

研究報告

利用 ISSR 分子標誌探討阿里山十大功勞 族群遺傳多樣性

何坤益^{1,2} 李武林¹ 呂福原¹

【摘要】阿里山十大功勞 (*Mahonia oiwakensis* Hayata) 為小檗科 (Berberidaceae) 之台灣特有種，本研究應用簡單重複序列區間 (Inter-Simple Sequence Repeat, ISSR) 分子指紋技術，探討族群的遺傳結構與族群多樣性。採自臺灣自然分布之 11 地區共 122 株阿里山十大功勞樣木，使用了 11 個 ISSR 引子進行 PCR 反應試驗，獲得 119 個條帶，其中多型性條帶有 61 條 (51.26%)。分子變方分析 (AMOVA) 結果，族群間變方成分是 28.81% ($p < 0.001$)，族群內樣本的變方成分是 71.19% ($p < 0.001$)，族群遺傳變異主要成分來自於各地族群內。就族群的遺傳變異矩陣與地理距離及海拔間所進行相關性測驗 (Mantel test) 之結果，並無顯著差異。POPGENE 分析結果族群具有較高之基因歧異度值 (H 為 0.3762) 與遺傳分化指數 (G_{st} 為 0.3942)，及較低基因流 (N_m 為 0.7684)，這現象顯示族群基因流受到限制，而具有高度的基因歧異度與分化之遺傳結構；歸群與主座標分析結果，表現各地族群為不同生育地環境之影響，以致無地理空間之分布關聯。

【關鍵詞】阿里山十大功勞、簡單重複序列區間、遺傳分化、基因流、遺傳變異

Research paper

Genetic Diversity Among the Populations of *Mahonia oiwakensis* Hayata (Berberidaceae) Using ISSR Markers in Taiwan

Kuenu-Yih Ho^{1,2} Wu-Lin Lee¹ Fu-Yan Lu¹

【Summary】*Mahonia oiwakensis* Hayata is an endemic species in Taiwan belonging to Berberidaceae family. The genetic diversity and geographical relationship of 122 individuals sampled from 11 nature populations in Taiwan were examined using ISSR fingerprinting. There are 11 ISSR primers used in PCR and amplified 119 bands, 61 of them were polymorphism bands (51.26%). AMOVA revealed that the component

1. 國立嘉義大學森林暨自然資源學系 助理教授、碩士班研究生、教授

Assistant Professor, Graduate Student, Professor, Department of Forestry and Natural Resources, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan.

2. 通訊作者

Corresponding Author. : kyho@mail.ncyu.edu.tw

of variance among populations was 28.81% ($p < 0.001$) and was attributed to the population differentiation. The component of variance within population was 71.19%, that was shown to be high significant ($p < 0.001$). Based on our Mantel test, correlation coefficients among genetic variation among for 11 nature populations were not significant, which have not been influenced by the geographical distribution and elevation. Analysis of Popgene demonstrated that there are remarkable genetic diversity ($H = 0.3710$, $Gst = 0.3942$) and low level of gene flow ($Nm = 0.7684$). The results of this analysis were probably due to the influence from the different environment that has not restricted the gene flow but higher promote a higher genetic differentiation. Cluster analysis and Principal Coordinate analysis (PCOA) similarly revealed that the genetic differentiation may be caused by different environments while habitat influences and space order are not be corresponding to the geographical relationships.

【Key words】 *Mahonia oiwakensis*, ISSR, genetic diversity, gene flow, genetic variation.

一、前言

台灣產小蘗科 (Berberidaceae) 十大功勞屬 (*Mahonia*) 之阿里山十大功勞 (*Mahonia oiwakensis* Hayata), 分布於中央山脈區域之特有種 (劉業經等, 1994), 在「台灣地區植物紅皮書」中被列為狹隘固有及稀有級, 多見於崩塌地、伐跡地, 二次植被演替後期 (賴明洲, 1991)。本種為常綠灌木蟲媒花植物, 奇數羽狀複葉, 花黃色圓錐狀花序, 漿果熟呈深藍色 (劉業經等, 1994)。全株富含化學成分, 如小蘗鹼 (berberine)、小蘗胺 (berbamine) 等, “十大功勞” 意謂在民間醫療保健上有多種用途, 也就是全株樹均可入藥 (甘偉松, 1977), 為頗具開發潛力之森林資源。

近年來, 分子標記 (molecular marker) 廣泛應用於生物學的相關研究, 甚至生態學、分類學、遺傳學及生物地理學的研究。Ziekiewicz *et al.*, (1994) 發展之簡單序列重複區間 (Inter-Simple Sequence Repeat, 簡稱 ISSR) 分子標誌, 利用真核生物體內存在之 SSR 片段, 經放大許多個基因座以應用到分類群研究, ISSR 引子於 3' 或 5' 端具有 1-3 個核苷酸組成之錨 (anchor) 能提高引子之專一性, 故 PCR 產物之再現性較高, 可得到較高可信度之遺傳多型性資料, 具操作方便等優點。而可應用於物種族群遺傳變異和區分種內、亞種、變種或栽培種, 及自然族群的雜交之研究 (Xie *et al.*, 2005,

Chuang *et al.*, 2004, 賴瑞聲等, 2005, 何坤益, 2006)。

台灣之原生十大功勞屬植物有 2 種, 其中十大功勞 (*Mahonia japonica* (Thunb. Ex Murray) DC.) 主要分布於北部海拔一千兩百公尺以下山區族群數量較多, 本種分布包括華南、日本等地; 阿里山十大功勞則分布於中央山脈海拔 1,200-2,600 m 之地區, 族群間可能受到台灣植物區系形成族群消長變化等影響; 以及十大功勞屬植物在向為中藥醫學上實為重要之植物, 台灣產十大功勞屬植物兩種均都可入藥, 含有豐富之生物鹼等化學成分, 且具有相當之療效 (甘偉松, 1997), 近年來在民間保健醫療上受到廣泛注意, 引起大量之濫採壓力, 是否引起族群發育十分值得關切。惟其相關研究缺乏, 若能深入探討族群遺傳結構, 有助於瞭解其基因庫規模及分化程度。同時, 分析族群多樣性將利於資源保育與利用的策略規劃。有鑑於此, 本研究廣泛採集各生育地族群, 分析其遺傳結構與族群多樣性, 提供未來資源保育與族群遺傳研究參考。

二、材料與方法

(一) 材料

採集自 11 處自然分布地區 (表 1 及圖 1), 每區採取 8-18 個樣株, 儘量區隔採集之樣本距離與位置, 避免採集自同源母樹, 共採得 122

株之樣本，選取無病蟲害樣株的 5-10 葉片，使用矽膠乾燥劑將樣本乾燥。

(二) 方法

1. Genomic DNA 之萃取及定量：參考 Kobayashi *et al.* (1998) CTAB 萃取法，以分光光度計測定 DNA 濃度。
2. 聚合酶鏈鎖反應 (Polymerase chain reaction ; PCR)：參考 Doyle and Doyle (1987) 方法，ISSR 引子取自 UBC (University of British Columbia) biotechnology laboratory 之 100 組引子，經最佳化測試 (optimization) 篩選共 11 組最合適之引子。溫度循環機 (thermocycler) 進行 PCR 反應，溫度參數設定如下：
 - (1) 前期變性 (primary denaturation) : 94°C 5min ; 雙股 DNA 充分變性單股。

- (2) 變性 (denaturation) : 94°C , 30 sec 。
- (3) 引子黏合 (annealing) : 52°C - 60°C , 50 sec ; 引子間有不同之最適黏合溫度。
- (4) 延伸 (extension) : 72°C , 2 min ; 此溫度為 Taq DNA 聚合酶最適合進行 DNA 複製延伸之溫度。上述 2、3、4 步驟反覆循環 35 次，維持 72°C , 7 min 。
3. 電泳 (electrophoresis) : PCR 擴增之產物以 1.5% Agarose 膠體電泳分離產物。電泳緩衝液為 0.5×TBE buffer，電壓為 200V 分離 100 min 。
4. 染色與照相：以溴化乙錠 (ethidium bromide) 染色，於 UV 燈下顯影拍照紀錄。

(三) 分子性狀統計分析

表 1. 阿里山十大功勞之試驗編號、採樣地點、海拔高度與樣本數目

Table 1. Sources Code, collected site, Elevation, Sample size of *M. oiwakensis*

試驗編號 (Sources Code)	採樣地點 (Collected site)	海拔高度 Elevation (m)	樣本數 Sample size
1.Nanzihiansi (楠梓仙溪)	Chiayi, Alishan. (嘉義阿里山)	2,200	9
2.NanYushan (南玉山)	Chiayi,, Alishan (嘉義阿里山)	2,120	16
3.Jiousishan (九溪山)	Kaohsiung, Taoyuan (高雄桃源)	2,400	6
4.Fencihu (奮起湖)	Chiayi , Jhuci. (嘉義竹崎)	1,450	10
5.Bilusi (畢祿溪)	Nantou , Renai. (南投仁愛)	2,140	18
6.Hehuansi (合歡溪)	Taichung , Heping (台中和平)	1,857	9
7.Cijiawansi (七家灣溪)	Taichung , Heping (台中和平)	2,555	13
8.Hsinchiayang (新佳陽)	Nantou , Renai. (南投仁愛)	2,316	8
9.Dayuling (大禹嶺)	Hualien , Sioulin. (花蓮秀林)	1,821	8
10.Neimaopu (內茅埔)	Nantou , Sinyi. (南投信義)	1,850	9
11.Wangsiang (望鄉)	Nantou , Sinyi. (南投信義)	2,067	16

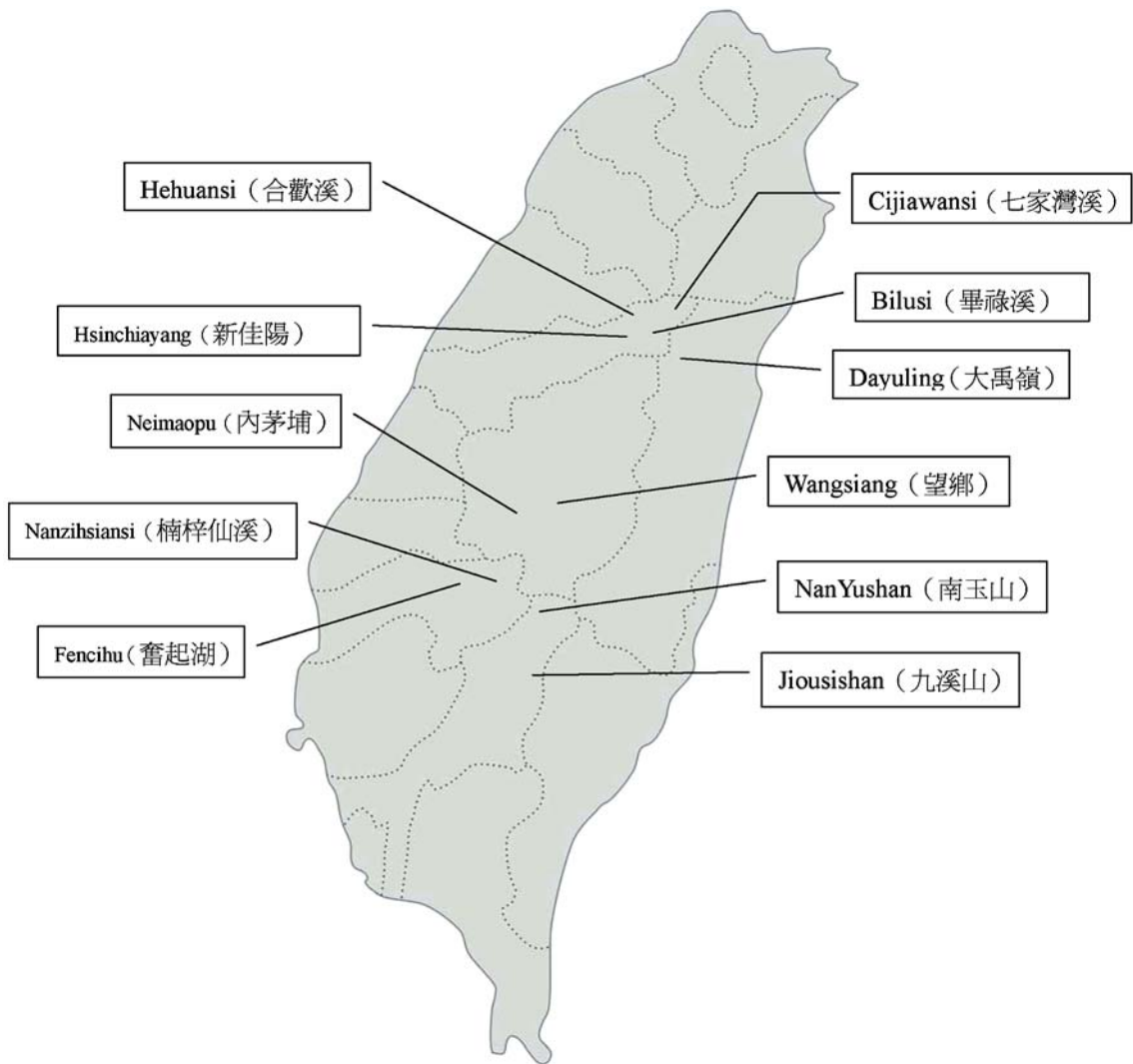


圖 1. 阿里山十大功勞之試區地理位置

Fig. 1. Geographic locations of the studied of *M. oiwakensis*.

(1) 分子性狀紀錄

記錄強度較強且較清晰的條帶並以代碼 0 或 1 代表條帶出現之與否，將記錄到之 DNA 片段利用 NTSYS 軟體 (Rohlf, 1993)，以 Simple Matching 公式計算兩兩樣本間之相似度，建立相似度矩陣 (Ssm)，另以 Dice 公式計算兩兩樣本間之相似度 (SAB) 矩陣 (Dice, 1945)。

(2) AMOVA 分析 (Analysis of Molecular Variance)

利用 Excoffer *et al.* (1992) 所發表兩兩族

群的距離公式求得距離矩陣 D。求出距離矩陣後，以 AMOVA 軟體進行分析 (Excoffer *et al.*, 1992)，計算族群間、族群內個體間之變方成分值及其所佔總變方成分之百分比，並計算出各族群間的遺傳距離 (Φ_{st}) 矩陣。

(3) POPGENE 分析

以 POPGENE 軟體計算族群間遺傳資料 (Yeh *et al.*, 1997)，設定各族群達哈溫平衡之前提 (Hardy-Weinberg equilibrium)，以計算遺

傳歧異度指數 (Nei's gene diversity) H 值 (Nei, 1973)、遺傳分化係數 (genetic differentiation) G_{st} 值 (Nei, 1973)、及遺傳距離 (Nei, 1978)，利用 G_{st} 估算基因流 (gene flow) Nm 值 (Slakin and Barton, 1989)。並以 Biom 軟體進行地理及海拔之關聯測驗 (Mantel test)。

(4) 歸群分析 (cluster analysis)

將利用 NTSYS 軟體的 SAHN (Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested clustering method) 程式及 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic averages) 方法分別進行各族群之歸群分析建立樹狀圖。再進

行主座標分析，以三維變異最大變異軸繪成坐標圖，求出三維空間上族群的分布關係。

三、結果

(一) 引子與條帶記錄

測試 100 個隨機序列引子，經選取擴大效果佳、條帶亮度強，具有多型性及再現性的引子，共選用 11 個引子，進行聚合酶鏈鎖反應 (Polymerase chain reaction ; PCR)，獲得到 119 個條帶，其中多型性條帶有 61 個 (51.26%)，單型性條帶有 58 個 (表 2)。

表 2. 阿里山十大功勞之 ISSR 引子與條帶記錄

Table 2. ISSR primers with number of polymorphic bands (pb) of *M. oiwakensis*

ISSR 引子編號	序列 (5' ~ 3')	條帶數	多型性條	單型性條
UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	14	6	8
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	10	4	6
UBC848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	8	5	3
UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	10	5	5
UBC856	TGTGTGTGTGTGTGTGRT	12	6	6
UBC857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	10	5	5
UBC886	CTC CTC CTC CTC CTC CTC	13	5	8
UBC887	DVDTCTCTCTCTCTCTC	9	5	4
UBC888	BDBCACACACACACACA	7	5	2
UBC889	DBD ACA CAC ACA CAC AC	11	5	6
UBC890	DBDACACACACACACAC	5	5	0
UBC891	HVH TGT GTG TGT GTG TG	10	5	5
		119	61	58

(二) 族群遺傳變方與族群遺傳變異、基因流分析

分子變方分析之結果 (表 3) 族群間之變方成分是 28.81% (p < 0.001)，各地區之族群內變方成分是 71.19% (p < 0.001)。族群遺傳變

異分析 (POPGENE) 結果，Nei,s 基因歧異度值為 0.3762，其遺傳分化係數 (G_{st}) 為 0.3942，族群基因流為 (Nm) 0.7684。

(三) 族群遺傳與地理、海拔間之關聯測驗

關聯測驗 (Mantel test) 結果，遺傳距離矩

陣與地理距離相似度矩陣之相關係數為 0.06964，相關係數低，且再經 1000 次隨機排列測驗，並未達顯著相關 ($p = 0.2834$)；另與海拔距離相似度矩陣之相關係數為 0.2264，相關係數低，且經 1000 次隨機排列測驗，亦未達顯著相關 ($p = 0.0962$)。

(四) 歸群分析與主座標分析

族群遺傳分析計算兩兩族群之遺傳距離，經比對遺傳距離矩陣與相似度矩陣所得之協表相關係數 (cophenetic correlation coefficient，簡稱 r 值) 為 0.8479，顯示此歸群圖尚未扭曲

可表現真實之群團狀態，歸群圖顯示無地理分布關聯，大部分族群於中央山脈邊緣分布之現象，可能地域間關係相臨區域之族群如畢祿溪、合歡溪及七家灣溪，及南玉山、九溪山等有形成小群團，而奮起湖、內茅埔及大禹嶺等族群，則表現較遠距離之分布關係 (圖 2)。

再由主座標分析結果，第一維可解釋 27.54%，第二維可解釋 18.36%，第三維可解釋 13.82%，三維座標共解釋 59.72%；三維座標圖族群間之地理關係不明顯 (圖 3)，表現族群間集中於中央山脈邊緣分布現象。

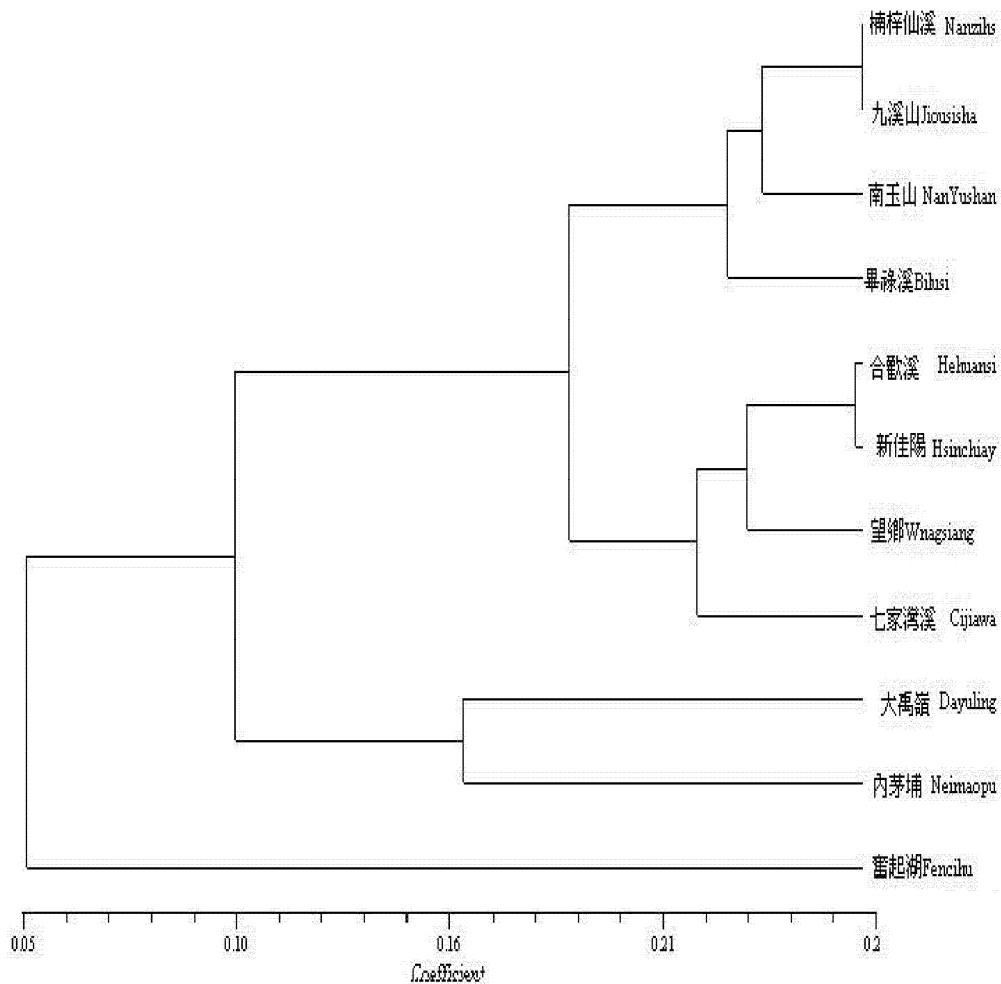


圖 2. 阿里山十大功勞歸群分析 (UPGMA) 之樹狀圖

Fig. 2. UPGMA dendrogram based on ISSR of *M. oiwakensis*.

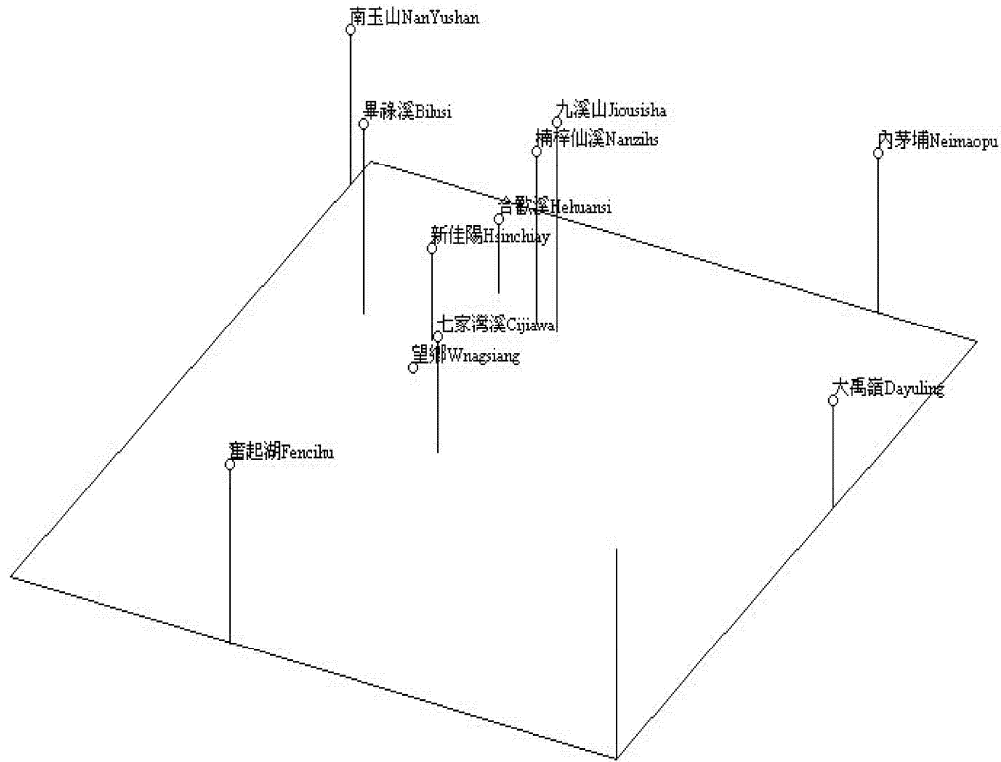


圖 3. 阿里山十大功勞主座標分析之 3D 座標圖

Fig. 3. Three-dimensional principal coordinate analysis based on ISSR of *M. oiwakensis*.

表 3. 阿里山十大功勞 ISSR 分析之分子變方成分分析表

Table 3. Analysis of Molecular Variance based on ISSR of *M. oiwakensis*

Source of variation	df	SSD	MSD	Variation component	Total var. (%)	p - value
Variance among populations	10	264.40	26.44	2.00	28.81	< 0.001
Variance within populations	111	548.54	4.94	4.94	71.19	< 0.001

四、討論

(一) 族群遺傳多樣性

就一般之特有種、瀕危植物與狹域種，因環境變異、繁殖限制、先驅者效應、或冰河期殘存等因素 (Ranker, 1994 ; Li and Ge, 2002)，以致保持較高之遺傳多樣性。本種由 POPGENE 分析結果，族群 Nei's 基因歧異度 (H 為

0.3762)，此與同樣應用 ISSR 研究之玉山杜鵑 (*Rhododendron pseudochrysanthum* Hayata) 基因歧異度為 0.3371 (鄭之煒, 2003)，台灣裸子植物之刺柏 (*Juniperus formosana* Hayata) 基因歧異度為 0.3536 (蔡依綺, 2004)，及唐杜鵑 (*Rhododendron simsii* Planch) 族群基因歧異度為 0.3423 (陳硯茹, 2005) 等相當，本種與玉山杜鵑等原生植物具高度之遺傳歧異度現象。

推測此與本種分布於中高海拔區域於崩塌地、伐跡地，次生植被演替之後期等生態特性；同時隨著人為森林開發，生育環境隔離片段化，致使族群不連續分佈現象，導致基因交流受限，具較高之遺傳歧異度現象。以致在族群間分化指數亦偏高 (G_{st} 為 0.3942)，若與其他研究相比如 Li *et al.*, (2002) 研究稀有瀕危的植物廣西青梅 (*Vatica guangxiensis* X.L.Mo) 發現其 G_{st} 為 0.3764；刺柏為台灣高山植物群落社會初生或次生演替的代表灌叢樹種，族群間的分化程度則高於一般針葉樹，遺傳分化達 0.2177，表現族群變異受到族群生育環境的影響 (蔡依錡, 2004)。唐杜鵑在台灣呈現特殊的南北分布，個體變異極大，族群遺傳分化指數為 0.3642，研究證明其族群變異受到地理距離的影響 (陳硯茹, 2005)；依照 Hamrick *et al.*, (1989) 研究自交植物具有最高的 G_{st} 值 (平均 0.51)，異交的風媒花植物之 G_{st} 值最低 (平均 0.143)，異交的蟲媒花植物之 G_{st} 值介於中間 (平均 0.197)，由此阿里山十大功勞之 G_{st} 值介於異交的蟲媒花植物與自交植物之間，與廣西青梅、刺柏、唐杜鵑等木本植物等相較，顯示其族群具高度遺傳分化的現象。

分子變方分析 (AMOVA) 結果，族群間之變方成分 28.81% ($p < 0.001$)，族群內樣本的變方成分是 71.19% ($p < 0.001$)，顯示其族群大部分之變異仍存在於各地區族群內 (表 3)。Ge *et al.*, (2003) 以 ISSR 研究稀有植物四合木 (*Tetraena mongolica* Maxim) 其變方成分 15.2% 存在於族群間，84.8% 存在於各地區族群內；刺柏之族群遺傳變異之變方成分 22.79% 存在於族群間，77.03% 存在於各地區族群內，顯示其族群分化之傾向。本種如四合木及與刺柏族群，自然分布之族群亦已有分化傾向，惟族群大部分變異存在於各地區族群內樣本。

將本種之族群分化 (G_{st} 為 0.3942) 推估族群基因流 ($N_m = 0.7684$)，依據 Wright (1931) 研究分析若族群基因流 (N_m) 大於 1，則基因流作用可使族群免於分化，若小於 1 則表示基

因流受到限制易形成族群遺傳分化；此一現象在採集阿里山十大功勞樣株，多可鑒於下方區域內都有很多許多幼苗，因此可推論除動物可能協助傳播外，主要依靠重力散布種子，這可能是基因流較小的主要原因。當族群遺傳基因流小於 1 時，就不足以抵制族群內因遺傳漂變而引起的族群間遺傳分化 (Slatkin, 1985)。阿里山十大功勞的基因容易發生遺傳漂變，因此遺傳漂變可能是影響其遺傳分化的重要因素。因此，阿里山十大功勞族群具高度遺傳分化的現象，基因流分析顯然已受到限制趨勢。

(二) 族群遺傳結構與保育

族群遺傳變異矩陣與各地族群間地理距離、海拔矩陣進行關聯測驗，結果未達顯著相關，反映其遺傳變異可能不隨環境梯度變化而變異，即本種天然分布於中高海拔區域內，見於崩塌地、伐跡地，次生植被演替後期出現等特性，表現出各地族群間適應生育地之差異；同時，在採集樣本過程發現其出現闊葉樹林緣或孔隙中，並以孔隙種方式進行族群更新，由於適應於林緣或孔隙氣候，表現如林文智等 (2004) 於台灣南部多納森林土壤庫更新，及張乃航等 (1998) 調查福山地區之次生林土壤種子庫及幼苗動態之研究，所發現於林緣或孔隙處苗木更新發育與環境有密切關係般；即洪富文等 (1994) 於福山次生林林木生長之研究發現，更新於林緣或孔隙處之苗木，光度與養分對於其持續生長有密切影響，隨林緣或孔隙之變化而產生消長關係，其原生棲地遭受了過去森林開發之干擾，與目前人為干擾之威脅，族群分布趨於片段化，恐亦影響其族群遺傳變異之趨勢。

族群遺傳變異之歸群分析結果，歸群圖顯示族群分布無地理歸群現象，大部分族群於中央山脈邊緣分布，僅有相臨小區域之族群如畢祿溪、合歡溪及七家灣溪，及南玉山、九溪山等小群形成，而此現象推測來自地域相臨族群親緣關係，而奮起湖、內茅埔及大禹嶺等族群表現較遠距離之分布關係 (圖 2 及圖 3)，此部

分可能為局部環境限制所形成；但亦可能由於 Nei's 基因歧異度為較高者，其變異分化明顯，基因流已受到限制趨勢，以致族群間有中間型之遺傳變異。就一般而言，族群分化起源有多種模式，如隨環境梯度變化而形成漸變模式，或者是不同生態環境造成分化，或地理距離的隔離，或者不同族群發育歷程所造成分化等 (Sokal and Oden, 1978)，同時，本研究 Mantel 測驗結果表明的遺傳距離和地理距離之間並沒有顯著的相關性；Harmrick 和 Godt (1990) 的研究亦認為族群的地理分布和遺傳多樣性分布沒有直接的相關性，因此，確認了族群整體變異非連續性變異，而是來自生育環境各別適應之關聯，即生育地環境差異與人為干擾因素所產生分化趨勢。

Williamson 和 Werth (1999) 認為狹域分布且遺傳多樣性較高的物種，未經歷瓶頸效應，其族群內的近交不一定導致自交衰退 (inbreeding

depression)，因此其原生棲地的破碎化、地理隔絕及人為干擾產生的結果，可能使原來廣泛且連續分布的遺傳多樣性物種，因上述原因而呈現零散群聚分布，形成地理隔絕及分布範圍狹窄的小族群；棲息地的破壞造成族群個體數量的減少，而個體數量變少可能導致基因流下降和遺傳漂變，這可能是主要原因，許多物種的產生瀕危因素即是如此產生 (Eriksson *et al.*, 1995)；本研究初步建議針對阿里山十大功勞加強的保護措施，基於遺傳多樣性較高，但族群數量及族群個體數都較少的狀況，對現存族群的所有個體實施有效的就地保護；同時，因為遺傳變異主要分布在族群內的個體間，所以需要在各族群進行採樣，用於移地保育之研究。而各族群間存在一定的遺傳分化，因此有必要採用不同族群進行移植或混植，以增進種間之雜交機會，提高族群遺傳多樣性。

表 4. 阿里山十大功勞之遺傳歧異度、遺傳分化、及遺傳流

Table 4. POPGEN analysis of genetic diversities, genetic differentiation, and gene flow based on ISSR of *M. oiwakensis*

Sources Code	H ¹⁾	Gst ²⁾	Nm ³⁾
1. Nanzihiansi (楠梓仙溪)	0.2494		
2. NanYushan (南玉山)	0.0744		
3. Jiouisishan (九溪山)	0.3827		
4. Fencihu (奮起湖)	0.2718		
5. Bilusi (畢祿溪)	0.1845		
6. Hsinchiayang (新佳陽)	0.1147		
7. Cijiawansi (七家灣溪)	0.2859		
8. Hehuansi (合歡溪)	0.1638		
9. Dayuling (大禹嶺)	0.2115		
10. Neimaopu (內茅埔)	0.3063		
11. Wangsiang (望鄉)	0.2618		
	0.3762	0.3942	0.7684

¹⁾H = Nei's (1973) genetic diversity.

²⁾Gst = genetic differentiation.

³⁾Nm = gene flow.

表 5. 阿里山十大功勞之 ISSR 分析之遺傳距離 (Φ_{st}) 矩陣Table 5. Nei's genetic distance (Φ_{st}) based on ISSR of *M. oiwakensis*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0										
2	0.1059	0									
3	0.0602	0.1146	0								
4	0.3670	0.6036	0.2579	0							
5	0.1079	0.1407	0.1079	0.3833	0						
6	0.1523	0.1800	0.1420	0.4011	0.0916	0					
7	0.1546	0.2770	0.1170	0.1688	0.1872	0.1162	0				
8	0.1456	0.1676	0.1348	0.3979	0.1384	0.0867	0.1242	0			
9	0.3621	0.5819	0.2529	0.1675	0.3793	0.3240	0.1413	0.3685	0		
10	0.4068	0.5784	0.2943	0.1937	0.4199	0.3677	0.1915	0.3836	0.1220	0	
11	0.2920	0.3649	0.2221	0.2409	0.2888	0.2085	0.1209	0.1821	0.2020	0.1702	0

Sources Code: Table 1.

表 6. 阿里山十大功勞樣區族群之地理距離矩陣 (單位: km)

Table 6. Geographic distance matrix of *M. oiwakensis*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0										
2	15.2	0									
3	14.0	15.2	0								
4	11.6	24.0	24.0	0							
5	94.0	96.0	100	106	0						
6	102.0	99.6	114	100	4.0	0					
7	109.2	113.2	116	119.2	22.8	27.2	0				
8	89.2	95.6	99.6	102.0	6.0	10.4	21.6	0			
9	88.8	91.6	95.6	97.6	6.0	6.4	26.8	4.8	0		
10	19.6	29.2	34.0	27.2	79.2	64.8	85.6	72.0	70.4	0	
11	19.4	28.8	30.0	26.0	80.0	70.4	93.6	76.0	74.0	6.0	0

Sources Code: Table 1.

表 7. 阿里山十大功勞樣區族群之海拔矩陣 (單位 : m)

Table 7. Elevation distance matrix among sampling sites of *M. oiwakensis*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0										
2	80	0									
3	200	280	0								
4	750	670	950	0							
5	60	20	260	690	0						
6	343	263	543	407	283	0					
7	355	435	155	105	415	698	0				
8	116	196	84	866	176	459	239	0			
9	379	299	579	371	319	36	734	495	0		
10	350	270	55	400	290	7	705	466	29	0	
11	133	53	333	617	73	210	488	249	246	217	0

Sources Code: Table 1.

五、結論

阿里山十大功勞族群之基因歧異度高且分化明顯之遺傳結構，就其族群間基因流推測，經由其所分布之生育環境差異、地形與氣候變化複雜，逐漸造成族群間的遺傳變異；且其天然分布於中高海拔族群不隨環境梯度變化形成漸變模式，族群之遺傳變異並無地理環境歸群現象，僅於中央山脈之相臨生育地環境關聯，而由於基因流受到限制趨勢，族群適應環境所產生遺傳分化，表現了族群發育之遺傳多樣性。本種全株均可入藥，為具潛力之重要森林資源，基於阿里山十大功勞遺傳結構與族群多樣性分析，建議在於自然生育地實施就地保育措施，同時建立種源資源庫，促進基因交流。

誌謝

本研究承行政院農委會林務局計畫補助(95農科-12.3.1-務-e1)，謹此致謝。

六、參考文獻

- 甘偉松 (1977) 藥用植物學。國立中國醫藥研究所。273-277 頁。
- 何坤益 (2006) 台灣產土肉桂、山肉桂及胡氏肉桂之核酸多型性遺傳變異。台灣生物學報 41 (2) : 93-102。
- 林文智、郭耀綸、陳泳修、張乃航、洪富文、馬復京 (2004) 台灣南部多納針闊葉林土壤庫與森林更新。台灣林業科學 19 (1) : 33-42。
- 洪富文、程煒兒、游漢明、馬復京 (1994) 光度與養分對於福山次生樟儲林苗木生長的影響。林業試驗所研究報告季刊 9 (3) : 257-265。
- 陳硯茹 (2005) 應用 ISSR 研究唐杜鵑之族群遺傳變異。國立中興大學生命科學系碩士論文。85 頁。
- 張乃航、馬復京、游漢明、許原瑞 (1998) 福山地區次生闊葉林土壤種子庫及幼苗動態。

- 台灣林業科學 13 (4) : 279-289。
- 蔡依綺 (2004) 應用 ISSR 研究刺柏之族群遺傳變異。碩士論文。國立中興大學生命科學系碩士論文。63 頁。
- 賴明洲 (1991) 台灣地區植物紅皮書。行政院農業委員會。80 年生態研究第 12 號。
- 賴瑞聲、高瑞隆、林義恭、胡敏夫、劉新裕 (2005) 山藥種原外表形態及分子標記之變異研究。台灣農業研究 54 : 195-206。
- 鄭之煒 (2003) 應用 ISSR 研究玉山杜鵑之族群遺傳變異。國立中興大學生命科學系碩士論文。76 頁。
- 劉業經、呂福原、歐辰雄 (1994) 臺灣樹木誌。國立中興大學農學院出版委員會。第 107-112 頁。
- Chuang, H. Y., S. J. Tsao, J. N. Lin, K. S. Chen, T. D. Liou, M. Chung, and Y. W. Yang (2004) Genetic diversity and relationship of non-heading Chinese cabbage in Taiwan. Bot. Bull. Acad. Sin. 45 : 331-337
- Dice, L. R. (1945) Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26 : 297-302
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissues. Phytochem Bull. 19 : 11-15.
- Eriksson, G. Namkoong, G. and J. Robert (1995) Dynamic conservation of forest tree gene resources. Forest Genetic Resources. 23 : 2-5.
- Excoffier, L., P. E. smouse, and J. M. Quattro (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes : Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131 : 479-491.
- Ge, X. J., Y. Yu, N. X. Zhao, H. S. Chen and W. Q. Qi (2003) Genetic variation in the endangered Inner Mongolia endemic shrub *Teteaena mongolica* Maxim. (Zygophyllaceae). Biological Conservation. 111 : 427-434.
- Hamrick, J. L., and M. J. W. Godt (1990) Allozyme diversity in plant species. In Brown A.H. D., Clegg M.T., Kahler A.L., Weri B.S. [Eds.]. Plant population genetics, breeding and genetic resources:43-63. Sinauer. Sunderland MA.
- Hamrick, J. L., M. J. W. Godt and S. L. Sherman-Broyles (1989) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests. 6 : 95-124.
- Kobayashi, N., T. Horikoshi, H. Katsuyama, T. Handa and K. Takayanagi (1998) A simple and efficient DNA extraction method for plants, especially woody plants. Plant Tissue Cult. Biotech. 4 : 76-80.
- Li, A. and S. Ge (2002) Advances in plant conservation genetics. Biodiversity Science. 82 : 141-149. (in Chinese with English abstract).
- Li, Q.M., Z. F. Xu and T. H. He (2002) Ex situ genetic conservation of endangered *Vatica guangxiensis* (Dipterocarpaceae) in China. Biol Conserv. 106 : 151-156.
- Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided population. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70 : 3321-3323.
- Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89 : 583-590.
- Ranker, T. A. (1994) Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern *Adenophorus periens* and implications for conservation management. Biological Conservation, 70 : 19-24.
- Rohlf, F. J. (1993) Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Applied Biostatistics Inc., New York.

- Slatkin, M. (1985) Gene flow and the geographic structure of natural population. *Science*. 236 : 787-792.
- Slatkin, M. and N. H. Barton. (1989) A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*. 43 : 1349-1368.
- Sokal, R. R. and N. L. Oden (1978) Spatial auto correlation in biology. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 10 : 229-249.
- Wright, S. (1931) Evolution in Mendelian population. *Genetics*. 16 : 94-157.
- Williamson P. S. and C. R. Werth (1999) Levels and pattern of genetic variation in the endangered species *Abronia macrocarpa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*. 86 : 293-301.
- Xie, G. W., D. L. Wang, T. M. Yuan and X. J. Ge (2005) Population Genetic Structure of *Monimopetalum chinense* (Celastraceae), an Endangered Endemic Species of Eastern China. *Ann. Bot.* 95 (5) : 773-777
- Yeh, F. C., R. C. Yang, T. B. J. Boyle, Z. H. Ye and J. X. Mao (1997) POPGENE 3.2, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada*.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genome*. 20 : 176-183.

