



國立臺灣大學生物資源暨農學院森林環境暨資源學系

博士論文

School of Forestry and Resource Conservation

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

doctoral dissertation

亞洲產秋海棠屬植物分子親緣關係研究以及對其系統分類與
生物地理學的影響

Molecular Phylogenetics of Asian *Begonia* (BEGONIACEAE):
Systematic and Biogeographic Implications

梁慧舟

Wai-Chao Leong

指導教授：鍾國芳 博士，彭鏡毅 博士

Adviser: Kuo-Fang Chung, Ph. D., Ching-I Peng, Ph. D.

中華民國106年1月

January 2017

致謝

感謝鍾國芳老師與彭鏡毅老師的指導。感謝口試委員劉和義老師、王俊能老師和胡哲明老師給予的意見與指正，並耐心修改內容。

得以完成論文，必須特別感謝彭鏡毅老師，對秋海棠的認識始於彭老師，在彭老師手下多年，多次前往亞洲各國採集，並有幸參與協助中國植物誌秋英文版海棠科的編撰，沒有彭老師給予的機會以及包括研究材料、設施與空間等各方面的支持，不可能完成這本論文。對於指導教授鍾國芳老師的包容與耐心，至為感念。感謝王俊能老師帶領分子實驗方法的入門並給予研究實驗上的支持。

多年來曾經在研究室一同努力的同仁及學習途中曾經得以相助的眾多朋友，族繁不及備載，在此一併感謝。

摘要



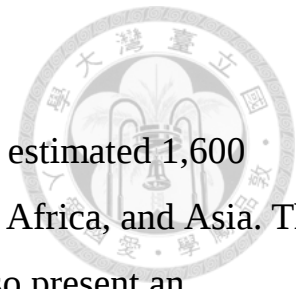
秋海棠屬為開花植物第六大屬，全世界約有1,600種，分布於亞洲、非洲與美洲的熱帶及亞熱帶地區，本屬分佈地域廣，但多數種類分布非常狹隘，物種特有性甚高，極易因棲地破壞而有滅絕之虞，其豐富的物種多樣性與特殊的生物地理分布式樣為研究植物多樣性起源與維持機制的絕佳素材。本研究嘗試檢討並改進亞州秋海棠各組(Section)間劃分方式，使用葉綠體DNA標記重建了亞洲秋海棠親緣關係，結果顯示亞洲秋海棠主要分成亞洲大陸支序群與南洋群島支序群，除了前人根據分子證據重新劃分的側膜組(Section *Coelocentrum*)與菲律賓秋海棠組(Section *Baryandra*)外，其他主要的組皆非單一起源。祖先性狀重建分析(Acensral State Reconstruction Analysis)的結果認為過去用於組別劃分的生殖構造特徵多不穩定。建議將秋海棠組重新定義成一群屬於亞洲大陸支序群的，具有球莖的落葉性秋海棠，並且建議把亞洲大陸支序群中常綠性物種全數扁果組。分子定年與祖先區域重建分析(Ancestral Area Reconstruction Analysis)的結果顯示亞州大陸秋海棠屬植物起源自非洲，並在到達亞洲後以喜馬拉雅/橫斷山脈與雲南/中南半島地區為中心，向外擴散至亞洲南洋群島、中國及台灣等地區。其豐富多樣性的產生，可能與六百萬年前中新世末期喜馬拉雅—西藏板塊的隆起有關。為了解種間雜交現象在秋海棠種化過程中扮演的角色，本研究利用二組低拷貝核內核苷酸DNA標記(*PI*, *RPB2*)與葉綠體標記所重建的親緣關係結果兩相比對，同時配合染色體數目資料，同時探討雜交事件對秋海棠果實性狀的演化過程造成的影響，發現多個經由種間雜交產生的異源多倍體，顯示種間雜交種化現象對秋海棠種化有一定貢獻，而不同果實性狀物種間雜交並種化的現象顯示果實性狀的演化歷史相當複雜。

【關鍵字】

亞洲、秋海棠屬、秋海棠科、大屬、生物地理、演化、雜交、分子親緣關係、生物系統學、分類學



Abstract



Begonia (Begoniaceae) is the 6th largest plant genus, with estimated 1,600 species occurring throughout tropical and subtropical America, Africa, and Asia. The rich diversity and unique biogeographic patterns of *Begonia* also present an unprecedented opportunity to test hypothesis regarding the origin and maintenance of biodiversity in tropical and subtropical regions. This study is focus on sectional delimitation of Asian *Begonia*. Molecular Phylogeny of Asian *Begonia* was reconstructed by using Chloroplast DNA markers. The result suggests that Indian species are early derived among Asian *Begonia* and the rest can be divided into two major clades, Continental Clade and Malesian Clade. Except Section *Coelocentrum* and Section *Baryandra*, which have been recircumscribed by molecular evidences, all main sections of Asian *Begonia* are not monophyletic. The result of Acentral State Reconstruction Analysis also suggests that reproductive characters using for sectional delimitation in traditional taxonomy are highly homoplastic. I suggest to redefine Section *Diploclinium* as a group of tuberous species in the Continental Clade. At the same time, all evergreen species in the Continental Clade was included into Section *Platycentrum*. The results of Molecular dating and Ancestral Area Reconstruction Analysis reveals that Asian *Begonia* dispersed from Africa. After arrived and diversified in the Himalayas/Hengduan Mt. and Yunnan/Indochina Area, and subsequently dispersed to Malesia, China, and Taiwan. The high species diversity of Continental Asia *Begonia* may related to the uplifting of Himalaya-Tibetan Plateau since late Miocene. Approach by assembling chloroplast and two nuclear DNA sequence data (*PI*, *RPB2*) suggests that fruit type evolution of Asian *Begonia* is interfered by hybridization events between capsular and berry-like fruit parent combinations. Studies of speciation mechanism of *Begonia* were previously focused on geographical isolation. This study primarily assesses the importance of hybridization in *Begonia* speciation process by providing molecular data.

【Key word】

Asia, *Begonia*, Begoniaceae, Big Genus, Biogeography, Evolution, Hybridization, Molecular Phylogeny, Systematics, Taxonomy



目次



致謝.....	i
中文摘要.....	ii
英文摘要.....	iv
目錄.....	vi
圖次.....	vii
表次.....	vii
第一章 研究背景.....	1
第二章 亞洲秋海棠分子親緣關係與特徵演化.....	10
前言	10
材料與方法	11
結果	14
討論	18
第三章 刺毛紅孩兒-由裂葉秋海棠劃分出之新種.....	30
前言	30
材料與方法	31
結果與討論	32
分類處理	33
第四章 亞洲秋海棠生物地理學研究.....	40
前言	40
材料與方法	41
結果	44
討論	46
第五章 亞洲秋海棠雜交多倍體化現象研究.....	53
前言	53
材料與方法	54
結果	57
討論	60
第六章 結論.....	70
文獻.....	72
附錄.....	83

表 次

表 2-1 各葉綠體標記 PCR 反應與定序使用之引子序列與黏合溫度.....	23
表 2-2 葉綠體 DNA 矩陣位點數及排除位點資料.....	24
表 2-3 形態特徵與特徵性狀表	24
表 3-1 刺毛紅孩兒(<i>Begonia difformis</i>) 與掌裂秋海棠(<i>B. palmata</i>) 之特徵比較.....	36
表 4-1 關鍵支序群定年及祖先區域重建分析結果	48
表 5-1 各 DNA 分子標記 PCR 反應與定序使用之引子序列與黏合溫度	62
表 5-2 DNA 矩陣位點數及排除位點資料.....	63

圖 次

圖 1-1 亞洲秋海棠屬植物分布	9
圖 2-1 利用五葉綠體標記以貝葉氏導出式重建之亞洲秋海棠屬植物親緣關係	25
圖 2-2 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果	27
圖 2-3 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果	28
圖 2-4 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果	29
圖 3-1 利用 ITS DNA 序列以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠屬植物親緣關係.....	37
圖 3-2 刺毛紅孩兒 (<i>Begonia difformis</i> ; A, B, E, F) 與掌裂秋海棠 (<i>Begonia Palmata</i> ; C, D) 之形態比較.....	38
圖 3-3 刺毛紅孩兒(<i>Begonia difformis</i>)之地理分布	39
圖 4-1 利用五個葉綠體片段以 BEAST 重建之亞洲秋海棠定年分析結果.....	49
圖 4-2 祖先區域重建分析之區域劃分	50
圖 4-3 sDIVA 分析之祖先地區重建分析結果.....	51
圖 5-1 利用葉綠體 DNA 分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係.....	64
圖 5-2 利用葉綠體 DNA 分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係.....	65
圖 5-3 利用 PI 分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係.....	66
圖 5-4 利用 PI 分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係.....	67
圖 5-5 利用 RPB2 分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係.....	68
圖 5-6 利用 RPB2 分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係.....	69

第一章 研究背景



概述

生物多樣性並非平均的分配在各個分類群，物種多樣性在時間與空間上最廣為人知的分布模式為Hollow curve (Dial and Marzluff, 1989; Purvis and Hector, 2000; Willis, 1922)，亦即相當比例的物種集中於少數幾個物種數龐大的分類群。以開花植物為例，全世界已知約250,000 種，分隸於12,000 餘屬(Scotland and Wortley, 2003; Thorne, 2002)，但半數以上的種類集中在550 屬(約佔開花植物屬總數之4.5%)，其中55 個屬為種數超過500 種的大屬。這些物種數龐大且分布廣泛的大屬是地球上演化最成功的分類群，亦為地球上生物多樣性重要的組成份子，長久以來，探究其演化成功的原因是生物學上重要的課題 (Frodin, 2004; Hodkinson and Parnell, 2006)，但這些物種數高的大屬在分類研究上的複雜度、難度較高，多缺乏完整分類的研究，常成為進一步研究的阻力。近年來隨著分子系統學領域的快速進展，研究這些大屬的親緣關係、生物地理、演化歷史被視為是瞭解地球上生物多樣性起源與維持機制的重要研究方向(Berry et al., 2005; Forrest et al., 2005; Hodkinson and Parnell, 2006; Jaramillo and Manos, 2001; Monro, 2006; Pelser et al., 2007; Weese and Bohs, 2007; Whitten et al., 2007)。

秋海棠屬(*Begonia*)植物全球將近有1,600 種 (Golding and Wasshausen, 2002; Gu et al., 2007; Hughes and Pullan, 2007)，分布於亞洲(約750 種)、美洲(約675 種)及非洲(約150 種)的熱帶與亞熱帶地區，根據Frodin (2004)的統計，其物種多樣性在開花植物中僅次於紫雲英屬(*Astragalus*, 約 3,280 種)、豆蘭屬(*Bulbophyllum*, 約2,030 種)、九節木屬(*Psychotria*, 約1951 種)、大戟屬(*Euphorbia*, 約1840 種)及藎屬(*Carex*, 約1,800 種)，為第六大屬。秋海棠科 (*Begoniaceae*) 植物屬於真薔薇類 I (Eurosids I) 瓜目(Cucurbitales)中的成員之一 (Angiosperm Phylogeny Group 2003)，秋海棠科中包含二個屬：夏威夷秋海棠屬 (*Hillebrandia* Oliv.) 與

秋海棠屬(*Begonia* L.)(Forrest and Hollingsworth 2003)，前者為單種屬(monotypic genus)，僅包含單一物種夏威夷秋海棠(*Hillebrandia sandwicensis* Oliv.)，分布於夏威夷群島(Clement et al., 2004)，其餘物種全歸入秋海棠屬，分布於亞洲(約有800種)、美洲(約有700種)和非洲(約有160種)(Doorenbos et al., 1998; Gu et al., 2007; Hughes, 2008)。

分子譜系研究指出秋海棠科、野麻科(Datisceae)與四數木科Tetramelaceae)三者在此生生物中親緣關係最為接近，而野麻科則為秋海棠科的姊妹群(sister group)，唯支持度(support value)並不高，同時秋海棠科中二屬互為姊妹群，並支持秋海棠屬為單起源的單系群(monophyletic group)(Clement et al., 2004; Plana, 2003; Plana et al., 2004; Zhang et al., 2006)，而非洲秋海棠的種數雖然較少，但分子譜系研究支持秋海棠屬起源於非洲的假說(Forrest and Hollingsworth, 2003; Goodall-Copestake et al., 2010)，並顯示美洲與亞洲的種類各自成為單系群(Forrest et al., 2005; Goodall-Copestake et al., 2010)。

秋海棠在形態、地理分布以及生態各方面都呈現特殊分化與豐富多樣性，為研究熱帶及亞熱帶植物演化及多樣性生成機制絕佳的素材，但由於秋海棠屬物種數目龐大，目前尚未有世界性的分類專論可供參考，鑑定十分不易，又因種間雜交頻繁(Chiang et al., 2001; Kiew et al., 2003; Li et al., 2005; Peng and Chen, 1991; Peng and Chiang, 2000; Peng and Ku, 2009; Peng et al., 2010; Peng and Sue, 2000; Teo and Kiew, 1999; 楊巽安, 2011)，是植物分類學研究中最為困難的分類群之一(Hoover et al., 2004)。秋海棠屬植物多呈肉質，葉基常歪斜，花單性，通常雌雄同株，花柱多呈螺旋狀，柱頭密被乳突，子房下位，中軸胎座為主，果實多為蒴果，通常具三翅，種子多數、細小(Doorenbos et al., 1998)，大多偏好陰濕之生境，大部分種類僅見於鮮少人為干擾的原始環境，除了極少數種類分布較廣泛，多數種類分布範圍狹隘，這些分布侷限的特有種極易因棲地破壞而消失絕滅(Clements et al., 2006; Kiew, 2005)。

秋海棠屬的分類



Doorenbos 等人(1998)整理一個半世紀以來秋海棠的分類研究，根據形態、解剖特徵及地理分布，將秋海棠屬劃分為63 組(sections)，爾後(de Wilde and Plana, 2003; Forrest and Hollingsworth, 2003; Gu, 2007; Hughes and Takeuchi, 2015; Shui et al., 2002)等研究增加了五個組。據目前整理統計，亞洲秋海棠約有800種，劃分成21-24 組(Aitawade and Yadav, 2012; Ardhaka et al., 2016; Ardi et al., 2014; Ardi et al., 2013; Ardi and Hughes, 2010; Averyanov and Nguyen, 2012; de Wilde, 2011; de Wilde et al., 2011; Ding et al., 2014; Doorenbos et al., 1998; Girmansyah, 2011; Girmansyah et al., 2009; Golding and Wasshausen, 2002; Gu et al., 2007; Hughes, 2008, 2011; Hughes and Coyle, 2009; Hughes et al., 2010; Hughes and Girmansyah, 2011a, b; Hughes et al., 2009; Hughes and Pullan, 2007; Hughes et al., 2011; Hughes and Takeuchi, 2015; Kiew, 2001a, 2007; Kiew and Sang, 2007; Ku et al., 2008; Leong et al., 2015; Li et al., 2016; Li et al., 2008; Lin et al., 2014a, b; Lin et al., 2015; Lin and Peng, 2014; Liu et al., 2007; Nakamura et al., 2013; Nguyen et al., 2010; Peng et al., 2007; Peng et al., 2014a; Peng and Ku, 2009; Peng et al., 2008a; Peng et al., 2012; Peng et al., 2014b; Peng et al., 2015a; Peng et al., 2015b; Peng et al., 2008b; Peng et al., 2010; Peng et al., 2014c; Peng et al., 2013; Peng et al., 2015c; Phutthai et al., 2012; Phutthai and Sridith, 2010; Phutthai and Sridith, 2014; Rajbhandary et al., 2010; Rajbhandary and Shrestha, 2007; Rubite et al., 2014; Sang and Kiew, 2016; Sang et al., 2013; Shui, 2007; Souvannakhoummane et al., 2016; Tanaka and Hayami, 2011; Tanaka and Hughes, 2007; Tanaka and Peng, 2016; Tebbitt, 2007; Thomas et al., 2009a; Thomas et al., 2009b, 2011a; Thomas and Hughes, 2008; Tian et al., 2015; Tian et al., 2014; Wei et al., 2007)，按各組的種數多寡排列依序為：sect. *Petermannia* (等翅組，約250 種)，sect. *Diplocium* (秋海棠組，約170 種)，sect. *Platycentrum* (扁果組，約140 種)，sect. *Baryandra* (尖籽秋海棠組，

約50 種), sect. *Coelocentrum* (側膜組, 約50 種), sect. *Reichenheimia* (單座組, 45 種), sect. *Parvibegonia* (小秋海棠組, 30 種), sect. *Sphenanthera* (圓果組, 約20 種), sect. *Symbegonia* (合被秋海棠組, 13 種), sect. *Bracteibegonia* (苞花秋海棠組, 6 種), sect. *Alicida* (小花組, 4 種), sect. *Leprosae* (棒果組, 4 種), sect. *Heeringia* (類天胡荽組, 2 種), sect. *Lauchea* (輪葉組, 2 種), sect. *Monophyllon* (單葉組, 2 種), sect. *Monopteron* (單翅組, 2 種), sect. *Ridleyella* (二室單座組, 2 種), sect. *Apterobegonia* (無翅秋海棠組, 1 種), sect. *Haagea* (二被秋海棠組, 1 種), sect. *Oligandrae* (寡雄組, 1 種) sect. *Putzeysia* (芽生秋海棠組, 1 種), sect. *Tetraphila* (喜四組, 1 種; 本組亦產於非洲); 此外, 尚有約50 個種類尚未劃分至任何組別。

傳統分類著重的特徵如柱頭數目、子房室數目、胎座類型、胎座裂片數、果實類型、果實形態等大多不具單一起源, 以致傳統定義下根據單一或少數特徵劃分的組大多為多系群(polyphyletic group)(Forrest and Hollingsworth, 2003; Forrest et al., 2005; Tebbitt et al., 2006; Thomas et al., 2011b), 例如亞洲有一群果實呈漿果狀(berry-like)的秋海棠, 果實成熟後不乾燥並且不開裂, 不同於大多數的秋海棠物種, 在本屬中非常特殊, 一般認為漿果的性狀與動物傳播有關, 也因此, 這群具漿果狀果實的物種就被歸納成一個組——圓果組(sect. *Sphenanthera*), 但親緣研究顯示漿果狀果實在亞洲秋海棠中具有多起源, 是由演化過程中呈現非同源相似性(homoplasy) 造成的結果(Tebbitt et al., 2006), 反之, 植物為常綠或落葉性、具球莖、根莖或直立莖, 氣孔為單一或成群(clustered)等特徵性狀, 在分類學上的重要性卻長期被忽視(Rajbhandary et al., 2011; Rubite et al., 2013)。

分子親緣關係

過去針對海棠分子親緣系統的研究報告眾多(Goodall-Copestake et al., 2009; Goodall-Copestake et al., 2010; Hughes et al., 2003; Plana, 2003; Plana, 2004)



(Forrest and Hollingsworth, 2003; Forrest et al., 2005; Harrison et al., 2016; Tebbitt et al., 2006; Thomas et al., 2011b)。其中Forrest and Hollingsworth (2003)的研究指出，雖然非洲秋海棠的種數較少，分子親緣關係支持秋海棠屬起源於非洲的假說，並顯示美洲與亞洲的種類各自成為單系群，Forrest et al. (2005), Tebbitt et al. (2006)的研究也指出許多傳統定義的組，都不是單系群，且傳統分類著重的特徵(e.g. Doorenbos et al., 1998; Shui et al., 2002)如植物為常綠或落葉性、具球莖、根狀莖或直立莖、花被片數、胎座類型、子房室數目、胎座裂片數、果翅數目等是否為共同衍徵(synapomorphy)均有待進一步研究。例如亞洲產的圓果組(sect. *Sphenanthera*)的果實呈不乾裂的漿果狀，在秋海棠屬中相當特殊，一般認為漿果的性狀與動物傳播有關，殆為單一起源的演化事件，但親緣研究顯示圓果組成員並不形成單系群，漿果的性狀在演化過程中呈現的非同源相似性(homoplasy) (Tebbitt et al., 2006)。然而以上研究重點主要為非洲和美洲，亞洲種類取樣明顯不足：Forrest et al. (2005)取樣64 種秋海棠，其中亞洲種類僅取樣14 種(約亞洲種類之0.5%)；而以 Tebbitt et al. (2006)為例，該研究著重亞洲種類親緣關係，為上述五篇研究中亞洲種類取樣最多者，但也僅取樣11 組42 種(約亞洲種類之6.4%)。綜合言之，以上研究取樣之代表性嚴重不足，且親緣關係解析度不夠，實未釐清亞洲秋海棠包含幾個支序群(clades)、支序群間的演化關係、以及這些支序群與現今依據形態特徵定義的組的關係。

Thomas 等人(2011b)利用三個葉綠體 DNA 標記，針對亞洲秋海棠屬植物親緣關係的研究顯示，亞洲秋海棠以少數分布於印度次大陸的物種為基群，其餘多數物種分成兩大主要支序群：1. Clade I – 包含主要分布於南洋群島，染色體數 $2n=30$ 為主的物種，主要成員為等翅組(sect. *Petermannia*)、產自菲律賓的秋海棠組(sect. *Diploclinium*)及根莖型的單座組物種(sect. *Reichenheimia*)；2. Clade II – 包含主要分布於亞洲大陸，染色體數 $2n=22$ 為主的物種，以具球莖的落葉性物種為基群，而常綠性的扁果組(sect. *Platycentrum*)與圓果組(sect. *Sphenanthera*)則形成一單系群並深陷於(deeply nested)落葉性支序群中(Thomas et al., 2011b)。在

利用 nrITS DNA 標記，針對亞洲秋海棠屬植物親緣關係的研究中，也得到類似結果(Rajbhandary et al., 2011)，唯前述二研究報導中，產自中國大陸與台灣的物種相當缺乏，以至於中國大陸與台灣原產的秋海棠屬植物在地位尚不明確。



植物地理學

關於秋海棠的親緣地理學(phylogeography)研究，過去報導中指出：非洲、美洲與亞洲大陸間秋海棠的親緣關係與其地理分布有明顯相關(Forrest and Hollingsworth, 2003; Forrest et al., 2005; Goodall-Copestake et al., 2010)。而就 *Begonia sutherlandii* J.D. Hooker 單一物種內不同族群間，其親緣關係與其地理分布也有明顯相關(Hughes and Hollingsworth, 2008)。針對南洋群島的秋海棠物種的研究顯示其具有由西向東的拓遷模式，並在拓遷過程中，可能因地理隔離而造成快速種化(Thomas et al., 2012)，此一結果分別與前述全球各大洲之間以及種內不同族群之間的研究相呼應。亞洲秋海棠的分布(圖 1-1)從印度向東延伸，最東可分布到所羅門、斐濟和萬那杜等地，同時秋海棠(*B. grandis* Dryand.)此一落葉性物種的分布可向北延展至中國河北省及北京等北緯約 45 度地區(Shui et al., 2002; Tebbitt, 2005)。其分佈中心有二：熱帶中心(婆羅洲、菲律賓群島以及新幾內亞等地)和大陸中心(由喜馬拉雅地區經橫斷山脈延伸至中南半島北部)。針對亞洲秋海棠屬植物起源的研究則顯示，亞洲秋海棠可能是從非洲通過印度次大陸抵達喜馬拉雅山區(Rajbhandary et al., 2011; Thomas et al., 2012)，並帶著具球莖以及落葉性的性狀拓遷至亞洲其他地區(Rajbhandary et al., 2011)。然而，同樣由於中國大陸物種的缺乏，導致結果不甚明確：到底喜馬拉雅地區是否現生亞洲秋海棠的起源中心？而亞洲大陸秋海棠的拓遷模式為何？是否也有明顯的方向性？其親緣距離與地理距離間是否也具明顯相關性？

種間雜交

過去的分子譜系研究不斷強調地理隔離在秋海棠種化過程中的重要性 (Chung et al., 2014; Forrest and Hollingsworth, 2003; Hughes and Hollingsworth, 2008; Plana, 2003; Plana, 2004; Thomas et al., 2012)，相對的，種間雜交的現象在秋海棠種化過程中扮演的角色卻一直被忽略。現生亞洲秋海棠的天然種間雜交頻繁 (Chiang et al., 2001; Kiew et al., 2003; Li et al., 2005; Peng and Chen, 1991; Peng and Chiang, 2000; Peng and Ku, 2009; Peng et al., 2010; Peng and Sue, 2000; Teo and Kiew, 1999)，但就長期演化角度而言，雜交後代必須克服生殖隔離的障礙，才能對物種多樣性有較大貢獻，在亞洲秋海棠過去的演化歷史中，究竟有多少雜交種化事件成功續存到現代？其對現生物種多樣性的貢獻如何？對於特徵演化是否造成影響？對秋海棠的拓遷是否有正面的影響？

透過分別以核內低拷貝基因序列以及葉綠體 DNA 序列重建之親緣關係進行比對，並以此探討染色體數的演化，將可能回答以上問題。

本論文架構

本研究以亞洲大陸產秋海棠物種為重點，補足過去對中國秋海棠物種的缺口，嘗試探討亞洲秋海棠屬植物的親緣關係與性狀演化，以探討不同性狀在組間分類上的重要性，並檢討現行的組間分類架構。透過生物地理學研究，了解亞洲大陸秋海棠的拓遷模式，比對起源時間與傳播路徑，並與可能相關的地質事件進行以對。最後利用核內低拷貝基因 DNA 序列探討種間雜交在亞洲秋海棠種化過程中扮演的腳色，以及種間雜交對形態特徵演化的影響。

第二章藉由重建亞洲秋海棠親緣關係，嘗試進一步釐清亞洲秋海棠各支序群之間的演化關係，並進一步利用祖先性狀重建分析，檢視傳統上普遍重視或者可能在演化上具有重要意義的性狀，重新檢討這些性狀在分類和演化上的重要性，並針對現行分類系統進行檢討各主要的組之間的關係。

在親緣關係研究過程中意外發現掌裂秋海棠(*Begonia palmata*)與刺毛紅孩

兒(*B. palmata* var. *difformis*)並非單系群，因此在第三章中，將進一步針對兩者擴大取樣並進行分子親緣關係分析。

第四章延續使用第二章中的資料矩陣進行生物地理學研究，利用分子定年的結果推估各支序群的分歧時間，嘗試比對可能相關的地質事件，以探討地質的變遷對秋海棠演化過程的影響。同時，藉由祖先區域重建分析可了解亞洲大陸秋海棠的拓遷路徑，進而比較亞洲大陸支序群與南洋群島支序群的拓遷模式。

種間雜交現象在亞洲秋海棠種化過程中扮演的腳色、對秋海棠物種多樣性的貢獻，將在第五章中透過利用核內低拷貝基因 DNA 序列進行研究。同時，種間雜交現象對特徵演化的影響以及所引申出對組別劃分的衝擊將一併探討。

最後在第六章中總結整體研究的發現，並提出未來研究方向。

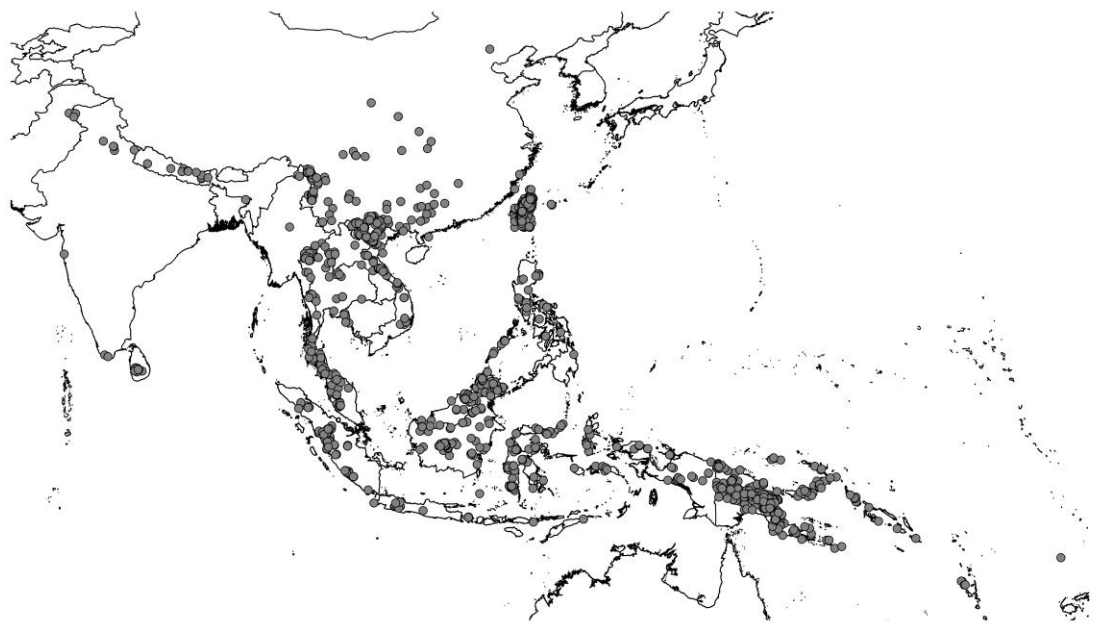


圖 1-1 亞洲秋海棠屬植物分布

第二章 亞洲秋海棠分子親緣關係與特徵演化



前言

秋海棠屬(*Begonia*)植物全球將近有 1,600 種 (Golding and Wasshausen, 2002; Gu et al., 2007; Hughes and Pullan, 2007), 分布於亞洲(約 750 種)、美洲(約 675 種)及非洲(約 150 種)的熱帶與亞熱帶地區, 根據(Frodin, 2004)的統計, 其物種多樣性在開花植物中僅次於紫雲英屬(*Astragalus*, 約 3,280 種)、豆蘭屬(*Bulbophyllum*, 約 2,030 種)、九節木屬(*Psychotria*, 約 1951 種)、大戟屬(*Euphorbia*, 約 1840 種)及藎屬(*Carex*, 約 1,800 種), 為第六大屬。如此龐大分類群的分類學研究誠屬不易, 必須先建立具有明確共同演徵(synapomorphy)並符合親緣關係的屬下分類群, 如亞屬(subgenus)或組(section)等, 方便再進一步針對各屬下分類群進行更全面的研究。回顧傳統分類著重的特徵(e.g. Doorenbos et al., 1998; Shui et al., 2002)是否為共同衍徵(synapomorphy)均有待商榷, 根據這些特徵建立的屬下分類群是否符合這些秋海棠物種的演化歷史?

Forrest and Hollingsworth (2003)的研究指出, 雖然非洲秋海棠的種數較少, 分子親緣關係支持秋海棠屬起源於非洲的假說, 並顯示美洲與亞洲的種類各自成為單系群, Forrest et al. (2005), Tebbitt et al. (2006)的研究也指出許多傳統定義的組, 都不是單系群, 且傳統分類著重的特徵(e.g. Doorenbos et al., 1998; Shui et al., 2002)如植物為常綠或落葉性、具球莖、根狀莖或直立莖、花被片數、胎座類型、子房室數目、胎座裂片數、果翅數目等是否為共同衍徵(synapomorphy)均有待進一步研究。例如亞洲產的圓果組(sect. *Sphenanthera*)的果實呈不乾裂的漿果狀, 在秋海棠屬中相當特殊, 一般認為漿果的性狀與動物傳播有關, 殆為單一起源的演化事件, 但親緣研究顯示圓果組成員並不形成單系群, 漿果的性狀在演化過程中呈現的非同源相似性(homoplasy) (Tebbitt et al., 2006)。Thomas 等人(2011b)利

用三個葉綠體DNA標記，針對亞洲秋海棠屬植物親緣關係的研究顯示，亞洲秋海棠以少數分布於印度次大陸的物種為基群，其餘多數物種分成兩大主要支序群：

1. Clade I – 包含主要分布於南洋群島，染色體數 $2n=30$ 為主的物種，主要成員為等翅組(*sect. Petermannia*)、產自菲律賓的秋海棠組(*sect. Diploclinium*)及根莖型的單座組物種(*sect. Reichenheimia*)；2. Clade II – 包含主要分布於亞洲大陸，染色體數 $2n=22$ 為主的物種，以具球莖的落葉性物種為基群，而常綠性的扁果組(*sect. Platycentrum*)與圓果組(*sect. Sphenanthera*)則形成一單系群並深陷於(deeply nested)落葉性支序群中(Thomas et al., 2011b)。Rajbhandary et al. (2011) 在利用 nrITS DNA標記，針對亞洲秋海棠屬植物親緣關係的研究中，也得到類似結果，唯前述二研究報導中，產自中國的物種相當缺乏，尤其中國產秋海棠中種類最豐富的扁果組秋海棠(*Section Platycentrum*)、特產於中國—北越喀斯特石灰岩地區的側膜組秋海棠(*Section Coelocentrum*)、以及有相當比例分布於中國並對於亞洲秋海棠早期擴遷可能具有重要意義的落葉性物種。

因此本研究希望藉由補足中國與鄰近地區的秋海棠物種，再一次重建亞洲秋海棠親緣關係，藉此釐清亞洲秋海棠各支序群之間的演化關係、以及這些支序群與現今依據形態特徵定義的組的關係，並進一步利用祖先性狀重建分析，檢視傳統上普遍重視或者可能在演化上具有重要意義的性狀，重新檢討這些性狀在分類和演化上的重要性，並針對現行分類系統進行檢討各主要的組如側膜組、秋海棠組、扁果組、圓果組、等翅組、小花秋海棠組、單座組、菲律賓秋海棠組等之間的關係。

材料與方法

取樣

本研究使用之材料主要來自各地野外採集並以矽膠乾燥之葉片材料，以及中央研究院生物多樣性中心實驗溫室中栽培的秋海棠屬植物活體標本。共取樣 188



個分類群(附錄一)，其中亞洲分類群分別屬於下列 14 個不同的組(Section)：扁果組(*Platycentrum*, 51 sp.)，秋海棠組(*Diploclinium*, 30 sp.)，等翅組(*Petermannia*, 19 sp.)，側膜組(*Coelocentrum*, 18 sp.)，單座組(*Reichenheimia*, 13 sp.)，圓果組(*Sphenanthera*, 14 sp.)，尖籽秋海棠組(*Baryandra*, 10 sp.)，小花組(*Parvibegonia*, 10 sp.)，棒果組(*Leprosae*, 2 sp.)、苞花秋海棠 *Bracteibegonia* (1 sp.)，二被秋海棠組 *Haagea* (1 sp.)，單翅組 *Monopteron* (1 sp.)，二室單座組 *Ridleyella* (1 sp.)，合被秋海棠組 *Symbegonia* (1 sp.) 以及五種未劃分組別的物種。分析中同時包含 3 個美洲物種和 8 個非洲物種，並選取其中與亞洲秋海棠關係最遠的三個非洲物種充當外群。本次取樣的亞洲分類群地理區域涵蓋印度次大陸、喜馬拉雅地區(不丹及尼泊爾)，中國大陸(雲南、廣西、廣東、海南、四川、貴州及西藏等)，台灣，中南半島(緬甸、泰國及越南)，馬來半島及南洋群島(蘇門答臘、爪哇、婆羅洲、菲律賓群島、蘇拉威西及新幾內亞等)。形態特徵除了區分組別時所使用之「重要」特徵外，同時也考慮了是否具有球莖，此性狀與生育環境有密切關聯，具球莖者為落葉性，通常生長在季節變化顯著或具明顯乾季的環境，不具球莖者則為被視為常綠性，通常生長於終年潮濕，季節變化不明顯的環境。另外，是否生長於石灰岩地區也是取樣時考慮的因素之一。

DNA 萃取

參考前人研究方法(Doyle and Doyle, 1987; Kopperud and Einset, 1995)，以 CTAB 方法從液態氮下磨成粉末的植物組織分離出 genomic DNA。由於多數秋海棠植株呈酸性，常導致 DNA 萃取不易，Kopperud and Einset (1995) 利用稀釋之緩衝液清洗磨碎的材料，使 pH 值上升後，再加入 CTAB 萃取 DNA，以提高實驗成功率及產量。

DNA 標記選取、擴增與定序

本研究選取了五個葉綠體 DNA 分子標記進行 PCR 及定序，分別為 rpL16

intron, trnC-ycf6 spacer, ycf6-psbM spacer, psbM-trnD spacer, trnL-F (trnL intron + trnL-trnF spacer), 針對各標記進行聚合酶連鎖反應(PCR)時所使用之引子序列如表一。

PCR 均以 200 μ L 微量離心管進行，包含 Taq DNA 聚合酶 Master Mix RED (Ampligon, Denmark) 12.5 μ L，選定的引子正反兩端各 1 μ L (10 μ M)，模板 DNA 1-2 μ L，最後加入蒸餾水 8.5-9.5 μ L，調整反應物總體積至 25 μ L。PCR 擴增過程中，先增溫至 95 $^{\circ}$ C 5 min 使反應 DNA 變性，再進行下列循環 30 次：1. 95 $^{\circ}$ C 30 sec 使反應 DNA 變性；2. 53-60 $^{\circ}$ C 30 sec 促使引子黏合（黏合溫度見表一）；3. 72 $^{\circ}$ C 60-90 sec 促使引子延長（反應時間是產物長度而定），最後延長反應 72 $^{\circ}$ C 5 min。

PCR 產物以 PCR -Advanced Clean Up Kit (Viogene, Taiwan) 純化後，送往中央研物暨微生物研究所核酸分析核心實驗室進行定序，DNA 定序儀機型為 ABI 3730 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA)。

DNA 序列整理排序及資料矩陣建立

同一 PCR 產物定序後所得之兩端 DNA 序列（通常 2-3 條），先以 SeqManTM II (DNASTAR, USA) 比對合併，經合併後序列以 MEGA5 (Tamura et al., 2011) 進行多重 DNA 序列排序（multiple DNA sequence alignment），先利用 MEGA5 內建之 MUSCLE (Edgar, 2004) 進行自動排序，完成後以目視予以修正及適當調整，形成可供進一步分析之資料矩陣(data matrix)。矩陣中遇有多重複 A/T (poly A/T) 序列、微衛星體 (microsatellite) 片段或難以判斷同源性(homology)的混淆位點 (ambiguous site) 均不納入分析。

分子親緣關係分析(Molecular Phylogenetics Analysis)

本研究之親緣關係重建乃利用貝葉氏導出式分析 (Bayesian inference analysis, BI) 及最大似然性分析 (maximum likelihood, ML) 進行，上述分析中所使用 DNA 序列分子演化模型（models of molecular evolution）以 MrModeltest (Nylander, 2004)計算，得出最合乎 DNA 演化的最佳模式，並根據赤池資訊準則

(Akaike information criterion, AIC) 選取。分子標記分成三個 partition，分隔計算。

貝葉氏導出式分析 (BI) 以 MrBayes 3.2.2 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) 進行 2×10^7 次演算世代 (generation)，演算期間產生的演化樹每 1,000 個世代取樣一次，共得到 20,000 個演化樹，扣除取樣中最早得到的 25% (及 5,000 個演化樹，burnin=5,000)，將最後保留的 15,000 個演化樹經計算後合併成一個 50% 多數共識樹 (50% majority consensus tree)，並在分支上標記後驗機率 (posterior probability)。

似然性引導式再取樣值 (likelihood bootstrap value, LB) 以 CIPRES Portals (<http://www.phylo.org/index.php/portal/>) 提供之 RAxML-HPC2 v8.2.4 (Stamatakis, 2014) 進行，DNA 資料矩陣如前述分析分割成三部分，並以程式自行估算出的 GTR+G 模型之下進行分析，經重複 1000 次再取樣後，將再取樣值標記於 BI 50% 多數共識樹之上。

祖先性狀重建分析 (Ancestral State Reconstruction Analysis)

利用 Mesquite 2.75 (Maddison and Maddison, 2015) 進行形態特徵演化分析，將物種形態進行編碼，包括 6 個特徵組合成矩陣輸入，包括以下數個形態特徵：生育環境 (habitat)、生活型 (habit)、果實類形 (fruit type)、子房室數目 (locule number)、胎座形式 (placental type)、胎座裂片數 (placentae division)，各特徵性狀如表 2-3。利用貝葉氏導出式重建之親緣關係為基礎，以最大簡約法 (maximum parsimony) 重建可能的祖先性狀。

結果

DNA dataset 資料統計與分子演化模型

共取樣 177 個亞洲分類群的葉綠體 DNA 序列 (附表 1)，經排序後的統計結果如表 2-2，trnL-F 得 1009 個位點，rpL16 intron 得 1272 位點，trnC-ycf6 得 1190 位點，ycf6-psbM 得 1367 位點，psbM-trnD 得 1134 位點，加總長度共為 5972 個

位點，因排序不明確(ambiguity)而排除不予分析的位點共 1886 個，佔總位點數的 31.58%，包含在分析中的位點有 4086 個；利用 MrModeltest (Nylander, 2004) 選取的演化模型為：rpL16: GTR+G；trnC-D: GTR+I+G；trnL-F: GTR+G。

親緣關係樹重建

以貝葉氏導出式分析進行 2×10^7 個世代的分析，各支序群的後驗機率 (posterior probability, PP) 大於 0.75 者均顯示於分支上。結果如圖 2-1，亞洲秋海棠屬植物與原產非洲索科特拉島(Socotra Island)的 *B. socotrana* 及 *B. samhamensis* 形成一單系群，亞洲分類群中最早分化者為印度次大陸之物種，其餘物種則分成兩大支序群，Clade C 和 Clade D。

C 支序群(Clade C)包含一個由扁果組、圓果組以及部分秋海棠組組成的、具有較高支持度的支序群(*Platycentrum* - *Sphenanthera* Clade or PLA-SPH, PP:1/LB:75)，深陷於(deeply nested)一群落葉性、具球莖並生長於季節性明顯棲地的物種之中(DIP Grade)。DIP Grade 由 33 個具球莖的物種組成，其中最早分歧的是產自喜馬拉雅地區的 *B. dioica*，並與其他 Clade C 的組成物種(Clade C1, PP:1/LB:96)形成姊妹群，而 Clade C1 中產自中國的 *B. grandis* 又與其餘物種(Clade C2, PP:.55/LB:<50)形成姊妹群，Clade C2 則由 *Parvibegonia* Clade (PAR, PP:.96/LB:87)和 Clade C3 (PP:1/LB:96)兩個互為姊妹群的亞支序群組成，PAR Clade 由八個 *Sect. Parvibegonia* 物種組成，其中 *B. bella*, *B. sinuata*, *B. sp. Thailand B* 和 *B. sp. Viet Nam Peng22812* 四個分布於中南半島，*B. elisabethae* 分布於巽他大陸地區，*B. tenuifolia* 分布於爪哇，而 *B. phoineogramma* 和 *B. variabilis* 則同時分布於中南半島與巽他大陸地區，Clade C3 包含 14 個中國物種，7 個喜馬拉雅物種，1 個中南半島物種(*B. sp. Thailand A*)及一個 1 台灣物種(*B. ravenii*)。PLA-SPH Clade 包含 78 個物種(扁果組 50 種，圓果組 13 種，秋海棠組 12 種，棒果組、單翅組及未確認組別各一種)，其中的中國物種與喜馬拉雅地區及中南半島的物種互相參雜。

D 支序群(Clade D)除了 *B. peltatifolia*, *B. kingiana*, *B. bataiensis*, *B. boissiana* 外，主要分成五個亞支序群，分別為 *Coelocentrum* Clade (COE Clade, PP:1/LB:100), *Baryandra* Clade (BAR Clade, PP:1/LB:100), *Reichenheimia* Clade (REI Clade, PP:1/LB:100), *Petermannia* Clade I (PET I Clade , PP:1/LB:99) 和 *Petermannia* Clade II (PET II Clade , PP:1/LB:89)，其中 BAR Clade, REI Clade, PET I Clade 和 PET II Clade，加上由 *B. kingiana* 和 *B. bataiensis* 組成的一個支持度極高的小支序群(PP:1/LB:100)，以及 *B. peltatifolia*，共同組成一個具有中等支持度的單系群(PP:0.86/LB:73)，與 COE 及 *B. boissiana* 互為姊妹群。Chung et al. (2014) 將 COE Clade 中的所有物種指定為側膜組，因此本研究中 COE Clade 包含的 18 個物種皆為側膜組。同樣的 Rubite et al. (2013)將 BAR Clade 中物種所有物種指定為菲律賓秋海棠組，因此本研究中 BAR Clade 包含的 10 個物種皆為菲律賓秋海棠組。REI Clade 取樣的 7 個物種軍分布於巽他大陸，且都是單座組成員，PET I Clade 的 6 個取樣物種中，一個分布於中國(*B. hainanensis*, 產自海南島)，兩個分布於中南半島，三個分布於巽他大陸，皆為等翅組成員。PET II Clade 中包含了 16 個物種，分別來自巽他大陸、菲律賓、蘇拉威西以及新幾內亞，除 *B. symsanguinea* 屬合被秋海棠組(Sect. *Symbegonia*)和 *B. bracteata* 屬苞花秋海棠組(Sect. *Bractaebegonia*)外，其餘皆為等翅組。

中國物種大多集中在 C 支序群，只有產自廣西—北越喀斯特石灰岩地區的側膜組物種和兩個產自海南島的物種：*B. petatifolia* (Sect. *Diplocinium*)和 *B. hainanensis* (Sect. *Petermannia*)；屬 D 支序群的成員。

台灣秋海棠物種中，蘭嶼秋海棠(*B. fenicis*)深陷於(deeply nested)主要由產自菲律賓秋海棠組(Sect. *Baryandra*)物種所形成的 BAR 支序群中，是台灣產秋海棠裡唯一屬於 Sect. *Baryandra* 的物種；而台灣產具球莖的物種岩生秋海棠(*B. ravenii*)與大部分其他具球莖的亞洲物種共同組成 DIP Grade；其他取樣到的台灣物種包括 *B. austrotaiwanensis*, *B. bouffordii*, *B. chitoensis*, *B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, *B. taiwaniana*, *B. wutaiana* 都屬於 C 支序群中最大單系群 *Platy-Sphen*

Clade 的成員，並分別屬於三個不同支序群：其一由 *B. chuyunshanensis*, *B. taiwaniana*, *B. wutaiana* 三者組成(PP:0.85/LB:72)，其二由 *B. austrotaiwanensis*, *B. bouffordii*, *B. chitoensis* 與 *B. pinglinensis*; (PP:1/LB:100)；其三為 *B. formosana* 獨自形成的支序群。上述三個支序群與九個圓果組物種及兩個扁果組物種(*B. annulata* 和 *B. iridescens*)形成一個具有高支持度的單系群(PP:1/LB:96)。其中第一個支序群與 *B. longifolia* 形成姊妹群，兩者所組成的支序群支持度中等(PP:1/LB:76)。

祖先性狀重建分析(Acensral State Reconstruction Analysis)

生育環境

如圖2-2A所示，亞州秋海棠屬植物的祖先可能是適應乾燥環境，爾後分別演化出適應潮濕和石灰岩環境的性狀，適應石灰岩環境的性狀也非單一起源，部分具球莖物種如*B. chingii*, *B. grandis*,以及根莖性的*B. rajah* (Sect. *Reichenheimia*)都是各自獨立演化出適應石灰岩環境的性狀。

生活型

由圖2-2B可清楚看出Clade C中的根莖性狀是由球莖演化而來，因普遍具根莖的PLA-SPH Clade 深陷於全部物種皆具球莖的DIP Grade中，但球莖的起源為何則不明確。同樣的，Clade D物種的祖先性狀為根莖性抑或無特化(no specified)也不清楚。

果實類形

分析結果如圖2-3A所示，亞洲秋海棠物種果實形態的祖先性狀為蒴果，漿果狀果實獨立演化至少九次，其中包含側膜組(原棒果組)的*B. leprosa* 和 *B. cylindrica* 2種，棒果組 *B. longicarpa* 和 *B. bataiensis* 2種，以及圓果組14個分類群，最主要的一個起源包含7個圓果組的分類群。

子房室數目

子房室數目的祖先性狀為3室(圖2-3B)，分析結果顯示3室演化成2室的事件

至少發生6次，分別發生在PAR Clade及PLA-SPH Clade。PAR Clade物種普遍屬子房2室，然而也有反轉成3室者，如*B. bella*及*B. Thailand sp. B*。PLA-SPH Clade中物種亦多屬子房2室，但也包含1室(*B. Coelocentroides*, *B. oreodoxa*)、3室(11個秋海棠組物種，6個圓果組物種，1個棒果組物種及1個單翅組物種)、4室(8個遠果組物種)及多室(圓果組物種*B. balansana*)的種類，其中1室和4室者皆由2室演化而來。子房1室是傳統分類中界定側膜組的特徵，但COE Clade中的物種並非都具有子房一室的性狀，本研究中取樣的18個COE Clade 物種中，有8個是子房3室，10個是子房1室，其中較早分化的物種*B. sinofloribunda*, *B. cavalariei*, *B. wangii*, *B. pulvinifera*, *B. longa*皆屬子房3室，在這些物種分化以後，子房1室的性狀才演化出來，隨後*B. cylindrica*, *B. guixiensis*和*B. leprosa*又反轉成3室。

胎座形式

在秋海棠屬植物中，胎座形式的祖先行為中軸胎座(Axile placenta; 圖2-4A)，且胎座形式與子房室數目相對應，凡子房為1室者皆為側膜胎座(Parietal placenta)，其他子房室數目者皆為中軸胎座。

胎座裂片數

亞州秋海棠胎座裂片數的祖先性狀可能是1(圖2-4B)，本研究取樣之印度大陸物種皆具單一胎座裂片，在離開印度大陸後，此性狀才演化成目前常見的胎座二裂，而REI Clade中7個物種皆具單一胎座裂片，另外，DIP Grade中的*B. wilsonii*, *B. parvula*, *B. tzengii sp. ined.*, *B. henryi*, *B. chingii* 也因具有單一胎座裂片，傳統上也被劃分成單座組Sect. *Reichenheimia*的成員。

討論

中國秋海棠的地位

中國產秋海棠屬植物主要屬於C支序群的成員。D支序群中的中國物種主要集中在COE支序群，亦即側膜組物種，本研究中取樣到的COE支序群物種18種，

其中13種目前僅見於中國，除此之外，D支序群中的中國物種只有 *B. hainanensis* 以及 *B. peltatifolia*，二者皆產自海南島，前者過去即被畫分在等翅組，本研究的結果與前人相符；後者過去被歸入秋海棠組，就外部形態較接近親近從秋海棠組中獨立的菲律賓秋海棠組，本研究中，*B. peltatifolia* 並不與BAR支序群(菲律賓秋海棠組)形成單系群，而且和D支序群中其他物種的親緣關係不明確，然而以nrITS DNA 重建的親緣關係則顯示*B. peltatifolia*與菲律賓秋海棠組物種形成單系群，並與該組物種互為姊妹群(本研究室，未發表)。C支序群是的中國物種屬多系群，與產自喜馬拉雅地區、中南半島以及少數馬來群島物種互相參雜，關係密切。

台灣秋海棠屬植物的起源

親緣關係重建的結果中顯示台灣產秋海棠至少有五個獨立的起源：1. 蘭嶼秋海棠—屬於菲律賓秋海棠組成員，與該組其他物種共同形成BAR支序群；2. *B. ravenii* (岩生秋海棠)—具球莖的落葉性物種，與眾多落葉性物種組成DIP Grade，屬典型秋海棠組物種；3. *B. palmata*(巒大秋海棠)—廣泛分布於亞洲大陸，PLA-SPH支序群成員；4. 由 *B. austrotaiwanensis*(南臺灣秋海棠), *B. bouffordii*(九九峰秋海棠), *B. chitoensis*(溪頭秋海棠), *B. formosana*(水鴨腳秋海棠), *B. pinglinensis*(坪林秋海棠)，以及另外兩個分別產自泰國和喜馬拉雅的物種：*B. obovoidea*, *B. roxburghii* 組成的單系群—屬PLA-SPH支序群中的一個亞支序群，四個物種的體染色體數皆為 $2n=38$ ；5. 由*B. chuyunshanensis*(出雲山秋海棠), *B. taiwaniana*(台灣秋海棠)及 *B. wutaiana*(霧台秋海棠)形成一單系群，同樣屬PLA-SPH支序群中的一個亞支序群，並與廣布種*B. longifolia*(圓果秋海棠)互為姊妹群。

過去針對台灣秋海棠染色體的研究發現台灣產秋海棠中以*B. longifolia* 和 *B. palmata* 的染色體數最低 (皆為 $2n=22$)，因此認為台灣秋海棠的起源是由兩者雜交衍生而來(Oginuma and Peng, 2002)，但本研究結果顯示台灣現有秋海棠物種

與*B. palmata*皆無密切關係，只有*B. chuyunshanensis*, *B. taiwaniana* 和 *B. wutaiana*與*B. longifolia*關係較密切外。針對台灣秋海棠起源，利用核基因片段進行的研究顯示*B. chuyunshanensis*, *B. lukuana*, *B. taiwaniana*, *B. tengchiana* 和 *B. wutaiana* 可能是*B. longifolia* 和其他不知名親本雜交產生的後代。關於台灣產秋海棠屬植物的進一步研究，請參考楊巽安 (2011)

分子親緣關係研究對秋海棠組間分類的衝擊

由於秋海棠屬植物種類繁多，在傳統分類中，組的劃分顯得非常重要，本研究中的親緣關係重建結果顯示，過去根據形態特徵建立的分類架構中，除根據分子親緣關係被重新定義過的側膜組和菲律賓秋海棠組，大多數主要的組不具有單一起源，如等翅組，秋海棠組，扁果組，單座組，圓果組以及棒果組等。究其原因，扣除由於部分物種因前人觀察不夠準確而導致的劃分錯誤，主要是由於所依據的形態特徵不如前人所想般穩定(圖2-2, 2-3, 2-4)。

側膜組秋海棠的劃分

側膜組的建立主要依據胎座形式劃分，具有側膜胎座性狀的種類即被歸入側膜組，但本研究與Chung et al. (2014)均有相同發現，即雖然大多數具有側膜胎座的亞洲秋海棠均屬同一支序群(Clade COE)，但該支序群同時也包含部分具有中軸胎座的物種(*B. sinofloribunda*, *B. leprosa*, *B. cylindrica*, *B. guixiensis*, *B. longa*, *B. cavalariei*, *B. pulvinifera*, 以及 *B. wangii*)，其中*B. cavalariei*, *B. pulvinifera*及*B. wangii*被歸入秋海棠組(Peng et al., 2006; Shui et al., 2002)，*B. sinofloribunda* 因具有斜生至半下垂地上莖，窄卵形葉片，以及較細且下垂的側生花序而被歸入等翅組(Shui and Chen, 2004)，而*B. leprosa*及*B. cylindrica* 則具有無翅的棍棒狀果實而被歸入棒果組(Shui et al., 2002)，特徵演化分析結果顯示COE支序群中由側膜胎座返回中軸胎座的事件至少發生兩次。此外，*B. wangii* 在過去的報導中也曾發現由中軸過渡到側膜胎座的現象(Peng et al., 2006)。Chung et al. (2013) 根據nrITS 及 rpL16 DNA 序列重建的親緣關係已發現此現象，並將COE支序群包含

的所以物種轉移到側膜組，此後側膜組的界定已不再完全依據胎座形式，在尚未發現足以完整界定側膜組的新特徵或特徵組前，必須同時也參考染色體數，生育環境以及生活型特徵，若分布於廣西與北越交界的喀斯特石灰岩地區，染色體數 $x=15$ ，並植物體具有根莖，則很可能是屬於側膜組的物種。

秋海棠組(Section *Diploclinium*)的重新界定

由於傳統分類著重生質構造特徵，很多在生殖構造上沒有特殊形態變化的物種，如具有子房三室，蒴果等性狀的亞洲秋海棠屬植物，大多被劃分到秋海棠組之中，觀察本組植物之營養構造，會發現包含具球莖的、具根莖的、或有時具有直立莖的多種形態，前人研究中已提出秋海棠組具多起源(Rajbhandary et al., 2011; Tebbitt et al., 2006; Thomas et al., 2011b)，並已透過分子親緣關係分析與形態比對，將部分根莖性，主要分布於菲律賓且具有叢生氣孔，過去被劃分在秋海棠組的種類轉移至菲律賓秋海棠組(Rubite et al., 2013)，其餘仍劃分在秋海棠組的物種主要分成兩類，一類是落葉性具球莖的，在本研究中屬DIP Grade成員，另一類是常綠性不具球莖的，在本研究中屬PLA-SPH Clade成員，由於秋海棠組的模式種*B. grandis*是落葉性具球莖的，若要劃分這兩類，則具球莖的物種將留在秋海棠組，前人研究中具球莖種類數量有限，因此未針對這一群植物進行處理，而本研究分析中加入多個中國產具球莖的落葉性秋海棠後，親緣關係分析結果在大架構上與前人報導大致相同(Rajbhandary et al., 2011; Thomas et al., 2011b)，具球莖的落葉性物種除了*B. bataiensis*和*B. coronensis*之外，都落在DIP Grade的位置，因此建議對秋海棠組重新定義，把DIP Grade中物種全數劃入本組，並將其他不去球莖且非DIP Grade的物種排除，重新定義後的秋海棠組植物為具有球莖的落葉性物種，當中同時包含過去被劃分在小花秋海棠組Section *Parvibegonia*的物種，小花秋海棠組植物雖然大部分屬於DIP Grade中一個獨立的支序群PAR Clade，但形態上並不容易區分，小花秋海棠組與其他具球莖的落葉性物種不同之處在於其子房2室，且蒴果的果壁非常薄，以至於成熟乾燥後果壁呈不規則開裂(Doorenbos et al., 1998)，但實際上小花秋海棠中也具有子房3室的物種(Kiew, 2005)，如本研

究中取樣的*B. sinuata*即是，而子房壁厚度在DIP Grade的物種中普遍較薄(個人觀察)，務實上要區分兩者非常困難。



扁果組的劃分

目前為止親緣關係分析中，扁果組的種類都屬於 PLA-SPH Clade (Rajbhandary et al., 2011; Tebbitt et al., 2006; Thomas et al., 2011b)，然而 PLA-SPH Clade 中還包含圓果組、部分秋海棠組以及其他較小的組，如棒果組和單翅組 (Sect. *Monopteron*) 物種。由祖先性狀分析結果可知 PLA-SPH Clade 中子房室數目變異很大，以子房室數作為組別劃分的依據自然不能反映物種間的關係，若將 PLA-SPH Clade 中物種全數歸入扁果組，取消單翅組，或因圓果組的果實形態特殊而暫時保留，將 *B. longicarpa* 歸入扁果組或圓果組，應該是比較符合演化趨勢的處理。

棒果組(Section *Leprosae*)的解散

棒果組過去由四個物種組成：*B. leprosa*, *B. cylindrica*, *B. longicarpa*, 以及 *B. bataiensis*，Chung et al. (2014) 已根據分子親緣關係研究的結果將 *B. leprosa* 和 *B. cylindrica* 轉移至側膜組，然而，*B. leprosa* 是棒果組的模式物種，而根據本研究結果(圖2-1)，其餘二種棒果組物種 *B. longicarpa* 和 *B. bataiensis* 均與 *B. leprosa* 關係甚遠，上文中提到或可將 *B. longicarpa* 歸入扁果組或圓果組，則僅剩 *B. bataiensis*，其組別劃分在未來勢必重新檢討。

分子標記	引子	引子序列 (5'-3')	黏合溫度 (°C)	來源
trnL-F	trnL(c)	CGAAATCGGTAGACGCTACG	60	Taberlet et al. 1991
	trnF(f)	ATTTGAACTGGTGACACGAG	60	Taberlet et al. 1991
	trnL-s [†]	AAATCGTGAGGGTTCAAGTC	53	本研究開發
rpL16 intron	rpL16-F	GCTATGCTTAGTGTGTGACTCG	55	本研究開發
	rpL16-R	CGTCCYGCCTCTATTTGTCTAG	55	本研究開發
	Beg-rpL16 [†]	GTTTCACATTATCTGGATCG	50	本研究開發
trnC-ycf6	trnC	CCAGTTCAAATCTGGGTGTC	55	Demesure et al. 1995
	petN1r	CCCAAGCAAGACTTACTATATCC	55	Lee et al. 2004
ycf6-psbM	ycf6-F	ATGGATATAGTAAGTCTYGCTTGGG	60	Shaw et al. 2005
		C		
	psbM-R	ATGGAAGTAAATATTCTYGCATTTA	60	Shaw et al. 2005
psbM-trnD		TTGCT		
	psbM-F	AGCAATAAATGCRAGAATATTTACT	55	Shaw et al. 2005
		TCCAT		
	trnD(GUC)R	GGGATTGTAGYTCAATTGGT	55	Shaw et al. 2005
	Beg-psbM-F [†]	TATTCGCAATAACTCAGGA	50	本研究開發

[†] 僅用於定序

表 2-1. 各葉綠體標記 PCR 反應與定序使用之引子序列與黏合溫度



標記區域	位點數	排除位點數 (%)	分析位點數
trnL-F	1009	445 (34.98)	827
rpL16 intron	1272	554 (46.55)	636
trnC-ycf6	1190	375 (27.43)	992
ycf6-psbM	1367	284 (25.04)	850
psbM-trnD	1134	228 (22.60)	781
Total	5972	1886 (31.58)	4086

表 2-2. 葉綠體 DNA 矩陣位點數及排除位點資料

特徵	特徵性狀
生育環境(habitat)	乾燥/潮濕/石灰岩喀斯特地形
生活型(habit)	根莖性(Rhizomatous)/莖基部膨大(Stem base Thickening)/具球莖(Tuberous)/無特化(No specified)
果實類形(fruit type)	漿果狀(Berry-like)/蒴果(Capsule)
子房室數目(locule number)	1/2/3/4/多
胎座形式(placental type)	中軸(Axile)/側膜(Parietal)
胎座裂片數(placentae division)	1/2/4/多

表 2-3. 形態特徵與特徵性狀表

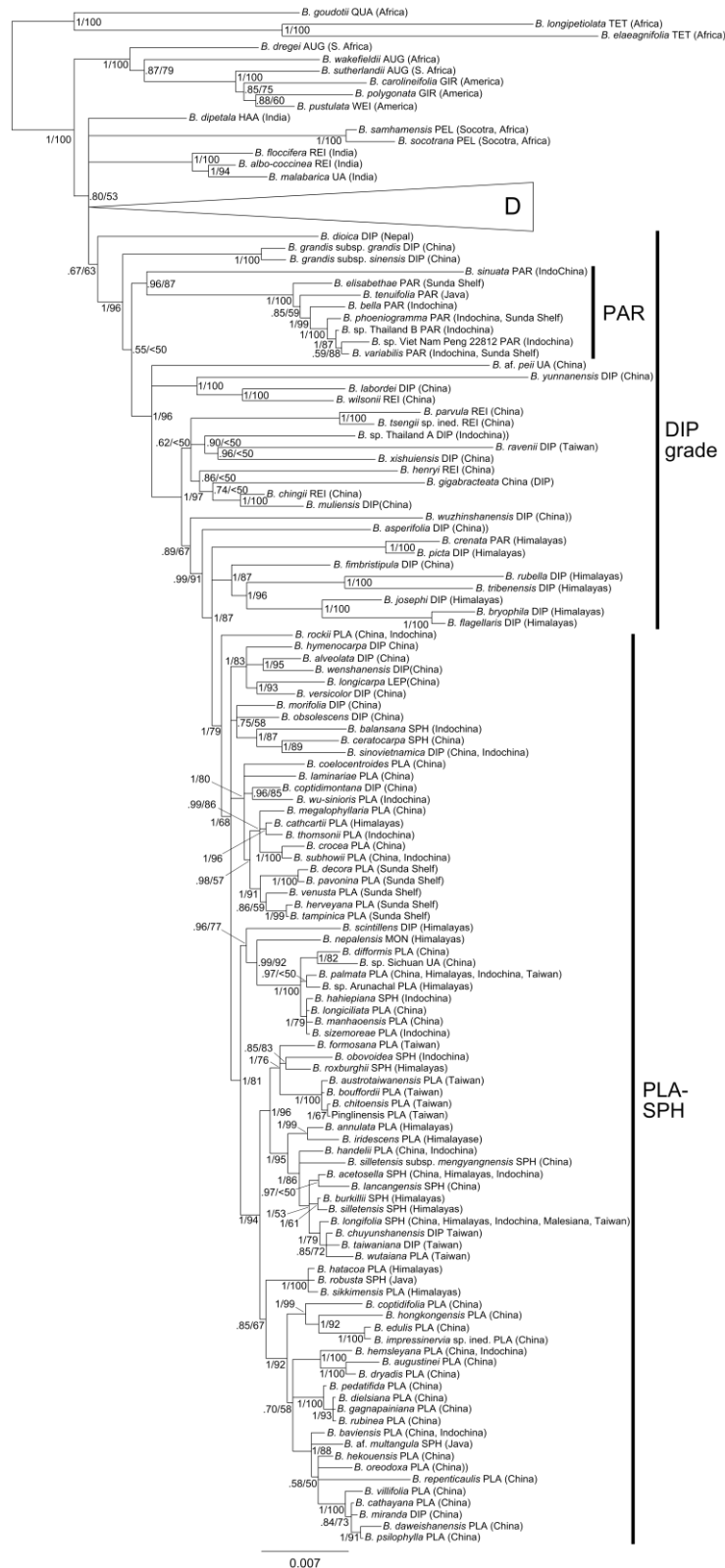


圖 2-1. 利用五葉綠體標記以貝葉氏導出式重建之亞洲秋海棠屬植物親緣關係 (略去 D 支序群)；分支上數字為後驗機率(Posterior probability, PP)/似然性引導式再取樣值(likelihood bootstrap value, LB)。

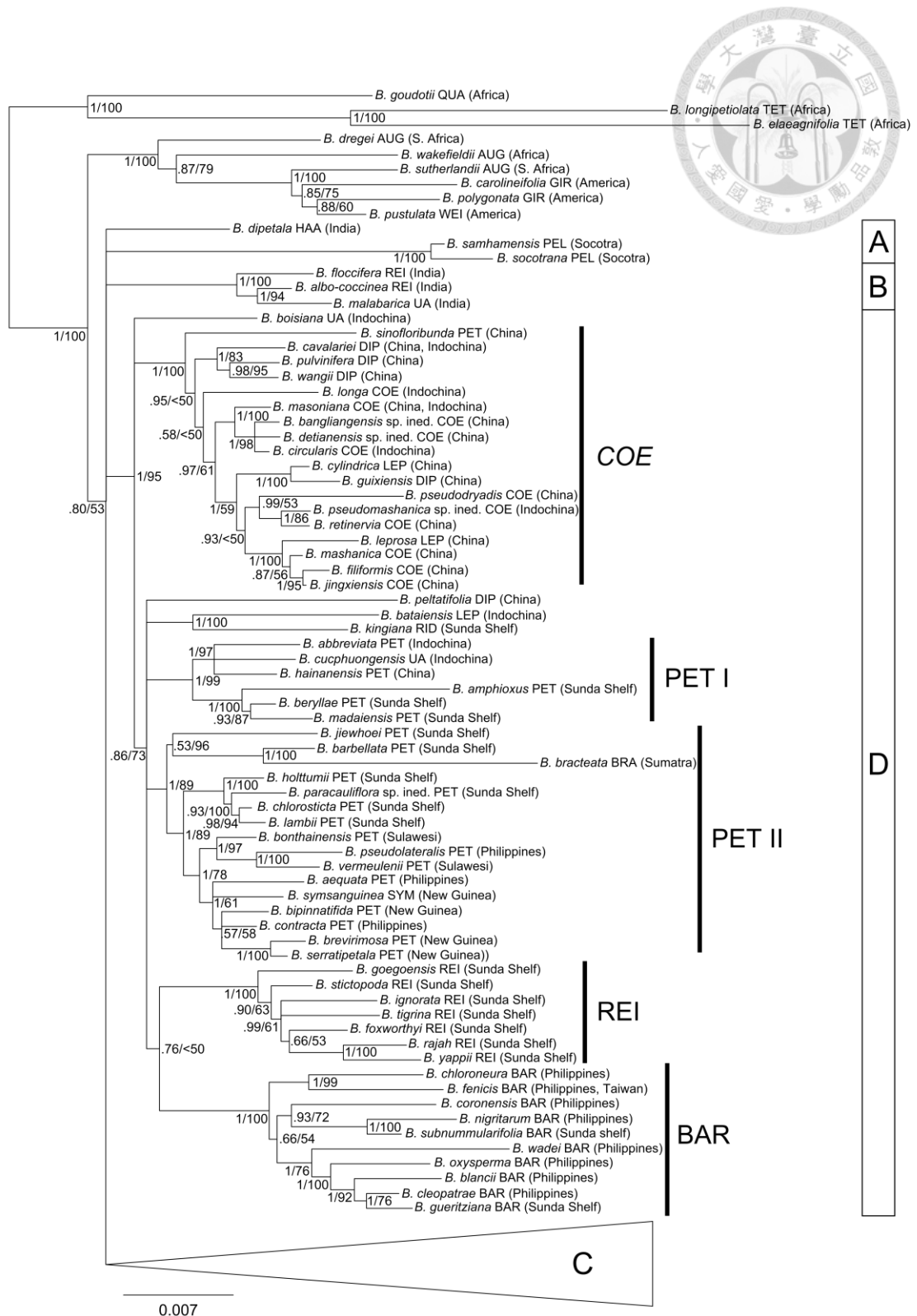


圖 2-1. (續) 利用五葉綠體標記以貝葉氏導出式重建之亞洲秋海棠屬植物親緣關係 (略去 C 支序群)；分支上數為後驗機率(Posterior probability)。

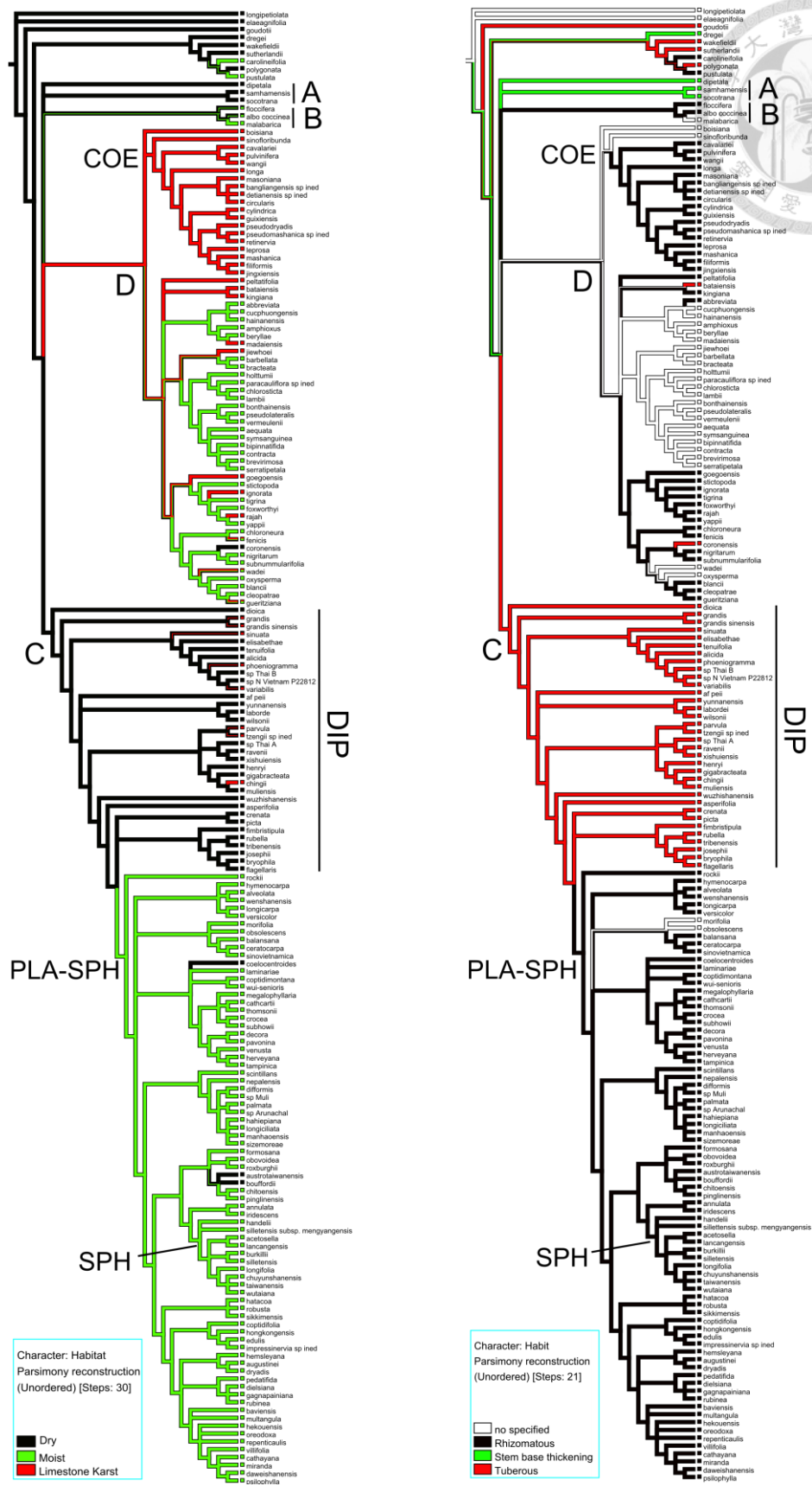


圖 2-2. 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果。A(左): 生育環境特徵重建; B(右): 生活型特徵重建。



圖 2-3. 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果。A(左) 果實類型性狀重建；B(右) 子房室數目性狀重建。

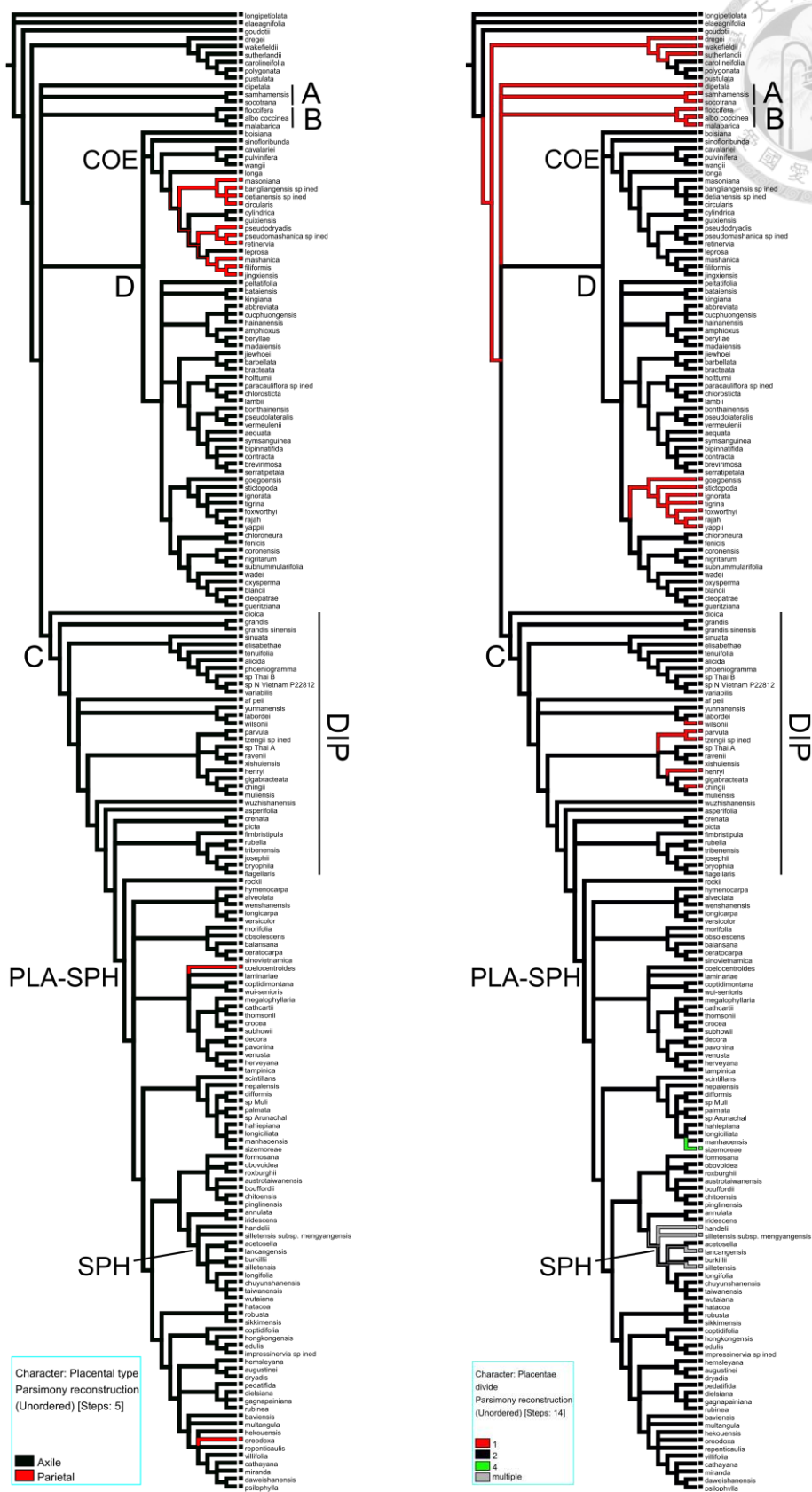


圖 2-4. 以最大簡約法重建祖先性狀分析結果。A(左) 胎座形式性狀重建；B(右) 胎座裂片數目性狀重建。

第三章 刺毛紅孩兒-由裂葉秋海棠劃分出之新種



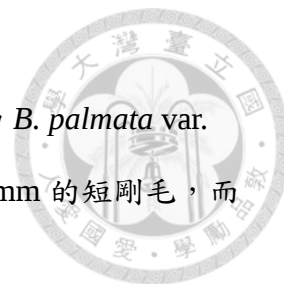
前言

秋海棠屬植物大多分布狹隘 (Chung et al., 2014; Kiew, 2001b; Tebbitt, 2005)，唯裂葉秋海棠是少數分布較廣的秋海棠之一(Gu et al., 2007)，分布於中國東南部(福建、廣東、廣西、海南、湖南、江西、四川、西藏及雲南)、台灣、喜馬拉雅地區(孟加拉、不丹、尼泊爾及錫金)和中南半島(緬甸、寮國、泰國及越南)。由於裂葉秋海棠的型態變異大，過去被劃分成七個不同變種 (Golding and Wasshausen, 2002)：(1) *B. palmata* var. *palmata* (裂葉秋海棠)—分布於中國雲南、喜馬拉雅地區及中南半島北部；(2) *B. palmata* var. *bowringiana* (Champ. ex Benthem) Golding & Karegeannes (紅孩兒)—分布於中國中南部(福建、廣東、廣西、貴州、海南、湖南、江西、四川、西藏及雲南等)與台灣；(3) *B. palmata* var. *principalis* (Irmischer) Golding & Karegeannes (Gu 等人(2007)認為本變種為紅孩兒的異名)—分布於雲南及緬甸；(4) *B. palmata* var. *laevifolia* (Irmischer) Golding & Karegeannes (光葉紅孩兒)—僅見於雲南東南部河口一帶；(5) *B. palmata* var. *difformis* (Irmischer) Golding & Karegeannes (變形紅孩兒)—分布於雲南西部高黎貢山一帶；(6) *B. palmata* var. *crassisetuosa* (Irmischer) Golding & Karegeannes (刺毛紅孩兒)—分布於雲南西部高黎貢山一帶，及(7) *B. palmata* var. *khasiana* (Irmischer) Golding & Karegeannes—分布於喜馬拉雅地區。各變種間的形態差異不顯著，僅能根據莖、葉和花上的毛被區分 (Gu et al., 2007; Irmischer, 1939)，然而各變種間的親緣關係仍不清楚。

在重建亞洲大陸秋海棠親緣關係的過程中，取樣了 *B. palmata* var. *palmata* (裂葉秋海棠或巒大秋海棠)及其變種 *B. palmata* var. *crassisetulosa* (刺毛紅孩兒)，結果中顯示兩者互相具有獨立的起源，因此，本研究針對刺毛紅孩兒的起源重新進行探討，檢視其標本，並與原變種比對，同時利用 nrITS DNA 序列重建其親

緣關係，並進一步確認兩者是否具有不同起源。

另外，Irmscher (1939) 認為 *B. palmata* var. *crassisetulosa* 和 *B. palmata* var. *difformis* 的葉上表面被毛都較稀疏，唯前者花被片上具有長 2 mm 的短剛毛，而後者花被片光滑無毛，因此本研究一併觀察兩者間的差異。



材料與方法

形態觀察

本研究觀察之活體材料均栽種於中央研究院實驗溫室，並從中採取分子親緣關係研究所需樣本。同時檢閱中央研究院植物標本館(HAST)的館藏以及向 A, E, MO 借入之相關乾燥標本。

親緣關係分析

取樣與實驗方法

為檢驗裂葉秋海棠是否具有單一起源，本研究利用核內核糖體內轉錄區間 (nuclear ribosomal internal transcribed spacer ; ITS) 作為分子標記。選取 11 個裂葉秋海棠及其變種個體，其中包含 5 個 *B. palmata* var. *palmata*、2 個 *B. palmata* var. *bowringiana* 以及 4 個 *B. palmata* var. *crassisetulosa/difformis* 個體，另外選取了 PLA-SPH 支序群內分別產自中國、台灣、喜馬拉雅地區、中南半島、馬來半島以及爪哇等地的 24 個物種一併分析，外群選用三個具球莖的落葉性物種：*B. chingii* Imscher, *B. fimbriatipula* Hance, 與 *B. ravenii* Peng & Chen，三者皆為 DIP Grade 的成員，屬 Clade PLA-SPH 的姊妹群 (Chung et al., 2014)，連同外群共計 38 個樣本 (見附錄)。DNA 萃取、PCR 擴增與定序流程依照 Chung et al. (2014)。

分析方法

DNA 序列排序 (alignment) 先以 MEGA5.2 (Tamura et al., 2011) 內建之 MUSCLE 自動排列，隨後再手動調整。親緣關係重建以 MrBayes 3.2.2 (Ronquist

and Huelsenbeck, 2003)執行貝葉氏馬可夫鏈蒙地卡羅演算法(Bayesian MCMC inference)，執行前先以 MrModeltest (Nylander, 2004)選取核酸替代模型 (nucleotide substitution model)，經演算後選出的模型為 GTR+I+G。MrBayes 3.2.2 執行演算過程中，以隨機選取之樹形為起始，共執行一千萬個世代，每一千個世代取樣一次，取樣過程中最早取得的 25%演化樹將被捨棄，其餘將用於計算一致性樹 (consensus tree)、平均樹長與後驗機率 (posterior probability, PP)。

結果與討論

Begonia difformis 與 *B. palmata* 因同樣具有掌狀裂葉，且葉面均被毛，因此過去被認為是同一物種下的不同變種(Golding and Wasshausen, 2002; Irmscher, 1939)，經比對觀察後發現兩者的葉形和毛被都有明顯區別 (表 3-1)：*B. difformis* 葉片通常裂至葉長的 1/3 或以上，而 *B. palmata* 則為淺裂，通常只裂至葉長的 1/3 或以下；毛被方面 *B. difformis* 葉片向軸面僅沿脈被短硬毛 (hispidulous)，而 *B. palmata* 則是全面被粗毛 (hirsute) 或短硬毛；*B. difformis* 花被片上有紅色細小剛毛(setae)，*B. palmata* 則被直絨毛(villous) 或伏絨毛 (tomentose)。

Irmscher (1939) 認為 *Begonia palmata* var. *crassisetulosa* 和 *B. palmata* var. *difformis* 的差異在於花被片上的毛被，前者花被片上有短剛毛，後者則無。在觀察野外材料、溫室栽培與乾燥標本後，發現乾燥標本上的花被片上的短剛毛常不易觀察，而根據野外族群與溫室栽培個體，花被片上短剛毛多寡會因不同個體而有差異，有時在單一個體上可同時發現有短剛毛及無短剛毛的花朵，加上兩者都僅分布於高黎貢山一帶地區，因此在本研究中將兩者合併。

親緣關係分析

經排序後的 DNA 序列矩陣共計 728 位點。貝葉氏 50%多數一致性樹 (50% majority rule consensus tree)及其樹長與後驗機率如圖 3-1。*B. palmata* (PP: 100) 與

B. difformis (PP: 100) 各自形成具較高支持度的單系群，兩者沒有直接關連。*B. difformis* 深陷於 (deeply nested within) 由其他六種分布中國、五種分布喜馬拉雅地區及二種同時分布兩地的秋海棠組成的支序群中 (PP: 82)，而 *B. palmata* 則與二種分布爪哇及三種分布馬來半島的秋海棠形成一高支持度的支序群 (PP: 100)。此結果強烈支持 *B. difformis* 是單一獨立物種。

分類處理

Begonia difformis (Irmsch.) W.C. Leong, C.I Peng & K.F. Chung, *comb. & stat. nov.*
刺毛紅孩兒 (圖 3-2).

Basionym:—*Begonia laciniata* Roxb. subsp. *diffromis* Irmsch. (1939: 531).

Lectotype (verified by Irmscher 1956/designated here):—CHINA. Yunnan, September 1912, G. Forrest 16098 (E!), Shweli-Salwin Divide, Sep. 1924, G. Forrest 25207 (paratype, E!). See Note.

Heterotypic synonyms:—*Begonia laciniata* Roxb. subsp. *crassisetulosa* Irmsch. (1939: 532). *Begonia palmata* D. Don var. *crassisetulosa* (Irmsch.) Golding & Kareg. (1984: 495). **Lectotype** (verified by Irmscher 1956/designated here): —CHINA. Yunnan: Hills east to Tengyueh, July 1912, G. Forrest 8673 (E!).

Evergreen herbs, 20–80 cm tall. Rhizomes elongate, to 2 cm in diam.; aerial stems erect, hirsute when young. Leaves bearing on rhizomes and aerial stems; stipules caducous, narrowly ovate or ovate, to 3 cm long, 2 cm wide, margin minutely dentate, apex cuspidate; petioles 10–28 cm long, hirsute or sparsely so; blade asymmetric, ovate or oblate-orbicular, 7–17 cm × 5–11 cm, adaxial surface hispidulous along veins, abaxial surface hirsute, base oblique, slightly cordate or cordate, margin remotely and shallowly denticulate, usually divided to 1/3 of the blade or more, lobes 3–7(–9), subtriangular, 2.5–5 cm long, apex acuminate to long-acuminate; venation palmate, 5–10-nerved. Inflorescences tomentose; bracts caducous, ovate, 1–1.5 × 0.5–0.8 cm, abaxial surface sparingly hispidulous to nearly glabrous, apex acute, margin ciliate. Staminate flowers: Pedicels 1–2 cm long; tepals 4, white or pink, outer two obovate to orbicular, 1.2–2.3 × 0.8–2.0 cm, abaxial surface red-setulose or sparsely so, inner two oblanceolate to narrowly obovate, 0.7–2.3 × 0.6–1.0 cm, glabrous; stamens ca. 80–200; filaments 0.8–2.4 mm long; anthers narrowly obovate, 1.9–2.3 mm long, acute or round at apex. Pistillate flowers: Pedicels 1–2 cm long; tepals 5, unequal, oblanceolate to orbicular, the largest 1.1–2.4 × 0.8–2.1 cm, abaxially red-setulose or nearly glabrous, the smallest 0.8–2.1 × 0.4–0.9

cm wide; ovary green, red-setulose or nearly glabrous, 2-locular; placentae axile, bilamellate; styles fused at base; stigmas 2-cleft, spiralled. Capsule nodding, obovoid, 1.5–1.7 × 0.8–1.0 cm wide, unequally 3-winged, abaxial wing obliquely oblong or narrowly so, 1.2–2.9 cm long, lateral wings much shorter.

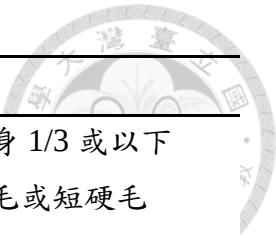
Additional selected specimen examined:—CHINA. Yunnan: Baoshan, Gangdang, Baihualing, 2000 m, 10 August 2011, *Peng 23252* (HAST), *Peng 23253* (HAST); Baoshan, Longling, Zhenan Zhen, Lishuzhai, on the east side of Gaoligong Shan, 24°48'09" N, 98°47'41" E, 1930 m, 21 October 1998, *Li 10756* (HAST); Baoshan, Longling, Zhengan Zhen, Xiaoshui He, on the west side of Gaoligong Shan, 24°50'16" N, 98°45'53" E, 2170 m, 22 October 1998, *Li 10782* (HAST); Baoshan, Longling, Zhengan Zhen, Vicinity of Hupa village, east side of Gaoligong Shan, 24°48'48" N, 98°49'58" E, 1530 m, 23 August 2003, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 17621* (HAST); Baoshan, Longling, Lujiang, Vicinity of Nankang village, east side of Gaoligong Shan, 1908 m, 24°48'47" N, 98°46'59" E, 25 August 2003, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 17820* (HAST); Baoshan, Longling, Mangkuan, Baihualing Cun, east side of Gaoligong Shan, 25°18'00" N, 98°46'51" E, 2220 m, 8 September 2003, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 18866* (HAST); Baoshan, Longling, Mangkuan, Vicinity of Hanlong, Baihualing Cun, east side of the Gaoligong Shan, 25°17'44" N, 98°48'09" E, 1777 m, 2 June 2005, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 25364* (HAST); Baoshan, Longling, Sanyun, Qiaojie Cun, in vicinity of Henghe village, west side of Gaoligong Shan, 24°59'38" N, 98°43'55" E, 1980 m, 1 September 2003, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 18323* (HAST); Baoshan, Tengchong, 1550 m, 6 August 2011, *Peng 23216* (HAST); Baoshan, Tengchong, Sanyun, Chuanlong Cun, on the west side of Gaoligong Shan, 25°00'13" N, 98°43'29" E, 1740 m, 4 November 1998, *Li 11477* (HAST); Chih-tse-lo, 2500 m, 7 September 1933, *Tsai 54180* (A), 3200 m, 11 September 1934, *Tsai 58473* (A), *Tsai 58488* (A); Dehong, Yingjiang, Xima, Qincaidagou, 24°44'44" N, 97°44'27" E, 1730 m, 3 November 2002, *Peng 19152* (HAST); Lincang, Fengxiang Zhen, 23°53'09" N, 100°10'28" E, 2100 m, 7 November 2002, *Peng 19192* (HAST); Nujiang, Fugong, Lishadi, Mi'eluo Cun, east side of Gaoligong Shan, 27°15'56" N, 98°52'14" E, 1500 m, 12 August 2005, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 27354* (HAST); Nujiang, Fugong, Lishadi, Ziguduo Cun, east side of Gaoligong Shan, 27°11'45" N, 98°52'57" E, 1610 m, 14 August 2005, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 27531* (HAST); Nujiang, Fugong, Maji, along the west side of the Nujiang River, east side of Gaoligong Shan, 27°17'40" N, 98°52'18" E, 1320 m, 19 August 2005, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 27882* (HAST); Nujiang, Fugong, Lumadeng, west side of the Nujiang River, 27°05'56" N, 98°52'21" E, 1225 m, 9 May 2004, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 19739* (HAST); Nujiang, Fugong, Lumadeng, Yaduo Cun, east

side of Gaoligong Shan, 27°07'48" N, 98°52'40" E, 1090 m, 22 August 2005, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 28901* (HAST); Nujiang, Fugong, Yueliangshi, 1600 m, 13 August, 2011, *Peng 23278* (HAST); Nujiang, Gongshan, 27°48'05" N, 98°34'07" E, 1900 m, 18 September 1997, *Li 9240* (MO), *Li 9241* (MO); 1800-2000 m, 19 September 1997, *Li 9276* (MO); Nujiang, Fugong, 26°54' N, 98°51' E, 1600-1700 m, 30 September 1997, *Li 9784* (MO); Nujiang, Gongshan, Cikai Zhen, east side of the Gaoligong Shan, 1600 m, 20 July 2000, *Li 12974* (HAST); Nujiang, Gongshan, Dulongjiang, on the east side of the Dulong Jiang River, 27°42'40" N, 98°20'50" E, 1460 m, 30 October 2004, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 21127* (HAST); Nujiang, Gongshan, Dulongjiang, on the west side of Gaoligong Shan, 2340 m, 27°43'53" N, 98°24'10" E, 2 November 2004, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 22113* (HAST); Nujiang, Gongshan, Cikai, Vicinity of Yimaluo Cun, east side of Gaoligong Shan, 27°39'28.5" N, 98°42'41.5" E, 1520 m, 14 August 2006, *Gaoligong Shan Biodiversity Survey 33333* (HAST); Shang-pa Hsien, 2100 m, 25 September 1933, *Tsai 56624* (A); Shang-pa Hsien, 1600 m, 2 October 1933, *Tsai 54748* (A), 2200 m, 17 September 1933, *Tsai 54261* (A), 2800 m, 10 October 1934, *Tsai 58684* (A), 2000 m, 30 October 1934, *Tsai 59105* (A).

分布與棲地：本種分布於雲南西部及西南部海拔 1500-3200m (圖 3-3)，常見於長綠闊葉林或針葉林下之山坡地或溪邊等潮濕環境，基質以砂岩為主。

物候：花期六到十月；果期八到十一月。

備註：*Begonia laciniata* subsp. *difformis* 與 *B. subsp. crassisetulosa* 的原始發表中 (Irmischer, 1939) 沒有指定模式標本，根據 JSTOR Global Plant database 中提供的愛丁堡皇家植物園標本館標本影像，可發現編號 *Forrest 8673* 之標本，被 Irmischer 註記為 *B. laciniata* var. *crassisetulosa* 的模式 (E. Irmischer, 1956/7/1'; <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.e00299206>)，而 *Forrest 16098* ('det. E. Irmischer 1958') and *Forrest 25207* ('det. E. Irmischer 1956') 則被鑑定成 *B. laciniata* subsp. *difformis*，當中 *Forrest 16098* 更被註記為後選模式 (Lecotype) ('Verified by E. Irmischer, 1956/7/1'; <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.e00299196>)，同時 *Forrest 25207* 則被註記為同模式 (Syntype) ('Verified by E. Irmischer, 1956/07/01'; <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.e00299194>)，由於二分類群皆為 Irmischer 所發表，因此模式標本的選取以其註記為準。



性狀\物種	<i>B. difformis</i>	<i>B. palmata</i>
葉裂片	通常裂至葉身 1/3 以上	通常裂至葉身 1/3 或以下
葉身毛被	向軸面沿脈被短硬毛	向軸面被粗毛或短硬毛
雄花外花被片	背軸面被短剛毛	背軸面被直絨毛或伏絨毛
雌花外花被片	背軸面被短剛毛或近光滑	背軸面被直絨毛或伏絨毛
未成熟子房	被短剛毛或近光滑	被直絨毛或伏絨毛或近光滑

表 3-1. 刺毛紅孩兒(*Begonia difformis*) 與掌裂秋海棠(*B. palmata*) 之特徵比較。

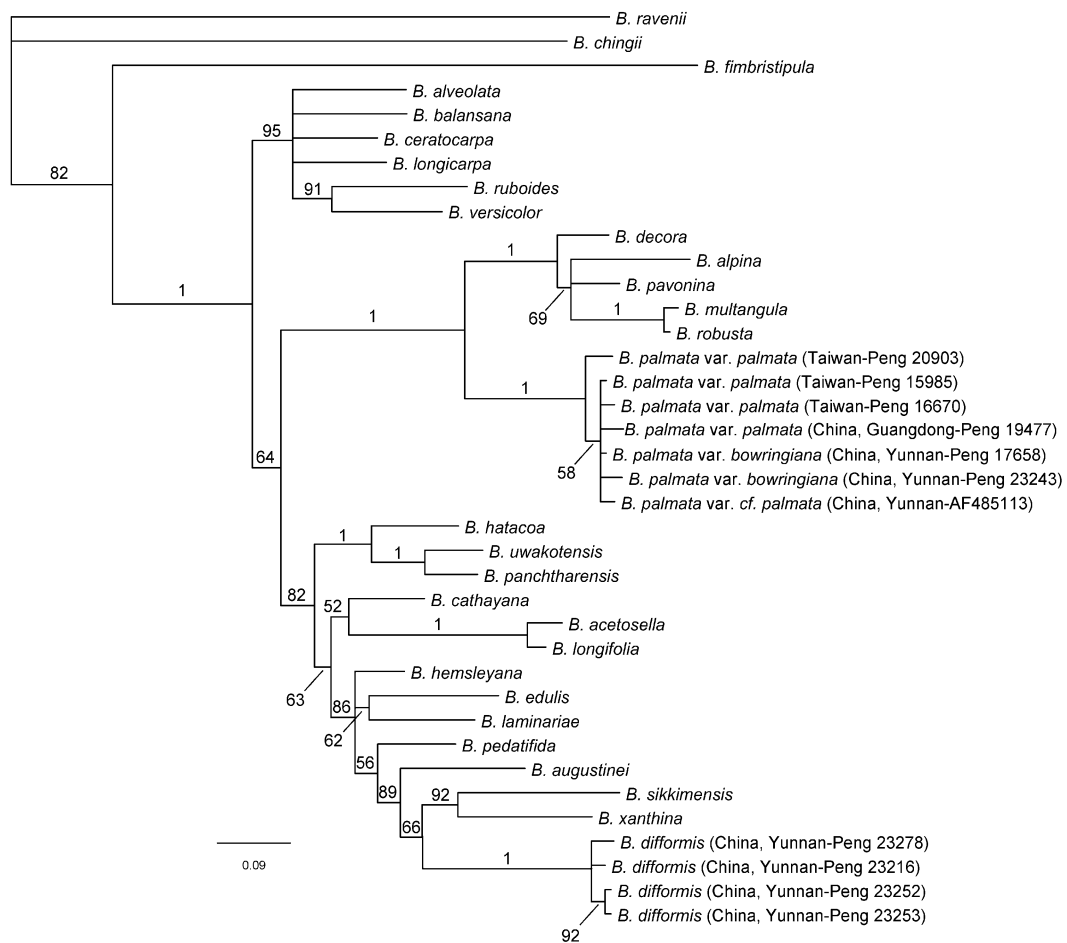


圖 3-1. 利用 ITS DNA 序列以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠屬植物親緣關係，
分支上數字為後驗機率 (posterior probability)。

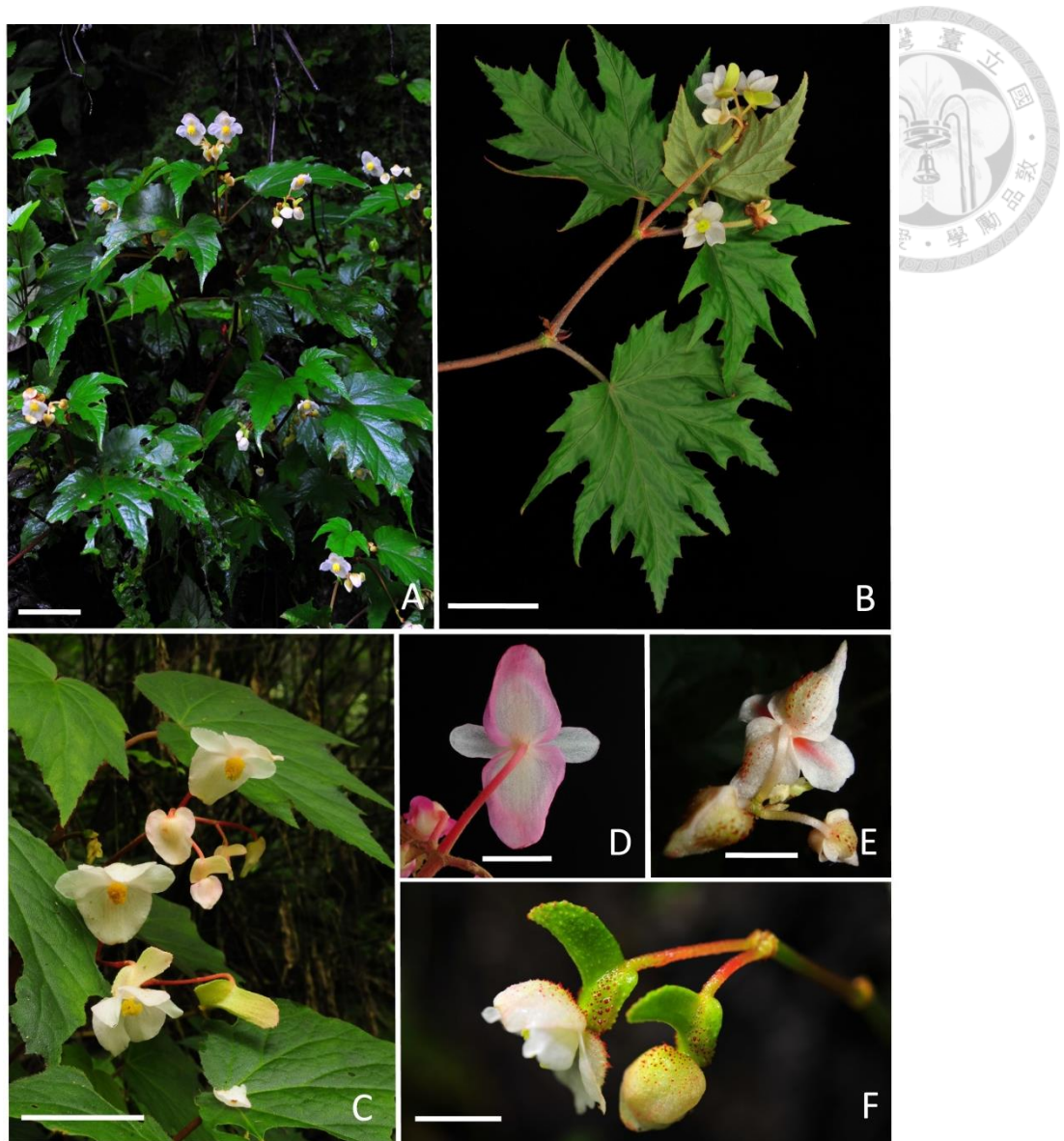


圖 3-2. 刺毛紅孩兒 (*Begonia difformis*; A, B, E, F) 與掌裂秋海棠 (*Begonia Palmata*; C, D) 之形態比較。

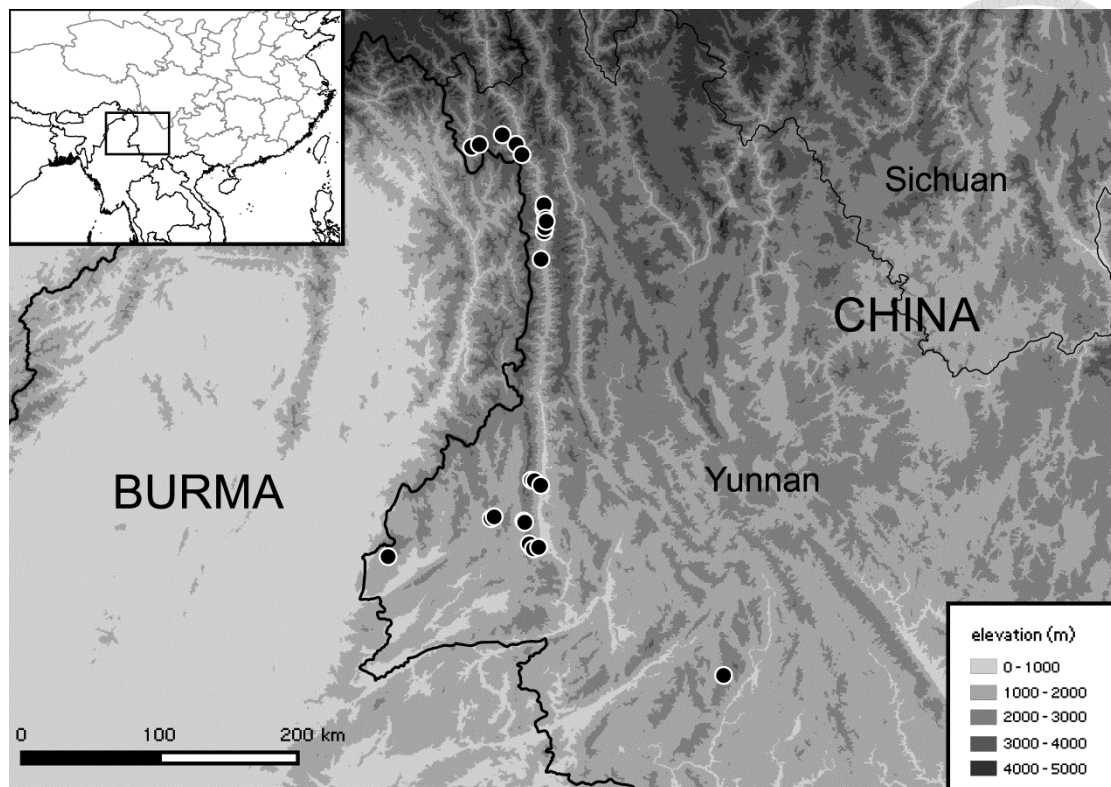


圖 3-3. 刺毛紅孩兒(*Begonia difformis*)之地理分布。



第四章 亞洲秋海棠生物地理學研究

前言

秋海棠的親緣地理學 (phylogeography) 的研究指出，非洲、美洲與亞洲大陸間秋海棠的親緣關係與其地理分布有明顯相關 (Forrest and Hollingsworth, 2003; Forrest et al., 2005; Goodall-Copestake et al., 2010)。針對南洋群島的秋海棠物種的研究顯示其具有由西向東的拓遷模式，並在拓遷過程中，可能因地理隔離而造成快速種化(Thomas et al., 2012)，此一結果分別與前述全球各大洲之間以及種內不同族群之間的研究相呼應。甚至單一物種內不同族群間，其親緣關係與其地理分布也有明顯相關，如 *Begonia sutherlandii* J.D. Hooker (Hughes and Hollingsworth, 2008)。

亞洲秋海棠的分布以熱帶及亞熱帶地區為主，從印度向東延伸，最東到所羅門、斐濟和萬那杜等地，少數物種，如秋海棠 (*B. grandis* Dryand.) 此一落葉性物種的分布可向北延展至中國河北省及北京等北緯約 45 度地區 (Shui et al., 2002; Tebbitt, 2005)。亞洲秋海棠分布中心有二：熱帶中心 (婆羅洲、菲律賓群島以及新幾內亞等地) 和大陸中心 (由喜馬拉雅地區經橫斷山脈延伸至中南半島北部)。針對亞洲秋海棠屬植物起源的研究則顯示，亞洲秋海棠可能是從非洲通過印度次大陸抵達喜馬拉雅山區(Rajbhandary et al., 2011; Thomas et al., 2012)，並帶著具球莖以及落葉性的性狀拓遷至亞洲其他地區(Rajbhandary et al., 2011)。然而，同樣由於中國大陸物種的缺乏，導致結果不甚明確：喜馬拉雅山脈的隆起對亞洲秋海棠多樣性有何影響？而亞洲大陸秋海棠的拓遷模式為何？是否也有明顯的方向性？其親緣距離與地理距離間是否也具明顯相關性？

本研究利用五個葉綠體 DNA 標記重建亞洲秋海棠屬植物親緣關係，並進行定年分析，同時以祖先地區重建分析嘗試回答上述問題。



材料與方法

取樣

本研究使用之材料主要來自中央研究院生物多樣性中心實驗溫室中栽培的秋海棠屬植物活體標本，亦有少部分為野外採集並以矽膠乾燥劑現場乾燥之材料。共取樣 188 個分類群，其中亞洲分類群分別屬於下列 14 個不同的組(Section)：扁果組(*Platycentrum*, 51 sp.)，秋海棠組(*Diploclinium*, 30 sp.)，等翅組(*Petermannia*, 19 sp.)，側膜組(*Coelocentrum*, 18 sp.)，單座組(*Reichenheimia*, 13 sp.)，圓果組(*Sphenanthera*, 14 sp.)，尖籽秋海棠組(*Baryandra*, 10 sp.)，小花組(*Parvibegonia*, 10 sp.)，棒果組(*Leprosae*, 2 sp.)、苞花秋海棠 *Bracteibegonia* (1 sp.)，二被秋海棠組 *Haagea* (1 sp.)，單翅組 *Monopteron* (1 sp.)，二室單座組 *Ridleyella* (1 sp.)，合被秋海棠組 *Symbegonia* (1 sp.)以及五種未劃分組別的物種。分析中同時包含 3 個美洲物種和 8 個非洲物種，並選取其中與亞洲秋海棠關係最遠的三個非洲物種充當外群。本次取樣的亞洲分類群地理區域涵蓋印度次大陸、喜馬拉雅地區(不丹及尼泊爾)，中國大陸(雲南、廣西、廣東、海南、四川、貴州及西藏等)，台灣，中南半島(緬甸、泰國及越南)，馬來半島及南洋群島(蘇門答臘、爪哇、婆羅洲、菲律賓群島、蘇拉威西及新幾內亞等)。形態特徵除了區分組別時所使用之「重要」特徵外，同時也考慮了是否具有球莖，此性狀與生育環境有密切關聯，具球莖者為落葉性，通常生長在季節變化顯著或具明顯乾季的環境，不具球莖者則為被視為常綠性，通常生長於終年潮濕，季節變化不明顯的環境。另外，是否生長於石灰岩地區也是取樣時考慮的因素之一。

DNA 萃取

參考前人研究方法(Doyle and Doyle, 1987; Kopperud and Einset, 1995)，以 CTAB 方法從液態氮下磨成粉末的植物組織分離出 genomic DNA。由於多數秋海

棠植株呈酸性，常導致 DNA 萃取不易，Kopperud and Einset (1995) 利用稀釋之緩衝液清洗磨碎的材料，使 pH 值上升後，再加入 CTAB 萃取 DNA，以提高實驗成功率及產量。



DNA 標記選取、擴增與定序

本研究選取了五個葉綠體 DNA 分子標記進行 PCR 及定序，分別為 rpL16 intron, trnC-ycf6 spacer, ycf6-psbM spacer, psbM-trnD spacer, trnL-F (trnL intron + trnL-trnF spacer)，針對各標記進行聚合酶連鎖反應(PCR)時所使用之引子序列如表一。

PCR 均以 200 μ L 微量離心管進行，包含 Taq DNA 聚合酶 Master Mix RED (Ampligon, Denmark) 12.5 μ L，選定的引子正反兩端各 1 μ L (10 μ M)，模板 DNA 1-2 μ L，最後加入蒸餾水 8.5-9.5 μ L，調整反應物總體積至 25 μ L。PCR 擴增過程中，先增溫至 95 $^{\circ}$ C 5 min 使反應 DNA 變性，再進行下列循環 30 次：1. 95 $^{\circ}$ C 30 sec 使反應 DNA 變性；2. 53-60 $^{\circ}$ C 30 sec 促使引子黏合（黏合溫度見表一）；3. 72 $^{\circ}$ C 60-90 sec 促使引子延長（反應時間是產物長度而定），最後延長反應 72 $^{\circ}$ C 5 min。

PCR 產物以 PCR -Advanced Clean Up Kit (Viogene, Taiwan) 純化後，送往中央研物暨微生物研究所核酸分析核心實驗室進行定序，DNA 定序儀機型為 ABI 3730 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA)。

DNA 序列整理排序及資料矩陣建立

同一 PCR 產物定序後所得之兩端 DNA 序列（通常 2-3 條），先以 SeqManTM II (DNASTAR, USA) 比對合併，經合併後序列以 MEGA5 (Tamura et al., 2011) 進行多重 DNA 序列排序（multiple DNA sequence alignment），先利用 MEGA5 內建之 MUSCLE (Edgar, 2004) 進行自動排序，完成後以目視予以修正及適當調整，形成可供進一步分析之資料矩陣(data matrix)。矩陣中遇有多重複 A/T (poly A/T) 序列、微衛星體 (microsatellite) 片段或難以判斷同源性(homology)的混淆位點

(ambiguous site) 均不納入分析。



重建親緣關係與分子定年

利用定序得到的五個葉綠體DNA分子標記(trnL-F, trnC-ycf6, ycf6-psbM, psbM-trnD, rpl16 intron)資料，以BEAST v. 1.7.1 (Drummond et al., 2012) 執行親緣關係重建分席，並同時進行分子定年 (molecular dating)，分析亞洲秋海棠演化的時間尺度。軟體計算是以 BI的Markov chain Monte Carlo (MCMC)為架構運算。在設定分子時鐘模式上選擇” Relaxed Clock: Uncorrelated Log-normal”，此模式可使親緣樹上不同的支序在計算過程中有其不同的演化速率。由於秋海棠並無可靠的化石證據，因此參考前人(Rajbhandary et al., 2011; Thomas et al., 2012)的定年點進行分子定年分析，以crown group 分化年代為 24Ma. stdev 4.255 (95%=17-31 Ma) 計算。

先以BEAUti v.15.1(Drummond et al.) 編輯input file，其中 “Clock Models” 參數則輸入由MrModeltest (Nylander, 2004)所計算出各個基因的最佳模式；” Trees Priors” 則選擇使用手冊中建議的” Speciation: Yule process” 計算出親緣關係樹上每個 branch各自的起始演化速率，較接近於實際的種化過程。2次各 10^8 個generations,每 1000 個generations取樣一次，並除去前面25%做為burn-in。兩次分析結果以 Tracer v 1.6(Rambaut et al., 2014) 評估是否接近於正常的曲線分佈，確定Effective Sample Size (ESS值)大於200)。最後產生的具有時間軸的親緣關係圖，將做為下一步祖先地區重建分析之用。

祖先地區重建分析(Ancestral Area Reconstruction Analysis)

在RASP (Yu et al., 2015)中以sDIVA(statistical dispersal–vicariance analysis) (Yu et al., 2010)分析法隨機選取1000個BEAST分析所得到的分子親緣關係樹重建亞洲秋海棠屬內各支序群的祖先區域，分布區域地理分布資料依據採樣標本(附錄1)、GBIF (<http://data.gbif.org/>)及文獻(Golding and Wasshausen, 2002; Gu et al.,

2007; Hughes and Pullan, 2007)中紀載之分布地，按照物種和地區編碼，以重建過去的地理分布。依據秋海棠的分布，編碼共分為7區(圖4-2)，包括A: 非洲(包含 Socotra)，B: 美洲，C: 印度次大陸(包括斯里蘭卡)，D: 喜馬拉雅(包括印度東北部錫金、阿薩姆、阿爾納查爾等地)+橫斷山脈及雲南(東北部除外)+中南半島(包括緬甸)，E: 中國 (包括海南島，橫斷山脈及雲南除外)，F: 台灣即附近離島，G: 南洋群島(包括馬來半島)，分析中分布區域限制在四個以下，而分析中物種以 *B. longifolia* 分布於四個不同區域為最廣。

結果

DNA dataset 資料統計與分子演化模型

共取樣 177 個亞洲分類群的葉綠體 DNA 序列，經排序後的統計結果如表 2-2，trnL-F 得 1009 個位點，rpL16 intron 得 1272 位點，trnC-ycf6 得 1190 位點，ycf6-psbM 得 1367 位點，psbM-trnD 得 1134 位點，加總長度共為 5972 個位點，因排序不明確(ambiguity)而排除不予分析的位點共 1886 個，佔總位點數的 31.58%，包含在分析中的位點有 4086 個；利用 MrModeltest (Nylander, 2004)選取的演化模型為：rpL16: GTR+G；trnC-D: GTR+I+G；trnL-F: GTR+G。

親緣關係樹重建

以 BEAST v. 1.7.1 (Drummond et al., 2012)進行 10^8 個世代的分析，各支序群的後驗機率(posterior probability, PP)均顯示於分支上。結果如圖 4-1，與第二章以 MrBayes 重建之親緣關係樹(圖 2-1)相比，大架構基本相同，同樣以分布於 Socotra 的 Clade A 及分布於印度的 Clade B 為基群，其餘物種再分為 Clade C 和 Clade D 兩大支序群，Clade D 由 COE Clade, BAR Clade, REI Clade, PET I Clade 和 PET II Clade 五個支序群組成。兩種分析中，同樣由 BAR Clade, REI Clade, PET I Clade 和 PET II Clade，加上 *B. kingiana* 和 *B. bataiensis* 組成的一個小支序群，以及 *B.*

peltatifolia 共同組成一個具有中等支持度的單系群，只是在 MrBayes 分析中，該支序群的支持度為中等(PP:0.86/LB:73)，在 BEAST 分析中則具較高支持度(PP:0.99)。兩種親緣關係分析裡 Clade C 中由常綠物種組成的單系群 PLA-SPH Clade 同樣深陷於由具球莖的落葉性物種組成的 DIP Grade 中，同時 DIP Grade 中也包括由小花秋海棠組物種組成的 PAR Clade。雖然大分支結構相同，但兩種分析的結果仍有所差異，在 BEAST 分析中分布於喜馬拉雅地區的 *B. dioica* 與印度物種形成的 Clade B 互為姊妹群並形成一個支持度低的支序群(PP:0.49)，使得 *B. grandis* 成為 Clade C 的最基群，在 MrBayes 的分析中，*B. dioica* 與包括 *B. grandis* 在內的其他 Clade C 物種互為姊妹群(PP:0.67/LB:63)，但不同分析中 *B. dioica* 與其他物種組成的支序群的支持度都很低。*B. boissiana* 在 BEAST 的分析結果中是 Clade D 中的最基群，與其他 Clade D 成員形成的支序群互為姊妹群，在 MrBayes 分析中，*B. boissiana* 與 COE Clade 以及由其餘 Clade D 物種組成的支序群三者之間的關係未解。

分子定年

利用 BEAST 重建的親緣關係樹及定年分析的結果如圖 4-1，關鍵支序群的分化時間推估結果如表 4-1。其中亞洲秋海棠(Asia Clade)的冠年齡(Crown age)為 14.66 (5.71-23.87 mya)，Clade C 為 13.60 mya (5.31-22.74 mya)，PLA-SPH Clade 為 6.62 mya (2.47-11.07 mya)，PAR Clade 為 11.21 (3.73-19.02) mya，Clade D 為 9.97 mya (3.41-16.42 mya)，COE Clade 為 6.47 mya (5.31-22.74 mya)，PET I Clade 為 5.48 (1.90-9.48)，PET II Clade 為 7.65 (2.20-10.94)，BAR Clade 為 5.73 (2.00-9.74)，REI Clade 為 4.64 (1.54-8.02)，TAI-1 Clade 為 0.57 mya (0.05-1.26 mya)，TAI-2 Clade 為 0.64 mya (0.10-1.22 mya)。

祖先區域重建分析

利用 BEAST 重建支親緣關係樹進行祖先區域重建分析的結果如圖 4-3，關鍵支序群的祖先區域如表 4-1。結果顯示地理分布區域與親緣關係有明顯關聯。

亞洲大陸物種(Asia Clade)的祖先區域推估最有可能為 D(喜馬拉雅+橫斷山脈及雲南+中南半島)，Clade C 和 Clade D 都是在 D 區域內分化而來。而幾個主要的傳播事件都是以 D 區域為中心向為傳播：1. 由 D 區到 G 區(南洋群島)主要發生兩次，分別在 G1 Clade 和 G2 Clade；2. 由 D 區到 E 區(中國)主要同樣有兩次事件，分別發生在 E1 Clade 和 E2 Clade；3. 由 D 區到 F 區(台灣)兩次(TAI1 Clade, TAI2 Clade 以及)；4. 由 D 區到 DE 區(Clade COE)；5. 由 D 區到 DG 區(PAR Clade)。

討論

分子定年的結果中，PLA-SPH支序群起源自約在6.62 mya 左右，亦即 Miocene末期西藏板塊隆起時，而西藏板塊的隆起對於喜馬拉雅地區及中國東南部的氣候有著顯著影響，由印度洋帶來的水氣被隆起的喜馬拉雅山脈及橫斷山脈攔阻，造成該地區的雨量增加，以至於當地植被發育日益良好，並形成如今極高的生物多樣性，推測PLA-SPH支序群中的物種由落葉性具球莖的祖先演化成常綠根莖性的現象，以及其極高的物種多樣性皆與當地氣候改變有著密切關聯，同樣的現象也在蕨類植物中出現(Wang et al., 2012)。

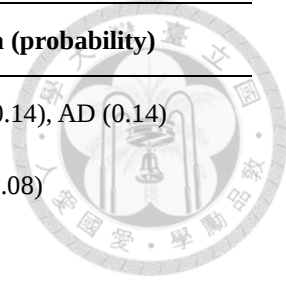
分布於廣西與北越喀斯特石灰岩地區的COE Clade的起源時間與前者相約(6.47 mya)，此時當地正從海底隆升，並且在過去六百萬年裡逐漸風化，形成獨特的石灰岩地貌。祖先地區重建分析的結果顯示中南半島遷移可能是大部分現生亞洲秋海棠的起源地，COE支序群可能也是由中南半島遷徙至當地。

由於亞洲大陸各區域間沒有明顯的分界，使鄰近區域之間單一物種的小規模傳播事件非常頻繁。但由主要的幾次傳播事件中可以看出，亞洲大陸秋海棠的祖先離開非洲到達喜馬拉雅/橫斷山脈與雲南/中南半島區域(D 區，Asia Clade)，並分化成 Clade C 與 Clade D，並以此為中心向外傳播至南洋群島(G)、中國(E)及台灣(F)等區域。另外，COE Clade 的可能傳播路徑為 D 到 DE，因本群植物所在的廣西與北越喀斯特石灰岩地區正好是一個跨越 D、E 兩區的特殊地質區，本結

果正好反映此一事實。

Rajbhandary et al. (2011)在針對喜馬拉雅地區秋海棠物種以ITS DNA序列重建亞洲秋海棠親緣關係的研究中提出「經喜馬拉雅出非洲」(out of Africa via the Himalayas)的假說，對此本研究因區域劃分方式的關係未能明確的指出是經由喜馬拉雅，而是經由喜馬拉雅/橫斷山脈/中南半島區域。





Node	Clade support	Mean (95%HPD) [Ma]	Ancestral Area (probability)
Asia	0.74	14.66 (5.71-23.87)	D (0.70), CD (0.14), AD (0.14)
BAR	1	5.73 (2.00-9.74)	G (0.92), FG (0.08)
C	0.93	9.97 (5.31-22.74)	D (0.99)
COE	1	6.58 (2.15-11.22)	DE (0.90), E (0.07)
D	1	8.67 (3.41-16.42)	D (0.83), DE (0.09), DG (0.08)
E1	1	2.57 (0.79-4.45)	E (1)
E2	1	1.17 (0.19-2.44)	E (1)
G1	0.99	8.67 (3.25-14.39)	DG (0.75), EG (0.09), D (0.07)
G2	1	2.08 (0.53-3.82)	G (0.98)
PAR	0.97	11.21 (3.73-19.02)	D (0.77), DG (0.23)
PET I	1	5.48 (1.90-9.48)	DG (0.74), EG (0.25)
PET II	1	7.65 (2.20-10.94)	G (1)
PLA-SPH	1	6.62 (2.47-11.07)	D (1)
REI	1	4.64 (1.54-8.02)	G (1)
TAI 1	1	0.57 (0.05-1.26)	DF (0.87), F (0.13)
TAI 2	1	0.64 (0.10-1.22)	F (1)

表4-1. 關鍵支序群定年與祖先區域重建分析結果

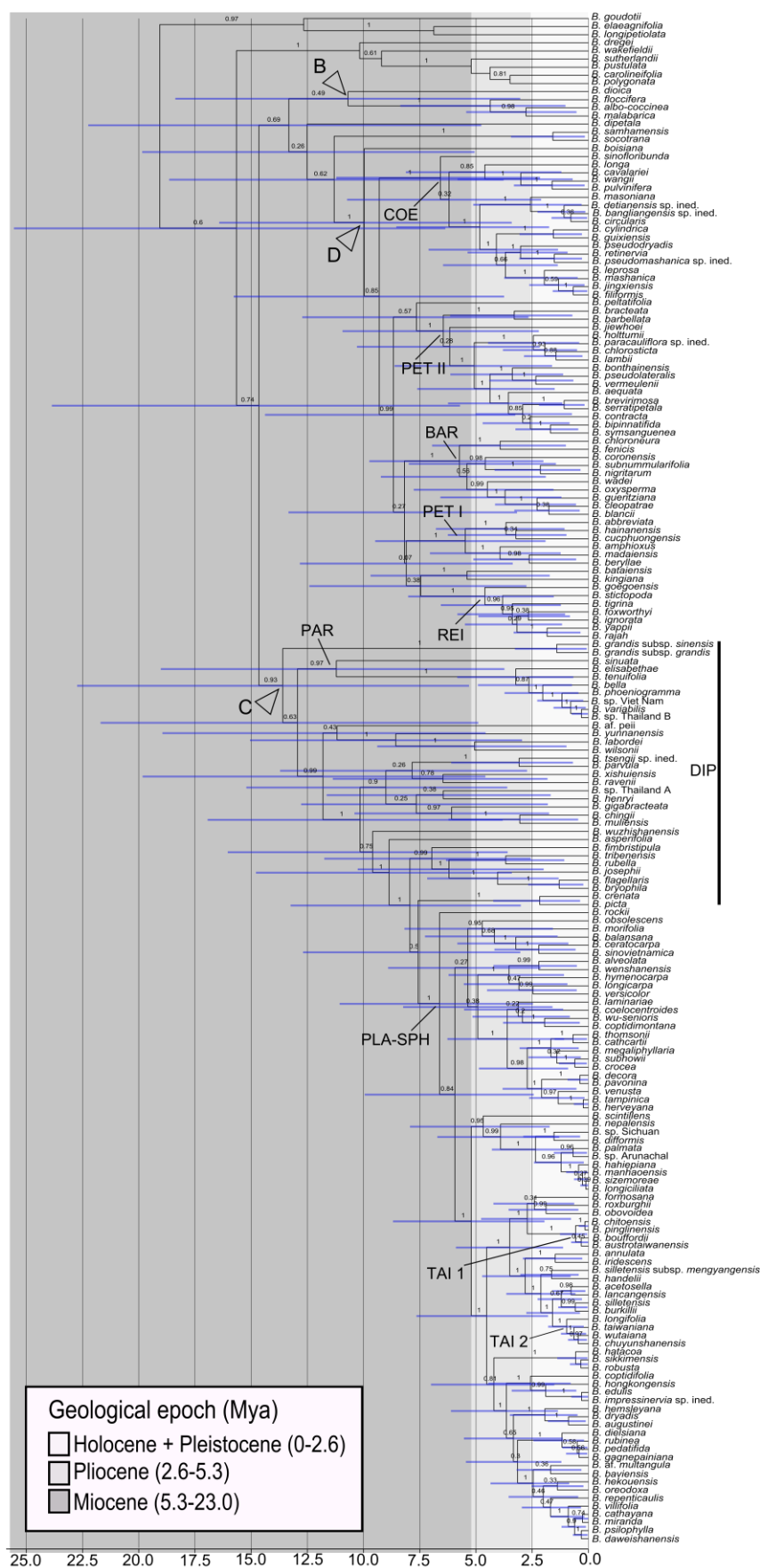


圖 4-1. 利用五個葉綠體片段以BEAST重建之亞洲秋海棠定年分析結果。

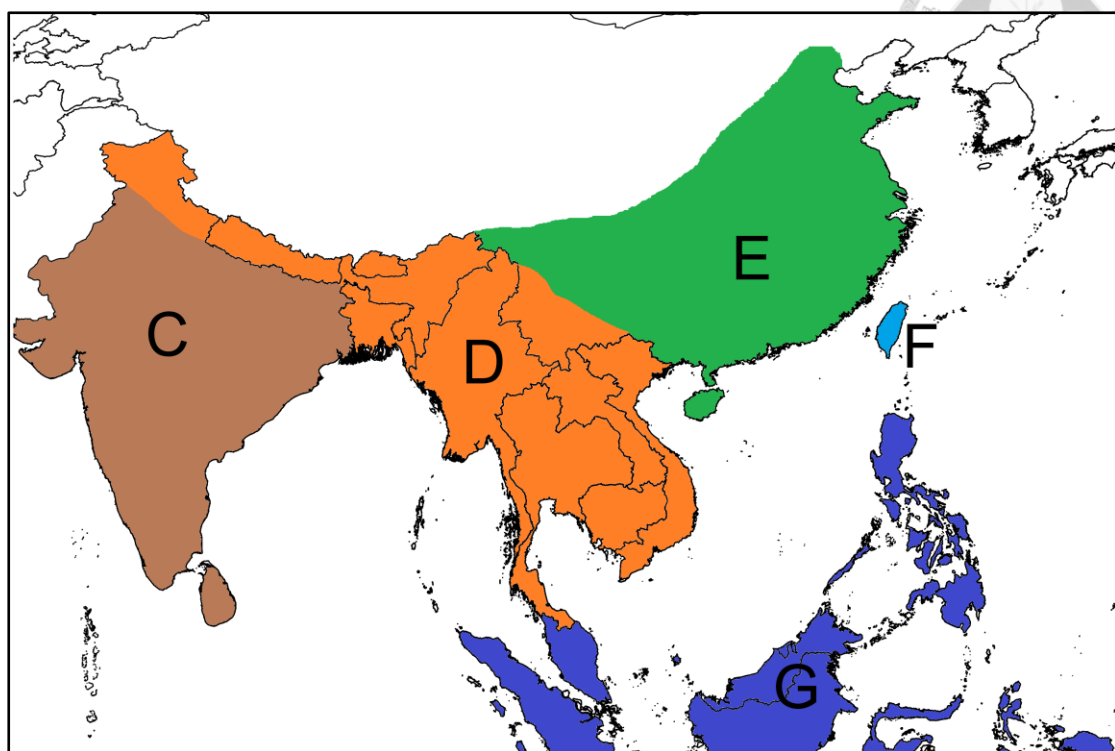


圖 4-2. 祖先區域重建分析之區域劃分；A: 非洲(包含Socotra)，B: 美洲，C: 印度次大陸(包括斯里蘭卡)，D: 喜馬拉雅(包括印度東北部錫金、阿薩姆、阿爾納查爾等地)+橫斷山脈及雲南(東北部除外)+中南半島(包括緬甸)，E: 中國 (包括海南島，橫斷山脈及雲南除外)，F: 台灣即附近離島，G: 南洋群島(包括馬來半島)。

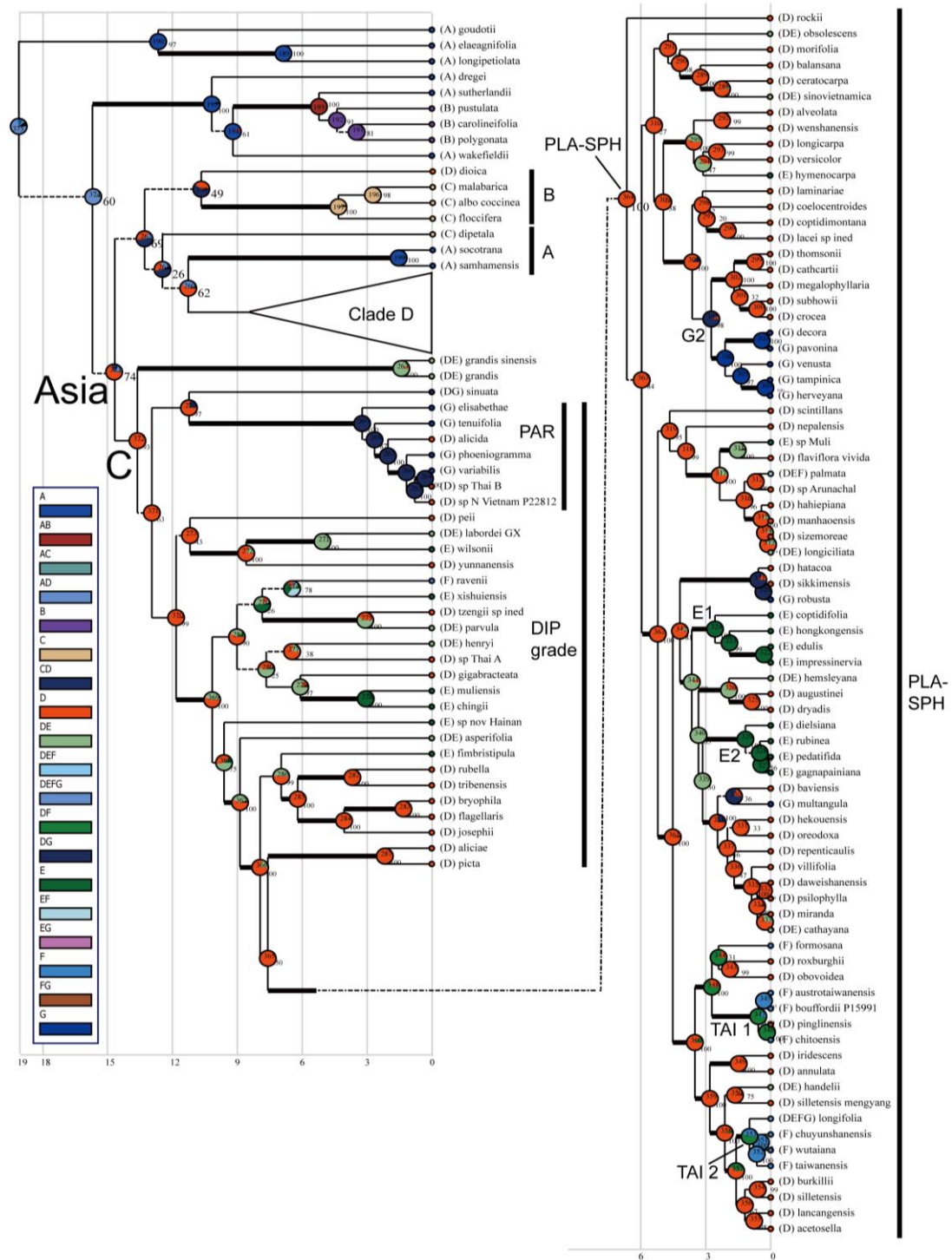


圖 4-3. sDIVA分析之祖先地區重建分析結果 (略去D支序群); 種名前字母代表開物種分布區域(見方法中描述及圖4-2), 圓餅圖表示每一個節點的祖先區域重建的機率, 分支加粗者表示後驗機率為1, 虛線表示後驗機率小於0.9。

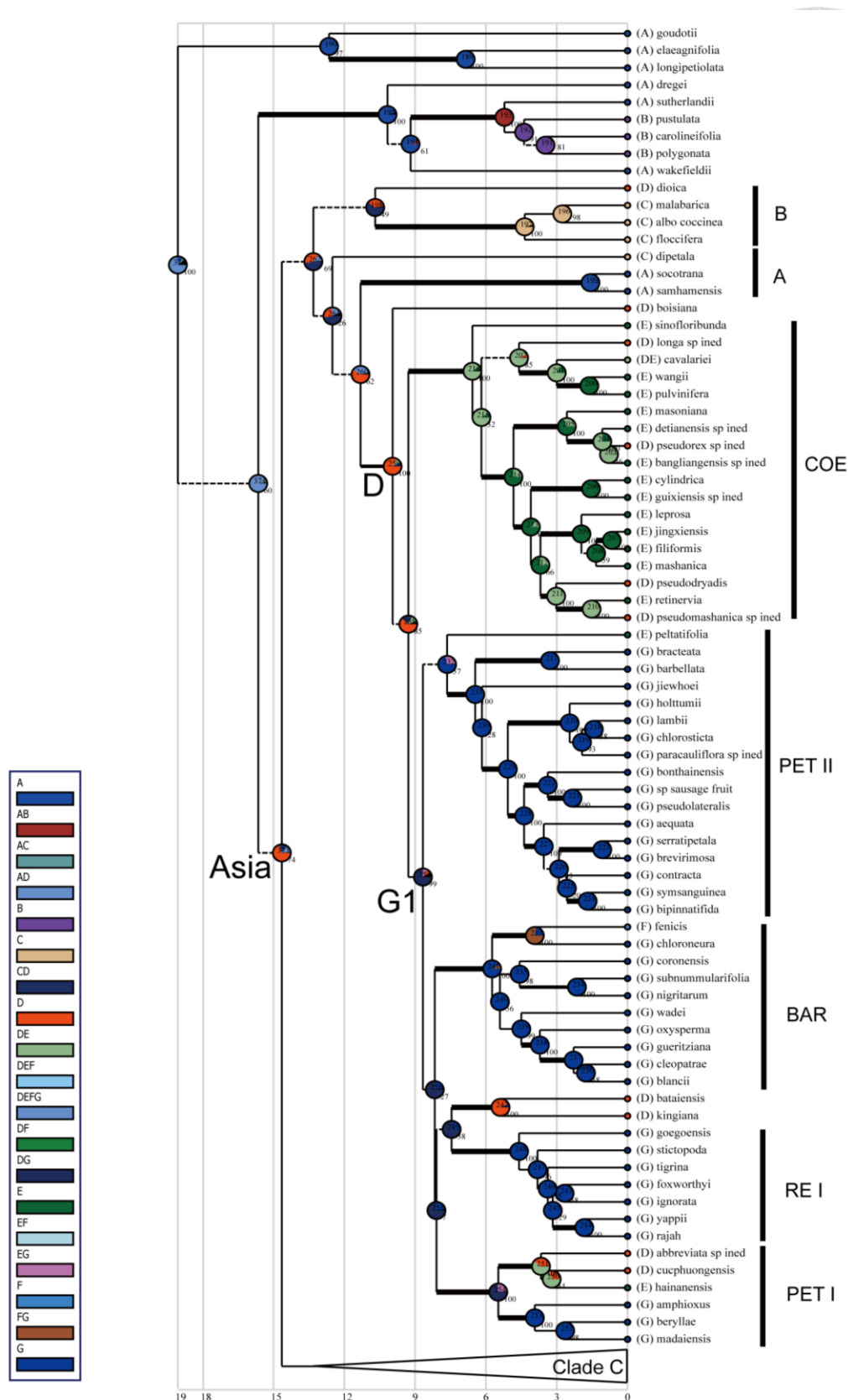


圖 4-3.(續) sDIVA分析之祖先地區重建分析結果 (略去C支序群)；種名前字母代表開物種分布區域(見方法中描述及圖4-2)，圓餅圖表示每一個節點的祖先區域重建的機率，分支加粗者表示後驗機率為1，虛線表示後驗機率小於0.9。

第五章 亞洲秋海棠雜交多倍體化現象研究



前言

過去的分子譜系研究不斷強調地理隔離在秋海棠種化過程中的重要性 (Chung et al., 2014; Forrest and Hollingsworth, 2004; Hughes, 2008; Plana, 2003; Plana et al., 2004; Thomas et al., 2012)，相對的，種間雜交的現象在秋海棠種化過程中扮演的角色卻一直被忽略。現生亞洲秋海棠的天然種間雜交頻繁 (Chiang et al., 2001; Kiew et al., 2003; Li et al., 2005; Peng and Chen, 1991; Peng and Chiang, 2000; Peng and Ku, 2009; Peng et al., 2010; Peng and Sue, 2000; Teo and Kiew, 1999)，臺灣原生秋海棠屬 (*Begonia* L.) 植物已知共有 18 種，其中包含 4 種天然雜交種。

生物種觀 (Mayr, 1942) 認為種是一群自然的族群，個體能互相交配，但與其他族群有生殖隔離 (Species are groups of actually or potentially interbreeding natural populations, which are reproductively isolated from other such groups)。在生物種觀下，種化是建立生殖隔離的過程，使得新形成的類群不與原有的類群基因交流。雜交後代必須克服生殖隔離的障礙，才能對物種多樣性有較大貢獻，雜交打破了生物種的定義，但雜交種的結果，仍是遵循生物種觀的 (Arnold, 1997)；所以，雜交種化的關鍵在於生殖隔離失敗與重新確立，其中，多倍體化為植物雜交後能否成功種化的重要機制之一 (Grant, 1981)。

在臺灣產秋海棠屬植物中，就有多種不同的倍體數，其中僅圓果秋海棠(*B. longifolia*, $2n=22$)、裂葉秋海棠(*B. palmata*, $2n=22$)、蘭嶼秋海棠(*B. fenicis*, $2n=26$) 為二倍體 (Oginuma and Peng, 2002; Peng et al., 2005; Peng and Ku, 2009)，然其他物種難以估算倍體數，因為多倍體化和非整倍體化 (aneuploidization) 為秋海棠屬的特性，染色體基數至今仍無法確定 (Oginuma and Peng, 2002)。Oginuma and

Peng (2002) 提出亞洲產種類的祖先染色體數可能為 $2n=22$ ，但 Thomas (2010) 則發現 *Petermannia-Coelocentrum* clade 的染色體數多為 $2n=30$ ，又亞洲支序基群的印度物種亦是，推論亞洲物種的祖先染色體基數為 $n=15$ 。

在亞洲秋海棠過去的演化歷史中，究竟有多少雜交種化事件成功續存到現代？其對現生物種多樣性的貢獻如何？對於特徵演化是否造成影響？對秋海棠的拓遷是否有正面的影響？

雜交是兩組異源基因的結合，故 DNA 的相關方法提供了有力的證據。透過分別以核內低拷貝基因序列以及葉綠體 DNA 序列重建之親緣關係進行比對，並以此探討染色體數的演化，將可能回答以上問題。

材料與方法

取樣

材料多為野外採集葉片並直接以矽膠乾燥，部份植物為栽植於中研院溫室新鮮材料。基本上每個物種採取一個個體。部分樣品為具有不同果實型態或具有較高染色體數疑似雜交起源的種類，證據標本存放於中研院標本館(HAST)。

共取樣 52 個不同分類群的亞洲秋海棠屬植物(附表 3)，分屬九個不同的組，其中包含圓果組(Sect. *Sphenanthera*)11 個分類群，親緣關係與其最為密切之扁果組(Sect. *Platycentrum*) 22 種(附錄三)，同時包括秋海棠組(秋海棠組)10 種，側膜組(Sect. *Coelocentrum*)2 種，單座組(Sect. *Reichenheimia*)2 種，棒果組(Sect. *Leprosa*)1 種，單翅組(Sect. *Monopteron*)1 種，等翅組(Sect. *Petermannia*)1 種，以及二室單座組(Sect. *Ridleyella*)1 種。

染色體數

在葉綠體標記重建之親緣關係樹上標記個物種染色體數，各物種染色體數來自文獻(Doorenbos et al., 1998; Gu et al., 2007; Oginuma and Peng, 2002)與本研究室未發表資料。



分子實驗方法

總 DNA 萃取參考 Doyle and Doyle (1987)、Kopperud and Einset (1995) 等之研究，以 cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) 方法從液態氮下磨成粉末的植物組織分離出。由於多數秋海棠植株呈酸性，常導致 DNA 萃取失敗，利用 Kopperud and Einset (1995) 的方法，以稀釋之緩衝液清洗磨碎的材料，提高 pH 值後，再加入 CTAB 萃取 DNA，得以提高實驗成功率及產量。

葉綠體 DNA 選用五個 intergenic spacer, 包括 trnL-trnF、trnC-ycf6、ycf6-psbM、psbM-trnD 以及 rpL16 intron，細胞核 DNA 片段則選取二個低拷貝核基因片段 PISTILLATA (PI, ca. 1.8kb) 與 RNA Polymerase Large Subunit II (RPB2, ca. 1.1kb)。各標記進行聚合酶連鎖反應(PCR)時所使用之引子序列如表 5-1。

PCR 反應中包含 Taq DNA 聚合酶 Master Mix RED (Ampligon, Denmark) 12.5 μ L，選引子正反兩端各 1 μ L (10 μ M)，DNA 模板 1-2 μ L，二次水 8.5-9.5 μ L，以調整反應物總體積至 25 μ L。PCR 擴增過程中，先增溫至 95 $^{\circ}$ C 5 min 使反應 DNA 變性，再進行下列循環 30 次：(1) 95 $^{\circ}$ C 30 sec 使反應 DNA 變性；(2) 53-60 $^{\circ}$ C 30 sec 促使引子黏合（黏合溫度見表一）；(3) 72 $^{\circ}$ C 60-90 sec 促使引子延長（反應時間是產物長度而定），最後延長反應 72 $^{\circ}$ C 5 min。PCR 完成後，利用 TAE 系統之瓊脂膠體電泳分析。片段若為單一產物，葉綠體片段在 PCR 產物純化後直接定序，若非為單一 DNA 片段，則利用瓊脂膠體電泳分離不同分子量之 PCR 產物，在 UV 燈下以刀片將特定之 DNA 片段切下回收，再進行定序分析。DNA 定序儀機型為 ABI 3730 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA)。

細胞核 DNA 片段先 TAE 系統之瓊脂膠體電泳分析確認片段長度正確，或在 UV 燈下取出長度正確之 DNA 片段回收，再純化 PCR 產物。在此測試階段時，特定細胞核 DNA 片段的不同複本以 DNA 選殖方式進行。即利用 pGEM-T Easy (Promega Corporation) 試劑模組，將純化後之 DNA 片段做接合反應(ligation)連接至載體 pGEM-T Vector system (Promega, USA) 上，轉殖(transformation)至大腸

桿菌(DH5 α 菌株)中；再以抗生素 ampicillin 和 X-Gal 的篩選，挑選白色的菌落培養後送定序。另對每個物種分別挑 10-15 個菌落進行 colony PCR 確認是否帶有目標片段。將帶有目標片段的菌落挑至裝有 2 μ L LB 之試管中培養約 15 小時。以 Mini PlusTM Plasmid DNA Extraction System (Viogene, Taiwan)，並依照手冊上步驟萃取質體 DNA。

親緣關係重建分析

得到的序列以軟體 SeqManTM II (DNASTAR, USA) 比對合併，經合併後序列以 MEGA5 (Tamura et al., 2011) 內建之 MUSCLE (Edgar, 2004) 進行自動排序，完成後輔以人工校正，形成可供進一步分析之資料矩陣(data matrix)。矩陣中遇有多重複 A/T (poly A/T)序列、微衛星體 (microsatellite) 等難以判讀或難以判斷同源性(homology)的不確定位點 (ambiguous site) 均不納入分析。個別樣本得到的五個片段葉綠體 DNA rpL16 intron、trnC-ycf6、ycf6-psbM、psbM-trnD、trnL-F 合併成一個矩陣進行分析。

核基因片段的分析，是先將所有 clone 序列先混合分析，以確認 clone 序列的分群。本研究之目的在確認多倍體個體所擁有的 homoeologous gene copy 及其親本支序群來源，並非探討 allele 之多型性，因而在一個體中得到的 clone 序列若歸在同一支序則僅保留其中一條序列做為代表，此方法並能減少整個矩陣的大小，便於後續軟體分析。又部分序列有重組 (recombination) 現象，為避免干擾親緣分析結果，將可能的重組序列排除不放入分析。

序列矩陣先以 MrModeltest (Nylander, 2004)計算其分子演化模型 (models of molecular evolution)，得出最合乎 DNA 演化的最佳模式，並根據赤池資訊準則 (Akaike information criterion, AIC) 選取。親緣關係重建乃利用最大簡約法 (maximum parsimony, MP) 和貝葉氏導出式分析 (Bayesian inference analysis, BI) 進行。

最大簡約法以 PAUP* v. 4.0b10 (Swofford, 2002)，以窮盡搜尋法(heuristic

searches), 所有位點等權重, gap 處理為 missing data, 分類群資隨機加入(random taxon addition), 並以 TBR (tree-bisection-reconnection) 建構樹。為求得樹形的支持度, 以重複 1000 次(replicates) 的 bootstrapping 計算 (Felsenstein, 1985)。

貝葉氏導出式分析是以 MrBayes 3.2.2 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) 進行 20,000,000 次演算世代 (generation), 演算期間產生的演化樹每 1,000 個世代取樣一次, 可得到 20,000 個演化樹, 為使最佳化, 扣除取樣中最先得到的 25% 的演化樹 (及 5,000 個演化樹, burnin=5,000), 將最後保留的 15,000 個演化樹經計算後合併成一個 50% 多數共識樹(50% majority consensus tree), 並在分支上標記後驗機率 (posterior probability)。

結果

染色體數

染色體數標註在以葉綠體 DNA 片段重建之親緣關係樹上在(圖 5-1, 5-2), 分析中包含的物種染色體數以 $2n=22$ 最普遍, 但也有 $2n=16, 18, 20, 24, 26$ 等變異, 染色體數較高的物種有 *B. emeiensis* ($2n=33$), *B. ravenii* ($2n=36$), *B. taiwaniana* ($2n=38$), *B. roxburghii* ($2n=22, 44$), *B. chuyunshanensis* ($2n=52$), *B. af. multangula* ($2n=56$), *B. formosana* ($2n=60, 64$), *B. robusta* ($2n=66$), *B. handelii* ($2n=22, 44, 66, 77$)。

DNA dataset 資料統計與分子演化模型

葉綠體分子標記部分共取得 52 個亞洲分類群 DNA 序列, 經排序後的統計結果如表 5-2, 五個片段(trnL-F, rpL16 intron, trnC-ycf6, ycf6-psbM, psbM-trnD) 共得 4977 位點, 因排序不明確(ambiguity)而排除不予分析的位點共 598 個, 包含在分析中的位點有 4201 個, 具簡約意義的位點有 222 個; 利用 MrModeltest (Nylander, 2004) 選取的演化模型為 rpL16: GTR+G; trnC-D: GTR+I+G; trnL-F:

GTR+G。

PI 分子標記部分共取得 51 個分類群 61DNA 序列，其中 *B. taiwaniana* 與 *B. lancangensis* 中發現兩個不同的疑似同源基因片段，*B. formosana*, *B. chuyunshanensis*, *B. multangula*, *B. robusta* 四個物種則分別發現三個不同的疑似同源基因片段，經排序後共得到 1846 位點，因排序不明確(ambiguity)而排除不予分析的位點共 188 個，包含在分析中的位點有 1658 個，具簡約意義的位點有 289 個；利用 MrModeltest (Nylander, 2004)選取的演化模型為 GTR+G。

RPB2 分子標記部分共取得 51 個分類群 57 DNA 序列，其中 *B. chuyunshanensis* 中發現三個不同的疑似同源基因片段，*B. formosana*, *B. multangula*, *B. robusta*, *B. taiwaniana* 四個物種則分別發現兩個不同的疑似同源基因片段，經排序後共得到 1713 位點，因排序不明確(ambiguity)而排除不予分析的位點共 616 個，包含在分析中的位點有 1097 個，具簡約意義的位點有 115 個；利用 MrModeltest (Nylander, 2004)選取的演化模型為 GTR+G。

綜合上述結果得知取樣分類群中包含五個疑似異源多被體(allopolyploid)，分別為 *B. chuyunshanensis* ($2n=52$), *B. formosana* ($2n=60, 64$), *B. af. multangula* ($2n=56$), *B. robusta* ($2n=66$), *B. taiwaniana* ($2n=38$)，以下分析結果將主要針對這五個物種進行探討。

親緣關係重建分析

所有DNA片段序列資料矩陣經親緣關係分析後，分別得到以最大簡約法及貝葉氏導出式分析產生的親緣關係樹，相同分子標記以兩種方法分析所得到的親緣關係樹的分支結構(topology)相似(圖5-1, 5-2, 5-3, 5-4, 5-5, 5-6)。

葉綠體親緣關係

以最大簡約法及貝葉氏導出式分析所得到結果如圖5-1, 5-2，*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*和*B. taiwaniana*與8個圓果組分類群形成一個單系群(SPH Clade)，其中*B. chuyunshanensis*和*B. taiwaniana*形成姊妹群。*B. af.*

*multangula*和*B. robusta*與15個扁果組分類群形成另一個單系群(PLA Clade)。檢視本分析中取樣到的漿果狀物種，包含外群中的*B. leprosa*，顯示漿果狀果實的性狀至少具有六個不同起源。

PI 親緣關係

以最大簡約法及貝葉氏導出式分析所得到結果如圖5-3, 5-4，由於部分物種包含兩個或以上的基因拷貝(gene copy)，不同拷貝將以學名加代號稱呼，*B. formosana* P2, *B. formosana* P3, *B. chuyunshanensis* P3, *B. af. multangula* P3, *B. taiwaniana* P2與8個圓果組分類群以及*B. nepalensis* (Sect. *Monopteron*)形成一個單系群(SPH Clade)，其中圓果組的成員之一*B. lancangensis*亦具有兩個不同拷貝，*B. lancangensis* P1與*B. silletensis* subsp. *mengyangensis*形成姊妹群，而*B. lancangensis* P2則與*B. acetosella*形成姊妹群。*B. chuyunshanensis* P1, *B. chuyunshanensis* P2, *B. taiwaniana* P1, *B. formosana* P1自成一單系群。*B. af. multangula* P2和*B. robusta* P3與兩個扁果組物種*B. baviensis*和*B. palmata*組成一單系群。*B. af. multangula* P1, *B. robusta* P1, *B. robusta* P2與17個扁果組物種形成一單系群(PLA Clade)。

RPB2 親緣關係

以最大簡約法及貝葉氏導出式分析所得到結果如圖5-5, 5-6，*B. robusta* R1, *B. robusta* R2, *B. chuyunshanensis* R3, *B. formosana* R2, *B. taiwaniana* R2與8個圓果組分類群以及*B. nepalensis*形成一單系群 (SPH Clade)，*B. chuyunshanensis* R2, *B. taiwaniana* R1與三個扁果組物種*B. longiciliata*, *B. manhaoensis*和*B. oreodoxa*形成單系群，並與SPH Clade 互為姊妹群，*B. af. multangula* R1, *B. af. multangula* R2, *B. chuyunshanensis* R1, *B. formosana* R1與其餘所有26個常綠性物種組成一單系群(PLA)。

討論

雜交種化現象對秋海棠物種多樣性的貢獻

比對葉綠體與核基因親緣關係樹，發現一個異源同倍體*B. lancangensis*及五個異源多倍體 *B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, *B. multangular*, *B. robusta*,和*B. taiwaniana*，表示雜交種化現象對秋海棠物種多樣性有一定程度的貢獻。在植物進入新生境過程中，雜交後的基因重組現象可促進產生快速適應新生境的能力，本研究使用的分類群主要分布於亞洲大陸，而目前發現的雜交物種中，除了*B. lancangensis*外，其餘五種均分布於島嶼，*B. multangular*和*B. robusta*產自爪哇，*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*和*B. taiwaniana*則產自台灣，而台灣產秋海棠物種大多具有雜交起源(Oginuma and Peng, 2002; 楊巽安, 2011)，即說明了種兼雜交現象對新物種形成的貢獻。

由於葉綠體一般是母系遺傳，因此在葉綠體親緣關係樹中，*B. lancangensis*與*B. silletensis* subsp. *mengyangensis*形成姊妹群，可推測雜交起源物種的母本果實形態，*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, 和*B. taiwaniana* 的母系DNA可能來自漿果狀物種，而*B. cf. multangular*和*B. robusta*則可能來自蒴果物種。*B. chuyunshanensis*與*B. taiwaniana*為姊妹群，兩者可能傳承相同母系DNA，又*B. longifolia*與該二物種的關係非常接近，疑似即為其母本。五個異源多倍體物種都可能都是由漿果狀物種與蒴果物種間雜交後種化而來，由於*B. cf. multangular*和*B. robusta*具有漿果狀果實，而其母系DNA來自蒴果物種，因此利用葉綠體重建親緣關係時，會認為*B. cf. multangular*和*B. robusta*的漿果狀果實各自具有獨立的起源，同時*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, 和*B. taiwaniana*以其蒴果性狀，卻承載漿果狀祖先的母系DNA，使得利用葉綠體重建的親緣關係中會誤以為這些物種的蒴果性狀是反祖現象，必須藉由比較葉綠體與核基因親緣關係後方得釐清。

本研究中葉綠體與核基因之間的親緣關係樹或兩個核基因之間的親緣關係樹的分支結構不盡相同，可能由以下原因造成：(1) 對異源多倍體而言，在選取

不同基因拷貝時，未必能取樣到所有拷貝，即便增加更多clone的取樣數，仍可能有所遺漏。而本研究中採用兩個核片段，可降低以上的問題發生的機會。故在處理雜交問題時，建議核基因片段取兩個以上；(2) 對二倍體物種而言，可能是未被發現的異源同倍體(allohomoploid)，經基因從組後，不同基因有可能保留來自不同單一親本的基因型，異源同倍體的檢驗困難度高，不容易被發現；(3) 譜系排序(lineage sorting)造成的結果。

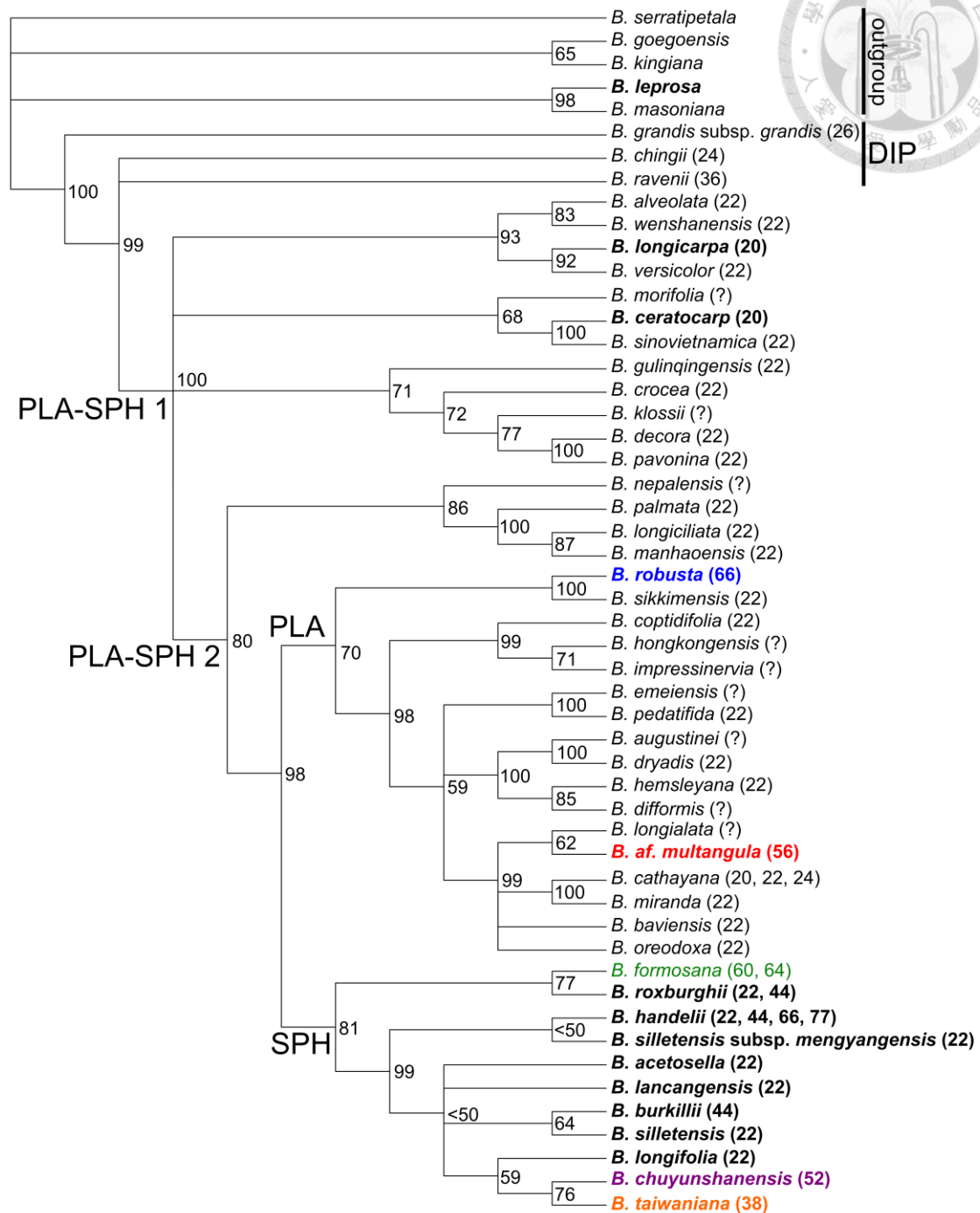
分子標記	引子	引子序列 (5'-3')	黏合溫度 (°C)	來源
PI*	BegPIx2F	AGAGGCTATGGGATGCTAAG	本研究	
	BegPI-R0	TTGAACTCCCTCATCTCTGC	本研究	
	BegPIx4F [†]	GGCATATGAAGGGAGAGGATC	本研究	
RPB2*	Begx11F	CACCTGAAGGACAAGTACAATGC	本研究	
	Begx14R	CACTAACCCTCTGCTGTAGAGC	本研究	
trnL-F	trnL(c)	CGAAATCGGTAGACGCTACG	60	Taberlet et al. 1991
	trnF(f)	ATTTGAACTGGTGACACGAG	60	Taberlet et al. 1991
	trnL-s [†]	AAATCGTGAGGGTTCAAGTC	53	本研究開發
rpL16 intron	rpL16-F	GCTATGCTTAGTGTGACTCG	55	本研究開發
	rpL16-R	CGTCCYGCTTCTATTTGTCTAG	55	本研究開發
	Beg-rpL16 [†]	GTTTCACATTATCTGGATCG	50	本研究開發
trnC-ycf6	trnC	CCAGTTCAAATCTGGGTGTC	55	Demesure et al. 1995
	petN1r	CCCAAGCAAGACTTACTATATCC	55	Lee et al. 2004
ycf6-psbM	ycf6-F	ATGGATATAGTAAGTCTYGCTTGGG	60	Shaw et al. 2005
		C		
	psbM-R	ATGGAAGTAAATATTCTYGCATTTA	60	Shaw et al. 2005
psbM-trnD		TTGCT		
	psbM-F	AGCAATAAATGCRAGAATATTTACT	55	Shaw et al. 2005
		TCCAT		
	trnD(GUC)R	GGGATTGTAGYTCAATTGGT	55	Shaw et al. 2005
	Beg-psbM-F [†]	TATTCGCAATAACTCAGGA	50	本研究開發

[†]僅用於定序 *PI=PISTILLATA, RPB2=RNA polymerase second largest subunit

表 5-1 各 DNA 分子標記 PCR 反應與定序使用之引子序列與黏合溫度

標記區域	位點數	排除位點數	分析位點數	具簡約意義 位點數
5 葉綠體標記	4977	598	4201	222
PI	1846	188	1658	289
RPB2	1713	616	1097	115

表 5-2 DNA 矩陣位點數及排除位點資料



5-1. 利用葉綠體DNA分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為引導式再取樣分析值(Bootstrap value)。

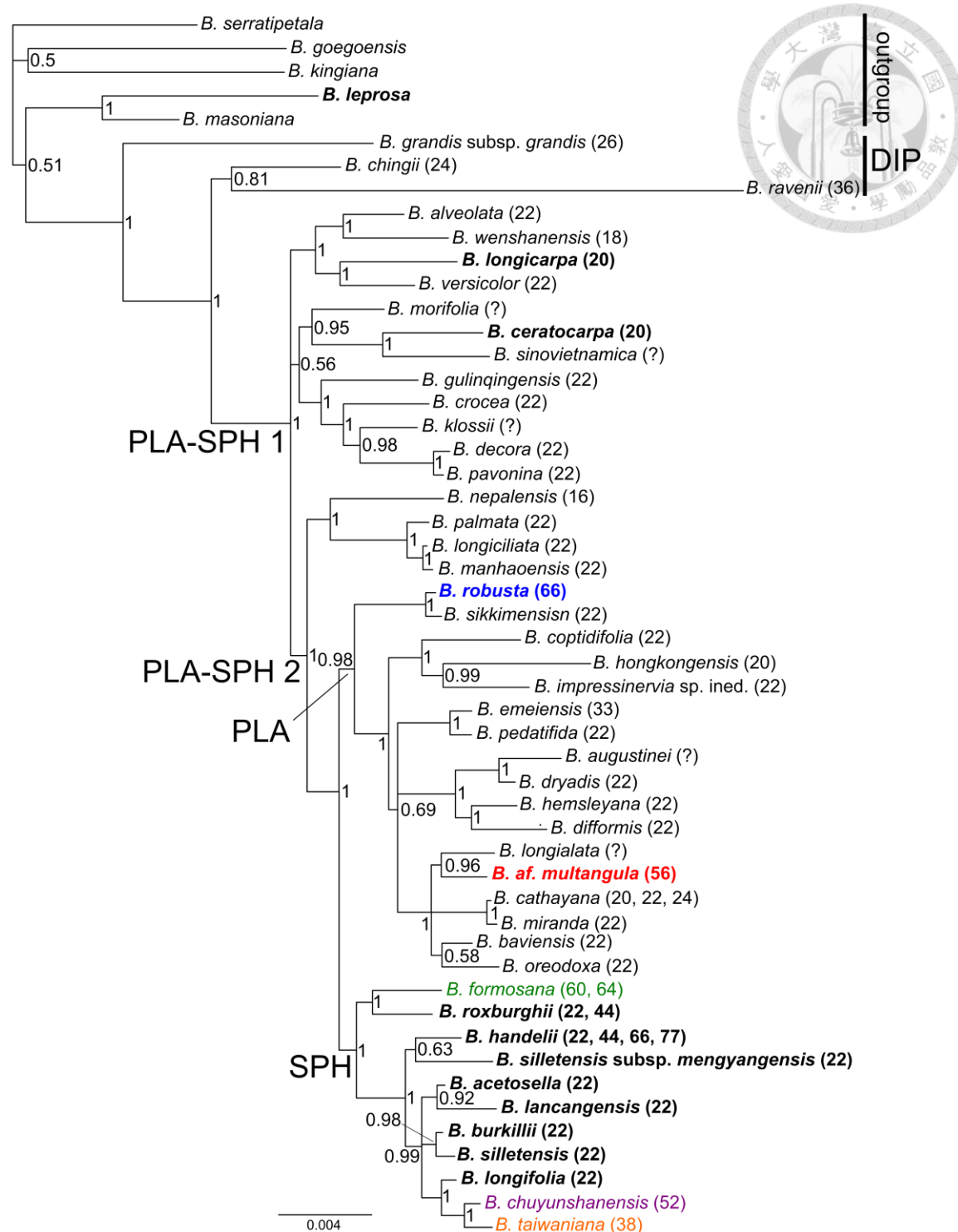


圖5-2. 利用葉綠體DNA分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為後驗機率(Posterior probability)。

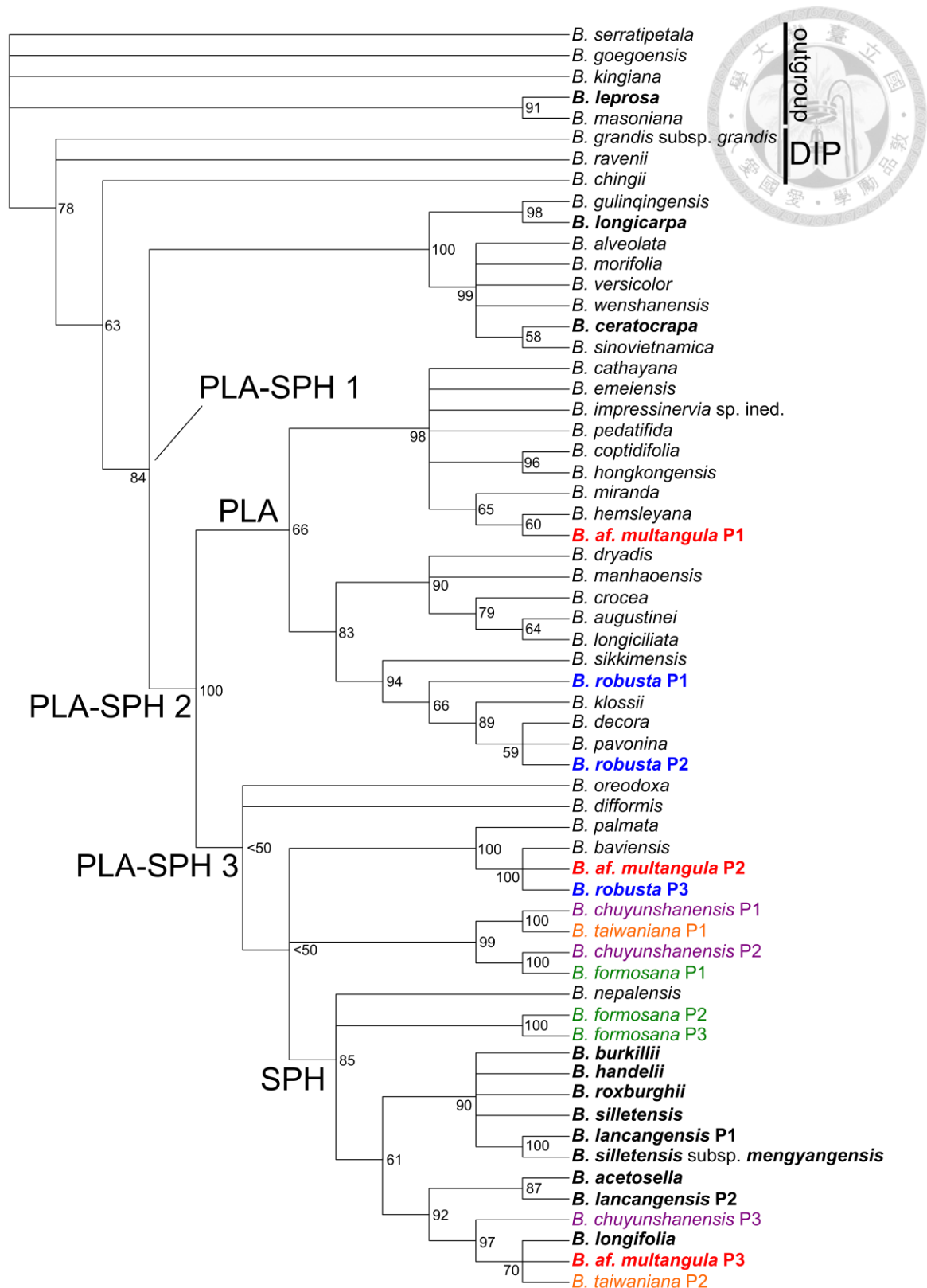


圖5-3. 利用PI分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為引導式再取樣分析值(Bootstrap value)。

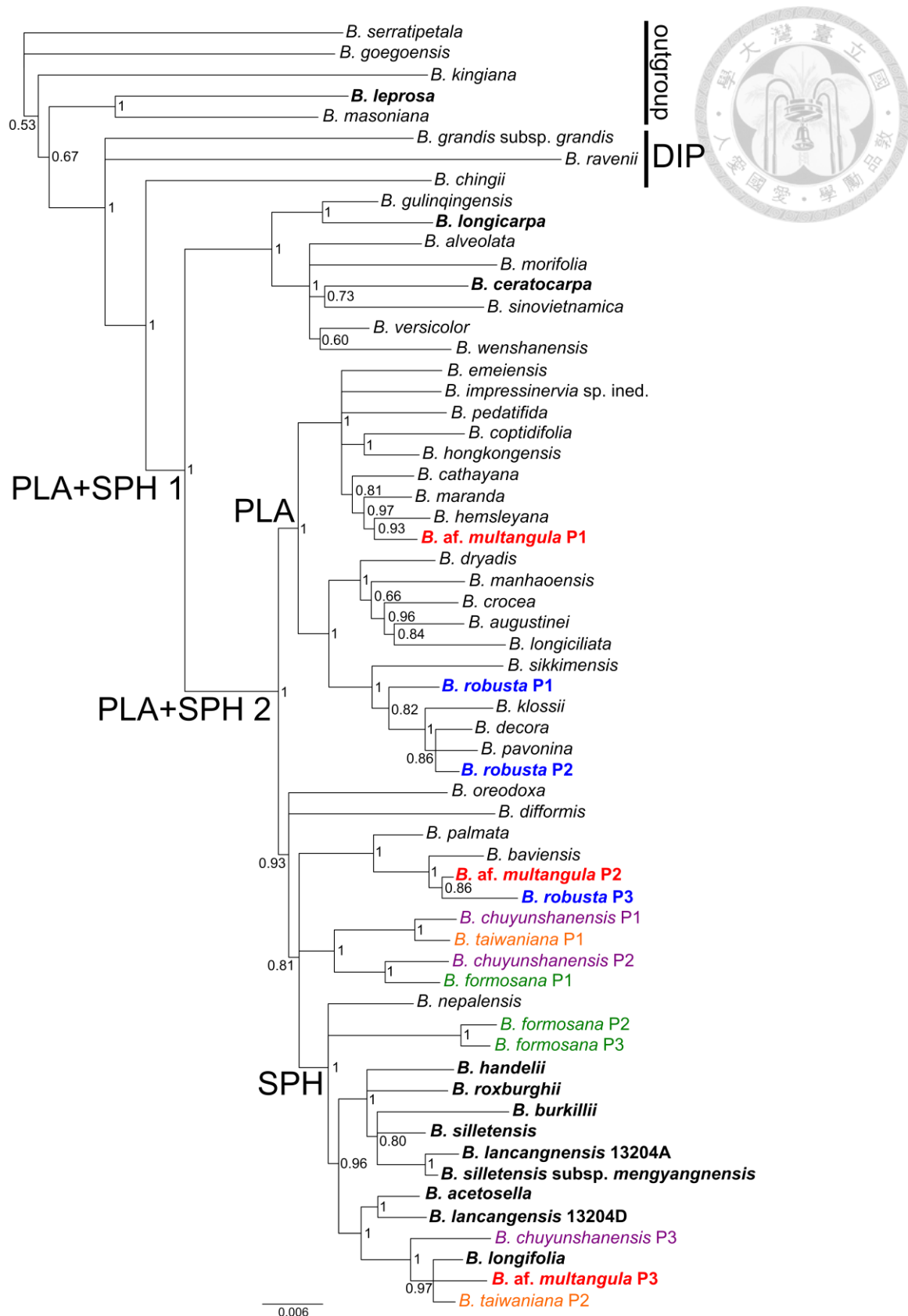


圖5-4. 利用PI分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為後驗機率(Posterior probability)。

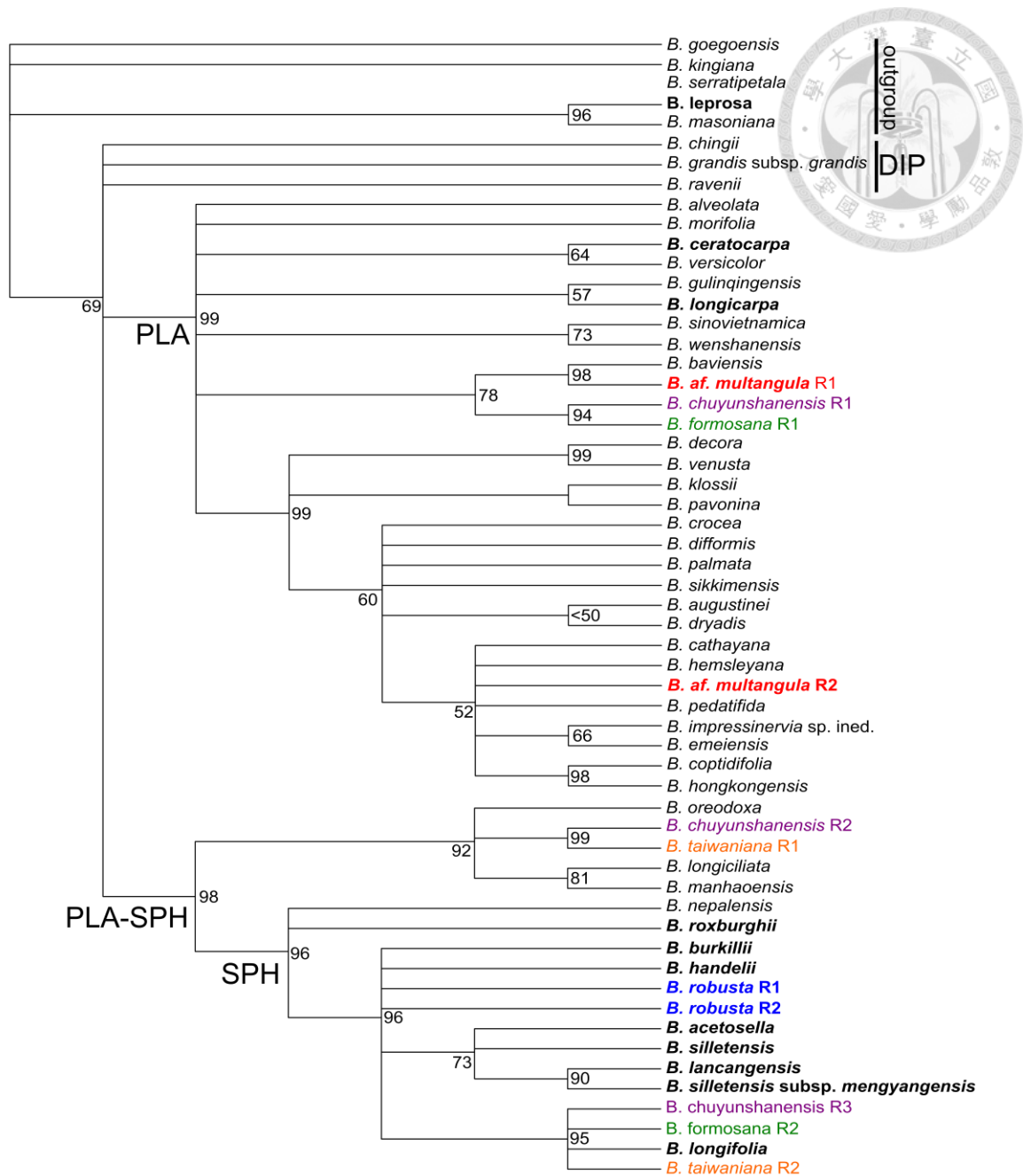


圖5-5. 利用RPB2分子標記以最大簡約法重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為引導式再取樣分析值(Bootstrap value)。

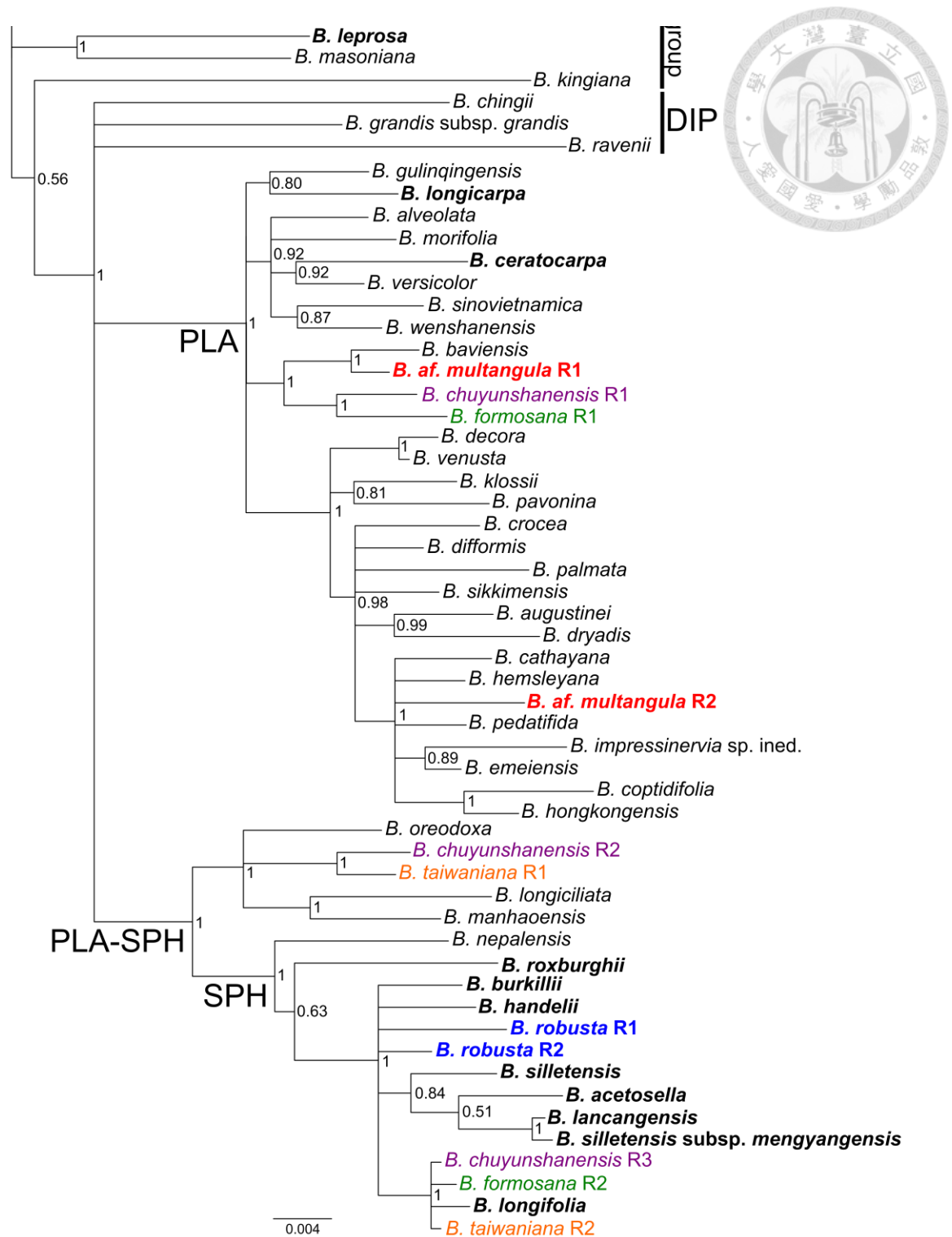


圖5-6. 利用RPB2分子標記以貝葉氏導出式分析重建之秋海棠親緣關係；粗體表示漿果狀物種；彩色種名表示多倍體物種，相同顏色表示同一個體(物種)；物種後數字表示體染色體數；分支是數字為後驗機率(Posterior probability)。

第六章 結論

本研究中利用葉綠體 DNA 重建亞洲秋海棠屬植物的親緣關係，以及分析形態特徵的演化過程，由此檢討傳統分類中各組的劃分方式。結果顯示除了側膜組和菲律賓秋海棠組等經分子證據檢驗並重新劃分的組之外，所有傳統上以少數生殖構造特徵劃分的組都不具有單一起源。根據親緣關係分析的結果，建議將秋海棠組(Section *Diploclinium*) 從新定義成亞洲大陸支序群中一群具球莖的落葉性物種，其中包含過去秋海棠組的模式種 *B. grandis*，同時建議把亞洲大陸支序群中的常綠性物種全數歸入扁果組(Section *Platycentrum*)，或保留具漿果狀果實的圓果組(Section *Sphenanthera*)不併入扁果組中。

根據分子證據把分布於高黎貢山一帶的刺毛紅孩兒(*B. palmata* var. *difformis*) 從掌裂秋海棠(*B. palmata*)中獨立成一新種 *B. difformis*。

分子定年與祖先性狀重建分析顯示亞洲秋海棠以喜馬拉雅/橫斷山脈及雲南地區/中南半島區域為中心向中國、台灣及馬來群島擴散。亞洲大陸支序群中的常綠性物種具單一起源，此單系群可能在 6.62 百萬年前起源於喜馬拉雅地區，其豐富的物種多樣性可能和中新世末期喜馬拉雅山脈—西藏板塊的隆起，使當地氣候變得多雨潮濕有關。

利用核基因低拷貝基因重建親緣關係，發現分布於爪哇的 *B. af. multangular* 和 *B. robusta*，分布於台灣的 *B. chuyunshanensis*, *B. formosana* 和 *B. taiwaniana* 以及分布於雲南的 *B. lancangensis* 都是種間雜交種化後產生的物種，其中 *B. lancangensis* 為異源同倍體，其餘則為異源多倍體，這些雜交起源的物種說明了秋海棠種間雜交現象對其物種多樣性有一定程度的貢獻。*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, *B. af. multangular*, *B. robusta* 和 *B. taiwaniana* 都具有不同果實形態的親本，其中 *B. af. multangular* 和 *B. robusta* 的可能是以蒴果物種為母本，漿果狀物種為父本雜交產生，*B. chuyunshanensis*, *B. formosana*, 和 *B. taiwaniana* 則是以漿果狀物種為母本，蒴果物種為父本雜交而來，前二者具有漿果狀果實，但葉綠

體來自蒴果親本，後三者具蒴果，但葉綠體來自漿果狀親本，以至於只利用葉綠體 DNA 標記重建的親緣關係來檢視果實形態演化時，無法顯示其真正的演化關係。



文獻



- Aitawade, M. M., and Yadav, S. (2012). Taxonomic status of *Begonia aliciae* (Begoniaceae). *Rheedea* **22**, 111-115.
- Ardhaka, I. M., Ardi, W. H., Undaharta, N. K. E., and Tirta, I. G. (2016). A New Species of *Begonia* sect. *Petermannia* (Begoniaceae) from Manusela National Park, Seram, Maluku province, Indonesia. *Reinwardtia* **15**, 61-64.
- Ardi, W. H., Ardaka, I. M., Hartutiningsih, Lugrayasa, I. N., and Thomas, D. C. (2014). Two new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Sulawesi, Indonesia. *Edinburgh Journal of Botany* **71**, 259-268.
- Ardi, W. H., Ardhaka, I. M., Hughes, M., Undaharta, N. K. E., Girmansyah, D., and Hidayat, S. (2013). Two new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Bali and Lombok. *Gardens' Bulletin Singapore* **65**, 135-142.
- Ardi, W. H., and Hughes, M. (2010). *Begonia droopiae* Ardi (Begoniaceae), a new species of *Begonia* from west Sumatra. *Gardens' Bulletin Singapore* **62**, 19-24.
- Arnold, M. L. (1997). "Natural hybridization and evolution," Oxford University Press, New York.
- Averyanov, L. V., and Nguyen, Q. H. (2012). Eleven new species of *Begonia* L. (BEGONIACEAE) from Laos and Vietnam. *Turczaninowia* **15**, 5-32.
- Berry, P. E., Hipp, A. L., Wurdack, K. J., Van Ee, B., and Riina, R. (2005). Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and *trnL-trnF* DNA sequence data. *American Journal of Botany* **92**, 1520-1534.
- Chiang, T.-Y., Hong, K.-H., and Peng, C.-I. (2001). Experimental hybridization reveals biased inheritance of the internal transcribed spacer of the nuclear ribosomal DNA in *Begonia xtaipeiensis*. *Journal of Plant Research* **114**, 343-351.
- Chung, K.-F., Leong, W.-C., Rubite, R., Repin, R., Kiew, R., Liu, Y., and Peng, C.-I. (2014). Phylogenetic analyses of *Begonia* sect. *Coelocentrum* and allied limestone species of China shed light on the evolution of Sino-Vietnamese karst flora. *Botanical Studies* **55**, 1-15.
- Clement, W. L., Tebbitt, M. C., Forrest, L. L., Blair, J. E., Brouillet, L., Eriksson, T., and Swensen, S. M. (2004). Phylogenetic position and biogeography of *Hillebrandia sandwicensis* (Begoniaceae): a rare Hawaiian relict. *American Journal of Botany* **91**, 905-917.
- Clements, R., Sodhi, N. S., Schilthuizen, M., and Ng, P. K. L. (2006). Limestone karsts of Southeast Asia: imperiled arks of biodiversity. *BioScience* **56**,

733-742.

- de Wilde, J. J. F. E. (2011). Begoniaceae. In "Flowering Plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae" (K. Kubitzki, ed.), pp. 56-71. Springer Heidelberg.
- de Wilde, J. J. F. E., Hughes, M., Rodda, M., and Thomas, D. C. (2011). Pliocene intercontinental dispersal from Africa to Southeast Asia highlighted by the new species *Begonia afromigrata* (Begoniaceae). *Taxon* **60**, 1685-1692.
- de Wilde, J. J. F. E., and Plana, V. (2003). A new section of *Begonia* (Begoniaceae) from West Central Africa. *Edinburgh Journal of Botany* **60**, 121-130.
- Dial, K. P., and Marzluff, J. M. (1989). Nonrandom Diversification within Taxonomic Assemblages. *Systematic Zoology* **38**, 26-37.
- Ding, B., Nakamura, K., Kono, Y., Ho, M.-J., and Peng, C.-I. (2014). *Begonia jinyunensis* (Begoniaceae, section *Platycentrum*), a new palmately compound leaved species from Chongqing, China. *Botanical Studies* **55**, 62.
- Doorenbos, J., Sosef, M. S. M., and de Wilde, J. J. F. E. (1998). "The Sections of *Begonia*: Including Descriptions, Keys and Species Lists (Studies in Begoniaceae VI). Wageningen Agricultural University Paper, 98, 1-266.," Wageningen Agriculture University, Wageningen.
- Doyle, J. J., and Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* **19**, 11-15.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., and Rambaut, A. (2012). Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* **29**, 1969-1973.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* **5**, 113.
- Forrest, L. L., and Hollingsworth, P. M. (2003). A recircumscription of *Begonia* based on nuclear ribosomal sequences. *Plant Systematics and Evolution* **241**, 193-211.
- Forrest, L. L., and Hollingsworth, P. M. (2004). A molecular evolutionary study of *Begonia*. *The Begonian* **71**, 94-99.
- Forrest, L. L., Hughes, M., and Hollingsworth, P. M. (2005). A Phylogeny of *Begonia* Using Nuclear Ribosomal Sequence Data and Morphological Characters. *Systematic Botany* **30**, 671-682.
- Frodin, D. G. (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon* **53**, 753-776.
- Girmansyah, D. (2011). Two new species of *Begonia* (BEGONIACEAE) from Bukit Tiga-Puluh National Park, Riau, Sumatra. *Reinwardtia* **13**, 229-233.
- Girmansyah, D., Wiriadinata, H., Thomas, D. C., and Hoover, W. S. (2009). Two new species and one new subspecies of *Begonia* (Begoniaceae) from Southeast Sulawesi, Sulawesi, Indonesia. *Reinwardtia* **13**, 69-74.

- Golding, J., and Wasshausen, D. C. (2002). Begoniaceae, Edition. Part 1: Annotated Species List; Part II: Illustrated Key, Abridgement and Supplement. *Contributions from the United States National Herbarium* **43**, 1-289.
- Goodall-Copestake, W. P., David J. Harris, and Hollingsworth, P. M. (2009). The origin of a mega-diverse genus: dating *Begonia* (Begoniaceae) using alternative datasets, calibrations and relaxed clock methods. *Botanical Journal of the Linnean Society* **159**, 363-380.
- Goodall-Copestake, W. P., Perez-Espona, S., Harris, D. J., and Hollingsworth, P. M. (2010). The early evolution of the mega-diverse genus *Begonia* (Begoniaceae) inferred from organelle DNA phylogenies. *Biological Journal of the Linnean Society* **101**, 243-250.
- Grant, V. (1981). "Plant speciation," 2/Ed. Columbia University Press, New York.
- Gu, C.-Z. (2007). Infrageneric classification of *Begonia*. In "Flora of China, vol. 13" (Z. Y. Wu, P. H. Raven and D. Y. Hong, eds.), Vol. 13, pp. 205-207. Science Press and Missouri Botanical Garden Press, Beijing and St. Louis.
- Gu, C.-Z., Peng, C.-I., and Turland, N. J. (2007). Begoniaceae. In "Flora of China, vol. 13" (Z. Y. Wu, P. H. Raven and D. Y. Hong, eds.), Vol. 13, pp. 153-207. Science Press and Missouri Botanical Garden, Beijing and St. Louis.
- Harrison, N., Harrison, R. J., and Kidner, C. A. (2016). Comparative Analysis of *Begonia* Plastid Genomes and Their Utility for Species-Level Phylogenetics. *PLoS One* **11**, e0153248.
- Hodkinson, T. R., and Parnell, J. A. N. (2006). "Reconstructing the Tree of Life: Taxonomy and Systematics of Species Rich Taxa," CRC Press.
- Hoover, W. S., Karegeannes, C., Wiriadinata, H., and Hunter, J. M. (2004). Notes on the geography of South-East Asian *Begonia* and species diversity in montane forests. *Telopea* **10**, 749-764.
- Hughes, M. (2008). "An annotated checklist of Southeast Asian *begonia*," Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh, U.K.
- Hughes, M. (2011). A new species of fleshy-fruited *Begonia* (Begoniaceae) from the Masoala Peninsula, Madagascar. *Adansonia* **33**, 81-85.
- Hughes, M., and Coyle, C. (2009). *Begonia* section *Petermannia* (Begoniaceae) on palawan (Philippines), including two new species. *Edinburgh Journal of Botany* **66**, 205-211.
- Hughes, M., Coyle, C., and Rubite, R. R. (2010). A revision of *Begonia* section *Diplocinium* (Begoniaceae) on the Philippine island of Palawan, including five new species. *Edinburgh Journal of Botany* **67**, 123-140.
- Hughes, M., and Girmansyah, D. (2011a). A revision of *Begonia* sect. *Sphenanthera* (Hassk.) Warb. from Sumatra. *Garden' Bulletin Singapore* **62**, 27-39.

- 
- Hughes, M., and Girmansyah, D. (2011b). Searching for Sumatran *Begonia* described by William Jack: following in the footsteps of a 19th century Scottish botanist. *Garden' Bulletin Singapore* **63**, 83-96.
- Hughes, M., Girmansyah, D., Ardi, W. H., and Nurainas (2009). Seven New Species of *Begonia* from Sumatra. *Garden' Bulletin Singapore* **61**, 29-44.
- Hughes, M., and Hollingsworth, P. M. (2008). Population genetic divergence corresponds with species-level biodiversity patterns in the large genus *Begonia*. *Molecular Ecology* **17**, 2643-2651.
- Hughes, M., Hollingsworth, P. M., and Miller, A. G. (2003). Population genetic structure in the endemic *Begonia* of the Socotra archipelago. *Biological Conservation* **113**, 277-284.
- Hughes, M., and Pullan, M. (2007). Southeast Asian *Begonia* Database. Electronic publication accessible via www.rbge.org.uk.
- Hughes, M., Rubite, R. R., Kono, Y., and Peng, C.-I. (2011). *Begonia blancii* (sect. *Diploclinium*, Begoniaceae), a new species endemic to the Philippine island of Palawan. *Botanical Studies* **52**, 203-209.
- Hughes, M., and Takeuchi, W. (2015). A new section (*Begonia* sect. *Oligandrae* sect. nov.) and a new species (*Begonia pentandra* sp. nov.) in Begoniaceae from New Guinea. *Phytotaxa* **197**, 37-44.
- Irmscher, E. (1939). Die Begoniaceen Chinas und ihre Bedeutung für die Frage der Formbildung in polymorphen Sippen. *Mitteilungen aus dem Institut für allgemeine Botanik in Hamburg* **10**, 431-557.
- Jaramillo, M. A., and Manos, P. S. (2001). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany* **88**, 706-716.
- Kiew, R. (2001a). *Begonia conipila* Irmsch. ex Kiew (Begoniaceae) from the Cunung Mulu National Park, Sarawak, Malaysia. *Gardens' Bulletin Singapore* **53**, 287-289.
- Kiew, R. (2001b). The limestone Begonias of Sabah, Borneo - flagship species for conservation. *Gardens Bulletin Singapore* **53**, 241-286.
- Kiew, R. (2005). "Begonias of Peninsular Malaysia," Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu.
- Kiew, R. (2007). Notes on Vietnamese *Begonia* (Begoniaceae), including three new species. *Adansonia, sér. 3* **29**, 229-238.
- Kiew, R., and Sang, J. (2007). *Begonia* (Begoniaceae) from limestone hills in the Kuching Division, Sarawak, Borneo, including nine new species. *Gardens' Bulletin Singapore* **58**, 199-232.
- Kiew, R., Teo, L. L., and Gan, Y. Y. (2003). Assessment of the hybrid status of some Malesian plants using amplified fragment length polymorphism. *Telopea* **10**,

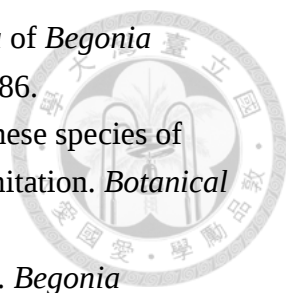
225-233.

- Kopperud, C., and Einset, J. W. (1995). DNA isolation from *Begonia* leaves. *Plant Molecular Biology Reporter* **13**, 129-130.
- Ku, S.-M., Kono, Y., and Liu, Y. (2008). *Begonia pengii* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **49**, 167-175.
- Leong, W.-C., Deng, T., Sun, H., Peng, C.-I., and Chung, K.-F. (2015). *Begonia difformis* comb. & stat. nov. (Sect. *Platycentrum*, Begoniaceae), a new species segregated from *B. palmata* D. Don. *Phytotaxa* **227**, 83-91.
- Li, C., Yang, L.-H., Tian, D.-K., Chen, Y., Wu, R.-J., and Fu, N.-F. (2016). *Begonia leipingensis* (Begoniaceae), a new compound-leaved species with unique petiolule pattern from Guangxi of China. *Phytotaxa* **244**, 45-56.
- Li, H.-Z., Ma, H., Guan, K.-Y., and Peng, C.-I. (2005). *Begonia rubinea* (sect. *Platycentrum*, Begoniaceae), a new species from Guizhou, China. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **46**, 377-383.
- Li, H.-Z., Ma, H., Zhou, Z.-K., and Guan, K.-Y. (2008). A new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Guangxi, China. *Botanical Journal of the Linnean Society* **157**, 83-90.
- Lin, C.-W., Chung, S.-W., and Peng, C.-I. (2014a). *Begonia hosensis* (sect. *Reichenheimia*, Begoniaceae), a new species from Sarawak, Malaysia. *Taiwania* **59**, 326-330.
- Lin, C.-W., Chung, S.-W., and Peng, C.-I. (2014b). Three new species of *Begonia* (sect. *Petermannia*, Begoniaceae) from Sarawak, Borneo. *Phytotaxa* **191**, 129-140.
- Lin, C.-W., Chung, S.-W., and Peng, C.-I. (2015). *Begonia baik* and *B. padawanensis* spp. nov. (Begoniaceae) from sandstone areas in Sarawak, Malaysia. *Nordic Journal of Botany* **33**, 555-561.
- Lin, C.-W., and Peng, C.-I. (2014). *Begonia natunaensis* (sect. *Reichenheimia*, Begoniaceae), a new species from Natuna Island, Indonesia. *Taiwania* **59**, 368-373.
- Liu, Y., Ku, S.-M., and Peng, C.-I. (2007). *Begonia bamaensis* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **48**, 465-473.
- Maddison, W., and Maddison, D. (2015). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. 2011. URL <http://mesquiteproject.org>.
- Mayr, E. (1942). "Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist," Harvard University Press.
- Monro, A. K. (2006). The revision of species-rich genera: a phylogenetic framework

- for the strategic revision of *Pilea* (Urticaceae) based on cpDNA, nrDNA, and morphology. *American Journal of Botany* **93**, 426-441.
- Nakamura, K., Rubite, R. R., Kono, Y., Callado, J. R., and Peng, C.-I. (2013). *Begonia tandangii* (Begoniaceae, section *Baryandra*), a new species from Luzon Island, the Philippines. *Phytotaxa* **145**, 27.
- Nguyen, Q. H., Peng, C.-I., and Ku, S.-M. (2010). *Begonia vietnamensis*, an attractive new species with peltate leaves from Vietnam. *The Begonian* **77**, 17-20.
- Nylander, J. (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author. *Evolutionary Biology Centre, Uppsala University* **2**.
- Oginuma, K., and Peng, C.-I. (2002). Karyomorphology of Taiwanese *Begonia* (Begoniaceae): taxonomic implications. *Journal of Plant Research* **115**, 225-235.
- Pelser, P. B., Nordenstam, B., Kadereit, J. W., and Watson, L. E. (2007). An ITS Phylogeny of Tribe *Senecioneae* (Asteraceae) and a New Delimitation of *Senecio* L. *Taxon* **56**, 1077-1104.
- Peng, C.-I., and Chen, Y.-K. (1991). Hybridity and parentage of *Begonia buimontana* Yamamoto (Begoniaceae) from Taiwan. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **78**, 995-1001.
- Peng, C.-I., Chen, Y.-K., and Leong, W.-C. (2005). Five new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **46**, 255-272.
- Peng, C.-I., and Chiang, T.-Y. (2000). Molecular confirmation of unidirectional hybridization in *Begonia x taipeiensis* Peng (Begoniaceae) from Taiwan. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **87**, 273-285.
- Peng, C.-I., Hsieh, T.-Y., and Ngyuen, Q. H. (2007). *Begonia kui* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae), a new species from Vietnam. *Botanical Studies* **48**, 127-132.
- Peng, C.-I., Jin, X.-H., Ku, S.-M., Kono, Y., Huang, H.-Y., and Yang, H.-A. (2014a). *Begonia wuzhishanensis* (sect. *Diploclinium*, Begoniaceae), a new species from Hainan Island, China. *Botanical Studies* **55**, 24.
- Peng, C.-I., and Ku, S.-M. (2009). *Begonia x chungii* (Begoniaceae), a new natural hybrid in Taiwan. *Botanical Studies* **50**, 241-250.
- Peng, C.-I., Ku, S.-M., Kono, Y., Chung, K.-F., and Liu, Y. (2008a). Two new species of *Begonia* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae) from limestone areas in Guangxi, China: *B. arachnoidea* and *B. subcoriacea*. *Botanical Studies* **49**, 405-418.
- Peng, C.-I., Ku, S.-M., Kono, Y., and Liu, Y. (2012). *Begonia chongzuoensis* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae), a new calciphile from Guangxi, China. *Botanical Studies* **53**, 283-290.

- Peng, C.-I., Ku, S.-M., Yang, H.-A., Leong, W.-C., Liu, Y., Nguyen, T., Kono, Y., and Chung, K.-F. (2014b). Two new species of *Begonia* sect. *Coelocentrum*, *B. guixiensis* and *B. longa*, from Sino-Vietnamese limestone karsts. *Botanical Studies* **55**, 52.
- Peng, C.-I., Leong, W.-C., Ku, S.-M., and Liu, Y. (2006). *Begonia pulvinifera* (sect. *Diplocclinium*, Begoniaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **47**, 319-327.
- Peng, C.-I., Lin, C.-W., Repin, R., Kono, Y., Leong, W.-C., and Chung, K.-F. (2015a). Two new species of *Begonia*, *B. moneta* and *B. peridoticola* (Begoniaceae) from Sabah, Malaysia. *Botanical Studies* **56**, 7.
- Peng, C.-I., Lin, C.-W., Yang, H.-A., Kono, Y., and Nguyen, H. (2015b). Six new species of *Begonia* (Begoniaceae) from limestone areas in Northern Vietnam. *Botanical Studies* **56**, 9.
- Peng, C.-I., Liu, Y., and Ku, S.-M. (2008b). *Begonia aurantiflora* (sect. *Coelocentrum*, Begoniaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **49**, 83-92.
- Peng, C.-I., Liu, Y., Ku, S.-M., Kono, Y., and Chung, K.-F. (2010). *Begonia xbreviscapa* (Begoniaceae), a new intersectional natural hybrid from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **51**, 107-117.
- Peng, C.-I., and Sue, C.-Y. (2000). *Begonia xtaipeiensis* (Begoniaceae), a new natural hybrid in Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **41**, 151-158.
- Peng, C.-I., Wang, H., Kono, Y., and Yang, H.-A. (2014c). *Begonia wui-senioris* (sect. *Platycentrum*, Begoniaceae), a new species from Myanmar. *Botanical Studies* **55**, 13.
- Peng, C.-I., Yang, H.-A., Kono, Y., Chung, K.-F., Huang, Y.-S., Wu, W.-H., and Liu, Y. (2013). Novelties in *Begonia* sect. *Coelocentrum*: *B. longgangensis* and *B. ferox* from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* **54**, 44.
- Peng, C.-I., Yang, H.-A., Kono, Y., Chung, M.-J., and Nguyen, T. H. (2015c). Four new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Vietnam: *B. abbreviata*, *B. calciphila*, *B. sphenantheroides* and *B. tamdaoensis*. *Phytotaxa* **222**, 83-99.
- Phutthai, T., Hughes, M., and Sridith, K. (2012). A new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Peninsular Thailand. *Edinburgh Journal of Botany* **69**, 287-292.
- Phutthai, T., and Sridith, K. (2010). *Begonia pteridiformis* (Begoniaceae), a new species from Thailand. *Thai Forest Bulletin (Botany)* **38**, 37-41.
- Phutthai, T. H., Mark, and Sridith, K. (2014). *Begonia kanburiensis* (sect. *Diplocclinium*, Begoniaceae), a new species from Thailand. *Thai Forest Bulletin (Botany)* **42**, 43-47.

- Plana, V. (2003). Phylogenetic Relationships of the Afro-Malagasy Members of the Large Genus *Begonia* Inferred from trnL Intron Sequences. *Systematic Botany* **28**, 693-704.
- Plana, V. (2004). Mechanisms and tempo of evolution in the African Guineo-Congolian rainforest. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **359**, 1585-94.
- Plana, V., Gascoigne, A., Forrest, L. L., Harris, D., and Pennington, R. T. (2004). Pleistocene and pre-Pleistocene *Begonia* speciation in Africa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**, 449-461.
- Purvis, A., and Hector, A. (2000). Getting the measure of biodiversity. *Nature* **405**, 212-219.
- Rajbhandary, S., Hughes, M., Phutthai, T., Thomas, D. C., and Shrestha, K. K. (2011). Asian *Begonia*: out of Africa via the Himalayas? *Gardens' Bulletin Singapore* **63**, 277-286.
- Rajbhandary, S., Hughes, M., and Shrestha, K. K. (2010). Three New Species of *Begonia* Sect. *Platycentrum* from Nepal. *Gardens' Bulletin Singapore* **62**, 151-162.
- Rajbhandary, S., and Shrestha, K. K. (2007). *Begonia* L. (Begoniaceae) in the Nepal Himalaya. *Journal of Taxonomy and Biodiversity Research* **1**, 1-10.
- Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D., and Drummond, A. J. (2014). Tracer 1.6.
- Ronquist, F., and Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models, version 3.2.2. *Bioinformatics* **19**, 1572-1574.
- Rubite, R. R., Hughes, M., Alejandro, G. J. D., and Peng, C.-I. (2013). Recircumscription of *Begonia* sect. *Baryandra* (Begoniaceae): evidence from molecular data. *Botanical Studies* **54**, 38.
- Rubite, R. R., Kono, Y., and Yang, H.-A. (2014). *Begonia chingipengii* (sect. *Baryandra*, Begoniaceae), a new species from Luzon Island, Philippines. *Phytotaxa* **164**, 175-182.
- Sang, J., and Kiew, R. (2016). *Begonia* (Begoniaceae) from Batang Ai National Park and vicinity, Sarawak, Borneo, including six new species. *Phytotaxa* **252**, 17-30.
- Sang, J., Kiew, R., and Geri, C. (2013). Revision of (Begoniaceae) from the Melinau Limestone in Gunung Mulu National Park and Gunung Buda National Park, Sarawak, Borneo, including thirteen new species. *Phytotaxa* **99**, 1.
- Scotland, R. W., and Wortley, A. H. (2003). How Many Species of Seed Plants Are There? *Taxon* **52**, 101-104.
- Shui, Y.-M. (2007). *Begonia tetralobata* (Begoniaceae), a new species from China. *Annales Botanici Fennici* **44**, 76-79.

- 
- Shui, Y.-M., and Chen, W.-H. (2004). Revision to sect. *Petermannia* of *Begonia* (Begoniaceae) in China. *Acta Botanica Yunnanica* **26**, 482-486.
- Shui, Y.-M., Peng, C.-I., and Wu, C.-Y. (2002). Synopsis of the Chinese species of *Begonia* (Begoniaceae), with a reappraisal of sectional delimitation. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **43**, 313-327.
- Souvannakhoummane, K., Hughes, M., and Lanorsavanh, S. (2016). *Begonia lamxayiana* Souvann.: A New Species (Begoniaceae) from Lao PDR. *Thai Journal of Botany* **8**, 1-5.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics*.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**, 2731-2739.
- Tanaka, N., and Hayami, Y. (2011). *Begonia kachinensis* (Begoniaceae, sect. *Sphenanthera*), a new species from Myanmar. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* **61**, 151-154.
- Tanaka, N., and Hughes, M. (2007). *Begonia* (sect. *Sphenanthera*) *hayamiana* (Begoniaceae), a New Species from Northern Myanmar. *Acta phytotaxonomica et geobotanica* **58**, 83-86.
- Tanaka, N., and Peng, C.-I. (2016). *Begonia togashii* (Begoniaceae: Sect. *Platycentrum*), a New Species from Central Myanmar. *Acta phytotaxonomica et geobotanica* **67**, 191-197.
- Tebbitt, M. C. (2005). "Begonias: Cultivation, Identification and Natural History," Timber Press, Portland.
- Tebbitt, M. C. (2007). *Begonia kingdon-wardii* (Begoniaceae), a new species from Myanmar. *KEW BULLETIN* **62**, 143.
- Tebbitt, M. C., Lowe-Forrest, L., Santoriello, A., Clement, W. L., and Swensen, S. M. (2006). Phylogenetic Relationships of Asian *Begonia*, with an Emphasis on the Evolution of Rain-ballist and Animal Dispersal Mechanisms in Sections *Platycentrum*, *Sphenanthera* and *Leprosae*. *Systematic Botany* **31**, 327-336.
- Teo, L.-L., and Kiew, R. (1999). First record of natural *Begonia* hybrid in Malaysia. *Gardens' Bulletin Singapore* **51**, 103-118.
- Thomas, D. C., Ardi, W. H., Hartutiningsih, n., and Hughes, M. (2009a). Two new species of *Begonia* (Begoniaceae) from South Sulawesi, Indonesia. *Edinburgh Journal of Botany* **66**, 229-238.
- Thomas, D. C., Ardi, W. H., and Hughes, M. (2009b). Two new species of *Begonia* (Begoniaceae) from Central Sulawesi, Indonesia. *Edinburgh Journal of*

- Botany* **66**, 103-114.
- Thomas, D. C., Ardi, W. H., and Hughes, M. (2011a). Nine new species of *Begonia* (Begoniaceae) from South and West Sulawesi, Indonesia. *Edinburgh Journal of Botany* **68**, 225-255.
- Thomas, D. C., and Hughes, M. (2008). *Begonia varipeltata* (Begoniaceae): a new peltate species from Sulawesi, Indonesia. *Edinburgh Journal of Botany* **65**, 369-374.
- Thomas, D. C., Hughes, M., Phutthai, T., Ardi, W. H., Rajbhandary, S., Rubite, R., Twyford, A. D., and Richardson, J. E. (2012). West to east dispersal and subsequent rapid diversification of the mega-diverse genus *Begonia* (Begoniaceae) in the Malesian archipelago. *Journal of Biogeography* **39**, 98-113.
- Thomas, D. C., Hughes, M., Phutthai, T., Rajbhandary, S., Rubite, R., Ardi, W. H., and Richardson, J. E. (2011b). A non-coding plastid DNA phylogeny of Asian *Begonia* (Begoniaceae): Evidence for morphological homoplasy and sectional polyphyly. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **60**, 428-444.
- Thorne, R. F. (2002). How Many Species of Seed Plants Are There? . *Taxon* **51**, 511-512.
- Tian, D.-K., Li, C., Li, C.-H., and Li, X.-J. (2015). *Begonia pulchrifolia* (sect. *Platycentrum*), a new species of Begoniaceae from Sichuan of China. *Phytotaxa* **207**, 245-252.
- Tian, D.-K., Li, C., Yan, Y.-H., Li, X.-P., and Meng, J. (2014). *Begonia intermedia* , a new species of Begoniaceae from Hainan, China. *Phytotaxa* **166**, 9.
- Wang, L., Schneider, H., Zhang, X.-C., and Xiang, Q.-P. (2012). The rise of the Himalaya enforced the diversification of SE Asian ferns by altering the monsoon regimes. *BMC Plant Biology* **12**, 210.
- Weese, T. L., and Bohs, L. (2007). A Three-Gene Phylogeny of the Genus *Solanum* (Solanaceae). *Systematic Botany* **32**, 445-463.
- Wei, Z., Shui, Y., Zhang, M., and Zhang, R. (2007). *Begonia coelocentroides* Y. M. Shui Z. D. Wei, a new species of Begoniaceae from Yunnan, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* **45**, 86-89.
- Whitten, W. M., Blanco, M. A., Williams, N. H., Koehler, S., Carnevali, G., Singer, R. B., Endara, L., and Neubig, K. M. (2007). Molecular phylogenetics of *Maxillaria* and related genera (Orchidaceae: Cymbidieae) based on combined molecular data sets. *American Journal of Botany* **94**, 1860-1889.
- Willis, J. C. (1922). "Age and Area. A Study in Geographical Distribution and Origin in Species," Cambridge University Press, Cambridge.
- Yu, Y., Harris, A. J., Blair, C., and He, X. (2015). RASP (Reconstruct Ancestral State

- in Phylogenies): A tool for historical biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **87**, 46-49.
- Yu, Y., Harris, A. J., and He, X. (2010). S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. *Mol Phylogenet Evol* **56**, 848-50.
- Zhang, L. B., Simmons, M. P., Kocyan, A., and Renner, S. S. (2006). Phylogeny of the Cucurbitales based on DNA sequences of nine loci from three genomes: implications for morphological and sexual system evolution. *Mol Phylogenet Evol* **35**, 305-322.
- 楊巽安 (2011). 台灣原生秋海棠之雜交起源與多倍體種化 (Hybridization and polyploidization of Taiwanese Begonias), 國立台灣大學, 台北.



附錄

附表 1. 葉綠體 DNA 取樣物種憑證及產地列表。(BAR= *Baryandra*, BRA= *Bracteibegonia*, COE= *Coelocentrum*, DIP= *Diploclinium*, GIR= *Gireoudia*, HAA= *Haagea*, LEP= *Leprosae*, MON= *Monopterom*, PAR= *Parvibegonia*, PEL= *Peltaugustia*, PET= *Petermannia*, PLA= *Platycentrum*, QUA= *Quadrilobaria*, REI= *Reichenheimia*, RID= *Ridleyella*, SPH= *Sphenanthera*, SYM= *Symbegonia*, TET= *Tetraphila*, UN=unassigned, WEI= *Weibachia*; NA 表示未取得序列)

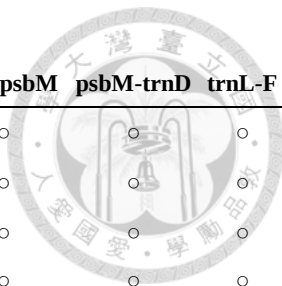
Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
PET	<i>Begonia abbreviata</i> C. I Peng	Viet Nam	TH Nguyen 5910	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia acetosella</i> Craib	Thailand	CI Peng 21045	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia aequata</i> A. Gray	Philippines	CI Peng 19915	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia af. multangula</i> Blume	Indonesia, Java	CI Peng 21310	○	○	○	○	○
ALI	<i>Begonia af. peii</i> C. Y. Wu	China, Yunnan	CI Peng 20948	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia albo-coccinea</i> W. J. Hooker	India	CI Peng 23302	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia alveolata</i> T. T. Yu	China, Yunnan	CI Peng 20421	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia amphioxus</i> Sands	Sabah	CI Peng 21212	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia annulata</i> K. Koch	India, Arunachal	R Morris-AR-467	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia asperifolia</i> Irmsch.	China	CI Peng 23231	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia augustinei</i> Hemsl.	China, Yunnan	CI Peng 20759	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia austrotaiwanensis</i> Y. K. Chen & C. I Peng	Taiwan	TY Liu 795	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia balansana</i> Gagnep.	Viet Nam	CI Peng 21928	○	○	○	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
COE	<i>Begonia bangliangensis</i> sp. ined.	China, Guangxi	CI Peng 21521	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia barbellata</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 22719	○	○	○	○	○
LEP	<i>Begonia bataiensis</i> R. Kiew	Viet Nam	CI Peng 20264	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia baviensis</i> Gagnep.	China, Guangxi	CI Peng 20300	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia bella</i> T. Phutthai	Thailand	CI Peng 21033	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia beryllae</i> Ridl.	Malaysia, Sabah	CI Peng 21960	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia bipinnatifida</i> J. J. Sm.	Papua New Guinea	s.n.	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia blancii</i> M. Hughes & C. I Peng	Philippines, Palawan	CI Peng 22545	○	○	○	○	○
UA	<i>Begonia boisiana</i> Gagnep.	Viet Nam	CI Peng 21416	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia bonthainensis</i> Hemsley	Indonesia, Sulawesi	CI Peng 22531	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia bouffordii</i> C. I Peng	Taiwan	CI Peng 15991	○	○	○	○	○
BRA	<i>Begonia bracteata</i> Jack	Indonesia, Sumatra	CI Peng 23521	NA	○	○	○	○
PET	<i>Begonia brevirmosa</i> Irmsch.	Papua New Guinea	CI Peng 20235-b	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia bryophila</i> S. Rajbhandary & K. K. Shrestha	Nepal	CI Huang 6100	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia burkillii</i> Dunn	Himalayas	CI Peng 20860	○	○	○	○	○
GIR	<i>Begonia carolineifolia</i> Regel	America	CI Peng 20885	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia cathayana</i> Hemsl.	China, Guangxi	CI Peng 20288	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia cathcartii</i> J.D. Hooker & Thomson	Thailand	CI Peng 22358	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia cavaleriei</i> H. Lév.	China, Guangxi	CI Peng 19933	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia ceratocarpa</i> S. H. Huang & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 18574	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia chingii</i> Irmsch.	China, Guangxi	CI Peng 19733	○	○	○	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
PLA	<i>Begonia chitoensis</i> T. S. Liu & M. J. Lai	Taiwan	CI Peng 21143	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia chloroneura</i> P. Wilkie & Sands	Philippines, Luzon	CI Peng 21217	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia chlorosticta</i> Sands	Malaysia, Sarawak	s.n.	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia chuyunshanensis</i> C. I Peng & Y. K. Chen	Taiwan	WC Leong 3021	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia circularis</i> C. I Peng & C. W. Lin	Viet Nam	CI Peng 22610	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia cleopatrae</i> C. Coyle	Philippines, Palawan	CI Peng 22548	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia coelocentroides</i> Y. M. Shui & Z. D. Wei	China, Yunnan	CI Peng 19166	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia contracta</i> Warb.	Philippines, Luzon	R Rubite 120	○	○	NA	○	○
PLA	<i>Begonia coptidifolia</i> H. G. Ye, F. G. Wang, Y. S. Ye & C. I Peng	China, Guangdong	CI Peng 19456	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia coptidimontana</i> C. Y. Wu	China, Yunnan	CI Peng	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia coronensis</i> Merr.	Philippines	R Rubite 323	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia crenata</i> Dryand.	India, Arunachal	R Morris-SI-645	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia crocea</i> C. I Peng	China, Yunnan	CI Peng 18032 (type)	○	○	○	○	○
UA	<i>Begonia cucphuongensis</i> Tebbitt	Viet Nam	CI Peng 20227	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia cylindrica</i> D. R. Liang & X. X. Chen	China, Guangxi	WC Leong 3635	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia daweishanensis</i> S. H. Hunag & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 22766	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia decora</i> Stapf	Peninsula Malaysia	CI Peng 20261	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia detianensis</i> sp. ined.	China, Gunagxi	CI Peng 20358	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia dielsiana</i> E. Pritzel	China, Sichuan	CI Peng 22010	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia difformis</i> (Irmsh.) W. C. Leong, C. I Peng & K. F. Chung	China, Yunnan	CI Peng 23220	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia dioica</i> F. Hamilton ex D. Don	China, Tibet	SW Chung s.n.	○	○	○	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
HAA	<i>Begonia dipetala</i> Graham	India	CI Peng 21011	○	○	○	○	○
AUG	<i>Begonia dregei</i> Otto & A. Dietr.	South Africa	s.n.	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia dryadis</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 18016	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia edulis</i> H. Lév.	China, Guangxi	CI Peng 18747	○	○	○	○	○
TET	<i>Begonia elaeagnifolia</i> J.D. Hooker	Africa	CI Peng 21220	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia elisabethae</i> R. Kiew	Peninsula Malaysia	CI Peng 20253	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia fenicis</i> Merr.	Taiwan	CD Huang s. n.	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia filiformis</i> Irmsch.	China, Guangxi	CI Peng 20332	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia fimbristipula</i> Hance	China, Gunagxi	WC Leong 3673	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia flagellaris</i> H. Hara	Nepal	CI Hunag 6010	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia floccifera</i> Beddome	India	CI Peng 21216	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia formosana</i> (Hayata) Masamune	Taiwan	CI Peng 18318	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia foxworthyi</i> Burkill ex Ridl.	Malaysia	CI Peng 22721	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia gagnepainiana</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 22802	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia gigabracteata</i> H. Z. Li & H. Ma	China, Yunnan	CI Peng 22174	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia goegoensis</i> N. E. Br.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20238	○	○	○	○	○
QUA	<i>Begonia goudotii</i> A. DC.	Africa, Malagasy	CI Peng 21223	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia grandis</i> Dryand. subsp. <i>grandis</i>	China, Guizhou	CI Peng 18817	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia grandis</i> Dryand. subsp. <i>sinensis</i> (A. DC.) Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 20799	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia gueritziana</i> Gibbs	Malaysia, Sabah	CI Peng 21976	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia guixiensis</i> Y. Liu, S.M. Ku & C. I Peng	China, Guangxi	CI Peng 20310	○	○	○	○	○

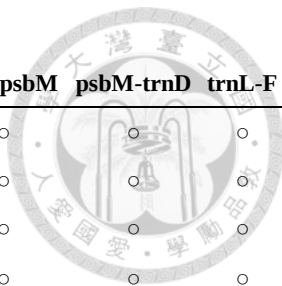
Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
SPH	<i>Begonia hahiepiana</i> H. Q. Nguyen & Tebbitt	Viet Nam	CI Peng 21835	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia hainanensis</i> W. Y. Chun & F. Chun	China, Hainan	CI Peng 19543	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia handelii</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 17513	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia hatacoa</i> Buch.-Ham. ex D. Don	India, Arunachal	CI Peng 20861	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia hekouensis</i> S. H. Huang	China, Yunnan	CI Peng 22784	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia hemsleyana</i> Hook. f.	China, Yunnan	CI Peng 17590	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia henryi</i> Hemsley	China, Yunnan	CI Peng 20527	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia herveyana</i> King	Malaysia	CI Peng 22730	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia holttumii</i> Irmsch.	Malaysia	CI Peng 22736	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia hongkongensis</i> F. W. Xing	Hong Kong	CI Peng 19888	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia hymenocarpa</i> C. Y. Wu	China, Guangxi	WC Leong 3667	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia ignorata</i> Irmsch.	Peninsula Malaysia	CI Peng 22725	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia impressinervia</i> sp. ined.	China, Guangxi	CI Peng 19734	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia iridescens</i> Dunn	India, Arunachal	R Morris-AR-432	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia jiewhoei</i> R. Kiew	Peninsula Malaysia	CI Peng 23570	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia jingxiensis</i> D. Fang & Y. G. Wei	China, Guangxi	CI Peng 19742	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia josephi</i> A. DC.	Bhutan	CI Peng 23902	○	○	○	○	○
RID	<i>Begonia kingiana</i> Irmsch.	Peninsula Malaysia	CI Peng 21226	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia labordei</i> H. Lév.	China, Guangxi	CI Peng 20964	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia lambii</i> R. Kiew	Malaysia, Sabah	CI Peng 21966	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia laminariae</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 17447	○	○	○	○	○



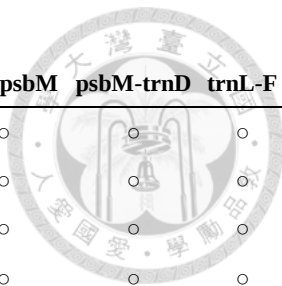
Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
SPH	<i>Begonia lancangensis</i> S. H. Hunag	China, Yunnan	CI Peng 18025	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia leprosa</i> Hance	China, Gunagdong	CI Peng 19474	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia longa</i> C. I Peng & W. C. Leong	Viet Nam	CI Peng 20073	○	○	○	○	○
LEP	<i>Begonia longicarpa</i> K. Y. Guan & D. K. Tian	China, Yunnan	CI Peng 18651	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia longiciliata</i> C. Y. Wu	China, Guizhou	Wu 3345	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia longifolia</i> Blume	Taiwan	WC Leong s. n.	○	○	○	○	○
TET	<i>Begonia longipetiolata</i> Gilg	Africa	CI Peng 20867	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia madaicensis</i> R. Kiew	Malaysia, Sabah	CI Peng 21981	○	○	○	○	○
UA	<i>Begonia malabarica</i> Lamarck	India	CI Peng 21218	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia manhaoensis</i> S. H. Huang & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 18539	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia mashanica</i> D. Fang & D. H. Qin	China, Guangxi	CI Peng 19805	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh.	China, Guangxi	CI Peng 19795	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia megalophyllaria</i> C. Y. Wu	China, Yunnan	CI Peng 18566	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia miranda</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 18727	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia morifolia</i> T. T. Yü	China, Yunnan	CI Peng 20504	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia muliensis</i> T. T. Yü	China, Sichuan	SCBG 0837	○	○	○	○	○
MON	<i>Begonia nepalensis</i> (A. DC.) Warburg	India, Arunachal	CI Peng 21269	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia nigritarum</i> (Kamel) Steud.	Philippines	R Rubite 346	○	○	○	○	○
SPH ¹	<i>Begonia obovoidea</i> Craib	Thailand	CI Peng 21035	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia obsolescens</i> Irmsch.	China, Guangxi	CI Peng 22083	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia oreodoxa</i> Chun & F. Chun ex G. Y. Wu & T. C. Ku	China, Yunnan	CI Peng 20454	○	○	○	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
BAR	<i>Begonia oxysperma</i> A. DC.	Philippines, Luzon	R Rubite 213	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia palmata</i> D. Don	China, Yunnan	CI Peng 17658	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia paracauliflora</i> sp. ined.	Malaysia, Sabah	CI Peng 21964	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia parvula</i> H. Lév. & Vaniot	China, Yunnan	CI Peng 20396	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia pavonina</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20239	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia pedatifida</i> H. Lév.	China, Guizhou	CI Peng 18779	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia peltatifolia</i> H. L. Li	China, Hainan	CI Peng 19504	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia phoeniogramma</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 22717	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia picta</i> J.E. Smith	Nepal	CI Huang 5993	○	○	○	○	○
GIR	<i>Begonia polygonata</i> Liebmman	America	R Morris-04-37	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia pseudodryadis</i> C. Y. Wu	China, Yunnan	CI Peng 20530	○	○	○	○	○
PET ³	<i>Begonia pseudolateralis</i> Warb.	Philippines, Luzon	R Rubite 297	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia pseudomashanica</i> sp. ined.	Viet Nam	CI Peng 20095	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia psilophylla</i> Irmsh.	China, Yunnan	CI Peng 20456	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia pulvinifera</i> C. I Peng & Y. Liu	China, Guangxi	CI Peng 19741	○	○	○	○	○
WEI	<i>Begonia pustulata</i> Liebmman	America	CI Peng 20870	○	○	NA	○	○
REI	<i>Begonia rajah</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20240	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia ravenii</i> C. I Peng & Y. K. Chen	Taiwan	CI Peng 14855	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia repenticaulis</i> Irmsh.	China, Yunnan	TYA Yang 19621	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia retinervia</i> D. Fang, D. H. Qin & C. I Peng	China, Guangxi	CI Peng 19808	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia robusta</i> Blume	Indonesia, Java	s. n.	○	○	○	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
PLA	<i>Begonia rockii</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 19111	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia roxburghii</i> A. DC.	Himalayas	CI Peng 20547	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia rubella</i> F. Hamilton ex D. Don	Nepal	CI Huang 6000	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia rubinea</i> H. Z. Li & H. Ma	China, Guizhou	CI Peng 20529	○	NA	○	○	○
PEL	<i>Begonia samhamensis</i> M. Hughes & A.G. Miller	Africa, Socotra	s.n. (M Hughes)	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia scintillans</i> Dunn	India, Arunachal	CI Peng 22542	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia serratipetala</i> Irmsch.	Papua New Guinea	CI Peng 21222	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia sikkimensis</i> A. DC.	China, Tibet	CI Peng 20848	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia silletensis</i> (A. DC.) C.B. Clarke	India, Arunachal	CI Peng 20865	○	○	○	○	○
SPH	<i>Begonia silletensis</i> subsp. <i>mengyangensis</i> M.C. Tebbitt & K.-Y. Guan	China, Yunnan	CI Peng 20794	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia sinofloribunda</i> Dorr	China, Guangxi	WC Leong 3401	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia sinovietnamica</i> C. Y. Wu	China, Guangxi	CI Peng 20286	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia sinuata</i> Wallich ex Meisner	Peninsula Malaysia	CI Peng 22684	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia sizemoreae</i> R. Kiew	Viet Nam	CI Peng 20257	○	NA	○	○	○
PEL	<i>Begonia socotrana</i> J.D. Hooker	Africa, Socotra	s.n. (M Hughes)	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia</i> sp. Arunachal	India, Arunachal	CI Peng 22222	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia pinglinensis</i> C. I Peng	Taiwan	CI Peng 21362	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia</i> sp. Sichuan	China, Sichuan	CI Peng 22567	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia</i> sp. Thailand A	Thailand	CI Peng 20623	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia</i> sp. Thailand B	Thailand	CI Peng 20697	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia</i> sp. Viet Nam	Viet Nam	CI Peng 22812	○	○	○	○	○



Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
REI	<i>Begonia stictopoda</i> (Miquel) A. DC.	Indonesia, Sumatra	CI Peng 22530	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia subhowii</i> S. H. Huang	Viet Nam	CI Peng 21892	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia subnummularifolia</i> Merr.	Malaysia, Sabah	s.n.	○	○	○	○	○
AUG	<i>Begonia sutherlandii</i> Hook. f.	South Africa	Jager 1200-5	○	○	○	○	○
SYM	<i>Begonia symsanguinea</i> L. Forrest & Hollingsw.	Papua New Guinea	CI Peng 21204	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia taiwaniana</i> Hayata	Taiwan	CI Peng 18111	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia tampinica</i> Burkill ex Irmisch.	Malaysia	CI Peng 22281	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia tenuifolia</i> Dryand.	Indonesia, Java	CI Peng 21311	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia thomsonii</i> A. DC.	Himalayas	CI Peng 22632	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia tigrina</i> R. Kiew	Malaysia	CI Peng 22720	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia tribenensis</i> Rao	Nepal	CI Huang 6163	○	○	○	○	○
REI	<i>Begonia tsengii</i> sp. ined.	China, Yunnan	CI Peng 18572	○	○	○	○	○
PAR	<i>Begonia variabilis</i> Ridl.	Thailand	CI Peng 21040	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia venusta</i> King	Malaysia	CI Peng 22695	○	○	○	○	○
PET	<i>Begonia vermeulenii</i> D. C. Thomas	Indonesia, Sulawesi	CI Peng 20265	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia versicolor</i> Irmisch.	China, Yunnan	CI Peng 18688	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia villifolia</i> Irmisch.	China, Yunnan	CI Peng 17629	○	○	○	○	○
BAR	<i>Begonia wadei</i> Merr. & Quisumb.	Philippines	R Rubite 356	○	○	○	○	○
AUG	<i>Begonia wakefieldii</i> Gilg ex Engler	Africa	CI Peng 20866	○	○	○	○	○
COE	<i>Begonia wangii</i> T. T. Yü	China, Guangxi	WC Leong 3346	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia wenshanensis</i> C. M. Hu ex C. Y. Wu & T. C. Ku	China, Yunnan	CI Peng 20516	○	○	○	○	○



Section	Species	Location	collectors & no.	rpL16 int	trnC-ycf6	ycf6-psbM	psbM-trnD	trnL-F
REI	<i>Begonia wilsonii</i> Gagnep.	China, Sichuan	<i>G Hao 428</i>	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia wui-senioris</i> C. I Peng	Burma	<i>CI Peng 22199</i>	○	○	○	○	○
PLA	<i>Begonia wutaiana</i> C. I Peng & Y. K. Chen	Taiwan	<i>CI Peng 18157</i>	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia wuzhishanensis</i> C. I Peng, X. H. Jin & S. M. Ku	China, Hainan	<i>SM Ku 2093</i>	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia xishuiensis</i> T. C. Ku	China, Guizhou	<i>CI Peng 18790</i>	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia yappii</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	<i>CI Peng 20243</i>	○	○	○	○	○
DIP	<i>Begonia yunnanensis</i> H. Lév.	China, Yunnan	<i>CI Peng 20941</i>	○	○	○	○	○

附錄

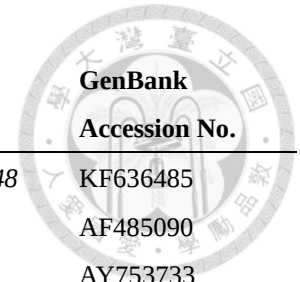


附表 2. ITS DNA 取樣物種憑證及產地列表。

Section	Species	Distribution	collector	GenBank Accession No.
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia acetosella</i> Craib	China		AY048976
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia alpina</i> L.B.Sm. & Wassh.	Malaysia		AY753717
<i>Diploclinium</i> (DIP)	<i>Begonia alveolata</i> T. T. Yu	China, Yunnan	Peng 20421	AY048977
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia augustinei</i> Hemsl.	China, Yunnan	Peng 20759	KF636421
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia balansana</i> Gagnep.	Viet Nam	Peng 21928	AF485091
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia cathayana</i> Hemsl.	China, Guangxi	Peng 20288	AF280106
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia ceratocarpa</i> S.H.Huang & Y.M.Shui	China, Yunnan		AY048978
<i>Reichenheimia</i> (REI)	<i>Begonia chingii</i> Irmsch.	China, Guangxi	Peng 19733	KF636432
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia difformis</i> (Irmsch.) W.-C. Leong, C.-I Peng & K.-F. Chung	China, Yunnan	Peng 23278*	KP262496
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia difformis</i> (Irmsch.) W.-C. Leong, C.-I Peng & K.-F. Chung	China, Yunnan	Peng 23252*	KP262497
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia difformis</i> (Irmsch.) W.-C. Leong, C.-I Peng & K.-F. Chung	China, Yunnan	Peng 23216*	KP262498
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia difformis</i> (Irmsch.) W.-C. Leong, C.-I Peng & K.-F. Chung	China, Yunnan	Peng 23253*	KP262499
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia decora</i> Stapf	Malaysia	Peng 20261	KF636435
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia edulis</i> H. Lév.	China, Guangxi	Peng 18747	KF636437
<i>Diploclinium</i> (DIP)	<i>Begonia fimbristipula</i> Hance	China, Guangxi	Leong 3673	KF636439
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia hatacoa</i> Buch.-Ham. ex D. Don	Himalayas		AF485111

Section	Species	Distribution	collector	GenBank Accession No.
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia hemsleyana</i> Hook. f.	China, Yunnan	Peng 17590	AF485099
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia laminariae</i> Irmsch.	China, Yunnan	Peng 17447	KF636455
<i>Leprosae</i> (LEP)	<i>Begonia longicarpa</i> K. Y. Guan & D. K. Tian	China, Yunnan	Peng 18651	AY048985
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia longifolia</i> Blume	Taiwan	Peng 16795	AF485105
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia multangula</i> Blume	Java		AY753724
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia nuwakotensis</i> S.Rajbh.	Nepal		HQ729061
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>bowringiana</i> (Champ. ex Benthem) Golding & Karegeannes	China, Yunnan	Peng 17658*	KP262494
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>palmata</i>	Taiwan	Peng 15985*	KP262491
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>palmata</i>	Taiwan	Peng 16670*	KP262492
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>palmata</i>	China, Guangdong	Peng 19477*	KP262493
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>palmata</i>	Taiwan, Chiayi	Peng 20903	KF636468
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>bowringiana</i> (Champ. ex Benthem) Golding & Karegeannes	China, Yunnan	Peng 23243*	KP262495
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia palmata</i> D. Don var. <i>cf. palmata</i>	China, Yunnan		AF485113
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia panchtharensis</i> S.Rajbh.	Nepal		HQ729062
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia pavonina</i> Ridl.	Malaysia	Peng 20239	KF636472
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia pedatifida</i> H. Lév.	China, Guizhou	Peng 18779	KF636473
<i>Diploclinium</i> (DIP)	<i>Begonia ravenii</i> C.-I Peng & Y.-K. Chen	Taiwan	Peng 14855	KF636479
<i>Sphenanthera</i> (SPH)	<i>Begonia robusta</i> Blume	Java		AY753729
<i>Diploclinium</i> (DIP)	<i>Begonia ruboides</i> C. M. Hu ex C. Y. Wu & T. C. Ku	China, Yunnan	Peng 18705	KF636481

Section	Species	Distribution	collector	GenBank Accession No.
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia sikkimensis</i> A. DC.	China, Tibet	<i>Peng 20848</i>	KF636485
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia versicolor</i> Irmsch.	China, Yunnan		AF485090
<i>Platycentrum</i> (PLA)	<i>Begonia xanthina</i> Hook.	Himalayas		AY753733



附表 3. 核內低拷貝基因 DNA 序列取樣列表。(BAR= *Baryandra* , BRA= *Bracteibegonia*, COE= *Coelocentrum*, DIP= *Diploclinium*, GIR= *Gireoudia*, HAA= *Haagea*, LEP= *Leprosae* , MON= *Monopteron* , PAR= *Parvibegonia* , PEL= *Peltaugustia*, PET= *Petermannia*, PLA= *Platycentrum*, QUA= *Quadrilobaria*, REI= *Reichenheimia*, RID= *Ridleyella*, SPH= *Sphenanthera*, SYM= *Symbegonia*, TET= *Tetraphila*, UN=unassigned, WEI= *Weibachia*; NA 表示未取得序列)

Section	Species	Location	collectors & no.	RPB2	PI
SPH	<i>Begonia acetosella</i> Craib	Thailand	CI Peng 21045	○	○
SPH	<i>Begonia af. multangula</i> Blume	Indonesia, Java	CI Peng 21310	○	○
DIP	<i>Begonia alveolata</i> T. T. Yu	China, Yunnan	CI Peng 20421	○	○
PLA	<i>Begonia augustinei</i> Hemsl.	China, Yunnan	CI Peng 20759	○	○
PLA	<i>Begonia baviensis</i> Gagnep.	China, Guangxi	CI Peng 20300	○	○
SPH	<i>Begonia burkillii</i> Dunn	Himalayas	CI Peng 20860	○	○
PLA	<i>Begonia cathayana</i> Hemsl.	China, Guangxi	CI Peng 20288	○	○
SPH	<i>Begonia ceratocarpa</i> S. H. Huang & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 18574	○	○
REI	<i>Begonia chingii</i> Irmsch.	China, Guangxi	CI Peng 19733	○	○
DIP	<i>Begonia chuyunshanensis</i> C. I Peng & Y. K. Chen	Taiwan	WC Leong 3021	○	○
PLA	<i>Begonia coptidifolia</i> H. G. Ye, F. G. Wang, Y. S. Ye & C. I Peng	China, Guangdong	CI Peng 19456	○	○
PLA	<i>Begonia crocea</i> C. I Peng	China, Yunnan	CI Peng 18032 (type)	○	○
PLA	<i>Begonia decora</i> Stapf	Peninsula Malaysia	CI Peng 20261	○	○
PLA	<i>Begonia difformis</i> (Irmsch. W. C. Leong, C. I Peng & K. F Chung	China, Yunnan	CI Peng 23220	○	○
PLA	<i>Begonia dryadis</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 18016	○	○
PLA	<i>Begonia emeiensis</i> C. M. Hu ex C. Y. Wu & T. C. Ku	China, Sichuan	G. Hao 431	○	○
PLA	<i>Begonia formosana</i> (Hayata) Masamune	Taiwan	CI Peng 18318	○	○
REI	<i>Begonia goegoensis</i> N. E. Br.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20238	○	○
DIP	<i>Begonia grandis</i> Dryand. subsp. <i>grandis</i>	China, Guizhou	CI Peng 18817	○	○
DIP	<i>Begonia gulinqingensis</i> S. H. Huang & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 20457	○	○
SPH	<i>Begonia handelii</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 17513	○	○
PLA	<i>Begonia hemsleyana</i> Hook. f.	China, Yunnan	CI Peng 17590	○	○
PLA	<i>Begonia hongkongensis</i> F. W. Xing	Hong Kong	CI Peng 19888	○	○
PLA	<i>Begonia impressinervia</i> sp. ined.	China, Guangxi	CI Peng 19734	○	○

Section	Species	Location	collectors & no.	RPB2 PI	
RID	<i>Begonia kingiana</i> Irmsch.	Peninsula Malaysia	CI Peng 21226	○	○
PLA	<i>Begonia klossii</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20255	○	○
SPH	<i>Begonia lancangensis</i> S. H. Hunag	China, Yunnan	CI Peng 18025	○	○
COE	<i>Begonia leprosa</i> Hance	China, Gunagdong	CI Peng 19474	○	○
LEP	<i>Begonia longicarpa</i> K. Y. Guan & D. K. Tian	China, Yunnan	CI Peng 18651	○	○
PLA	<i>Begonia longiciliata</i> C. Y. Wu	China, Guizhou	Wu 3345	○	○
SPH	<i>Begonia longifolia</i> Blume	Taiwan	WC Leong s. n.	○	○
PLA	<i>Begonia manhaoensis</i> S. H. Huang & Y. M. Shui	China, Yunnan	CI Peng 18539	○	○
COE	<i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh.	China, Guangxi	CI Peng 19795	○	○
DIP	<i>Begonia miranda</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 18727	○	○
DIP	<i>Begonia morifolia</i> T. T. Yü	China, Yunnan	CI Peng 20504	○	○
MON	<i>Begonia nepalensis</i> (A. DC.) Warburg	India, Arunachal	CI Peng 21269	○	○
PLA	<i>Begonia oreodoxa</i> Chun & F. Chun ex G. Y. Wu & T. C. Ku	China, Yunnan	CI Peng 20454	○	○
PLA	<i>Begonia palmata</i> D. Don	China, Yunnan	CI Peng 17658	○	○
PLA	<i>Begonia pavonina</i> Ridl.	Peninsula Malaysia	CI Peng 20239	○	○
PLA	<i>Begonia pedatifida</i> H. Lév.	China, Guizhou	CI Peng 18779	○	○
DIP	<i>Begonia ravenii</i> C. I Peng & Y. K. Chen	Taiwan	CI Peng 14855	○	○
SPH	<i>Begonia robusta</i> Blume	Indonesia, Java	s. n.	○	○
SPH	<i>Begonia roxburghii</i> A. DC.	Himalayas	CI Peng 20547	○	○
PET	<i>Begonia serratifida</i> Irmsch.	New Guinea	CI Peng 21222	○	○
PLA	<i>Begonia sikkimensis</i> A. DC.	China, Tibet	CI Peng 20848	○	○
SPH	<i>Begonia silletensis</i> (A. DC.) C.B. Clarke	India, Arunachal	CI Peng 20865	○	○
SPH	<i>Begonia silletensis</i> subsp. <i>mengyangensis</i> M.C. Tebbitt & K.-Y. Guan	China, Yunnan	CI Peng 20794	○	○
DIP	<i>Begonia sinovietnamica</i> C. Y. Wu	China, Guangxi	CI Peng 20286	○	○
DIP	<i>Begonia taiwaniana</i> Hayata	Taiwan	CI Peng 18111	○	○
PLA	<i>Begonia versicolor</i> Irmsch.	China, Yunnan	CI Peng 18688	○	○
DIP	<i>Begonia wenshanensis</i> C. M. Hu ex C. Y. Wu & T. C. Ku	China, Yunnan	CI Peng 20516	○	○