



# 農業部林業及自然保育署主管林業發展計畫 113年度計畫結束報告表

計畫名稱：113年石虎異地野放和保育遺傳計畫 填報單位：農業部生物多樣性研究所

計畫編號：113林發-09.3-保-06

填報人：林育秀

執行機關：農業部生物多樣性研究所

主辦人：林育秀

本年度執行期限：自 113年8月1日 至 113年12月31日

實際執行期限：自 113年8月1日 至 113年12月31日

## 一、計畫目標：

1. 利用圈養繁殖和救傷石虎進行異地野放，並嘗試於石虎的低密度區野放失親或脫序個體，增加個體存活機會並擴大石虎分布範圍和面積；另利用野放後之追蹤，了解個體擴散模式、棲地選擇和存活狀況，以釐清石虎在野外面臨之威脅，並提出相關行動建議。
2. 以全基因體組重測序 (whole genome resequencing) 的方式，獲得更多的SNP (single nucleotide polymorphism) 資訊以解析石虎族群間的結構，未來可以推估更精準的有效族群數量，並且查看歷史族群的消長情形。

## 二、重要設備：

購置設備項目	單位	單價 (元)	數量	總價 (元)	中央補助款 (元)	購置機關	執行情形
石虎標本		140,000	1	140,000	140,000	農業部生物 多樣性研究 所	已購

## 三、執行成果/研究結果：

1. 本計畫共計追蹤5隻個體，4隻死亡，1隻持續追蹤中。死亡案例中，1隻原因為犬攻擊，1隻禽舍衝突中獸斃，2隻不明原因死亡，詳如表一。
2. 生物資訊分析與資料處理：本次定序了 12 隻台灣石虎個體，產生原始讀條數為 12,952,046,214，總長度為1,955,758,978,314 bp，所有個體重定序後的平均覆蓋度為 98.44±1.88%，平均鹼基品質為 38.94±0.09，平均定序深度為 63.40 ± 9.72 倍，平均回貼品質為 59.61±0.02 (表二)。Repeatmasker 註釋的重複序列總長為 1,066,602,070 bp，約佔石虎基因組總長的 44.01%。BCFtools在去除品質與深度不佳的位點後，在體染色體區域總共獲得 11,640,393個 SNPs。在去除高度連鎖不平衡的位點後，總共留下 280,843 個 SNPs 進行親緣關係與遺傳結構分析。
3. 親緣關係與族群結構：使用 280,843 個 SNPs 重建最大依然法親緣關係樹，由於目前的取樣仍欠缺合適的外群，因此目前的譜系結構以無根樹 (unrooted tree) 呈現 (圖一)，親緣關係可大致劃分呈二群，嘉義+彰化+南投與台中+苗栗。主成分分析顯示第一主成分 (PC 1) 與第二主成分 (PC 2) 各佔總體變異量的 14.61% 與 11.50%，整體結構與親緣關係樹相似，但台中+苗栗的個體間遺傳差異較大 (圖二 A)。此外，Procrustes test 之 p值為 0.007，即 PCA所呈現的遺傳結構與地理分布具顯著相關。Admixture結構分析則支持在假定的族群數量為 1 時，cross-validation error 具最低值 (圖二 B)。若假設族群數量為2 時，則整體結果與親緣關係樹及 PCA 相似，但個體



1134179\_C



S8700、S8628、S8894、S8696 與 S8763 為兩祖先族群混合的個體，表示強烈的遺傳交流。

4. 台灣石虎的族群現況：使用所有的 SNPs 進行 SMC++ 分析結果顯示，台灣石虎的有效族大小 ( $N_e$ ) 在過去一千萬年內經歷了非常大規模的下滑，並且至少經歷兩次的瓶頸效應。以 2.5 年為一世代條件下，石虎在近 1000 萬年內族群數量不斷下滑，在 84000 年前小幅成長後又持續下降 (圖三)。SNeP 估算的近代有效族群量亦呈相同趨勢，在近 2000 個世代內台灣石虎的有效族大小仍在不斷下滑，軟體可估算的最近世代為 25，其有效族大小為 87 (圖四)。每個樣本的 ROH 總長度平均約為 1,060,670,000  $\pm$  125,551,336.64 bp， $F_{ROH}$  平均為 0.4623  $\pm$  0.055。

#### 四、檢討與建議：

1. 放追蹤結果顯示石虎整體之死亡率極高，累積近年資料也發現各低密度區之潛在威脅，包括狩獵、犬殺和禽舍衝突等。相較於救傷統計資料，針對追蹤個體的死因分析，應可較真實呈現石虎面臨的威脅影響程度。
2. 除了積極於石虎熱區進行相關保育工作外，未來石虎保育行動重心應同時投注減緩低密度區之威脅，才有機會提升石虎之野外族群數量和分布範圍。
3. 儘管 Admixture 的 CV error 支持的最佳祖先族群數量為 1，但在親緣關係樹、PCA 與 Procrustes test 仍可發現南北分群的遺傳結構，且不同地理區之間仍保有遺傳交流。
4. 計算出來的有效族大小與實際族群數量可能存在差異，但可從整體趨勢判斷族群狀況。台灣石虎過去的族群波動可能與不同亞種間的族群分化有關，但近期的族群數量卻是不斷下滑。目前 SNeP 可估算的最近世代為 25，可能是由於取樣數不足，SNP 密度過低所導致，因此未來應考量加入更多樣本已獲得更精準的分析結果。
5. 台灣石虎的  $F_{ROH}$  跟其他貓科動物相比屬於較高者 (圖五)，未來應注重於評估石虎是否面臨 inbreeding depression 造成的影響。

填報單位：農業部生物多樣性研究所

單位主管：張仕緯

填報人及聯絡電話：林育秀

填表日期：114年1月22日





表 1、追蹤 5 隻個體基本資料

病例編號	暱稱	救傷原因	性別	野放日期	野放點 座標 Y	野放點 座標 X	野放 方式	追蹤 天數	野放 結果	備註
11206063	捲心菜	域外繁殖	公	2024/4/8			硬式	84	死亡	犬攻擊
11204038	阿花	失親幼獸	母	2024/4/8			硬式	>286	追蹤中	持續追蹤中
11204082	黑眉	失親幼獸	公	2024/5/13			軟式	28	死亡	不明
11206064	捲心酥	域外繁殖	母	2024/5/13			軟式	91	死亡	不明，疑曾遭受鈍力撞擊
11206153	阿土	失親幼獸	公	2024/7/17			硬式	34	死亡	中獸銜（危害衝突）

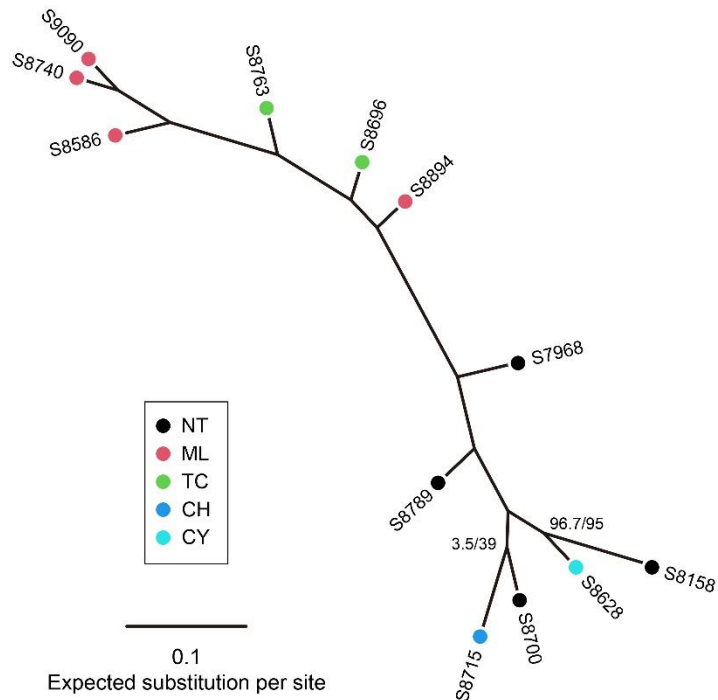




表二、本次研究所使用的石虎樣本與定序品質

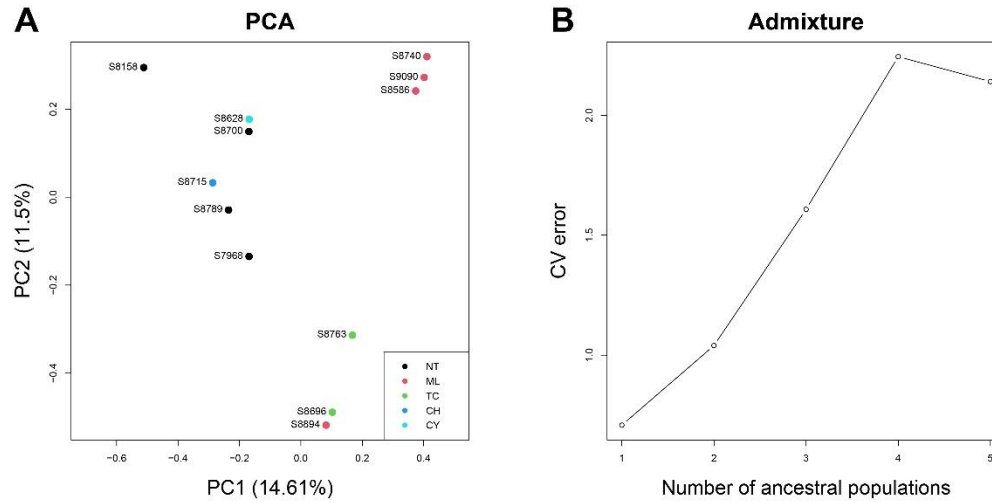
ID	經度	緯度	縣市	鄉鎮	性別	Total rads	Total bp	Coverage (%)	Mean depth (x)	Mean base Phred quality score	Mean mapping Phred quality score
S7968	120.9196	23.87616	南投	魚池鄉	雄	1048096668	158262596868	99.00	63.21	38.82	59.62
S8158	120.8022	23.82092	南投	集集鎮	雄	786238694	118722042794	92.48	46.13	39.00	59.60
S8586	120.7314	24.50352	苗栗	通霄鎮	雌	1161161514	175335388614	98.96	66.61	39.06	59.59
S8628	120.3926	23.49611	嘉義	嘉義市	雄	1467975030	221664229530	99.06	82.83	38.93	59.59
S8696	120.7004	24.35398	台中	外埔區	雌	978557476	147762178876	98.98	57.77	38.88	59.63
S8700	120.6721	23.93899	南投	南投市	雄	1020929260	154160318260	99.00	61.47	38.87	59.59
S8715	120.4186	24.05899	彰化	鹿港鄉	雄	1030301736	155575562136	98.92	61.86	39.00	59.59
S8740	120.7793	24.64982	苗栗	後龍鎮	雄	1117277242	168708863542	99.00	63.21	38.82	59.62
S8763	120.9244	24.30386	台中	和平區	雄	1256943106	189798409006	99.00	76.05	38.99	59.67
S8789	120.7455	23.88594	南投	中寮鄉	雌	1173976502	177270451802	98.97	69.33	38.97	59.61
S8894	120.8081	24.32055	苗栗	卓蘭鎮	雌	904994206	136654125106	98.94	53.42	39.08	59.62
S9090	120.6594	24.44914	苗栗	苑裡鎮	雌	1005594780	151844811780	98.95	58.88	38.83	59.64





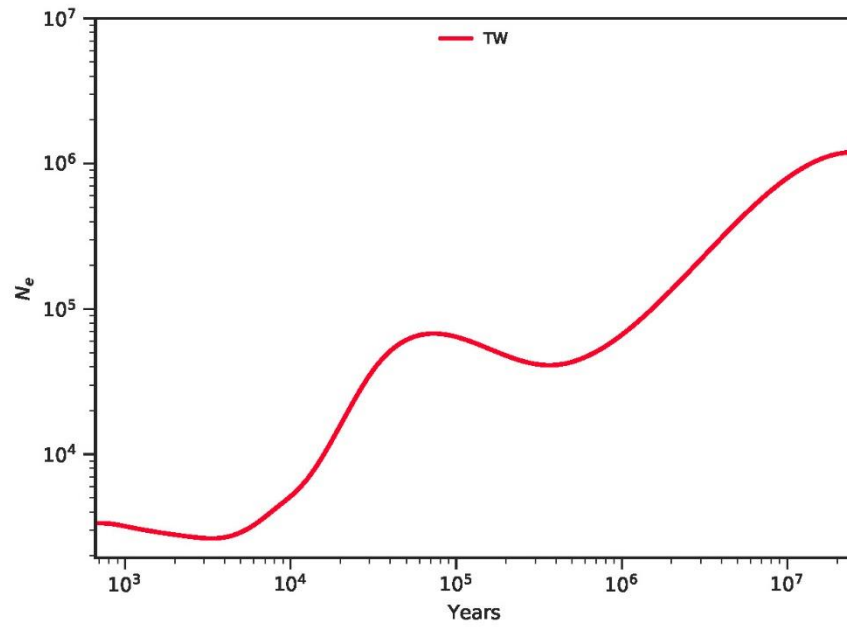
圖一、使用中性位點 ( $r^2 < 0.2$ ) 所重建的台灣石虎親緣關係樹，節點上的數字為支持度 SH-aLRT/bootstrap，未標上支持度者表示值持度為 100/100。位置資訊：NT 南投、ML 苗栗、TC 台中、CH 彰化、CY 嘉義。





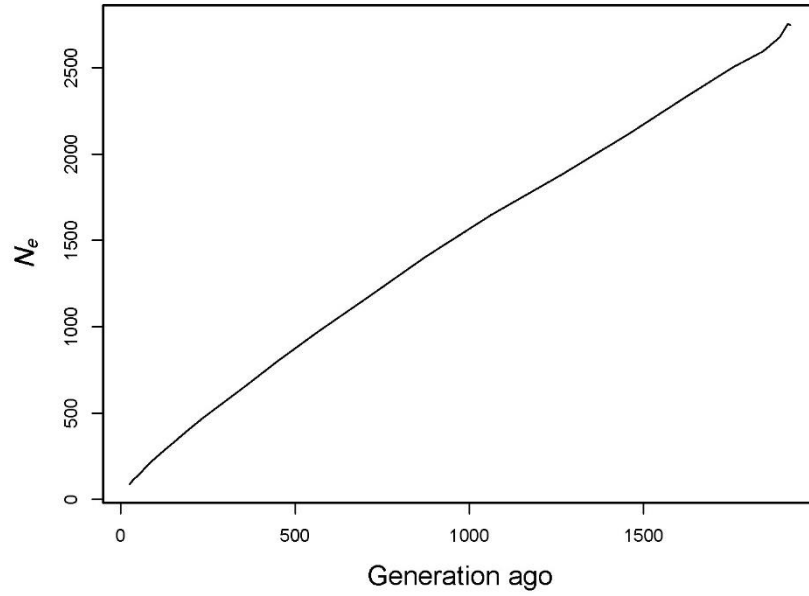
圖二、台灣石虎的遺傳結構，(A) 主成分分析 (PCA)，X 軸與 Y 軸分別代表第一主成分 (PC1) 與第二主成分 (PC2) 與其變異量占比；CH：彰化、CY 嘉義、ML 苗栗、NT 南投、TC 台中。(B) 祖先族群數量及其對應的 cross-validation (CV) error。





圖三、使用 SMC++ 估算的台灣石虎的有效族大小在 1000 萬年內的變化，X 軸為時間（年前），Y 軸為有效族大小  $N_e$ 。

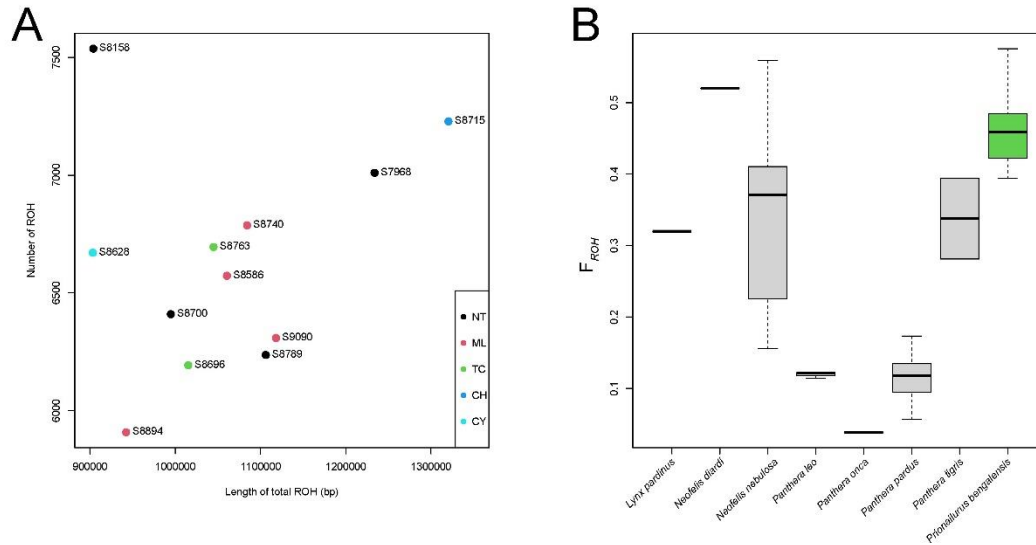




圖四、使用 SNeP 估算的台灣石虎的有效族大小在 1921 個世代內的變化，X 軸為時間（世代前），Y 軸為有效族大小  $N_e$ 。







圖五、台灣石虎的 (A) ROH 趨勢，每個點代表一個樣本，X 軸為 ROH 總長度，Y 軸為 ROH 數量。(B) 各種貓科動物的  $F_{ROH}$  盒狀圖，最右側綠色為石虎，其他參考文獻資料包含伊比利亞猓猓 *Lynx pardinus*、雲豹 *Neofelis diardi* 與 *N. nebulosa*、獅子 *Panthera leo*、美洲豹 *P. onca*、豹 *P. pardus*，與老虎 *P. tigris*。

