

後冰河時期台灣柯屬植物(殼斗科)的遺傳多樣性 —特有植物台灣柯及柳葉柯之種化

蔣鎮宇、洪國翔
國立成功大學生物系

中文摘要

台灣柯及柳葉柯為台灣特有物種，親緣上最為近緣，分類學者對其同種與否，屢有爭論，本研究利用葉綠體 DNA 一介於 *atpB* 及 *rbcL* 基因間之一 noncoding spacer 分子序列，及 RAPD 指紋證據，重建二者之親緣歷史，並估算其族群分化。高歧異度的葉綠體 DNA 並不支持台灣柯及柳葉柯各為單一起源的假說，而 RAPD 指紋資料則不但支持二者之差異，並顯現族群之高度分化。推論台灣柯及柳葉科的共同祖先，在約距今 18,000 年前，最後一次冰河撤退時，避入中、低海拔之避難所，伴隨種子長距離之傳播，使得各族群葉綠體 DNA 組成具高歧異性及多起源，而後，因中、低海拔不同環境的選擇，使台灣柯及柳葉柯開始趨向分化，並藉由花期分離，加快其種化之速率。

一、前言

殼斗科植物在美洲及歐洲大陸的植物社會中扮演重要的角色，其中著名的橡樹屬 (*oak*, *Quercus*) 更代表北溫帶地區優勢的種類，這類植物不但在生態系中舉足輕重，在演化的歷史中在後冰河時期（大約在第四紀）許多物種為尋求庇護而進入避難所 (*refugia*) 的演化歷史，更提供了學者研究橡樹親緣及近代演化 (*microevolution*) 極佳的素材 A (Bennett, 1990)。

台灣的地質及物種演化歷史中，也同樣發生過後冰河時期「避難所」的事件，造成這些冰河子遺的物種大部分都「走避」於台灣的高山地區，著名的南湖柳葉菜、能高紫雲英及岡本氏岩蕨等皆為代表，這些物種一方面提高了台灣島嶼生物的歧異度 (*biodiversity*)，而另一方面則記錄了台灣後冰河時期生物地理及物種種化的歷史。

雖然本土學者過往的主要研究集中於高山地區子遺物種的研究，然而避難所的分布並不僅局限於高山地區，中海拔或低海拔的山頭都在冰河撤退之後提供了物種存活 (*survive*) 的棲地，其中中海拔最著名的例子即為分布於北插天山、阿玉山一帶的台灣山毛櫸（或台灣水青剛），這一個落葉性的殼斗科植物，其森林的形相上近似於北溫帶的橡樹森林；而另一個代表中低海拔後冰河時期的物種，則為本研究的主角台灣的柯屬物種 - 台灣柯及柳葉柯。

根據第二版的台灣植物誌第二卷（即 Liao, 1996），台灣的柯屬 (*Pasania*) 植物共有 15 個分類群（包括種以下），其中 8 種 (53.3%) 為特有物種，主要分布於海拔 400-1,500 公尺的森林，結構上常為第一或第二層的樹種。分類上，屬於廣義的橡樹屬 (*Quercus*) 或石櫸 (*Lithocarpus*)（參考楊遠波等，1997. 台灣維管束植物簡誌，第二卷），與前者最大差異為橡樹屬具 3-6 枚雄蕊，而柯屬則具 8-12 枚雄蕊；而與後者最大的差異則在於堅果為殼斗完全的包被（石櫸屬）或部分包被（柯屬）。這些近緣的屬，都具風媒、柔荑花序，以及堅硬的堅果，其傳播媒介常為松鼠或鳥類，因此，在

傳播上，種子的傳播必定受到這些媒介動物運動能力（遷移能力）的限制，在柯屬植物生活史中因此扮演了限制的角色，並有於地區性的族群的遺傳分化。

台灣柯 [*Pasania formosana* (Skan) Schott.] 及柳葉柯 (*Pasania dodonaeifolia* Hayata) 為台灣產柯屬植物中彼此最為近緣的物種，並為本島特有物種，Kudo (1931) 曾經在其分類研究時，將柳葉柯處理為台灣柯的一型 (forma), Li (1953) 更認定兩者應為同一物種，雖然其他分類學者都認定兩者分類上確定的位置，Kudo 及 Li 的分類處理另一方面也顯現出兩物種的近緣性。

事實上，台灣柯與柳葉柯在外部形態上共有許多特徵，兩者皆為中喬木（4-9 公尺），葉全緣，邊緣反捲，葉先端圓鈍，堅果僅被殼斗包被於基部。而兩種之間最大的差異，主要在葉的外形及葉寬，其中台灣柯具有橢圓形或倒卵形的葉片，而柳葉柯則具有倒披針形且葉寬較狹的葉片。

台灣柯及柳葉柯的分布都只局限於台灣南部，台灣柯的族群不論在數量或大小上都明顯的少於柳葉柯，前者主要分布於恆春半島出風谷，欖仁溪流域海拔 400-500 公尺的稜脊線上，其族群被溪谷分割為南北兩個小族群，另外，文獻亦記錄在南仁山區亦有零星分布。柳葉柯的族群從其數量及大小上判斷則似乎較為穩定及「健康」(healthy)，過往的記錄本種主要分布於浸水營、茶茶雅奈中海拔山區，向南則降至海拔約 600 公尺左右南迴公路上的達仁（參考呂勝由 1996），在數量上顯著的超過台灣柯（野外族群約僅 100 個體左右）許多，最近根據屏東科技大學森林資源技術系蕭慧君同學（在葉慶龍教授指導下，Hsiao, 1998）在屏東尾寮山的植群研究中，亦發現柳葉柯族群在海拔 1100-1427 公尺的分布，並與錐果櫟等物種形成一特殊植物社會亞型。

台灣柯及柳葉柯雖多分布於山頂稜脊域附近，但喜棲生於土壤發育較為良好，坡度較為平緩的坡面，在演替梯度上並非最陽性之樹種，其附近土壤較為貧脊、迎風且乾燥的微棲地中，則較常見以大頭茶或嶺南青岡櫟為優勢的社會，顯現同為稜脊線物種在生態區位上的分化。

在過往，大部份的學者，都認為葉綠體 DNA 因其保守的特性（不論在基因位置排列上或分子序列上），僅適合高階的系統分類探討，但是，近來愈來愈多的研究發現近緣種間 (Hong et al., 1993; Abbott et al., 1995; Wolf et al., 1997) 或者族群間 (Whittmore & Schaal, 1991; Forcioli et al., 1994; McCauley, 1994; Le Corre et al., 1997; Forcioli et al., 1998; King & Ferris, 1998) 的遺傳多變異，葉綠體 DNA 因其不具遺傳重組、母系遺傳的特性，其所推論的基因樹 (gene tree) 常趨近於物種樹 (organism tree)，因此，最近的發展趨勢，即是開始利用葉綠體 DNA 重建族群間的地理親緣 (Petit et al., 1997; Dumolin-Lapegue et al., 1997)。而 RAPD 的指紋技術，則因其敏感度高，因此被廣泛的利用，解釋近緣種間或同種族群間甚至個體間的分化 (Micheli & Bova, 1997)。

本研究為了解上述兩個近緣特有物種的演化歷史及遺傳變異，我們自野外的族群取得樣品，藉由分子生物學的技術進行遺傳變異的偵測及分析。

二、材料及方法

「野外取樣」本研究分別自台灣柯及柳葉柯的野外族群（圖一）取得樣本，幼嫩葉片以矽膠乾燥處理，攜回實驗室。

DNA 萃取, PCR, T-vector cloning 及分子序列

葉組織以液態氮研磨，依 Doyle & Doyle (1989) CTAB 的萃取方式，將 genomic DNA 萃取出，並定量。PCR 的反應為每 100ul 中加入 10ng 的模板 DNA，10ul 的 10X buffer, 10ul MgCl₂ (25mM), 10ul dNTP mix (8mM), 10 pmole 的 primer (每一)，10ul 的 10% NP-40，及 2U 的 *Taq* polymerase (Promega, Madison, USA)。反應的條件設定為，95°C 4 分鐘 (變性) 後，共 30 次的如下反應：92°C 45 秒，52°C 1 分 15 秒 (黏合) 及 72°C 1 分 30 秒 (延長)；結束後加上 10 分鐘 72°C 的延長反應。本實驗使用的引子依據 Chiang et al. (1998) 的廣用引子，用於 PCR 及分子序列。PCR 的產物在 1% agarose 上電泳分離後，切下所欲片段，利用 High Pure PCR Product Purification Kit (BM) 純化後，接合至 PT7 blue T-vector (Novagen)，並轉型至大腸桿菌。質體 DNA 萃取後定量，並以自動定序儀分子序列。

RAPD 指紋分析

本研究利用 UBC 商業合成之引子 1-60 號，複製出不同的基因座，反應的條件設定為，95°C 3 分鐘 (變性) 後，共 35 次的如下反應：92°C 15 秒，36°C 20 秒 (黏合) 及 72°C 60 秒 (延長)；結束後加上 10 分鐘 72°C 的延長反應。25ul 中加入 0.5ng 的模板 DNA，2.5ul 的 10X buffer, 2.5ul MgCl₂ (25mM), 2.5ul dNTP mix (8mM), 0.1uM 的 primer，及 0.7U 的 *Taq* polymerase (Promega, Madison, USA)。RAPD 產物在 2% 之 NuSieve 3:1 瓊膠上電泳後，以 ethidium bromide 染色，並以 Polaroid 667 底片感光。

資料分析

葉綠體 DNA 分子序列：

分子序列以 Clustal V (Higgins et al., 1992) 比對排序，種間及族群的親緣歷史重建則根據 most parsimony 原理利用 PAUP (Swofford, 1993) 及根據遺傳距離的 MEGA (Kumar et al., 1993) 電腦軟體加以重建，本研究未選取外群，因此構築的基因樹為 unrooted，重建之親緣顯著性則以 bootstrap 重取之統計方式加以測試 (Felsenstein, 1985)，共重複 1,000 次，每一群之 bootstrap 值若超過 70% 則具有 95% 以上之顯著性 (Hills & Bull, 1993)。

RAPD 指紋資料分析：

由不同引子所複製出之多型條帶，以 AMOVA (Excoffier, 1993) 分析族群間之歧異度。

三、結果：

(一) 遺傳變異

共 10 個體來自台灣柯的單一族群及 14 個體來自柳葉柯三個族群 (表一) 之葉綠體 DNA 之 *atpB-rbcL* noncoding spacer 被分離及序列。不論種間或種內 (例如柳葉柯種內變異為 0.06104 ± 0.00213) 皆具有極大之遺傳變異，其中台灣柯種內的變異 (nucleotide diversity = 0.09292 ± 0.02212) 甚至大於種間之變異 (nucleotide diversity = 0.07548 ± 0.02229)。而族群間 (柳葉柯) 之遺傳變異範圍為 0.02360 - 0.08448 (表二)。

(二) 根據葉綠體 DNA 之親緣重建及族群間之基因交流

親緣重建利用 PAUP 之分析共認定 9 個等長 (278 steps) 的樹 (CI = 0.906, P<0.01) (圖二)，而利用 MEGA 重建的 Neighbor-Joining 樹則與 parsimony tree 具相同的

topology, 但是不論是 PAUP 或 MEGA 所重建之演化樹皆不支持台灣柯或柳葉柯的單一起源假說 (monophyly)。

而利用族群間之變異所推估之族群間分化顯示, 在柳葉柯族群間有非常高度的基因交流 ($N_m = 2.04 \sim 50.91$), 因此造成族群間之低遺傳分化 ($F_{st} = 0.00973 \sim 0.019679$)。

(三) RAPD 分子指紋分歧

相較於葉綠體 DNA 資料無法呈現種間之分化, RAPD 不但具有種間高度之分化, 更顯現出柳葉柯植物族群間之遺傳分化。顯然地種間的分化程度 ($\Phi_{st} = 0.8856 \sim 0.9297$) 高於族群間之分化 ($\Phi_{st} = 0.5394 \sim 0.6394$)。

四、討論

種間及種內之葉綠體 DNA 高遺傳變異, 雖然在許多過往的研究中曾被指出, 但大部分皆根據葉綠體基因體 (genome) 的 RFLP 證據, 特定的基因序列 (atpB-rbcL noncoding spacer) 變異則為首次被發現。然而 atpB-rbcL noncoding spacer 並非在所有物種皆具高的歧異度, 一如蘚類植物 (mosses) 之塔蘚科 (Hylocomiaceae) 屬間變異度甚至低於本研究之族群間變異 (cf. Chiang, 1994), 另外, 台灣產的秋海棠屬植物之種間變異, 亦不及台灣柯或柳葉柯種內變異, 顯然高的遺傳歧異度與柯屬植物的演化歷史具高度相關。

同屬於後冰河時期, 由避入避難所後再擴展其族群的南歐橡樹 (oaks) 物種, 亦被發現具有相當高度之葉綠體 DNA 變異 (Pitit et al., 1997)。這一個溫帶起源的物種在冰河撤退之前可能曾經廣泛分布於現今屬亞熱帶的低海拔地區, 廣大的族群因而保有相當高的遺傳變異, 但隨後 (約距今 18,000 至 20,000 年前, cf. Bennett, 1990) 發生的冰河撤退事件, 使得原本低溫的平地溫度陡升, 原有的柯屬族群紛紛藉由種子傳播進入避難所 (山頂), 值得注意的是, 這些避難所形成的生態島嶼之間, 因環境劇變並不再存有優勢的森林, 因此, 這些藉由鳥類或小型哺乳類傳播種子的柯屬植物, 在冰河撤退後的時期, 有了長距離傳播的可能, 這樣的歷史被葉綠體 DNA 在各個族群的「多起源性」(polyphyly) 所顯現出來。

種間之單一起源不被葉綠體 DNA 支持, 當然顯現的是二者來自共同起源的歷史, 但是二者現今之「狀態」如何? 則必須透過核 DNA 的變異加以探討, 根據 Hawkins & Harris (1998) 的研究 RAPD 指紋片段大多數來自核的 DNA, 因此足以厘清柳葉柯及台灣柯現今之分化狀態。

本研究中, RAPD 顯現出種及族群間之高度遺傳分化 (表三), 代表此一風媒物種之花粉傳播亦有其限制, 由族群間之分化程度與地理距離之相關, 顯現出 isolation by distance 之模式。而原屬同一起源的台灣柯及柳葉柯, 由 RAPD 證據顯示, 已開始走向分化的方向, 這樣的結果與二者在花期上的分化相吻合, 根據野外觀察, 台灣柯與柳葉柯開花的時期皆短, 每年春天來臨後, 台灣柯先於二至三月間開花, 而柳葉柯約晚半個月至一個月才開始開花, 兩物種間在開花季節上顯然已有隔離的趨勢。

由上述結果推論, 後冰河時期, 台灣柯及柳葉柯的共同祖先分別進入不同海拔的避難所, 並且在族群間曾一度有長距離之種子傳播, 而後, 生態島嶼間之「空隙」被填滿後, 長距離傳播不再可能, 而分佔中、低海拔的族群, 因環境的選擇開始在遺傳結構上彼此分化, 另外, 花期的分化更造成二者在生殖季節上之隔離, 加速了種化的速率。

五、參考文獻

- 呂勝由, 1996. 台灣稀有及瀕危植物之分段, 彩色圖鑑 (I)。農委會, 台北市。
- Aagaard JE, Krutovskii KV, Strauss (1998) APD markers of mitochondrial origin exhibit lower population diversity and higher differentiation than RAPDs of nuclear origin in Douglad fir. *Molecular Ecology*, **7**, 801-812.
- Abbott RJ, Chapman HM, Crawford RMM, Forbes DG (1995) Molecular diversity and derivations of populations of *Silene acaulis* and *Saxifraga oppositifolia* from the high Arctic and more southerly latitudes. *Molecular Ecology*, **4**, 199-207.
- Arnold ML (1997) Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York.
- Bennett KD (1990) Milankovitch cycles and their effects on species in ecological and evolutionary time. *Paleobiology*, **16**, 11-21.
- Bossart JL, Prowell DP (1998) Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *Trends in Evolution and Ecology*, **13**, 202-206.
- Brochmann C, Gabrielsen (1998) Sex after all: high levels of diversity detected in the arctic clonal plant *Saxifraga cernua* using RAPD markers. *Molecular Ecology*, **7**, 1701-1708.
- Buso GSC, Rangel PH, Ferreira ME (1998) Analysis of genetic variability of South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. *Molecular Ecology*, **7**, 107-118.
- Caetano-Anoles G, Gresshoff PM (1994) DNA amplification fingerprinting: a general tool with applications in breeding, identification and phylogenetic analysis of plants. In: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications* (eds. Schierwater B, Streit B, Wagner GP, DeSalle R), pp. 17-31. Birkhauser Verlag Basel, Switzerland.
- Chiang TY (1994) Phylogenetics and evolution of the Hylocomiaceae (Mosses, Order Hypnales). Ph.D. Dissertation, Department of Biology, Washington University, St. Louis.
- Chiang TY, Schaal BA, Peng CI (1998) Universal primers for amplification and sequencing a noncoding spacer between *atpB* and *rbcL* genes of chloroplast DNA. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **39**, 245-250.
- Cook LM, Soltis PS, Brunfeldt SJ, Soltis DE (1998) Multiple independent formation of *Tragopogon tetraploids* (Asteraceae): evidence from RAPD markers. *Molecular Ecology*, **7**, 1293-1302.
- Dong J, Wagner DB (1994) Paternally inherited chloroplast polymorphism in *Pinus*: estimation of diversity and population subdivision, and tests of disequilibrium with a maternally inherited mitochondrial polymorphism. *Genetics*, **136**, 1187-1194.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Dumolin-Lapegue S, Demesure B, Fineschi S, Le Corre V, Petit RJ (1997) Phylogeographic

- structure of the white oaks throughout the European continent. *Genetics*, **146**, 1475-1487.
- Echt CS, de Verno LL, Anzidei M, Vendramin GG (1998) Chloroplast microsatellites reveal population genetic diversity in red pine, *Pinus resinosa* Ait. *Molecular Ecology*, **7**, 307-316.
- Excoffier L (1993) *Analysis of Molecular Variance*. Version 1.55. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**, 783-791.
- Ferris C, Oliver RP, Davy AJ, Hewitt GM (1995) Using chloroplast DNA to trace postglacial migration routes of oaks into Britain. *Molecular Ecology*, **4**, 731-738.
- Forcioli D, Saumitou-Laprade P, Valero M, Vernet P, Cuguen J (1998) Distribution of chloroplast DNA diversity within and among populations in gynodioecious *Beta vulgaris* ssp. *maritima* (Chenopodiaceae). *Molecular Ecology*, **7**, 1183-1204.
- Gabrielsen TM, Bachmann K, Jakobsen KS, Brochmann C (1997) Glacial survival does not matter: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga oppositifolia*. *Molecular Ecology*, **6**, 831-842.
- Hawkins JA, Harris SA (1998) RAPD characterization of two neotropical hybrid legumes. *Plant Systematics and Evolution*, **213**, 43-55.
- Hettterscheid WLA, Peng CI (1995) Notes on the genus *Amorphophallus* (Araceae) IV. Revision of the species in Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **36**, 101-112.
- Higgins DG, Bleasby AJ, Fuchs R (1992) CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *CABIOS*, **8**, 189-191.
- Hillis DM, Bull JJ (1993) An empirical test of bootstrapping as a method assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, **41**, 182-192.
- Hoelzer GA, Wallman J, Melnick DJ (1998) The effects of social structure, geographical structure, and population size on the evolution of mitochondrial DNA: II. Molecular clocks and the lineage sorting period. *Journal of Molecular Evolution*, **47**, 21-31.
- Hong YP, Hipkins VD, Strauss SH (1993) Chloroplast DNA diversity among trees, populations and species in the California closed-cone pines (*Pinus radiata*, *Pinus muricata*, and *Pinus attenuata*). *Genetics*, **135**, 1187-1196.
- Hsiao HC (1998) Vegetation ecology of Mt. Wei-liao. Bachelor Thesis, National Pingtung Technology College.
- King RA, Ferris C (1998) Chloroplast DNA phylogeography of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Molecular Ecology*, **7**, 1151-1161.
- Knox EB, Palmer JD (1995) Chloroplast DNA variation and the recent radiation of the giant senecios (Asteraceae) on the tall mountains of eastern Africa. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, **92**, 10349-10353.
- Kudo Y (1931) Materials for a flora of Forsomsa. VI. *Journal of Society of Tropical*

Agriculture, **2**, 386-391.

Kumar A, Rogstad (1998) A hierarchical analysis of minisatellite DNA diversity in Kumar PS, Tamura K, Nei M (1993) *MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis*, version 1.01. The Pennsylvania State University, PA.

Gambel oak (*Quercus gambelii* Nutt; Fagaceae). *Molecular Ecology*, **7**, 859-870.

Le Corre V, Dumolin-Lapegue S, Kremer A (1997) Genetic variation at allozyme and RAPD loci in sessile oak *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: the role of history and geography. *Molecular Ecology*, **6**, 519-529.

Liao LC, Hsiao JY (1998) Relationship between population genetic structure and riparian habitats as revealed by RAPD analysis of the rheophyte *Acorus gramineus* Soland (Araceae) in Taiwan. *Molecular Ecology*, **7**, 1275-1282.

Liao JC (1996) Fagaceae. Pp. 51-123. In: Editorial Committee of the Flora of Taiwan (ed.) *Flora of Taiwan*. 2nd Edn. Taipei.

Li HL (1953) Taxonomic notes on the Fagaceae of Formosa. *Bulletin of Torrey Club*, **80**, 317-324.

McCauley DE (1994) Constrasting the distribution of chloroplast DNA and allozyme polymorphisms among local populations of *Silene alba*: implications for studies of gene flow in plants. *Proceedings of National Academia of Sciences, USA*, **91**, 8127-8131.

McCauley D, Raveill J, Antonovics J (1995) Local founding events as determinants of genetic structure in a plant metapopulation. *Heredity*, **75**, 630-636.

Micheli MR & Bova R (eds.) (1997) *Fingerprinting methods based on arbitrarily primed PCR*. Springer, Berlin.

Moritz C, Bermingham P (1997) Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology*, **7**, 367-370.

Petit RJ, Kremer A, Wagner DB (1993) Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theoretical and Applied Genetics*, **87**, 122-128.

Petit RJ, Pineau E, Demesure B, Bacilieri R, Ducouso A, Kremer A (1997) Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proceedings of National Academia of Sciences, USA*, **94**, 9996-10001.

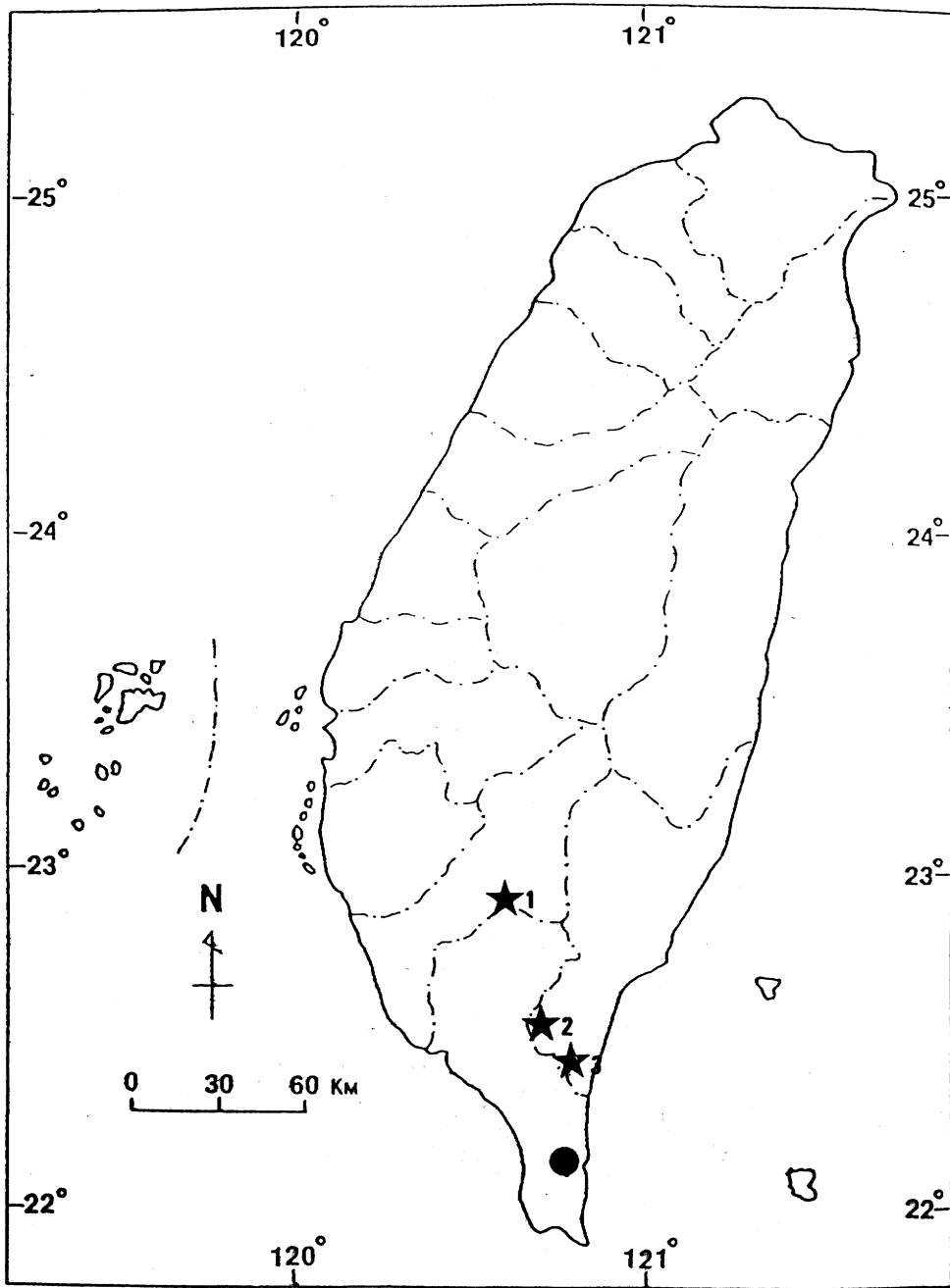
Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998) Phylogeographical studies in plants: problems and prespects. *Molecular Ecology*, **7**, 465-474.

Soltis DE, Gitzendanner MA, Strenge DD, Soltis PS (1997) Chloroplast DNA intraspecific phylogeography of plants from the Pacific Northwest of North America. *Plant Systematics and Evolution*, **206**, 353-373.

Streiff R, Labbe T, Bacilieri R, Steinkellner H, Glossl J, Kremer A (1998) Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular Ecology*, **7**, 317-328.

Su ZH, Tominaga O, Ohama T, Kajiwara E, Ishikawa R, Okada T, Nakamura K, Osawa

- (1996) Parallel evolution in radiation of *Ohomopterus* group beetles inferred from mitochondrial DN5 gene sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **43**, 662-671.
- Swofford DL (1993) PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, Version 3.1.1. Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey. Champaign, IL. Sydes MA, Peakall R (1998) Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Molecular Ecology*, **7**, 87-94.
- Templeton AR (1998) Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**, 381-389.
- Tollefsrud MM, Bachmann K, Jakobsen KS, Brochmann C (1998) Glacial survival does not matter - II: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga cespitosa*. *Molecular Ecology*, **7**, 1217-1232.
- Whittemore AT, Schaal BA (1991) Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, **88**, 2540-2544.
- Wolf PG, Murray RA, Sipes SD (1997) Species-independent, geographical structuring of chloroplast DNA haplotypes in a montane herb *Ipomopsis* (Polemoniaceae). *Molecular Ecology*, **6**, 283-291.
- Young ND (1998) Pacific coast *Iris* species delimitation using three species definitions: biological, phylogenetic and genealogical. *Biological Journal of the Linnean Society*, **63**, 99-120.



台灣柯及柳葉柯族群之分佈

★: 柳葉柯

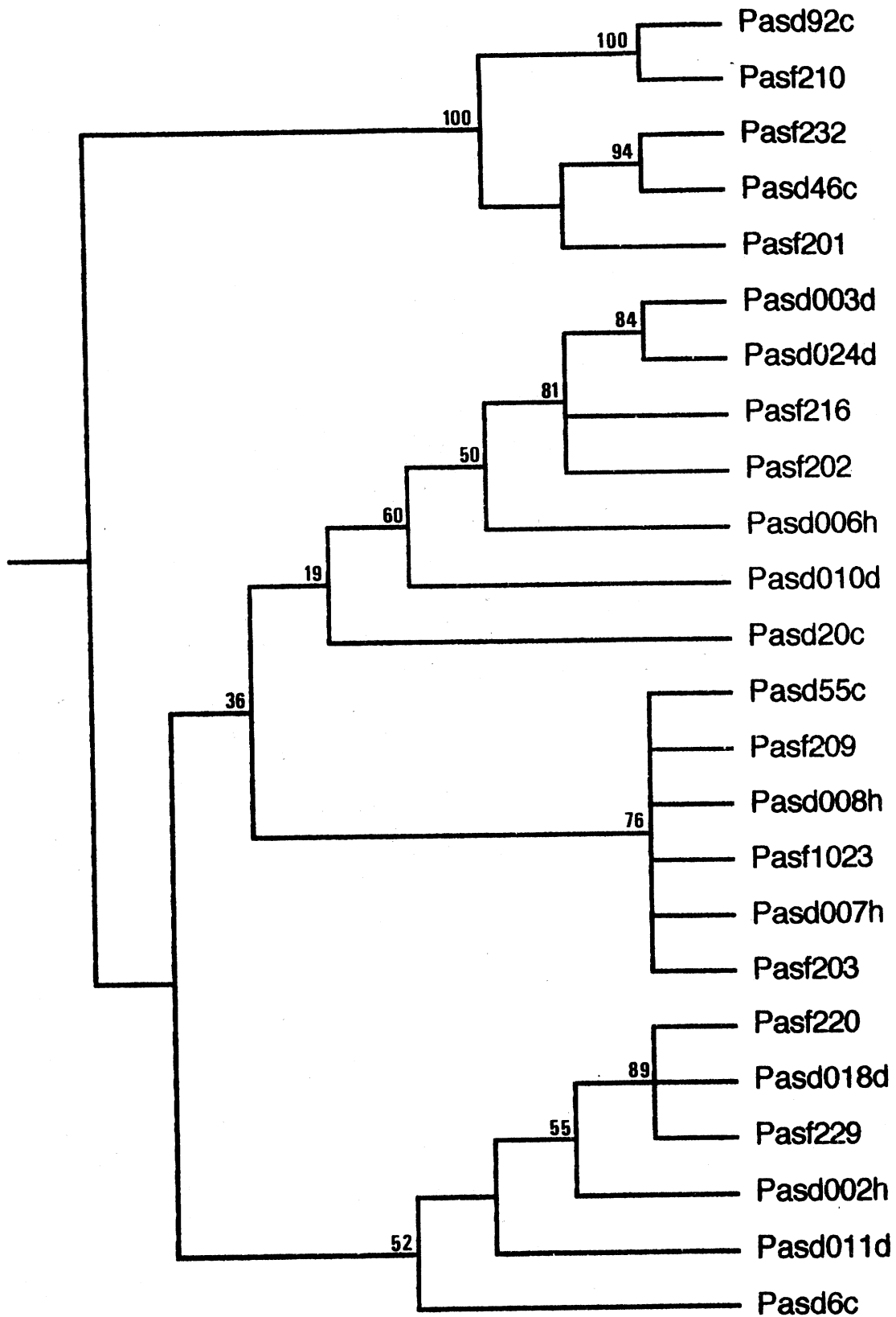
●: 台灣柯

★₁ 尾寮山(1100-1400m) ★₂ 浸水營(800-1600m)

★₃ 達仁(600m)

● 出風谷(300-400m)

圖一、柳葉柯及台灣柯在本島的分布。圓點為台灣柯而星號則為柳葉柯族群。



圖二、根據 maximum parsimony 以 PAUP 重建之 unrooted tree，結上出現之數字為 bootstrap 值。每一個體之符號：Pas 為屬名；f, d, f 為台灣柯而 d 為柳葉柯；阿拉伯數字為採集號，最後之英文代號為柳葉柯之族群：c, 浸水營；d, 尾寮山；h, 達仁。

表一. 取樣及葉綠體 DNA 遺傳歧異度
種/族群 樣本數 遺傳歧異度

台灣柯 (出風谷)	10	0.09292 ± 0.02212
柳葉柯	14	0.06104 ± 0.002131
浸水營	5	0.11449 ± 0.0307
尾寮山	5	0.02687 ± 0.0091
達仁	4	0.01974 ± 0.0031

表二. 柳葉柯族群間遺傳歧異度(nucleotide diversity) 及 F_{ST} , N_m

遺傳歧異度	浸水營	達仁	尾寮山
F_{ST} / N_m			
浸水營		0.08448 ± 0.04794	0.07991 ± 0.04631
達仁	0.019679 / 2.04		0.02360 ± 0.00976
尾寮山	0.014883 / 2.86	0.00973 / 50.91	

表三. 根據 RAPD 指紋資料推估之種間及族群間遺傳分化 (Φ_{ST})

出風谷 (台灣柯)	浸水營 (柳葉柯)	達仁 (柳葉柯)	尾寮山 (柳葉柯)
出風谷			
浸水營	0.9297		
達仁	0.9455	0.5436	
尾寮山	0.8856	0.6090	0.6394