kuo-2388_FernL-1Ir1	R-kuo-2388_rbcL-aF R-kuo-2388_rbcL-1379R	©K-kuo-2388_FERmatKfEDR
<i>Hypolepis punctata</i> (Thunb.) Merr.	姬蕨	Kuo3373	L	028_C04_F3373_FernL1Ir1	064_A08_r3373_rbcLF1F 062_B08_r3373_rbcL1379R	085_F11_K3373_FERmatK-fEDR
<i>Microlepia hookeriana</i> (Wall. ex Hook.) C. Presl	虎克氏鱗蓋蕨	Kuo2503	F	F-kuo2503_FernL1Ir1	R-kuo2503_rbcLaF R-kuo2503_rbcL1379R	K-kuo2503_FERmatKfEDR
<i>Microlepia marginata</i> (Panzer) C. Chr. var. bipinnata Makino	臺北鱗蓋蕨	Kuo3335	L	072_E10_F3335_FernL1Ir1	007_E01_r3335_rbcLF1F 005_F01_r3335_rbcL1379R	054_F08_K3335_FERmatK-fEDR
<i>Microlepia obtusiloba</i> Hayata	團羽鱗蓋蕨	Kuo2427	L	F-kuo2427_FernL-1Ir1	R-kuo2427_rbcL-aF R-kuo2427_rbcL-1379R	K-kuo2427_FERmatKfEDR
<i>Microlepia obtusiloba</i> Hayata	團羽鱗蓋蕨	Kuo2348	F	F-kuo-2348_FernL-1Ir1	R-kuo-2348_rbcL-aF R-kuo-2348_rbcL-1379R	©K-kuo-2348_FERmatKfEDR
<i>Microlepia speluncae</i> (L.) Moore	熱帶鱗蓋蕨	Kuo2454	L	F-kuo2454_FernL-1Ir1	R-kuo2454_rbcL-aF R-kuo2454_rbcL-1379R	K-kuo2454_FERmatKfEDR
<i>Microlepia strigosa</i> (Thunb.) Presl	粗毛鱗蓋蕨	Kuo3343	L	087_E11_F3343_FernL1Ir1	027_C03_r3343_rbcLF1F 026_D04_r3349_rbcL1379R	071_E09_K3343_FERmatK-fEDR
<i>Monachosorum henryi</i> Christ	稀子蕨	Kuo2312	F	kuo2312_FernL-1Ir1	R-kuo-2312_rbcL-aF R-kuo-2312_rbcL-1379R	K-kuo-2312_FERmatKfEDR
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn subsp. latiusculum	蕨	Kuo3350	L	092_C12_F3350_FernL1Ir1	024_E04_r3350_rbcLF1F	078_B10_K3350_FERmatK-fEDR

Diplaziopsidaceae

<i>Diplaziopsis javanica</i> (Blume) C. Chr.	腸蕨	Kuo2304	F	kuo2304_FernL-1Ir1	R-kuo-2304_rbcL-aF R-kuo-2304_rbcL-1379R	K-kuo-2304_FERmatKfEDR
--	----	---------	---	--------------------	---	------------------------

Dipteridaceae

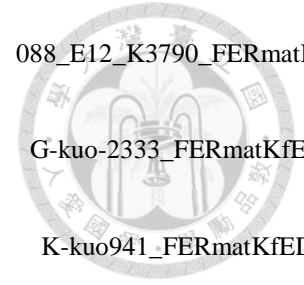
<i>Dipteris conjugata</i> Reinw.	雙扇蕨	Kuo888	N	f-kuo888_FernL1-Ir1	r-kuo888_rbcLaF r-kuo888_rbcL1379R	K-kuo888_FERmatKfEDR
<i>Cheiropleuria integrifolia</i> (Eaton ex Hook) M. Kato	燕尾蕨	Kuo2501	F	F-kuo2501_FernL1Ir1	R-kuo2501_rbcLaF R-kuo2501_rbcL1379R	©P-kuo2501_FERmatKrAGK

Dryopteridaceae

<i>Arachniodes chinensis</i> (Rosenst.) Ching	中華複葉耳蕨	Kuo3789	L	041_D05_F3789_FernL1Ir1	067_G09_r3789_rbcLF1F 065_H09_r3789_rbcL1379R	090_D12_K3789_FERmatK-fEDR
<i>Arachniodes exilis</i> (Hance) Ching	細葉複葉耳蕨	Kuo2830	F	074_D10_kuo2830_FernL1Ir1	049_H07_r2830_rbcLF1F 078_B10_r2830_rbcL1379R	079_A09_G2830_FERmatK-fEDR
<i>Arachniodes festina</i> (Hance) Ching	臺灣兩面複葉 耳蕨	Kuo2315	F	kuo2315_FernL-1Ir1	R-kuo-2315_rbcL-aF R-kuo-2315_rbcL-1379R	G-kuo-2315_FERmatKfEDR
<i>Arachniodes pseudo-aristata</i> (Tagawa) Ohwi	小葉複葉耳蕨	Kuo948	N	f-Kuo948_FernL1Ir1	r-kuo948_rbcLaF r-kuo948_rbcL1379R	K-kuo948_FERmatKfEDR
<i>Arachniodes rhomboides</i> (Wall. ex Mett.) Ching	斜方複葉耳蕨	Kuo2296	F	kuo2296_FernL-1Ir1	R-kuo-2296_rbcL-aF R-kuo-2296_rbcL-1379R	G-kuo-2296_FERmatKfEDR
<i>Arachniodes rhomboides</i> (Wall. ex Mett.) Ching	斜方複葉耳蕨	Kuo3342	L	089_D11_F3342_FernL1Ir1	031_A03_r3342_rbcLF1F 029_B03_r3342_rbcL1379R	073_D09_K3342_FERmatK-fEDR
<i>Arachniodes rhomboides</i> (Wall. ex Mett.) Ching	斜方複葉耳蕨	Kuo2435	L	F-kuo2435_FernL-1Ir1	R-kuo2435_rbcL-aF R-kuo2435_rbcL-1379R	K-kuo2435_FERmatKfEDR
<i>Bolbitis appendiculata</i> (Willd.) K. Iwats.	刺蕨	Kuo2380	F	kuo2380_FernL-1Ir1	R-kuo-2380_rbcL-aF R-kuo-2380_rbcL-1379R	G-kuo-2380_FERmatKfEDR

<i>Bolbitis appendiculata</i> (Willd.) K. Iwats.	刺蕨	Kuo885	N	Kuo885_FernL1Ir1	r-kuo885_rbcLaF r-kuo885_rbcL1379R	K-kuo885_FERmatKfEDR
<i>Bolbitis appendiculata</i> (Willd.) K. Iwats.	刺蕨	Kuo2425	L	F-kuo2425_FernL-1Ir1	R-kuo2425_rbcL-aF R-kuo2425_rbcL-1379R	K-kuo2425_FERmatKfEDR
<i>Bolbitis angustipinna</i> (Hayata) H. Ito	細葉實蕨	Kuo3340	L	093_B11_F3340_FernL1Ir1	008_E02_r3340_rbcLF1F 006_F02_r3340_rbcL1379R	077_B09_K3340_FERmatK-fEDR
<i>Bolbitis axireticulata</i> K. Iwatsuki	網脈刺蕨	Kuo957	N	F-kuo957_FernL1Ir1	R-kuo957_rbcLaF R-kuo957_rbcL1379R	©G-kuo957_FERmatKfEDR
<i>Bolbitis subcordata</i> (Copel.) Ching	海南實蕨	Kuo2817	F	041_D05_F2817_FernL1Ir1	no	049_H07_K2817_FERmatK-fEDR
<i>Bolbitis subcordata</i> (Copel.) Ching	海南實蕨	Kuo2453	L	F-kuo2453_FernL-1Ir1	R-kuo2453_rbcL-aF R-kuo2453_rbcL-1379R	©K-kuo2453_FERmatKfEDR
<i>Bolbitis subcordata</i> (Copel.) Ching	海南實蕨	Kuo953	N	F-kuo953_FernL1Ir1	R-kuo953_rbcLaF R-kuo953_rbcL1379R	©G-kuo953_FERmatKfEDR
<i>Ctenitis eatonii</i> (Bak.) Ching	愛德氏肋毛蕨	Kuo3379	L	018_H04_F3379_FernL1Ir1	079_A09_r3379_rbcLF1F 077_B09_r3379_rbcL1379R	080_A10_G3379_FERmatK-fEDR
<i>Ctenitis eatonii</i> (Bak.) Ching	愛德氏肋毛蕨	Kuo2298	F	kuo2298_FernL-1Ir1	R-kuo-2298_rbcL-aF R-kuo-2298_rbcL-1379R	©G-kuo-2298_FERmatKfEDR
<i>Ctenitis subglandulosa</i> (Hance) Ching	肋毛蕨	Kuo2330	F	F-kuo-2330_FernL-1Ir1	R-kuo-2330_rbcL-aF R-kuo-2330_rbcL-1379R	©G-kuo-2330_FERmatKfEDR
<i>Ctenitis subglandulosa</i> (Hance) Ching	肋毛蕨	Kuo856	N	Kuo856_FernL1Ir1	r-kuo856_rbcLaF r-kuo856_rbcL1379R	K-kuo856_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris diffracta</i> (Bak.) C. Chr.	彎柄假複葉耳蕨	Kuo2345	F	F-kuo-2345_FernL-1Ir1	R-kuo-2345_rbcL-aF R-kuo-2345_rbcL-1379R	K-kuo-2345_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris formosana</i> (Christ) C. Chr.	臺灣鱗毛蕨	Kuo2526	F	F-kuo2526_FernL1Ir1	R-kuo2526_rbcLaF R-kuo2526_rbcL1379R	K-kuo2526_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris hasseltii</i> (Blume) C. Chr.	假複葉耳蕨	Kuo2370	F	F-kuo-2370_FernL-1Ir1	R-kuo-2370_rbcL-aF R-kuo-2370_rbcL-1379R	K-kuo-2370_FERmatKfEDR

<i>Dryopteris hasseltii</i> (Blume) C. Chr.	假複葉耳蕨	Kuo944	N	A944_FernL1Ir1	r-kuo944_rbcLaF r-kuo944_rbcL1379R	◎086_F12_K944_FERmatK-fEDR
<i>Dryopteris intergriloba</i> C. Chr.	紅苞蓬萊鱗毛蕨	Kuo3790	L	031_A03_F3790_FernL1Ir1	080_A10_r3790_rbcLF1F 078_B10_r3790_rbcL1379R	088_E12_K3790_FERmatK-fEDR
<i>Dryopteris paleolata</i> (Pic. Serm.) Li Bing Zhang	魚鱗蕨	Kuo2333	F	kuo2333_FernL-1Ir1	R-kuo-2333_rbcL-aF R-kuo-2333_rbcL-1379R	G-kuo-2333_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris polita</i> Rosenst.	臺東鱗毛蕨	Kuo941	N	f-Kuo941_FernL1Ir1	r-kuo941_rbcLaF r-kuo941_rbcL1379R	K-kuo941_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris polita</i> Rosenst.	臺東鱗毛蕨	Kuo2424	L	F-kuo2424_FernL-1Ir1	R-kuo2424_rbcL-aF R-kuo2424_rbcL-1379R	◎K-kuo2424_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris polita</i> Rosenst.	臺東鱗毛蕨	Kuo2321	F	kuo2321_FernL-1Ir1	R-kuo-2321_rbcL-aF R-kuo-2321_rbcL-1379R	◎G-kuo-2321_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris sordidipes</i> Tagawa	落鱗鱗毛蕨	Kuo2450	L	F-kuo2450_FernL-1Ir1	R-kuo2450_rbcL-aF R-kuo2450_rbcL-1379R	K-kuo2450_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris sparsa</i> (Don) Ktze.	長葉鱗毛蕨	Kuo2297	F	kuo2297_FernL-1Ir1	R-kuo-2297_rbcL-aF R-kuo-2298_rbcL-1379R	K-kuo-2297_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris sparsa</i> (Don) Ktze.	長葉鱗毛蕨	Kuo862	N	Kuo862_FernL1Ir1	r-kuo862_rbcLaF r-kuo862_rbcL1379R	K-kuo862_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris subexaltata</i> (Christ) C. Chr.	早田氏鱗毛蕨	Kuo883	N	Kuo883_FernL1Ir1	r-kuo883_rbcLaF r-kuo883_rbcL1379R	K-kuo883_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris subtriangularis</i> (Hope) C. Chr.	疏葉鱗毛蕨	Kuo2505	F	F-kuo2505_FernL1Ir1	R-kuo2505_rbcLaF R-kuo2505_rbcL1379R	K-kuo2505_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris tenuipes</i> (Rosenst.) Serizawa	落葉鱗毛蕨	Kuo2354	F	F-kuo-2354_FernL-1Ir1	R-kuo-2354_rbcL-aF R-kuo-2354_rbcL-1379R	K-kuo-2354_FERmatKfEDR
<i>Dryopteris varia</i> (L.) Ktze.	南海鱗毛蕨	Kuo3378	L	020_G04_F3378_FernL1Ir1	052_G08_r3378_rbcLF1F 050_H08_r3378_rbcL1379R	094_B12_K3378_FERmatK-fEDR
<i>Elaphoglossum callifolium</i> (Bl.) Moore	銳頭舌蕨	Kuo937	N	f-Kuo937_FernL1Ir1	r-kuo937_rbcLaF	K-kuo937_FERmatKfEDR



<i>Elaphoglossum yoshinagae</i> (Yatabe) Makino	舌蕨	Kuo2344	F	F-kuo2444_FernL-1Ir1	r-kuo937_rbcL1379R R-kuo-2344_rbcL-aF R-kuo-2344_rbcL-1379R	G-kuo-2344_FERmatKfEDR
<i>Pleocnemia rufinervis</i> (Hayata) Nakai	網脈突齒蕨	Kuo2303	F	F-kuo-2303_FernL-1Ir1	R-kuo-2303_rbcL-aF R-kuo-2303_rbcL-1379R	G-kuo-2303_FERmatKfEDR
<i>Pleocnemia rufinervis</i> (Hayata) Nakai	網脈突齒蕨	Kuo2417	L	F-kuo2417_FernL-1Ir1	R-kuo2417_rbcL-aF R-kuo2417_rbcL-1379R	dry-K-kuo2417_FERmatKfEDR
<i>Pleocnemia rufinervis</i> (Hayata) Nakai	網脈突齒蕨	Kuo943	N	f-Kuo943_FernL1Ir1	r-kuo943_rbcLaF r-kuo944_rbcL1379R	G-kuo943_FERmatKfEDR
<i>Polystichum eximium</i> (Mett. ex Kuhn) C. Chr.	阿里山耳蕨	Kuo2814	F	047_A05_F2814_FernL1Ir1	038_F06_r2814_rbcLF1F 050_H08_r2814_rbcL1379R	055_E07_K2814_FERmatK-fEDR
<i>Polystichum falcatum</i> (L.f.) Diels	全緣貫眾蕨	Kuo2512	F	F-kuo2512_FernL1Ir1	R-kuo2512_rbcLaF R-kuo2512_rbcL1379R	K-kuo2512_FERmatKfEDR
<i>Polystichum hancockii</i> (Hance) Diels	韓氏耳蕨	Kuo2327	F	kuo2327_FernL-1Ir1	RKuo2327_rbcLaF RKuo2327_rbcL1379R	G-kuo-2327_FERmatKfEDR
<i>Polystichum hookerianum</i> (C. Presl) C. Chr.	狹葉貫眾蕨	Kuo2515	F	F-kuo2515_FernL1Ir1	R-kuo2515_rbcLaF R-kuo2515_rbcL1379R	©K-kuo2515_FERmatKfEDR

Equisetaceae

<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	木賊	Kuo965	N	F-kuo965_FernL1Ir1	R-kuo965_rbcLaF R-kuo965_rbcL1379R	no
-------------------------------------	----	--------	---	--------------------	---------------------------------------	----

Gleicheniaceae

<i>Dicranopteris linearis</i> (Burm. f.) Under.	芒萁	Kuo2504	F	no	no	K-kuo2504_FERmatKfEDR
<i>Dicranopteris tetraphylla</i> (Rosenst.) C. M. Kuo	蔓芒萁	Kuo2369	F	KUO2369_trnF kuo2369_FernL-1Ir1	R-kuo-2369_rbcL-aF R-kuo-2369_rbcL-1379R	K-kuo-2369_FERmatKfEDR
<i>Diplopterygium blotianum</i> (Rosenst.) DeVol	中華里白	Kuo2412	L	F-kuo2412_FernL-1Ir1	no	K-kuo2412_FERmatKfEDR
<i>Diplopterygium chinensis</i> (Rosenst.) DeVol	中華裏白	Kuo2301	F	kuo2301_FernL-1Ir1	R-kuo-2301_rbcL-aF R-kuo-2301_rbcL-1379R	K-kuo-2301_FERmatKfEDR

<i>Diplazium glaucum</i> (Houtt.) Nakai	裏白	Kuo2508	F	F-kuo2508_FernL1Ir1	no	K-kuo2508_FERmatKfEDR
Hymenophyllaceae						
<i>Abrodictyum obscurum</i> (Blume) Ebihara et K. Iwats.	線片長桶蕨	Kuo959	N	F-kuo959_FernL1Ir1	R-kuo959_rbcLaF R-kuo959_rbcL1379R	◎054_F08_D959_FERmatK-rAGK
<i>Abrodictyum obscurum</i> (Blume) Ebihara et K. Iwats.	線片長筒蕨	Kuo2320	F	kuo2320_FernL-1Ir1	R-kuo-2320_rbcL-aF R-kuo-2320_rbcL-1379R	◎P-kuo-2320_LbmatkfDAP
<i>Abrodictyum obscurum</i> (Blume) Ebihara et K. Iwats.	線片長桶蕨	Kuo3355	L	004_G02_F3355_FernL1Ir1	007_E01_r3335_rbcLF1F 005_F01_r3335_rbcL1379R	◎054_F08_K3335_FERmatK-fEDR
<i>Callistopteris apiifolia</i> (Presl.) Copel.	毛桿蕨	Kuo919	N	f-Kuo919_FernL1Ir1	r-kuo919_rbcLaF r-kuo919_rbcL1379R	no
<i>Cephalomanes javanicum</i> (Bl.) v. d. Bosch var. <i>asplenioides</i> (C. Chr.) K. Iwats.	菲律賓厚葉蕨	Kuo894	N	f-Kuo894_FernL1Ir1	r-kuo894_rbcLaF r-kuo894_rbcL1379R	K-kuo894_FERmatKfEDR
<i>Crepidomanes grande</i> (Copeland) Ebihara & K. Iwatsuki	球桿毛蕨	Kuo882	N	057_D07_R882_rbcF1F 044_C06_F882_FernL1Ir1	no	no
<i>Crepidomanes humilis</i> (Forst.) v. d. Bosch	厚邊蕨	Kuo873	N	Kuo873_FernL1Ir1	r-kuo873_rbcLaF r-kuo873_rbcL1379R	◎*
<i>Crepidomanes late-alatum</i> (v. d. Bosch) Copel.	翅柄假脈蕨	Kuo920	N	f-Kuo920_FernL1Ir1	r-kuo920_rbcLaF r-kuo920_rbcL1379R	K-kuo920_FERmatKfEDR
<i>Crepidomanes late-alatum</i> (v. d. Bosch) Copel.	翅柄假脈蕨	Kuo2513	F	F-kuo2513_FernL1Ir1	R-kuo2513_rbcLaF R-kuo2513_rbcL1379R	P-kuo2513_FERmatKrAGK
<i>Crepidomanes minutum</i> (Bl.) K. Iwats.	團扇蕨	Kuo2379	F	kuo2379_FernL-1Ir1	R-kuo-2379_rbcL-aF R-kuo-2379_rbcL-1379R	K-kuo2379_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum badium</i> Hook. & Grev.	蔴蕨	kuo3949	F	A3949_FernL1Ir1	r3949_rbcLF1F r3949_rbcL1379R	B3949_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum barbatum</i> (v. d. Bosch) Bak.	華東膜蕨	Kuo2329	F	KUO2329_trnF kuo2329_FernL-1Ir1	R-kuo-2329_rbcL-aF R-kuo-2329_rbcL-1379R	K-kuo-2329_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum blandum</i> Racib.	爪哇厚壁蕨	Kuo2377	F	kuo2377_FernL-1Ir1	R-kuo-2377_rbcL-aF	◎K-kuo-2377_FERmatKfEDR



<i>Hymenophyllum demissum</i> (v. d. Bosch) C. Chr.	南洋厚壁蕨	Kuo2831	F	072_E10_kuo2831_FernL1Ir1	R-kuo-2377_rbcL-1379R 064_A08_r2831_rbcLF1F R-kuo-2381_rbcL-1379R	K-kuo-2381_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum denticulatum</i> Sw.	厚壁蕨	Kuo2375	F	kuo2375_FernL-1Ir1	R-kuo-2375_rbcL-aF	K-kuo-2375_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum denticulatum</i> Sw.	厚壁蕨	Kuo872	N	Kuo872_FernL1Ir1	r-kuo872_rbcLaF r-kuo872_rbcL1379R	K-kuo872_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum oligosorum</i> Makino	長毛蕨	Kuo2378	F	KUO2378_trnF kuo2378_FernL-1Ir1	R-kuo-2378_rbcL-aF R-kuo-2378_rbcL-1379R	K-kuo-2378_FERmatKfEDR
<i>Hymenophyllum polyanthos</i> (Sw.) Sw.	細葉蕨	Kuo2331	F	kuo2331_FernL-1Ir1	R-kuo-2331_rbcL-aF R-kuo-2331_rbcL-1379R	K-kuo-2331_FERmatKfEDR
<i>Vandenboschia auriculata</i> (Blume) Copel.	瓶蕨	Kuo2436	L	F-kuo2436_FernL-1Ir1	R-kuo2436_rbcL-aF R-kuo2436_rbcL-1379R	P-kuo2436_FERmatKrAGK
<i>Vandenboschia auriculata</i> (Blume) Copel.	瓶蕨	Kuo2342	F	no	R-kuo-2342_rbcL-aF R-kuo-2342_rbcL-1379R	©P-kuo-2342_Lb-matK-fDAP P-kuo-2342_FERmatKrAGK
<i>Vandenboschia birmanica</i> (Bedd.) Ching	管苞瓶蕨	Kuo2308	F	kuo2308_FernL-1Ir1	R-kuo-2308_rbcL-aF R-kuo-2308_rbcL-1379R	K-kuo-2308_FERmatKfEDR
<i>Vandenboschia maxima</i> (Bl.) Copel.	大葉瓶蕨	Kuo893	N	f-Kuo893_FernL1Ir1	r-kuo893_rbcLaF r-kuo893_rbcL1379R	K-kuo893_FERmatKfEDR

Lindsaeaceae

<i>Lindsaea chienii</i> Ching	錢氏陵齒蕨	Kuo2828	F	078_B10_kuo2828_FernL1Ir1	053_F07_r2828_rbcLF1F 065_H09_r2828_rbcL1379R	©089_D11_N2828_FERmatK-fEDR
<i>Lindsaea chienii</i> Ching	錢氏陵齒蕨	Kuo3334	L	074_D10_F3334_FernL1Ir1	011_C01_r3334_rbcLF1F 009_D01_r3334_rbcL1379R	©088_E12_N3334_FERmatK-fEDR
<i>Lindsaea ensifolia</i> Sw.	箭葉陵始蕨	Kuo902	N	f-Kuo902_FernL1Ir1	r-kuo902_rbcLaF r-kuo902_rbcL1379R	©D-kuo902_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea heterophylla</i> Dry.	異葉鱗始蕨	Kuo898	N	f-Kuo898_FernL1Ir1	r-kuo898_rbcLaF r-kuo898_rbcL1379R	©D-kuo898_FERmatKfEDR

<i>Lindsaea japonica</i> (Baker) Lehtonen et Christenhusz	日本鱗始蕨	Kuo2823	F	035_G05_F2823_FernL11r1	059_C07_r2823_rbcLF1F 071_E09_r2823_rbcL1379R	◎E2823_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea javanensis</i> Bl.	爪哇陵齒蕨	Kuo2336	F	kuo2336_FernL-11r1	R-kuo-2336_rbcL-aF R-kuo-2336_rbcL-1379R	◎N-kuo-2336_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea lucida</i> Bl.	方柄鱗始蕨	Kuo908	N	f-Kuo908_FernL11r1	r-kuo908_rbcLaF r-kuo908_rbcL1379R	◎D-kuo908_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea merrillii</i> Copel. var. <i>yaeyamensis</i> (Tagawa) Kramer	攀緣鱗始蕨	Kuo879	N	Kou879_FernL11r1	r-kuo879_rbcLaF r-kuo879_rbcL1379R	◎D-kuo879_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea obtuse</i> J. Sm.	鈍齒鱗始蕨	Kuo886	N	Kou886_FernL11r1	r-kuo886_rbcLaF r-kuo886_rbcL1379R	◎D-kuo886_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea orbiculata</i> (Lam.) Mett. ex Kuhn var. <i>commixta</i> (Tagawa) Shieh	圓葉鱗始蕨	Kuo897	N	f-Kuo897_FernL11r1	r-kuo897_rbcL1379R	◎D-kuo897_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea orbiculata</i> (Lam.) Mett. ex Kuhn var. <i>orbiculata</i>	圓葉鱗始蕨	Kuo2439	L	F-kuo2439_FernL-11r1	R-kuo2439_rbcL-aF R-kuo2439_rbcL-1379R	◎D-kuo2439_FERmatKfEDR
<i>Lindsaea orbiculata</i> (Lam.) Mett. ex Kuhn var. <i>orbiculata</i>	圓葉鱗始蕨	Kuo900	N	f-Kuo900_FernL11r1	r-kuo900_rbcLaF r-kuo900_rbcL1379R	◎D-kuo900_FERmatKfEDR
<i>Sphenomeris biflora</i> (Kaulf.) Tagawa	闊片烏蕨	Kuo890	N	Kou890_FernL11r1	no	no
<i>Sphenomeris chusana</i> (L.) Copel.	烏蕨	Kuo2389	F	kuo2389_FernL-11r1	no	no
<i>Sphenomeris chusana</i> (L.) Copel.	烏蕨	Kuo899	N	f-Kuo899_FernL11r1	no	◎K-kuo889_FERmatKfEDR
<i>Sphenomeris chusana</i> (L.) Copel.	烏蕨	Kuo3345	L	083_G11_F3345_FernL11r1	no	no
<i>Tapeinidium pinnatum</i> (Cav.) C. Chr.	達邊蕨	Kuo887	N	Kou887_FernL11r1	r-kuo887_rbcLaF	◎D-kuo887_FERmatKfEDR
Lomariopsidaceae						
<i>Lomariopsis specabilis</i> (Hook.) Moore	羅蔓藤蕨	Kuo976	N	F-kuo976_FernL11r1	R-kuo976_rbcLaF R-kuo976_rbcL1379R	K-kuo976_FERmatKfEDR
<i>Lomariopsis specabilis</i> (Kze.) Mett.	羅蔓藤蕨	Kuo2423	L	F-kuo2423_FernL-11r1	R-kuo2423_rbcL-aF R-kuo2423_rbcL-1379R	K-kuo2423_FERmatKfEDR

Lygodiaceae

<i>Lygodium japonicum</i> (Thunb.) Sw.	海金沙	Kuo3351	L	090_D12_F3351_FernL1Ir1	020_G04_r3351_rbcLF1F 018_H04_r3351_rbcL1379R	} 076_C10_K3351_FERmatK-fEDR
<i>Lygodium microphyllum</i> (Cav.) R. Brown	小葉海金沙	Kuo904	N	f-Kuo904_FernL-1Ir1	no	} K-kuo904_FERmatKfEDR

Marattiaceae

<i>Angiopteris lygodiifolia</i> Rosenst.	觀音座蓮	Kuo2413	L	F-kuo2413_FernL-1Ir1	R-kuo2413_rbcL-aF R-kuo2413_rbcL-1379R	} K-kuo2413_FERmatKfEDR
<i>Angiopteris somae</i> (Hayata) Makino & Nemoto	臺灣原始觀音座蓮	Kuo3358	L	029_B03_F3358_FernL1Ir1	no	} 070_F10_K3358_FERmatK-fEDR

Nephrolepidaceae

<i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.) Schott.	長葉腎蕨	Kuo946	N	f-Kuo946_FernL1Ir1	r-kuo946_rbcLaF r-kuo946_rbcL1379R	} K-kuo946_FERmatKfEDR
<i>Nephrolepis cordifolia</i> (Linn.) Presl	腎蕨	Kuo2434	L	F-kuo2434_FernL-1Ir1	R-kuo2434_rbcL-aF R-kuo2434_rbcL-1379R	} K-kuo2434_FERmatKfEDR
<i>Nephrolepis cordifolia</i> (Linn.) Presl	腎蕨	Kuo2350	F	kuo2350_FernL-1Ir1	R-kuo-2350_rbcL-aF R-kuo2500_rbcL1379R	} K-kuo-2350_FERmatkfEDR

Ophioglossaceae

<i>Ophioglossum pendulum</i> L.	帶狀瓶爾小草	Kuo2392	F	kuo2392_FernL-1Ir1	no	no
<i>Ophioglossum pendulum</i> L.	帶狀瓶爾小草	Kuo940	N	f-kuo940_FernL1Ir1	r-kuo940_rbcLaF r-kuo940_rbcL1379R	no

Plagiogyriaceae

<i>Plagiogyria dunnii</i> Copel.	倒葉瘤足蕨	Kuo2334	F	kuo2334_FernL-1Ir1	R-kuo-2334_rbcL-aF R-kuo-2334_rbcL-1379R	} K-kuo-2334_FERmatKfEDR
<i>Plagiogyria euphlebia</i> (Kunze) Mett.	華中瘤足蕨	Kuo2521	F	F-kuo2521_FernL1Ir1	R-kuo2521_rbcLaF R-kuo2521_rbcL1379R	} K-kuo2521_FERmatKfEDR
<i>Plagiogyria rankanensis</i> Hayata	瘤足蕨	Kuo2335	F	kuo2335_FernL-1Ir1	R-kuo-2335_rbcL-aF R-kuo-2335_rbcL-1379R	} K-kuo-2335_FERmatKfEDR

<i>Plagiogyria stenoptera</i> (Hance) Diels	耳形瘤足蕨	Kuo2516	F	F-kuo2516_FernL1Ir1	R-kuo2516_rbcLaF R-kuo2516_rbcL1379R	K-kuo2516_FERmatKfEDR
---	-------	---------	---	---------------------	---	-----------------------

Polypodiaceae

<i>Aglaomorpha coronans</i> (Wall. ex Hook.) Copel.	崖薑蕨	Kuo2387	F	kuo2387_FernL-1Ir1	R-kuo-2387_rbcL-aF R-kuo-2387_rbcL-1379R	no
<i>Aglaomorpha coronans</i> (Wall. ex Hook.) Copel.	崖薑蕨	Kuo2441	L	F-kuo2441_FernL-1Ir1	R-kuo2441_rbcL-aF R-kuo2441_rbcL-1379R	
<i>Aglaomorpha meyeniana</i> Schott	連珠蕨	Kuo938	N	f-Kuo938_FernL1Ir1	r-kuo938_rbcLaF r-kuo938_rbcL1379R	no
<i>Arthromeris lehmannii</i> (Mett.) Ching	肢節蕨	Kuo2519	F	F-kuo2519_FernL1Ir1	R-kuo2519_rbcLaF R-kuo2519_rbcL1379R	©G-kuo2519_FERmatKfEDR
<i>Colysis elliptica</i> (Thunb.) Ching	橢圓線蕨	Kuo2452	L	F-kuo2452_FernL-1Ir1	no	©G-kuo2452_FERmatKfEDR
<i>Colysis elliptica</i> (Thunb.) Ching	橢圓線蕨	Kuo945	N	F-kuo954_FernL1Ir1	R-kuo954_rbcLaF R-kuo954_rbcL1379R	©G-kuo945_FERmatKfEDR
<i>Colysis hemionitidea</i> (Wall. ex C. Presl) C. Presl	線片長桶蕨	Kuo3382	L	043_C05_F3382_FernL1Ir1	071_E09_r3382_rbcLF1F 069_F09_r3382_rbcL1379R	no
<i>Colysis wrightii</i> (Hook.) Ching	萊氏線蕨	Kuo3352	L	088_E12_F3352_FernL1Ir1	047_A05_r3352_rbcLF1F 045_B05_r3352_rbcL1379R	©094_B12_G3352_FERmatK-fEDR
<i>Colysis wrightii</i> (Hook.) Ching	萊氏線蕨	Kuo950	N	F-kuo950_FernL1Ir1	r-kuo950_rbcLaF r-kuo950_rbcL1379R	©G-kuo950_FERmatKfEDR
<i>Goniophlebium argutum</i> (Wall.) J. Sm.	擬水龍骨	Kuo2818	F	059_C07_F2818_trnF 039_E05_F2818_FernL1Ir1	053_F07_r2828_rbcLF1F 065_H09_r2828_rbcL1379R	052_G08_G2818_FERmatK-fEDR
<i>Goniophlebium formosanum</i> (Baker) Rodl-Linder	臺灣水龍骨	Kuo2360	F	kuo2360_FernL-1Ir1	R-kuo-2360_rbcL-aF R-kuo-2360_rbcL-1379R	©087_E11_G2360_FERmatK
<i>Goniophlebium niponicum</i> (Mett.) Bedd.	大葉水龍骨	Kuo2371	F	F-kuo-2371_FernL-1Ir1	R-kuo-2371_rbcL-aF R-kuo-2371_rbcL-1379R	©G-kuo-2371_FERmatKfEDR
<i>Lemmaphyllum microphyllum</i> C. Presl	伏石蕨	Kuo2310	F	KUO2310_trnF 68	RKuo2310_rbcLaF	©G-kuo-2310_FERmatKfEDR



				Kuo2310_FernL-1Ir1	RKuo2310_rbcL1379R	
<i>Lemmaphyllum microphyllum</i> C. Presl	伏石蕨	Kuo870	N	Kuo870_FernL1Ir1	r-kuo870_rbcLaF r-kuo870_rbcL1379R	©G-kuo870_FERmatKfEDR
<i>Lepidomicrosorium superficiale</i>	波氏星蕨	Kuo2361	F	kuo2361_FernL-1Ir1	R-kuo-2361_rbcL-aF R-kuo-2361_rbcL-1379R	©G-kuo-2361_FERmatKfEDR
<i>Lepidomicrosorium superficiale</i>	波氏星蕨	Kuo935	N	f-Kuo935_FernL1Ir1	r-kuo935_rbcLaF r-kuo935_rbcL1379R	©G-kuo935_FERmatfEDR
<i>Lepisorus monilisorus</i> (Blume) Li Wang	擬芟瓦葦	Kuo2374	F	F-kuo-2374_FernL-1Ir1	R-kuo-2374_rbcL-aF R-kuo-2374_rbcL-1379R	©G-kuo-2374_FERmatKfEDR
<i>Lepisorus monilisorus</i> (Blume) Li Wang	擬芟瓦葦	Kuo869	N	Kuo869_FernL1Ir1	r-kuo869_rbcLaF r-kuo869_rbcL1379R	no
<i>Lepisorus obscure-venulosus</i> (Hayata) Ching	粵瓦葦	Kuo2518	F	F-kuo2518_FernL1Ir1	R-kuo2518_rbcLaF R-kuo2518_rbcL1379R	G-kuo2518_FERmatKfEDR
<i>Lepisorus thunbergianus</i> (Kaulf.) Ching	瓦葦	Kuo2418	L	F-kuo2418_FernL-1Ir1	R-kuo2418_rbcL-aF R-kuo2418_rbcL-1379R	no
<i>Loxogramme salicifolia</i> (Makino) Makino	柳葉劍蕨	Kuo2362	F	KUO2362_trnF kuo2362_FernL-1Ir1	F-kuo-2362_rbcL-aF F-kuo-2362_rbcL-1379R	no
<i>Loxogramme salicifolia</i> (Makino) Makino	柳葉劍蕨	Kuo865	N	Kuo865_FernL1Ir1	r-kuo865_rbcLaF r-kuo865_rbcL1379R	no
<i>Microsorium dilatatum</i> (Beddome) Sledge	箭葉星蕨	Kuo962	N	063_A07_F962_trnF F-kuo962_FernL1Ir1	R-kuo962_rbcLaF R-kuo962_rbcL1379R	©G-kuo962_FERmatKfEDR
<i>Microsorium membranaceum</i> (Don) Ching	膜葉星蕨	Kuo2395	F	KUO2395_trnF kuo2395_FernL-1Ir1	R-kuo-2395_rbcL-aF R-kuo-2395_rbcL-1379R	©G-kuo-2395_FERmatKfEDR
<i>Micropolypodium okuboi</i> (Yatabe) Hayata	梳葉蕨	Kuo2524	F	F-kuo2524_FernL1Ir1	R-kuo2452_rbcL-aF R-kuo2452_rbcL-1379R	no
<i>Microsorium punctatum</i> (L.) Copel.	星蕨	Kuo2447	L	F-kuo2447_FernL-1Ir1	no	©K-kuo2447_FERmatKfEDR
<i>Microsorium punctatum</i> (L.) Copel.	星蕨	Kuo933	N	f-Kuo933_FernL1Ir1	r-kuo933_rbcLaF	©G-kuo933_FERmatKfEDR

<i>Neolepisorus fortunei</i> (T.Moore) Li Wang	大星蕨	Kuo2385	F	F-kuo-2385_FernL-1Ir1	r-kuo933_rbcL1379R R-kuo-2385_rbcL-aF R-kuo-2385_rbcL-1379R	no
<i>Prosaptia contigua</i> (G. Forst.) C. Presl	穴子蕨	Kuo2355	F	kuo2355_FernL-1Ir1	R-kuo-2355_rbcL-aF R-kuo-2355_rbcL-1379R	no
<i>Prosaptia obliquata</i> (Blume) Mettenius	密毛蒿蕨	Kuo2356	F	kuo2356_FernL-1Ir1	R-kuo-2356_rbcL-aF R-kuo-2356_rbcL-1379R	no
<i>Pyrrosia adnascens</i> (Sw.) Ching	抱樹石蕨	Kuo954	N	F-kuo954_FernL1Ir1	R-kuo954_rbcLaF R-kuo954_rbcL1379R	no
<i>Pyrrosia lingua</i> (Thunb.) Farw.	石蕨	Kuo2337	F	F-kuo-2337_FernL-1Ir1	R-kuo-2337_rbcL-aF R-kuo-2337_rbcL-1379R	©G-kuo-2337_FERmatKfEDR
<i>Selliguea engleri</i> (Lueress.) Fraser-Jenkins	恩氏蕨	Kuo2522	F	F-kuo2522_FernL1Ir1	R-kuo2521_rbcLaF R-kuo2522_rbcL1379R	G-kuo2522_FERmatKfEDR
<i>Selliguea palmatus</i> (Bl.)	掌葉蕨	Kuo866	N	Kuo866_FernL1Ir1	r-kuo866_rbcLaF r-kuo866_rbcL1379R	©K-kuo866_FERmatKfEDR
<i>Scleroglossum pusillum</i> (Bl.) v. A. v. R.	革舌蕨	Kuo2506	F	F-kuo2506_FernL1Ir1	R-kuo2506_rbcLaF R-kuo2506_rbcL1379R	no



Psilotaceae

<i>Psilotum nudum</i> (L.) P. Beauv.	松葉蕨	Kuo2366	F	kuo2366_FernL-1Ir1	R-kuo-2366_rbcL-aF R-kuo-2366_rbcL-1379R	Kkuo2366_FERmatKfEDR
--------------------------------------	-----	---------	---	--------------------	---	----------------------

Pteridaceae

<i>Adiantum flabellulatum</i> L.	扇葉鐵線蕨	Kuo3377	L	022_F04_F3377_FernL1Ir1	056_E08_r3377_rbcLF1F 054_F08_r3377_rbcL1379R	096_A12_K3377_FERmatK-fEDR
<i>Antrophyum callifolium</i> Blume	美葉車前蕨	Kuo928	N	f-Kuo928_FernL1Ir1	r-kuo928_rbcLaF r-kuo928_rbcL1379R	no
<i>Haplopteris anguste-elongata</i> (Hayata) E. H. Crane	姬書帶蕨	Kuo2324	F	kuo2324_FernL-1Ir1	R-kuo-2324_rbcL-aF R-kuo-2324_rbcL-1379R	K-kuo-2324_FERmatKfEDR

<i>Haplopteris elongata</i> (Sw.) E. H. Crane	垂葉書帶蕨	Kuo2365	F	kuo2365_FernL-1Ir1	R-kuo-2365_rbcL-aF R-kuo-2365_rbcL-1379R	K-kuo-2365_FERmatKfEDR
<i>Haplopteris elongata</i> (Sw.) E. H. Crane	垂葉書帶蕨	Kuo3337	L	068_G10_F3337_FernL1Ir1	015_A01_r3333_rbcLF1F 014_B02_r3337_rbcL1379R	066_H10_K3337_FERmatK-fEDR
<i>Haplopteris ensiformis</i> (Sw.) E. H. Crane	劍葉書帶蕨	Kuo903	N	f-Kuo903_FernL1Ir1	r-kuo903_rbcLaF r-kuo903_rbcL1379R	no
<i>Haplopteris flexuosa</i> (F'ee) E. H. Crane	書帶蕨	Kuo2364	F	F-kuo-2364_FernL-1Ir1	R-kuo-2364_rbcL-aF R-kuo-2364_rbcL-1379R	Kkuo2364_FERmatKfEDR
<i>Pteris amoena</i> Blume	鈴木氏鳳尾蕨	Kuo2502	F	F-kuo2502_FernL1Ir1	R-kuo2502_rbcLaF R-kuo2502_rbcL1379R	K-kuo2502_FERmatKfEDR
<i>Pteris arisanensis</i> Tagawa	阿里山鳳尾蕨	Kuo3354	L	006_F02_F3354_FernL1Ir1	043_C05_r3354_rbcLF1F 041_D05_r3354_rbcL1379R	074_D10_K3354_FERmatK-fEDR
<i>Pteris bella</i> Tagawa	長柄鳳尾蕨	Kuo2373	F	kuo2373_FernL-1Ir1	R-kuo-2373_rbcL-aF R-kuo-2373_rbcL-1379R	*
<i>Pteris biaurita</i> L.	弧脈鳳尾蕨	Kuo3344	L	085_F11_F3344_FernL1Ir1	023_E03_r3344_rbcLF1F 021_F03_r3344_rbcL1379R	069_F09_K3344_FERmatK-fEDR
<i>Pteris cadieri</i> Christ	二形鳳尾蕨	Kuo892	N	f-Kuo892_FernL1Ir1	r-kuo892_rbcLaF	K-kuo892_FERmatKfEDR
<i>Pteris ensiformis</i> Burm.	箭葉鳳尾蕨	Kuo2419	L	F-kuo2419_FernL-1Ir1	R-kuo2419_rbcL-aF R-kuo2419_rbcL-1379R	K-kuo2419_FERmatKfEDR
<i>Pteris fauriei</i> Hieron.	傅氏鳳尾蕨	Kuo934	N	f-Kuo934_FernL1Ir1	r-kuo934_rbcLaF 064_A08_R934_rbcL1379R	K-kuo934_FERmatKfEDR
<i>Pteris fauriei</i> Hieron.	傅氏鳳尾蕨	Kuo2322	F	kuo2322_FernL-1Ir1	R-kuo-2332_rbcL-aF R-kuo-2332_rbcL-1379R	K-kuo-2332_FERmatKfEDR
<i>Pteris grevilleana</i> Wall. ex J. Agardh	翅柄鳳尾蕨	Kuo2421	L	F-kuo2421_FernL-1Ir1	R-kuo2421_rbcL-Af R-kuo2421_rbcL-1379R	K-kuo2421_FERmatKfEDR
<i>Pteris grevilleana</i> Wall. ex J. Agardh	翅柄鳳尾蕨	Kuo864	N	Kuo864_FernL1Ir1	r-kuo864_rbcLaF r-kuo864_rbcL1379R	K-kuo864_FERmatKfEDR

<i>Pteris longipes</i> Don	蓬萊鳳尾蕨	Kuo3349	L	094_B12_F3349_FernL1lr1	028_C04_r3349_rbcLF1F 026_D04_r3349_rbcL1379R	} 080_A10_K3349_FERmatK-fEDR
<i>Pteris multifida</i> Poir.	鳳尾蕨	Kuo3704	F	068_G10_kuo3704_FernL1lr1	062_B08_r3704_rbcLF1F 074_D10_r3704_rbcL1379R	} 056_E08_K3704_FERmatK-fEDR
<i>Pteris plumbea</i> Christ	廣東鳳尾蕨	Kuo3341	L	091_C11_F3341_FernL1lr1	004_G02_r3341_rbcLF1F 002_H02_r3341_rbcL1379R	} 075_C09_K3341_FERmatK-fEDR
<i>Pteris semipinnata</i> L.	半邊羽裂鳳尾蕨	Kuo2428	L	F-kuo2448_FernL-1lr1	R-kuo2448_rbcL-aF R-kuo2448_rbcL-1379R	} K-kuo-2348_FERmatKfEDR
<i>Pteris semipinnata</i> L.	半邊羽裂鳳尾蕨	Kuo955	N	F-kuo955_FernL1lr1	R-kuo955_rbcLaF R-kuo955_rbcL1379R	} K-kuo955_FERmatKfEDR
<i>Pteris setuloso-costulata</i> Hayata	有刺鳳尾蕨	Kuo2517	F	F-kuo2517_FernL1lr1	R-kuo2517_rbcLaF R-kuo2517_rbcL1379R	} K-kuo2517_FERmatKfEDR
<i>Pteris vittata</i> L.	鱗蓋鳳尾蕨	Kuo2420	L	F-kuo2420_FernL-1lr1	R-kuo2420_rbcL-aF R-kuo2420_rbcL-1379R	} K-kuo2420_FERmatKfEDR
<i>Pteris wallichiana</i> Ag.	瓦氏鳳尾蕨	Kuo2810	F	067_G09_kuo2810_FernL1lr1	042_D06_r2810_rbcLF1F 054_F08_r2810_rbcL1379R	} 059_C07_K2810_FERmatK-fEDR

Tectariaceae

<i>Tectaria coadunata</i> (Wall.) C. Chr.	觀音三叉蕨	Kuo3366	L	019_G03_F3366_FernL1lr1	036_G06_r3366_rbcLF1F 001_H01_r3336_rbcL1379R	} ☉090_D12_G3366_FERmatK-fEDR
<i>Tectaria decurrens</i> (Hook.) Sledge	沙皮蕨	Kuo3374	L	026_D04_F3374_FernL1lr1	no	083_G11_K3374_FERmatK-fEDR
<i>Tectaria kusukusensis</i> (Hayata) Lellinger	高士佛三叉蕨	Kuo3357	L	031_A03_F3357_FernL1lr1	046_B06_r3357_rbcLF1F 046_B06_r3357_rbcL1379R	} ☉071_E09_G3357_FERmatK-fEDR
<i>Tectaria phaeocaulis</i> (Rosenst.) C. Chr.	蛇脈三叉蕨	Kuo3369	L	017_H03_F3369_FernL1lr1	059_C07_r3369_rbcLF1F 058_D08_r3375_rbcL1379R	} ☉065_H09_G3369_FERmatK-fEDR
<i>Tectaria simonsii</i> (Bedd) Ching	紫柄三叉蕨	Kuo3333	L	076_C10_F3333_FernL1lr1	016_A02_r3337_rbcLF1F 048_A06_r3333_rbcL1379R	} 077_B09_G3333_FERmatK-fEDR

<i>Tectaria yunnanensis</i> (Bak.) Ching	雲南三叉蕨	Kuo2332	F	kuo2332_FernL-1Ir1	R-kuo-2332_rbcL-aF R-kuo-2332_rbcL-1379R	K-kuo-2332_FERmatKfEDR
Thelypteridaceae						
<i>Cyclosorus acuminatus</i> (Houtt.) Nakai ex H. Ito	小毛蕨	Kuo3380	L	047_A05_F3380_FernL1Ir1	075_C09_r3380_rbcLF1F 073_D09_r3380_rbcL1379R	092_C12_K3380_FERmatK-fEDR
<i>Cyclosorus cuspidatus</i> (Blume) C.M.Kuo	頂芽新月蕨	Kuo884	N	Kuo884_FernL1Ir1	r-kuo884_rbcLaF r-kuo884_rbcL1379R	K-kuo884_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus dentatus</i> (Forssk.) Ching	野小毛蕨	Kuo3347	L	096_A12_F3347_trnF 096_A12_F3347_FernL1Ir1	032_A04_r3347_rbcLF1F 030_B04_r3347_rbcL1379R	065_H09_K3347_FERmatK-fEDR
<i>Cyclosorus dentatus</i> (Forssk.) Ching	野小毛蕨	Kuo960	N	F-kuo960_FernL1Ir1	no	K-kuo960_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus ensifera</i> (Tagawa) K. Iwats	微縮毛蕨	Kuo961	N	F-kuo961_FernL1Ir1	no	no
<i>Cyclosorus esquirolii</i> (Christ) Ching	假毛蕨	kuo2384	F	A2384_trnF A2384_FernL1Ir1	R-kuo-2384_rbcL-aF R-kuo-2384_rbcL-1379R	B2384_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus esquirolii</i> (H. Christ) C. M. Kuo	假毛蕨	Kuo3372	L	090_D12_F3372_trnF 030_B04_F3372_FernL1Ir1	051_G07_r3372_rbcLF1F 050_H08_r3378_rbcL1379R	087_E11_K3372_FERmatK-fEDR
<i>Cyclosorus griffithii</i> (Moore) C. M. Kuo	聖蕨	Kuo2816	F	057_D07_F2816_trnF 043_C05_F2816_FernL1Ir1	036_G06_r2816_rbcLF1F 079_A09_r2816_rbcL1379R	051_G07_K2816_FERmatK-fEDR
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i> (Hayata)	大羽新月蕨	Kuo857	N	Kuo857_FernL1Ir1	r-kuo857_rbcLaF r-kuo857_rbcL1379R	K-kuo857_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus interruptus</i> (Willd.) H. Ito	毛蕨	Kuo901	N	f-Kuo901_FernL1Ir1	r-kuo900_rbcLaF r-kuo901_rbcL1379R	K-kuo901_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i> (K. Iwats.)	長柄新月蕨	Kuo931	N	f-Kuo931_FernL1Ir1	r-kuo931_rbcLaF r-kuo931_rbcL1379R	K-kuo931_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus megacuspis</i> (Baker) Tardieu & C. Chr.	微紅新月蕨	Kuo958	N	F-kuo958_FernL1Ir1	R-kuo958_rbcLaF R-kuo958_rbcL1379R	©H-kuo958_FERmatKrAGK
<i>Cyclosorus papilio</i> (Hope) Ching	縮羽小毛蕨	Kuo3367	L	029_B03_F3367_FernL1Ir1	063_A07_r3367_rbcLF1F 061_B07_r3367_rbcL1379R	091_C11_K3367_FERmatK-fEDR

<i>Cyclosorus parasiticus</i> (L.) Farw.	密毛小毛蕨	Kuo2442	L	F-kuo2442_FernL-1Ir1	R-kuo2442_rbcL-aF R-kuo2442_rbcL-1379R	K-kuo2442_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus taiwanensis</i> (C. Chr.) H. Ito	臺灣圓腺蕨	Kuo2383	F	F-kuo-2383_FernL-1Ir1	R-kuo-2383_rbcL-aF R-kuo-2383_rbcL-1379R	©H-kuo-2383_Eull-matK-fSIH H-kuo-2383_FERmatKrAGK
<i>Cyclosorus taiwanensis</i> (C. Chr.) H. Ito	臺灣圓腺蕨	Kuo2448	L	F-kuo2448_FernL-1Ir1	R-kuo2448_rbcL-aF R-kuo2448_rbcL-1379R	©K-kuo2448_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus taiwanensis</i> (C. Chr.) H. Ito	臺灣圓腺蕨	Kuo878	N	Kou878_FernL1Ir1	r-kuo878_rbcLaF r-kuo878_rbcL1379R	K-kuo878_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus triphyllum</i> (Sw.) Tardieu var. <i>parishii</i> (Bedd.) S. Linds.	羽葉新月蕨	Kuo932	N	f-Kuo932_FernL1Ir1	r-kuo932_rbcLaF r-kuo932_rbcL1379R	K-kuo932_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus triphyllus</i> (Sw.) Tard.-Blot	三葉新月蕨	Kuo2357	F	F-kuo-2357_FernL-1Ir1	R-kuo-2357_rbcL-aF R-kuo-2357_rbcL-1379R	K-kuo-2357_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus triphyllus</i> (Sw.) Tard.-Blot	三葉新月蕨	Kuo2422	L	F-kuo2442_FernL-1Ir1	R-kuo2422_rbcL-aF R-kuo2422_rbcL-1379R	©K-kuo2442_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus truncatus</i> (Poir.) Farwell	稀毛蕨	Kuo2305	F	kuo2305_FernL-1Ir1	R-kuo-2305_rbcL-aF R-kuo-2305_rbcL-1379R	©H-kuo-2305_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus truncatus</i> (Poir.) Farwell	稀毛蕨	Kuo2443	L	F-kuo2443_FernL-1Ir1	R-kuo2433_rbcL-aF R-kuo2433-1_rbcL-1379R	©H-kuo2443_FERmatKrAGK
<i>Cyclosorus truncatus</i> (Poir.) Farwell	稀毛蕨	Kuo963	N	F-kuo963_FernL1Ir1	R-kuo963_rbcLaF R-kuo963_rbcL1379R	no
<i>Cyclosorus wilfordii</i> (Hook.) nom. nud.	威氏聖蕨	Kuo2368	F	KUO2368_trnF kuo2368_FernL-1Ir1	R-kuo-2368_rbcL-aF R-kuo-2368_rbcL-1379R	K-kuo-2368_FERmatKfEDR
<i>Cyclosorus wilfordii</i> (Hook.) nom. nud.	威氏聖蕨	Kuo3362	L	023_E03_F3362_FernL1Ir1	040_E06_r3362_rbcLF1F 038_F06_r3362_rbcL1379R	095_A11_K3362_FERmatK-fEDR
<i>Metathelypteris uraiensis</i> (Rosenst.) Ching	毛柄凸軸蕨	Kuo2347	F	kuo2347_FernL-1Ir1	R-kuo-2347_rbcL-aF R-kuo-2347_rbcL-1379R	K-kuo-2347_FERmatKfEDR
<i>Metathelypteris uraiensis</i> (Rosenst.) Ching	毛柄凸軸蕨	Kuo2429	L	F-kuo2429_FernL-1Ir1	R-kuo2429_rbcL-aF	K-kuo2429_FERmatKfEDR

<i>Parathelypteris angulariloba</i> (Ching) Ching	鈍頭金星蕨	Kuo2363	F	032_A04_F3371_FernL1lr1	R-kuo2429_rbcL-1379R R-kuo-2363_rbcL-aF R-kuo-2363_rbcL-1379R	K-kuo-2363_FERmatKfEDR
<i>Phegopteris decursive-pinnata</i> (van Hall) Fée	短柄卵果蕨	Kuo2390	F	F-kuo-2390_FernL-1lr1	R-kuo-2390_rbcL-aF R-kuo-2390_rbcL-1379R	K-kuo-2390_FERmatKfEDR
<i>Phegopteris decursive-pinnata</i> (van Hall) Fée	短柄卵果蕨	Kuo3371	L	032_A04_F3371_FernL1lr1	055_E07_r3371_rbcLF1F 053_F07_r3371_rbcL1379R	089_D11_K3371_FERmatK-fEDR
<i>Pseudophegopteris subaurita</i> (Tagawa) Ching	光囊紫柄蕨	Kuo2432	L	F-kuo2432_FernL-1lr1	R-kuo2432_rbcL-aF R-kuo2432_rbcL-1379R	K-kuo2432_FERmatKfEDR



附錄二、*matK*、*trnL-L-F* 定序受重複鹼基干擾產生序列位移或中斷的位點

<i>matK</i>			
序列編號	定序引子端	重複鹼基 (t:tandem repeat)	被干擾的序列起始位點(跨科被 干擾的序列相對起始位點)
Kuo2315	FERmatKfEDR	t: Poly A(連續 11 個 A)	328(329)
Kuo3379	FERmatK-fEDR	t: Poly A(連續 11 個 A)	329(329)
Kuo2298	FERmatKfEDR	t: Poly A(連續 11 個 A)	323(329)
Kuo2303	FERmatKfEDR	t: Poly T(連續 11 個 T)	226(212)
Kuo2417	FERmatKfEDR	t: Poly T(連續 11 個 T)	226(212)
<i>trnL-L-F</i>			
序列編號	定序引子端	重複鹼基 (t:tandem repeat)	被干擾的序列起始位點(各科:被 干擾的序列相對起始位點)
Kuo2309	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	136(Aspleniaceae:125)
Kuo936	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	141(Aspleniaceae: 125)
Kuo2351	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	205(Aspleniaceae:208)
Kuo947	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 12 個 T)	216(Aspleniaceae:208)
Kuo2346	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	121(Aspleniaceae:125)
Kuo3363	Kuo3363	t: Poly T(連續 10 個 T)	130(Aspleniaceae:125)
Kuo2359	trnF	t: Poly G(連續 10 個 G)	176(Aspleniaceae:反向 221)
	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	141(Aspleniaceae:125)
Kuo3381	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	126(Aspleniaceae:125)
Kuo2813	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	130(Aspleniaceae:125)
Kuo2811	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	150(Aspleniaceae:125)
Kuo2824	FernL-1Ir1	t: Poly C(連續 12 個 C)	676(Athyriaceae:741)
Kuo912	FernL-1Ir1	t: Poly C(連續 12 個 C)	681(Athyriaceae:741)
Kuo2338	FernL-1Ir1	t: Poly A(連續 11 個 A)	583(Davalliaceae:592)

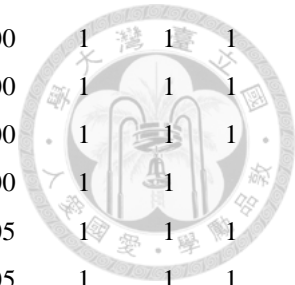
Kuo863	FernL1Ir1	t: Poly A(連續 10 個 A)	403(Davalliaceae:592)
Kuo2312	trnF	t: Poly G(連續 19 個 G)	171(Davalliaceae:反向 193)
	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 12 個 C)	704(Davalliaceae:656)
Kuo2380	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 15 個 C)	733(Dryopteridaceae:857)
Kuo2297	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	198(Dryopteridaceae:232)
Kuo862	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	200(Dryopteridaceae:232)
Kuo883	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	203(Dryopteridaceae:232)
Kuo2369	trnF	t: Poly T(連續 14 個 T)	90(Gleicheniaceae:100)
	FernL1Ir1	t: Poly A(連續 23 個 A)	503(Gleicheniaceae:524)
Kuo2329	trnF	t: Poly A(連續 11 個 A)	560(Hymenophyllaceae:反向 517)
	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	250(Hymenophyllaceae:273)
Kuo2831	trnF	t: Poly A(連續 16 個 A)	625(Hymenophyllaceae:反向 836)
	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 16 個 T)	265(Hymenophyllaceae:273)
Kuo2378	trnF	t: Poly T(連續 13 個 T)	388(Hymenophyllaceae:)
	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	246(Hymenophyllaceae:273)
Kuo2331	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	243(Hymenophyllaceae:273)
Kuo904	FernL1Ir1	t: Poly A(連續 13 個 A)	202(Lygodiaceae:190)
Kuo2334	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	190(Plagiogyriaceae:187)
Kuo2818	trnF	t: Poly G(連續 11 個 G)	196(Polypodiaceae:反向 321)
	FernL1Ir1	t: Poly A(連續 12 個 A)	395(Polypodiaceae:423)
Kuo2310	trnF	t: Poly G(連續 11 個 G)	194(Polypodiaceae:反向 248)
	FernL-1Ir1	t: Poly A(連續 10 個 A)	393(Polypodiaceae:465)
Kuo870	FernL1Ir1	t: Poly A(連續 10 個 A)	398(Polypodiaceae:465)
Kuo2374	FernL-1Ir1	t: Poly A(連續 10 個 A)	402(Polypodiaceae: 465)
Kuo869	FernL-1Ir1	t: Poly A(連續 10 個 A)	399(Polypodiaceae: 465))
Kuo2362	trnF	t: Poly G(連續 15 個 G)	190(Polypodiaceae:反向 238)

	FernL-1Ir1	t: Poly C(連續 16 個 C)	659(Polypodiaceae:761)
Kuo962	trnF	t: Poly G(連續 14 個 G)	209(Polypodiaceae:反向 247)
	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 14 個 C)	630(Polypodiaceae:750)
Kuo2366	FernL-1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	140(Psilotaceae:130)
Kuo955	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 12 個 T)	340(Pteridaceae:364)
Kuo3374	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 16 個 C)	701(Tectariaceae:723)
Kuo3357	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 13 個 C)	740(Tectariaceae:716)
Kuo2332	FernL-1Ir1	t: Poly C(連續 15 個 C)	706(Tectariaceae:719)
Kuo884	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 10 個 C)	215(Thelepteridaceae:209)
kuo2384	trnF	t: Poly G(連續 15 個 G)	181(Thelepteridaceae:反向 219)
	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 15 個 C)	691(Thelepteridaceae:737)
Kuo3372	trnF	t: Poly G(連續 14 個 G)	190(Thelepteridaceae:反向 221)
	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 17 個 C)	710(Thelepteridaceae:737)
Kuo2816	trnF	t: Poly G(連續 11 個 G)	185(Thelepteridaceae:反向 223)
	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 10 個 C)	689(Thelepteridaceae:741)
Kuo857	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 10 個 T)	214(Thelepteridaceae:222)
Kuo2368	trnF	t: Poly G(連續 12 個 G)	184(Thelepteridaceae:反向 222)
	FernL-1Ir1	t: Poly C(連續 12 個 C)	682(Thelepteridaceae:740)
Kuo3362	FernL1Ir1	t: Poly C(連續 11 個 C)	694(Thelepteridaceae:741)
Kuo3371	FernL1Ir1	t: Poly T(連續 11 個 T)	201(Thelepteridaceae:221)

附錄三、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 遺傳距離法(*P*-distance)同屬種間與種內遺傳距離 Barcoding gap 物種對計算之樣本資訊(1:有 barcoding gap; 0:沒有 barcoding gap)

物種對組別	種間最小 <i>P</i> -distance			最大 <i>P</i> -distance			barcoding gap 情形		
	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>
Aspleniaceae									
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium australasicum</i>	0.019	0.020	0.009	0.000	0.000	1		
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium boreale</i>	0.111	0.104	0.050	0.000	0.000	1	1	
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium cuneatiforme</i>	0.127	0.103	0.059	0.000	0.000	0.000	1	1 1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	0.123	0.097	0.059	0.020	0.011	0.005	1	1 1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium nidus</i>	0.045	0.041	0.024	0.000	0.000		1	1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.105	0.093	0.049	0.000	0.001	0.000	1	1 1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium serricula</i>	0.057	0.050	0.038	0.000	0.000		1	1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.107	0.084		0.000	0.001		1	1
<i>Asplenium antiquum</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.117	0.094	0.056	0.000	0.000		1	1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium boreale</i>	0.103	0.104	0.053	0.000	0.000		1	1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium cuneatiforme</i>	0.119	0.102	0.060	0.000	0.000	0.000	1	1 1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	0.115	0.095	0.057	0.020	0.011	0.005	1	1 1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.097	0.093	0.051	0.000	0.001	0.000	1	1 1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.103	0.087		0.000	0.001		1	1
<i>Asplenium australasicum</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.109	0.094	0.055	0.000			1	
<i>Asplenium boreale</i>	<i>Asplenium cuneatiforme</i>	0.099	0.095	0.054	0.000	0.000	0.000	1	1 1
<i>Asplenium boreale</i>	<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	0.094	0.092	0.054	0.020	0.011	0.005	1	1 1
<i>Asplenium boreale</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.012	0.026	0.008	0.000	0.001	0.000	1	1 1
<i>Asplenium boreale</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.072	0.073		0.000	0.001		1	1
<i>Asplenium cuneatiforme</i>	<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	0.037	0.032	0.015	0.020	0.011	0.005	1	1 1

<i>Asplenium cuneatifforme</i>	<i>Asplenium nidus</i>	0.121	0.105	0.053	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Asplenium cuneatifforme</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.094	0.087	0.053	0.000	0.001	0.000	1	1	1
<i>Asplenium cuneatifforme</i>	<i>Asplenium serricula</i>	0.131	0.112	0.059	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Asplenium cuneatifforme</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.039	0.030	0.025	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Asplenium cuneatifforme</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.097	0.086		0.000	0.001	0.000	1	1	
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	<i>Asplenium nidus</i>	0.113	0.099	0.049	0.020	0.011	0.005	1	1	1
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.088	0.083	0.053	0.020	0.011	0.005	1	1	1
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	<i>Asplenium serricula</i>	0.123	0.109	0.059	0.020	0.011	0.005	1	1	1
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.045	0.031	0.021	0.020	0.011	0.005	1	1	1
<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.092	0.082		0.020	0.011	0.005	1	1	
<i>Asplenium nidus</i>	<i>Asplenium normale</i>	0.094	0.092	0.046	0.000	0.001	0.000	1	1	1
<i>Asplenium nidus</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.099	0.092		0.000	0.001		1	1	
<i>Asplenium nidus</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.109	0.098	0.047	0.000	0.001		1	1	
<i>Asplenium normale</i>	<i>Asplenium serricula</i>	0.105	0.100	0.058	0.000	0.001	0.000	1	1	1
<i>Asplenium normale</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.088	0.077	0.050	0.000	0.001	0.000	1	1	1
<i>Asplenium normale</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.066	0.067		0.000	0.001	0.000	1	1	
<i>Asplenium serricula</i>	<i>Asplenium wrightii</i>	0.115	0.100		0.000	0.001		1	1	
<i>Asplenium serricula</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.123	0.104	0.057	0.000			1	1	
<i>Asplenium wrightii</i>	<i>Asplenium wilfordii</i>	0.094	0.076		0.000	0.001		1	1	
<i>Hymenasplenium apogamum</i>	<i>Hymenasplenium cheilosorum</i>	0.065	0.085	0.026	0.001	0.000	0.000	1	1	1
<i>Hymenasplenium apogamum</i>	<i>Hymenasplenium excisum</i>	0.045	0.068	0.025	0.001	0.000	0.001	1	1	1
<i>Hymenasplenium apogamum</i>	<i>Hymenasplenium filipes</i>	0.054			0.000	0.000	0.000	1		
<i>Hymenasplenium apogamum</i>	<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i>	0.042	0.047	0.014	0.001	0.000	0.000	1	1	1
<i>Hymenasplenium cheilosorum</i>	<i>Hymenasplenium excisum</i>	0.046	0.061	0.021	0.001	0.000	0.001	1	1	1
<i>Hymenasplenium cheilosorum</i>	<i>Hymenasplenium filipes</i>	0.047			0.001	0.000	0.000	1		



<i>Hymenasplenium cheilosorum</i>	<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i>	0.065	0.074	0.021	0.001	0.000	0.000	1	1	1
<i>Hymenasplenium excisum</i>	<i>Hymenasplenium filipes</i>	0.037			0.001	0.000	0.001	1		
<i>Hymenasplenium excisum</i>	<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i>	0.046	0.068	0.021	0.001	0.000	0.001	1	1	1
<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i>	<i>Hymenasplenium filipes</i>	0.053			0.001			1		
<i>Diplazium amamianum</i>	<i>Diplazium doederleinii</i>	0.014	0.014	0.005	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium amamianum</i>	<i>Diplazium dilatatum</i>	0.019	0.014	0.008	0.000	0.000	0.001	1		1
<i>Diplazium amamianum</i>	<i>Diplazium donianum</i>	0.019	0.017	0.009	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium amamianum</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.036	0.026	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium amamianum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.031	0.020	0.013	0.009	0.006	0.006	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium doederleinii</i>	0.007	0.012	0.005	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium donianum</i>	0.012	0.012	0.006	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium esculentum</i>	0.032	0.036	0.018	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium incomptum</i>	0.057	0.048	0.019	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium kawakamii</i>	0.035	0.022	0.008	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.036	0.024	0.011	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.031	0.018	0.010	0.009	0.006	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium pullingeri</i>	0.040	0.028	0.015	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i>	0.026	0.025	0.016	0.000	0.000	0.001	1	1	1
<i>Diplazium dilatatum</i>	<i>Diplazium virescens</i>	0.007	0.012		0.000	0.000	0.001	1	1	
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium donianum</i>	0.007	0.014	0.007	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium esculentum</i>	0.032	0.038	0.017	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium incomptum</i>	0.054	0.049	0.016	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium kawakamii</i>	0.030	0.024	0.008	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.031	0.024	0.012	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.026	0.018	0.012	0.009	0.006	0.006	1	1	1



<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium pullingeri</i>	0.035	0.029	0.013	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i>	0.022	0.030	0.015	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium doederleinii</i>	<i>Diplazium virescens</i>	0.000	0.000		0.000	0.001		0	0	
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium esculentum</i>	0.037	0.038	0.021	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium incomptum</i>	0.051	0.048	0.021	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium kawakamii</i>	0.032	0.020	0.011	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.034	0.026	0.011	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.031	0.020	0.011	0.009	0.006	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium pullingeri</i>	0.040	0.030	0.014	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i>	0.026	0.030	0.019	0.001	0.001	0.001	1	1	1
<i>Diplazium donianum</i>	<i>Diplazium virescens</i>	0.007	0.014		0.001	0.001	0.001	1	1	
<i>Diplazium esculentum</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.035	0.034	0.021	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium esculentum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.032	0.030	0.020	0.009	0.006	0.006	1	1	1
<i>Diplazium incomptum</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.049	0.046	0.020	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium incomptum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.047	0.040	0.019	0.009	0.006	0.006	1	1	1
<i>Diplazium kawakamii</i>	<i>Diplazium mettenianum</i>	0.018	0.023	0.008	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium kawakamii</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.018	0.017	0.008	0.009	0.006		1	1	
<i>Diplazium mettenianum</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.006	0	0	0
<i>Diplazium mettenianum</i>	<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i>	0.026	0.030	0.018	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium mettenianum</i>	<i>Diplazium pullingeri</i>	0.035	0.028	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Diplazium mettenianum</i>	<i>Diplazium virescens</i>	0.031	0.024		0.000	0.000	0.000	1	1	
<i>Diplazium pseudo-doederleinii</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.024	0.026	0.018	0.009	0.006	0.006	1	1	1
<i>Diplazium pullingeri</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.028	0.022	0.013	0.009	0.006	0.006	1	1	1
<i>Diplazium virescens</i>	<i>Diplazium petri</i>	0.026	0.018		0.009	0.006	0.006	1	1	

Athyriaceae

<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia formosana</i>	0.034		0.021	0.001	0.000	0.000	1	1
<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia petersenii</i>	0.031	0.023	0.004	0.001	0.000	0.000	1	1
<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia tomitaroana</i>		0.000	0.000		0.000	0.000	0	0
<i>Deparia petersenii</i>	<i>Deparia formosana</i>	0.048		0.019	0.001	0.000	0.000	1	1
<i>Deparia petersenii</i>	<i>Deparia tomitaroana</i>		0.023	0.004		0.000	0.000	1	1
Cyatheaceae									
<i>Gymnosphaera denticulata</i>	<i>Gymnosphaera metteniana</i>	0.024	0.018	0.003	0.000	0.000		1	1
<i>Gymnosphaera denticulata</i>	<i>Gymnosphaera podophylla</i>	0.025	0.012	0.005	0.000			1	1
<i>Gymnosphaera metteniana</i>	<i>Gymnosphaera podophylla</i>	0.019	0.014	0.007	0.000	0.000	0.000	1	1
Davalliaceae									
<i>Davallia formosana</i>	<i>Davallia griffithiana</i>	0.044	0.008			0.050		1	0
<i>Davallia formosana</i>	<i>Davallia perdurans</i>	0.048	0.034			0.050		1	0
<i>Davallia formosana</i>	<i>Davallia repens</i>	0.059	0.064		0.003	0.050	0.000	1	1
<i>Davallia formosana</i>	<i>Davallia solida</i>	0.050	0.043			0.050			0
<i>Davallia griffithiana</i>	<i>Davallia perdurans</i>	0.028	0.031	0.011				1	
<i>Davallia griffithiana</i>	<i>Davallia repens</i>	0.039	0.058	0.021	0.003	0.005	0.000	1	1
<i>Davallia mariesii</i>	<i>Davallia perdurans</i>	0.028		0.011				1	
<i>Davallia mariesii</i>	<i>Davallia repens</i>	0.041		0.020	0.003	0.005	0.000	1	1
<i>Davallia perdurans</i>	<i>Davallia repens</i>	0.044	0.062	0.020	0.003	0.005	0.000	1	1
<i>Davallia repens</i>	<i>Davallia solida</i>	0.048	0.073	0.023	0.003	0.005	0.000	1	1
Dennstaedtiaceae									
<i>Microlepia hookeriana</i>	<i>Microlepia obtusiloba</i>	0.060	0.056	0.013	0.000		0.000	1	1
<i>Microlepia marginata</i>	<i>Microlepia obtusiloba</i>	0.026	0.021	0.005	0.000		0.000	1	1
<i>Microlepia obtusiloba</i>	<i>Microlepia speluncae</i>	0.043	0.034	0.006	0.000		0.000	1	1
<i>Microlepia obtusiloba</i>	<i>Microlepia strigosa</i>	0.030	0.023	0.011	0.000		0.000	1	1



Dryopteridaceae

<i>Arachniodes chinensis</i>	<i>Arachniodes pseudo-aristata</i>	0.030	0.037	0.010	0.084	0.026	0	0	0
<i>Arachniodes chinensis</i>	<i>Arachniodes rhomboides</i>	0.084	0.077	0.029	0.001	0.001	1	1	0
<i>Arachniodes exilis</i>	<i>Arachniodes pseudo-aristata</i>	0.001	0.000	0.000	0.084	0.026	0	0	0
<i>Arachniodes exilis</i>	<i>Arachniodes rhomboides</i>	0.081	0.074	0.027	0.001	0.001	1	1	0
<i>Arachniodes festina</i>	<i>Arachniodes pseudo-aristata</i>	0.048	0.055	0.023	0.084	0.026	0	0	0
<i>Arachniodes festina</i>	<i>Arachniodes rhomboides</i>	0.085	0.066	0.037	0.001	0.001	1	1	0
<i>Arachniodes pseudo-aristata</i>	<i>Arachniodes rhomboides</i>	0.001	0.074	0.001	0.084	0.001	0.026	0	1
<i>Bolbitis angustipinna</i>	<i>Bolbitis appendiculata</i>	0.069	0.061	0.029	0.001	0.000	0.000	1	1
<i>Bolbitis angustipinna</i>	<i>Bolbitis subcordata</i>	0.064	0.053	0.018	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Bolbitis appendiculata</i>	<i>Bolbitis axireticulata</i>	0.069	0.053	0.025	0.001	0.000	0.000	1	1
<i>Bolbitis appendiculata</i>	<i>Bolbitis subcordata</i>	0.069	0.053	0.025	0.001	0.000	0.001	1	1
<i>Bolbitis axireticulata</i>	<i>Bolbitis subcordata</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0	0
<i>Ctenitis eatonii</i>	<i>Ctenitis subglandulosa</i>	0.038	0.026	0.012	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris diffracta</i>	<i>Dryopteris hasseltii</i>	0.031	0.163	0.013	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris diffracta</i>	<i>Dryopteris polita</i>	0.029	0.030	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1
<i>Dryopteris diffracta</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.078	0.073	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris formosana</i>	<i>Dryopteris hasseltii</i>	0.046	0.048	0.021	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris formosana</i>	<i>Dryopteris paleolata</i>	0.046	0.043	0.016	0.000	0.000	0.000	1	0
<i>Dryopteris formosana</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.070	0.071	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris intergriloba</i>	0.045	0.046	0.024	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris paleolata</i>	0.052	0.055	0.025	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris polita</i>	0.018	0.031	0.016	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris sordidipes</i>	0.037	0.040	0.019	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.071	0.078	0.031	0.000	0.168	0.000	1	0



<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris subexaltata</i>	0.071	0.078	0.031	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris subtriangularis</i>	0.046	0.044	0.025	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris tenuipes</i>	0.046	0.048	0.021	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris hasseltii</i>	<i>Dryopteris varia</i>	0.038	0.039	0.023	0.000	0.168	0.000	1	0
<i>Dryopteris intergriloba</i>	<i>Dryopteris polita</i>	0.038	0.046	0.028	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris intergriloba</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.069	0.069	0.026	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris paleolata</i>	<i>Dryopteris polita</i>	0.045	0.051	0.029	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris paleolata</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.070	0.073	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris sordidipes</i>	0.029	0.039	0.024	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris sparsa</i>	0.066	0.083	0.029	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris subexaltata</i>	0.066	0.083	0.029	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris subtriangularis</i>	0.039	0.048	0.029	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris tenuipes</i>	0.039	0.049	0.026	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris polita</i>	<i>Dryopteris varia</i>	0.031	0.044	0.024	0.000		0.000	1	1
<i>Dryopteris sparsa</i>	<i>Dryopteris sordidipes</i>	0.066	0.070	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris sparsa</i>	<i>Dryopteris subexaltata</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0	0
<i>Dryopteris sparsa</i>	<i>Dryopteris subtriangularis</i>	0.070	0.068	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris sparsa</i>	<i>Dryopteris tenuipes</i>	0.070	0.071	0.025	0.000	0.001	0.000	1	1
<i>Dryopteris sparsa</i>	<i>Dryopteris varia</i>	0.066	0.070	0.027	0.000	0.001	0.000	1	1

Hymenophyllaceae

<i>Crepidomanes humilis</i>	<i>Crepidomanes late-alatum</i>	0.136		0.048	0.002	0.000	0.000	1	1
<i>Crepidomanes grande</i>	<i>Crepidomanes late-alatum</i>	0.182		0.087	0.002	0.000	0.000	1	1
<i>Crepidomanes late-alatum</i>	<i>Crepidomanes minutum</i>	0.112		0.051	0.002	0.000	0.000	1	1
<i>Hymenophyllum badium</i>	<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	0.059	0.054	0.025	0.003	0.002	0.002	1	1
<i>Hymenophyllum barbatum</i>	<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	0.024	0.022	0.010	0.003	0.002	0.002	1	1

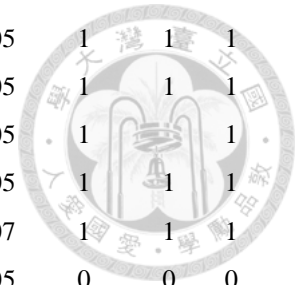
<i>Hymenophyllum blandum</i>	<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	0.031	0.038	0.014	0.003	0.002	0.002	1	1	1
<i>Hymenophyllum demissum</i>	<i>Hymenophyllum denticulatum</i>		0.012	0.013	0.003	0.002	0.002			1
<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	<i>Hymenophyllum holochilum</i>	0.014			0.003	0.002	0.002	1		
<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	<i>Hymenophyllum oligosorum</i>	0.025	0.019	0.012	0.003	0.002	0.002	1	1	1
<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	<i>Hymenophyllum polyanthos</i>	0.066	0.043	0.023	0.003	0.002	0.002	1	1	1
<i>Vandenboschia birmanica</i>	<i>Vandenboschia auriculata</i>	0.158	0.123	0.041		0.000	0.000			1
<i>Vandenboschia maxima</i>	<i>Vandenboschia auriculata</i>	0.157	0.129	0.040		0.000	0.000			1
Lindsaeaceae										
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea ensifolia</i>	0.028	0.037	0.020	0.005	0.000	0.000	1	1	1
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea heterophylla</i>		0.037	0.020		0.000	0.000		1	1
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea javanensis</i>	0.004		0.000	0.005	0.000	0.000	1		0
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea lucida</i>	0.066	0.060	0.031	0.005	0.000	0.000	1	1	1
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea merrillii</i>	0.080		0.040	0.005	0.000	0.000	1		
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.011	0.122	0.005	0.005	0.143	0.001	1	0	1
<i>Lindsaea chienii</i>	<i>Lindsaea yaeyamensis</i>		0.060			0.000			1	
<i>Lindsaea ensifolia</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.028	0.040	0.018	0.000	0.143	0.001	1	0	1
<i>Lindsaea heterophylla</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.028	0.040	0.018	0.000	0.143	0.001	1	0	1
<i>Lindsaea lucida</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.066	0.062	0.029	0.000	0.143	0.001	1	0	1
<i>Lindsaea merrillii</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.081		0.037	0.000	0.143	0.001	1		1
<i>Lindsaea obtuse</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>	0.073	0.061	0.033	0.000	0.143	0.001	1	0	1
<i>Lindsaea yaeyamensis</i>	<i>Lindsaea orbiculata</i>		0.062		0.000	0.143	0.001			0
<i>Sphenomeris biflora</i>	<i>Sphenomeris chusana</i>	0.003			0.003		0.015	1		
Nephrolepidaceae										
<i>Nephrolepis biserrata</i>	<i>Nephrolepis cordifolia</i>	0.082	0.098	0.022	0.000	0.000	0.000	1	1	1
Polypodiaceae										



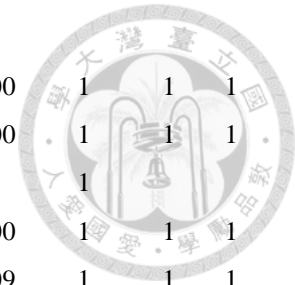
<i>Aglaomorpha coronans</i>	<i>Aglaomorpha meyeniana</i>	0.024		0.014	0.001				1		
<i>Colysis elliptica</i>	<i>Colysis hemionitidea</i>	0.057		0.030	0.000	0.000	0.002		1	1	1
<i>Colysis elliptica</i>	<i>Colysis wrightii</i>	0.044	0.037	0.012	0.003	0.002	0.002		1	1	1
<i>Colysis hemionitidea</i>	<i>Colysis wrightii</i>	0.066		0.026	0.003	0.002	0.002		1	1	1
<i>Lepisorus monilisorus</i>	<i>Lepisorus obscure-venulosus</i>	0.028	0.030	0.008	0.000		0.000		1	1	1
<i>Lepisorus monilisorus</i>	<i>Lepisorus thunbergianus</i>	0.021	0.034	0.008	0.000		0.000		1	1	1
<i>Microsorium dilatatum</i>	<i>Microsorium punctatum</i>	0.106	0.094		0.010	0.010			1	1	
<i>Microsorium membranaceum</i>	<i>Microsorium punctatum</i>	0.082	0.095	0.038	0.010	0.010			1	1	
<i>Pteris amoena</i>	<i>Pteris ensiformis</i>	0.041	0.058	0.017	0.000	0.000	0.000		1	1	1
<i>Pteris amoena</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.030	0.059	0.015	0.006	0.020	0.005		1	1	1
<i>Pteris amoena</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.032	0.063	0.017	0.023	0.040	0.007		1	1	1
<i>Pteris arisanensis</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.000	0.000	0.000	0.006	0.020	0.005		0	0	
<i>Pteris arisanensis</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.038	0.070	0.021	0.000	0.000	0.000		1	1	1
<i>Pteris arisanensis</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.032	0.066	0.021	0.023	0.040	0.007		1	1	1
<i>Pteris bella</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.029		0.019	0.006	0.020	0.005		1		1
<i>Pteris bella</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.048		0.025	0.000	0.000	0.000		1		1
<i>Pteris bella</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.033		0.021	0.023	0.040	0.007		1		1
<i>Pteris biaurita</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.012	0.017	0.007	0.006	0.020	0.005		1	0	1
<i>Pteris biaurita</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.039	0.066	0.021	0.000	0.000	0.000		1	1	1
<i>Pteris biaurita</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.035	0.062	0.019	0.023	0.040	0.007		1	1	1
<i>Pteris cadieri</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.038	0.067		0.006	0.020	0.005		1	1	
<i>Pteris cadieri</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.000	0.000		0.000	0.000			0	0	
<i>Pteris cadieri</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.044	0.074		0.023	0.040	0.007		1	1	
<i>Pteris ensiformis</i>	<i>Pteris fauriei</i>	0.029	0.063	0.017	0.006	0.020	0.005		1	1	1
<i>Pteris ensiformis</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.048	0.069	0.025	0.000	0.000	0.000		1	1	1



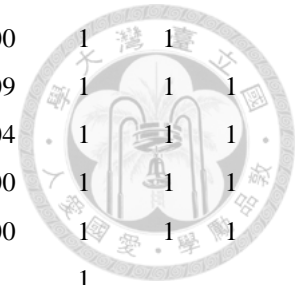
<i>Pteris ensiformis</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.042	0.072	0.022	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris grevilleana</i>	0.038	0.067	0.021	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris longipes</i>	0.027	0.059	0.017	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris multifida</i>	0.056		0.021	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris plumbea</i>	0.038	0.067	0.021	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.032	0.066	0.021	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris setuloso-costulata</i>	0.005	0.015	0.003	0.006	0.020	0.005	0	0	0
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris vittata</i>	0.104	0.146	0.048	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris fauriei</i>	<i>Pteris wallichiana</i>	0.050	0.087	0.025	0.006	0.020	0.005	1	1	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris longipes</i>	0.044	0.063	0.023	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris multifida</i>	0.066		0.028	0.000	0.000	0.000	1		1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris plumbea</i>	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0	0	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.044	0.074	0.025	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris setuloso-costulata</i>	0.036	0.063	0.019	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris wallichiana</i>	0.062	0.098	0.031	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Pteris grevilleana</i>	<i>Pteris vittata</i>	0.116	0.154	0.054	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Pteris longipes</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.027	0.054	0.019	0.023	0.040	0.007	1	1	
<i>Pteris multifida</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.059		0.021	0.023	0.040	0.007	1		1
<i>Pteris plumbea</i>	<i>Pteris semipinnata</i>	0.044	0.063	0.025	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris semipinnata</i>	<i>Pteris setuloso-costulata</i>	0.030	0.059	0.020	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris semipinnata</i>	<i>Pteris vittata</i>	0.103	0.146	0.051	0.023	0.040	0.007	1	1	1
<i>Pteris semipinnata</i>	<i>Pteris wallichiana</i>	0.048	0.074	0.021	0.023	0.040	0.007	1	1	1
Pteridaceae										
<i>Haplopteris anguste-elongata</i>	<i>Haplopteris elongata</i>	0.054	0.060	0.027	0.000	0.003	0.000	1	1	1
<i>Haplopteris elongata</i>	<i>Haplopteris ensiformis</i>	0.048		0.028	0.000	0.003	0.000	1		1



<i>Haplopteris elongata</i>	<i>Haplopteris flexuosa</i>	0.096	0.095	0.032	0.000	0.003	0.000	1	1	1
Thelypteridaceae										
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus dentatus</i>	0.014	0.013	0.007	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus esquirolii</i>	0.038	0.049	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.016			0.003			1		
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.046	0.049	0.018	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.054	0.041	0.020	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.048	0.043	0.019	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus acuminatus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.131	0.098	0.035	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus dentatus</i>	0.047	0.041	0.019	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus esquirolii</i>	0.052	0.046	0.019	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.051			0.003			1		
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.060	0.046	0.017	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.029	0.032	0.015	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.060	0.041	0.023	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus cuspidatus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.119	0.090	0.028	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus ensifera</i>	0.016	0.008	0.010	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus esquirolii</i>	0.037	0.045	0.014	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus interruptus</i>	0.101	0.069	0.038	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus griffithii</i>	0.134	0.098	0.037	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	0.035	0.034	0.017	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	0.054	0.035	0.025	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus megacuspis</i>	0.054	0.036	0.024	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.004			0.003	0.000	0.000	1	1	
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus papilio</i>	0.009	0.011	0.006	0.003	0.000	0.000	1	1	



<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.047	0.045	0.019	0.003	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.054	0.036		0.003	0.000	0.000	1		
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.052	0.036	0.023	0.003	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.050	0.039	0.020	0.015	0.000	0.004	1	1	1
<i>Cyclosorus dentatus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.134	0.098	0.037	0.004	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus esquirolii</i>	0.042	0.045	0.015	0.000	0.000	0.000	1		1
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.020			0.003			1		
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.039	0.045	0.020	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.052	0.036	0.024	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.045	0.039	0.020	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus ensifera</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.131	0.099	0.037	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus griffithii</i>	0.132	0.098	0.030	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	0.035	0.041	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus interruptus</i>	0.105	0.069	0.036	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	0.054	0.041	0.020	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus megacuspis</i>	0.054	0.042	0.019	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus papilio</i>	0.037	0.046	0.013	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.038			0.003	0.000	0.000	1		
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.050	0.053	0.011	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.054	0.042		0.000	0.000	0.000	1	1	
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.058	0.045	0.019	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.058	0.048	0.018	0.015	0.000	0.004	1	1	1
<i>Cyclosorus esquirolii</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.132	0.098	0.031	0.004	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus griffithii</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.135			0.003			1		
<i>Cyclosorus griffithii</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.140	0.105	0.036	0.000	0.000	0.000	1	1	1



<i>Cyclosorus griffithii</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.125	0.094	0.034	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus griffithii</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.147	0.097	0.040	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus griffithii</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.000	0.000	0.001	0.004		0.000	0		1
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.039			0.003			1		
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.043	0.039	0.018	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.051	0.034	0.022	0.000	0.000	0.009	1		1
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.051	0.036	0.022	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus gymnopteridifrons</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.131	0.094	0.033	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus interruptus</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.105			0.003			1		
<i>Cyclosorus interruptus</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.109	0.076	0.039	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus interruptus</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.092	0.057	0.033	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus interruptus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.114	0.070	0.040	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus interruptus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.106	0.097	0.033	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.055			0.003			1		
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.064	0.039	0.023	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.022	0.015	0.001	0.000	0.000	0.009	1	1	0
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.064	0.034	0.027	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus longipetiolatum</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.119	0.095	0.033	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus megacuspis</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.055			0.003			1		
<i>Cyclosorus megacuspis</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.064	0.041	0.022	0.000	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus megacuspis</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.022	0.017	0.000	0.000	0.000	0.009	1	1	0
<i>Cyclosorus megacuspis</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.064	0.035	0.026	0.015		0.004	1		1
<i>Cyclosorus megacuspis</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.119	0.097	0.033	0.004		0.000	1		1
<i>Cyclosorus papilio</i>	<i>Cyclosorus parasiticus</i>	0.013			0.003			1		
<i>Cyclosorus papilio</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.042	0.045	0.018	0.000	0.000	0.000	1	1	1



<i>Cyclosorus papilio</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.051	0.036	0.022	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus papilio</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.046	0.036	0.019	0.015		0.004	1	1	1
<i>Cyclosorus papilio</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.130	0.099	0.035	0.004		0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus parasiticus</i>	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	0.051			0.003	0.000	0.000	1		
<i>Cyclosorus parasiticus</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.058			0.003			1		
<i>Cyclosorus parasiticus</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.056			0.003	0.000	0.009	1		
<i>Cyclosorus parasiticus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.056			0.003		0.004	1		
<i>Cyclosorus parasiticus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.135			0.003		0.000	1		
<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	<i>Cyclosorus triphyllum</i>	0.064	0.041		0.000	0.000	0.000	1	1	
<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.066	0.035	0.022	0.000	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.034	0.022	0.014	0.015	0.000	0.004	1	1	1
<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.140	0.105	0.037	0.004	0.000	0.000	1	1	1
<i>Cyclosorus triphyllum</i>	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	0.022	0.017		0.000	0.000	0.009	1	1	
<i>Cyclosorus triphyllum</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.067	0.035		0.015		0.004	1		
<i>Cyclosorus triphyllum</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.119	0.097		0.004		0.000	1		
<i>Cyclosorus triphyllus</i>	<i>Cyclosorus truncatus</i>	0.068	0.029	0.024	0.015	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus triphyllus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.125	0.094	0.033	0.004	0.000	0.009	1	1	1
<i>Cyclosorus truncatus</i>	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	0.147	0.097	0.041	0.015		0.004	1		1



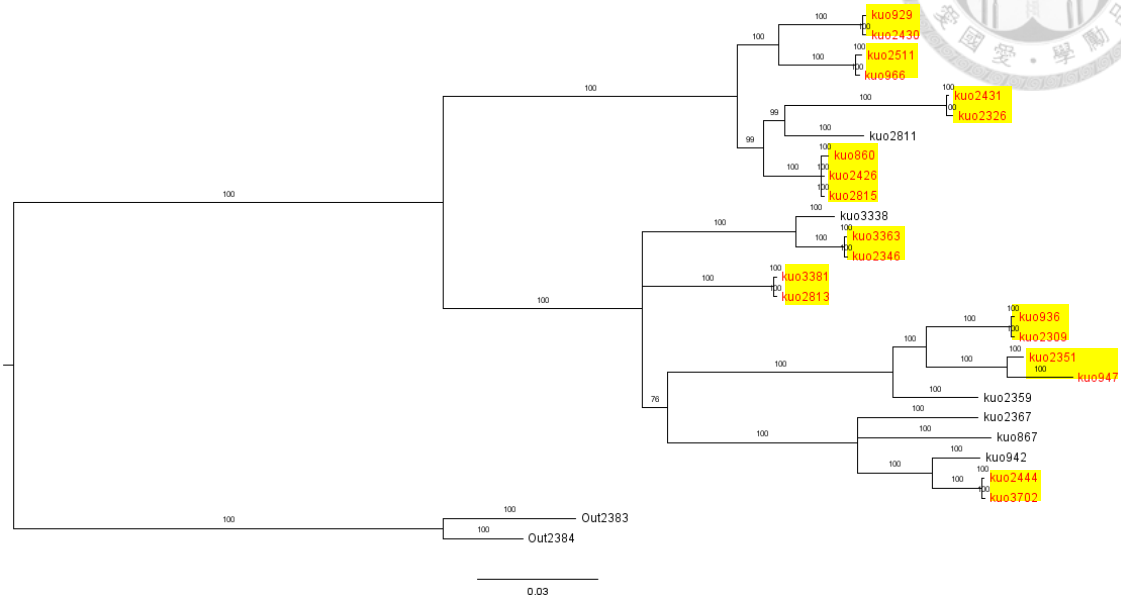
附錄四、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 各科 Barcoding gap 物種對之分子與分母數目樣本資訊

科名	同屬有兩個個體物種，任兩物種成一對的配對數 barcoding gap 物種對數					
	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>
Aspleniaceae	49	45	36	49	44	27
Athyriaceae	48	48	45	46	45	41
Cyatheaceae	3	3	3	3	3	1
Davalliaceae	10	8	6	9	4	4
Dennstaedtiaceae	5	5	5	4	0	4
Dryopteridaceae	43	43	43	37	17	24
Hymenophyllaceae	11	8	11	9	8	11
Lindsaeaceae	11	10	11	11	4	9
Nephrolepidaceae	1	1	1	1	1	1
Polypodiaceae	8	5	7	8	3	5
Pteridaceae	42	35	39	38	30	36
Thelypteridaceae	92	75	69	90	55	66
across all taxa	319	244	240	305	214	229

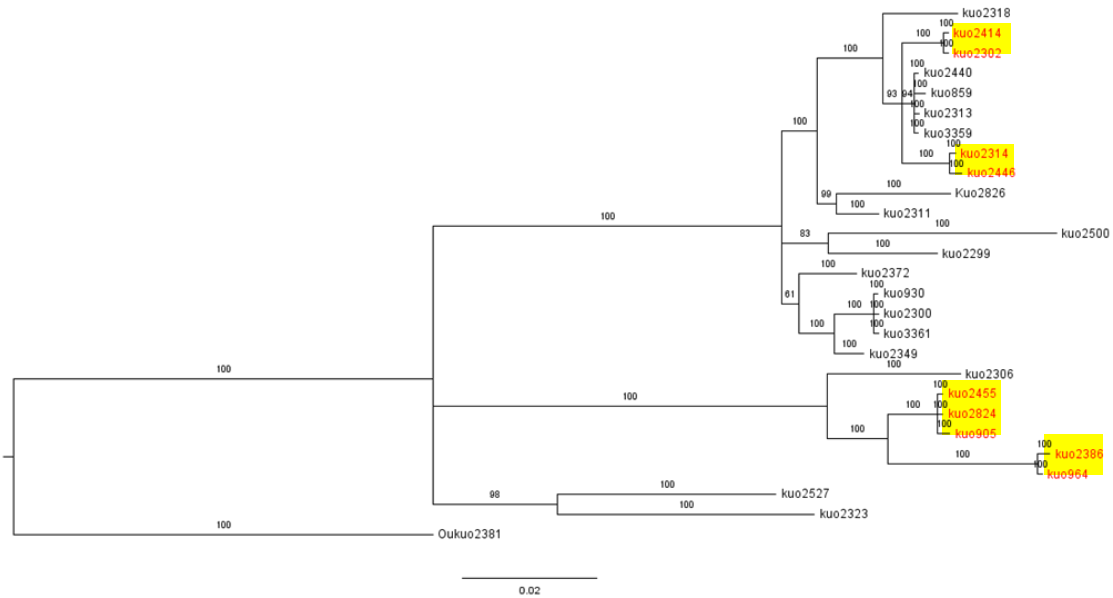


附錄五、26 科 *trnL-L-F*、跨科 *rbcL* 及 *matK* 貝氏親緣關係樹資訊

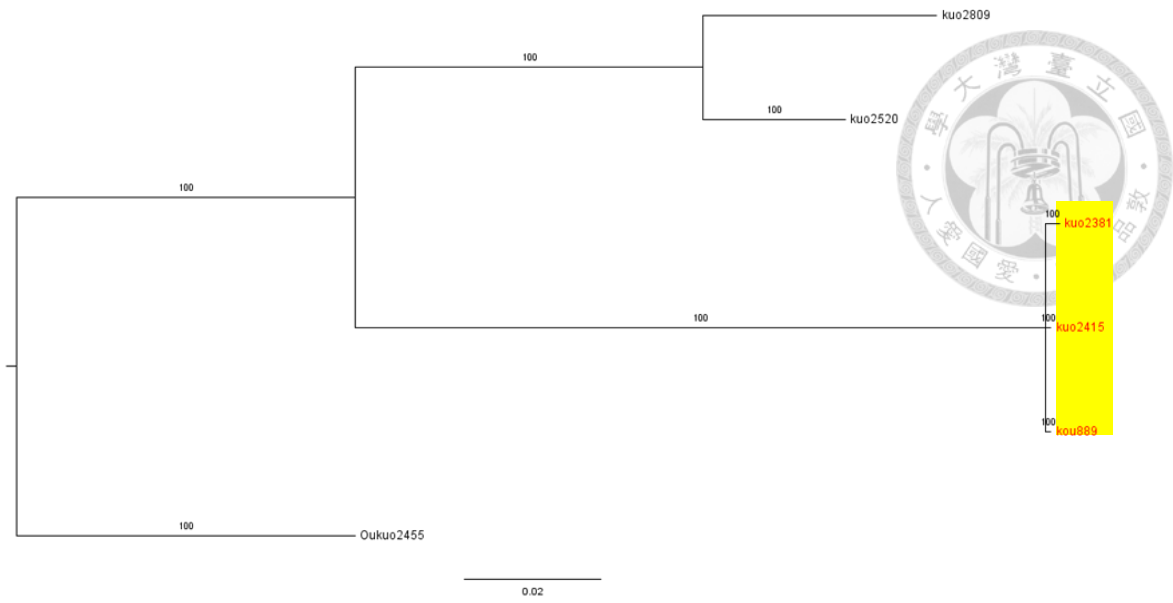
(一) *trnL-L-F* 各科貝氏樹：黃色區塊為該科屬內單系群物種；分支數字為後測試驗值 (Poster Probability)；out+採集號為外群



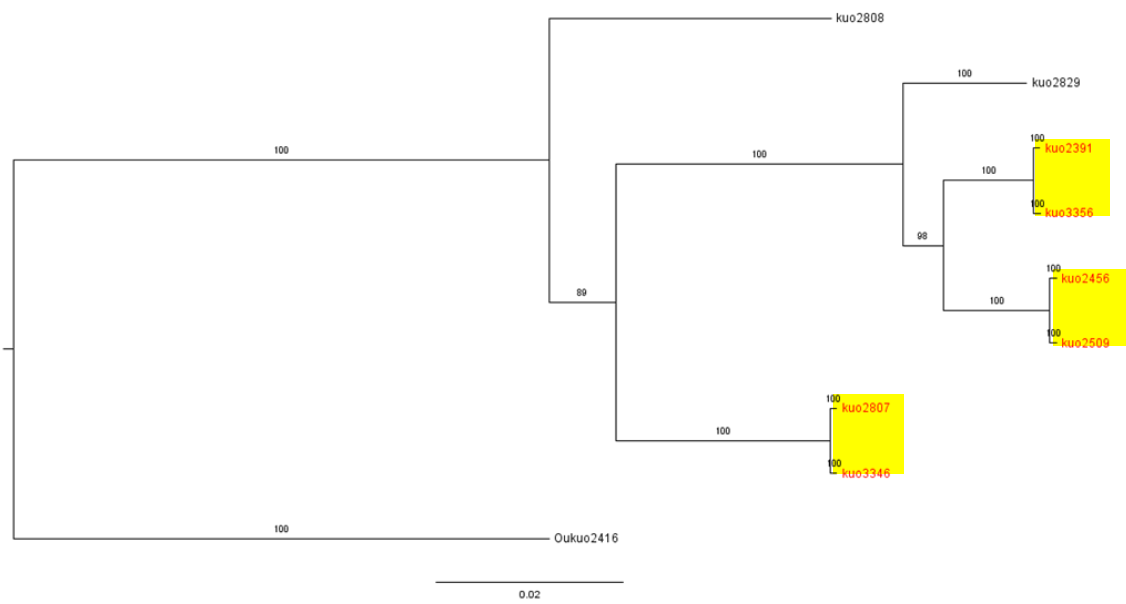
附錄五.1 鐵角蕨科 (*Aspleniaceae*) *trnL-L-F* 貝式樹



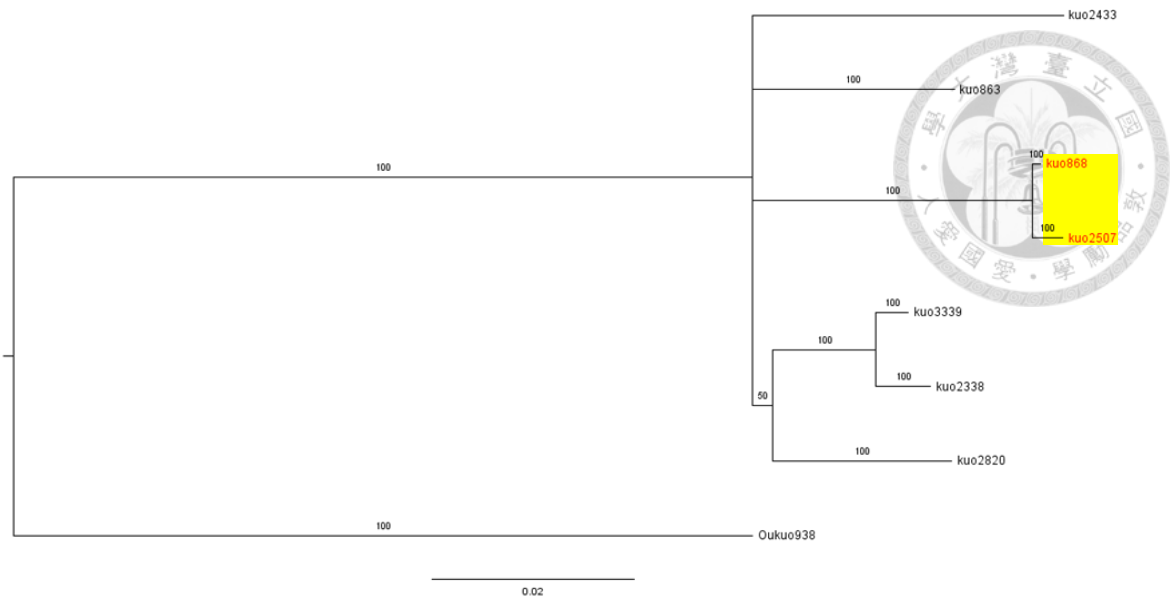
附錄五.2 蹄蓋蕨科 (*Athyriaceae*) *trnL-L-F* 貝式樹



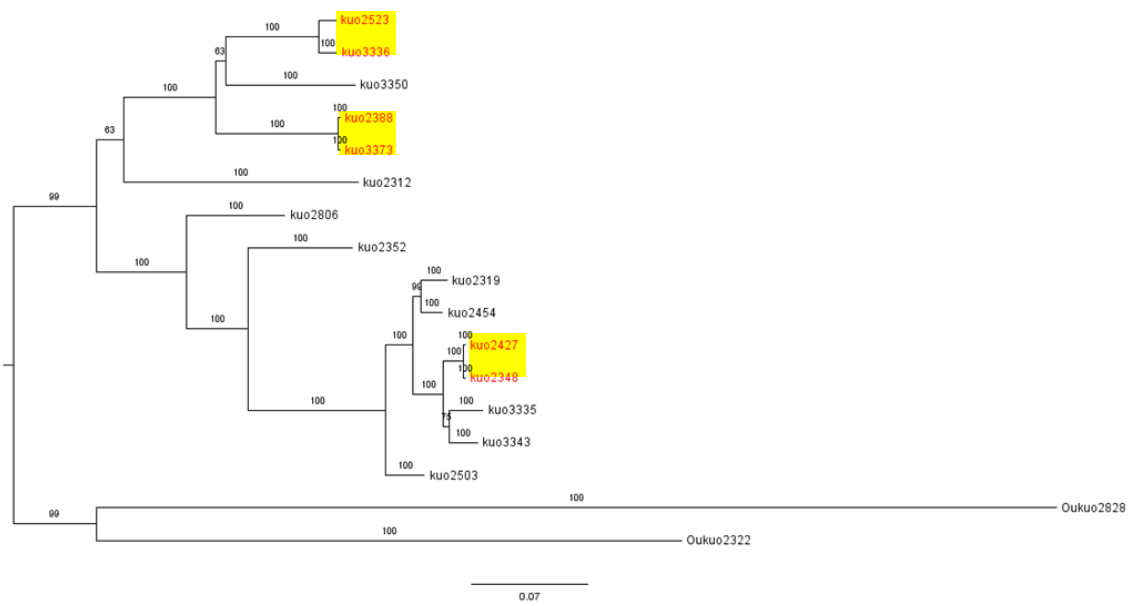
附錄五.3 烏毛蕨科 (Blechnaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



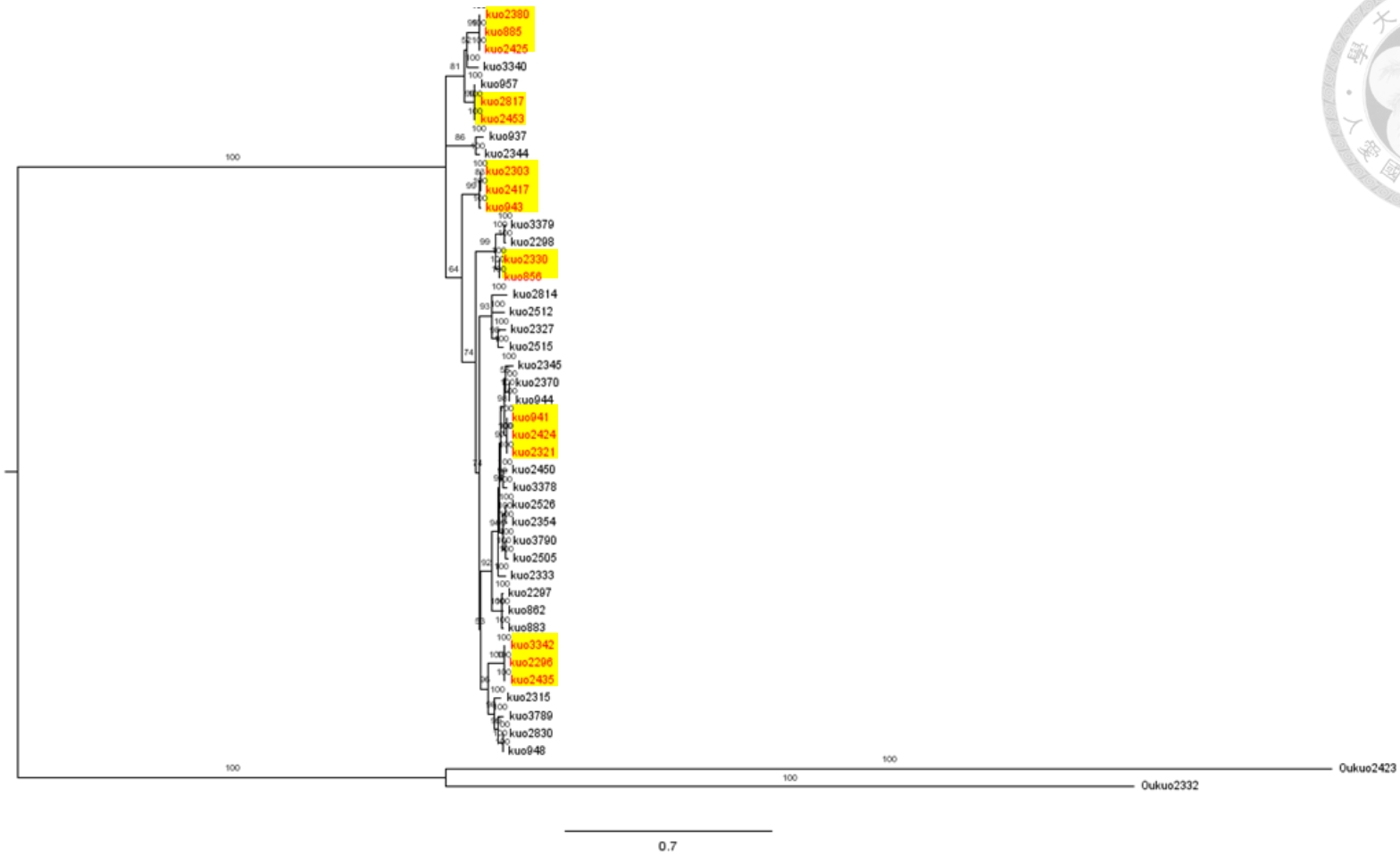
附錄五.4 桫欏科 (Cyatheaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



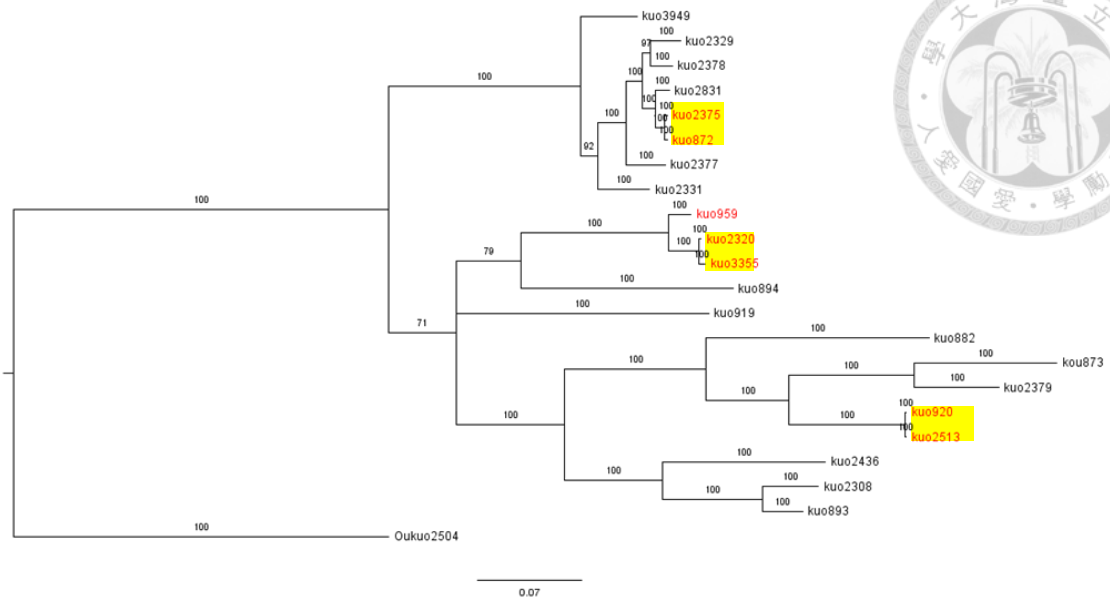
附錄五.5 骨碎補科(Davalliaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



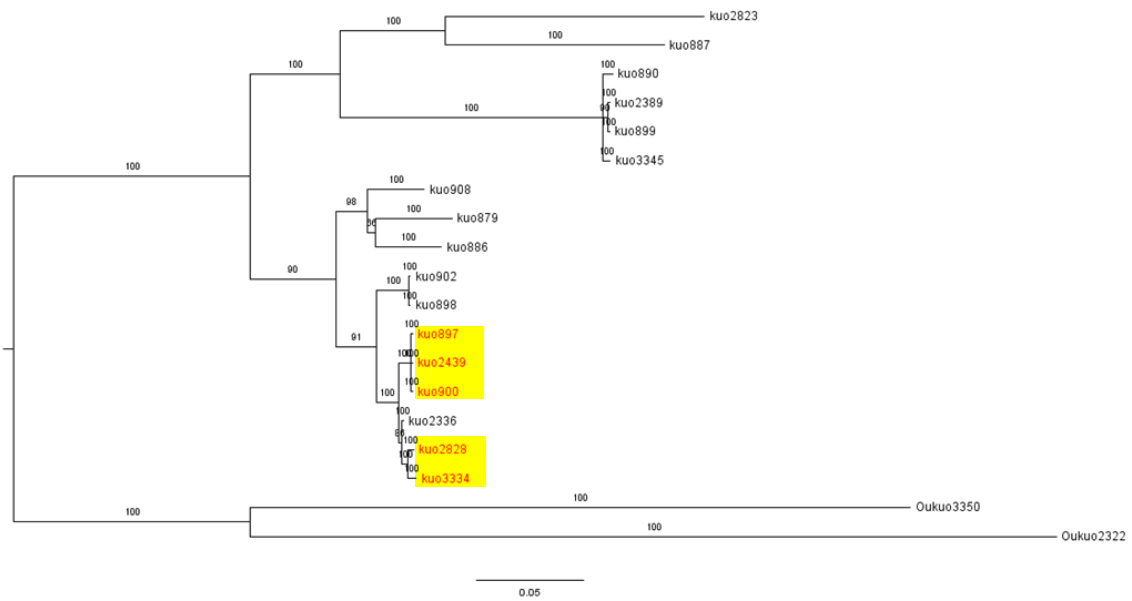
附錄五.6 碗蕨科 (Dennstaedtiaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



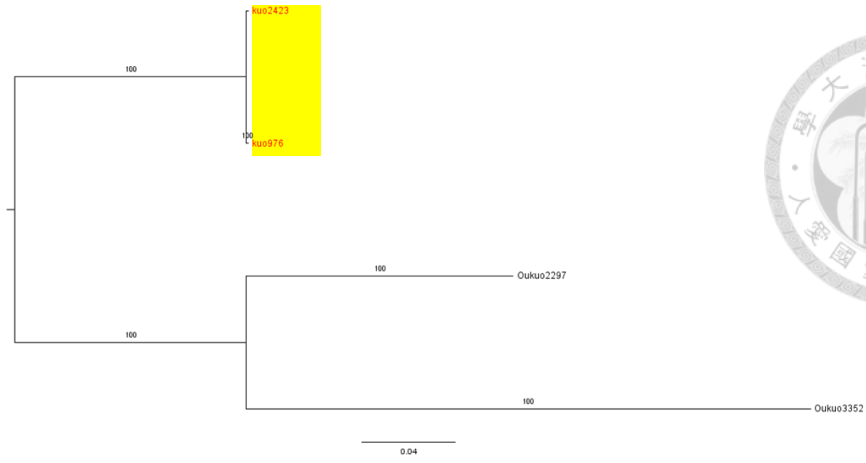
附錄五.7 鱗毛蕨科 (Dryopteridaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



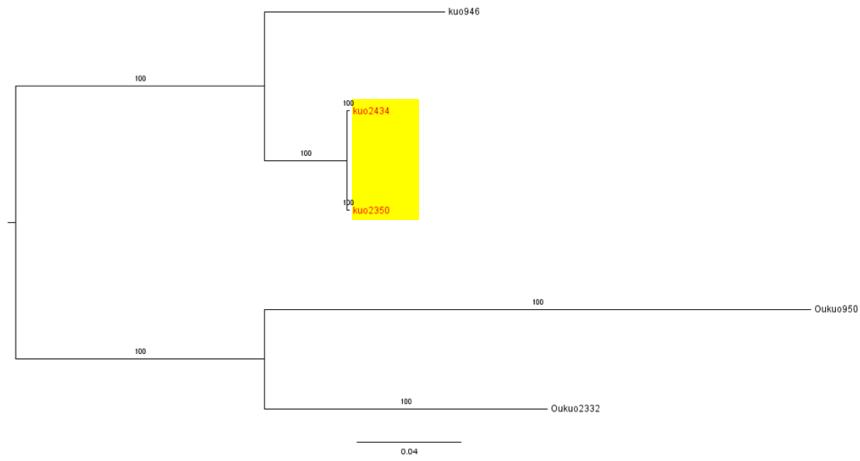
附錄五.8 膜蕨科 (Hymenophyllaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



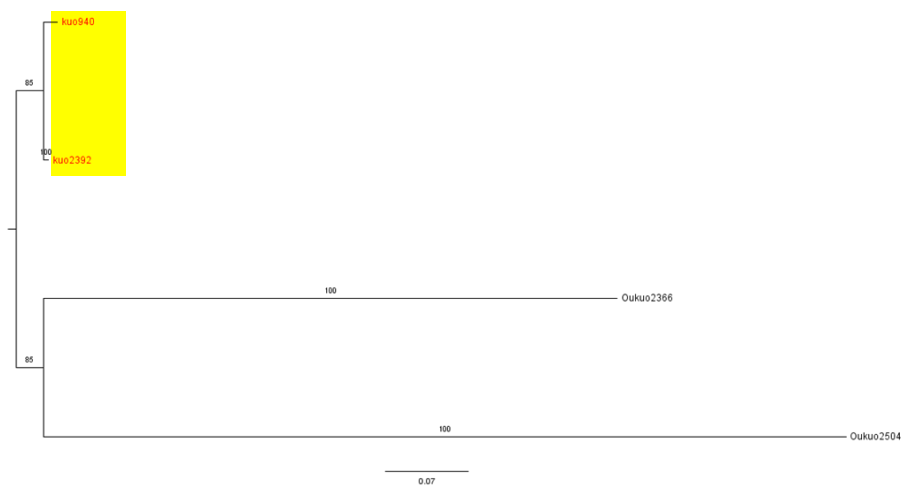
附錄五.9 鱗始蕨科 (Lindsaeaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



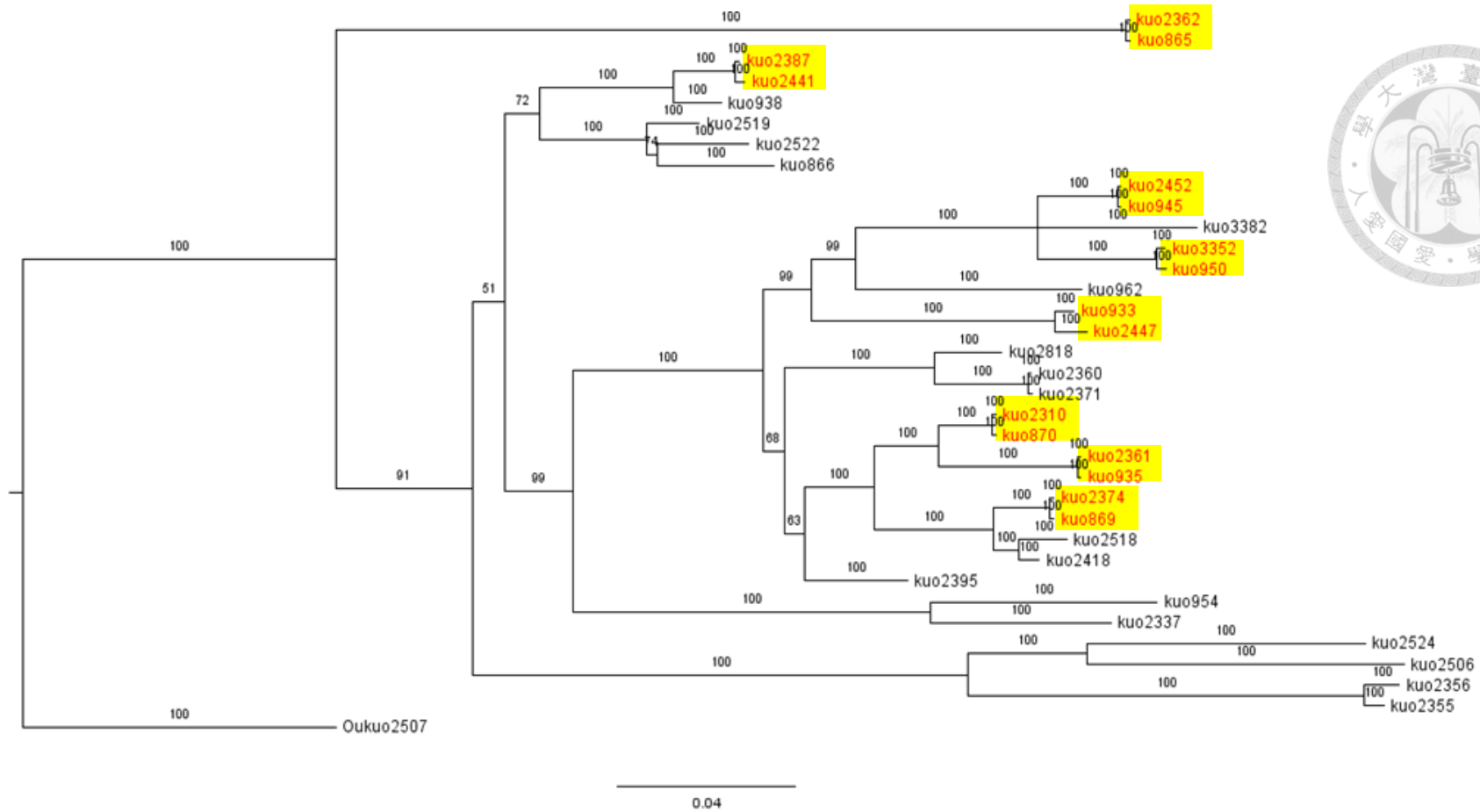
附錄五.10 羅蔓藤蕨科 (Lomariopsidaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



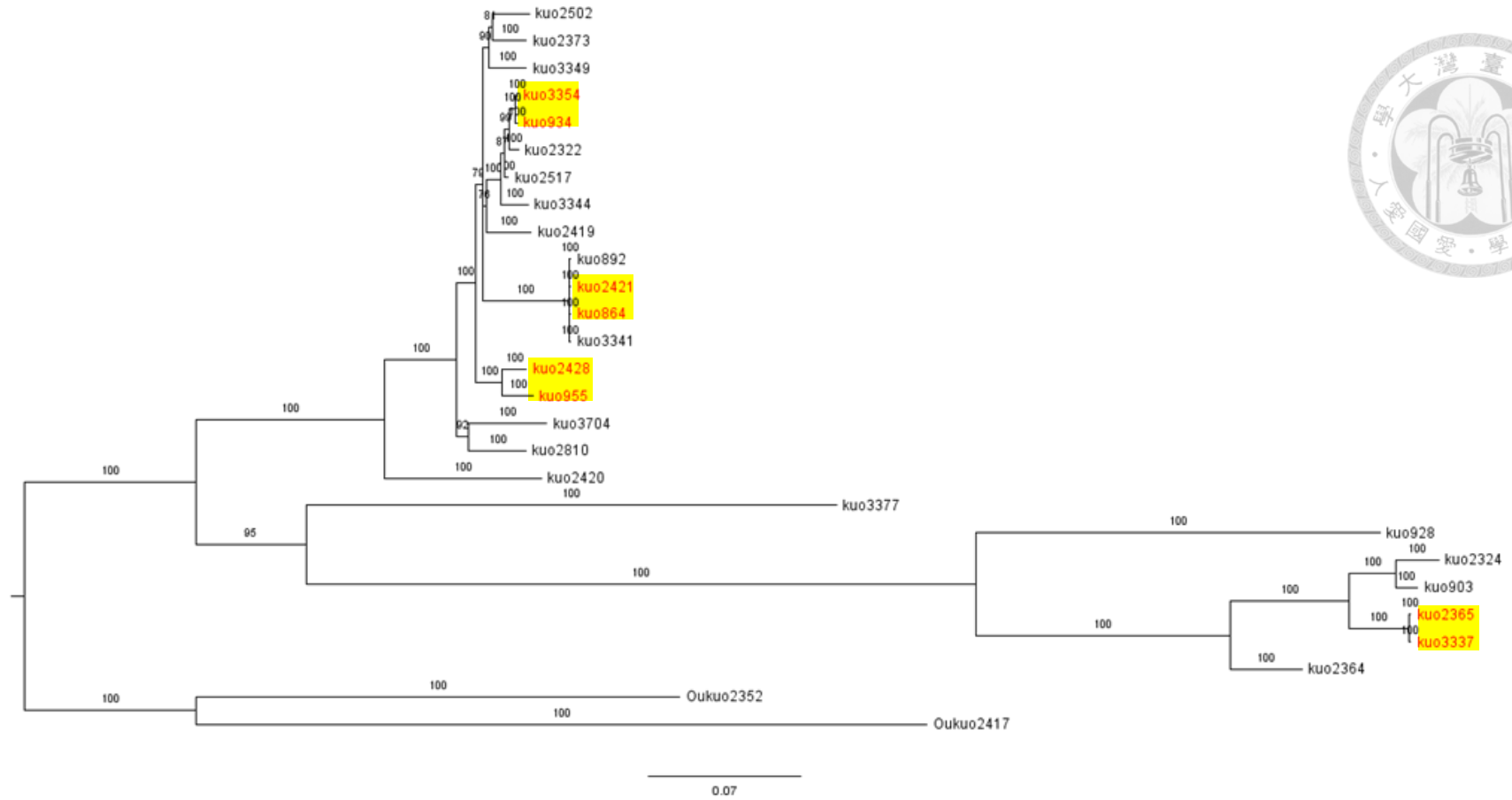
附錄五.11 腎蕨科 (Nephrolepidaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



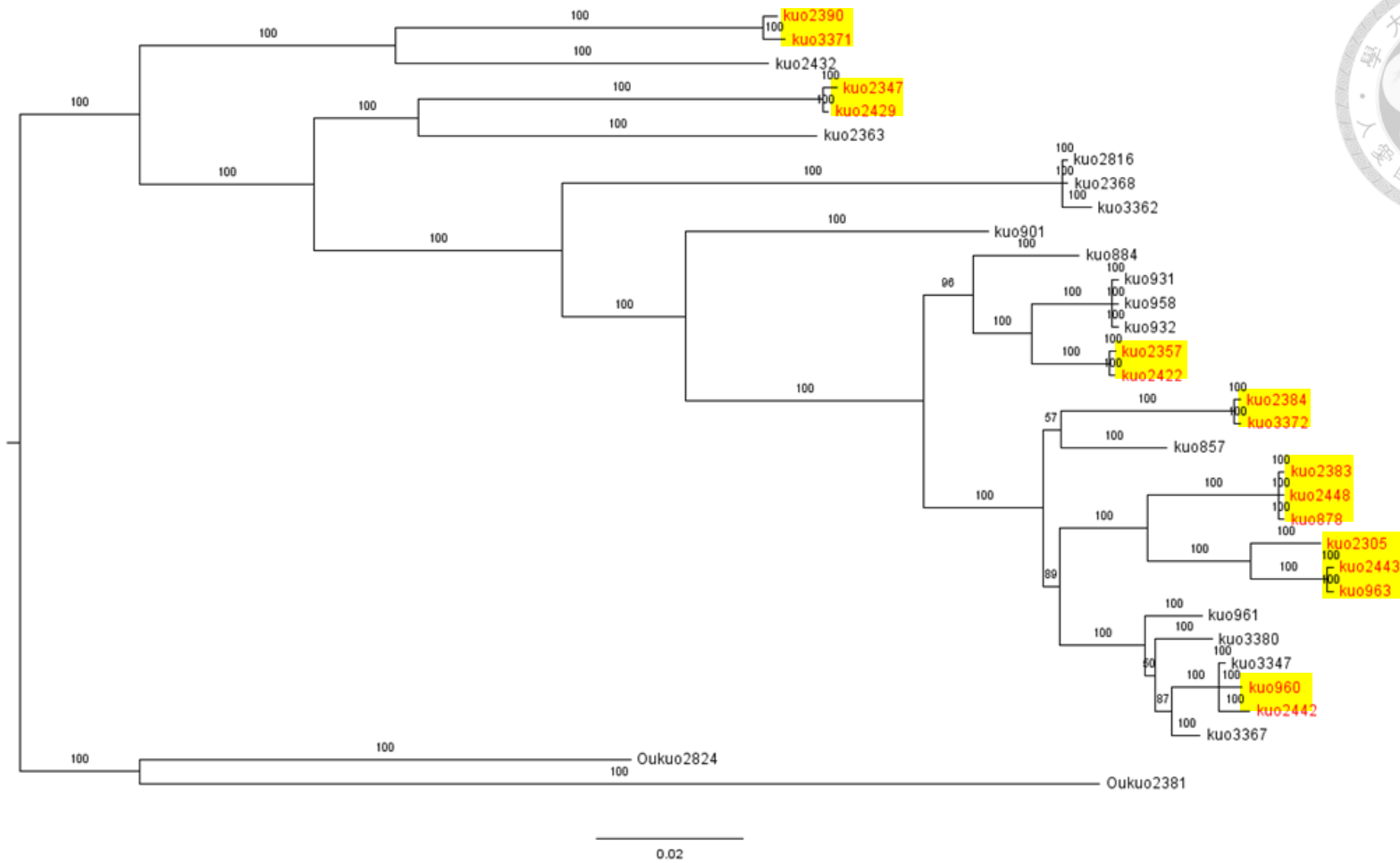
附錄五.12 瓶爾小草科 (Ophioglossaceae) *trnL-L-F* 貝式樹



附錄五. 13 水龍骨科 (Polypodiaceae) *trnL-L-F* 貝式樹

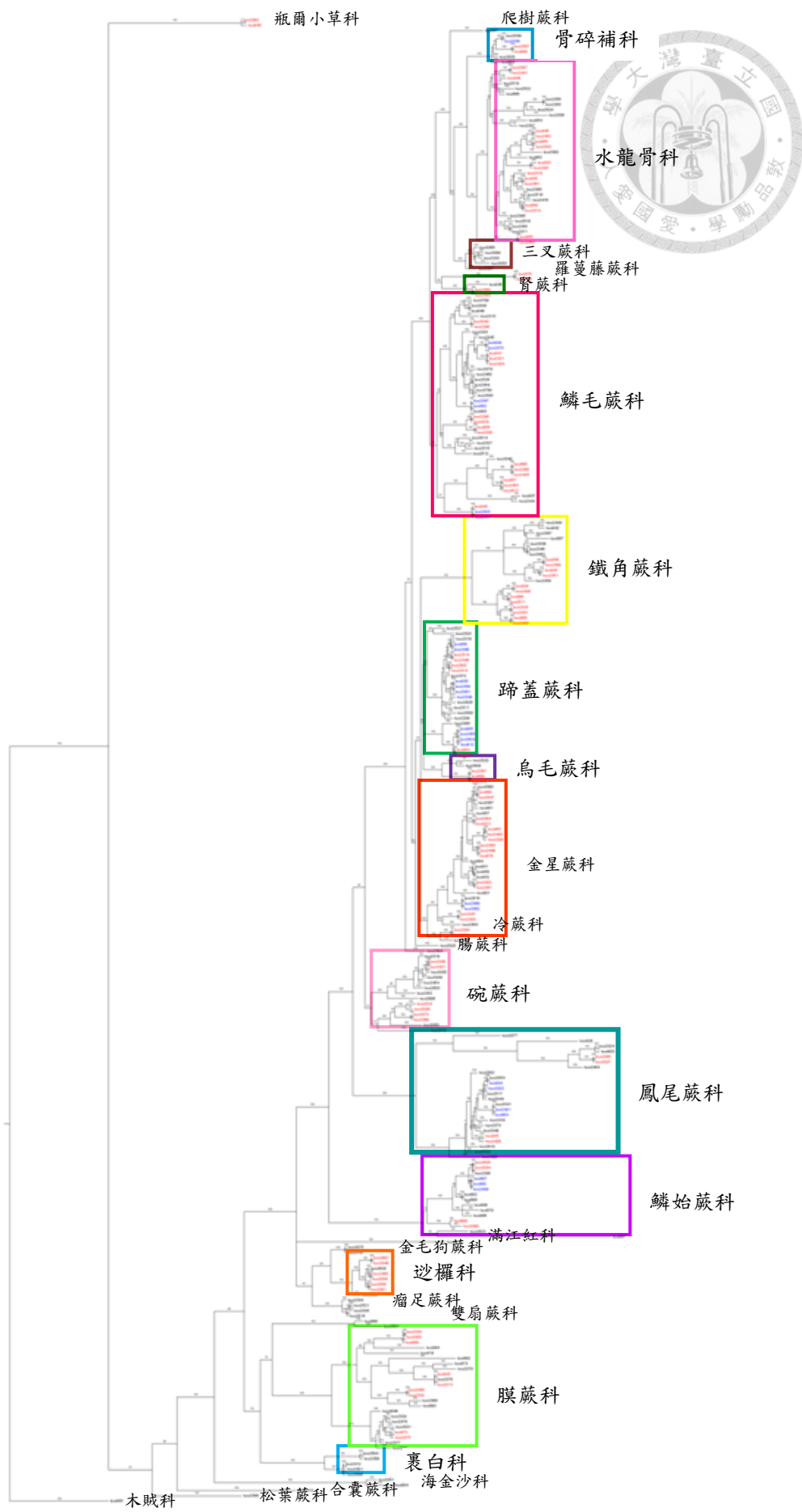


附錄五. 14 鳳尾蕨科 (Pteridaceae) *trnL-L-F* 貝式樹

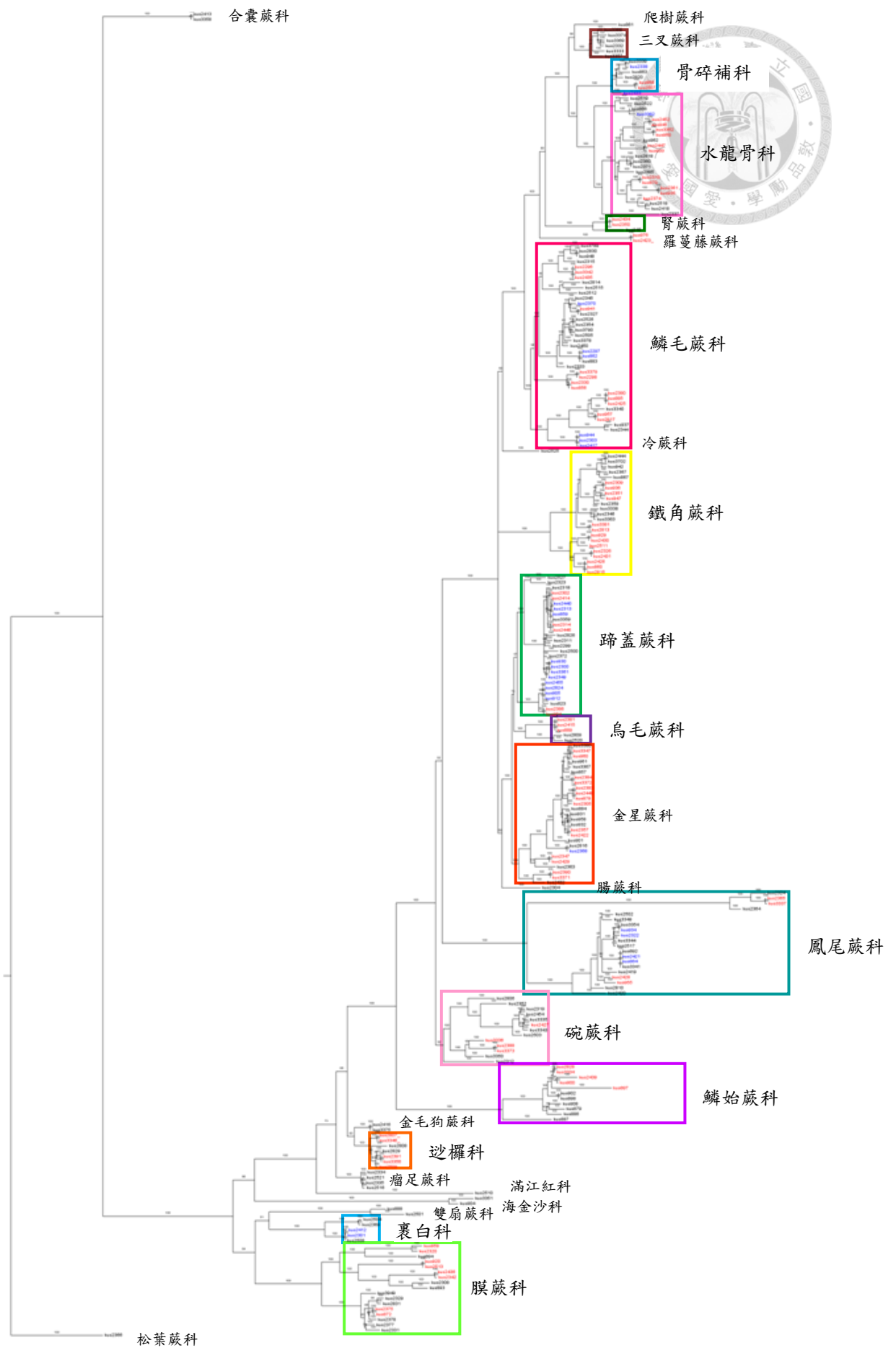


附錄五. 15 金星蕨科 (Thelypteridaceae) *trnL-L-F* 貝式樹

(二)跨 28 科 *rbcL* 貝式樹：紅色採集號為單系群物種；藍色採集號為非單系群物種；kuo965 為外群。



(二) 跨 26 科 *matK* 貝式樹: 紅色採集號為單系群物種; 藍色採集號為非單系群物種; kuo2366 為外群。



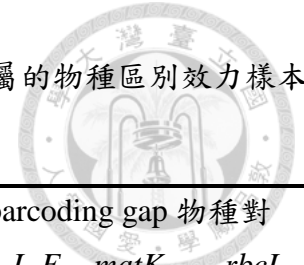
附錄六、*trnL-L-F*、*rbcL* 及 *matK* 親緣關係法(Basyien inferred phylogeny)單系群

樣本資訊

科名	類群	中文名	單系群		
			<i>trnL-L-F</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>
Aspleniaceae	<i>Asplenium antiquum</i>	山蘇花	yes		yes
	<i>Asplenium cuneatiforme</i>	大蓬萊鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Asplenium neolaserpitiifolium</i>	大黑柄鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Asplenium normale</i>	生芽鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Asplenium wrightii</i>	萊氏鐵角蕨	yes		yes
	<i>Hymenasplenium apogamum</i>	無配鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Hymenasplenium cheilosorum</i>	薄葉孔雀鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Hymenasplenium excisum</i>	剪葉鐵角蕨	yes	yes	yes
	<i>Hymenasplenium murakami-hatanakae</i>	湍生鐵角蕨	yes	yes	
Athryiaceae	<i>Deparia lancea</i>	單葉雙蓋蕨	yes	no	no
	<i>Deparia petersenii</i>	假蹄蓋蕨	yes	yes	yes
	<i>Diplazium dilatatum</i>	廣葉鋸齒雙蓋蕨	yes	yes	yes
	<i>Diplazium doederleinii</i>	德氏雙蓋蕨	no	yes	no
	<i>Diplazium donianum</i>	細柄雙蓋蕨	yes	yes	yes
	<i>Diplazium mettenianum</i>	深山雙蓋蕨	no	no	yes
	<i>Diplazium petri</i>	廣葉深山雙蓋蕨	no	no	no
Blechnaceae	<i>Blechnum orientale</i>	烏毛蕨	yes	yes	yes
Cyatheaceae	<i>Alsophila spinulosa</i>	臺灣杪櫨	yes	yes	yes
	<i>Gymnosphaera metteniana</i>	臺灣樹蕨	yes	yes	yes
	<i>Gymnosphaera podophylla</i>	鬼杪櫨	yes	yes	
Davalliaceae	<i>Davallia repens</i>	陰石蕨	yes	yes	yes
Dennstaedtiaceae	<i>Histiopteris incisa</i>	栗蕨	yes	yes	
	<i>Hypolepis punctata</i>	姬蕨	yes	yes	yes
	<i>Microlepia obtusiloba</i>	團羽鱗蓋蕨	yes	yes	
Dryopteridaceae	<i>Arachniodes rhomboides</i>	斜方複葉耳蕨	yes	yes	yes
	<i>Bolbitis appendiculata</i>	刺蕨	yes	yes	yes
	<i>Bolbitis subcordata</i>	海南實蕨	yes	yes	
	<i>Ctenitis eatonii</i>	愛德氏肋毛蕨	yes	yes	yes
	<i>Ctenitis subglandulosa</i>	肋毛蕨	yes	yes	yes
	<i>Dryopteris hasseltii</i>	假複葉耳蕨	yes	yes	no
	<i>Dryopteris polita</i>	臺東鱗毛蕨	yes	yes	
	<i>Dryopteris sparsa</i>	長葉鱗毛蕨	no	no	yes

	<i>Pleocnemia rufinervis</i>	網脈突齒蕨	yes	yes	no
Hymenophyllaceae	<i>Abrodictyum obscurum</i>	線片長桶蕨	yes	yes	yes
	<i>Crepidomanes late-alatum</i>	翅柄假脈蕨	yes	no	yes
	<i>Hymenophyllum denticulatum</i>	厚壁蕨	yes	yes	yes
	<i>Vandenboschia auriculata</i>	瓶蕨		yes	
Lindsaeaceae	<i>Lindsaea chienii</i>	錢氏陵齒蕨	yes	no	yes
	<i>Lindsaea orbiculata</i>	圓葉鱗始蕨	yes	yes	yes
	<i>Sphenomeris chusana</i>	烏蕨	no	yes	
Lomariopsidaceae	<i>Lomariopsis specabilis</i>	羅蔓藤蕨	yes	yes	yes
Nephrolepidaceae	<i>Nephrolepis cordifolia</i>	腎蕨	yes	yes	yes
Ophioglossaceae	<i>Ophioglossum pendulum</i>	帶狀瓶爾小草	yes	yes	
Polypodiaceae	<i>Aglaomorpha coronans</i>	崖薑蕨	yes	yes	
	<i>Colysis elliptica</i>	橢圓線蕨	yes	yes	yes
	<i>Colysis wrightii</i>	萊氏線蕨	yes	yes	no
	<i>Lemmaphyllum microphyllum</i>	伏石蕨	yes		yes
	<i>Lepidomicrosorium superficiale</i>	波氏星蕨	yes	yes	yes
	<i>Lepisorus monilisorus</i>	擬荻瓦葦	yes	yes	
	<i>Loxogramme salicifolia</i>	柳葉劍蕨	yes	yes	
	<i>Microsorium punctatum</i>	星蕨	yes	yes	yes
Pteridaceae	<i>Haplopteris elongata</i>	垂葉書帶蕨	yes	yes	yes
	<i>Pteris fauriei</i>	傅氏鳳尾蕨	no	no	no
	<i>Pteris grevilleana</i>	翅柄鳳尾蕨	yes	no	no
	<i>Pteris semipinnata</i>	半邊羽裂鳳尾蕨	yes	yes	yes
Thelypteridaceae	<i>Cyclosorus dentatus</i>	野小毛蕨	yes	no	yes
	<i>Cyclosorus esquirolii</i>	假毛蕨	yes	yes	yes
	<i>Cyclosorus taiwanensis</i>	臺灣圓腺蕨	yes	yes	yes
	<i>Cyclosorus triphyllus</i>	三葉新月蕨	yes	yes	yes
	<i>Cyclosorus truncatus</i>	稀毛蕨	yes	yes	
	<i>Cyclosorus wilfordii</i>	威氏聖蕨	no	no	no
	<i>Metathelypteris uraiensis</i>	毛柄凸軸蕨	yes	yes	yes
	<i>Phegopteris decursive-pinnata</i>	短柄卵果蕨	yes	yes	yes

附錄七、本研究 *matK*、*rbcL* 及 *trnL-L-F* 之計算 Barcoding gap 物種對比例(*P*-遺傳距離)於假鱗毛蕨屬和書帶蕨屬的物種區別效力樣本
資訊



同屬物種對		種間最小 <i>P</i> -distance			種內最大 <i>P</i> -distance			barcoding gap 物種對		
		<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-L-F</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>
<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia formosana</i>	0.034		0.021	0.001	0.000	0.000	yes		yes
<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia petersenii</i>	0.031	0.023	0.004	0.001	0.000	0.000	yes	yes	yes
<i>Deparia lancea</i>	<i>Deparia tomitaroana</i>		0.000	0.000		0.000	0.000		no	no
<i>Deparia petersenii</i>	<i>Deparia formosana</i>	0.0480		0.019	0.001	0.000	0.000	yes		yes
<i>Deparia petersenii</i>	<i>Deparia tomitaroana</i>		0.023	0.004		0.000	0.000		yes	yes
假鱗毛蕨屬物種區別成功率							100%	66.67%	80%	
<i>Haplopteris</i>										
<i>anguste-elongata</i>	<i>Haplopteris elongata</i>	0.054	0.060	0.027	0.000	0.003	0.000	yes	yes	yes
<i>Haplopteris elongata</i>	<i>Haplopteris ensiformis</i>	0.048		0.028	0.000	0.003	0.000	yes		yes
<i>Haplopteris elongata</i>	<i>Haplopteris flexuosa</i>	0.096	0.095	0.032	0.000	0.003	0.000	yes	yes	yes
書帶蕨屬物種區別成功率							100%	100%	100%	



附錄八、trnL-L-F 跨科序列比對困難(Muscle 演算法)

Sequence alignment table showing trnL-L-F gene sequences for various fern families. A black box highlights a region of high variability between positions 183 and 224.

本附錄五-1. trnL-L-F 鐵角蕨科、蹄蓋蕨科、烏毛蕨科、金狗毛蕨科、杪羅科、骨碎補科、碗蕨科、鱗毛蕨科、裏白科、膜蕨科、鱗始蕨科、羅蔓藤蕨科、鱗始蕨科、羅蔓藤蕨科、觀音座蓮科、腎蕨科、瓶爾小草科、瘤足蕨科、水龍骨科、鳳尾蕨科、三叉蕨科、金星蕨科，進行跨科類群序列比對，比對結果於序列比對視窗位點 183 至位點 224 出現同源性核苷酸比對困難

Sequence alignment table showing trnL-L-F gene sequences for various fern families. A black box highlights a region of high variability between positions 1076 and 1110.

本附錄五-2. trnL-L-F 鐵角蕨科、蹄蓋蕨科、烏毛蕨科、金狗毛蕨科、杪羅科、骨碎補科、碗蕨科、鱗毛蕨科、裏白科、膜蕨科、鱗始蕨科、羅蔓藤蕨科、鱗始蕨科、羅蔓藤蕨科、觀音座蓮科、腎蕨科、瓶爾小草科、瘤足蕨科、水龍骨科、鳳尾蕨科、三叉蕨科、金星蕨科，進行跨科類群序列比對，比對結果於序列比對視窗位點 1076 至位點 1110 出現同源性核苷酸比對困難