

林業叢刊第206號

鄭育斌紀念文集



# 鄭育斌

## 紀念文集



# 台灣植物分類學會系列演講十

主辦單位:台灣植物分類學會 / 台灣師範大學生命科學系  
國立台灣師範大學公館校區 理學院大樓B103室  
洽詢電話 02-29326234#230

2008  
04/25  
PM 7:00

# 台灣的殼斗科植物

鄭育斌



Taiwan Society of Plant Systematics

為推廣植物知識，育斌為台灣植物分類學會做了一場關於殼斗科植物的專題演講。(台灣植物分類學會提供)

# 序

---

2009年2月25日，是林試所全體同仁永遠難以忘懷的一個日子。我們失去了一位在學術界發光發熱的優秀研究人員，也就是我們的同事鄭育斌博士，以及充滿熱忱與活力的優秀志工郭鳳琴老師。這樣的傷痛難以撫平，除了家人與朋友的不捨，更是整個學術界的重大損失。

育斌是個鋒芒內斂、行事低調的年輕科學家。與他共事一年多，最常見到他的時候是在台北植物園。由於輪值管理園區，育斌必須犧牲若干研究時間，執行植物園的行政管理工作，但沒聽他有任何抱怨，反倒是一有突發狀況，第一時間就會看到他在現場處理。這是一位年輕學者不可多得的負責表徵，也讓我印象深刻。

育斌與林試所結緣甚早，早在他大學剛畢業之時即開始參與林試所的研究工作，並在退伍後以公職身分正式成為林試所的一員。這十多年來，育斌對所內貢獻良多，除了許多優異的研究成果以外，對其他任務更是盡心盡責，常常一大早就到辦公室，忙到很晚才回家，甚至連假日也不忘到研究室，或是忙著實驗、或是紀錄植物園與標本館的業務、或是監督自己負責的其他工作。

為了研究，育斌跑遍全台，爬高山、飛離島，並踏遍日本、香港等地，採集研究所需材料。他的研究成果化為文字，發表在多本世界知名期刊，而他的身影，則散落在眾人的回憶與檔案中。為了讓這些珍貴的回憶不致逸散，我們情商育斌的家人與朋友、同學、同事，紀錄下他們與育斌共享的點點滴滴，再加上育斌多年來的研究成果、論文與照片，集結成這本紀念文集。

感謝育斌的朋友同學同事與家人，願意花時間搜尋自己的檔案與相簿，於是我們得以分享育斌幼時、年少、求學與當兵的青澀模樣與往事，還有他工作中、出差時由他人紀錄下來的珍貴畫面，感謝所有提供照片與文章的朋友，讓育斌的音容笑貌能長駐在我們心中。

這本文集中不但有大家費盡心思找出來的育斌身影，其他未特別註明的照片更全是育斌拍攝的，每頁下方的手繪小圖，都是育斌手繪，這是育斌的學弟在為他整理研究資料與照片時意外的小小發現，更讓我們一瞥阿斌鮮少表露的私房才華。



一本小小的文集，或許不足以道盡我們對育斌的思念與不捨，但希望這本文集能讓所有關心育斌的人，得以時時重溫他曾與我們共度的美好時光。

林業試驗所所長

黃裕星 謹識

# 目錄

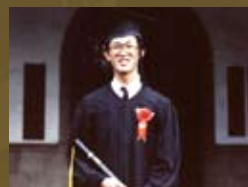
 鄭育斌生年年表.....	4
 相知相守·永矢弗諼.....	7
只想對你說 孫秀華 .....	8
永遠的哥哥 鄭遠珍 .....	12
我所認識的鄭育斌 林讚標 .....	16
育斌 黃士穎 .....	19
近20年的交往：我所認識的鄭育斌 楊宗愈 .....	23
懷念育斌 鄒稚華 .....	28
教我如何不想他！！張正辰 .....	31
追憶同學鄭育斌 胡哲明暨阿斌的大學同學們 .....	34
永遠的兄長——紀念鄭育斌學長 江友中 .....	42
一份來不及送出的新年禮物 王俊能 .....	51
懷念阿斌 謝宗欣 .....	54
1987-1992——回憶與阿斌學長共事的日子 蘇夢淮 .....	55
好友鄭育斌 簡慶德 .....	62
阿斌 呂勝由 .....	66
最後一碗燒冷冰 邱文良 .....	70
For阿斌哥 陳舜英 .....	75
追憶阿斌哥 黃曜謀 .....	80
想起那時 劉世慧 .....	84
追思文 陳玉玲 .....	86
追憶吾師 鄭亨哲 .....	87
我的老闆 黃郁鈞 .....	89
外冷內熱的育斌老師 謝佳霖 .....	91
刻骨銘心 陳俊銘 .....	93
那個出差忘了回家的人 鍾慧元 .....	94
忘不了的笑容 張和明 .....	98
 懷文抱質·論文精選.....	101
西表島的紅樹林 .....	102
同功酶分析顯示台灣固有種台東蘇鐵之低遺傳歧異度 Low Genetic Diversity of <i>Cycas taitungensis</i> (Cycadaceae), an Endemic Species in Taiwan, Revealed by Allozyme Analysis.....	106
紀台灣原生植物之新栽培品種（四） .....	113
關渡自然保留區 1986-1998年植群變遷 .....	117
墾丁喀斯勒森林永久樣區之樹種組成及生育地類型 .....	127
紀台灣原生植物之新栽培品種（十） .....	140
Partial Concordance Between Nuclear and Organelle DNA in Revealing the Genetic	

Divergence Among <i>Quercus Glauca</i> (Fagaceae) Populations in Taiwan .....	144
Uniform Genetic Diversity, Low Differentiation, and Neutral Evolution Characterize	
Contemporary Refuge Populations of Taiwan Fir ( <i>Abies kawakamii</i> , Pinaceae) .....	154
台灣原生植物冰河期避難所 .....	163
Allozyme Variations of a Widespread Tree Fern, <i>Alsophila spinulosa</i> (Hook.) Tryon	
(Cyatheaceae), in Taiwan 台灣廣泛分佈之樹蕨類植物台灣桫欏的同功酶遺傳變異 .....	182
台灣殼斗科植物的多樣性 .....	196
 珠璣字字 · 論文摘要 .....	201
Allozyme Variation in Four Geographic Areas of <i>Cinnamomum kanehirae</i> .....	202
Population Genetics of Geographically Restricted and Widespread Species of <i>Myrica</i>	
(Myricaceae) .....	203
Allozyme Variation of <i>Cyclobalanopsis championii</i> (Fagaceae), a Narrowly Distributed	
Species in Southern Taiwan .....	204
紀台灣原生植物之新栽培品種 (五) .....	205
Chloroplast DNA phylogeography of <i>Cunninghamia konishii</i> (Cupressaceae), an endemic	
conifer of Taiwan .....	206
Genetic variation and population differentiation of <i>Michelia formosana</i> (Magnoliaceae)	
based on cpDNA variation and RAPD fingerprints: relevance to post-Pleistocene	
recolonization .....	207
Phylogeography and Conservation of <i>Archangiopteris Somai</i> Hayata and <i>A. itoi</i> Shieh	
Based on Nucleotide Variation of the <i>atpB-rbcL</i> Intergenic Spacer of Chloroplast DNA ...	208
紀台灣原生植物之新栽培品種 (六) .....	209
紀台灣原生植物之新栽培品種 (七) .....	210
紀台灣原生植物之新栽培品種 (八) .....	211
紀台灣原生植物之新栽培品種 (九) .....	212
Potential refugia in Taiwan revealed by the phylogeographical study of <i>Castanopsis</i>	
<i>carlesii</i> Hayata (Fagaceae) .....	213
Contrasting phylogeographical patterns of two closely related species, <i>Machilus</i>	
<i>thunbergii</i> and <i>Machilus kusanoi</i> (Lauraceae), in Taiwan .....	212
Allozyme Variation of Populations of <i>Castanopsis carlesii</i> (Fagaceae) Revealing the	
Diversity Centres and Areas of the Greatest Divergence in Taiwan .....	216
Phylogeographic study reveals the origin and evolutionary history of a <i>Rhododendron</i>	
species complex in Taiwan .....	217
Divergent Evolution of the Chloroplast Small Heat Shock Protein Gene in the Genera	
<i>Rhododendron</i> (Ericaceae) and <i>Machilus</i> (Lauraceae) .....	218
 言隨意遣 · 著作目錄 .....	221
A. 期刊論文 .....	222
B. 研討會論文集 .....	224
C. 專書及專書論文 .....	224
D. 其他 .....	225

# 鄭育斌 生平年表

55年2月 出生於屏東縣東港鎮。

67年6月 畢業於屏東縣東隆國小。



70年6月 畢業於屏東縣東港國中。

73年6月 畢業於高雄市立高雄高級中學。

79年6月 畢業於國立台灣大學理學院植物學系。

81年6月 畢業於國立台灣大學植物學研究所，研究所期間致力於南仁山區亞熱雨林地被層植物之研究、生態資源調查及植群分析等。

83年5月 陸軍裝甲預備軍官少尉退役。

83年10月 擔任台灣省林業試驗所約僱助理，協助林木種原庫建立，並從事牛樟族群遺傳變異研究。



- 83年11月 錄取83年公務人員高等考試自然保育植物組。
- 84年5月 高考分發台中縣大甲鎮公所農業課課員，負責辦理一般農業推廣業務。
- 85年4月 調派林業試驗所恒春分所，擔任助理工作，並鑽研嶺南青剛櫟遺傳變異之研究。
- 86年5月 與孫秀華小姐於屏東縣東港鎮結婚。
- 87年1月 調派林業試驗所生物組，負責植物標本館經營管理工作。



- 91年12月 雙胞胎子女鈞樸及莞薰出生。
- 95年6月 畢業於國立台灣大學植物學研究所博士班，於博士班期間致力於長尾栲的親緣地理學研究。
- 96年7月 調升林業試驗所生物組副研究員。
- 98年2月 前往屏東縣瑪家鄉採集櫟樹研究材料，因搭乘之座車意外翻落山坡，不幸逝世於屏東縣龍泉榮民醫院，得年43歲。







# 相知相守

永矢弗諼

## 只想對你說

2009年2月25日，你才43歲，正值人生黃金期，你的生命卻戛然而止，走得如此突然，未留下任何遺言，縱然我痛苦難當，也無法改變殘酷的事實。在你走後的幾個月內，夜裡我常常無法入眠，生活的點點滴滴不斷湧入眼前，淚水無法抑制地往下流，知道應該要學習放下，應該要學習堅強，但真的很難，13年的感情，走過的風風雨雨，怎能說放就放呢？為避免親友們的擔憂，為了年幼的小孩，在人前總要強打起精神來，只有在夜深人靜時，壓力才能得到宣洩，並且盼望你能回夢裡來告訴我，該如何重建對未來生活的信心。我不知道



博士班畢業時攝於台大。

老天交付給我的課題，是不是我能力所及，只能在不斷的學習與挫折中，去了解祂如此安排背後的真意，我期待在這樣的操練下，能更有智慧地帶領孩子往前走。

回憶起與你結婚這13年來，你眉宇間總流露出些許憂鬱，這或許與你從小的成長背景與肩負的責任有關，你曾告訴我童年時因為家境並不富裕，爸爸是漁夫，媽媽身體狀況也不好，常常在天氣不佳時，獨自跑到海邊等漁船進港，時時擔心父親是否能平安到家。你告訴自己，將來有能力時一定要讓父母安享天年，看著你不斷努力地力爭上游，希望能為父母爭一口氣，且讓父母以你為榮的心意，我相信他們都感受到了，因為在那樣一個不富裕的家庭裡，要栽培一個念博士的小孩是多麼的不容易啊！我曾心疼你心中所承受的壓力與負擔，無法卸除，導致你過的並不快樂，但在鈞樸與莞薰出生的那一刻，我在你臉上看見了燦爛的笑容，一個我一輩子無法遺忘的笑容。看著你買了辭





和孩子在育斌成長的東港海邊。

海，如同作研究般的為他倆取名字，並不斷地前往台大嬰兒房探望，細心詢問照顧早產兒的相關資訊，那種欣喜若狂的樣子，我知道你將會無微不至地呵護、眷顧著他們。

這麼多年來，不管多忙，你每天回家一定先陪小孩做完功課，並導讀一篇童話書，然後再投入自己工作，每逢假日你總要開著車子帶著我們往山裡跑，耐心為我們講解植物的種種，也期望我們如同你一般，愛著大自然。聽友中談起與你出國時，常到處幫兒子尋找他最鍾愛的湯瑪士小火車及火車書本，幫女兒買Hello Kitty貓，我笑著說你寵愛孩子更勝於我，並希望能彌補自己童年的缺憾。記得你說過，陪伴孩子成長的路上，你才開始懂得探索自己，懂得自我檢討，你感恩孩子陪著我們一起渡過許多美妙時光，而你也確信孩子們會因為我們的努力而得到另一片更開闊的天空。



耐心解說植物的趣味之處，聽得兩個孩子眉開眼笑。



你是一個熱愛研究的人，觀察細微，做事嚴謹，為了實驗工作，常鏗而不捨的守在研究室裡，每次得到一個滿意的實驗結果，總是對我們細說從頭，雖然我們並不了解什麼叫殼斗科植物，但也能感染你那份愉悅，因為我知道它是最愛，你常為了它不眠不休，記得有次你與兒女們一同觀看「冰原歷險記」及「龍貓」卡通時，兒子不斷詢問劇中有關橡果子的由來，你很認真地細說它是由殼斗科橡樹所產生的堅果，它的構造及成熟季節等等，孩子們聽了一頭霧水，於是你突發奇想認為應該把它寫成一篇容易了解的文章，經過幾個月後你果然發表了一篇「橡實世界」，並且帶回相關的果實，不厭其煩地又對我們解說了一遍，你期望我們能認同及了解為何你如此喜愛殼斗科植物，最近整理你的研究報告後才知道，原來你是這麼的拚命，發表的論文如此之多，相信日後你的孩子會以你為榮，並以你為學習的榜樣。



和鈞樸一起拍攝的親子海報刊登在台北街頭。



你已圓滿了自己的一生，並為生命劃下了句點，只是太殘忍，讓如此愛小孩及孝順的你，無法陪伴稚子成長及照顧老父走完人生，我從不覺得自己堅強，因為我對你是如此的依賴，但我願為你而勇敢，勇敢面對未來人生可能發生的挫折及你未盡之責任，雖然捨不得；但也希望你從此能擺脫一切俗務，做個無憂無慮的快樂神仙，因為你是那麼的善良。

秀華 2009/7/20



育斌最喜歡的一張結婚照。



大手牽小手，最美的身影。



## 永遠的哥哥

2009年2月25日下午約4點半左右，當時我正與公司同事與廠商於電話中討論計畫，來自大姐的電話突然響起，電話中的她的語音顫抖並哭著「妹，聽說鄭育斌回屏東出差，出差路上出車禍了，目前昏迷了。」我反覆問了大姐好幾次，「你到底在說什麼？」因為電話的那一頭大姐真的慌了，泣訴而不清楚，另一方面我也根本無法相信哥會出事。在一旁的同事看到我的表情與聲音，大概知道出了什麼事，快速印給我一張「屏東龍泉醫院」的地圖。



育斌七歲，農曆過年期間全家與大姨丈一家在東港王爺廟附近尼姑庵前合照。

匆促結束會議後直接衝上高速公路，往屏東龍泉醫院飛奔。一路上我其實是不悲觀的，因為我知道哥哥你對你自己的責任重大，平常都很小心翼翼重視安全問題，家中除了有兩個幼子還有老父，你一定會撐過來……秉持這個想法安定了我的心思，開往屏東。傍晚6點左右抵達屏東龍泉醫院後，一到急診加護病房看到大姐速真、二姐速紅、三姐速媽幾乎都是哭倒在地上，另有你的學弟江友中早已自屏科大趕來協助，此時嫂和兩個幼子也正自台北趕路下來。在等待醫生對你急救的過程，我仍是對你充滿期待，直到醫生讓我們進去看你。雖然你看起來像睡著了、沒有明顯外





2005年，全家同遊日本。

傷，但摸到了你冰冷的雙腳，我感覺極度不安和不捨。因為我們的自私一直想要留住你，不斷要求醫生對你急救……想到此時家中的爸爸仍在等你電話、要等你回去一起吃晚飯，就如同前一晚一樣，等你出差到家後去車站載你一起吃晚餐，真的不知道如何對老爸啟齒，只能含淚期待奇蹟的出現，並一直拜託醫生盡力救治。

在等待奇蹟發生的過程中，先安排你學弟江友中打電話給老爸，佯裝他與你一起上山，說因為你有臨時任務要到深山，今日趕不回來，深山上無法通訊，故請學弟先下山打電話，因此瞞過老爸。接著醫生再度出來說明狀況愈來愈不好，要家人趕快趕來，對我們這真是一個痛苦的抉擇，不想放棄你、但又擔心無法讓你撐回家裡。為了讓爸爸見你最後一面，最後還是找了速媽回東港接老爸上來屏東龍泉醫院。敏感的老爸看到速媽腫著雙眼告訴他你出車禍，他心裡就有不祥的預感，一路哭著抵達醫院時他老人家幾乎無法站立、雙腳癱



軟，甚至需要醫院提供輪椅才能見你最後一面……此時間全家人都心碎了，無法相信老天爺為何這樣安排……

哥，回家了……我們送你回家了……

這段時間以來，沒有你的日子真的很不習慣。習慣平常一通電話打給你聊一聊近況、聊一聊小孩和家庭，雖然你平常比較內斂，不會和我們這幾個姐妹亂哈哈，對我們有時很嚴肅，但你會把對我們的愛和關懷表達在我們姐妹的小孩上。你是性情中人，我知道的！平常看著父母親的身教言教，不知不覺地我們五個兄弟姐妹對家庭都非常地有向心力，彼此之間不會有任何的計較、互相支撐，因為我們是很辛苦地成長過來，好不容易在我們都完成學業之後，一切逐步改善，所以我們彼此更珍惜這個家的感情。最近看著你的照片，有一種很奇怪的感覺告訴我，你並非離開我們，而像是出國讀書了，你的聲音與樣子似乎仍歷歷在耳邊、在眼前！我無法形容此種感覺！

從小時候有印象開始，我就常被你扛在肩膀上玩耍，跟著你一起去掏鳥蛋、一起到屋頂上放風箏。我把你當作是我的學習對象，因為你的功課和成績總不會讓家人擔心。印象中我的另一個名字就是「芋冰的妹妹」，鄰居、還有你的同學就是這樣稱呼我的。

小時候就聽家人描述你的名字「育斌」，就是要教育成文武雙全，你果然不負眾望地自東港的東隆國小、東港國中、高雄中學、台大植物系一路往台大植物所博士班邁進。家中習慣以你為中心，因為你是家中的獨子，每次只要聽說你要回家，全家姐妹都會自動排除萬難回家一趟，因為我們全家都很珍惜這種相聚時光。這種感覺應該是來自小時候的刻苦環境，讓我們養成了如此的向心力。雖然小時候家中經濟狀況並不優渥，甚至歷經房子被超極強烈颱風「賽洛瑪」吹垮而得寄住漁塢工寮的日子，但這些過程並沒有擊倒我們。甚至在某次的困境中，你曾向我說：「最艱難的日子早已過去，其實沒有什麼會比以前更艱困、更難解決的。」



確實，我在你的眼中看到你的「韌性」，也看到你的「執著」。憑著這個「韌性」與「執著」，我相信其實你確實經歷了許多不曾向我們訴說的困難，但我們也從不曾聽你埋怨什麼。其實我們都這樣認為，認為這是老天給我們的寶貴人生經歷，是花錢也買不到的經歷！

為了多瞭解你為何因追逐你醉心的「殼斗科」而執著此行，這段時間以來我們不斷翻閱你遺留的資料，看到你所有的隨身筆記都是記錄與植物相關的事物，隨筆一畫也是不同植物的樹

型、葉形；甚至於早期的南仁湖植物研究工作先期參予，你在大學時期也未曾缺席。你對植物的研究與熱忱，也反映在兩個小孩的命名上：「鈞樸」（據說「樸」為殼斗科古名）與「莞薰」（小草名稱）都是植物相關名稱。對於你的離開，我們非常地不捨，但至少值得欣慰的，是「你的工作就是你的興趣，你是為了你的工作而執著」，為台灣的森林生態當永遠的守護者。感謝林試所的安排，在台北植物園種下一棵你所追逐的殼斗科樹種紀念你，你並沒有消失，我們依然可以在台北植物園中看到你……永懷你……

哥，你放心去當個森林守護小天使吧。為了照顧老爸、大嫂和兩個幼子，我們會堅強的走下去！！

小妹 速珍 2009/8/6



種下一棵浸水營石櫟，以思念灌溉。（呂勝由提供）



## 我所認識的鄭育斌

1994年夏天，我的研究室持續對林木族群的遺傳變異研究深感興趣，在完成林試所所保存的種源試驗林或營養系園內重要針葉樹的研究之後，我希望能探討當時如日中天的牛樟樹種的遺傳變異。於是我請謝長富老師幫忙介紹有意來工作的畢業生。不久之後（9月）果然來了一位年輕人，表示願意加入我的研究室擔任國科會計劃內的約僱人員。鄭育斌就是這樣決定了他這一生的道路。

在1994年10月到1995年2月之間，育斌去了六龜分所很多次，當時林試所耆老黃松根先生辛苦蒐集的牛樟插穗均建立於此。這段期間育斌精練同功酶的分析技術，很有效率地完成所有族群的分析。接著我們分頭撰寫文章，這一篇有關牛樟族群遺傳變異的文章終於在1996年9月被接受、並於1997年9月刊登於美國遺傳學雜誌。這是他在國際期刊上的第一個作品，給了他很深刻的鼓舞。1994年秋他考上高考，這是一件不容易的事情。1995年的春天他就任新職而去。

一年之後，1996年的4月育斌請調回林試所。照慣例他必需到分所去服務一段時間。他選擇了恆春分所，因為簡慶德博士為當時的分所長，也是我們種子研究室的成員。簡博士愛才有加，知道育斌喜歡研究、又有精湛的同功酶分析技術，便在恆春分所大力投資設置了相關的實驗室。育斌就在那裏辛勤工作，先後完成了恆春楊梅與楊梅，嶺南青剛櫟的遺傳變異分析，我們很成功的讓研究成果分別刊載於2000年與2001年的Journal of Heredity。

就在2000年夏天，我個人因故必須離開林試所到台大植物系擔任教職，育斌表示了繼續深造的意願。過去幾年來，我在林試所的研究陸續對台灣杉、紅檜、扁柏、香杉、穗花杉、牛樟等溫帶樹種的族群遺傳結構方面獲致了相當程度的了解。族群遺傳提供了一些有用的遺傳歧異參數，如異質結合期望值





與育斌共同研究過的牛樟（左）、昆欄樹（右）。

（expected heterozygosity）。藉由族群內單株之同功酶調查，可以獲得不同基因座、不同等位基因之出現頻率，而這些等位基因的頻率，即是研究遺傳歧異之基礎。當這些結果重新被檢視時，透露出一個重要訊息，指出南投山區竟然是擁有所有物種之異質結合期望值最高的地區。此一事實指出，南投縣應是台灣長期以來大部分植物之共同變異中心。

育斌來到植物系研究所後，決定利用當時開始流行的分子工具重新探討檢驗同功酶的分析結果。育斌對殼斗科植物有相當的偏好，他選擇了廣泛分佈的長尾栲做為材料。親緣地理研究之要件即是族群數目要多、採樣也必須遍佈其分佈區域。他竟然採了超過30個族群的樣本。他是超級謹慎的人，2004年起我頻頻催他完成稿件。那一陣子我們運氣不錯，青剛櫟的親緣地理研究與育斌的長尾栲研究分別獲得Molecular Ecology的接受，這可是莫大的榮譽，肯定了育斌的學術研究天份與成果。

當時我們根據青剛櫟的研究，推論台灣的東南方可能是青剛櫟潛在的避難所。這個推論顯示，冰河期的避難所與現時植物的變異中心是二個不同的觀念。而育斌對長尾栲的深入研究除重新確定東南方的遺傳歧異中心之外，同時也確認在雪山山脈亦存在另一個遺傳歧異中心。後續的研究在利用了更多的物種之後，發現在雪山山脈的上半部是*Trochodendron aralioides*、*Cunninghamia konishii*、*Castanopsis carlesii* 和*Machilus thunbergii* 最有可能的避難所，而南部、特別是東南部，則是*Quercus glauca*、*Castanopsis carlesii* 和*Machilus kusanoi*





與育斌伉儷合影於研究室。

最有可能的避難所，因為這兩個地方都具有最高的平均遺傳分化( $F$ )值，利用平均 $F$ 值作為預測可能的避難所族群的位置，在近幾年似乎已經成為一個重要的指標。於是在台灣有二個區域，一個在東南方、一個在雪山山脈，似乎是上次冰河期時台灣物種潛在的避難所。至此我們對台灣植物的歧異度中心與過去冰河時期的歧異度中心（避難所）的研究畫下一個完美的句點。育斌的長尾栲研究對於形成上述觀點有重大的貢獻，毫無疑義。

鄭育斌博士在2006年春天取得學位之前，即已規劃了龐大的殼斗科研究計劃，這應該會是林試所對台灣林木與植被的重大貢獻。在育斌畢業前，林試所金恆鏞所長已鼓勵他繼續到美國進行博士後研究，但他卻加以婉拒。畢業後，有二所大學的森林系看中他的才華，欲網羅他前往擔任教職，他卻不動如山。這都要怪林試所給了他致命的吸引力。如果時間可以再來一次，我絕對不會引介育斌到林試所來，他會有一個不一樣的人生道路。

林讚標 2009/7/8

國立台灣大學 生命科學系 教授



## 育斌

我和育斌認識，是他在唸博士學位的時候。在此之前，林讚標老師根據多年對臺灣本土木本植物同功異構酶的研究資料，提出了南投地區為這些植物在上次冰河期的避難所的假說，而想進一步利用當時正興起的葉綠體DNA序列變異為基礎，來探討植物的親緣地理，也因此我和育斌開始有了接觸。在同功異構酶的研究方面，育斌在擔任林老師研究助理、及其後在恆春分所工作時也有一些貢獻。以葉綠體DNA的變異，來探討臺灣本土木本植物親緣地理與冰河期避難所的研究，最早出現在林老師的碩士班研究生黃淑芬的論文中，後來也於2002年在Molecular Ecology發表了有關青剛櫟的親緣地理研究（Huang *et al.* 2002）。其後我的研究室也主導了2003年發表於Molecular Ecology上、關於香杉及福州杉親緣地理的研究（Hwang *et al.* 2003）。到目前為止，林讚標老師的研究室和我的研究室，累計共有12篇發表於國際期刊、關於台灣本土植物冰河期避難所的相關研究。其中，育斌的博士論文是長尾栲的親緣地理研究，誠可謂經典之作，這篇論文發表於2005年的Molecular Ecology（Cheng *et al.* 2005）與2006年的Annals of Botany（Cheng *et al.* 2006）。他的研究為我們一系列研究中最為重要的一章，確立了冰河期時臺灣島兩個重要的植物遺傳變異中心。其後育斌繼續進行子彈石櫟及菱果石櫟的親緣地理研究，也幾近完成。子彈石櫟及菱果石櫟的部份資料已經列入了我們最近發表於Conservation Genetics的引用資料之中（Kuo *et al.* 2009）。

在認識育斌的時間裡，我們相處最多的時候就是每星期六晚上聚在林老師家讀書的時間。早期我們針對親緣地理及天擇演化的文獻，還有一些專書章節的研讀方式，是逐字、逐句的讀，討論研讀的心得、該如何應用於我們對臺灣本土植物研究的方法與方向，並針對我們要投稿的文章交換意見。在這個過程





攝於江友中婚宴，左起林讚標老師、黃士穎老師、江友中伉儷、育斌。（江友中提供）

中，我們讀了包括Avisé, Taberlet, Petit, Gaut, Dobeley, Michelmore, Mitchell-Olds等人的經典著作，我們也讀了李文雄教授、Nei及Holms的教科書。這些研讀都給了我們許多啟發，可以應用在我們的研究上。

2月25日不幸事件發生前的星期六晚上，我們還討論著下一階段的研究方向及物種，之後我們在林老師家的巷口道別，沒想到那竟是永別。記得那個晚上我們談論的主題是台灣本土物種的適應性演化的研究，我談到如何利用不同的研究工具及儀器（譬如他新買的Lycor sequencer）以及該利用哪些分析方法、以進行genomic scan, 以發掘適應性演化基因的研究。我們也討論到可以研究哪一些物種，計畫著春天來臨、開花季節時的採樣。但這一切都隨著他的辭世嘎然而止。我和林老師的聚會仍繼續著，但每一次都覺得心有所悵然。以下列出與育斌合作發表的文章及出處。

Kuo DC, Lin CC, Ho KC, Cheng YP, Hwang SY\*, and Lin TP\* (2010) Two genetic divergence centers revealed by chloroplastic DNA variation in populations of *Cinnamomum kanehirae* Hay. Conservation Genetics DOI: 10.1007/s10592-009-





育斌關於青剛櫟的親緣地理研究，曾發表在Molecular Ecology上。

9901-5

Shih FL, Hwang SY, Cheng YP, Lee PF, and Lin TP\* (2007) Uniform genetic diversity, low differentiation, and neutral evolution characterize contemporary refuge populations of Taiwan fir. *American Journal of Botany* 94: 194-202.

Chung JD, Lin TP, Chen YL, Cheng YP, and Hwang SY\* (2007) Phylogeographic study reveals the origin and evolutionary history of a *Rhododendron* species complex in Taiwan. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 14-24.

Shih FL, Cheng YP, Hwang SY, and Lin TP\* (2006) Partial concordance between nuclear and organelle DNA in revealing the divergence of *Quercus glauca* (Fagaceae) populations in Taiwan. *International Journal of Plant Sciences* 167: 863-872.



Cheng YP, Hwang SY, Chiou WL, and Lin TP\* (2006) Allozyme variation of populations of *Castanopsis carlesii* (Fagaceae) corroborating diversity centers and potential divergence areas in Taiwan. *Annals of Botany* 98: 601–608.

Wu SH, Hwang CY, Lin TP, Chung JD, Cheng YP, and Hwang SY\* (2006) Contrasting phylogeographic patterns of two closely related species *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi* (Lauraceae), in Taiwan. *Journal of Biogeography* 33: 936–947

Cheng YP, Hwang SY, and Lin TP\* (2005) Two Potential Refugia in Taiwan Revealed by the Phylogeographical Study of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae). *Molecular Ecology* 14:2075-2085.

黃士穎

國立台灣師範大學 生命科學系 教授



長尾栲的親緣地理研究，是育斌的博士論文主題。



## 近20年的交往：我所認識的鄭育斌

與育斌的認識大概是在1990年下半年，我由英國往大陸採集論文所需的植物材料及返回台灣找資料的時段。

相信謝長富老師早期的學生都還記得，他的研究室是許多研究生與大學部學生聚會、討論，甚至一些學生遠道北上過夜的地方（那時謝老師研究室在台灣大學植物標本館二樓），不論煮東西或買進來吃都方便。由於那時王國雄是助理，所以更方便我們幾個由台中東海大學上來的人（例如：宋皇模、葉信明等等）留宿。育斌有宿舍可以不用陪我們過夜，可是他的晚餐、宵夜總是與大家一道。在吃吃喝喝之中，一定會有學術上或專業上的討論，我認為那是吸收課堂知識以外的最佳場所，或許這也是培養大家革命情感的另一個地方，也是我和育斌比較認識的開始。之後我主要在台中或英國，偶爾北上時，也都會一道用餐聊聊；那時謝老師研究室的學生主要課題場所都在南仁山，當然他也不例外，所以餐前飯後的主題也是圍著植群生態或相關話題打轉。

育斌畢業後的一年十個月軍事生涯，有一大段時間是在大肚山上；而我那時在東海大學擔任助理工作，故有時他回營區或出營區時，我會去載他，還記得抵營區前必須經過一大片公墓區，再轉個彎後就是幾乎沒燈光的營區所在，為了避免哨兵緊張，育斌往往要我停車在轉彎處，讓他下車走進去。可能是大腦老化或記憶力急速退化，那時沒有手機、沒有電子郵件，可能連電話呼叫器B.B.Call都還不存在，我們是如何敲定時間？或都是利用辦公室電話？其實到現在也已記憶模糊了。

他退伍後考上高考，首先去台中縣大甲鎮公所工作，期間多少都有聯絡，還記得在1995年下半年我到科學博物館服務，約定前往大雪山林道採集，我們





阿斌當兵時留影。

是二人各騎一輛機車，經過將近半天的車程（我的還是新車，所以時速不能超過60公里）、半天的採集，返回台中時，我們二人的雙腳都已經發軟，而這好像是我二人唯一一次的野外共同採集。之後他轉到林試所工作，當時似乎先到墾丁的恆春分所，而後又再調回台北，這段期間我們並不常聯絡，只是偶爾碰面，或是每年謝老師研究室聚餐時見面聊一聊，也因此知道他要考博士班、考上博士班，以及結婚、婚後生了二個子女等等，時間也就在手指尖過去了。

或許是長久的認識，或許是我長他幾歲，也或許是理念相同，我倆的交情在時間中自然地累積，不論是否是業務上的需要，他採集路經台中時，只要有暇便會到科博館停留一下（事後據秀華說：育斌常常會說到台中科博館找學長；若知道他這麼早離開，我至少會和他拍一張合照）；我北上比對標本時，只要是前往林試所標本館，我們幾乎都是一道午餐，彼此輪流作東，很自然地





阿斌鏡頭下的科博館溫室前的水生植物池，他總不忘紀錄其他植物園的特色。

不會推讓。由於看標本時間比較緊湊，故我們的對話也主要是在餐前飯後，內容也多是專業上的領域，或許是殼斗科為主題，或者是標本館、植物園或是野外採集以及研究計畫內容等等。隨著育斌論文的進行、論文的完成及學位的取得，我們商談的內容也更為實際，例如學生到他那裏作實驗，一道前往蘭嶼、台灣各地蒐集材料，甚至計畫去大陸採集，就像他去年底（2008年）來談今年三月份要我配合他前往福建採集、而八月份他隨我往雲南採集，或是他的裸子植物計畫一道去東部採集等等，也都隨著他的離開而終止！

每個人到這個世界上都負有一些使命或任務，完成後便離開，有的早完成、有的晚點完成，至於每個人使命或任務的完成，在另外的人看來並不一定能被接受，但……這就是「現實」；有朝一日我們也會是這位主角，只是說我們準備好了沒。





即使至國外參訪，也不忘為均樸紀錄下他最感興趣的海椰子。這是英國康瓦耳郡伊甸計畫栽植的海椰子。

育斌的驟逝，除了家人的不捨與難過外，他許多同學、好友、同事也都驚訝與悲傷，表示平時其為人處世自有其優點；其治學的嚴謹與否，可以從其發表的著作看出；工作上的表現，自有其同儕們可確認；為人熱忱與慷慨，由其助理及我學生、助理的臉上，我更是深刻感受。育斌離開的傷痛，「時間」是最好的藥劑，當然其尊翁還得靠其家人及鈞樸、莞薰常去親近老人家來度過；秀華雙肩的壓力，雖然「忙著」照顧二幼子女可能覺得時光飛逝，但也請多與眾多好友聯繫聊聊，我想大家對鈞樸、莞薰成長也都很關心，更會不吝給予秀



華支持，請不用客氣。

走筆至此，才發現與育斌的交集幾乎都是在談笑嬉戲間過去。我們一道出去採集的經驗不多，還在規劃階段的合作研究案才準備開始，一起發表也是在計畫中，雖然工作上的甘苦分享與上述合作事宜，在我們見面時都常掛在嘴上，但好像也只能在嘴上及記憶中了！去年底到今年初，育斌可能因為計畫的執行或採中部野外的材料，常到科博館找我，有時我較忙，就讓助理招呼他或帶他去標本館看標本，所以與助理、學生們也熟，一直奇怪他那時怎麼常有空下台中，或許他並不知道，我們自然也不清楚，但冥冥之中還是有些感應吧。育斌知道鈞樸對自然生物的喜愛且有天份，他到過溫室一次，卻已經記得僅有二片葉子的海椰子！我只能說：請放心，他可以隨時到科博館來，我們會像你帶他來時一樣的熱誠招待，也會盡量充實他自然科學方面的知識！

育斌離開已經快半年，對我而言他仍活在我的腦海中，只是有裸子植物及殼斗科方面的問題時，我無法立刻撥打他的手機詢問；再去林試所看標本時，就當做他出差不在辦公室般。本紀念文集的出版，可讓許多人認識他、想起他，也經由他許多的同學友人描述，我們更深入地可以認識育斌，不僅僅讓秀華知道許多她未認識育斌之前或工作期間的事蹟，更讓鈞樸及莞薰認識他們有著這樣一位的爸爸；同時希望在未來的歲月中，當在翻閱本紀念文集時，能提醒他們記得他們的父親及她的先生，其實還是有許許多多人也是和他們一樣懷念著他——鄭育斌。

楊宗愈 2009/7/15

文稿起始於台灣台中、完稿於倫敦邱園  
國立自然科學博物館植物學組 副研究員



## 懷念育斌

育斌離開我們已經好幾個月了，但仍覺得這是一個很難接受的事實。19年前、1991年初我剛開始在中研院植物所工作，並決定從事茶科的研究，當時實驗室中只有一位剛從高中畢業的女助理，野外採集工作真不知該如何著手。幸好在謝長富老師實驗室中遇到育斌，當時他在屏東南仁山進行碩士論文工作；而在南仁山區一帶，台灣茶科的九個屬中竟有八個屬各有一、二個種有分布，而有二個台灣特有種更僅局限分布在那一帶。那一年育斌陪同並協助我在南仁山區採集了好幾次；我們通常約好在恆春碰面，然後租一輛125cc的摩托車，要騎上一個多小時才能抵達南仁山工作站，而從南仁山工作站再騎到南仁湖還有約40分鐘的路程，當時路況很差，除了爬坡，有些路段上全是大大小小的石



育斌在香港標本館。（鄒稚華老師提供）





2006年至香港採集，左起蘇夢淮、王震哲老師、育斌、鄒稚華老師。（楊嘉政提供）

頭，非常不平整，還要載一個人，騎起來一定很辛苦。

那一、二年他還定期在南仁山區幫忙我們採集茶科各屬種、各發育階段的材料，之後的二年則是由夢淮及國雄持續協助採集。1991年育斌還協助我在坪林一帶找到烏皮茶屬植物，台灣的茶科九個屬得以齊全。那一年進入台東蘇鐵保護區調查、以及赴和社採取台灣杉的材料也都是請育斌協助陪同，工作始得以順利進行。這些早年累積的茶科的大批標本及浸液材料，是我從事茶科胚胎、分類、花部發育等工作最重要的基礎及資產，他們的幫助我由衷感激。

2006年中，很偶然的機緣，我邀約了王震哲、陳晴夫婦、育斌以及夢淮一起去香港採集並訪問香港標本館，那是一趟辛苦卻很開心、且豐收的旅程。這些採集的行程不只是我們工作上重要的一環，也是我們分類從事人員人生中饒富趣味的美好片段。





2006年攝於香港大帽山，左起為王震哲老師師母陳晴、阿斌、蘇夢淮。

認識育斌19年，他從研一學生轉變成為一名優秀的植物分類生態學者，家庭美滿，事業有成。相信看著他踏踏實實一路走來的每一個人人都相信他很快便會成為台灣這個領域的中流砥柱。只可惜他這麼早便離開他所熱愛的工作、他深愛的家庭，還有這麼多的好朋友，真令人不勝唏噓。

鄒稚華

中央研究院 植物暨微生物學研究所 副研究員



## 教我如何不想他！！

雖然閒時愛寫東寫西，但從來沒想過有一天會以寫文章、而且是噙著淚水，邊啜泣邊敲著鍵盤，心中強忍著十二萬分的不捨，用這樣的方式跟我的好友——育斌道別，願你一路好走！！

時間回到1981年的九月，一群青澀少年，從南部的鄉下到高雄中學就讀。因緣巧合的安排，我跟育斌分在同一班。我依稀記得第一次見面，他的話不多，人很好，沒有距離感。最重要的是他有一種讓人屏息的帥氣！還好我長得很有禮貌，也許都是鄉下來的小孩，很快的就成為好友。我們租在同一間公寓將近三年，加上陸續住進來的同學與學弟，一共七個人，大家情同手足，一直到現在每年過年我們都會聚在一起閒聊。育斌的名字因為同音的關係，大夥習慣叫他芋仔或芋冰（台語），我們也有各自的綽號，就好像一家人的暱稱。

漸漸的才知道，芋仔來自東港漁村，是家中唯一的男孩，他還有四個姐妹。鄭伯父是非常辛苦的漁夫，常常要在半夜出海，白晝返航。夏天出海還好，峭寒冬夜中那種刺骨的寒冷，言語難以形容。那時候的東港，是個非常純樸的小鎮，不像這幾年有櫻花蝦、黑鮪魚季的活動，變得異常繁榮。也許是在這樣艱苦的環境成長，芋仔對父母非常孝順。

由於大家都是窮學生，離鄉背井，只能騎二手腳踏車，我很賴皮，常常要他載我，穿越舊的高雄火車站前上下學。雄中一直是高雄市的第二名



雄中植物園內同學合影。（張正辰提供）





一群黑狗兄攝於合租的公寓內，當年蛙眼式鏡框可是很流行的。  
(張正辰提供)

校，課業壓力很重，所以高中的生活有點悶，除了讀書之外，加上每個人各自的「少年維特的煩惱」，在過盛的雄性激素影響下，多少會找一些方法消愁解悶。年少輕狂的不羈，一直不是芋仔的style。他總是靜靜地站在一旁，附和我們，像個紳士般地參與我們的冒險活動。

那個年代沒有Internet、沒有網路交友，少了很多誘惑，日子單純而美好。有一陣子我們一夥人總愛騎著bike到西子灣，看看海吹吹風，或在西子灣內的K書中心，下棋聊天，白日作夢，點一杯飲料，耗一整天。芋仔雖然有點悶騷，但談到運動，他一直是我的偶像。他的體能一流，能跑能跳。他對運動的天份極高，各樣球類到他的手中，好像被施了魔法一般，很快地他就能上手。寒暑假我們這一群也常混在一起，甚至過年也輪流到彼此的家中拜年。芋仔的父母對人非常和善，鄭伯母幾年前走了，芋仔雖然嘴上不提，但我知道他心裡非常不捨，對鰥居的鄭伯伯也非常放心不下。

高中畢業後，大學聯考競爭激烈，幾家歡樂幾家愁。我們這一群像初展翅的雛鷹，迎風飛舞，多選擇到台北的學校就讀、或投入高四生的行列。那一年其實很苦悶，我記得芋仔就租在台大對面的汀州街上，像鳥籠一樣的小房間，僅能容納及身的小床和小書桌，物質的環境不是很好。當然除了經濟的因素之



外，回想起來，我才真正體會到一個人的決心是如此堅定，可以為理想而永不懈怠。多年後他攻讀博士，應該也是抱著同樣的精神。大學時代我們為了各自的學業而努力，他在台大就讀，我在台北的另一側，其餘的好友也散居師大、政大，彼此的聯繫卻沒有斷過。後來大夥在台北分租的公寓，好像是我們的另一個窩。那美好的黃金歲月，充滿青春的熱情，我永遠也忘不了！

後來我醫學院畢業，幾番波折，來到彰化工作。步入人生的另一階段，結婚生子。記得我們老大剛出生不久，芋仔剛巧高考分發到台中縣大甲鎮服務半年，我請他到家裡吃飯，他送了我自己種的草花，好美！他看著我的大女兒，滿是溫柔的神情，我知道他一定也很渴望有自己的家庭和小孩。幾年後他與秀華結婚，郎才女貌，接著有了龍鳳胎，我們一群都很興奮新成員的加入。三年前他拿到博士學位，生活也較穩定下來，正是人生要起飛的時候，怎想到老天竟如此糊塗，硬是開了大家一個無法接受的玩笑？

這陣子開著車上下班，雖然一樣地聽著iPod，腦中卻總不自主浮現與芋仔相處的過往片段，心中隨之一酸！他真的不在了嗎？他應在某處不知名的深山，忙著採集植物，只是一時失聯吧！記得我們大夥年初一才相聚，他低沉充滿磁性的聲音、帥氣容貌仍清晰依舊。能夠與這麼好的人相識相交近三十載，真是我的幸運。他的離去，我不想鄉愿地欺騙自己，這世界會一樣如昔。如果可以的話，我只想大聲的告訴芋仔，我很想你！失去這麼好的人真的很不捨！

我的父親在幾年前走了，他走得很突然，這件事一直讓我很難接受。那陣子我過得很不快樂，總覺得做錯了什麼或做得不夠，他才會這麼快離開我們。漸漸地我好像體會到，父親努力了一輩子，最希望全家人平平安安、快快樂樂，其他的都是其次。他一定不希望看到我渾渾噩噩的過日子。我想芋仔也是這樣，雖然心痛不捨，他一定希望他的家人，尤其是秀華和可愛的twins，能好好平安的走下去。他會一直活在我們大家的內心深處。他只是先啟程到對岸，總有一天，我們大夥會再重逢。Farewell !! Rest in Peace !!

摯友張Y(張正辰) 泣別 May 2009

彰化基督教醫院精神科醫師



## 追憶同學鄭育斌

我想和這文集的其他人一樣，這篇文章起筆難、下筆更難，因為有許多的話想說、也有許多的話說不出口。因為阿斌的驟然離去，喚起了我們大學同學們許許多多的記憶。這些往事有笑有淚，雖然已經過了十多年的時間，對於離開植物系後四散各方的同學們，卻是難以磨滅的記憶，畢竟他陪伴了我們人生中的黃金歲月。

植物系是個小系，在我們那個年代，也被不少人看成不得已才來唸的科系。有些人考不上醫科，志願填啊填，就被分配到植物系了。我們這一班人又特別的少，只有28人，比起上下屆人都少得多。由於這樣的背景，班上一開始真正對植物有興趣的人實在少得可憐，畢業後仍然繼續植物研究的人更少，屈指算來，只有三、四人，而阿斌正是這稀有族群的一員。

我在前些日子把大學時期的照片和留言簿，一本一本的拿出來仔細的翻閱，往事像電影一樣一幕幕的在我眼前掠過，青澀的話語有時不禁讓人臉紅，但也記錄了最真實的青春年少。我想瞭解阿斌的人都知道他一向話不多，在留言簿裡留下的文字也相當的少，於是我把其中阿斌的一些留言和照片掃描下來，藉由舊日的點點滴滴，讓阿斌的親友們也重溫他一些大學的過去。

班上雖然有幾位同學對植物分類與生態有興趣，但畢業後只有阿斌考上了植物所碩士班，在謝長富老師實驗室進行南仁山地區植被之研究，其他人都轉移陣地，而我則因考上預官直接先去當兵。在退伍之後，我也投入謝老師的研究陣營擔任研究助理，接續著在南仁山的工作。阿斌在此時考上了高考，選擇公職之路。我則被命運帶到了美國留學，最後回到台大任教；而同時，阿斌在停留了南北幾個地方之後，落腳台北林試所，並在林讚標老師實驗室修讀博士





植物系在我們那個年代成立了空前絕後的橄欖球隊，班上有五個人：胡哲明（後排左三）、鄭育斌（後排左四）、姜用先（後排左五）、范振宇（後排右三）和孫樵隱（前排右一），傻傻的被學長們拉下去打球。但是只有真正有運動細胞的阿斌繼續在系上傳統的男籃隊，和紹中兩人在大學四年的運動場上奔馳，其餘的我們就是跑跑龍套了。



我們班在大一寒假辦了一次到溪頭的班遊，而另一個重頭戲是之後一些同學拜訪了爾珉在彰化的老家。這張照片是在門前的葡萄園裡拍的，由左至右：張世宗、鄭育斌、賴爾珉、賴爾萱（爾珉的妹妹）、王淑珠、鄧琪成、劉炫亨、范振宇、胡哲明（1987/1/21）。

註：本文所有影像均為胡哲明提供。





大一寒假，班上許多同學一同前往溪頭、杉林溪，阿斌也一如以往，照片裡永遠都是帥帥酷酷的模样。



班上少數的大合照之一。  
 前面第一排：秦珍妮；  
 第二排（左起）：胡哲明、王淑珠、吳淑娟、陳怡欣、張淑婷、李君梧、林志洋；  
 第三排：張世宗、王瓊德、劉儀正、賴爾珉、陳筱玲、蕭綸卉；  
 第四排：朱崇維、鄧琪成、劉炫亨、夏紹中、范振宇、鄭育斌。



同學們，我來了。凌頭三行回來後 = 個多星期未見諸位可愛的同學見面，吾心若有所失？真的，我好想你們？你們想我嗎？南台灣的太陽雖溫暖，但是沒有諸位同學的可愛，過年大家卻快樂吧！  
 却 = 時為了各位暑假而台灣之行到恆春作了一次探路，路很可惜遇到下雨，自己也不能玩得盡興，這是整個暑假第一次遇到下雨，其實南部冬天是不下雨的，除了恆春那鬼地方以外，我保證冬天不常下雨，當然「颱風來襲那就另當別論」。

斌 > p  
 p. 30.

這是阿斌在留言簿裡的第一篇正式留言，時間是大一下學期開學前（1987/2/9）。大一寒假的班遊大概是全班最開心美好的記憶了，我們也計畫要來自南台灣的阿斌給我們帶路，在暑假時好好玩一頓。阿斌少見的用很開心的語氣，很真心的寫一些話給同學們。

同學們：

我回家享受家庭的溫暖去了，留下餅乾，柳丁請吃掉，  
 鐵盒子請留下（裝青蛙用）。下午大隊接力請好好加油！  
 欲南下者高確見，不能南下者我會帶去南台灣溫暖的陽光與諸位分享。

斌 > p!

斌 . 3.30  
 8:30

賴爾斌：  
 李石榕

吾因有急事大概不再回學會，你們得自己到車站，  
 12:30時在火車站大門（上學期集會處）會合，我會準時到。

斌 3:30  
 8:30

大一下學期放春假時，阿斌回屏東前，（罕見地）留下了三段文字。

我們在春假期間要到高雄中山大學？大生盃？

字裡行間洋溢著熱情澎湃，也顯示了他實際的一面——會想要把鐵盒子留下來，裝實驗報告用的青蛙骨頭標本。



第三段留言透露了阿斌難得的內心。而這段時間起，阿斌經歷了一些心情包含情感上的波折，卻是只有當事人才會深刻瞭解的了。

好難得這麼長的春假。正好給我一個喘息的機會，有時連自己事都搞不懂，為什麼會再想起那麼多的事，一些屬於過去的和未來的，想的越多，心情也越高昂。吾輩同學們都有自己的事，而對自己也開始懷疑起來，難道自己一事無成沒有嗎？不，我有很多事想做，但我一直未做，而目前只不過是在浪費我的生命。也許我該趁這個機會重新調整自己的腳步，回去看看大海看看久未看到的落日，再好好整理整一次，只希望不要再次迷失了自己。

斌. 3.30

這幾份留言也是阿斌少數的留言，有著和同學們的一些互動（1987/8/11）

阿斌是我們大二上的班代，因為這個職務，讓他忙了好一陣子，也因為大二班代的重要任務之一就是要迎接大一的新生們，讓他和小一屆的學弟妹有許多接觸的機會，而只要是他認為該做的事，他也絕不會吝於伸出援手（註：友中就是其中被照顧的學弟之一）。

（另註：陸姑娘指的是同學陸慶智，最上頭的即是她留給阿斌有關葡萄柚的話——我完全不記得發生了什麼事；Boy就是胡哲明）

鄭晉斌：你記我的葡萄柚怎麼樣了？  
它們還活著嗎？

陸姑娘：葡萄柚我放在實驗室，七月中時上山四天，回來就不見蹤跡了，大概是被人丟掉了，也許在垃圾堆中，它們能長得更好？抱歉！

別傻了！

鄭晉斌

每次到學會都看不到人影，親愛的同學們你們都跑到那裏去了？ swimming pool.

我們到學會不見人影呀！ 8.11. 15:30

鄭晉斌：新生資料去抄了嘛？

希望在一週內有所活動，如先聯絡他們一下... call them ...  
我幫得上什麼嗎？

Boy.

8.11. 22:17





---

阿斌一個為大家熟知的特點，就是他對植物的熱愛。這張照片是班上在修植物分類學實習時所拍，他和陳旭偉一起壓標本。阿斌一直保持這份熱誠，在之後待在郭城孟老師實驗室學習，一直到他到林試所工作都沒有間斷。



---

阿斌和我一向都喜歡大自然，這張照片是我們五個人一起去中橫的照片，由左至右：賴爾珉、胡哲明、鄭育斌、鄧琪成，照相的人是陳怡欣。





謝師宴和送舊是畢業前的兩個重要事項（1990/6）。

前排左起：劉炫亨、范振宇、鄭育斌、胡哲明、林義方、陳旭偉；

第二排：陳敏宜、秦珍妮、陸慶智、王瓊德、王淑美（導師）、江嘉倩、陳逸珊、賴爾珉；

第三排：顧若慧、蕭綸卉、李君梧、陳松芸、張世宗、張淑婷、歐景騰、王淑珠、孫樵隱、劉儀正。

大學畢業前的合影，同學們有著對未來的許多憧憬和期待，開心的在一號館植二教室前留下了這張照片。雖然大家有著各奔東西的心理準備，但是怎麼也不會想到，以後的相聚有這麼的難了。

前排左起：鄭育斌、胡哲明、朱崇維、范振宇；第二排：夏紹中、陳旭偉、王淑珠、歐景騰、劉炫亨；第三排：孫樵隱、劉儀正。



班。我們走了不同的道路，最後又在台大相遇，只是有趣的是我先拿到博士，所以反而成為阿斌的論文審查委員。雖然如此，但是我一直挺羨慕阿斌有機會留在台灣研究，對台灣的植物因此浸淫很深。對於在異國七八年的我，所學得的和所失去的，都是難以衡量的。然而我們雖然彼此不說，但是惺惺相惜之情一直都在。回到台大之後，也三不五時和阿斌開始一些對未來研究發展的討論，有好多的想法也都讓我們對未來的合作充滿希望。只是命運捉弄人，我卻永遠少了一個理想的夥伴了。

大學畢業到今天已有19年，我們這一班卻一次同學會也沒開過，這樣的遺憾隨著阿斌的離去而永遠再也無法完成。這一陣子同學們聚首，卻都是百感交集，只能難過的回憶過往。而就像炫亨來信的話：「憶及同窗時，盡是球場英姿；再聞消息剎那；竟是天人永隔——育斌，天堂安心歇息！」

胡哲明暨阿斌的大學同學們

台灣大學生命科學系 生態學與演化生物學研究所 副教授



## 永遠的兄長——紀念鄭育斌學長

民國98年2月25日，是我這輩子記憶中一個非常悲傷的日子，相識至今已經歷超過二十個年頭的學長，在這一天因為意外而離開了人世，在我現今生命的一半時間中，學長在我的博士班生涯和來到屏東科技大學後的日子裡，不論是哪一方面，都是無條件的支持與協助，沒想到就在將要有初步的成果時，竟然因為一場意外奪走了學長的生命。

時間回溯到今年2月25日下午，因為就在前一個星期五上午，我到台北林業試驗所去找學長幫忙台灣油杉的樣本，並討論一些事情，當天學長提到2月24日到26日會到屏東出差，問我是否有意一起上山。由於25日我有一整天的課，所以就約26日一起出門上山採集。

25日星期三下午約四點半吧，我想打電話跟學長約星期四出門的時間，然而，當時接電話的卻是一位小姐，我直覺是打錯電話、或是電話公司又跳錯號碼了，道了歉正要掛電話時，對方竟然問我是否是鄭育斌先生的親戚或朋友，讓我驚覺事情不對，對方先向我解釋自己是屏東龍泉榮民醫院的護士，後面接的一句話就讓我有如晴天霹靂，對方說阿斌學長因為意外正在屏東龍泉榮民醫院急救中，還向我解釋說學長的情形非常危急，屬於頭部撞擊重度昏迷，我當場傻住了幾秒鐘，因為屏東龍泉榮民醫院就在屏東科技大學旁，車程不到15分鐘。

我當下就趕去醫院，到達醫院時已經有二位林試所六龜分所的同事抵達，而當時阿斌學長仍在急救室中，心跳呼吸在當時還呈現穩定，對痛覺仍有反應，急救醫師自我介紹說他是腦神經外科，所以先對我解釋學長的情形，腦部斷層掃描在腦幹處發現有出血、蜘蛛膜下腔出血、頭骨部分破裂，在送達醫院



時發現呼吸道被食物堵塞、呈現缺氧狀態，必須要先渡過危險期。

我留在醫院等待學長的親戚由東港和其他地方趕來。約六點前後，學長的舅舅、舅媽、姊姊、妹妹等趕到，醫生又再一次解釋，六龜分所的二位同仁因為要趕到國仁醫院去處理同車義工郭老師的事情而先行離開，我就留在醫院陪學長的家屬。

後來因醫療需要，由急診室移到斷層掃描室、再移到二樓加護病房後，學長的情況就急遽惡化，醫師一直進行搶救，至八點多時心跳已下降到三十多，學嫂和小孩還沒趕到，親戚和我進入ICU時，學長已經很危急了。因此，學長的姐妹們決定讓還不知情的年邁父親到醫院見學長最後一面，因此拜託醫生盡量維持。

至晚間九點左右，林試所同仁由台北開車趕到，接著學嫂秀華姐和雙胞胎小孩也到了，此時學長的心跳已經趨近底線。九點半鄭爸爸趕到，那景象我現在想到還是忍不住掉淚，十點左右家屬就決定帶阿斌學長回家，因為學長家人不是很清楚龍泉榮民醫院到東港的路，因此我當前導車帶著親戚回到東港阿斌家。晚上十一點多，救護車抵達，用呼吸器撐著最後一口氣的學長於當晚十一點十五分離開了人世間。

時間回到民國76年，那一年是我成為台大新鮮人的日子，系學會辦了許多的活動來歡迎新生的到來。當時屬於菜鳥的我，對於大學的一切都是茫然不知，當時的植物系學會是由大三的學長姐帶領著大二學長姐來協助我們適應大學生活，育斌學長就是當時熱心幫忙的人員，使我印象深刻。大一時系學會籌組籃球隊並招募新生參加，育斌學長亦是當時一起練球的隊員。

大學生涯忙碌、課業繁重，與學長姐接觸的時間其實並不是很多，當時所知道與了解的學長已是很模糊的印象了。記得大一時郭城孟老師有找我去談是否願意參加實驗室的學習，育斌學長當時就是在郭老師實驗室，只是大一年少的我還處於未定的階段，沒有參予郭老師實驗室的研究，與育斌學長的接觸就





2007年6月與學長一起至日本採集，在鳥海山國定公園，為了取景，學長整個人趴在岩壁上。（許再文提供）

少了一大段時間。

到大四時，育斌學長已經是謝長富老師碩士班一年級的學生，而我也開始努力閉關準備研究所的考試，會與育斌學長接觸的時間多是晚餐時間，當時的幾位同學與育斌學長都會一起去羅斯福路和汀州路間的巷子吃合菜，同時談談對生活與未來的看法。育斌學長基本上話比較少，多半扮演聽眾的角色。

當我順利考上碩士班之後，加入了中央研究院植物學研究所周昌弘院士的研究室，每週有二到三天必須回到植物系上課。每當下課後，多會窩到謝長富老師位於植物標本館的研究室，與育斌學長、蘇夢淮和王國雄打屁聊天，晚餐時也會一起到外面吃飯。當時學長已經開始忙於他的論文資料分析與撰寫，但還是常常一起談學術研究，聊未來的想法與目標。此階段一直維持到我碩士班一年級暑假，育斌學長順利畢業、離開了學校，才劃上休止符。



隨著育斌學長畢業、當兵，後來一年我畢業、當兵二年，由民國81年夏天到84年夏天這段長達三年多的光陰，到後來回到中研院植物所擔任研究助理，這一段長達三年多的時間是我與育斌學長斷了聯繫的時間，但原本以為會就此中斷的情誼，沒想到很快的又聯絡上了。因為就所知，育斌學長在退伍後那一年（民國83）就順利考上國家公務人員高等考試，原先分發至大甲鎮公所，至民國85年4月轉調到林業試驗所恆春分所服務。

第一次聯繫是與王國雄到恆春分所去找學長，後續幾次也都是在恆春分所見面的，其中一次是因為當時人在美國的胡哲明學長需要一些南部的豆科材料，所以就到分所去找育斌學長幫忙，育斌學長二話不說就載著我到山海瀑的上方採集哲明學長需要的植物，如此一來，我和學長之間的聯繫又恢復像從前一樣了。因為學長當兵回來後曾在林試所林讚標老師研究室擔任過一段時間的研究助理，開始對於利用同功異構酶分析進行族群遺傳結構與變異的相關研究產生興趣，開始進行台灣特有種的研究。當時位在南台灣，所以我知道的就有恆春楊梅的族群遺傳研究。

當時有小道消息說學長有了女朋友，只是學長一直守口如瓶，不論我們如何套問都無法得知，一直到學長告知要結婚時，我還真的搞不清楚嫂子是哪一位呢？直到在新東南海鮮餐聽的喜酒時，我才第一次見到秀華姐。

隨著學長調回台北林業試驗所，我們之間的接觸也越來越頻繁了，包括一起出門採集、知識上的交換與學術上的交流，都越來越頻繁。育斌學長對於植物系統分類的厚實基礎，已經變成我挖寶的對象。我擔任三年研究助理之後，順利進入台灣師範大學生物學系博士班，這已經是民國87年夏天的事情了。

在民國86年的夏天，日文完全不通的育斌學長與我二人，在無人協助下，自己飛到日本東京羽田機場自由行。當時是第一次和學長一起出國採集，先到了日本千葉縣館山市，那是位於日本東京灣外房總半島的最南端，我是為了博士論文的材料，學長則是為了了解日本與台灣植物相的差異，一路上聊天、照相攝影和談研究。基本上我負責開車，而我是第二次在日本開車，自己都覺得



有時候會跑錯線，但學長一直保持信任的態度，害我一直提心吊膽地開車，還在館山市沒有出任何問題。

旅程持續進行。原本預定要到伊豆群島南方的一個小島「八丈島」採集，那天飛機已經起飛，都已經到達目的地上空，卻一直在盤旋沒有降落。在飛機上我和學長二人都茫然不知，因為完全聽不懂他們在報告些什麼，直到飛回到羽田機場後，才知道因為地面天氣太差、無法在小島降落，也因此多了一天時間在東京閒逛。



鄭育斌學長於日本鳥海山國定公園2007/6/26。（許再文提供）

之後我們又飛到北海道的釧路，結果因為估計錯誤，當時已是10月初，植物已經開始變色。當飛機要下降到釧路機場時，那一層層顏色變化的樹木，讓我和學長興奮不已。北海道秋季的美，在我和學長行旅至這裡時，清楚地了解一切。我們將北海道東邊一半的地方都跑完了，包括了屈斜路湖、摩周湖和一些山地。當時學長就一直提到殼斗科的有趣和一些研究上的問題，我一路上除



了開車之外，一直可以聽到殼斗科的美麗和適合的題目，當時學長也要開始唸台大植物系的博士班了，我想除了林讚標老師之外，我應該是第一個知道學長的目標和方向的人了吧！另外令我印象深刻的是，當我和學長抵達桃園機場時，一踏出入境大廳，就看到秀華姐已經在外面等學長了，由此可知他們二人間的感情之深厚。

隨著博士班忙碌生涯的進展，學長和我皆同樣在水深火熱的生活中度日，在民國89年開始，因為林試所當時還沒有建立分子生物實驗室，學長只要是有的時間，就會到中研院植物所周昌弘院士研究室，與我一起、各自奮鬥博士論文。這段時間我想是學長最忙碌疲倦的時候，因為白天上班的忙碌之後，傍晚還要到位於南港的植物所和我一起工作，常常一待就是到深夜。我想這段時間應該是學長和我唸書生涯中最難熬的時間，也是學長和秀華姐夫妻間最辛苦的日子吧！

當時學長的博士論文題目已經決定是殼斗科的長尾栲族群遺傳研究，我們都還不知道這一材料如何萃取DNA，所以開始嘗試DNA的萃取，在實驗上還算是一切順利，也開始陸續得到一些資料。

後來在民國90年8月，我暫時離開原本的實驗室，到美國聖路易市華盛頓大學生物系Schaal教授的實驗室當半年交換學生，此時學長實驗的初步步驟建立已經完成，因此，學長開始在林試所建立分子生物的設備。91年2月時我結束了半年的交換學生生涯，回到中研院植物所原研究室進行博士論文的撰寫工作，學長在此時亦來到植物研究所進行實驗。

我已經不是很清楚記得當時是不是因為森林生物組要搬至新大樓，所以學長沒無法在自己實驗室中進行實驗，因為在這半年中，學長延續了他忙碌疲倦的博士班生涯，常常白天忙上班，傍晚忙實驗。當時我已經將機車淘汰，以捷運為交通工具，若是因為工作過晚沒有捷運，學長還常常先載我回家後才回家。後來我聽秀華姐描述才知道，那段時間學長其實常常晚上就睡在辦公室，現在回想起來，學長對於研究工作的執著真的是超乎想像。我幸運地在91年6月





與學長合作研究三角楓與樟葉槭的雜交現象。

順利畢業，到美國聖路易市華盛頓大學生物系Schaal教授的實驗室擔任博士後研究員，我和學長這一段時間的相處，更讓我清楚了解到他對於研究的執著，為了研究的順利進行可以犧牲一切，那種程度令人敬佩。

民國94年1月我結束了美國的工作，到屏東科技大學任教，在這期間常與學長電話閒聊，多是討論學術研究與生活觀念，對話中包含了對我一切事情的關心，如是否有對象、和有否工作的問題。學長和秀華姐對我關心的程度，就如同對親弟弟般的照顧，所以他們還幫我安排過相親，東港王爺祭時，學長亦找我到東港老家過節。就在我到屏東科技大學報到後，為了籌設實驗室而頭痛不已時，學長亦會以合作或是其他方式，無條件的支持、協助與鼓勵我，讓我能夠在初期階段順利發展。

學長順利在民國95年5月畢業，拿到了博士學位，在論文口試之前，學長向他的指導教授林讚標老師建議我擔任論文口試委員，讓我真的是戒慎惶恐。畢業之後的學長和我共三次到日本進行野外採集的工作，包含96年的北海道和本



州北部、97年的四國和同年的九州和本州南部，這一段時間大約是學長和我最快樂的日子，主要是我們各自提的國科會計畫都通過了，學長針對落葉性殼斗科植物的地理親緣進行研究，我則針對毒藤漆，所以都需要到日本採集，也因為如此，在學長的人生中，對於日本的植物和生態環境應該是很熟悉的。

在這三次的日本行旅中，學長對於研究的熱忱與諸多想法都一直影響著我的思維，我們有多個合作項目至今仍持續進行，包含了台灣三角楓和樟葉槭的異地雜交問題、子彈石櫟和菱果石櫟的細胞核基因座為族群遺傳親緣的研究，以及台東蘇鐵的微衛星體DNA選殖。另外，學長的心很軟，我在談天時說到我實驗室的一位學生家裡有些經濟上的問題，學長想了想之後就說他可以撥一部分的臨時工資給這位學生，讓他幫忙學長一些實驗工作。所以，現今這位學生仍感激學長給他這個機會。

今年，原本和學長約定要到日本本州將所需要的材料採齊，現在僅留我一人了，每次只要想到就忍不住鼻酸，然而，這一次呂勝由老師和朱麗萍老師決



和學長合作研究的子彈石櫟。



定要將育斌學長的研究工作持續完成，我也希望能夠將這些研究工作順利圓滿結束。

認識學長超過我現在年齡的一半時間，很多的事情無法用紙筆描述，育斌學長待人是謙謙君子，對晚輩是照料扶持，對研究工作是專心執著，在學長身上有太多的優點可以讓人稱許，這樣一位完美的學者，在完全無法預知的情形之下撒手人寰，留下太多令人錯愕的地方，上天是如此的殘忍，讓如此好的人離開，留下一對稚子、秀華姐和年邁的父親。逝者已矣，我僅能以我腦中的記憶，來留下一些記錄與回憶，希望能夠對於學長的一切，多留下一段的紀錄。

江友中 2009/7/9

於屏東科技大學生命科學系  
屏科大生命科學系 副教授

與學長合作研究的菱果石櫟。



## 一份來不及送出的新年禮物

認識育斌學長大概是在民國78年、我考上台大植物系一年級的時候，那時候因為加入謝長富老師研究室南仁山生態調查研究隊，知道實驗室裏有個酷酷帥帥的學長。育斌學長給大家的印象都是比較沈默少言。但對我來說，我常常喜歡去問他一些做學問的問題，因為覺得他很沈穩，說出來的建議比較實在。

這就是育斌學長給人最深刻的印象之一。將近二十年後，我已經有幸回來臺大生態演化所教書。可是，現在教學研究的工作，實在不是一份輕鬆的事，常常在教導學生及開創研究這些事上，覺得力不從心。於是從去年，林讚標老師邀請我參加他們週末的“Man’s talk！”，參與的當然也包括了育斌學長。所以我又可以再像從前一樣，在公務之餘，和學長、老師之間，有輕鬆的促膝長談的美好時光。育斌學長仍然如往常一般，雖然說話不多，但只要我問到他關於做研究的想法，他總是誠懇地給我最直接的建議。甚至有時候，我只是提到一個想法，他居然都清清楚楚的記得，然後就會很認真的在幾天後給我一個電話，或是當面跟我提議如何解決。在去年底的時候，我的學生在台灣杉親緣地理研究上從育斌學長那兒得到好多採取樣本的協助。最後，我們也很快樂的一同口試我的學生周延威。口試當天，他提出了我們對台灣杉歷史上遷移進入台灣的路徑一個全新的看法，那就是可能從日本經琉球群島往南進入台灣的這個可能性。他的這個想法，讓我們似乎從困頓中清醒，不再執著於分子時鐘估算台灣杉進入台灣時間點抵觸於傳統上第四紀冰河期推移台灣植被的看法。

今年過完年的時候，我買了幾個餅乾禮盒，帶到我們“Man’s talk！”的聚會中，送給各位老師以及育斌學長，好謝謝他們過去一年來對我的鼓勵與實質上的幫忙。那天，恰巧學長沒有來，而錯過那次的見面，居然就成了我們永遠的離別，因為再下一次的“Man’s talk！”，他不會再來了！那個餅乾禮盒，成





學長對台灣杉（上及右頁圖）遷移至台灣的路線有全新的看法。

了一份永遠來不及送出的新年禮物。

聽見他車禍的消息，當下是一種完全茫然的情緒，因為車子裏除了有育斌學長以外，還有我熟識的俊銘。頓時之間有好多種關於車禍的原因、想法、急救的狀況，所有這些雜亂的情緒，一股腦兒的慌亂在心頭。當晚確定急救無效後，我的心情像是垂下頭來的乾涸稻草。剎那之間，育斌學長的身影和我記憶中的樣子，一幅幅像照片般出現在我腦海。

記憶裏有常穿著卡其色襯衫的育斌學長的模樣，有他認真說話的表情，有他帶著我在樣區裡數著一棵棵小苗的神情，有他流汗和我一同爬山的模樣。我突然發現，他的樣子從二十年前到現在沒有多少改變。他好像是一個在人群中會不經意就被忽略的人，但當回過頭想起來時，卻又是在人群中那個最想要尋找的親切的身影。好像在人群中能看見他就放心了，因為知道 he 會陪著我走著路，走在任何一個不安的時刻裡。

可是過去，似乎再也回不去了！



我的禮物，和想跟他一起寫的文章，以及聽說車禍時他車上還擺著採集到的榲樹樣本，都該怎麼拿給他呢？我常在想，當車子翻滾下來的前一刻，他是不是還很快樂的數算著他所鍾愛的研究材料和這片森林呢？

育斌學長，如果最後的時刻前你是帶著滿足的歡欣，我也想知道你高興的心情是什麼？有一天我也將與你重聚，到那時，你再好好的告訴我你那天快樂的故事，好嗎？我們一言為定，可以嗎？

王俊能

台灣大學生命科學系 助理教授



# 懷念阿斌

鄭育斌博士今年春天因意外突然往生，得知噩耗後一直很難相信，留下許多不捨和懷念。因為個人曾和他在謝長富老師實驗室相處多年，在此提筆略述我所知道的鄭育斌博士。

鄭育斌博士很會讀書，在1990年畢業於台大植物系，隨即考上台大植物系研究所碩士班，進入謝長富老師實驗室從事植被生態學的研究。因為個性溫和且人緣甚佳，大家都叫他阿斌。1988年起謝老師開始進行南仁山永久樣區的植被調查研究，因為前一年我們已經調查了木本植物的組成，他的碩士論文是調查永久樣區的草本植物組成，木本植物測量胸高直徑較為精準且容易進行，相對的草本植物較不容易定量，後來他採用直線截取法來測量；全部三公頃樣區分成300個小樣區，其內再細分為1200個小區，在其中取樣七條東西向橫截樣帶、共420個小區，測量樣線上的植物種類和線段長度，因此全部工作量相當大，很多研究生都會抱怨工作量多或是辛苦，但是阿斌就是慢慢做，花一年完成野外調查工作，再分析資料寫論文，順利完成碩士學業。

在南仁山研究期間寒暑假常有大批研究生和學生，在墾丁國家公園南仁山保護區進行調查工作，認識很多朋友，每個人都有特色，阿斌總是認真的讀書，靜靜的工作，性情和善易於與人相處，這些都是從事學術研究很好的特質，畢業後到林業試驗所森林生物組工作，走向他熱愛的研究工作。其後，偶而在林試所或是在研討會上相見，阿斌還是和以前一樣，專注在做研究。

阿斌，真是令人懷念與不捨。

謝宗欣

國立台南大學生物科技學系 教授



## 1987-1992——回憶與阿斌學長共事的日子

2月26一大早，因為有事情打電話與謝長富老師連絡，老師劈頭就問我知不知道阿斌發生的事。我聽到愣了一下，老師接著說：「聽說他車禍重度昏迷，在瑪家」。隨後在到課堂的路上，我一直在想他是不是開車太累打瞌睡去撞電線桿了？還是被大卡車追撞？心裏很不安，但臨時又不能取消上課，只好想說上完課後，趕去屏東看看他，希望這個昏迷不嚴重。

上到第三節時，我的手機震個不停，一看是聖傑打來的，但上課中我不能接。不過我有很不好的預感，幾乎沒遇過有人在上課中打電話給我…。中午緊急回call，聖傑說了不少，但現在只記得：「昨晚就走了。」

這事來得太突然，老實說，已經好幾個月了，我還是不能接受這個事實。我相信認識他的人都有這樣的感覺。

我是阿斌台大植物系的學弟，我只比他低一屆，所以大一就認識他了。對他最早的印象是有一位學長經常帶著學弟妹去認識一些花花草草（連迎新露營都不例外），後來才知道這位學長叫做鄭育斌。不過當時阿斌學長最有名的地方並不是在辨認植物，而是在運動方面。無論是何種運動，他都很專精，所以一直是系上各項球類隊伍中的台柱，特別是籃球。當時的系籃在他與林榮芳學長的聯手之下，一直是大生杯的冠軍隊伍。另外我還記得有次在跟別系進行的棒球比賽中，他還投變化球三振對手，技驚全場。不過這個時期，我還在尋覓自己理想中的大學生活，所以與學長的交集並不多。

之後，我因緣際會幫忙系學會年度重要活動——野植營——的解說活動，阿斌學長是當時負責這個部分的學會幹部，大家才比較有機會在一起。猶記得





在文山植物園合影。左起阿斌學長、王國雄、蘇夢淮。約1992年。（蘇夢淮提供）

當時外出探勘解說路線時，他都會很熱心地跟大家解說每一種植物，因此每次跟他出去，都會獲得不少知識。就這樣，連續三屆野植營，在阿斌學長的帶領下，我們順利完成了烏來、關渡以及陽明山三次活動，這個時期大概也是野植營活動的全盛時期。後來，因為分子生物學的興起，植物系這個招牌在我們退出之後，就慢慢地式微了。

植物系的一項傳統，就是唸到了大四之後，學生都會去找一個實驗室學習專業的研究方法。我因為比較喜歡生態這個領域，就進入了謝長富老師的實驗室。同時阿斌學長也考上系上的研究所，很湊巧地他也找了謝老師當指導教授。當時在謝老師研究室中，最老資格的學長是謝宗欣（現任教於台南大學），另外還有東海大學過來的王國雄（跟我同時唸台大植物所）。因為人力不多，我們四個人幾乎共同參與了實驗室的每項工作。

我還記得和學長第一次出去調查是協助謝老師去北插天山調查山毛櫸的族





在九棚海邊合影。左起：阿斌學長、宋瑜祥、王國雄、蘇夢淮、楊嘉政。約1991年。（宋瑜祥提供）

群組成結構，團隊成員還有當時在黃增泉老師研究室就讀博士班的楊國禎助教（現任教靜宜大學）。在我們這個領域的人都知道，楊老師和阿斌學長的體力都很好，不過當時我才剛帶人登完武陵四秀下來，所以體能好得不得了，雖然背著二十幾公斤的背包還是把他們兩人遠遠地拋在後面，這件事著實讓我暗自竊喜了很久。這次的調查我們在山上待了大約一周的時間，我因為剛進實驗室學習，所以根本搞不清楚狀況，只記得每天要爬大約400M的陡坡上稜脊，接下來就是在比人高的箭竹中找尋要量測的木本植物，然後中午過後就會有很豪邁的午後雷陣雨，傍晚時回到營地謝老師就會表演升柴火煮飯的功夫……，至於其它，我都沒甚麼印象了。

北插調查完後，實驗室的重頭戲就是調查南仁山永久樣區。這一個永久樣區是台灣第一個、也是目前成果最豐碩的永久樣區。以這個永久樣區進行論文研究的第一人，是高阿斌一屆的謝宗欣學長，阿斌學長算是第二人。阿斌學長的論文題目是關於地被層組成的研究。當然，我很自然地就成為他的重要幫手，幫他





在南仁山工作站合影。後排右三為阿斌學長。約1991年。（宋瑜祥提供）

帶領一個組做調查。阿斌學長的研究是國內的第一次，因此在研究方法上問題很多，這些問題大概傷了學長很多腦筋，特別是由熱帶雨林發展的永久樣區研究在台灣根本無前例可循。還記得一開始學長甚至連藤本與附生植物都想包進來，不過後來發現這樣做範圍太大，且計量方法太複雜，因此就作罷了。

在學長的論文研究中，環境因子是一項很重要的項目，特別地被層會被冠層覆蓋度所直接影響。傳統上冠層覆蓋度都是用目測估計，不過這並不精確。後來帶領我們的孫義方學長（現任教於東海大學）從國外引進了魚眼鏡頭的拍攝技術，來拍樹冠層。因為我對電腦系統比較熟，阿斌學長就希望我幫他寫一個程式來分析魚眼照片，計算冠層覆蓋度。為了校正魚眼鏡頭拍攝景物的嚴重變形，我還請一位清大數學所就讀的舊識，幫我導出每一點的面積變形函數。不過最後的分析結果，並不能找到兩者間的相關，很是可惜。

在南仁山調查中，除了學長的學術素養之外，我對學長的最深的印象就是





在香港第二高峰大東山合影。左起楊嘉政、阿斌學長、蘇夢淮。2006/9/2。（楊嘉政提供）

他的耐性了。在與他共處的時間裏，我幾乎沒看過他對別人發脾氣。在南仁山雖然有研究站住，不過當時的住宿條件並不佳，特別是洗澡方面。往往在大雨或颱風過後，外面溪水暴漲，可是研究站卻全面停水。試想一隊人馬在森林中鑽得髒兮兮，流了滿身汗，疲累地回到研究站卻無水可洗的窘境吧！好幾次大家都為了這件事吵架，不過學長真的是發揮他的功夫，不僅不參與戰局，還會趕快想辦法求外援（安排大家到外面商家洗），我現在自己主持實驗室，學長的處世方式著實讓我學到很多。

在謝老師的研究室中，除了南仁山樣區外，還有其它大大小小的「雜事」要忙。除了大小不一的環評案要跑之外，還有一件大事是整理文山植物園。文山植物園地點在北宜公路的小格頭山區，由台大退休教授楊再義老師所捐贈。他的想法是希望能做為一個專業的教學與研究用植物園。系上考慮之後，甚至期望它能成為一個國際級的植物園區。然而這都是美夢，現實是當時根本沒有經費，所以實驗室的伙伴就充當義工，除了基本的植物資源調查之外，在假日



我們還要帶著鋤頭、除草機等工具，到植物園去整理環境。我常常在想，謝老師實驗室是不是全國唯一配備有除草機的生態研究室？

阿斌學長的兩年碩士生涯，在他的積極努力之下，很順利地完成。此後，大家就各奔東西。我退伍後，因緣際會地到了台東工作，大家見面的機會就更少了，不過基本的連繫都不曾中斷，每年大家也至少會在謝老師年底的尾牙碰面。後來學長回去台大攻讀博士，論文研究材料必須涵蓋東部的族群，我因為剛好在積極探勘台東的中級山，就順理成章地幫他採樣。2002年我在博物館開館後，也回到台大繼續深造，後來論文決定要做分子分類相關的題目後，早我接觸此領域的學長又成為我的諮詢顧問，舉凡分生技術、DNA marker、分析方法等，著實幫了我很多。

與學長的最後一次出野外，是我在博士班畢業前夕，由中研院鄒稚華老師邀請，成員還有台師大的前輩王震哲老師，一起去香港採集。這次採集，也受到三位謝老師研究室畢業的學弟妹——楊嘉政、曾維宏和蔡潤苗的協助。猶記得一連幾個晚上，兩個博士和三個碩士在旅館壓標本壓到12點。真的，自從新一代的人類離植物分類學越來越遠之後，我已經很久沒有這種研究的感覺了。

後記：在與農化系的瑜祥學妹連絡時，學妹寫了一段她的回憶，我徵得她的同意，謹附於下，希望學長能夠知道有這麼多人還記得您。

蘇夢淮

中國文化大學森林暨自然保育學系 助理教授





夢淮學長，  
昨天實驗室轉來您的詢問信時就猜著可能是阿斌嗎？  
（畢竟可被你稱為學長的人不多）  
我的推測在收到你的來信時獲得證實，  
仔細研讀了事發的新聞，  
我覺得自己應該要哭，  
可是我只能呆呆的盯著你的來文，  
原來以為已經被遺忘的人事物又都浮了出來。

你說學長在南仁山時最愛開我玩笑，  
除了三不五時叫我的渾號（我已忘了是誰取的）  
還有連續數日在下過雨的樣區取笑我一日摔三回，  
中午吃便當時要我“每日一笑話”等等，  
還記得吧？（阿斌、你、揚哥和我可是黃金組合）

但他其實對組員是照顧有加的，  
除了用機車載我出入樣區，  
（讓我免於擠在宛如沙丁魚罐頭的箱型車後車廂或排擋座）  
在地勢崎嶇的樣區山溝裡用自己的膝蓋及肩膀當階梯讓我踩著過，  
幫我燒掉爬在雨靴上的螞蝗，  
或是教我認識南仁山的一草一木……  
雖然無緣也不知有無機會見到大嫂，  
但我相信曾在阿斌照顧下他的家庭成員是非常幸福的，  
也希望大嫂及家人儘快走出傷痛……

阿斌是很棒的學長，  
即便曾在南仁山聽過他述說對未來的不確定感，  
但透過你轉寄的連結，  
很高興知道他這些年來一直朝著自己的理想努力，  
直到生命中的最後一天。

農化系學妹 宋瑜祥



## 好友鄭育斌

我的好朋友鄭育斌博士車禍受傷的那一天下午，2009年2月25日星期三，我正在中國文化大學對學生做專題演講，不知是什麼原因，喉嚨一直覺得不舒服（我從來沒有遭遇過類似的事），喝水無效，勉強完成2小時的演講後回到林業試驗所辦公室，看看時間接近5點，然後走下8樓去看看種子發芽和儲藏情形，碰到生物組陳舜英博士，她立即告訴我阿斌哥下午在屏東採集時發生嚴重的車禍，不醒人事，目前正在省立醫院急救。我聽了感到很錯愕，鄭博士發生車禍的這一天，對我來說確實是個很特殊的日子，也是我一生難以忘懷的一天。

回想我認識鄭博士已是十幾年前的事了，1994年鄭博士在林讚標教授實驗室當助理時，我們就經常碰面。1995年鄭博士高考及格被分發到大甲鎮公所，1996年轉任林業試驗所恆春分所服務。鄭博士在恆春分所近二年期間（1996年4月～1998年1月），正值我在那裡當分所長，我們二人在這段期間關係更加密切，除了行政業務往來外，研究工作始終沒有停過。

當時我們對恆春楊梅（*Myrica adenophora*）很有興趣，主要是它稀少且非常具有觀賞價值。因此，我們分別進行恆春楊梅及楊梅（*Myrica rubra*）種子發芽休眠和族群遺傳的研究。恆春分所當時實驗室設備不足，在有限經費下添購電泳分析儀、蒸餾水製造機、發芽箱等，研究成果當然令人相當滿意，分別刊登在The Journal of Heredity 2000年第1期和台灣林業科學2000年第4期。

鄭博士除了楊梅屬的研究外，也進行嶺南青剛櫟（*Cyclobalanopsis championii*）族群遺傳的研究，此樹種僅分布在熱帶恆春半島，狹隘的族群分布讓鄭博士想瞭解它的族群遺傳變異。嶺南青剛櫟遺傳變異的研究成果於2001年1月發表在The Journal of Heredity雜誌。鄭博士在恆春期間不但如期完成行政業





曾與阿斌合作研究的恆春楊梅。

務，短短二年間發表二篇很好的報告，我認為除了恆春的天時和地利，能選對試驗材料外，最主要是他的研究精神和毅力。此豐碩的成果是很少有人可以與他媲美的。

我是在1996年7月22日就任恆春分所長，記得當年秋天的一個晚上，用過晚餐後在分所招待所碰到一位從台中來的小姐，與她聊了一個多小時，知道她是來找鄭博士，希望瞭解鄭博士的近況，因為鄭博士在大甲鎮公所一年期間，很受到女士們的愛慕。鄭博士在恆春期間，當時所長楊政川博士也偶而會探詢一下鄭博士近況。在此因緣際會之下，鄭博士調回台北總所後不久就與會計室孫秀華小姐結婚。

2002年我調回台北總所育林組，與鄭博士經常碰面，偶而會相偕至野外採集。猶記得我們最後的二次採集，一次是在2008年11月10-12日，主要採集對象是高海拔莢蒾屬植物，包括高山莢蒾、壺花莢蒾和台灣粗榧等種子，其中台灣



粗榧採種，令我們印象深刻，看到粗榧種子佈滿全株，一粒粒棕灰色的種子，是我們過去在採收裸子植物非毬果類當中，很難看到的景象。我與鄭博士曾討論過進行台灣莢蒾屬族群遺傳變異和親源地理的研究，其研究成果不但可以與世界其他地區莢蒾屬研究接軌，而且如果能配合台灣不同地區所採的莢蒾種子，研究種子不同程度的休眠性，相輔相成，將會有很好的成果表現。最近一次採集是今（2009）年2月4日在北部採集冬青科的鐵冬青和糊樗種子，還記得那一天山區的氣溫很低，而且還下著不算小的雨，我們還包括陳舜英博士及助理等四位，淋著雨採收但很有收穫，目前試驗仍在進行中。回想每次與鄭博士出差，都有很好的收穫，可惜阿斌已經離我遠去，除了我與陳舜英博士仍持續在進行莢蒾屬種子的研究外，大概也沒有其他人對莢蒾屬更有興趣了。



阿斌鏡頭下的墾丁海濱。此處與恆春分所、南仁山，都是阿斌曾經駐足研究的地方。





台灣粗榧曾讓一起採集的阿斌和我驚嘆連連。



原本和阿斌討論要共同研究的高山莢蒾。

最後，我要謝謝阿斌過去幾年來對種子採集和種子鑑定等協助。我每次看到他時，他都以微笑待人，今世如此，後世也必是如此。我們的情誼只有您我彼此知道。

簡慶德 2009/8/2, 星期日  
林業試驗所育林組 研究員



# 阿斌

我記得第一次認識阿斌的時候是在恆春分所，那時知道他的專長是分子生物技術，並且人看起來很老實！剛好當時我們組裡頭也需要這樣一個人才，於是我跟邱文良取得共識，極力地邀請他到總所生物組工作，也方便他就近在台大念博士班。阿斌剛到生物組時相當沉默寡言，保育大樓興建完成，所以就邀請他共用703辦公室，相處氣氛合諧並合作研究，下面幾篇是共同出稿的報告：

呂勝由、鄭育斌（2000）台灣稀有及瀕危濕地植物調查 2000年海峽兩岸生物多樣性與保育研討會論文集，545-555頁，國立自然科學博物館印。

呂勝由、鄭育斌、陳舜英（2001）紀台灣原生植物之新栽培品種（四）**台灣林業科學**16（1）：39-42。

呂勝由、胡大維、鄭育斌、朱麗萍（2001）紀台灣原生植物之新栽培品種（五）**台灣林業科學**16（1）：43-45。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、張淵順（2003）紀台灣原生植物之新栽培品種（六）**台灣林業科學**18（3）：255-258。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟（2003）紀台灣原生植物之新栽培品種（七）**台灣林業科學**18（3）：259-262。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟（2004）紀台灣原生植物之新栽培品種（八）**台灣林業科學**18（3）：259-262。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟（2005）紀台灣原生植物之新栽培品種（九）**台灣林業科學**20（3）：265-268。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟（2005）紀台灣原生植物之新栽培品種（十）**台灣林業科學**20（4）：361-364。





2009年4月3日，在台北植物園內為阿斌種下一棵浸水營石櫟。（呂勝由提供）

Lu, S.Y., C.I. Peng, Y.P. Cheng, K.H. Hong, and T.Y. Chiang (2001) Chloroplast DNA phylogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an endemic conifer of Taiwan. **Genome** 44:797-807. (SCI)

阿斌考上高考之後，最先服務於大甲鎮公所，來到了林試所之後，有一次我跟阿斌到大甲鎮公所去索取大甲藺草，中午鎮長請吃飯和喝酒，他們相當熱情而且還有三位過去阿斌的同事（美女），但是阿斌說他自己量淺，滴酒未沾，我信以為真！當天我喝醉了，是阿斌載我回台北，真糗！事後聽雅敏透露，阿斌的酒量非常之好，可能是家族遺傳的關係！但令人訝異的是，他卻能夠隱藏得那麼好，把我們蒙在鼓裡，真是佩服佩服！

因為秀華蠻護著阿斌，有一次她義正嚴詞的對我說：「你不要欺負阿斌哥喔！不然我會叫阿斌打你喔！」害我當場好錯愕！在阿斌過世後，我到她家裡去捻香，當著阿斌姐妹面前，就把這件事情再講了一遍，沒想到秀華的眼淚竟然奪眶而出！





植樹那天，所內同事、朋友、家人齊聚，懷念阿斌與郭老師。（呂勝由提供）

幾年之後，小孩子漸漸長大了，每天下班之後爸爸都會把小朋友帶到辦公室來。有時候下班時間到，我要回家了，嘴上喊著：「下班囉！」哥哥都會跟著起鬨！有一次我照常喊著：「下班囉！」，但很奇怪的是，沒有任何聲音，我進去探頭一看，原來是小朋友因為不乖而被懲罰，阿斌也跟我指著哥哥說，哥哥雖然被處罰，但因為自尊心強所以躲在牆角後面，不敢讓別人瞧見。

阿斌走了之後，以為小孩子不懂事，但小朋友看見媽媽偷掉眼淚就告訴媽媽：「媽媽，你不要哭了，我已經答應過你，我會照顧你的，你不要再傷心難過嘛！」

自從阿斌出事之後，所內呈現一片哀戚氣氛，邱組長即建議植紀念樹來紀念，也獲得所長首肯。植紀念樹的當天，所內同仁都自動自發的參加活動，雙方家長也都到場參加由所長親自主持的植樹儀式，場面相當感人。所長在致辭當中，語重心長的說：「研究人員為了研究，出差在所難免，但是務必要注意個人安全。」當天選擇植樹的樹種是因為阿斌全力進行台灣殼斗科植物親緣地





(呂勝由提供)

理之研究，計畫相當龐大，有關浸水營石櫟材料取得不易，我正好利用出野外採集的機會，幫忙阿斌採集浸水營石櫟的材料，同時在苗圃裡種了幾株浸水營石櫟，樹高約一個人高。經過跟邱組長多次商討後，決定種植浸水營石櫟，頗具意義！另一位志工郭鳳琴老師，生前非常喜愛榲櫟，就選擇植榲櫟紀念她。

在寫這篇紀念文同時，也正是莫拉克颱風過境日，天空還下著毛毛雨，我懷著忐忑不安的心情，走到這兩棵紀念樹旁，看到它們安然無恙，才放下一顆掛念的心……

呂勝由

林業試驗所植物園組 副研究員



(呂勝由提供)



# 最後的一碗燒冷冰

2009年2月24日，星期二，天氣晴

一早，我與阿斌及朱麗萍搭高鐵至嘉義，再乘中埔研究中心的車轉鰲鼓，為評估在該地新設一植物園的可行性進行勘查。我們約11點離開該地，繼續南下往另一預定地，屏東台糖四林農場。該地在潮州東側，抵潮州時，離我們與帶路的台糖人員約定的時間還早了半個鐘頭；雖是二月，南台灣的太陽有夠烈，我提議去吃當地頗富勝名的「燒冷冰」，大家馬上無異議通過。我曾住潮州數年，童年也在附近村舍成長，阿斌住東港，離潮州也不遠，但對「燒冷冰」都是久聞其名，卻未親嚐。在冰店品嚐等候時，預定一道前往踏勘的呂公也趕來會合；讓「燒冷冰」涼沁了心脾後，時間也差不多了，便前往與台糖人員會合，同赴四林農場。勘查後，阿斌說第二天要到瑪家附近採集，於是載他到潮州搭乘客運回東港，我們則先回台北。

2009年2月25日，星期三，天氣晴

下午是我們蕨類實驗室的心得分享與進度報告時間，約3點半，討論正進行的熱烈，電話鈴響起。話筒另一端俊銘泣不成聲，花了一些功夫，終於聽懂他說了什麼，卻令我及在場所有人震驚而無措：……俊銘載阿斌與志工郭鳳琴老師前往瑪家，卻在當地山區翻車，郭老師當場走了，阿斌仍在昏迷狀態……接著話筒傳來救護車的聲音。我請俊銘先隨救護車做各種可能的必要處置，並隨時告知最新狀況。掛下電話，腦袋一片空白，房間有十餘人，卻鴉然無聲！突然有人說找周富三，電話馬上撥，可能在山上收訊不佳，手機沒訊號；回神過來，電話再撥六龜，找到了游主任，告知狀況，請就近協助；游主任隨即找了六龜中心的同事孫明源及正在當地洽公的本組同仁依純，一道前往現場協助。



組裏，朱麗萍、有志，以及當時正來訪的俊銘同事勝賢，立即搭公務車南下。

現場情形幾乎完全不清楚，我其實也完全不知能做什麼，只是想趕快找人去瞭解與協助處理，並趕快通知關係人；透過大家的協助，找到了郭老師的先生李老師的電話，第一次傳遞這種消息，我結巴得不能再結巴；再撥給秀華，也不知如何表達較適切。把所有可能想到該打的電話打完，包括請俊銘服務的保種中心執行長李家維協助、向所裡長官報告並傳達所長的指示給現場人員……。之後只覺全身乏力，惟有祈禱明天南下看到清醒的阿斌；未料近半夜時，友中卻傳來令人難以接受的訊息。

1997年7月

國禎到我辦公室，欲言又止地說，他9月要到靜宜任教。我從1996年回國後，在標本館任職，除了繼續我的蕨類研究，標本館管理是當時的主要業務。國禎先我半年多到標本館，我到標本館時，館務在國禎的主持下已上軌道，我並不需再花太多心神與時間處理；如今他要離開，第一個衝擊的當然是我。可是留在林試所，以當時環境，他要升遷的機會是微乎其微；現在有此好機會，我自是恭喜他了。

接下來問題來了，誰來接？植物分類學本就是冷門學科，林試所內更是難求。左思右想，國禎推薦了小武，誰知小武迷戀墾丁，無論如何不肯離開；再來想到了恆春另一位有植群調查知識又有同功酶實驗經驗的阿斌。當時我完全不認識阿斌，甚至是第一次聽到他的名字，不過國禎願推薦，應該就不差了。我先徵詢了時任恆春分所的簡分所長，可否調阿斌北上協助；徵得了簡分所



阿斌參訪英國皇家邱植物園，旅途中於大英博物館留影。



長的同意，回頭問阿斌，反倒是阿斌遲遲無法決定。可以理解的是阿斌是個孝子，恆春離他老家東港近，方便他回家孝敬父母，縱然台北的實驗室設備有利於他研究生涯的進一步拓展，也仍然讓他難以決定去留吧。國禎離開在即，我才心急，求助秀華，秀華也無法幫他決定。

### 1998年2月

已忘了最後是如何讓阿斌到台北的，也不知阿斌這段時間的思慮是如何的轉折。總之，國禎已到靜宜任教了半年，阿斌才到台北報到，坐進了國禎以前在植物園舊標本館旁的小房間。之後，阿斌開始幫忙標本館的業務，一方面也進行他最喜歡的同功酶實驗研究；他是個上進的人，這個時候分子生物學已經漸變成系統分類學不可或缺的工具，他也同時埋首於此領域，多年的用心學習，終有所成，除了博士學位的獲得，並在知名期刊發表了多篇文章。

### 2000年3月

林試所森林保育大樓落成，標本館由植物園搬到保育大樓內。為了這個新館，內部館藏所需的新標本櫃、標本櫃的移動軌道、空調與濕度的調控等等，無一不是需要花費時間的大工程；其中還包括了招標、工程進度管控與督導、驗收等等與我們所學距離十萬八千里的業務。所幸阿斌的細心與投入，各項硬體如期完了工。搬遷，又是另一項大工程，舊標本館當時約有將近10萬份標本，從舊館打包、搬移、拆箱、將標本毫無錯誤的放置在適當的典藏位置等等，無一不煞費苦心，也多虧了阿斌的協助，帶領標本館的同仁，完成此艱難任務，讓標本館在最短的時間恢復正常運作。之後阿斌繼續與標本館同仁一起協助館務發展，包括標本、微縮片與圖書的蒐集等等，如今（2009年）林試所標本館館藏已超過33萬份臘葉標本，並有豐富的植物誌圖書，提供了分類學研究最好的服務場所，阿斌功不可沒。

保育大樓落成後，我奉派至福山服務，與阿斌直接共事時間較少。時值植物園大整建，他大概是被分派到解說牌的業務，因此週末我若有回台北，經常





多虧了阿斌的規劃整理，這些珍貴的標本與膠片得以無誤且整齊地安置在新標本館寬敞的空間內。

會在植物園遇見他，拿著解說牌尋找正確的位置放置，或是在研究室看他置身於電腦與一堆文獻中，而秀華始終是在他旁邊默默陪伴。我不在台北期間，他也協助我實驗室助理有關同功酶的實驗操作技術與分析，世慧應感受良多。

### 2003年8月

我回台北服務。阿斌除了他的遺傳多樣性研究，行政業務上仍然是我的極大助力，特別是在2008年擔任台北植物園的管理員這段時間。植物園管理員所負責的業務多如牛毛，又要帶領園區園工，又要服務到訪遊客；既要管理蒐集與展示的植栽，也要管理各項硬體設施。阿斌最難能可貴的在於他的以身作則，這段時間，他經常在植物園內與園工同甘共苦，因此也帶動了園工的士氣；研究室反而難見其蹤影，也因此當年的研究報告較往年為少，雖然我知道



他對研究材料的蒐集及實驗進度的掌控從未間斷。對他的投入行政工作，我深為感激；而對他的研究發表減少，我則深感不忍。在年底卸下了植物園管理的重擔時，他很興奮地與我討論了許多的未來研究構想，並計畫5月時一起去菲律賓採集……

2009年10月1日，星期四，天氣陰

與阿斌共事的一切，還有太多美好的回憶，在西表島的第一次看到水椰、紅茄冬與野藪木，在屋久島的民宿旁海堤壓標本，在關渡拿著對講機與阿財及裕舜調查水筆仔族群的變遷……不勝枚舉；只是那個我們生平的第一碗「燒冷冰」，我想以後我再也不會去光顧品嚐了。

邱文良

林業試驗所植物園組 副研究員



2009年10月4日於屋久島碼頭與陪同採集的京都大學研究生篠原涉（最右）合照，左起張和明、牟善傑、邱文良、阿斌。（牟善傑提供）



## For 阿斌哥

也許是還無法真正去面對這已成為過往雲煙的回憶，斷斷續續的寫了又擱下，思緒總無法連貫，但想著或許仍應該儘量把我所認識的阿斌哥寫下來，只是讓我始料未及的是這竟是我這輩子以來所遇到最難下筆的題目。

認識阿斌哥大約是在民國85年間，因當時我們與恆春分所有合作計畫，即墾丁高位珊瑚礁自然保留區十公頃永久樣區的設置，而當初在恆春分所服務，阿好姐口中的「阿斌哥」也就成了我們對他的習慣稱呼。記得當時，總是由他負責帶領一組人馬，而我則負責另一組，大家在當地特有的高位珊瑚礁地形內爬高爬低的，二組人馬間互相合作支援，有時也會互相在調查進度上競爭，倒也是一段辛苦但快樂的日子。到了大家最喜歡的午餐時間，通常就會集合在一起吃著請伙食阿姨幫我們統一準備的便當，而印象最深刻的是他一打開便當盒的第一個動作就常是把魚啊、菜啊的往其他同仁的便當盒裏放，最來才知道原來他太好命，從小都吃深海的高級魚，所以一般市面上的魚類是不吃的，而此外一些他認為有味道的菜類也一概敬謝不敏，可真不是普通的挑食。

在往後一起出差的期間發現，午餐時間除非我們有特別的建議，否則他真是7-11超商最忠誠的顧客，往往一個國民便當加上一瓶果汁就是他的一餐。而問他獨衷7-11的原因卻是，因它全台的便當品質都一樣，所以不會有不好吃的顧慮，真是有點被打敗了。此外，從沒想到一個大男人會那麼喜歡吃酸的蜜餞，還記得當初雅敏懷孕期間，他因出差到有梅鄉之稱的南投縣信義鄉，就很有心的買了著名的酸梅回來送給她吃，後來發現他每到行政室總不忘拿來吃個幾顆，保守算來那一大包酸梅有大半包還是被他給解決了。

由於他豐富的野外採集及調查經驗，我們好多的植物採集資訊都得感謝他





鄭育斌與楊雅敏、陳舜英。

的慷慨提供。也因他帶領的緣故，我們能拜訪台灣不少具珍貴植物相的林道。此外，對於一直都是就讀森林系的我，由於他的關係才會多少對非木本植物有了注意。由過去一起出差的時光中，在停下腳步仔細觀察中發現原來野外山巔路旁的野花野草也都各具姿色。常常我們一行人到了山上，在他發現有了新奇的植物時，就會請司機讓我們下車延著道路一路前行邊走邊看，跟著他著實聽了不少植物相關知識，也看了不少看似不起眼但卻奇特的東西，只可惜自己著實不是個好學生，所以也沒認真把各種植物的名字和特性詳細牢牢記住。時至今日，每次再度經過我們之前曾地毯式搜尋過的山區道路，昨日的點點滴滴，不論是辛苦的採集過程，或是沿路的閒聊與玩笑都還是不由自主的湧上心頭。

還記得有一年他帶著我們到台中新社去找尋殼斗科的榲樹。一路上我們順





台中大雪山 2008/3/5。



台中大坑 2003/9/23



台中麗陽 2003/10/15  
(本頁照片均為陳舜英提供)

著路旁電線桿上的薰衣草花園餐廳的指標來到新社中和村，大家在車上還叨唸著這是一間非常有名的景觀餐廳……等，原指望在順利完成採集任務以後他會順道帶著辛苦工作的我們到大名鼎鼎的薰衣草花園去看看，或僅僅是聞聞它的咖啡香味也好，怎知我們就這樣匆匆的離去。雖然偶而想到時我們也會拿這件事來虧他，結果他反倒怪我們為何沒有直接要求，真是令人不知該從何說起了。早知道，我們也許應該跟他瞎掰說那裏有一棵「碩果僅存的稀有植物」，可能還比較可以得逞吧！

在工作上，阿斌哥相當的循規蹈矩和負責，而且不吝於提供他中肯的看法與見解。對於新的研究知識，他似乎有著永遠都不會滿足的慾望，而且每當他看到與我們的研究有相關的報告時，就會馬上把電子檔寄過來給我們參考，而且一有機會就不忘耳提面命的說一些他的意見，雖然有時不免反虧他淨出些餽主意，但其實心中還是感謝他的。而他在植物方面超強的知識和辨識功力，常常為我們研究室提供了最實質的幫助。





台中新社 2006/8/1。



台中新社 2006/8/1。



陽明山國家公園管理處 2006/5/22。

一直擺在案頭上的聖嚴法師寫的「歡喜看生死」，是當時我爸病重時阿斌哥借給我看的書，只是我很清楚這輩子是不可能做到那境界囉！他離開前一週我也才因爸爸病情不樂觀，所以忙得有點疲憊，沒想到身強體壯的他最終還比我爸早了三天離開（看來這日子註定想忘也忘不了了）。因種種民俗上的限制，未能依原先規劃親自到屏東送他最後一程，內心實在感到無奈，不過相信他能諒解的。從沒想過十餘年的同事情誼會是在如此毫無預警的情況下劃下句點。曾經假設過的情節是，或者他如願到離家較近的南部學校作育英才去了（一直覺得他很適合當老師，只是根據他對學術研究的堅持，保證學生一定絲毫不得偷懶，每個必定都會慘兮兮的）；或者是被外派到研究中心去獨當一面（毫無疑問的能力極好的他必定能大展弘願）；又或者是舉家移居國外繼續進修……在許許多多個可能中，上天卻安排了一個令所有人都措手不及的結局。雖然知道人世間本是充滿著無常，但忽然被迫接受無常時，仍令人無法坦然面對。





塔塔加 2006/8/1。(本頁及左頁照片均為陳舜英提供)

常在想，如果阿斌哥您看得到的話，最想對您說的話就是：

「雖然大家心中必然會有不捨，但如果說您此生的任務已然完成，就請安心的去繼續您未來的旅程吧！」

陳舜英

林業試驗所育林組 助理研究員



## 追憶阿斌哥

上星期接到小白（鍾慧元）的來電，「阿謀，和阿斌同事這麼久了，幫他的紀念文集寫篇文章吧！」答應之後，馬上又有一點後悔，幹嘛要這麼爽快答應這個看似簡單卻又困難的要求？或許是心底不願承認阿斌哥已到另一個世界的事實吧！

在十年前吧，在林試所舊標本館第一次遇到阿斌哥。邱文良老師介紹他是從恆春分所（現改為恆春研究中心）轉調回台北的鄭育斌先生，主要是做開花植物的族群遺傳結構，人帥帥的、可是不多話，幾乎都是在野外採集與分子實驗室活動，與我這作蕨類生殖學的幾乎沒有什麼互動可言，只知道他對開花植物分類好像蠻厲害的，幾次我採到不知名的植物問他，本以為他也會跟我一樣陷入不知所措、需查看一大堆書才能推知其名的窘境，沒想到這些植物對他而言都像極為常見似的，不僅輕輕鬆鬆就一一說出名稱，還附帶說明科別、特徵及分布地點，讓當時自認植物還蠻在行的我，自尊心嚴重受創。為證明這是偶發事件，莫不刻意去找一些稀奇古怪的植物回來考他，幾次之後，確定自己是白費力氣，真的打從心裡佩服他的植物分類功力。

真正與阿斌哥較頻繁接觸，應該是在2000年整個生物系（現改為植物園組）搬入保育大樓之後。他與呂勝由博士共用的辦公室幾乎堆滿了書籍及植物標本，又剛好就在邱老師辦公室的隔壁，所以每逢中午用餐時刻，他就習慣地從外頭買個便當、順道拿一份報紙，來到邱老師這邊較為空曠的辦公室用餐，同時偷閒閱讀報紙。除了他以外，還有一些在標本館工作的同仁也會來邱老師辦公室用餐，這一大群食客，也習慣每人手上都拿張報紙輪流閱讀，報紙在幾番折騰後，幾乎都已被折磨得不成形，然而，阿斌哥總是會把報紙整理得整整





2008年9月28日薈蜜颱風來襲，風狂雨驟，阿斌哥仍不忘冒著風雨紀錄下荷花池的景象。



舊標本館是許多人和阿斌哥有共同回憶的地方，如今已成為服務遊客的管理室、志工室。

齊齊，宛如軍中的豆腐乾棉被，不僅邊線要對齊、而且還要有稜有角，所以大家習慣用很快的速度把報紙瀏覽過一遍，然後把最難的整理工作交給他處理。

他與我幾乎同時讀博士班，當時單身的我，早已習慣把實驗室當成臨時性的窩，而阿斌哥這已婚人士，反而是將家當成臨時性的窩，早上不到八點，他老兄已在他的實驗室（註：林業保育大樓704室）開始著手準備一天的研究材料與藥品，讓他的助理們上班時能夠迅速進入狀況。聽說當他的助理很辛苦也很幸運，辛苦的是要在很短的時間內做出一大堆資料，提供他寫報告之用，所以他的助理莫不 # \$ % & \* ※。幸運的是，他同時也會鼓勵助理們參加國家考試，求一穩定的工作。或許是在皮鞭及蘿蔔的雙重作用下，他的研究室幾乎與國家考試保證班畫上等號。當他的助理準時下班後，他則繼續整理資料或親自操作實驗，直至晚上11~12點才打包回家，即使星期假日亦奉行「研究生沒有假日」的準則，這種習慣一直延續至最後一天。他的努力化成一篇篇的研究報告，不僅數量豐富，且發表期刊的點數都很高，對其他同仁造成一股生產報告的壓力，畢竟年終結算發表成果總不能差太多吧！

如果努力是可以報告篇幅來量化，那「準時」恐怕是阿斌哥無法量化的人格特性，一年半前我正式成為林試所的職員，被分配擔任負責生物組（原稱生物系，現改為植物園組）科技計劃的資料彙整人，簡單來說就是要催計畫主持人準時繳交計畫構想書、期中報告、期末報告，雖然大夥很早就收到要繳交





植物園中隨時都有許多整理工作進行，阿斌總是親至現場監督紀錄。左上：撈捕荷花池內的外來生物，才能讓荷花有良好的生長環境，年年盛放。右上：修剪大型喬木。

的通知，但總是不到最後一分鐘，決不輕言繳交，害得我無所不用其極去哄去騙。不過凡事總有例外，阿斌哥就是那個例外，不用三催四請，在截止日期前3、4天，他就會將資料完完整整繳交過來，就算是準備要出差甚至出國考察，也會事先繳交。

他那種追求完美近乎龜毛的個性，不見得普受歡迎，就像在2008年他抽到籤王（註：當時植物園的管理員一年一任，由生物組的職員抽籤決定），擔任台北植物園的管理員，一板一眼的態度再加上口才並非圓滑，上任初期，技工為新增的工作量及相關規定而抱怨不已。抱怨歸抱怨，看到他勤於巡視植物園，並親自指導作業，這些抱怨也隨著時間過去而逐漸消失。在他擔任植物園





豐盛茂密的荷花，是植物園的正字標記，但大家看不見的，是從上到下所有工作人員的辛勞。

管理員的那一年，發生了一件大事，每年夏天植物園的明星——「荷花」，竟然遲到了！雖然已進入炎夏八月，荷花依舊稀稀落落，遊客投書至報社媒體，引起農業高層長官的重視，阿斌哥銜命調查發生緣由並改善。除了立即補植荷花，他積極調查水質，證實一牆之隔的密鄰歷史博物館，因化糞池管壁破裂，導致廢水滲入池中，是造成荷花生長不良的原因之一。查明原因後，跟歷史博物館幾經協商，而使問題獲得改善。

今年夏天植物園的荷花長得特別茂密，花朵開得特別碩大，應該就是阿斌哥留給所有到訪遊客的一個最佳禮物吧。

黃曜謀

林業試驗所育林組 特聘研究員



## 想起那時

千禧年夏天，初出社會，上班第一天踏入森林保育大樓703室，見到一位有點嚴肅但長得蠻好看的男士，他問明我的來意後，請黃曜謀學長帶我去認識各研究室、實驗室。後來，從黃曜謀學長口中得知：這位男士是鄭育斌先生，建議我稱他學長，這樣親切些。

就這樣，踏入林試所頭一天遇到的頭一個人，也是後來教我很多有關同功異構酶水平電泳法及族群遺傳結構分析的人；就這樣，與育斌學長有數年情份。

當時，我這剛離開學校的小毛頭，一腔熱血，但愣頭愣腦的。邱文良老師及呂勝由博士的研究工作繁忙，也顧不上我。於是，鄭育斌學長很熱心地幫我安排座位，以及臨時的工作內容。當確定讓我接替小白姐姐（鍾慧元）的工作並擔任邱文良老師的研究助理後，鄭育斌學長便積極安排我學習同功異構酶水平電泳技術。爾後，當我實驗上遇到難以排解的困難時，當我自己學著資料判讀及統計分析卻繞不出彎彎時，鄭育斌學長可以不計較我的煩人和執拗，可以在他攻讀博士班及繁雜業務的百忙之中抽空，給我許多寶貴的建議和幫助。甚至，在我離職後，鄭育斌學長仍肯花許多心思，修改我在職時的研究論文。他對研究的盡心盡力，對後輩的寬厚及不吝提點，我親身感受，點滴在心。

平日裡，不論在辦公或做實驗時，鄭育斌學長都不像我那樣絮絮叨叨，他並不多話。但在中餐或下午茶時間，在701辦公室，他會邊吃著大家一起叫來的外賣，邊和江合隆先生、鐘詩文博士、黃曜謀博士及陳建文學長等人討論時事。談笑風生，頗有見地。而我這胸無大志的化外之民，只有豎耳傾聽和低頭吃飯的份，話也插不上一句。





實驗室中進行實驗與紀錄的世慧。(育斌學長攝)

在林試所的幾年，我曾一起幫著鄭育斌學長採集栲屬植物以做為他的實驗材料，北至金山、南至恒春，跑了不少地方，但卻不曾和鄭育斌學長一同出差，不能知道他出差時和平日有什麼不同，可惜，我永遠不能知道了。

2009年春，從陳建文那兒聽到學長出車禍的消息，心中一跳，不過想想出差難免與他人有小小擦撞，應無大礙。再隔半日，方知竟然造成二亡一傷，而鄭育斌學長是其中一位身亡者。

今已數月，想起那段歲月及情份還是不免潸然、喟然！只恨天妒英才，也恨自己再沒有機會向鄭育斌學長多說幾聲謝謝，只能永誌心底。

劉世慧

2000-2005 邱文良老師的研究助理



## 追思文

雖然知道那已經是不可能再發生的事情，但是心裡仍然默默地想著會不會早晨上班一進辦公室，就依舊能看到老闆正在燒熱水泡茶，開始忙碌的一天。只是這些以往稀鬆平常的事，已變得遙不可及，現在只能成追憶。

第一次知道鄭博士這個人是還在唸研究所的時候，研讀了一篇他所寫的論文，幾年後有機會與他面試、進入林試所工作，才慢慢認識他。在鄭博士的實驗室擔任研究助理僅僅半年，這段期間剛好他接掌了植物園管理員的職務，天天都很忙碌，對於研究進度總是簡單扼要的交代。除了公務之外，最常看到他埋首盯著電腦分析數據、不然就是拍攝植物。態度專注認真，為人客氣和善，是我對老闆的觀感。

他走了之後，陸續從老闆的家人、朋友以及同事的言談中，認識了不同面貌的老闆。有同事說起老闆其實很悶騷也會開人玩笑，不像我所想的那麼嚴肅；老闆與小孩相處的爆笑情事，令人為之絕倒；還有老闆野外採集的工作效率之快，也令我十分佩服，可惜我已經無緣見識了。

一個正是精采的生命嘎然終止，「可惜！」是每個認識老闆的人的心聲，不過大家談論起老闆都是稱許，相信他天上有知也會覺得不枉此生。想對老闆說：「您所留下來的缺刻部份，就讓活著的人替你圓滿，請您安心地成為天上的星星守護著您的家人吧！」。

陳玉玲 2009/8/31

林業試驗所植物園組 研究助理



## 追憶吾師

會到鄭老師這邊工作其實是很巧合的，原本經由學校老師介紹，是要應徵簡老師的助理，但是因為資料沒有備齊而錯過機會，等到補齊時，簡老師已經錄取了別人，沒想到幾天後竟然接到鄭老師通知面試的電話，原來鄭老師在簡老師那邊看到了我的履歷。

第一次的面談中，感覺得鄭老師是一個不苟言笑、嚴肅而又嚴格的人，可是後來相處得越久，才發現原來鄭老師只有在專心致力工作時才會板著一張臉，私下的他會不時與我們這些助理開開玩笑，是一個非常好相處的老闆。

雖然我們大部份的時候都叫鄭老師「老闆」，但是在我心中，我覺得應該叫「老師」來得更貼切些，事實上，採集時植物辨認的方法、實驗操作的技巧，全部都是鄭老師教我們的，鄭老師時常提供一些別人實驗的論文給我們參考，也非常鼓勵我們考試進修，我還記得跟老師一起出差，大家一起分享著老師最愛的蜜餞，而老師總是把我們當成自己家人一樣的關心與照顧，這些都是非常美好的回憶。

與其說鄭老師是一個認真工作的人，不如說他是一個樂在工作的人，他總是最早到辦公室也是最晚下班的，桌子上永遠都堆滿了文件及資料，他總是喜歡抓了一台相機就跑去拍植物，他為了工作的需要很常出差，只要老師一出去，隔天就會有一箱植物宅急便回來，我們都會打趣的說這是老師特地給我們的「土產」，相信只要跟鄭老師相處過的人就可以感受到他對於植物的熱情與喜愛，他真的是一位令人尊敬的好老師。

私底下鄭老師也是一位好爸爸，平時接小孩放學回家的任務都是老師負責



的，老師為了方便他兒女下課時去接他們，還特地在辦公室附近挑學校，我時常會看到老師左手一個右手一個的牽著兒女回來，每天只要聽到兩個小朋友有活力的聲音，就知道孩子們來了。

現在，一樣的辦公室、一樣的實驗室，卻多了濃濃感傷的味道，男兒有淚不輕彈，面對著哭紅雙眼的女同事，在辦公室裡我只能強裝平靜、強忍哀傷，但是回想起和鄭老師相處的一幕幕，仍然內心激動無法言語，還來不及對老師說出的感謝，成為再也無法說出口的絕句，千千萬萬的不捨，化成無限的追憶，鄭老師熟悉的身影、親切的問候、和藹的笑容，我們將會永遠懷念。

鄭亨哲

林業試驗所植物園組 研究助理



需要定期打掃的老闆辦公室。



## 我的老闆

認識老闆是在大學畢業那年，剛畢業的我花了很多時間四處找尋適合的工作，同時也在學校打工，協助老師的研究計畫。偶然的機會在網路上發現老闆找尋研究助理的公告，雖然資格沒有100%符合要求條件，但我仍鼓起勇氣用e-mail投遞了履歷。很快在幾日後的下午四點多接到通知面試的電話，老闆很酷的說：「如果可以的話，現在就過來面試。」

突然的面試通知，嚇到患重感冒在家休息的我，所幸家裡離林試所並不太遠。走進電話中約好的七樓辦公室，老闆在堆滿研究資料和參考文獻的辦公桌後盯著電腦處理資料，見我走進辦公室才起身把另一張堆滿證據標本的桌子清出一個角落。老闆簡單地問了幾個與大學學習及生物技術實驗相關的問題，大約十分鐘就有效率地結束了面試。雖知道我不太熟悉生化實驗的操作，但老闆仍很慷慨地提供工作機會給初出社會的我，對這一點我真是無限感激。

第一個上班日，老闆先帶我拜訪了隔壁辦公室的大家長邱老師，接著要帶我上樓認識組辦的雅敏時，默默地發揮了驚人的腳程，腳短且對大樓不熟悉的我差點跟丟，短短一層樓的路程，老闆也能快速的閃進組辦公室裡，還好千鈞一髮之際我瞄到了老闆的背影，否則我應該會尷尬地在第一天上班就迷路。結束拜訪回到辦公室後，老闆拿了不少和實驗相關的文獻及書籍給我，接著很酷的跟我說「明後天我出差不在。」天啊，來上班的第二天老闆就要出門，加上前任的助理學姊已經離職，留下我一個人看家真是非常緊張，還好開始的這幾天平安無事的過完了。

老闆的主要研究方向是殼斗科植物的親緣地理關係，另外加上老闆對於各種各樣植物的熱情，每當出差回到林試所都會帶回很多的植物樣本，不管是要



抽DNA或拍照做標本的植物，老闆總是花很多心力在收集各地的材料。擔任植物園管理員的那一年，老闆沒那麼多可以出差採集的機會，除了離開位置到植物園去之外，其他時間則忙於公文往返和接聽民眾電話，因荷花池花苗被入侵動物啃食等事情更是忙得焦頭爛額。

和老闆相處的兩年多時間，我覺得老闆個性非常沉穩，雖不愛講話，但卻待人和藹親切、心胸廣闊，除了時常踏著迅速的步伐、背著採集用的高枝剪、沈重的相機袋外出上山採集植物樣本和拍照外，待在辦公室的時間總是不停忙於工作，幫各種植物拍幻燈片、整理分析電腦裡無數的DNA資料，或是讀著成山的各種參考文獻，認真工作的態度讓初出社會的我學習到很多。

雖然和老闆共事的時間並不算很長，但是在腦海中留下的回憶卻不少，提筆書寫老闆的紀念文時心中感觸很深，採集行程的意外，一次失去了兩個對植物研究有極度熱誠的研究者，他們所擁有的態度和精神很值得我們學習。而老闆遺留下來未完成的研究項目和想法，希望能夠在各位老師的指導下繼續完成。

黃郁絢

林業試驗所植物園組 研究助理

老闆亂中有序的辦公桌。



## 外冷內熱的育斌老師

其實很不想動手寫下這些話來，若一切都沒有發生，也不用把這些心裡話挖出來說，但這一切還是發生了！想起在2008年的8月我投了履歷表給老師，在第一次的面試通知，因為自己的疏忽而錯失了機會，只好厚著臉皮要求再次面試的機會。懷著忐忑不安的心情走進了老師的辦公室，在偌大的辦公室裡看到了一位戴著大大的眼鏡、直盯著電腦不放、有些嚴肅安靜、約莫35歲左右的人，在自我介紹、等待片刻之後，開始和老師面對面交談。過程中我內心非常緊張，因為老師看起來很可怕，問了我的經歷、想法和工作內容等等問題，讓我更加緊張，酷酷的他沒有多說什麼話，之後不久學姐來訪，和老師聊了起來，緩和了面試時緊張的氣氛、中和了周圍的凝滯空氣，也讓我看到老師活潑的另外一面。或許是有舜英學姐的加持，讓我獲得這個機會在林試所服務。

第一天上班，老師清出一個背對他後方的桌子和一台舊筆電給我，給了幾篇文章，帶我到實驗室、請學姐們開始帶領我這土包子在DNA分子生物學領域裡闖蕩。在這裡最先學會的是打掃——剛來時辦公桌上總是有簡直快堆成山的報告文獻、四處為家的各式筆類、櫃子上有快要倒塌的證據標本，以及陳年的茶杯，經過第一次的整理，老師也習以為常地讓這週期性會在每一個半月會發生一次。之後則是學習到有抽不完的DNA——因為老師有行蹤不明的習慣，第一次發現時，同事說應該是老師出差去了，那去了那裡？不知道，做了什麼？也不知道。對於我們助理來說，老師行蹤成謎都要我們打聽一番才會知道，哦！原來老師去哪裡採集或開會等等，然後就常會遇到黑貓先生叼回老師要送給我們的禮物，但這裡頭可不是能吃喝喝的名產小吃哦！都是當地的特產植物數十種，雖說老師不在就是助理摸魚的好時機，但我們很不喜歡老闆不在家，因為又會有抽到手軟的植物DNA。

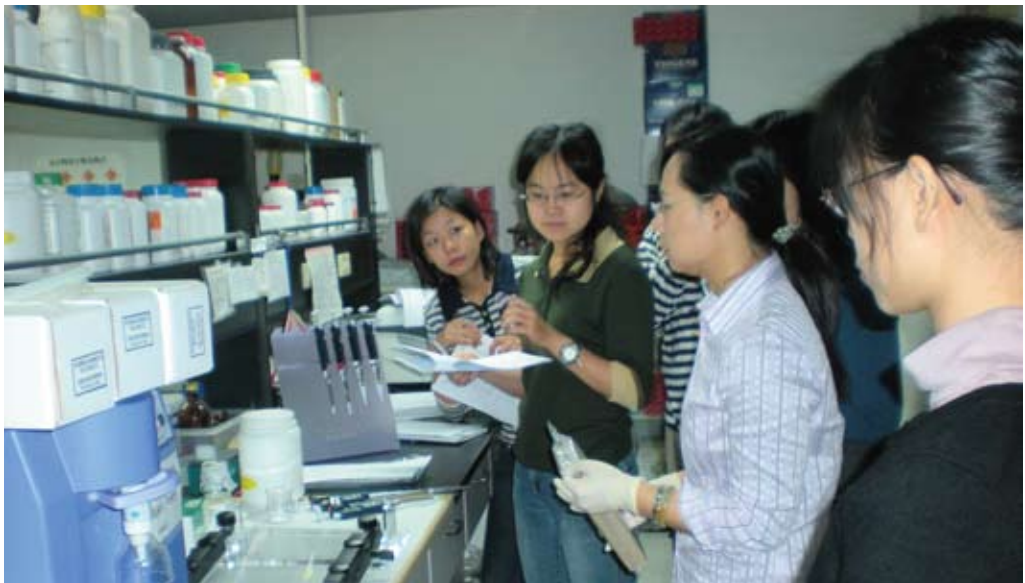


在上班時間的老闆給人的感覺一向都是嚴肅，平常的他總是不怎麼說話，就算助理我們在辦公室裡討論得如火如荼，老師也是沒有什麼反應，團購缺腳時倒總是會幫我們一腳，偶爾也會說些冷冷的笑話，讓我們看到他的幽默；記得加入所裡的午餐約會時，老闆也是成員之一，但沒多久之後，老闆總是以忙碌為理由，缺席了午餐約會，我覺得很不好意思，因為午餐約會好像是老闆抒發情緒的時間，但因為我的加入卻使老闆缺席，根據大家的猜測，或許是老闆覺得他想在助理面前保留應有的威嚴吧！

下班後的老師似乎就收起了一本正經的撲克臉、當起了好爸爸，帶著兩個寶貝兒女下課、陪著他們吃飯後，一邊以餘光監督他們遊戲，另一邊又努力地盯著電腦、工作報告等等白天未完成的工作。有一次假日我不經意跑回辦公室，卻發現老闆就連假日也會來工作，看到的是他認真為了研究而努力不懈地付出，這種精神是值得我們去學習的，我們會努力去完成尚未完成的工作。而現在的您，請別再這麼擔憂研究工作了，要好好地守護著您最愛的家人，保佑大家一切平安。

謝佳霖

林業試驗所植物園組 實驗室助理



廠商正在說明藥品的使用與功能，沒想到老闆連這也記錄起來。（左起謝佳霖、趙怡姍、廠商、陳玉玲）



## 刻骨銘心

我一直不知道要如何寫這段文字，總覺得不知如何開始下筆，感謝秀華姐的慈悲～

與學長認識是在多年前於林業試驗所舊標本館時代，我大學在那裡打工時認識了學長，總覺得是一個不多話的學者在那裡認真地做自己的研究工作，專注且堅毅的神情令人印象深刻。爾後再有較多接觸，則是在搬遷至新大樓（保育大樓）之後了，我們常在碰面時打聲招呼，並請教植物分類、植物地理……等相關問題。

學長最令我感動的一幕畫面，是傍晚下班時分，他細心地牽著孩子進電梯，再繼續回到研究室做他的實驗，讓我深深覺得兼顧家庭、工作、課業是多麼不容易的事，而他就是這樣的一個好男人。

事發之後，我還是持續在野外工作，但每每出門前都是不安，深怕與我同行的夥伴再有什麼意外，因此總是格外小心，時時將注意力放在夥伴身上，看見他們平安才放心。

直到現在每天還是會想起學長與大姐，總覺得他們還是在身旁，說話的神情與聲音依舊，那些鼓勵的話語我還深深記得……

我天天告訴自己要勇敢，要堅持對大自然的熱情，更加倍地努力盡自己能力幫助需要的人，我想，這才是他們希望看到的結果。

感謝秀華姐與學長家人的寬容，祝福所有身旁的人順利平安～

陳俊銘

財團法人辜嚴倬雲植物保種暨環境保護發展基金會 蒐藏經理



# 那個出差忘了回家的人

林試所兩年多，算是我生命中可以好好休養生息，然後邁向人生另一階段的特殊時光。接續了學校的學習與研究氛圍，讓自覺在私人機關混得遍體鱗傷的我，能重新思考自己的價值與能力。

剛到標本館時，對植物的認識停留在校園植物介紹的程度，而計畫老闆呂先生給我的第一個任務，就是去墾丁龍磐公園挖某種植物的頭。不要說我認不得那種植物了，我連標本館的人都還沒全部認識呢，但這可是老闆交待的第一個工作，總不能就搞砸吧。於是硬著頭皮搭所內同事的便車下去恆春分所。雖然我是屏東人，墾丁也算是跟自家灶咖一樣熟的地方，但去工作卻是全新的體驗。我不認識分所的任何人，該怎麼到龍磐公園去？左思右想覺得應該可以問問看有沒有機車可以借我騎過去，這時卻看到了一個熟面孔，那不是跟我一樣在標本館出沒的阿斌哥嗎？

標本館不大不小，研究人員只有三位，其他的工讀生、臨時人員還有技術人員倒是多到我搞不清楚，還好我已經認識了沉默的阿斌哥，這會兒看到他，就像看到救生圈一樣，當然要趕緊抓住好好打聽。

現在想起來還是覺得他真是個大好人。他說，你要幫呂先生採東西？認得嗎？在哪裡知道嗎？我老實說只知道在龍磐公園，大概曉得外觀如何，想借機車過去。他直接說，明天早上我載你去好了。那，真的讓人有荒漠甘霖的感覺。

後來，阿斌哥不但帶我去，還備齊了工具（採集袋、枝剪、鏟子、圓鋤等等）直接幫我挖。一邊還跟我說了很多採集的注意事項、在標本館工作的種種，算是幫我來了個在職訓練。然後，等這趟出差結束，還直接順路把我送回屏東的家。





關渡是執行關渡樣區計畫的地點，污泥又深又臭，執行計畫的阿斌哥與助理們要穿著青蛙裝、帶著對講機，一步一步擠進濃密的紅樹林，數樹的數量、量樹的腰圍。

熟了之後，就知道阿斌哥這個人雖然看似沉默，但那個熱心是藏不住的。那陣子標本館在執行關渡樣區計畫的時候，阿斌哥和小助理們總是頂著大太陽出門，帶著關渡的爛泥臭烘烘的回來。辦公室待久了，有時我也想跟著去透透氣（關渡也是海邊啊！）他倒也願意帶我這個礙手礙腳的傢伙一起，他們在爛泥灘中跋涉拉樣區做苦工，我在岸上幫忙紀錄數據。野外工作可真是辛苦啊，當時我想，還好我只要坐在岸上、聽對講機寫寫字就好。

有時，他也會讓我跟著去簡單的山區採集，走一般人可以對付的步道（有些地方要用山刀之類工具開路的，很不好走，那種就輪不到我去了）、沿途他還會講解物候、教我看要找的東西。

他表面上像不愛說笑，因為他是靦腆的人，但跟他混熟了就會知道，只要一講起植物來，阿斌哥立刻神采飛揚，滔滔不絕，有問必答，而且知無不言、言無不盡，就像換了一個人似的，你就知道一個人天生注定要走哪條路，是銘刻在心上、在骨子裡的。研究生啦工讀生啦小助理啦都跟他相處得很好（因為他教人太有耐心了，哪像私人機關的老闆罵人像罵狗一樣），中午時分大家會一起穿過植物園去外面吃飯，下午昏昏欲睡的時間他也會跟大家一起喝一杯咖啡講笑話放鬆放鬆。

但他也不是只有靦腆而已，還很能開自己的玩笑。記得有一次我帶了一包



南瓜子到辦公室給大家當點心，一邊喝咖啡一邊嗑瓜子的我說，欸這個南瓜子很好，男生要多吃一點。阿斌哥問說，為什麼？我說，因為裡面有鋅，可以補充一種女生用不著但男生很需要的東西……沒想到阿斌哥馬上抓了一把，說，嘿那我要多吃一點！

當標本館搬到新大樓的時候，我已經懷孕四五個月了，當然搬家的工作他們幾乎沒讓我插手，我只要顧好自己的電腦跟資料等等的就好。當我的編圖鑑計畫差不多要結束的時候，我不想添大家的麻煩，畢竟自己不是植物相關科系出身，平白佔了個助理缺，萬一人家不想留我，只怕還要煩惱該怎麼請我走路才不會傷害我的感情，於是我給自己找了個出路，去當時準備發行繁體中文版的NG當編輯。新工作要求找兩個保證人，因為家人都不在身邊，於是我跑回林試所，請兩位好心人幫我簽了名，對，其中之一就是阿斌哥（FYI, 另一位是邱先生）。

待過了林試所翳鬱寧靜的工作環境（真的，是連辦公室裡都有好多植物，而且新大樓只要走到窗戶邊就可以看到植物園綠油油的樹冠層），到工業區裡的私人機關去真是很大的落差，我再也不能準時下班，就算採訪做專題也不再能抱著出去放鬆的心態，神經繃得超緊，工作量大到嚇死人，不時還要在印刷廠熬到半夜三更看印刷，加上小孩已經出生，週末要到台中當媽媽，完全不能休息，我很少有機會回林試所看大家。但只要回去了，總是受到熱情的招呼，等到懷老二的時候，聽說阿斌哥也要準備升格當爸爸了，非常非常替他高興，因為雖然他自己不說，但大家都知道他是獨子，承擔著很大的壓力。

後來為了另一半的工作，我們搬到台中，我把工作辭了專心帶老二，回去林試所看大家的機會就更少了。但回去時，只要阿斌哥沒有出差，就一定可以看到他靦腆的笑著，站起來跟我打招呼說話聊天，談所內的新聞、大家的近況，有一回我們還一起抱怨了管教小孩真是一件不容易的差事，睡著像天使醒來行徑如同惡魔等等爸媽才懂的心情。如果阿斌哥不在位子上，那想當然爾就是出差採集去了。





植物園詩經植物區開幕，同事們難得的合照。左起阿斌哥、朱麗萍、陳舜英、鍾慧元、標本館江合隆、助理婉茹與志工。（鍾慧元提供）

這一次我再回去，阿斌哥的位置空著，桌子上堆著一疊一疊的資料、水槽邊有剛長出來的竹柏幼苗等著澆水，採集袋挨著桌子放著，螢幕旁邊還有一罐黑師傅捲心酥，像是他只是剛好出差去了，回來還要吃捲心酥的說。

也許他真的只是出差去了，永遠沉浸在他喜歡的植物世界裡，不管人世的紛擾了。

鍾慧元

呂勝由老師研究助理 (1998-2000)

自由編輯／譯者



## 忘不了的笑容

民國81年，阿斌學長自台大植物學研究所（今生態學與演化生物學研究所）謝長富老師研究室畢業，而我83年暑假才進入台大植物所郭城孟老師的蕨類研究室，因此在研究所期間，並未在系所裡見過他，但自那時起就常聽到「鄭育斌」這名字，知道他是南仁山區亞熱帶雨林永久樣區調查的重要成員。直到88年至89年我到林試所植物標本館工作，才得以和阿斌學長認識、相處。

當時的標本館還是以植物園中舊館為收藏與工作的場所。回想起來，在植物園的時光或許是我人生中最重要轉折點，影響我的關鍵人物是邱文良老師與阿斌學長。邱老師引領我走入更深層的蕨類植物世界，阿斌學長則常和我討論植物地理分布與生物地理學的議題。那樣的閒聊與分享，讓我從植物生態學的領域跨入植物地理學，而讓我如此無懼與無悔地改變的，是因為阿斌學長一直都是最好的學習典範、同時也是最沒架子的學長，總是無私地教授所學、提攜後進，並時時協助懵懂無助時的我。那一年多和阿斌學長共事與學習的時間似乎很長，如今看來卻如此短暫，這應該是阿斌學長的朋友們現在共同的體會吧。

在林試所那段期間，有兩次機會和阿斌學長一同出國，剛好都是去日本採集植物材料，我收集狗脊蕨屬的族群樣本，阿斌學長則採集殼斗科植物材料。第一次是到日本九州南部的離島一屋久島，同行的還有邱老師與牟善傑學長，以及京都大學研究生篠原涉。因為要採集殼斗科植物，我們特別帶了高枝剪。可想而知，這採集器材在海關時不免會多耽擱時間，我們也都不以為意。但到了日本機場，領取行李時竟久等不到托運的高枝剪，最著急的莫過於阿斌學長，如果這「吃飯的傢伙」不見了，未來幾天不就變成純旅遊了！

當時大家都忘了日本人做事超級謹慎，就在擔心高枝剪搞丟之際，我們發現機場行李轉盤僅剩一只長長的方形鐵盒無人認領，這下大伙心裡都明白了。



果不其然，阿斌學長特別帶來的高枝剪就完整地裝在裡面，他也放下心中的一塊大石頭，至今我依然記得他那時展露笑容的樣子。

這趟行程回台時要經由日本關西機場轉機，起飛前有三、四個小時空檔，而邱老師與老牟學長去了京都大學，要晚兩天才回台灣，於是阿斌學長和我便決定搭捷運去大阪市區逛書店，看能否買到一些植物相關書籍。

對於學植物的人來說，出國調查採集、背一堆書回來似乎已是例行公事，特別是第一次拜訪的國度。阿斌學長和我懷著挖寶的心情，匆忙搭上前往大阪的特急車。到了大阪才發現短時間內要找到大書店並不容易，我們又不懂日文，要找到販售植物專業書籍的書店就更難了。時間僅剩一個多小時，我們也只找到兩間小書店，買了兩三本雜誌便又匆忙搭車趕回機場。這次超短暫的大阪行讓阿斌學長和我學到一個買書經驗，但在往返大阪的車上，我們體驗了日本城鄉的風光，也第一次看到田野間美麗的紅花石蒜。

離開林試所後，我仍多次回去請教阿斌學長關於實驗與植物親緣地理學研究的問題。每次學長都慨然傾囊相授，讓我收穫滿滿地回去。依然記得阿斌學長做實驗時的認真模樣，爽朗的笑聲迴盪在耳邊久久不散。

若問「什麼事最讓阿斌學長放不下？」答案未必是我們所熟知的植物，而是可愛乖巧的兒女，這是我當爸爸後才更能體會的心情、也是當爸爸後才能完全明白阿斌學長當年不願意到分所（現在稱為研究中心）升任副研究員的用意。因為可愛的兒女，阿斌學長選擇留在總所，放棄早點升遷的機會，只為了能參與他們的成長。我們得以一窺阿斌學長對兒女的疼愛，雖然短暫，相信鈞樸和莞薰未來必能深刻體會。

植物如此靜默，除了那些大方展現四季變化的種類外，大多只是靜靜成長與奉獻，直到某天突然消失，人們才會驀然發現，後悔昔日未曾與它交流對談，後悔未在繁盛時注視與記錄它，後悔時光匆促與不回頭。感念與感謝阿斌學長在身旁的時光，願阿斌學長在另一個國度笑聲爽朗依舊，快樂依舊。

張和明

特有生物研究保育中心 植物組研究助理







# 懷文抱質

論文精選

# 西表島的紅樹林

1998 林業試驗所專訊26：12-13

- ◎森林生物系·邱文良、鄭育斌
- ◎中埔分所·何坤益
- ◎特有生物研究保育中心·薛美莉

西表島(Iriomote Island)為琉球群島(八重山群島)南方之一小島，面積約有28,400公頃，是該群島第二大島。位於北緯24° 24'，東經123° 47'，離沖繩本島西南約450公里，台灣東方約200公里，全島90%由山地構成，最高為克見岳469.7公尺，終年溫度變化不大，年均溫23.8℃，濕度79%，年降雨量2,457公釐。夏季受太平洋高壓影響，溫度偏高，溫暖潮濕的南風帶來豐沛水汽；冬季受大陸冷高壓影響，東北風強勁，濕冷的東北季風與黑潮暖流混合，造成濕冷多雨的天氣，這種氣候和台灣東北部的冬季氣候極為相似。海域有豐富之珊瑚礁，河口以紅樹林為優勢，內陸地區為保持完整的森林。



浦內川河口紅樹林





紅茄苳果實



野藪木及其直立呼吸根

西表島上紅樹林樹種有水筆仔(*Kandelia candel*)、紅茄苳(*Bruguiera conjugate* (L.) Merr.)、紅海欖(*Rhizophora stylosa* Griff)、海茄苳(*Avicennia marina* Vierh.)、欖李(*Lumnitzera racemosa* Willd.)、野藪木(*Sonneratia alba* Griff)及水椰(*Nypa fruticans* (Thunb.) Wurmb)等7種。各溪流河口處之紅樹林生長茂盛，以紅茄苳為主，其它如紅海欖、海茄苳、欖李及水筆仔等，生長及更新狀況均良好，野藪木則主要生長在東南側(如仲間川、後良川等)之河口或近河口處。水椰是一種棕櫚科植物，雖在東南亞有大面積之生長，在西表島卻只20餘株，侷限在Funa-ura Bay附近之紅樹林內，該族群究竟如何產生，及其變遷之歷史，則仍不為人知。由於本區之水椰數量稀少，受到當地政府嚴密的保護，甚至研究人員亦不得隨意採摘。

西表島無論是大大小小的河流都可見紅樹林的蹤跡，尤其下游出海口附近往往形成整片完整的紅樹林林相。由這些大大小小的紅樹林觀之，顯示紅茄苳似乎是紅樹林的極盛相，部份紅茄苳純林，其胸徑多超過20公分以上，惟少見小苗之更新，據琉球大學馬場教授表示，孔隙應為其更新之主要機制。





水椰植株。



琉球大學馬場教授手示數年前泥沙未被沖蝕前之沖積位置。

自河口溯河而上，往上游之林相則參雜許多半紅樹類之樹種，有水黃皮、黃槿、草海桐、土沉香、繖楊、水荳蔻、欖仁舅、林投、穗花棋盤腳等，愈往上游，杜英、琉球石斑木、長尾栲、銀葉樹、小葉樹杞、茄苳等較屬內陸之種類則相繼出現。由河之下游漸往上游，土壤及水中鹽度漸次減低，隨著鹽份梯度變化，樹種依其耐鹽度漸次變化，沿途由海岸紅樹林漸漸變化為非紅樹林之內陸林相。

當地完整之生態系及紅樹林之特殊景觀，每年均吸引許多的旅客到此進行生態旅遊，幾條大河(特別是仲間川與浦內川)更有遊艇之經營，提供遊客搭乘，沿河參觀，同時，在不破壞植物與景觀的原則下，亦允許遊客自行划船，兼具運動與觀光功能，由於划船不需使用燃料，可減少對環境之衝擊。

Funa-ura Bay在西表島北邊，為直接面海的海灣，因有廣大潮間帶緩衝，所以沒有生育地土壤被海水沖刷的問題，直到數年前當地政府於灣內興建一橫跨出海口的路堤，僅留一橋及二涵洞疏通流水，漲潮時堤內成為湖泊狀，水流不斷拍打淺岸，加上退潮時經由涵洞之水流增強，而加速沖刷，造成部份地方泥沙嚴重流失，實是始料未及，也凸顯環境影響評估的準確性對日後建設的影響。





以涵箱試驗栽植紅樹林於沖繩島海堤。

紅樹林植物的特殊構造，如發達的呼吸根或支柱根，特殊的排鹽構造，使其能生長於高鹽度和周期性浸水的環境，而具有防風、固堤、抑止海水倒灌等功能，大量的有機質提供豐富的食物來源，增加沿海或瀉湖的漁獲量。西表島雖有豐富的紅樹林，但琉球群島之其它島嶼並非如此，因此在沖繩本島，有紅樹林苗圃，根據紅樹林樹種的生理、生態特性，創造適合育苗的環境，由小苗到大苗，發展特殊的栽植容器和栽植方式，嘗試將紅樹林植物用於海堤綠化，同時盼能增加漁獲量，此雖尚屬試驗階段，堪稱一大創舉。此外，部份地區如沖繩國立紀念公園之熱帶植物園，亦在淡水池塘成功的栽種紅樹林植物，顯示鹽水並非其生長之必要條件，此或可供國內淡水環境綠美化之參考。

西表島上有商家專賣該島原生植物之產製品，如由月桃與野生香蕉抽取之纖維所製之紙張，由紅樹林樹種及福木等提煉之染料所染之布匹，還有由各種其它植物所製成之布料與衣服、不同植物之木雕品等。維護固有文化，人人有責，此種「禮失求諸野」之作法，有其深遠之作用，亦發人省思。



Research paper

## Low Genetic Diversity of *Cycas taitungensis* (Cycadaceae), an Endemic Species in Taiwan, Revealed by Allozyme Analysis

Tsan-Piao Lin,<sup>1,3)</sup> Yu-Ching Sun,<sup>2)</sup> Hann-Chung Lo,<sup>2)</sup> Yu-Pin Cheng<sup>1)</sup>

[ Summary ]

The purpose of this study was to investigate the population genetic structure of *Cycas taitungensis* C. F. Shen, K. D. Hill, C. H. Tsou & C. J. Chen using isozyme techniques. Only 2 isolated populations of *C. taitungensis* were found in the southeastern part of Taiwan. Nineteen enzyme systems examined were encoded by 40 putative loci. All loci were monomorphic with the exception of *Mdh-2*, which was resolved into 3 alleles. The mean number of alleles per locus of these 2 populations, Luyei River and Coastal Range, was 1.08 vs. 1.05, with an average of 1.07. The mean effective number of alleles was considerably low, averaging 1.01 for both populations. The mean percentage of polymorphic loci and average value were both 2.5%. Mean heterozygosity was 0.014 for Luyei River and 0.011 for Coastal Range, with an average of 0.013. In conclusion, *C. taitungensis* exhibits extremely low levels of genetic diversity. Wright's  $F_{st}$  statistics showed negative values. The  $\chi^2$  analyses revealed that the observed distribution of genotypes for *Mdh-2* within population was in Hardy-Weinberg equilibrium. In terms of genetic differentiation among populations, the  $F_{st}$  value was 0.034; thus more than 96% of the genetic diversity resided within a population, and the genetic differentiation between populations was low.

**Key words:** *Cycas taitungensis*, allozyme, genetic variation.

Lin TP, Sun YC, Lo HC, Cheng YP. 2000. Low genetic diversity of *Cycas taitungensis* (Cycadaceae), an endemic species in Taiwan, revealed by allozyme analysis. Taiwan J For Sci 15(1):13-9.

研究報告

## 同功酶分析顯示台灣固有種台東蘇鐵之低遺傳歧異度

林讚標<sup>1,3)</sup> 孫于卿<sup>2)</sup> 羅漢強<sup>2)</sup> 鄭育斌<sup>1)</sup>

摘要

本研究目的在利用同功酶技術以探討台東蘇鐵之族群遺傳結構。僅有二個台東蘇鐵族群現存於台灣東南部。所分析的19個酵素系統共有40個基因座，除*Mdh-2*（共有三個對偶基因）外其餘基因座

<sup>1)</sup>行政院農業委員會林業試驗所育林系，台北市100南海路53號 Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup>國立台灣大學森林系，台北市106羅斯福路四段1號 Department of Forestry, National Taiwan University, 1 Sec. 4, Roosevelt Rd., Taipei 106, Taiwan.

<sup>3)</sup>通訊作者 Corresponding author

1999年9月送審 1999年10月通過 Received September 1999, Accepted October 1999.



均屬單型性。每基因座之對偶基因數目，鹿野溪與海岸山脈族群各 1.08 個與 1.05 個，平均 1.07 個。有效對偶基因數目極低，平均僅 1.01 個。多型性基因座百分比與其平均數均為 2.5%。平均之異質性鹿野溪為 0.014，而海岸山脈為 0.011，平均為 0.013。因此台東蘇鐵具有極低之遺傳變異。F 值統計均呈負值，經  $X^2$  分析顯示 *Mdh-2* 在族群內之基因型分佈符合哈溫平衡定律。在族群間分化方面， $F_{st}$  值為 0.034，因此大部份 (96%) 之遺傳變異存在於族群之內，分化程度甚微。

關鍵詞：台東蘇鐵、同功酶、遺傳變異。

林讚標、孫于卿、羅漢強、鄭育斌。2000。同功酶分析顯示台灣固有種台東蘇鐵之低遺傳歧異度。台灣林業科學 15(1):13-9。

## INTRODUCTION

*Cycas taitungensis*, previously misidentified as *C. taiwaniana*, is endemic to Taiwan (cf. Shen et al. 1994). It is distributed in the southeastern part of the island. Only 2 isolated populations about 30 to 40 km apart are known. One is restricted to a ravine along the Luyei River (ca. 121°00'E, 22°52'N in Yenping Hsiang, Taitung County, ca. 300 ha), and the other is located on a mountain area of the Coastal Range (ca. 121°15'E, 23°05'N, in Tungh Hsiang, Taitung County, ca. 30 ha).

*Cycas taitungensis* is a dioecious and obligate outcrossing species. Mature female individuals bear large, heavy sinking seeds, which are different from the buoyant seeds usually produced by many other cycads (Dehgan and Yuen 1983). It is a shade-intolerant species with a poor capacity for natural regeneration. The plants favor exposed rock and steep slopes or well-drained gravel land of 400-800 m in elevation. Due to human collecting and habitat disturbance, the species has become endangered with small and isolated populations (Lu 1996). In general, endemic species may maintain lower levels of genetic diversity than widespread species (Hamrick et al. 1992).

Enzyme electrophoresis is an appropriate technique to investigate population genetic structure and population differentiation. In addition, allozyme diversity can be used as a yardstick when establishing conservation pro-

grams (Hamrick et al. 1991). The purposes of this study are to estimate the genetic diversity maintained in the species and to investigate the distribution of genetic variation within and among these 2 extant populations of *C. taitungensis* based on isozyme data.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling

The distributions of populations of *C. taitungensis* at the Luyei River (on the Central Range side) and on the Coastal Range, are shown in figure 1. The sample sizes of these 2 populations were 108 and 31, respectively. Young leaves were collected from the field, carried back to the lab in sealed PE bags and stored in a refrigerator. Samples were ground with extraction buffer according to the protocols of Walters and Decker-Walters (1991), absorbed onto Whatman 3 mm filters (4 × 12 mm), and stored at -70°C until use.

### Electrophoresis

Horizontal starch gel electrophoresis was used to examine 19 enzyme systems: ALD (aldolase, E.C.4.1.2.13.), DIA (diaphorase, E.C.1.8.1.4), EST (esterase, E.C.3.1.1.1.), FDH (formate dehydrogenase, E.C.1.2.1.2.), F-EST (esterase-fluorescent, E.C.3.1.1.1.), GDH (glutamate dehydrogenase, E.C.1.4.1.2.), G3PDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,



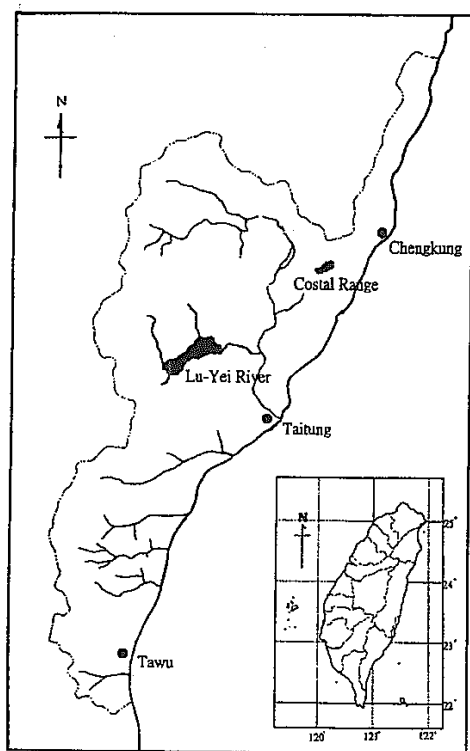


Fig. 1. Location of two sample populations of *Cycas taitungensis* in Taiwan ; lu-yei river and coastal range.

E.C.1.2.1.13.), G6PDH (glucose-6-phosphate dehydrogenase; E.C.1.1.1.49), IDH (isocitrate dehydrogenase, E.C.1.1.1.42.), MDH (malate dehydrogenase, E.C.1.1.1.37.), ME (malic enzyme, E.C.1.1.1.40.), MR (menadione reductase, E.C.1.6.99.2.), PC (phosphoenolpyruvate carboxylase, E.C.4.1.1.31.), 6PGD (6-phosphogluconic dehydrogenase, E.C.1.1.1.44.), PGI (phosphoglucose isomerase, E.C.5.3.1.9.), PGM (phosphoglucosmutase, E.C.5.4.2.2.), RBC (ribulose biphosphate carboxylase, E.C.4.1.1.39), SKDH (shikimate 5-dehydrogenase, E.C.1.1.1.25.), and SOD (superoxide dismutase, E.C.1.15.1.1.). Enzymes were resolved on an 11% starch gel. Electrophoresis and staining followed the procedures described by

Cheliak and Pitel (1984) and Walters and Decker-Walters (1991).

**Data analysis**

The following genetic parameters were estimated using the Biosys-1 package (Swoford and Selander 1989): the mean number of alleles per locus (A); the proportion of polymorphic loci (P); the effective number of alleles per locus ( $A_e$ ) (Crow and Kimura, 1970); the average observed heterozygosity ( $H_o$ ); and the average expected heterozygosity ( $H_e$ ) (Nei 1978). Wright's (1965) F-statistics ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$ , and  $F_{st}$ ) were used to quantify the degree of differentiation among populations and to describe the genetic structure of this species. Chi-square tests following Li and Horvitz (1953) were used to test significant deviations at each polymorphic locus of *C. taitungensis*.

**RESULTS**

The 19 enzyme systems examined were encoded by 40 putative loci. All loci were monomorphic, except for *Mdh-2*, which was resolved into 3 alleles, *Mdh-2a*, *Mdh-2b*, and *Mdh-2c*. The observed allele frequencies as well as the observed and expected heterozygosities of the polymorphic locus are shown in Table 1.

The mean number of alleles per locus of

**Table 1. Allele frequencies and expected ( $H_e$ ) and observed ( $H_o$ ) heterozygosities of the polymorphic locus *Mdh-2* in 2 populations of *Cycas taitungensis***

Locus/Allele	Population		Avg.
	Luyei River	Coastal Range	
<i>Mdh-2</i>			
a	0.051	0.000	0.026
b	0.495	0.339	0.417
c	0.453	0.661	0.557
$H_o$	0.198	0.306	0.252
$H_e$	0.252	0.198	0.225



**Table 2. Genetic diversity statistics for each population of *Cycas taitungensis***

Population	Mean sample size per locus (N)	Mean no of alleles per locus (A)	Mean effective no. of alleles per locus ( $A_e$ )	Percentage of polymorphic loci <sup>1)</sup> (P)	Mean heterozygosity	
					observed ( $H_o$ )	expected ( $H_e$ )
Luyei river	107	1.08	1.01	2.5	0.011	0.014
Coastal range	31	1.05	1.01	2.5	0.017	0.011
Average	69	1.07	1.01	2.5	0.014	0.013

<sup>1)</sup> The frequency of the common allele is < 0.95.

these 2 populations, Luyei River and Coastal Range, is 1.08 vs. 1.05, with an average of 1.07. The mean effective number of alleles is considerably low, averaging 1.01 for both populations. The mean percentages of polymorphic loci and average value are both 2.5%. Mean heterozygosity is extremely low, at 0.014 for Luyei River and 0.011 for Coastal Range, with an average of 0.013 (Table 2). In conclusion, *C. taitungensis* exhibits low levels

**Table 3. F-statistics and chi-square test for polymorphic loci in populations of *Cycas taitungensis***

	$\chi^2$	d.f.	$F_{is}$	$F_{it}$	$F_{st}$
<i>Mdh-2</i>	3.550	3	-0.113	-0.075	0.034

of genetic diversity.

Wright's F-statistics was used to analyze the genetic structure of *C. taitungensis* (Table 3);  $F_{is}$  and  $F_{it}$  show that the extent of allele frequency deviates from Hardy-Weinberg expectation at both population and species levels, respectively. The  $\chi^2$  analyses reveal that the observed distribution of genotypes for *Mdh-2* within population is in Hardy-Weinberg equilibrium. The  $F_{it}$  value also shows a negative value and is not significant. The  $F_{st}$  value was estimated to be 0.034. Thus more than 96% of the genetic diversity resides within populations, and the genetic differentiation between populations is low.

**Table 4. Levels of allozyme variation within population for several cycad species**

Species	N <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>	$A_e$ <sup>3)</sup>	P <sup>4)</sup>	$H_o$ <sup>5)</sup>	$H_e$ <sup>5)</sup>	Reference
<i>Cycas taitungensis</i>	2	1.07	1.01	2.50	0.014	0.013	this study
<i>C. pectinata</i>	11	1.82	2.40	58.8	0.066	0.076	Yang and Meerow 1996
<i>C. pectinata</i> var. <i>elongata</i>	5	1.41	2.40	29.4	0.069	0.078	Yang and Meerow 1996
<i>C. pectinata</i> var. <i>pectinata</i>	6	1.70	2.33	52.9	0.062	0.078	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i>	13	1.48	2.21	58.9	0.114	0.134	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>clivicola</i>	7	1.47	2.14	41.2	0.036	0.036	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>chumphon</i>	2	1.35	2.20	29.4	0.054	0.065	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>lindstromii</i>	2	1.53	2.13	47.1	0.162	0.170	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>khaochamao</i>	1	1.47	2.14	41.2	0.150	0.154	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>takfa</i>	1	1.24	2.00	23.5	0.072	0.066	Yang and Meerow 1996
<i>C. siamensis</i> ssp. <i>saraburi</i>	1	1.06	2.00	5.90	0.009	0.008	Yang and Meerow 1996
<i>Zamia pumila</i>	2	1.21	2.25	16.7	0.047	0.041	Walters and Decker-Walters 1991
<i>Macrozamia communis</i>	5	1.61	2.22	50.0		0.045	Ellstrand et al. 1990
Gymnosperms	102	1.83	1.20	53.4		0.151	Hamrick et al. 1992

<sup>1)</sup> Number of studied populations.

<sup>2)</sup> Mean number of alleles per locus.

<sup>3)</sup> Mean effective no. of alleles per locus.

<sup>4)</sup> Percentage of polymorphic loci.

<sup>5)</sup> Mean observed and expected heterozygosities.



## DISCUSSION

The results of this study show that *C. taitungensis* has extremely low levels of genetic diversity, lower than the averages of both gymnosperm species ( $H_e = 0.151$ ) and endemic species ( $H_e = 0.056$ ) (Hamrick et al. 1992). Compared to other cycads (Ellstrand et al. 1990, Walters and Decker-Walters 1991, Yang and Meerow 1996), *C. taitungensis* appears to have the lowest genetic diversity (Table 4).

Genetic diversity is often attributed to local adaptations to environmental variations (Hamrick et al. 1992). The low genetic diversity detected in *C. taitungensis* might be correlated with the geological history of Taiwan. It was reported that during the late Pleistocene, drastic climatic changes occurred in Taiwan in the Tali glacial stage about 50,000 to 15,000 BP (Tsukada 1967). During this period, the average temperature dropped, which allowed temperate plants to dominate the lowlands (Tsukada 1966). Subtropical plants like *C. taitungensis* might have been wiped out from most parts of Taiwan. The surviving populations of *C. taitungensis* were forced to migrate into the supposed glacial refugia. Then when the glaciers retreated, *C. taitungensis* adapted to the local environment. Due to the limited seed dispersal capability and the narrow habitat requirements, this relic species has had a restricted distribution since then.

Endemic species or species with limited distribution ranges usually have smaller effective population sizes due to the likely loss of genetic variation via genetic drift. Generally such species are expected to have lower genetic diversity (Hamrick et al. 1992). It is obvious that the majority of loci, except for *Mdh-2*, are fixed. *Mdh-2a*, a rare allele, was absent from the Coastal Range population,

which agrees with a greater effect of genetic drift in a smaller population.

High levels of inbreeding might be expected to occur in *C. taitungensis* because of its large, heavy seeds, which result in sibling progeny growing in close proximity to each other. However this can not possibly happen in *C. taitungensis* due to it being dioecious and its obligate outcrossing, which apparently contributes to excess heterozygosity.

Genetic differentiation is principally regulated by gene flow, via pollen and seed dispersal among populations (Loveless and Hamrick 1984, Ellstrand and Marshall 1985). In general, widespread species or species with continuous distribution ranges should have higher levels of gene flow than species with restricted or isolated populations (Gibson and Hamrick 1991). In contrast, less than 4% genetic variation was found between the 2 populations of *C. taitungensis*. The level of genetic differentiation is obviously lower than the average for gymnosperms ( $G_{st} = 0.073$ ,  $G_{st}$  being an analog of  $F_{st}$ ) (Hamrick et al. 1992).

Efficient gene flow via pollen dispersal might be one of the reasons for reduced genetic differentiation. Higher differentiation would be expected if a maternally inherited genome (possibly mitochondria) were examined. But it is questionable that the gene flow through pollen can be attained over distances of 30 to 40 km.

Another possibility for the low level of genetic differentiation is the separation between populations being recent. *C. taitungensis* might have been scattered throughout the entire area before habitat fragmentation occurred. Walters and Decker-Walters (1991) hypothesized that cycads have slower rates of biochemical evolution than other seed plants, which accordingly might not allow sufficient



genetic variation to accumulate in the lineage of *C. taitungensis*. As a result both low genetic variation and low differentiation between these 2 populations thereby occurred.

In summary, *C. taitungensis* maintains a tremendously low level of genetic diversity. From the viewpoint of habitat conservation, the effective population size is one of the most critical considerations for rescuing the remaining genetic diversity.

The Eastern Coastal Range is separated geographically from the Central Range by the narrow Taitung Valley Plain. Geotectonic evidence reveals that the Coastal Range Island have been colliding with the Gutaiwan Block, which is rifted Eurasian continental margin or incipient Taiwan Terrain. At about 3 Ma, this narrow Coastal Range Island began to indent into the Gutaiwan Block virtually completing the basic geotectonic process of the current island of Taiwan (Lu and Hsu 1992). The continuous collision between the Coastal Range and Taiwan Terrain has probably affected the present distribution of *C. taitungensis*, which possibly previously existed in the common geographical area. The sinking seeds of *C. taitungensis* prevent dispersal via flotation, which frequently occurs in other cycads (Dehgan and Yuen 1983). If the populations could be maintained in the future, increasing genetic distance between populations would be expected.

#### LITERATURE CITED

- Cheliak WM, Pitel JA. 1984.** Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Chalk River (Ontario): Petawawa National Forestry Institute, Can Forestry Serv Inf Rep PI-X-42, p 19-45.
- Crow JF, Kimura M. 1970.** An introduction to population genetics theory. New York: Harper and Row.
- Dehgan B, Yuen KKH. 1983.** Seed morphology in relation to dispersal, evolution, and propagation of *Cycas* L. *Bot Gaz* 144(3):412-8.
- Ellstrand NC, Tretiak DL. 1985.** Interpopulational gene flow by pollen in wild radish, *Raphanus sativus*. *Am Nat* 126:606-16.
- Ellstrand NC, Ornduff R, Clegg JM. 1990.** Genetic structure of the Australian cycad, *Macrozamia communis* (Zamiaceae). *Am J Bot* 77(5):677-81.
- Gibson JP, Hamrick JL. 1991.** Genetic diversity and structure in *Pinus pungens* (table mountain pine) populations. *Can J Bot* 69: 1685-93.
- Hamrick JL, Godt MJ, Murawski DA, Loveless MD. 1991.** Correlation between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. In: Falk DA, Hollinger KE, editors. *Genetics and conservation of rare plants*. New York: Oxford Univ Press. p 75-86.
- Hamrick JL, Godt MJ, Sherman-Broyles SL. 1992.** Factors influencing levels of genetic diversity in wood plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- Li CC, Horvitz DG. 1953.** Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Am J Hum Genet* 5:107-17.
- Loveless MD, Hamrick JL. 1984.** Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann Rev Ecol Syst* 15:65-95.
- Lu CY, Hsu KJ. 1992.** Tectonic evolution of the Taiwan mountain belt. *Petr Geol Taiwan* 27:21-46.
- Lu SY. 1996.** Rare and endangered plants in Taiwan. vol. I. Taipei (Taiwan): Council of Agriculture, Executive Yuan, 163 p.
- Nei M. 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-90.
- Shen CF, Hill KD, Tsou CH, Chen CJ. 1994.** *Cycas taitungensis* C. F. Shen, K. D.



Hill, C. H. Tsou & C. J. Chen, sp. Nov. (Cycadaceae), a new name for the widely known cycad species endemic in Taiwan. Bot Bull Acad Sinica 35:133-40.

**Swofford DL, Selander RK. 1989.** BIOSYS-1, a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Urbana, IL: Univ of Illinois.

**Tsukada M. 1966.** Late Pleistocene vegetation and climate in Taiwan (Formosa). Proc Natl Acad Sci USA 55:543-48.

**Tsukada M. 1967.** Vegetation in subtropical Formosa during the Pleistocene glaciations

and the Holocene. Palaeogeogr Palaeoclim Palaeoecol 3:49-64.

**Walters TW, Decker-Walters DS. 1991.** Patterns of allozyme diversity in the West Indies cycad *Zamia pumila* (Zamiaceae). Am J Bot 78(3):436-45.

**Wright S. 1965.** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19:395-420.

**Yang SL, Meerow AW. 1996.** The *Cycas pectinata* (Cycadaceae) complex: genetic structure and gene flow. Int J Plant Sci 157(4):468-83.



## 研究簡報

## 紀台灣原生植物之新栽培品種 (四)

呂勝由<sup>1,2)</sup> 鄭育斌<sup>1)</sup> 陳舜英<sup>1)</sup>

## 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生栽培品種，即 '紅芽黃槿' *Hibiscus tiliaceus* 'Reddish-brown Leaf' (錦葵科)，'羽葉小葉朴' *Celtis nervosa* 'Pinnatifid Leaf' (榆科)，'厚葉黃金榕' *Ficus microcarpa* 'Thick Golden Leaf' (桑科)，'深裂三角楓' *Acer buergerianum* var. *formosanum* 'Parted Leaf' (槭樹科)。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、木槿屬、朴屬、榕屬、槭屬。

呂勝由、鄭育斌、陳舜英。2001。紀台灣原生植物之新栽培品種(四)。台灣林業科學 16(1):39-42。

## Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (IV)

Sheng-You Lu,<sup>1,2)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1)</sup> Shun-Ying Chen<sup>1)</sup>

## 【Summary】

Four cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Hibiscus tiliaceus* 'Reddish-brown Leaf' (Malvaceae), *Celtis nervosa* 'Pinnatifid Leaf' (Ulmaceae), *Ficus microcarpa* 'Thick Golden Leaf' (Moraceae), *Acer buergerianum* var. *formosanum* 'Parted Leaf' (Aceraceae). These 4 cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words:** cultivar, *Hibiscus*, *Celtis*, *Ficus*, *Acer*.

LU SY, CHENG YP, CHEN SY. 2001. New cultivars from native plants of Taiwan (IV). Taiwan J For Sci 16(1): 39-42.

在原生植物的蒐集與培育過程中，往往可發現許多具特殊形態的變異株。形態變異的產生可能導自自然的因素，如突變、雜交等 (Wang and Hu 1996, Wang et al. 1996)；也可能因人為的誘變而發生，如基因轉殖、X 光照射及人工雜交等因素 (Lin et al. 1999)。栽培品種的產生即是選取具優良性狀的變異株，經由有性或無性的繁殖過程培育後，經長期觀察其變異，若特殊形態變異為穩定性狀，即將之命名為新栽培品

種。

本文描述四種新栽培品種植物：'紅芽黃槿' 為黃槿的天然變異株。'羽葉小葉朴' 係由小葉朴種子苗篩選出的葉部變異株。'厚葉黃金榕' 為正榕的天然變異株。'深裂三角楓' 為台灣三角楓的天然變異株。此四種植物因各具特色，具觀賞價值，值得作為綠美化樹種。

1. *Hibiscus tiliaceus* 'Reddish Brown Leaf' 紅芽黃槿

<sup>1)</sup>行政院農業委員會林業試驗所森林生物系，100 台北市南海路 53 號 Division of Forest Biology, Taiwan Forest Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup>通訊作者 Corresponding author

2000 年 8 月送審 2000 年 12 月通過 Received August 2000, Accepted December 2000.



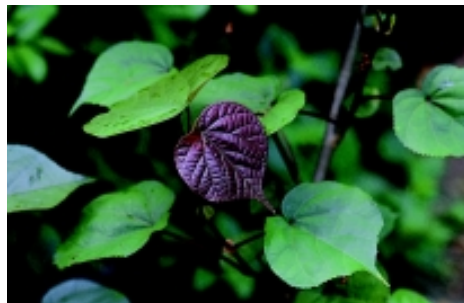


Fig. 1. *Hibiscus tiliaceus* 'Reddish-brown Leaf' (紅芽黃槿).



Fig. 2. *Celtis nervosa* 'Pinnatifid Leaf' (羽葉小葉朴).

(Figs. 1 and 5a).

*A typo folio primitivo rubiginoso differt.*

Leaves 8-14 cm long, 9-18 cm broad. Young leaves reddish brown. Standard: *S.Y. Lu 25630* (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in Taipei Botanical Garden.

註：本品種最早發現於雲林西螺一帶，與原種的差異在於新葉為紅褐色。本品種經作者等在台北植物園栽培、觀察結果，確定其性狀極為穩定，而且生長良好，無性繁殖容易，為十分優良的觀賞植物，本品種以「紅芽」為其雅名。

2. *Celtis nervosa* 'Pinnatifid Leaf' 羽葉小葉朴 (Figs. 2 and 5b).

*A typo folio pinnato differt.*

Leaves coriaceous, ovate to lanceolate, 2-5 cm long, 1.5-3 cm broad, margins serrate, parted to 3-lobed. Standard: *S.Y. Lu 25631* (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in Taipei Botani-



Fig. 3. *Ficus microcarpa* 'Thick Golden Leaf' (厚葉黃金榕).



Fig. 4. *Acer buergerianum* var. *formosanum* 'Parted Leaf' (深裂三角楓).

cal Garden.

註：本品種為第一作者於81年在恆春關山一帶採集小葉朴果實，經播種後選育出葉形變異的單株，與原種之差異在於葉呈羽裂狀。經作者等多年的觀察，發現其性狀十分穩定，為優良的觀賞植物。本品種以「羽葉」為其雅名。

3. *Ficus microcarpa* 'Thick Golden Leaf' 厚葉黃金榕 (Figs. 3 and 5c).

*A typo folio crassiore coriaceo apice rotundo vel obtuso differt.*

Leaves yellow, thick coriaceous, glabrous, obovate to elliptic, 4-8 cm long, 3.5-5.5 cm broad, apex rounded to obtuse, base cuneate. Young leaves reddish. Standard: *S.Y. Lu 25632* (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in Taipei Botanical Garden.

註：本省零星栽培，據說最早是採自綠島而加以繁殖者。經作者等在台北植物園栽植、觀察結果，確定其性狀穩定，而且生長良好，





**Fig. 5. Leaves of 4 cultivars: a. *Hibiscus tiliaceus* 'Reddish-brown Leaf', b. *Celtis nervosa* 'Pinnatifid Leaf', c. *Ficus microcarpa* 'Thick Golden Leaf', d. *Acer buergerianum* var. *formosanum* 'Parted Leaf'.**

繁殖容易。本品種與黃金榕 (*F. microcarpa* 'Golden Leaves'; Liao 1991) 差異在於葉呈厚革質，新葉呈淡紅色。

4. *Acer buergerianum* var. *formosanum* 'Parted Leaf' 深裂三角楓 (Figs. 4 and 5d).

*A typo folio profunde lobato differt.*

Leaves deeply 3-lobed near apex, base rounded or slightly cordate, 3-6 cm long, 2-7 cm broad.

Standard: *S.Y. Lu 25633* (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in Taipei Botanical Garden.

註：本品種為台灣三角楓實生苗中選出的葉變異株，其與原種主要差異在於葉片深裂，相當別緻，故以深裂三角楓為雅名。本品種生長良好，性狀穩定，但生長速度較慢。

本文四種栽培品種均由原生種選育出，各具有特色。依照其一般園藝及景觀綠化之實用



性加以考量，分析各品種如下：'紅芽黃槿'，原種黃槿生性強健，原本即屬於海岸樹種，抗風、耐鹽性佳，適合全日照環境生長。而紅芽黃槿除保有原種特性外，紅色的新葉更增添其園藝觀賞性，在綠美化用途上，可供作海岸防風林、行道樹、添景樹和盆栽等用途。'羽葉小葉朴'，由小葉朴種子苗篩選出，耐風、耐旱性佳，生性強健。羽裂的葉形變化，增加其園藝觀賞性，適合作為盆栽使用。'厚葉黃金榕'，係由厚葉榕篩選出的黃葉變異株，生性強健，可供作為海岸防風林、行道樹、添景樹及綠籬使用。'深裂三角楓'，為台灣三角楓種子苗篩選出之變異株，生長良好，葉片深裂相當別緻，具觀賞價值，適合作為盆栽觀賞。

## 謝誌

本研究承行政院農業委員會林業試驗所(89林試-植物園-01)經費提供，特予致謝。

## 引用文獻

- Liao JC. 1991.** The taxonomic revisions of the family Moraceae in Taiwan. Taipei: Department of Forestry, College of Agriculture, Natl. Taiwan Univ. 193 p.
- Lin Y, Kuo SR, Chen ZZ. 1999.** Effects of foreign OMT DNA expression on growth performance and physiological characteristics of sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) tree. Taiwan J For Sci 14 (1):77-86.
- Wang WY, Chen PS, Lu SY. 1996.** Spontaneous hybridization between *Acer buergerianum* var. *formosanum* and *A. albopururascens* in Taipei Botanical Garden revealed by RAPD marker. Taiwan J For Sci 11(3):315-22.
- Wang WY, Hu ML. 1996.** Interspecies hybridization between *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* identified by RAPD markers. Taiwan J For Sci 11 (4):401-8.



## 研究報告

## 關渡自然保留區 1986-1998 年植群變遷

李建堂<sup>1,3)</sup> 鄭育斌<sup>2)</sup> 邱文良<sup>2)</sup> 林則桐<sup>2)</sup> 陳建文<sup>2)</sup> 王儀臻<sup>1)</sup>

## 摘要

本研究利用系統調查關渡自然保留區於1998年的植物社會。全區共設置16條南北向樣線，紀錄每一樣線的植物組成及相對覆蓋度，並沿樣線每隔 20 m 取 2 × 2 m 的小樣區，紀錄植物組成、覆蓋度、水筆仔數量及胸高直徑。同時沿各樣線每隔 10 m 紀錄所在的生育地類型，並量測高程。調查結果用來和1986年的結果比較，以瞭解關渡自然保留區植物社會在 1986-1998 年間的變遷情形，並推估研究區的平均堆積速率。研究結果顯示，在 1986 年以單葉鹹草、蘆葦和水筆仔為優勢植物社會的草澤地，已轉變成以水筆仔和蘆葦為優勢的林澤。水筆仔、蘆葦和裸露地的樣線覆蓋度分別為 61.3、25.5 和 13.2%，而單葉鹹草則已完全消失，水筆仔的相對覆蓋度約佔 1998 年植群總面積的 70.6%。樣區調查得到水筆仔的總株數為 3666 株，其中樹木與苗木數量的比例約為 1: 3.8，而其胸徑分布與 1986 年時相同，皆呈反 J 型，顯示其更新良好，仍具有擴展的空間。植物社會的海拔高程量測結果顯示，水筆仔和蘆葦的海拔分布幅度分別在 0.2-1.3 m 和 0.3-1.6 m 之間，而裸地高程則在 1.2 m 以下。蘆葦生育地的海拔高程分布高於水筆仔，且兩者之間呈顯著的差異 ( $\alpha = 0.05$ )，與 1986 年的結果相同。在 1986-1998 年間，研究區每年的平均堆積速率約 2.0 cm。

**關鍵詞：**關渡自然保留區、水筆仔、堆積速率。

李建堂、鄭育斌、邱文良、林則桐、陳建文、王儀臻。2002。關渡自然保留區 1986-1998 年植群變遷。台灣林業科學 17(1): 41-50。

## Research paper

## Vegetation Changes at the Kuantu Nature Reserve during 1986-1998

Cheing-Tung Lee,<sup>1,3)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>2)</sup> Wen-Liang Chiou,<sup>2)</sup> Tzer-Ton Lin,<sup>2)</sup>  
Chien-Wen Chen,<sup>2)</sup> I-Chen Wang<sup>1)</sup>

## 【 Summary 】

A systematic survey was used to investigate the vegetation structure of the Kuantu Nature Reserve, northern Taiwan in 1998. In totals 16 transects were carried out in the study area to investigate vegetation types and relative coverage. Meanwhile, along with

<sup>1)</sup>國立臺灣大學地理環境資源學系，臺北市 106 羅斯福路四段一號 Department of Geography, National Taiwan University, 1, Sec. 4, Roosevelt Rd., Taipei 106, Taiwan.

<sup>2)</sup>行政院農業委員會林業試驗所生物系，臺北市 100 南海路 53 號 Division of Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>3)</sup>通訊作者 Corresponding author

2001 年 5 月送審 2001 年 9 月通過 Received May 2001, Accepted September 2001.



each transect, a 2 x 2-m quadrat was sampled with 20-m intervals to record vegetation type, coverage, numbers of *Kandelia*, and the diameter of *Kandelia* at breast height. Additionally, field elevation surveys were conducted along with each transect at 10-m intervals. The results were used to compare with findings from 1986 in order to understand how the vegetation has changed during 1986-1998 and to estimate the accretion rate in the study area. The results revealed that the marsh habitat in 1986, dominated by *Cyperus*, *Phragmites*, and *Kandelia*, had changed into a swamp habitat dominated by *Kandelia* and *Phragmites* by 1998. Transect coverages of *Kandelia*, *Phragmites*, and bare land were 61.3, 25.5, and 13.2%, respectively, and *Cyperus* had disappeared. Relative coverage of *Kandelia* in the study area was approximately 70.6% of the total vegetation area. The total number of *Kandelia* was 3666, of which the ratio of samplings and trees to seedlings was about 1:3.8. The size-class distribution of the *Kandelia* population showed a reversed J-shape which is similar to the results from 1986. The elevation range for *Kandelia* and *Phragmites* was 0.2-1.3 and 0.3-1.6 m, respectively. Elevation of bare land was below 1.2 m. The elevation range of *Kandelia* significantly differed from that of the *Phragmites* ( $\alpha = 0.05$ ), a result similar to that from 1986. On average, the accretion rate in the study area during 1986-1998 was about 2.0 cm/yr.

**Key words:** Kuantu Nature Reserve, *Kandelia*, accretion rate.

Lee CT, Cheng YP, Chiou WL, Lin TT, Chen CW, Wang IC. 2002. Vegetation changes at the kuantu nature reserve during 1986-1998. Taiwan J For Sci 17(1):41-50.

## 緒言

淡水河口的水筆仔(*Kandelia candel* (L.) Druce)紅樹林主要集中於竹圍、關渡與挖仔尾三處，目前此三處地區皆已公告為自然保留區，其中關渡地區的水筆仔有明顯的擴張現象。由歷史之航空照片判釋可知，關渡沼澤地於1962年仍以稻田及菜園為主，僅在沙洲前端有少部分蘆葦(*Phragmites communis* (L.) Trin.)分布。堤防外的沼澤區於1978年時，仍以蘆葦及單葉鹹草(*Cyperus malaccensis* Lam. subsp. *monophyllus* (Vahl.) T. Koyama)為優勢社會的草澤地，水筆仔僅散生見於沼澤區西端。Wester (1988)利用1965-1985年間的航照進行關渡自然保留區內植群變遷之研究，發現自1978年起，關渡自然保留區的植群有明顯的改變，蘆葦與單葉鹹草的覆蓋面積逐漸減少，水筆仔則不斷擴散，面積增加相當顯著。水筆仔主要沿著堤外沙洲與潮流溝生長，而沙洲東半部仍是以蘆葦及單葉鹹草為主，水筆仔僅侵入草本植物社會的周圍。Lin (1987a)在1986年更進一步採用航照判釋及野外系統調查法，詳細調查全區的植物組成及生態環境，發現水筆仔的面積逐漸增

加，而蘆葦和單葉鹹草的面積則漸減，當時的植物社會為蘆葦、單葉鹹草與水筆仔三種植物為主所組成的草澤地，而蘆葦分布地的海拔高程較水筆仔高，且兩者之間有顯著的差異。Wester and Lee (1992)認為關渡植群的變遷也許與地層下陷有關聯，因台北盆地有些地方的地層下陷超過2m，在關渡曾經量測到約1m的地層下陷，地下水及地表水的鹽化都被觀測過。Wang and Lee (1998)利用1978-1997年的航照判釋結果顯示，水筆仔呈現快速的擴張，而關渡自然保留區已成為水筆仔與蘆葦為優勢植物社會的林澤。近期研究更顯示，水筆仔佔總植群面積的百分比由1978年的0.3%，增至1986年的11.9%和1997年的68.9%；同時期的蘆葦則由67.3%減至64.4%和31.1%；而單葉鹹草則由1978年的32.4%降至1986年的23.1%，而1988年以後即無法從航照判釋出來(Wang et al. 2000)。

由於Lin (1987a)的調查至今已十多年，對於此期間的植群結構及變遷情形值得再進一步的探討，因此本研究主要利用野外系統調查法，調查關



渡自然保留區內植物社會的組成、分布及水筆仔族群結構，並配合高程調查資料，和 1986 年的調查結果比較，以瞭解在 1986-1998 年間的變遷情形，並探討其演替發生的原因。

## 材料及方法

### 一、研究區

關渡自然保留區位於關渡基隆河與淡水河匯流處，在堤防外有長 1400 m，寬約 500 m，由東向西漸降的沼澤地，此即為本文的研究區(Fig. 1)。關渡沼澤地之平均高潮位為 114 cm，平均低潮位為 -95 cm，平均潮位為 5 cm (Taipei City Government 1996)。至於土壤主要為泥質土所覆蓋，越往沼澤區內部的土壤則越厚，黑色的泥層中含有豐富的腐植質(Lin 1987b)。

### 二、植物組成調查

本研究於 1998 年底至 1999 年初利用系統採樣調查法，沿堤防由西向東每隔 100 m 取一南北向之樣線，利用直線截取法(line intercept) (Mueller-Bombois and Ellenberg 1974)調查全區的植物組成及覆蓋度，全區共設置 16 條樣線(Fig. 1)，紀錄樣線所截取各植物社會長度，由此推測各植物社會於全區所佔比例，並繪製樣線剖面圖以瞭解全區的植群變化情形。其中樣線 1-12 的位置約略與 1986 年的調查樣線相同(Lin 1987a)，因此可直接用來比較 1986-1998 間的變遷情形。

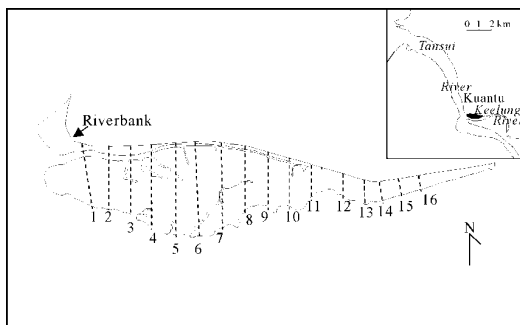


Fig. 1. Study area and location of transects.

### 三、水筆仔族群結構

於各樣線每隔 20 m 設置一個 2 × 2 m 的小樣區，總共計調查 198 個小樣區，除紀錄小樣區內植物的組成、高度和覆蓋度之外，並調查水筆仔的數目、胸徑，以分析水筆仔的族群結構，包括繪製水筆仔族群之胸徑分級分布圖、計算幼苗與林木之比例、高度及苗木株數及胸高斷面積等，並和 1986 年的調查結果作一比較。

### 四、植物社會的高程調查

利用堤防外的水位尺為海拔高程的參考，於堤防上架設水準儀，沿各樣線每隔 10 m 測定高程值並紀錄所在的植物社會，以分析各植物社會的海拔分布範圍和最適界，並利用變異數分析檢驗不同植物社會分布在海拔高程上是否有顯著的差異，同時和 1986 年的高程調查結果比較，推估研究區於 1986-1998 年間的平均堆積速率。

## 結果和討論

### 一、植物組成和植物社會

最早 Chen et al. (1986) 於關渡自然保留區內進行植物調查，共紀錄 35 種維管束植物，而在本研究區內，Lin (1987a) 則僅紀錄 6 種維管束植物，包括水筆仔、蘆葦、單葉鹹草、苦林盤 (*Clerodendrum inerme* (L.) Gaertn.) 及牛毛氈 (*Eleocharis acicularis* (L.) Romer & Schult) 等 5 種自生植物和順河水飄流而出現於研究區內的布袋蓮 (*Eichhornia crassipes* Mart.)，並將植物社會區分為蘆葦、單葉鹹草及水筆仔等三類優勢社會，其中水筆仔優勢社會佔當時調查面積的 10.6%。根據本研究的調查顯示，研究區內僅出現水筆仔和蘆葦二種優勢植物，另外於堤防岸邊坡有少數鹽地鼠尾粟 (*Sporobolus virginicus* (L.) Kunth) 和大花咸豐草 (*Bidens chilensis* L.) 的出現 (Chiou 1999)。此結果和以往的研究比較差距頗大，主要的原因和環境的改變有極大關係。Wester (1988) 利用航照研究 1978-1985 年間關渡沼澤區植被變化，發現沼澤區植物有驚人的演替現象發生，植物之總覆蓋面積略為下降，蘆葦覆蓋面積減少 36%，單葉



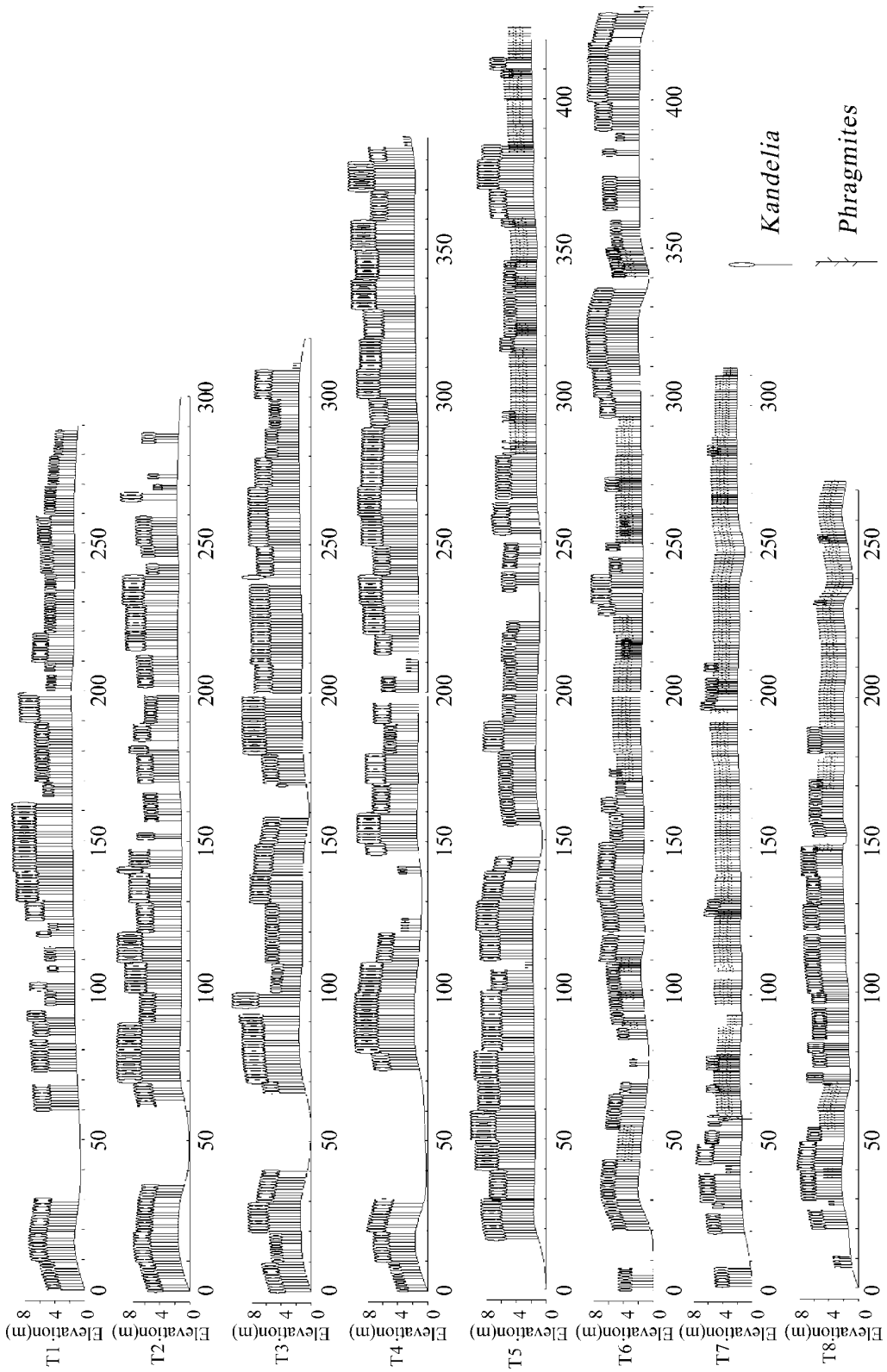


Fig. 2. Vegetation profile of 16 transects.



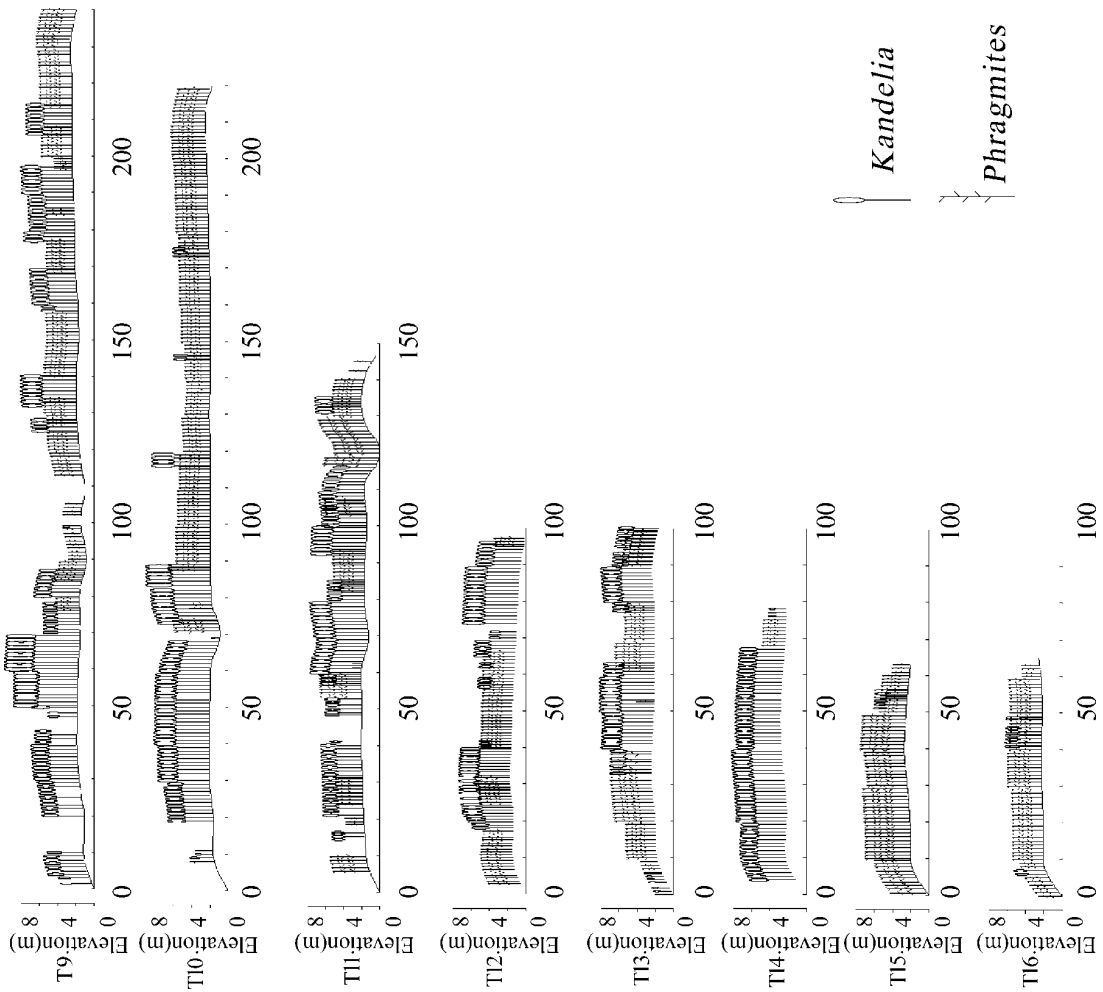


Fig. 2. Vegetation profile of 16 transects. (cont.)



鹹草減少22%，但水筆仔卻有相當程度的增加，並認為造成沿澤區植物激烈改變的因素為水筆仔的擴散、演替和環境的改變。

樣線調查資料顯示，研究區內的植物社會極為單純，僅有水筆仔和蘆葦兩種植物社會，16條樣線的植物覆蓋剖面圖如 Fig. 2 所示。依樣線調查資料換算得到水筆仔和蘆葦的覆蓋度分為 61.3% 和 25.5%，其餘 13.2% 為裸露地。若換算為植物社會的相對，水筆仔植物社會則佔 70.6%，蘆葦植物社會佔 29.4%。對照於 1986 年的調查紀錄(Lin 1987a)，可發現主要的植物組成及其相對覆蓋度已有明顯的改變，Fig. 3 即為 1986 年和 1998 年樣線調查所得主要植群社會相對覆蓋度的變化情形。由水筆仔所佔樣線長度百分比的變化可見，水筆仔在 1986 年時主要分布集中於研究區的西側地區，到 1998 年時，除了東側的樣線 15 和 16 之外，水筆仔幾乎已分布全區，這主要因為東側海拔較西側高，而水筆仔係由西往東逐漸擴展之故 (Wang and Lee 1998)。

## 二、水筆仔的族群結構

### (一) 全區的結構

在 198 個  $2 \times 2$  m 的小樣區中，有水筆仔苗木 (seedling) 或樹木 (sapling and tree) (樹高  $\geq 1.5$  m) 出現的樣區共有 149 個，佔全部樣區的 75.3%，而 1986 年的樣區調查中只佔了 29.2%。

所有樣區紀錄到的水筆仔植株數量共計 3666

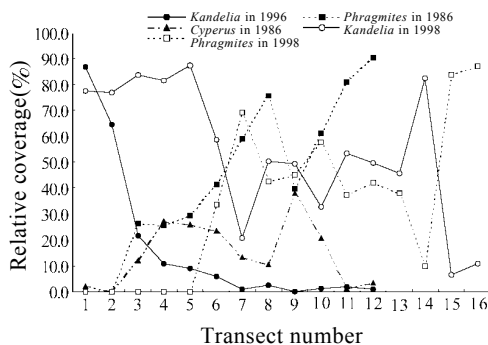


Fig. 3. Comparison of vegetation relative coverage for sampled transects between 1986 and 1998.

株，其中胸徑小於 1 cm 的苗木 2896 株，佔了將近 79%，而胸徑在 1 cm 或以上的樹木計有 770 株，佔總株數 21%，其中樹木與苗木數量的比例約為 1:3.8，與 1986 年時的 1:5 相較，顯然成樹的數量已有明顯的增長趨勢。推算目前水筆仔林結構，水筆仔苗的平均密度 3.56 株/m<sup>2</sup>，而水筆仔樹為 0.97 株/m<sup>2</sup>，和 1986 年之結果比較呈現大幅度的增長，當時水筆仔苗的平均密度只有 0.62 株/m<sup>2</sup>，而水筆仔樹的平均密度為 0.12 株/m<sup>2</sup> (Lin 1987a)。從 1986-1998 年間平均每年幼苗約增加 207 株，成樹增加 57 株，若根據樣線與樣區間隔與樣區大小估算，採樣比例約為 1/500，則研究區內的水筆仔株數，平均每年約增加的水筆仔幼苗 103400 株，成樹 28750 株。

胸徑分級圖可視為叢級結構，並可據以推測族群未來的消長演替方向，亦可視為天然更新能力的指標 (Liu and Su 1997)。本研究利用 16 條樣線 198 個小樣區的調查資料，將水筆仔樹依其胸徑分級，發現其族群結構呈現反 J 型曲線 (Fig. 4)。反 J 型曲線的特色為具有較多數量的幼木，中大徑木依次遞減，這種生長曲線表示研究區域之族群有大量的苗木或子代，可取代逐漸老朽的大樹，在天然狀況或環境穩定下可自然更新，並且保有族群擴展的潛力 (Liu and Su 1997)。在 1986 年時，全區水筆仔的徑級分布也同時呈現出反 J 型曲線，說明當時水筆仔即具有族群擴展的潛力，到 1998 年時也證明水筆仔的確呈現出快速的擴展現象。本研究調查水筆仔的胸徑分布情形 (Fig. 4)，也顯示出水筆仔仍具有擴展的潛力，因此預測水筆仔在研究區內仍具

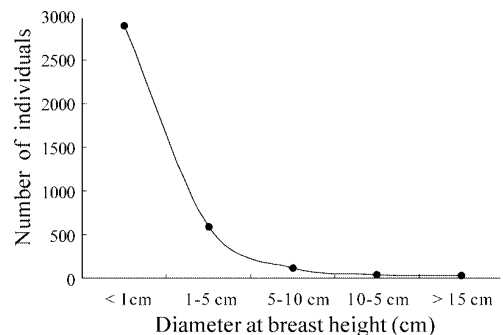


Fig. 4. Size-distribution of the *Kandelia* population in 1998.



有更新及擴張能力。

## (二)水筆仔林的族群結構

Lin (1987a)於1986年的調查時，由於水筆仔尚屬於剛開始擴展階段，主要分布於研究區的西側地區，因此另外於樣線1的西側水筆仔林區內，選擇20個小樣區以調查水筆仔林的結構。其結果顯示水筆仔的小苗密度遠低於成樹，主要因水筆仔為陽性先趨樹種，其苗木大致出現於新生裸地或林緣，成林後因林冠鬱閉，林下小苗成活不易所致，因此出現苗木密度偏低的現象，造成水筆仔林的族群結構呈現出鐘形生長曲線，這種曲線的特色為中徑級的數量最多，幼苗和大徑級木的數量顯著偏少，Lin認為當時關渡地區的水筆仔尚呈幼齡林狀態。

本研究並未針對水筆仔林另外選擇樣區以為比對，而以西側樣線1-3為主，從中選擇水筆仔覆蓋度>75%的樣區，將其視為水筆仔林，總共有21個樣區，分別計算出水筆仔的苗木、樹木數量、樹高及胸高斷面積和等資料，並與1986年的結果作一比較。Table 1中1998年的結果顯示，小苗的數量和密度遠大於成樹，而且與1986的情況相反，其胸徑分級圖和研究區全區一樣，也呈現出反J型曲線，而胸高斷面積和則較1986年時為小，只有在樹高一項有所成長。此結果顯示，即使是在水筆仔最早定殖和散佈的地區(研究區西側)，目前也尚未達到成熟林的階段，仍然具有相當大的成長空間和擴張潛力。

近期研究發現，自1993年起研究區西側的水筆仔林即受到昆蟲的蛀食，至1998年為止約有2000 m<sup>2</sup>的水筆仔林被摧毀(Ma 2000)。就筆者所知，世界紅樹林尚無因遭受昆蟲掠食而導致大面積

死亡的現象發生，造成紅樹林大範圍的死亡現象主要都是因自然環境改變而引起的(see Blasco et al. 1996)。但是，昆蟲的掠食確實對於小區域紅樹林的散佈、成長與更新會有極大的影響(e.g., Robertson et al. 1990)。研究區西側的水筆仔林，很可能就是因為受到昆蟲掠食的影響，使得水筆仔林結構在1986-1998年間並無多大的增長(Table 1)，同時也造成目前小苗數量和密度遠大於成樹的現象。

## 三、植物社會之演替

演替是一連續的過程，隨時間的推演，植群、動物群、土壤和微氣候等均發生一連串的複雜變化(Spurr and Barnes 1973)。其過程大致如下：裸地的生成、植物定殖、環境的改變、植物族群的競爭、植物社會之安定和極盛相(climax)的形成(Liu and Su 1997)。由以往的資料和航照圖顯示，至少在1965年之前，關渡沼澤地曾作為農耕使用，1978年的航照顯示沼澤區已廢耕，並逐漸為蘆葦和單葉鹹草覆蓋，水筆仔也於西側零星出現。很明顯的關渡沼澤地現有植被是由於廢耕之後演替而來，應是屬於次級演替(secondary succession)的類型。

和1986年比較，關渡沼澤地不僅是植物種類發生變化，各種植物社會所佔面積和分布區域也有明顯的演替發生。早期曾存在的苦林盤或是在1986年之前極為優勢的單葉鹹草目前已完全消失。就面積而言，水筆仔從1978年的航照出現以來，由0.08 ha佔總植物面積28.92 ha的0.3%，1986年時的3.7 ha，佔植物總面積31.07 ha的11.9%，1997年時達23.59 ha，佔植物總面積34.2 ha的68.9%，1998年時更增加到24.14 ha，

Table 1. Comparisons of *Kandelia* population structure between 1986 and 1998 (per 4-m<sup>2</sup> area)

Statistics	1986 <sup>1)</sup> (n = 20)	1998 (n = 21)
Number of saplings and trees	9.9 ± 1.0 <sup>2)</sup>	3.7 ± 0.4
Number of seedlings	2.4 ± 1.1	13.3 ± 3.9
Tree height (m)	2.85 ± 0.20	3.01 ± 0.17
Basal area at breast height (cm <sup>2</sup> )	140.5 ± 27.0	124.2 ± 14.7

<sup>1)</sup> Lin (1986).

<sup>2)</sup> Mean ± standard error of the mean.



佔總植物面積 34.52 ha 的 69.9%，顯示出水筆仔的族群面積在持續擴張中；相對的蘆葦由 1978 年佔總植群面積的 67.3%，1986 年的 64.4%，1997 年的 31.1%，到 1998 年的 30.1%，面積百分比則持續降低，而 1986 年時的另一優勢種單葉鹹草已完全消失。

就拓展方向而言，水筆仔由沼澤區的西側往東側拓展，相對地蘆葦的分布則急劇減少，由樣線的植物剖面圖(Fig. 2)和樣線植群分布圖(Fig. 3)可明顯看出，樣線 1-4 全部為水筆仔的分布，至樣線 5 之後才有蘆葦出現，而東側樣線 15、16 水筆仔出現的比例明顯低於蘆葦，顯示水筆仔入侵此區域不久。而水筆仔和蘆葦的分布覆蓋度呈現顯著的負相關( $R^2 = 0.97$ ,  $\alpha = 0.01$ )(Fig. 5)。在 1986 年時，水筆仔與蘆葦的覆蓋度雖然也呈負相關，但其間的相關程度並不顯著( $R^2 = 0.57$ ,  $\alpha = 0.05$ )，主要當

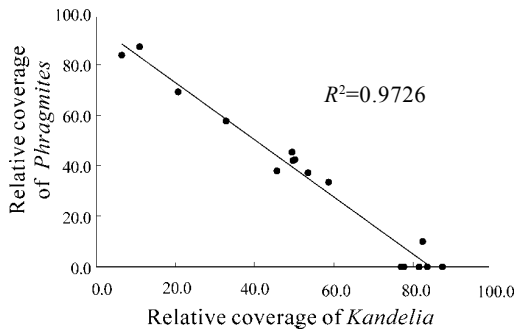


Fig. 5. Regression relation between relative coverages of *Kandelia* and *Phragmites*.

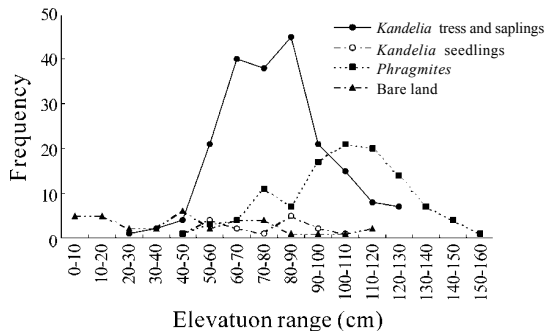


Fig. 6. Elevation range distribution of vegetation types in 1998.

時尚有另一單葉鹹草優勢社會，因此水筆仔與蘆葦之間的競爭情形尚不嚴重之故。

Wester (1988)以擴散、演替和環境變化來說明水筆仔族群的擴張，因其具有適合水漂和定殖能力極強的胎生苗，可沿河岸和潮溝快速的拓展族群，及由蘆葦社會邊緣逐漸侵入，漸漸取代蘆葦植物社會。而水筆仔面積於 1990 年以後又快速的增加，主要是取代原有的蘆葦生育地所致(Lee 2000)。由水筆仔和蘆葦分布呈負相關來看，意味著此二種植物社會之間存在著排斥性競爭關係，水筆仔的持續擴張，未來是否完全取代蘆葦的生育地，可能需視研究區內的地形變化情形而定。

#### 四、各植物社會海拔高程之變化

1986 年時，水筆仔林的海拔幅度在 0.4-0.8 m 之間，而以 0.5-0.6 m 為最適界，而水筆仔苗之分布範圍在海拔 0.3-0.9 m 之間，Lin (1987a)認為水筆仔林的分布範圍尚在拓展中，因此推測其海拔幅度應會擴大為 0.3-0.9 m；單葉鹹草之海拔幅度為 0.4-0.9 m，最適界為 0.6-0.8 m；蘆葦之海拔分布由 0.3 m 起，至 1.0 m 出現度為 100%，因而推測其最適界應在 1.0 m 左右。此三種植物於關渡沼澤地的海拔最適界呈現出蘆葦、單葉鹹草及水筆仔三者由高至低之次序。而且單葉鹹草、水筆仔林和水筆仔苗的海拔分布範圍並無顯著的差異，但同時均與蘆葦的高程分布有顯著的差異(Lin 1987a)。

研究區內各生育地的海拔高程分布如 Fig. 6 所示，其中水筆仔林的海拔分布幅度在 0.2-1.3 m 之間，以 0.6-0.9 m 為最適界，水筆仔苗的海拔幅度則在 0.4-1.2 m 之間；蘆葦的海拔幅度則介於 0.3-1.6 m 之間，以 0.9-1.3 m 為最適界，裸地高程則在 1.2 m 以下。各植物社會的海拔分布大致符合 Lin (1987a)之推測，而 1998 年水筆仔分布的最適界已達到 0.9 m，此即為 1986 年時水筆仔苗的分布上界，而且目前蘆葦的分布高程也已達 1.0 m 以上，單葉鹹草已完全從沼澤區消失，因而無從比較。

在海拔 0.2 m 以下只有裸露地，這與 1986 年時的調查結果相同，顯然海拔 0.2 m 以下為各植物族群的分布下界，可能受環境因子限制所致，因潮汐淹沒時間較長，植被無法長時忍受較高含鹽份的環境所導致，因此只有裸露地的出現。由目前水筆



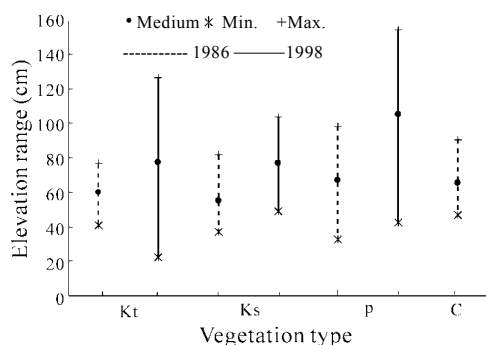


Fig. 7. Elevation range of Kuantu vegetation in 1986 and 1998. (Kt: *Kandelia* trees and saplings; Ks: *Kandelia* seedlings; P: *Phragmites*; C: *Cyperus*)

仔的高程分布幅度推測，水筆仔仍具有向較高海拔擴展的能力，應可達到目前1.3 m的分布的上界。這意謂著水筆仔極有可能散佈到海拔0.2 m以上的裸露地，乃至於現今蘆葦的生育地中。

由 Fig. 7 可發現，目前研究區內植物社會的平均高程均較 1986 年增高，海拔幅度亦呈現擴大的現象。根據 1986 年和 1998 年所有高程的量測結果，在此段期間內，關渡溼地平均每年淤積增高達 2.0 cm。此高程的增高可能來自於基隆河的停止抽砂，台北地區停抽地下水也有助於緩和地層下陷，除此之外水筆仔成林後減緩水流，及根系的攔阻效果，增加泥砂堆積，而造成高程逐年增高的結果。

### 結論

關渡自然保留區的植物社會經過多年的演變，植被狀態有明顯改變，由二十年前蘆葦和單葉鹹草為優勢的植物社會，演變成 1986 年蘆葦、單葉鹹草和以水筆仔為優勢的植物社會，而到目前以水筆仔為主和蘆葦兩種植物社會組成的濕地生態系。水筆仔被認為是強勢的先驅植物，能產生大量後代，隨潮水而散佈出去，在適合的環境下能快速的定殖並拓展其族群。水筆仔族群逐漸由西往東、由下游往上游擴展中。樣線調查結果顯示，水筆仔、蘆葦和裸露地的覆蓋度分別為 61.3、25.5 和 13.2%，而單葉鹹草則已完全消失，而水筆仔的相對覆蓋度約佔總植群的 70.6%，蘆葦佔 29.4%。水筆仔族

群的徑級圖呈現反 J 型曲線，並且具有大量的小苗 (樹：苗 = 1 : 3.8)，對於族群未來的拓展具有潛力。

植物社會的高程變化，顯示水筆仔目前分布的海拔幅度在 0.2-1.3 m 之間，以 0.8-0.9 m 為最適界；蘆葦分布的海拔幅度在 0.3-1.6 m 之間，最適界為 0.9-1.0 m 之間。目前蘆葦分布的海拔高程仍高於水筆仔，而且兩者之間的高程分布範圍呈顯著的差異 ( $\alpha = 0.05$ )，同時在海拔 0.2 m 以下則無植被存在，與 1986 年的調查結果完全相同，因而海拔 0.2 m 以下應該是研究區內各類植物所能分布的高程下界。由目前水筆仔的高程分布幅度推測，水筆仔仍具有向較高海拔擴展的能力，應可達到高程約 1.3 m 處。而研究區在 1986-1998 年間，每年平均的堆積速率達 2.0 cm。這可能因基隆河的停止抽砂，台北地區停抽地下水緩和了地層的下陷，以及研究區植被減緩水流及攔阻泥砂堆積效果而造成的結果。

### 謝誌

本研究承蒙國家科學委員會補助研究計畫「從地形觀點看淡水河口水筆仔紅樹林分布變遷之研究」，編號 89-2621-B-002-131 及台北市政府建設局之經費補助「關渡自然保留區及關渡自然公園生物資源變遷之研究」，特予致謝。感謝陳添財與黃裕舜先生協助地面植群之調查，陳映志和李柏鋒先生協助生育地高程之量測，以及黃裕舜協助部分資料之處理。另兩位審稿者對於本文提出許多寶貴之修改建議，在此特予致謝。

### 引用文獻

Blasco F, Saenger P, Janodet E. 1996. Mangroves as indicators of coastal change. *Catena* 27:167-78.

Chen MY, Shen JC, Lu KC, Hong DS, Lin SH. 1986. Vegetation resources in Taiwan coastal protection areas. Taipei: Soc. of Wildlife and Nature ROC. [in Chinese].

Chiou WL. 1999. The research of biological resource dynamics in Kuantu Nature Reserve



and Kuantu Nature Park — aquatic and terrestrial plants. In: Final report of the research of biological resource dynamics in Kuantu Nature Reserve and Kuantu Nature Park. Taipei: Bureau of Reconstruction, Taipei City Government. p 46-77. [in Chinese].

**Lee CT. 2000.** A study of changes of the mangrove distribution *Kandelia candel* (L.) Druce in Tanshui Estuary- a geomorphologic perspective (II). Report to the National Science Council, Project no. NSC 89-2621-B-002-131. [in Chinese with English summary].

**Lin JT. 1987a.** An ecological investigation of Kuantu wetland vegetation. 1987 Ecological Study no. 018. Taipei: Council of Agriculture. [in Chinese].

**Lin YS. 1987b.** Twelve major wetlands. Mother Nat 16:28-9. [in Chinese].

**Liu TL, Su HJ. 1997.** Forest vegetation ecology. Taipei: Taiwan Business Bookstore. [in Chinese].

**Ma KJ. 2000.** The research of biological resource dynamics in Kuantu Nature Reserve and Kuantu Nature Park (II), Preliminary Report. Taipei: Bureau of Reconstruction, Taipei City Government. [in Chinese].

**Mueller-Bombois D, Ellenberg H. 1974.**

Aims and methods of vegetation ecology. Chichester: Wiley.

**Robertson AI, Giddins R, Smith TJ. 1990.** Seed predation by insects in tropical mangrove forests: extent and effects on seed viability and the growth of seedlings. *Oecologia* 83:213-9.

**Spuur SH, Barnes BP. 1973.** Forest ecology, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Ronald Press.

**Taipei City Government. 1996.** Revised project of Kuantu Nature Park. Taipei: Bureau of Reconstruction. [in Chinese].

**Wang IC, Lee CT. 1998.** The study of landscape changes at mangrove swamp in Guandu. *Bull Geograph Soc China* 26:115-28. [in Chinese with English summary].

**Wang IC, Lee CT, Chu TH. 2000.** The changing vegetation of the Kuantu wetland. *NTUJ Geograph Sci* 27:41-54. [in Chinese with English summary].

**Wester L. 1988.** Vegetation change in Guandu marsh, Taiwan 1978-1985. In: Detailed Planning of Guandu Nature Park, Taipei. Taipei: Soc. of Wildlife and Nature ROC. p 415-26.

**Wester L, Lee CT. 1992.** Mangroves in Taiwan: distribution, management and values. *Geoforum* 23(4):507-19.



研究報告

# 墾丁喀斯勒森林永久樣區之樹種組成及生育地類型

王相華<sup>1,5)</sup> 孫義方<sup>2)</sup> 簡慶德<sup>3)</sup> 潘富俊<sup>4)</sup> 郭紀凡<sup>1)</sup> 游孟雪<sup>2)</sup>

伍淑惠<sup>1)</sup> 古心蘭<sup>1)</sup> 鄭育斌<sup>4)</sup> 陳舜英<sup>4)</sup> 高瑞卿<sup>4)</sup>

## 摘要

於南台灣林業試驗所龜仔角試驗地的墾丁喀斯勒森林內設置10 ha的植物社會永久樣區，長期監測該林分之動態變化。樣區長軸為400 m，東-西走向；短軸為250 m，南-北走向。永久樣區劃分為1,000個10×10 m<sup>2</sup>小區，小區內紀錄胸徑≥1 cm木本植物的位置、種類及胸徑。結果顯示，113種樹種中以柿樹科及大戟科佔最大優勢，其中黃心柿之相對密度高達50.3%、相對優勢度為23.2%，是全樣區最優勢之樹種；其它優勢種包括茄苳、鐵色、皮孫木、咬人狗、紅柴及台灣膠木等；排名前10位樹種之重要值總合計為74.7%，顯示樣區內樹種之優勢度集中於少數樹種。永久樣區可區分為四個生育地型植物社會，皮孫木型分布於凹陷谷地，茄苳-台灣膠木-柿葉茱萸型分布於隆起台地，鐵色-紅柴-樹青-月橘型分布於隆起岩塊，虫屎-血桐-土楠型分布於早期人為干擾盛行之平坦谷地，即生育地型植物社會之分布與微地貌間有明顯之相關性存在，不同生育地的受風強度、陽光入射量及土壤深度明顯不同。本區喀斯勒森林以柿樹科植物為最優勢的植物社會，然樹種多樣性並不高，其植物組成與台灣島其它地區明顯不同。

關鍵詞：喀斯勒森林、墾丁、永久樣區、植物組成、生育地類型。

王相華、孫義方、簡慶德、潘富俊、郭紀凡、游孟雪、伍淑惠、古心蘭、鄭育斌、陳舜英、高瑞卿。

2004。墾丁喀斯勒森林永久樣區之樹種組成及生育地類型。台灣林業科學19(4):323-35。

### Research paper

## Tree Species Composition and Habitat Types of a Karst Forest in Kenting, Southern Taiwan

<sup>1)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所恆春研究中心，946屏東縣恆春鎮公園路203號 Hengchun Research Center, Taiwan Forestry Research Institute. 203 Park Rd., Hengchun, Pingtung 946, Taiwan.

<sup>2)</sup> 東海大學生物系，407台中市西屯區台中港路三段181號 Department of Biology, Tunghai University, 181 Section 3, Taichung Harbor Rd., Taichung 407, Taiwan.

<sup>3)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所育林組，100台北市南海路53號 Division of silviculture, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>4)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，100台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>5)</sup> 通訊作者 Corresponding author, e-mail:hhwang@mail.tfri.gov.tw

2004年4月送審 2004年11月通過 Received April 2004, Accepted November 2004.



Hsiang-Hua Wang,<sup>1,5)</sup> I-Fang Sun,<sup>2)</sup> Ching-Te Chien,<sup>3)</sup> Fuh-Jiunn Pan,<sup>4)</sup>  
 Chi-Fan Kuo,<sup>1)</sup> Meng-Hsueh Yu,<sup>2)</sup> Hsin-Lan Ku,<sup>1)</sup> Shu-Hui Wu,<sup>1)</sup>  
 Yu-Pin Cheng,<sup>4)</sup> Shun-Ying Chen,<sup>4)</sup> Yui-Ching Kao<sup>4)</sup>

### 【 Summary 】

A 10-ha permanent plot (400×250 m) was set up in the Kenting Karst Forest for long-term monitoring the stand dynamics. The 10-ha permanent plot was divided into 1,000 10×10 m subplots, in which tree species with a dbh of  $\geq 1$  cm were mapped and recorded. The families Ebenaceae and Euphorbiaceae dominated this area. *Diospyros maritima* was the dominant species with a relative density and dominance of 50.3 and 23.2%, respectively. Other dominant species were *Bischofia javanica*, *Drypetes littoralis*, *Pisonia umbellifera*, *Laportea pterostigma*, *Aglaia formosana*, and *Palaquium formosanum*. The importance value of the 10 most dominant species was 74.4%, which suggests that only a few species dominate this karst forest. Four habitat types were derived according to the result of TWINSpan analysis: the *Pisonia umbellifera* type at the bottom of the valley; the *Bischofia javanica*-*Palaquium formosanum*-*Gonocaryum calleryanum* type on the flat hill; the *Drypetes littoralis*-*Aglaia formosana*-*Pouteria obovata*-*Murraya paniculata* type on the exposed limestone rocks; and the *Macaranga tanarius*-*Melanolepis multiglandulosa*-*Cryptocarya concinna* type in the basin, part of which used to be cultivated by Paiwan aborigines. The habitat type patterns seem to be correlated with the micro-landform patterns of the karst forest. Different micro-landforms experience significant diversity of wind intensity, light intensity, soil depth, and also tree species composition. This karst forest was low in tree species diversity, and was dominated by the family of Ebenaceae. Its tree species composition significantly differ from that of other forest type in Taiwan.

**Key words:** karst forest, Kenting, permanent plot, species composition, habitat type.

**Wang HH, Sun IF, Chien CT, Pan FJ, Kuo CF, Yu MH, Ku HL, Wu SH, Cheng YP, Chen SY, Kao YC. 2004.** Tree species composition and habitat types of a karst forest in Kenting, southern Taiwan. *Taiwan J For Sci* 19(4):323-35.

### 緒言

森林的動態變化模式(dynamic pattern)的研究調查方法有二，其一為選擇不同發育階段之林分進行調查，並運用統計方法推估林分發育模式，但採用此一方法之先決條件是上述林分之生育地條件必須近似，且經歷相同程度及屬性之干擾，但在實際操作上很難找到符合上述條件之不同林分；其二為設置永久樣區，長期監測同一林分的動態變化，包括植物的組成變化、空間分佈狀況等。此外，嚴謹、精確且方法統一的數個永久樣區，可以用來比較不同地區的森林組成及動態變化，驗證生態學家提出

的森林動態理論及假說(Condit 1995)。

「臺灣生態研究綱計畫」肇始於1992年，以瞭解臺灣重要生態系的長期生態現象與過程為目標；此研究計畫的目的在了解生態系動態之現象、過程與機制，研究自然與人為的主要干擾對生態系動態的影響以及生態系的反應，以及提供具科學根據的資料給決策者，作為研擬環境政策之參考等(Hsia and King unpubl. document)。在此一計畫項下，陸續在福山及南仁山試驗地建置了數個永久樣區。墾丁高位珊瑚礁自然保留區保有台灣面積最大且最完整的

原始喀斯勒森林(Karst forest)，森林內石灰岩洞穴及隆起的珊瑚礁岩塊林立，形成獨特的地質及生物資源。本研究擬藉由永久樣區的設立，瞭解墾丁喀斯勒森林之生育地類型及樹種組成，作為長期追蹤森林動態的基礎資料。

## 材料與方法

### 一、試驗地概述

墾丁高位珊瑚礁自然保留區位於台灣南端，東經120°48'北緯20°58'，恆春鎮東南方約10公里處(Fig. 1)。民國83年元月10日保留區由行政院農業委員會依據文化資產法公告設立，面積為138 ha，為林業試驗所經管之龜仔角試驗林地(面積430 ha)的一部分。有鑑於此保留區為台灣唯一保存較為完整之喀斯勒原始林，自1996年7月開始，林業試驗所與東海大學合作，於保留區內較未受人為干擾之地點，設置一個10 ha的植物社會永久樣區，建立完整的植物調查資料庫，長期監測該林分之動態變化，提供研究及爾後經營管理之重要基礎資料。

保留區地質屬於更新世時代的石灰岩，由珊瑚、有孔虫、石灰藻、貝殼所組成，根

據礫十四定年法之測定，恆春半島每年約以2.5 mm的速度上升，在經過五十萬年左右，形成了現今的高位珊瑚礁地形(Shi et al. 1988)，土壤為石灰質性的中性或微酸性砂質壤土及輕黏土(Hseu et al. 2004)。本區屬於潮濕季風林(moist monsoon forest) (Su and Su 1988)，氣候乾濕季明顯。依據中央氣象局恆春測候站1990~2002年間之資料(中央氣象局網站資料)，本區之平均降雨量約2,200 mm，多集中於5至9月，10月至翌年4月為東北季風(俗稱落山風)最旺盛的乾旱季節。年溫差不大，一月最冷，平均氣溫20.5°C，7月最熱，平均氣溫28.3°C。在植物相方面，恆春半島的植被包含熱帶海岸林及熱帶季風林之群系，Su and Su (1988)於研究墾丁國家公園植被時，將此區植群歸類為黃心柿(*Diospyros maritima*)—白榕(*Ficus benjamina*)亞型，其組成除白榕及其他榕樹類以外，另有大量的珊瑚礁岩生植物，如黃心柿、鐵色(*Drypetes littoralis*)、象牙樹(*Diospyros ferrea*)、毛柿(*Diospyros discolor*)、紅柴(*Aglaia formosana*)、台灣膠木(*Palaquium formosanum*)。受季節風之影響，生長在珊瑚礁岩塊頂部的樹木呈低矮匍匐狀；相對的，在岩塊間窪地生長的樹木呈高大直立狀。

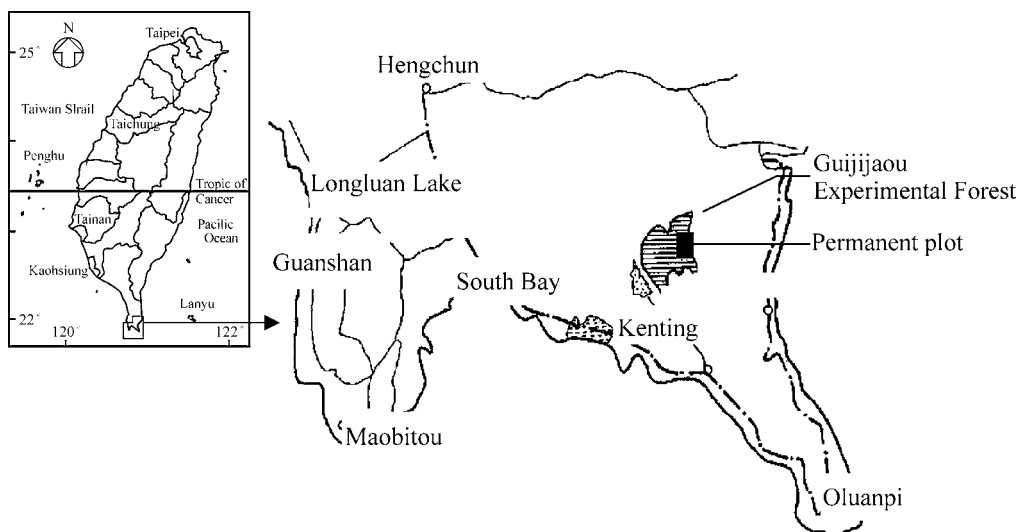


Fig. 1. Location of the 10-ha karst forest permanent plot in the Gujijiaou Experimental Forest, Hengchun Peninsula, Taiwan.



## 二、樣區標定及地形圖繪製

在墾丁高位珊瑚礁自然保留區內選取具代表性的地點設立永久樣區(Fig. 1)，樣區(plot)呈長方形，長400 m，寬250 m，總面積為10 ha。樣區標定的步驟是先用雷射經緯儀以南北向為基準線，每隔10 m水平距離處標定一個基點，以鉛管標定位置，再以各個基點朝東西向標定，總計樣區劃分為1,000個10×10 m小區(subplot)。資料建檔後，採用SigmaPlot 2000繪圖軟體，繪製樣區之細部3D及等高線地形圖。

## 三、植物調查方法

將每個10×10 m的小區再區隔成4個5×5 m次小區。植物調查工作之執行，係以5×5 m次小區為紀錄單位，並以鉛牌標記每株胸徑≥1 cm之存活木本植物，測量其胸高(離地面1.3 m處)直徑，並以方格紙繪製其在次小區的相對位置。以樣區之東-西向為X軸(400 m)，南-北向為Y軸(250 m)，將每株存活林木在次小區之位置，轉換成在全樣區上之座標，標定每株樣木在全樣區之相對位置。

## 四、樣區資料建檔及分析方法

### (一)植物調查原始資料檔建立

將1,000個10×10 m小區資料建檔，包括每個次小區內胸徑≥1 cm植物單株的種類、胸徑，和植物種類編碼2個文字檔，採用PC-ORD植群分析軟體(McCune and Mefford 1999)，計算每個小區之樹木胸高斷面積及密度。上述資料經過運算，可導出每一樹種的相對密度(relative density)、相對優勢度(relative dominance)及重要值(importance value, IV)，計算方式如下：

相對密度 = (A種之密度 / 樣區所有植物之密度和) × 100%。

相對優勢度 = (A種之胸高斷面積 / 樣區所有植物之胸高斷面積和) × 100%。

重要值 = (相對密度 + 相對優勢度) / 2。

PC-ORD植群分析軟體亦可將同一生育地

類型(分析方法詳見下述植物生育地型分類之說明)之諸多小區資料予以集合運算，導出每一樹種在各別生育地型密度、優勢度及重要值，以及該生育地型整體植群之單位面積密度、胸高斷面積、及物種多樣性等資料。物種多樣性之計算方式如下：

Simpson diversity =  $1 - \sum(n_i/N)^2$ ;

Shannon diversity (H) =  $-\sum(n_i/N)\log(n_i/N)$ ;

均勻度指數 =  $H/\log S$ ;

$n_i$ 代表某樹種之重要值，N代表所有組成植物族群之重要值總和，S為種數。

### (二)物種豐富度

豐富度是指一定面積之樣區內組成樹種與其介量之關係，其表示方法是先將樣區內各樹種IV值由多到少排列之後，再將累計之種數與IV值做比較，做出豐富度曲線圖(relative abundance curve)，可以得到最優勢樹種、中間優勢樹種及稀有樹種在樣區內的IV值介量分佈。

### (三)徑級結構

不同樹種、不同徑級之生長速率不盡相同，但通常小徑級樹生長速率快，徑級越大生長速率越趨緩慢，若將徑級固定，則有可能出現小徑級數量過多或大徑級出現斷層；因此，各樹種的徑級結構區隔採用2的倍數區隔劃分胸高直徑等級(dbh class)，分別為1 cm ≤ dbh < 2 cm, 2 cm ≤ dbh < 4 cm, 4 cm ≤ dbh < 8 cm, 8 cm ≤ dbh < 16 cm, 16 cm ≤ dbh < 32 cm, 32 cm ≤ dbh < 64 cm, 64 cm ≤ dbh共七級。各徑級之株數以百分比計算，做出徑級結構圖，以圖形判別各樹種之更新狀況。

### (四)植物生育地型分類

PC-ORD可將建立好之單株種類、胸徑，和植物種類編碼2個文字檔轉成相對底面積及相對密度矩陣檔，再利用Microsoft Excel軟體將兩個矩陣檔合併成重要值(IV)矩陣檔，輸入PC-ORD進行雙向指標種分析(Twinspan, Hill 1979)。以重要值0、2、5、10及20為切分點，將樹種區分為5個擬種(pseudospecies)，用二分



法將樣區及植物分別予以排序、分群，進行樣區生育地型分類，並以指標種或(及)優勢種予以命名。

### 結果

#### 一、永久樣區地形描述

根據繪圖軟體(SigmaPlot 2000)所繪製的3D及等高線地形圖顯示(Fig. 2A, B)，樣區整體地勢崎嶇不平，海拔高度由西北向東南沉降，在230~300 m間，最大落差達70 m。樣區西側

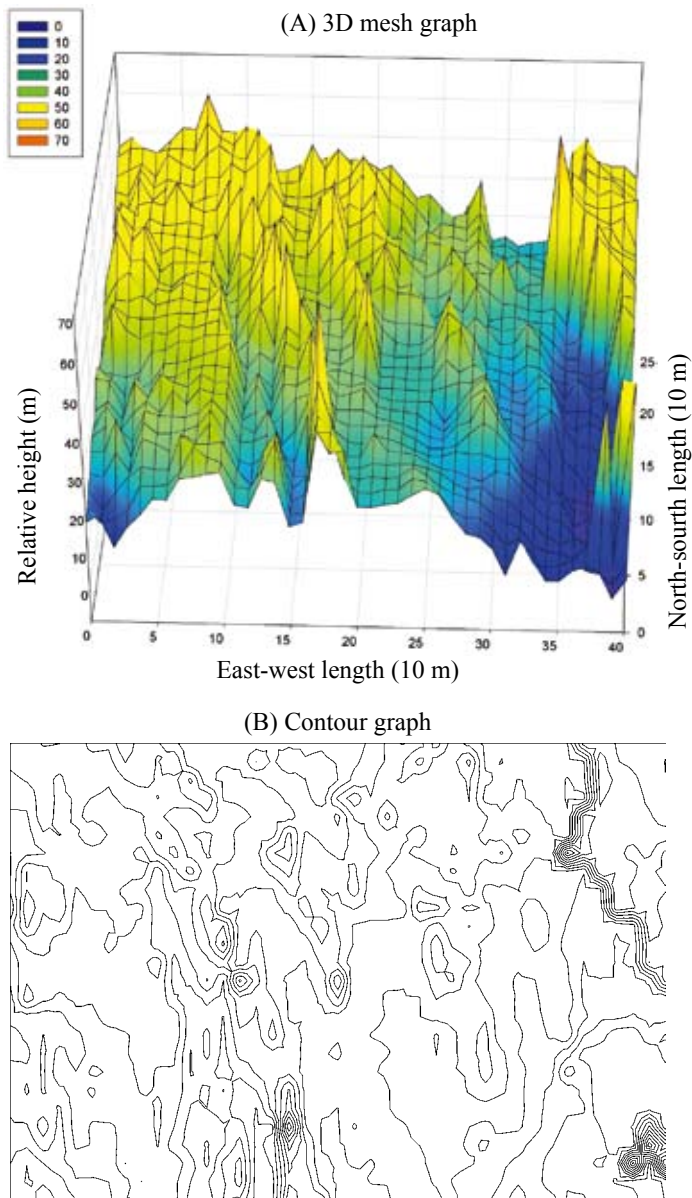


Fig. 2. 3D mesh graph (A) and contour graph (B) of the 10-ha permanent plot in Kenting karst forest. The interval lines of the contour graph are 5 m.



為一隆起之台地，面積約佔整個樣區的1/4，地形較為平坦；東側3/4樣區則有4條西北東南走向之隆起珊瑚礁，礁頂陡峭，礁底則連成一片較平緩之谷地，地形高低起伏，此外在東北角及東南角各有一約小隆起之珊瑚礁，相當陡峭，但面積不大。

## 二、植物社會組成及物種多樣性

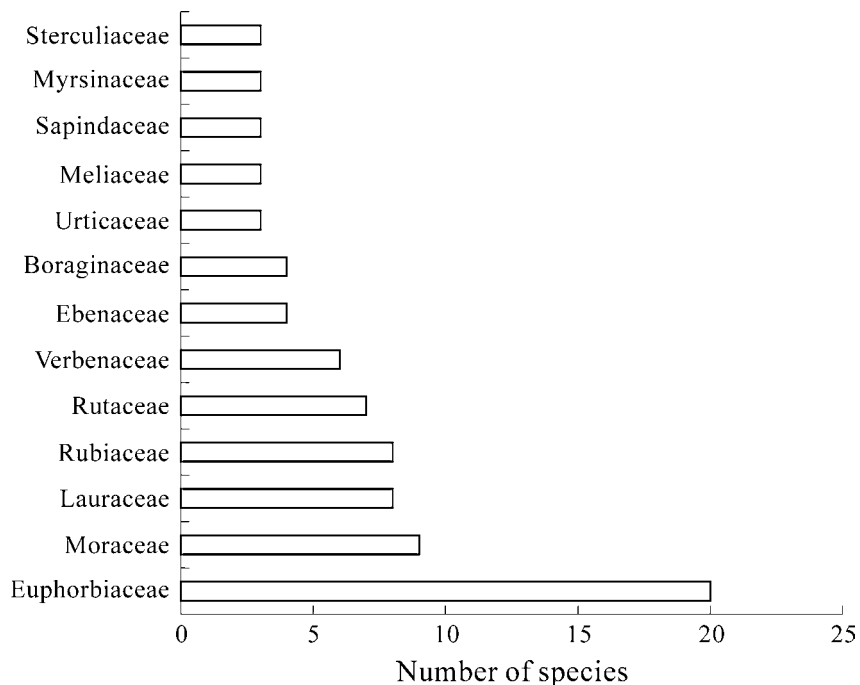
樣區內紀錄dbh $\geq$ 1 cm的木本植物(不含木質藤本)51,958株，分屬113種、88屬、36科(Table 1)，胸高斷面積總和442.6 m<sup>2</sup>。其中單子葉植物只有射葉椰子(*Ptychosperma angustifolium*)及番仔林投(*Dracaena angustifolia*)兩種，雙子葉植物種類以大戟科(Euphorbiaceae)最多(20種)，其次為桑科(Moraceae) (9種，榕屬植物占8種)、茜草科(Rubiaceae) (8種)、樟科(Lauraceae) (8種)、芸香科(Rutaceae) (7種)等(Fig. 3)。就單株數量而言，以柿樹科(Ebenaceae) (27,889株，53.7%)

及大戟科(8,721株，16.8%)較多(Fig. 4)。柿樹科、大戟科、榕屬(*Ficus*)植物均為典型熱帶森林的代表種類，因此可知墾丁高位珊瑚礁森林的組成較偏向熱帶森林。

永久樣區主要優勢木本組成如Table 2，其中黃心柿之相對密度(50.3%)、優勢度(23.2%)及重要值(36.8%)均為全樣區最高者；其它優勢種包括茄苳(*Bischofia javanica*)、鐵色、皮孫木(*Pisonia umbellifera*)、咬人狗(*Laportea pterostigma*)、紅柴及台灣膠木等。排名前5位

**Table 1. Number of families, genera, species, and individuals of woody plants (not including lianas) recorded in the 10-ha permanent plot**

	Dicotyledons	Monocotyledons	Total
Family	34	2	36
Genus	86	2	88
Species	111	2	113
Individuals	51,584	374	51,958



**Fig. 3. Number of species in each of the dominant families recorded in the 10-ha permanent plot. (Only families with 3 or more species are listed.)**



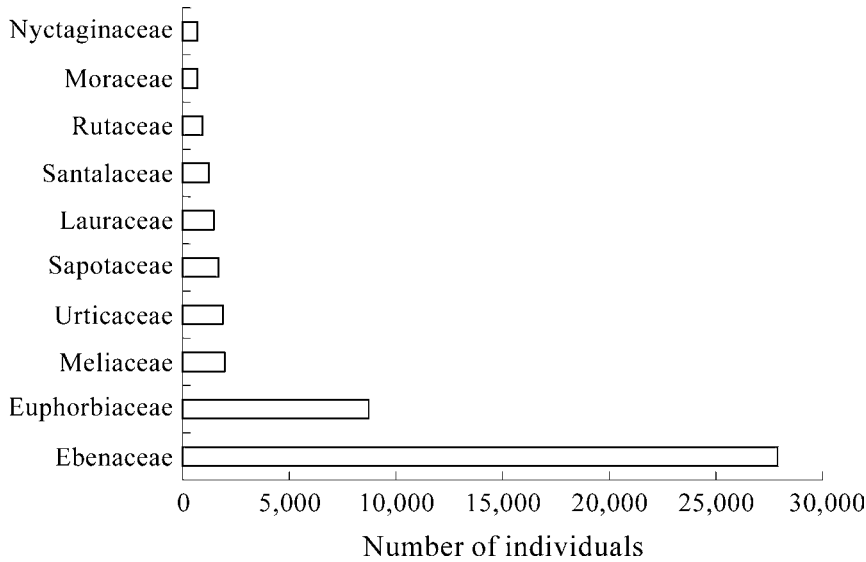


Fig. 4. Number of individuals in each of the dominant families recorded in the 10-ha permanent plot. (Only families with more than 500 individuals are listed.)

Table 2. Dominant species of the 10-ha permanent plot in the Kenting Karst Forest. (Only species with IV ≥ 1 are listed.)

Species	Density						Total	BA (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	Relative (%)		
	1~2 cm	2~4 cm	4~8 cm	8~16 cm	16~32 cm	≥32 cm			Dens.	Dom.	IV
<i>Diospyros maritima</i>	7955	5974	5884	5404	899	15	26,131	10.27	50.29	23.21	36.75
<i>Bischofia javanica</i>	5	3	14	33	162	292	509	8.77	0.98	19.82	10.40
<i>Drypetes littoralis</i>	991	1301	900	408	100	13	3713	1.21	7.15	2.74	4.95
<i>Pisonia umbellifera</i>	84	63	74	132	217	119	689	3.21	1.33	7.26	4.30
<i>Laportea pterostigma</i>	520	505	309	250	252	41	1877	1.97	3.61	4.45	4.03
<i>Aglaia formosana</i>	744	366	259	382	215	11	1977	1.38	3.80	3.12	3.46
<i>Palaquium formosanum</i>	110	109	113	132	236	83	783	2.32	1.51	5.24	3.38
<i>Melanolepis multiglandulosa</i>	854	841	314	90	103	4	2206	0.67	4.25	1.51	2.88
<i>Ficus benjamina</i>	45	126	410	459	113	1	1154	0.93	0.95	3.78	2.37
<i>Macaranga tanarius</i>	236	302	340	314	47	1	1240	0.74	2.22	2.10	2.16
<i>Champerea manillana</i>	91	153	232	292	139	7	914	0.93	2.39	1.67	2.03
<i>Pouteria obovata</i>	32	15	15	14	58	63	197	1.23	1.76	2.09	1.93
<i>Machilus japonica</i> var. <i>kusanoi</i>	13	21	16	32	116	33	231	0.97	0.38	2.78	1.58
<i>Sapindus mukorossii</i>	375	351	260	103	6	1	1096	0.21	0.44	2.20	1.32
<i>Diospyros eriantha</i>	145	117	134	155	80	3	634	0.53	2.11	0.47	1.29
<i>Diospyros discolor</i>	30	30	30	41	72	32	235	0.86	1.22	1.20	1.21
Others	2656	2124	1591	1133	689	179	8372	8.06	15.61	16.36	17.15
Total	14,886	12,401	10,895	9374	3504	898	51,958	44.26	100	100	100



樹種之重要值總合為60.4%，前10位之重要值總合為74.7%，顯示樣區內樹種之優勢度集中於少數樹種(Table 2)。

由樹種相對豐富度曲線(Fig. 5)亦可看出此一現象，Y軸之重要值(IV)由點(4, 0.04295)之後下降趨勢減緩，顯示重要值(IV)排名前幾名之樹種為優勢樹種，黃心柿為IV值最高之樹種，其次為茄苳、鐵色、皮孫木。爾後IV值隨物種增加而緩慢變化，物種多樣性逐漸增加。曲線尾端呈階梯狀，為稀少樹種所造成，Y軸為對數值刻度，故排名50名以後(51~113名)樹種之單株數量和約為總體數量的1/1000，約500株，平均每種僅約8株，即平均每公頃不到1株。就多樣性指數而言，永久樣區之Simpson diversity為0.73，Shannon diversity為1.04，均勻度指數為0.51。

### 三、徑級結構

徑級結構顯示樹種更新狀態，反映出植群未來可能的演替趨勢，歸類為反J型、波浪型、鐘型三種類型；反J型與波浪型之幼苗數量充足，屬天然更新良好之族群，鐘型則多數僅存老壯齡木，缺乏小苗，屬天然更新不良之

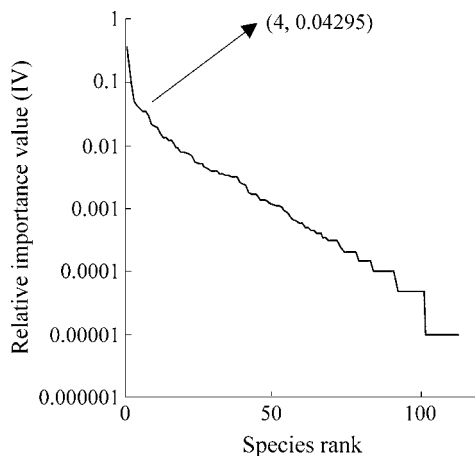


Fig. 5. Species abundance curve of the 10-ha permanent plot in the Kenting Karst Forest.

族群。分析重要值排名前20名樹種之徑級結構見Fig. 5。黃心柿、咬人狗、蟲屎(*Melanolepis multiglandulosa*)、軟毛柿(*Diospyros eriantha*)等屬反J型，這些樹種小苗最多，隨徑級的加大株數相對減少。鐵色之徑級結構雖略屬鐘型，但小徑級樹仍佔多數，故視其為反J型結構。咬人狗及蟲屎等先驅樹種小苗不虞匱乏，但蟲屎小苗生長狀況並不好。

紅柴、毛柿、大葉楠(*Machilus japonica* var. *kusanoi*)等屬波浪型，這些樹種小徑級的植株很多，隨徑級之增大而減少，然後在較大徑級內的植株又再出現一次小高峰。茄苳、皮孫木、台灣膠木、血桐(*Macaranga tanarius*)、樹青(*Pouteria obovata*)、無患子(*Sapindus mukorossii*)、台灣欒樹(*Koelreuteria paniculata*)、月橘(*Murraya paniculata*)等屬於鐘型，這些樹種個體數多分布在中徑級，幼苗及大徑級植株少。山柚仔及火筒樹之徑級結構略呈鐘型，但小徑級樹仍佔一定比例。

### 四、生育地型分類

將10 ha永久樣區內紀錄之113種植物及1,000個小區，利用PC-ORD軟體轉換成包含相對密度及相對底面積之重要值矩陣，經雙向指標種分析(TWINSPAN)，可區分成四個生育地型，各生育地型之主要植物組成摘要表列於Table 3，四型植物社會有共同分佈之主要優勢樹種黃心柿(Table 3)。各生育地型植物社會簡要說明如下：

#### (一)皮孫木型

主要分布於樣區西側隆起岩塊間之凹陷谷地，共有172個10×10 m小區，記錄67種木本植物，Simpson及Shannon多樣性指數較低，分別為0.67及0.85；植株密度低，僅有3,942株/ha，胸高斷面積38.99 m<sup>2</sup>/ha。除共同優勢樹種黃心柿外，其它優勢樹種依次為皮孫木、咬人狗、蟲屎、茄苳等，指標種為皮孫木。

#### (二)茄苳-台灣膠木-柿葉茶葉莢型

主要分布於樣區西側之隆起台地，共有



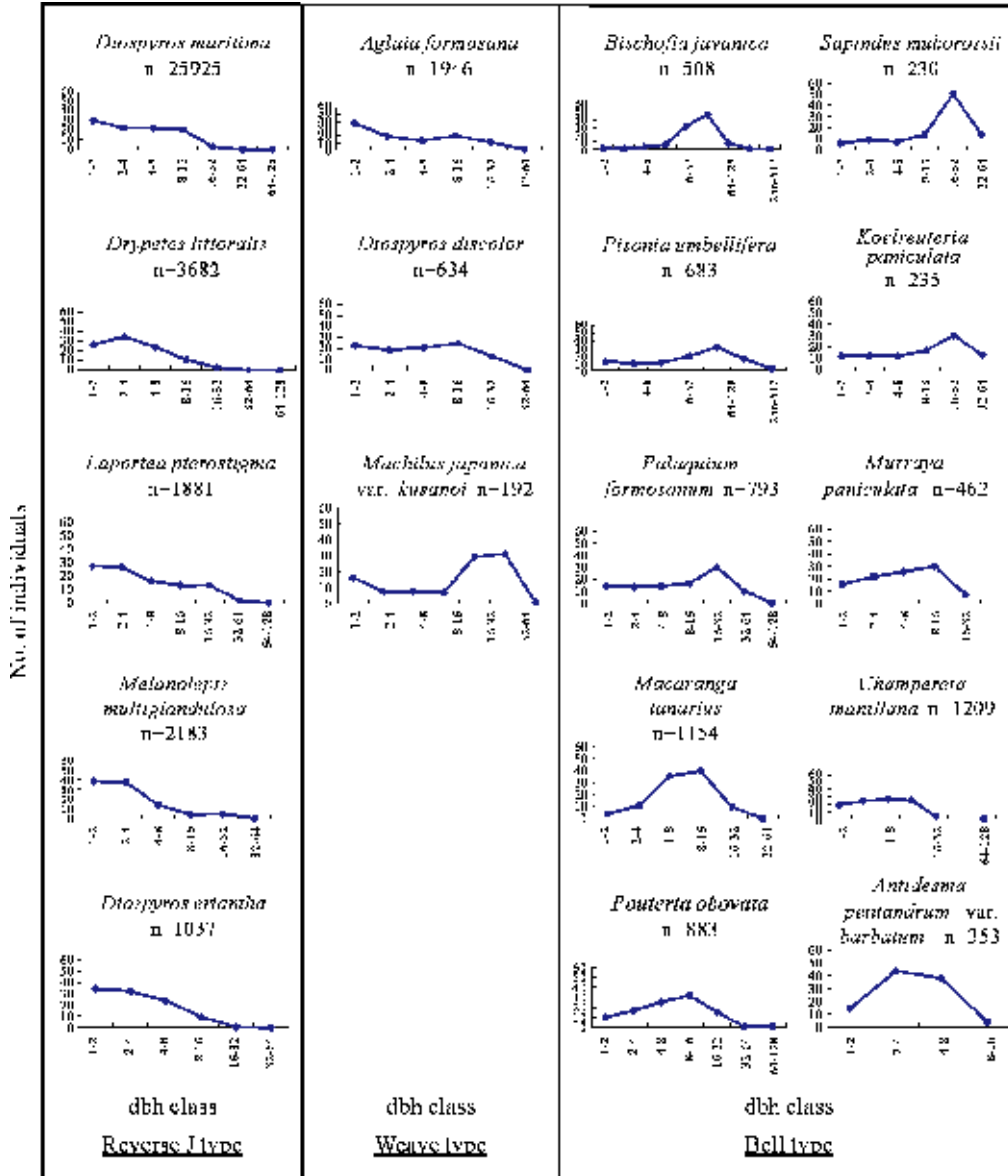


Fig. 6. Population structure of 20 dominant species populations recorded in the 10-ha plot. dbh is on the X-axis, and the number of individuals on the Y-axis. The reverse J type, weave type, and bell type population structures are separately.

211個10×10 m小區，記錄71種木本植物，Simpson及Shannon多樣性指數與皮孫木型相近，分別為0.65及0.83；密度為4,572株/ha；胸高斷面積為四型中最高者，達54.24 m<sup>2</sup>/ha。

除共同優勢樹種外，其它優勢樹種依次為茄苳、台灣膠木、鐵色、咬人狗、柿葉茶茱萸 (*Gonocaryum calleryanum*)等，指標種為台灣膠木、柿葉茶茱萸。



**Table 3. Importance values of dominant and characteristic tree species of the 4 habitat types in the Kenting Karst Forest, southern Taiwan. The density, basal area, and diversity index of the 4 habitat types are also listed at the bottom of the table.**

Species	Habitat type			
	I	II	III	IV
<i>Diospyros maritima</i>	40.89	42.27	38.36	31.52
<i>Pisonia umbellifera</i>	20.11	2.09	1.50	1.22
<i>Laportea pterostigma</i>	5.77	3.07	5.06	3.41
<i>Melanolepis multiglandulosa</i>	3.92	2.19	4.88	1.61
<i>Bischofia javanica</i>	2.97	18.49	4.54	11.36
<i>Palaquium formosanum</i>	2.55	9.73	1.14	1.10
<i>Drypetes littoralis</i>	2.44	4.26	2.74	7.86
<i>Machilus japonica</i> var. <i>kusanoi</i>	2.51	1.34	2.28	
<i>Diospyros discolor</i>	1.62	2.03	1.02	
<i>Beilschmiedia erythrophloia</i>	1.45		1.32	
<i>Ficus wightiana</i>	2.24		1.82	1.39
<i>Sapindus mukorossii</i>	1.60		2.41	1.17
<i>Macaranga tanarius</i>	1.03		4.72	2.13
<i>Dracaena angustifolia</i>	1.37			
<i>Reevesia formosana</i>	1.20			
<i>Gonocaryum calleryanum</i>		2.79		
<i>Koelreuteria paniculata</i>		1.29	1.98	
<i>Cryptocarya concinna</i>			2.16	
<i>Leea guineensis</i>			1.27	
<i>Lagerstroemia subcostata</i>			1.23	
<i>Ficus irisana</i>			1.13	
<i>Fraxinus formosana</i>			1.08	
<i>Ardisia sieboldii</i>			1.04	
<i>Diospyros eriantha</i>			2.66	1.11
<i>Champereia manillana</i>			1.88	3.13
<i>Aglaia formosana</i>			1.25	7.57
<i>Pouteria obovata</i>				4.51
<i>Murraya paniculata</i>				1.69
<i>Antidesma pentandrum</i> var. <i>barbatum</i>				1.02
Others	8.36	10.45	12.53	18.20
Number of plots	172	211	292	325
Density (individual ha <sup>-1</sup> )	3942	4572	5218	6240
BA (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	38.99	54.24	31.44	51.6
Simpson's index	0.67	0.65	0.72	0.8
Shannon's index	0.85	0.83	1.01	1.1

### (三) 蟲屎-血桐-土楠型

主要分布於樣區東側之平坦谷地(Fig. 2)，共有292個10×10 m小區，記錄103種木本植物，Simpson及Shannon多樣性指數較低，分別為0.72及1.01；密度為5,218株/ha；胸高斷

面積為四型中最低者，僅有31.44 m<sup>2</sup>/ha。除共同優勢樹種外，其它優勢樹種依次為咬人狗、虫屎、血桐、茄苳等。本型之血桐及土楠(*Coyptocarya concinna*)較其他型植物社會多，為指標種。



#### (四)鐵色-紅柴-樹青-月橘型

主要分布於樣區內之隆起岩塊，共有325個 $10 \times 10$  m小區，記錄91種木本植物，Simpson及Shannon多樣性指數為四型中最高者，分別為0.80及1.10；密度為6,240株/ha，亦為四型中最高者；胸高斷面積 $51.6 \text{ m}^2/\text{ha}$ 。除共同優勢樹種外，還有其餘優勢樹種依次為茄苳、鐵色、紅柴、樹青、咬人狗、山柚仔(*Champereia manillana*)、血桐等，指標種為紅柴、樹青、月橘。

### 討論

#### 一、特殊之鑲嵌式生育地分化

高位珊瑚礁之正式地質學名稱應為喀斯勒地景(karst landscape)，是由數十萬年以上之石灰岩層積岩塊淋溶形成地景，該石灰岩塊是由早期在海底的珊瑚、有孔蟲、石灰藻、貝殼等生物所組成。高低起伏之嶙峋地形及石灰岩洞是喀斯勒地景之特徵，造就了墾丁高位珊瑚礁自然保留區特殊的鑲嵌(mosaic)式生育地分化，即由隆起岩塊、隆起台地、凹陷谷地及平坦谷地4種主要微地貌(micro-landform)所組成。墾丁地區夏、秋季節有颱風干擾，冬季及早春有俗稱落山風的東北季風影響，隆起岩塊曝露於較高位置，容易受到強風干擾；相對的，凹陷谷地受到週遭地形屏障，受強風干擾較小；隆起台地及平坦谷地受強風干擾程度則位於上述2者之間。相同的，陽光入射量及土壤深度亦受到微地貌之影響，隆起岩塊之陽光入射量最大，受雨水沖刷影響土層最淺；凹陷谷地受地形遮蔽影響，陽光入射量最小，其承接隆起岩塊(或台地)沖刷下來之土壤，土層深厚；隆起台地及平坦谷地之陽光入射量及土壤厚度則介於上述2者之間。不同微地貌之環境條件明顯不同，提供不同植物生長所需的不同生育地條件，故生育地型植物社會分類結果亦顯示，植物社會組成與微地貌間有明顯之相關性存在(Table 3, Fig. 6)。

Chiou (1991)曾進行保留區植群之研究，並將全區分為相思樹、九芎-白雞油、紅柴-樹青、紅柴-黃心柿及黃心柿-鐵色-毛柿五型。由

於其取樣範圍涵蓋整個138 ha之保留區，故靠近保留區之邊緣地帶之相思樹與九芎-白雞油兩型並沒有出現在永久樣區內，據當地民眾口述，上述兩種植物社會是由早期造林及人為干擾、利用而形成，並非天然植被。Chiou分類之紅柴-樹青型與永久樣區內之鐵色-紅柴-樹青-月橘型相同，分佈於隆起岩塊上；然而Chiou分類之紅柴-黃心柿及黃心柿-鐵色-毛柿與本次之分類結果則難以比對，其植物組成介於本次分類之其它3型之間，可能原因在於Chiou用於植物社會分類之樣區大小為 $10 \times 25$  m，在地形起伏變化急遽之喀斯勒地形，可能跨越隆起台地、凹陷谷地及平坦谷地等不同生育地環境，而本次用於永久樣區生育地型分類之樣區大小為 $10 \times 10$  m，相對而言較少有跨越不同生育地型之機會。綜合言之，本區經自然演替產生之生育地類型植物社會，應可分類成隆起岩塊、隆起台地、凹陷谷地及平坦谷地4型，但其中部分平坦谷地在早期為當地排灣族人之旱作耕地，據當地居民口述，永久樣區東側之平坦谷地在50~100年前才陸續廢耕，故植物社會尚未到達老熟階段，仍有為數甚多的先驅樹種，如血桐、虫屎等。

#### 二、本區之柿樹科植物

永久樣區紀錄4種柿樹科植物，分別為毛柿、軟毛柿(*Diospyros eriantha*)、象牙樹(*Diospyros ferrea*)及黃心柿，總計株數達27,889株，佔全體植株密度的比例為53.7%；總計胸高斷面積為 $116.6 \text{ m}^2$ ，佔全體胸高斷面積的比例為24.9%；為樣區最優勢之植物科別，其中黃心柿為樣區中之最優勢樹種，佔全體植株密度的比例為50.3%，全體胸高斷面積的比例為23.2%。象牙樹雖然只紀錄到17株，最大胸徑為15.8 cm，但據當地民眾口述，早期此區有為數不少之象牙樹，在10幾年至30年前間，此區尚未公告為保留區時，象牙樹盜採情形非常嚴重，導致大徑級之母樹幾乎消失。此一保留區為台灣全島森林柿樹科植物分布最密集區域，與港口溪以北(例如南仁山區)之植物社會組成截然不同，是否與此地特殊之喀斯勒地質有關，亦或



柿樹科成員之族群無法跨越溪流或山稜之地理障礙，值得進一步探討。

### 三、生物多樣性及特、稀有植物

國外針對加勒比(Caribbean)海島嶼森林之研究報告指出，喀斯勒森林之生物多樣性及特有種數量較其它森林高(Furley and Newey 1979, Chinae 1980, Furley 1987, Kerry et al. 1988)，高生物多樣性之部分原因為隆起岩塊與凹陷谷地間的明顯生育地分化(Chinae 1980)，而特殊的地質、土壤亦提高了特有種經演化產生之機會。依據前述之本研究調查結果，10 ha樣區內紀錄木本植物113種(Table 1)；相較於於南仁山區近稜線地區3 ha永久樣區紀錄之125種木本植物(Wu 1998)，及南仁山區近溪谷地區2.1 ha永久樣區紀錄之107種木本植物(Yang 1994)，此一喀斯勒森林之木本植物豐富度(species richness)並不高。就多樣性指數而言，本區各生育地型之Simpson's index在0.65~0.80之間，Shannon's index在0.83~1.10之間，普遍低於國內於中低海拔樣區之調查結果(Wang et al. 2000, Wu 1998, Yang 1994)；此一現象與黃心柿及少數樹種在本區森林中之重要值偏高有關。

就特有樹種而言，本區有恆春皂莢(*Gleditsia rolfei*)、高士佛紫金牛(*Ardisia kusukuensis*)及台灣梭羅木(*Reevesia formosana*)3種台灣特有樹種，但並沒有分部地點僅限於喀斯勒地形之森林內者。就稀有樹種而言，樣區出現的有恆春厚殼樹(*Ehretia resinosa*)、毛柿、象牙樹、鐵色、台灣膠木、恆春臭黃荊(*Premna hengchunensis*)、恆春皂莢及柿葉茶茱萸，其比例的確較恆春半島其它森林為多。

### 四、未來研究重點

此一喀斯勒森林的特殊地質環境蘊育了質地特殊的土壤，其鈣、鎂等鹽基性陽離子含量豐富，鹽基飽和度很高，甚至已達100%；土壤pH值在5~7之間，亦較一般森林高(Hseu et al. 2004)；此外，恆春半島特有之落山風及經常性之颱風干擾對林分結構及動態變化均有重要的影響，而高低起伏之嶙峋地形則提供了樹冠層

研究(canopy study)之絕佳環境。針對此一森林之上述特性，未來研究重點可以歸納如下：(1) 植物生理適應性，尤其是樣區內佔有絕對優勢之柿樹科植物；(2) 颱風及季風對林分動態之影響；(3) 樹冠層研究，包括物候、授粉等繁殖生物學課題、樹冠層活動生物研究等。

### 結論

在墾丁喀斯勒森林設置10 ha (400×250 m) 植物社會永久樣區，樣區中紀錄113種樹種，是以柿樹科及大戟科佔優勢之森林，其中黃心柿之相對密度高達50.3%、相對優勢度為23.2%，是全樣區最優勢之樹種；其它優勢種包括茄苳、鐵色、皮孫木、咬人狗、紅柴及台灣膠木等；排名前10位樹種之重要值總合計為74.7%，顯示樣區內樹種之優勢度集中於少數樹種。

永久樣區可區分為四個生育地型植物社會，皮孫木型分布於凹陷谷地，茄苳-台灣膠木型分布於隆起台地，鐵色-紅柴-樹青-月橘型分布於隆起岩塊，虫屎-血桐-土楠型分布於早期人為干擾盛行之平坦谷地。此一結果顯示，生育地型植物社會之分布與微地貌間有明顯之相關性存在，不同生育地的受風強度、陽光入射量及土壤深度明顯不同。本區喀斯勒森林以柿樹科植物為最優勢的植物社會，其植物組成與台灣島其它地區明顯不同，但樹種多樣性並不高。

### 謝誌

此一研究承東海大學生物系學生及林業試驗所生物組、恆春研究中心同仁協助現場調查及資料整理，在此深表謝意；兩位匿名審查者給予之寶貴意見在此一併致謝。

### 引用文獻

- Chinae JD. 1980. The forest vegetation of the limestone hills of northern Puerto Rico [Master's thesis], Ithaca, NY: Cornell Univ. 59 p.  
Chiou WL. 1991. The study of vegetation



on Hengchun Natural Reserve. *Taiwan J For Sci* 6(3):203-27. [in Chinese with English summary].

**Condit R. 1995.** Research in large, long-term tropical forest plots. *Trends Evol Ecol* 10(1):18-22.

**Furley PA. 1987.** Impact of forest clearance on the soil of tropical cone karst. *Earth Surf Proc Landform* 12:523-9.

**Furley PA, Newey WW. 1979.** Variation in plant communities with topography over tropical limestone. *J Biogeogr* 6:1-15.

**Hill MO. 1979.** TWINSPAN--A FORTRAN program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes. Ithica, NY: Cornell Univ. 90 p.

**Hseu ZY, Wang HH, Wu SH, Chang IS. 2004.** Pedogenesis and classification of the soils in the Kenting Uplifted Coral Reef Nature Reserve. *Taiwan J For Sci* 19(2):153-64. [in Chinese with English summary].

**Kelly DL, Tanner EVJ, Kapos V, Dickson TA, Goodfriend GA, Fairbairn P. 1988.** Jamaican limestone forest: floristics, structure and environment of three examples along a rainfall gradient. *J Trop Ecol* 4:121-56.

**McCune B, Mefford MJ. 1999.** PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, vers. 4. Gleneden Beach, OR: MjM Software Design. 237 p.

**Shi ZT, Tsai WJ, Hseu MY. 1988.** The study of ages and terraces of coral reef in the Kenting National Park Area. Conservation Research Paper No. 57, Hengchun, Taiwan: Kenting National Park. 46 p. [in Chinese with English summary].

**Su HJ, Su CY. 1988.** Multivariate analysis on the vegetation of Kenting National Park. *Q J Chin For* 21(4):17-32. [in Chinese with English summary].

**Wang HH 2000.** Vegetation classification and ordination of a permanent plot in the Fushan Experimental Forest. *Taiwan J For Sci* 15(3):411-28.

**Wu SH. 1998.** Short-term dynamics of a subtropical forest in Nanjenshan [Master's thesis]. Taipei, Taiwan: Natl Taiwan Univ. 161 p. [in Chinese with English summary].

**Yang JJ. 1994.** Woody floristic composition, structure and distribution pattern of the tropical seasonal forest in Nanjenshan area [Master's thesis]. Taipei, Taiwan: Natl Taiwan Univ. 63 p. [in Chinese with English summary].



研究簡報

## 紀台灣原生植物之新栽培品種(十)

呂勝由<sup>1,2)</sup> 鄭育斌<sup>1,6)</sup> 羅榮盟<sup>3)</sup> 陳文明<sup>4)</sup> 陳建文<sup>5)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生植物栽培品種，即‘袖珍葉台灣三角楓’ *Acer formosanum* ‘Mini’ (槭樹科)，‘奇葉黃槿’ *Hibiscus tiliaceus* ‘Peculiar leaved’ (錦葵科)，‘金絲竹柏’ *Nageia nagi* ‘Golden striped’ (羅漢松科)，‘白邊海桐’ *Pittosporum tobira* ‘White margined’ (海桐科)。這四種栽培品種可供園藝觀賞及綠美化之用。

關鍵詞：栽培品種、台灣三角楓、黃槿、竹柏、海桐。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、陳文明、陳建文。2005。紀台灣原生植物之新栽培品種(十)。台灣林業科學20(4):361-4。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (X)

Sheng-You Lu,<sup>1,2)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1,6)</sup> Rong-Mong Lo,<sup>3)</sup>

Wen-Ming Chen,<sup>4)</sup> Chien-Wen Chen<sup>5)</sup>

### 【 Summary 】

Four new cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Acer formosanum* ‘Mini’ (Aceraceae), *Hibiscus tiliaceus* ‘Peculiar leaved’ (Malvaceae), *Nageia nagi* ‘Golden striped’ (Podocarpaceae), and *Pittosporum tobira* ‘White margined’ (Pittosporaceae). These cultivars are useful for ornamental and landscape purposes.

**Key words:** cultivar, *Acer formosanum*, *Hibiscus tiliaceus*, *Nageia nagi*, *Pittosporum tobira*.

<sup>1)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，10066台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan.

<sup>2)</sup> 國立中山大學生物科學系，80424高雄市蓮海路70號 Department of Biological Sciences, National Sun Yat-Sen University, 70 Lienhei Rd., Kaohsiung 80424, Taiwan.

<sup>3)</sup> 52242彰化縣田尾鄉饒平村中山路一段395號 395 Chung Shan Rd., Sec. 1, Tienwei 52242, Changhua, Taiwan.

<sup>4)</sup> 25150台北縣淡水鎮水源里百六嘎5號 5 Baliaka, Shueiyuan Village, Danshuei 25150, Taipei, Taiwan.

<sup>5)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所太麻里研究中心，96341台東縣太麻里鄉大王村橋頭6號 Taimalee Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, 6 Ciaotou, Dawang Village, Taimali 96341, Taitung, Taiwan.

<sup>6)</sup> 通訊作者 Corresponding author, e-mail:ypcheng@tfri.gov.tw

2005年6月送審 2005年9月通過 Received June 2005, Accepted September 2005.



Lu SY, Cheng YP, Lo RM, Chen WM, Chen CW. 2005. New cultivars from native plants of Taiwan (X). Taiwan J For Sci 20(4):361-4.

植物新品種育成有多種方法，如傳統雜交育種、自然芽條或實生苗變異之選拔、利用放射線或化學藥劑誘變育種，新技術的利用，如體細胞融合、原生質體培養及利用生物技術基因轉殖等，都可獲得許多不同變異的新品種植物，這些新品種植物在園藝或農藝利用，具有多方面的用途。原生植物的新品種的開發利用，是值得發展的方向，尤其是作為園藝或綠化用途。在原生植物種源蒐集及培育過程中，常發現許多具有觀賞價值的形態變異株，值得作綠化推廣之用。本文所描述四種栽培品種植物，袖珍葉台灣三角楓、奇葉黃槿、金絲竹柏和白邊海桐，都是從原生種選育出，經過扦插或分株繁殖和多年觀察後，確定其性狀穩定，生長良好。因此將之發表為新的栽培品種，並描述其性狀與繁殖特性，以便綠美化推廣利用。

1. *Acer formosanum* 'Mini' 袖珍葉台灣三角楓 (Figs. 1, 5a).

*A typo folio parvulo differt.*

Deciduous tree. Leaves coriaceous, broadly 3-lobed near apex, rounded or slightly cordate at base, 3~4.5 cm long, 3.5~4.8 cm broad. Standard: S.Y. Lu 25808 (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in the Taipei Botanical Garden.



Fig. 1. *Acer formosanum* 'Mini'.

註：本品種是從台灣三角楓(*Acer formosanum* Hay.)實生苗變異株扦插繁殖而來，經過長期的栽培觀察，確定其性狀穩定，繁殖容易而且生長情形良好。與台灣三角楓之差異在於成熟葉明顯較小，而且其葉之寬度較葉之長度長，原種葉7~9 cm長，4~6 cm寬，明顯有別。

2. *Hibiscus tiliaceus* 'Peculiar leaved' 奇葉黃槿 (Figs. 2, 5b).

*A typo folio trilobo differt.*

A small tree. Leaves orbicular, acute at apex, cordate at base, 9~10 cm long, 6~7 cm



Fig. 2. *Hibiscus tiliaceus* 'Peculiar leaved'.

broad, shallowly 3-lobed, lobes acute at apex. Standard: S.Y. Lu 25809 (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in the Taipei Botanical Garden.

註：本品種發現於蘭嶼，為實生苗的變異株，由第三作者繁殖成功。與原種主要差異在於葉先端具明顯的3個齒緣，而原種為全緣或不明顯齒緣，二者可資區別。本品種定名為‘奇葉黃槿’。

3. *Nageia nagi* 'Golden striped' 金絲竹柏 (Figs. 3, 5c).

*A typo folio fasciato differt.*

Leaves coriaceous, elliptic-lanceolate, 4~7





Fig. 3. *Nageia nagi* 'Golden striped'.

cm long, 1~2 cm broad, with yellow stripes. Standard: S.Y. Lu 25807 (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in the Taipei Botanical Garden.

註：本品種為第四作者所發現的實生苗變異株，經無性繁殖而成，經長期的栽培觀察，確定其性狀穩定，扦插及稼接繁殖都容易，而且



Fig. 4. *Pittosporum tobira* 'White margined'.

生長情形良好。其與原種之主要差異在於葉片具有金黃色的條紋，故命名為‘金絲竹柏’。

4. *Pittosporum tobira* 'White margined' 白邊海桐(Figs. 4, 5d).

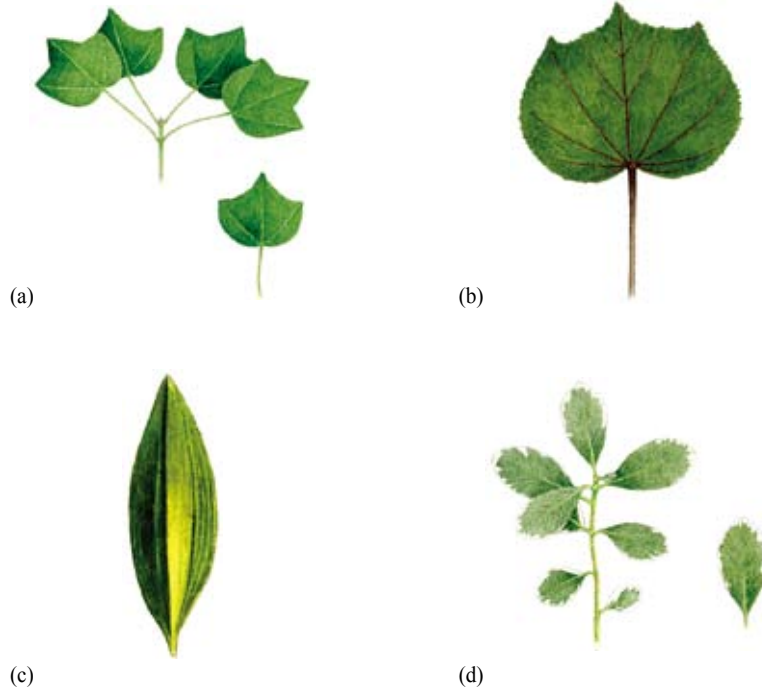


Fig. 5. Leaves of the 4 new cultivars: a. *Acer formosanum* 'Mini', b. *Hibiscus tiliaceus* 'Peculiar leaved', c. *Nageia nagi* 'Golden striped', and d. *Pittosporum tobira* 'White margined'.



*A typo folio ad marginem lacteum differt.*

An evergreen shrub. Leaves coriaceous, oblanceolate, 5~10 cm long, 2~4.5 cm broad, with milky-white variegated margins. Standard: *S.Y. Lu 25810* (TAIF), specimen prepared from a plant cultivated in the Taipei Botanical Garden.

註：本品種最早發現於桃園大竹鄉林丕采花圃，而於台北植物園扦插繁殖成功，其性狀穩

定，生長情形良好。與原種之差別主要在於成熟葉具乳白色的邊，故命名為‘白邊海桐’。

本文四個新命名的栽培品種，依照其一般園藝及景觀綠化之實用性加以分析如下：袖珍葉台灣三角楓、奇葉黃槿、金絲竹柏及白邊海桐等四個栽培品種均適合盆植、盆栽及庭園栽植。而奇葉黃槿及白邊海桐耐潮性較佳，可用於濱海地區的綠化。



## PARTIAL CONCORDANCE BETWEEN NUCLEAR AND ORGANELLE DNA IN REVEALING THE GENETIC DIVERGENCE AMONG *QUERCUS GLAUCA* (FAGACEAE) POPULATIONS IN TAIWAN

F. L. Shih,<sup>1,\*</sup> Y. P. Cheng,<sup>1,\*</sup> S. Y. Hwang,<sup>†</sup> and T. P. Lin<sup>2,\*</sup>

<sup>\*</sup>Institute of Plant Biology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, Republic of China; and <sup>†</sup>Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yangmingshan, Taipei 111, Taiwan, Republic of China

*Quercus glauca* (Thunb. ex Murray) Oerst (Fagaceae) has a wide distributional range in Taiwan. In this study, the evolutionary history and the most genetically divergent sites of *Q. glauca* were studied using a nuclear gene marker, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Also, the consistency of the results obtained from nuclear gene and cytoplasmic loci was investigated. Using a genealogical approach (TCS software), we determined haplotypes and their relationships to one another. We used the level of divergence for each population from the remaining populations (calculated as mean values of pairwise population differentiation,  $F_{ST}$ , for each population) to locate the most genetically divergent areas in Taiwan. According to the average  $F_{ST}$  of each population in comparison with the remaining ones, a peak was found in the northern part of central Taiwan, and another was found in the southeastern region. The peak profiles of the mean  $F_{ST}$  values for all three DNA data sets (nDNA, cpDNA, and mtDNA) showed similar trends on both sides of the Central Mountain Ridge, except for the mtDNA sequence on the western side. This study suggests that two potential refugia existed in Taiwan during the last glaciation: one in the northern part of central Taiwan and another in southern Taiwan.

**Keywords:** glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, phylogeography, refugium, genetic divergence, Taiwan, *Quercus glauca*.

### Introduction

Using molecular markers in combination with paleoecological studies for the analysis of the late Quaternary history of angiosperms in order to deduce historical information from their present-day geographical distributions has led to the recognition of glacial refugia of many species of Europe, North America, and Asia (Comes and Kadereit 1998). DNA sequences can even provide evidence of refugium sites that have not been detected by geological or fossil data (Rowe et al. 2004). The power of nucleotide sequences comes from the fact that they can be organized into hierarchically ordered networks of descent and can provide historical information that nonordered markers are unable to provide (Schaal et al. 1998). The availability of DNA sequence data and the development of coalescent-based analysis of allele genealogies can therefore form the basis of the study of intraspecific processes within a phylogenetic framework (Avice 2000) and can be used to examine the geographic distribution of genetic variations, postglacial recolonizations, and the ways in which recent evolutionary history has shaped patterns of intraspecific variations of a wide range of species (Newton et al. 1999).

<sup>1</sup> F. L. Shih and Y. P. Cheng contributed equally to this article.

<sup>2</sup> Author for correspondence; fax 886-2-2368-9564; e-mail tpl@ntu.edu.tw.

Manuscript received October 2005; revised manuscript received March 2006.

Gene flow between populations may be achieved through pollen or seeds. Pollen-mediated gene flow is not necessarily faster than gene flow by seeds; however, the rate of the flow through pollen in tree species like oaks with large heavy seeds is faster than that through seeds because pollen grains are smaller and can be carried more easily over longer distances by diverse agents including wind and insects (Ennos 1994). In addition, the chloroplast genome is haploid, whereas nuclear genomes are diploid or polyploid; thus, the effective population size of cytoplasmic genomes is half that of the diploid nuclear genome (McCauley 1995; Moore 1995). The deeper coalescence times expected for nuclear haplotypes will obscure spatial genetic patterns revealed by the plastid genomes. To test this idea, we compared the spatial genetic pattern of the plastid genome, including mitochondrial DNA (mtDNA) and chloroplast DNA (cpDNA), with nuclear DNA (nDNA) of a subtropical tree species, *Quercus glauca* (Fagaceae). In addition, we examined whether the patterns from different gene markers reflect different genetic histories, which may be integrated to postulate the possible historical events that have occurred in *Q. glauca* in Taiwan.

*Quercus glauca* is a member of the subgenus *Cyclobalanopsis*. *Cyclobalanopsis* is monophyletic within the genus *Quercus* according to molecular data (Manos et al. 2001). The subgenus *Cyclobalanopsis* contains ca. 122 species in tropical and subtropical eastern Asia (Luo and Zhou 2001). In consequence, *Cyclobalanopsis* is considered to be of tropical and subtropical origin (Luo and Zhou 2001). Among



**Table 1**  
**Populations and Haplotypes of *Quercus glauca* in Taiwan and Japan**

Population	Location	Elevation (m)	Sample size (no. alleles)	Haplotypes (no. alleles)
Taiwan:				
1. Yangmingshan	121.51°E, 25.18°N	400	10	A (4), B (1), C (2), D (1), E (2)
2. Wulai	121.54°E, 24.86°N	450	11	A (3), B (1), C (3), D (2), F (1), B3 (1)
3. Baling	121.37°E, 24.68°N	600	11	A (4), C (3), F (1), H (2), I (1)
4. Chilán	121.60°E, 24.58°N	400	9	A (1), B (2), C (5), D (1)
5. Chingchuan	121.09°E, 24.58°N	450	9	A (3), B (1), C (2), F (1), L (2)
6. Kukuan	121.00°E, 24.21°N	700	7	B (3), C (1), D (2), C1 (1)
7. Huisun	121.03°E, 24.09°N	650	8	A (2), B (3), M (2), I1 (1)
8. Wushe	121.13°E, 24.02°N	850	12	A (3) B (2), D (1), K (2), L (1), B5 (1), B2 (1), B6 (1)
9. Liukuei	120.64°E, 23.00°N	550	10	A (4), C (1), D (2), E (1), J (1), B1 (1)
10. Chinshuiying	120.73°E, 22.42°N	1000	10	A (5), B (1), C (2), F (2)
11. Suao	121.84°E, 24.60°N	450	10	A (2), B (4), C (1), D (1), E1 (1), O2 (1)
12. Taroko	121.62°E, 24.15°N	500	9	A (3), B (3), C (1), D (1), E (1)
13. Lungchien	121.43°E, 24.00°N	400	10	A (5), B (1), C (3), E (1)
14. Hungyeh	121.04°E, 22.90°N	400	9	A (3), B (2), C (1), D (1), F (1), B4 (1)
15. Juisui	121.42°E, 23.50°N	200	9	A (3), B (3), C (2), H (1)
16. Fuli	121.27°E, 23.08°N	500	9	A (4), B (2), C (1), N (2)
17. Taimali	121.01°E, 22.67°N	100	3	A (1), E (1), J (1)
Japan:				
18. Kyushu	130.54°E, 33.67°N		8	B (1), G (4), H1 (1), B7 (1), G1 (1)
19. Kagoshima	130.43°E, 31.55°N		4	I (1), O1 (1), B8 (1), B9 (1)

these 122 species, *Q. glauca* has the widest range of distribution and extends to the northern limit of this subgenus. The species *Q. glauca* is found from the Himalayas to Indochina, via China, and has spread to the coast of the west Pacific in places such as Taiwan, the Ryukyus, Japan, and Korea. In Taiwan, *Q. glauca* is distributed from sea level up to 1700 m in elevation throughout the entire island. It is a codominant tree in subtropical evergreen forests and grows to 20 m in height. It occurs as a pioneer species that prefers open sites such as areas of landslides and windy ridges.

Taiwan is thought to have been connected to the Asian continent during the glacial maximum in the late Pleistocene (Boggs et al. 1979). A more recent land configuration proposed for the late Pleistocene (0.2–0.02 Ma) indicates that a large land bridge extended from eastern China to Taiwan, to the Ryukyus, and probably to the main islands of Japan (Kimura 1996) and should have provided the opportunity for gene flow among haplotypes. The floristic composition of Taiwan, a continental island, has high levels of endemism and species diversity. Most of the flora was thought to have originated from the Asian mainland during cycles of temperature oscillations. Although the land in Taiwan has never been covered by ice sheets except on the highest peaks, the tremendous temperature and climatic changes should have influenced species distributions and evolution. Palynological data indicate that during the last glacial maximum, most subtropical species disappeared from the lowlands of central Taiwan. At the same time, temperate species expanded their ranges of distribution from high elevations, and lowland forests were dominated by conifers (Tsukada 1966). When the ice retreated, a reverse course of events occurred, with subtropical species recolonizing from south to north and lowland forests retreating to higher elevations. The current geographic distribution of living organisms is the result of both present and past ecological and historical factors.

We indicated in a previous article that the southeastern part of Taiwan could have been a potential refugium in the last glacial maximum (Huang et al. 2002), according to chloroplast DNA sequences. In addition to higher haplotype and nucleotide diversities, synapomorphic haplotypes were found on the eastern side of Taiwan (Huang et al. 2002). Accompanied by published palynological records of the last glaciation (Tsukada 1966), these observations favor the concept that regards the southeastern part of Taiwan as a potential refugium during the last glaciation.

No climatic/historic or pollen record data are available for the southern part of Taiwan to support this observation. Is there any other parameter that can be used for predicting the potential refugium in the last glaciation? Fortunately, the degree of average population differentiation ( $F_{ST}$ ) of each population in comparison with the remaining populations (i.e., genetic divergence) can be used to examine the consequences of historical and contemporary geographical population subdivision on evolutionary processes (Johnson et al. 2000) and is important for reconstructing phylogeographical histories that have evolved during pre- and postcolonization events (Grant and Grant 1997). It was found that in the common ivy (*Hedera* sp.) of Europe, differentiation of each population from the remaining ones revealed a latitudinal pattern, with populations from the south being significantly more differentiated from the pooled remaining populations than were the central or northern populations (Grivet and Petit 2002). Thus, population divergence or genetic differentiation can be a useful criterion for locating regions of glacial refugia. Petit et al. (2003) tested the hypothesis that glacial refuge areas harbor a large fraction of intraspecific diversity. They concluded that plant populations in refuge areas have high genetic divergence and uniqueness rather than a high number of haplotypes. The concept of genetically highly divergent



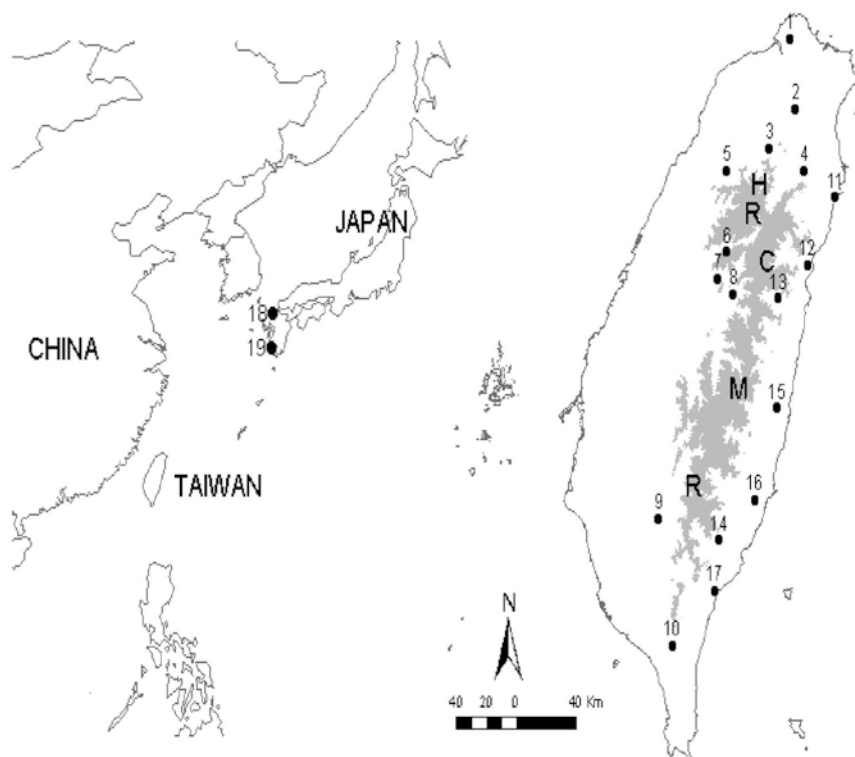


Fig. 1 Map of East Asia showing the location of Taiwan and the populations sampled for *Quercus glauca*. Only elevations above 2000 m of the mountain areas are shown. CMR = Central Mountain Ridge; HR = Hsueshan Range.

populations existing in regions of glacial refugia is also supported in the common ash (*Fraxinus excelsior*; Heuertz et al. 2004).

It is worth reexamining the potential refuge site reported using chloroplastic DNA (Huang et al. 2002). Also, this site needs to be tested with independent nuclear markers. In this article, we address whether the data obtained from nuclear genes are able to corroborate previous results based on cytoplasmic loci and to further characterize the population structure and evolutionary history of *Q. glauca* in Taiwan. The results of phylogeographical analysis in this study support those obtained from independent DNA sequences from the cytoplasmic genome in *Q. glauca*.

## Material and Methods

### Sampling of Plant Populations

Every stand used in this study was considered to be genetically original, as low economic interest strongly suggests their indigenous status. Most of the populations used in this study are the same as those used in a previous study of cytoplasmic data (Huang et al. 2002) but are not necessarily from the same individuals. On average, the number of alleles used in this study was 2.5 times greater than that used in the chloroplast DNA study.

In total, 19 populations, including 17 from Taiwan and two from Japan, were collected (table 1; fig. 1). In general,

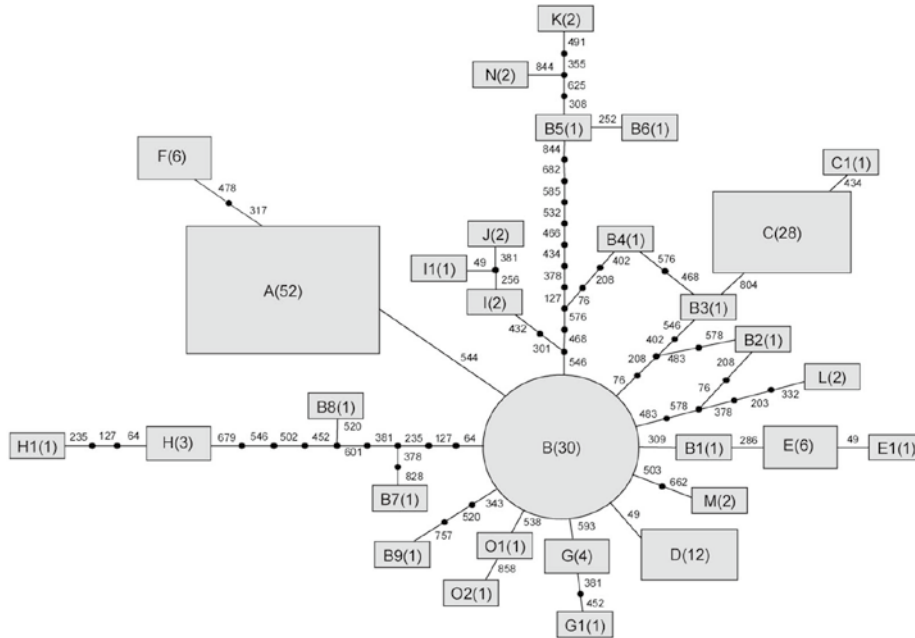
six individuals or fewer represented each population. Leaves from fresh or silica-gel-dried collections of each individual were deposited in a freezer at  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### Polymerase Chain Reaction and Sequencing

DNA was extracted from leaves following modification of a standard protocol (Murray and Thompson 1980). The primers used by Olsen and Schaal (1999) for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*G3pdh*) were tested to screen the same gene in *Quercus glauca*. A polymerase chain reaction (PCR) was performed with newly designed forward (TGG AAT TGT TGA GGG TCT CAT; denoted GPD-CG-F) and reverse (TGC TGT CAC CAA TGA AGT CG; denoted GPD-CG-R) primers so that they best fit our sequence. The PCR solution was prepared as follows: 500 mM KCl, 15 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.01% gelatin, 100 mM Tris-HCl (pH 8.3), 250  $\mu\text{M}$  of each dNTP, 2  $\mu\text{M}$  of each primer, 0.04–20 ng of template DNA, 1  $\mu\text{g}$  RNase, 0.5 units of *Taq* polymerase (Amersham Pharmacia Biotech, Taipei, Taiwan), and double-distilled water to a final volume of 10  $\mu\text{L}$ . Amplifications were performed with an initial denaturing of 2 min at  $95^{\circ}\text{C}$ , followed by 32 cycles of 1 min at  $95^{\circ}\text{C}$ , 90 s at  $62^{\circ}\text{C}$ , and 2 min at  $72^{\circ}\text{C}$ , ending with a 9-min extension at  $72^{\circ}\text{C}$ . We amplified a *G3pdh* gene sequence of 898 base pairs (bp) (including a partial sequence of 5'-UTR, exon A [79–176 bp], intron a, exon B [594–736 bp], intron b, and a partial sequence of exon C







**Fig. 2** Relationships of haplotypes of the nuclear gene marker, *G3pdh* (unrooted), reconstructed by the computer program TCS, version 1.04. Numbers of alleles are in parentheses. Haplotype B, indicated by a circle, is located in the center, from which the Taiwanese and Japanese haplotypes originated. The other haplotypes, indicated by squares of various sizes, reflect the number of alleles found. B4 and B2, which are connected to two internal branches, respectively, probably resulted from homoplasy or recombination. A dot represents a mutation for which a haplotype has not been found within the sample. Numbers along the lines represent the base positions of the mutations that separate the haplotypes.

The conventional genetic distance,  $F_{ST}$  (Wright 1931), according to DNA sequences for population subdivision, was estimated using the Arlequin program (Schneider et al. 2000), which provides a matrix of pairwise  $F_{ST}$  values between populations. The Mantel test, implanted in the PAS-SAGE program (Rosenberg 2001), was performed to test whether genetic distances correlated with geographical distances. In addition, the level of divergence for each population from the remaining populations was calculated as mean values of pairwise  $F_{ST}$  for each population against the remaining populations. The contribution to total expected heterozygosity (CT) of each population was calculated using the Contrib software (Petit et al. 1998). This contribution is split into two components: one due to the diversity of the population (CS) and the other due to its differentiation from the remaining populations (CD). In this case, CS and CD for each population were computed relative to the mean population diversities and mean population differentiation, respectively. These led to either positive or negative contributions to populations (Petit et al. 1998).

Sequences of cpDNA and mtDNA of the populations from Taiwan were obtained from published data (Huang et al. 2002; Lin et al. 2003) and were used to estimate the population differentiation,  $F_{ST}$ , using the Arlequin program. Conventional  $F_{ST}$  values and the level of divergence for each population from the remaining populations were obtained as described above.

A test involving three matrices, including two matrices of mean  $F_{ST}$  values and a matrix of geographic latitude, was performed using ZT, a software tool for simple and partial Mantel tests (Bonnet and Van de Peer 2002). In these tests, we arranged the corresponding mean  $F_{ST}$  values in the matrices according to latitude.

## Results

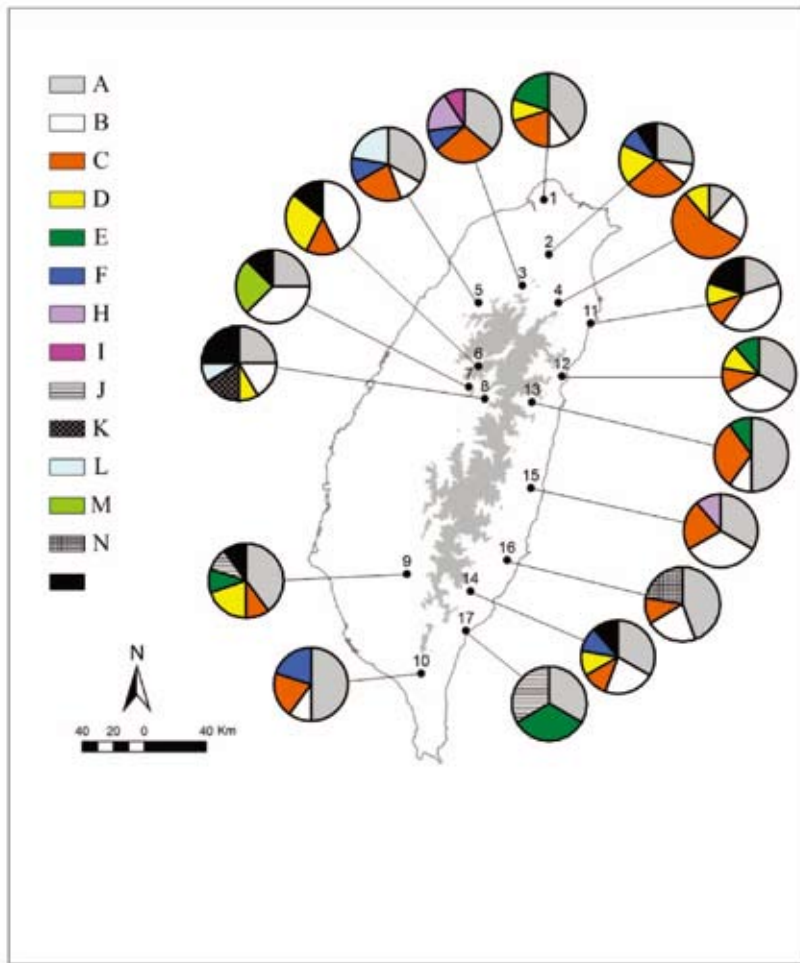
### Sequence Analysis of the *G3pdh* Gene

In total, 96 individuals were sampled, and 86% of them were heterozygous. However, only 168 alleles of the total 192 *G3pdh* sequences in the sample could be identified unambiguously, and these could be assigned to one of only 30 haplotypes. Thirty haplotypes were detected from 52 substitution sites (GenBank accession numbers are given in table 2). Haplotypes, assigned from A to N, were shared by at least by two alleles, while the others were singletons. The genealogical relationship of these haplotypes is shown in figure 2, and the numbers of alleles containing such haplotypes are shown in table 1.

### Distribution Patterns of Haplotypes

Mapping the geography onto the haplotype network produced a complicated pattern (fig. 3). Among the 22 haplotypes found in Taiwan, haplotypes A–C accounted for 68.6%





**Fig. 3** Map showing the geographical distribution of *G3pdb* haplotypes and the proportion of each haplotype in each population of *Quercus glauca* in Taiwan. Twenty-two haplotypes were detected for the *G3pdb* fragments, and only haplotypes occurring in two or more alleles are presented. Ten haplotypes were singleton, and these are indicated in black.

(107) of 156 alleles. These three haplotypes were spread over Taiwan's population (table 1). Haplotype C occurred mainly in northern Taiwan, while haplotype B occupied a high proportion of populations of the northern part of central Taiwan. Haplotype B is a possible ancestral haplotype and was not found in the populations of Baling (population 3), Liukuei (9), or Taimali (17). Ten singleton haplotypes were restricted to only one allele, while haplotypes D–F and H–J were found in widely separated populations.

Many lineages were found on both sides of the Central Mountain Ridge (CMR) and had sporadic distributions; only a few haplotype lineages clearly showed a continuous geographic distribution (fig. 3). The lineage containing B1 and E occurred on the eastern side of the CMR, whereas the lineage containing B2, B3, and C1 was located in the center and north on the western side of the CMR. Haplotype D was found in many locations except southern and southeastern Taiwan.

The Japanese haplotypes were all traced to ancestral haplotype B, and some were closely related to those in Taiwan (fig. 2). For example, haplotype O1 of Japan is related to O2 of Suao (11) of northeastern Taiwan, and haplotype H1 of Japan was derived from type H, which occurs in Juisui (15), eastern Taiwan, while haplotype I was found in both Japan and northern Taiwan. This indicates that a relic connection of *Quercus glauca* existed between Japan and northern and northeastern Taiwan.

#### *Analysis of the Population Genetic Structure*

Genetic distances among populations did not correlate with geographical distances because the Mantel test was not significant (data not shown). For the *G3pdb* gene, the value of  $G_{ST}$  was 0.005, intrapopulation diversity ( $H_S$ ) was  $0.825 \pm 0.0184$ , and total diversity ( $H_T$ ) was  $0.829 \pm 0.0158$ . Thus, the spatial genetic pattern was very weak.



Table 3

Estimates of Haplotype Diversity ( $h$ ) and Nucleotide Diversity ( $\pi$ ) for Populations of *Quercus glauca* according to Mutations of the *G3pdh* Gene

Population (no.)	No. sequences	No. variable sites	No. haplotypes	Haplotype diversity ( $h$ )	Nucleotide diversity ( $\pi$ )
Yangmingshan (1)	10	9	5	0.78 ± 0.10	0.0034 ± 0.0008
Wulai (2)	11	9	6	0.87 ± 0.07	0.0041 ± 0.0006
Baling (3)	11	18	5	0.82 ± 0.08	0.0070 ± 0.0013
Chilan (4)	9	7	4	0.69 ± 0.15	0.0037 ± 0.0006
Chingchuan (5)	9	13	5	0.86 ± 0.10	0.0055 ± 0.0011
Kukuan (6)	7	7	4	0.81 ± 0.13	0.0036 ± 0.0011
Huisun (7)	8	8	4	0.82 ± 0.13	0.0029 ± 0.0011
Wushe (8)	12	24	8	0.92 ± 0.06	0.0097 ± 0.0016
Taroko (12)	9	9	5	0.83 ± 0.10	0.0026 ± 0.0009
Liukuei (9)	10	13	6	0.84 ± 0.10	0.0039 ± 0.0010
Chingshuiying (10)	10	8	4	0.73 ± 0.12	0.0033 ± 0.0001
Suao (11)	10	10	6	0.84 ± 0.10	0.0026 ± 0.0009
Lungchien (13)	10	8	4	0.71 ± 0.12	0.0037 ± 0.0008
Hungyeh (14)	9	11	6	0.89 ± 0.91	0.0038 ± 0.0011
Juisui (15)	9	14	4	0.81 ± 0.09	0.0049 ± 0.0016
Fuli (16)	9	17	4	0.78 ± 0.11	0.0070 ± 0.0022
Taimali (17)	3	8	3	1.00 ± 0.27	0.0060 ± 0.0020
Taiwan	157	43	23	0.82 ± 0.02	0.0049 ± 0.0005
Japan	12	21	9	0.91 ± 0.08	0.0055 ± 0.0011
Total	169	52	30	0.84 ± 0.02	0.0050 ± 0.0004

On the western side of the CMR, peak nucleotide diversity was found in the Baling (3; 0.0070) and Wushe (8; 0.0097) populations (table 3), while on the eastern side, the nucleotide diversity gradually increased toward the south and peaked in the Fuli (16; 0.0070) and Taimali (17; 0.0060) populations. If the total diversity consists of two components (i.e., genetic differentiation and genetic diversity), then the populations of Chingchuan (5), Kukuan (6), and Huisun (7) contributed most of the differentiation component to the total diversity (fig. 4A). The Taimali (17) and Wushe (8) populations contributed most to the diversity component of the total diversity (fig. 4A).

#### Pairwise $F$ Statistics according to Haplotype Frequency and Population Divergence

In general, genetic differentiation between pairwise population comparisons indicated that the genetic distance between Taiwanese and Japanese populations was greater than that between any of the Taiwanese populations (data not shown). On the western side of the CMR, a major peak of average  $F_{ST}$  was found in the Kukuan (6; 0.06393) and Huisun (7; 0.05991) populations (fig. 5A). The peak decreased to low  $F_{ST}$  values for the populations of Wushe (8; 0.02935) and Wulai (2; 0.02611) to the south and north, respectively. On the eastern side of the CMR, the major peak of  $F_{ST}$  was found in southeastern Taiwan at Taimali (17; 0.0551), Chingshuiying (10; 0.04915), and Hungyeh (14; 0.04829), and another peak was found at Taroko (12; 0.0526) of east-central Taiwan, which coincides with the latitude of the major peak on the western side of the CMR.

#### Pairwise $F$ Statistics and Population Divergence Revealed by cpDNA and mtDNA Sequences

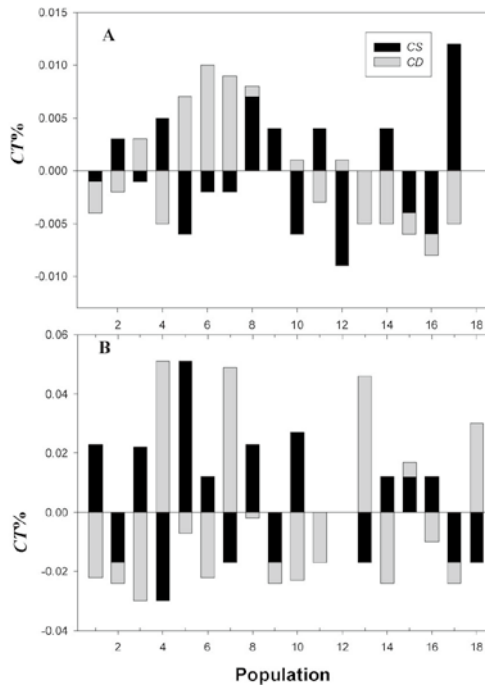
The results showed that a major peak of average  $F_{ST}$  according to cpDNA data was found in the Huisun popula-

tion (7; 0.80) on the western side of the CMR (fig. 5B). The peak decreased to low  $F_{ST}$  values for the populations at Wushe (8; 0.47) and Kukuan (6; 0.14) to the south and north, respectively. A second peak was found in the population at Laiye (18; 0.62), close to the population at Chingshuiying (10). On the eastern side of the CMR, a major peak of  $F_{ST}$  was found at Lungchien (13; 0.98), a population close to Taroko (12) and coinciding with the latitude of the population at Huisun (7). A small minor peak was found at Taimali (17; 0.29) that coincides with the latitude of the peak of Laiye on the western side of the CMR.

According to mtDNA data, Liukuei (9; 0.800) and Mutan (0.815) in the south had the highest  $F_{ST}$  values (fig. 5C), but there was no detectable peak in the region covering the Kukuan and Huisun populations. On the eastern side of the CMR, a major peak of  $F_{ST}$  was found at Lungchien (13; 0.867), as well as a smaller peak to the south at Yuli (0.577) and Taimali (17; 0.468).

Correlations between the two matrices of mean  $F_{ST}$  derived from the two different DNA marker sequence data sets against latitude were tested using the partial Mantel test. Pairwise comparisons, i.e., cpDNA-mtDNA ( $R = 0.895111$ ,  $P = 0.02778$ ), cpDNA-*G3pdh* ( $R = 0.483809$ ,  $P = 0.036411$ ), and mtDNA-*G3pdh* ( $R = 0.43721$ ,  $P = 0.040278$ ), showed that average  $F_{ST}$  values for each population on the eastern side of the CMR were significantly correlated. However, correlations between mean  $F_{ST}$  values for each population of any two genome markers on the western side of the CMR showed no correlations. Subsequently, only the relationship between cpDNA and *G3pdh* was further tested after moving populations of cpDNA northward slightly so that population 7 of cpDNA met population 6 (Kukuan) of *G3pdh*. The Mantel test showed that the cpDNA-*G3pdh* pair was now significantly correlated with latitude ( $R = 0.486740$ ,  $P = 0.027797$ ). Populations at Tayuan-shan (very close to population 4), Huisun (7), Lungchien (13),





**Fig. 4** Contribution to the total diversity (CT) of each population of *Quercus glauca* using *G3pdh* haplotypes (A) and chloroplastic sequences (B). Gray bars and black bars represent contributions of differentiation (CD) and diversity (CS), respectively. A, Populations 5–7, representing Chingchuan, Kukuan, and Huisun, respectively, contributed most to the differentiation component. See table 1 for population numbers. B, Populations 4, 7, 13, and 18, representing Chilun, Huisun, Lungchien, and Laiye, respectively, contributed most to the differentiation component. See table 1 for population numbers, except 18, which is designated as Laiye (120.72°E, 22.52°N).

and Laiye (very close to population 17) contributed most of the differentiation component to the total diversity of cpDNA (fig. 4B) because of their unique haplotypes.

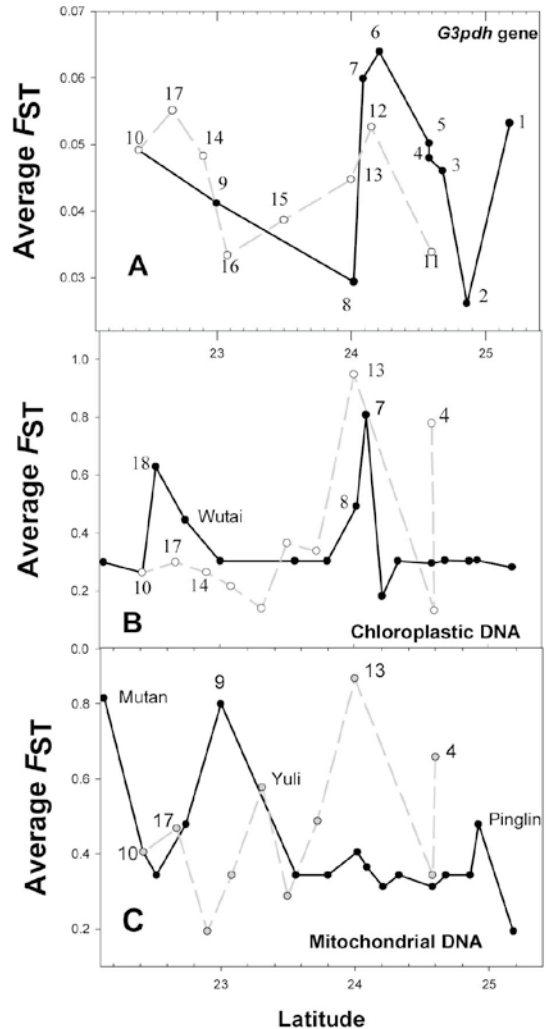
## Discussion

### Genetic Spatial Structure of Populations

In a previous study, by sequencing three cpDNA intergenic spacer fragments, it was found that the level of differentiation among populations of *Quercus glauca* was relatively high ( $G_{ST} = 0.612$ ; Huang et al. 2002). In this study, we found that some haplotypes were distributed in widely separated locations or on both sides of the CMR. This pattern is consistent with the extremely low  $G_{ST}$  value. The shared haplotypes between distant areas could be the result of either recent interpopulational gene exchange or shared ancestral polymorphisms (Hare 2001).

The ancestral haplotypes, e.g., haplotype B, were widely spread out, while the derived haplotypes (fig. 2) also occurred in most of the populations; thus, a clear migration

route cannot be elucidated. So the temporal resolution offered by genealogies, such as chloroplast DNA markers, was unavailable through nuclear genes. The gene tree for the genealogical relationships of *G3pdh* among these nuclear haplotypes reveals nothing about the history of population divergence almost certainly because they predate the history of population divergence. However, the power of nuclear



**Fig. 5** Plot of the mean  $F_{ST}$  values of each population compared with every other population against population latitude in *Quercus glauca* using *G3pdh* sequence (A), chloroplastic DNA sequence (B; data taken from Huang et al. 2002), and mitochondrial DNA data (C; data taken from Lin et al. 2003). The solid line indicates populations on the western side of the Central Mountain Ridge (CMR); the dashed line indicates populations on the eastern side of the CMR. Arabic numbers refer to populations having high  $F_{ST}$  values. Population codes are labeled according to table 1, except 18, which is designated as Laiye. Pinglin (121.70°E, 24.92°N), Wutai (120.72°E, 22.74°N), Mutan (120.78°E, 22.13°N), and Yuli (121.25°E, 23.31°N) are indicated.



genes in providing resolution of historical events, i.e., predicting potential refugia, can still be appreciated.

Differentiation between populations ( $G_{ST}$ ) can be used to calculate the pollen-seed flow ratio, which was as high as 291 (estimated by the equation  $\{2 \times [(1/G_{STC}) - 1] - [(1/G_{STN}) - 1]\} / [1 - (1/G_{STC})]$ , cited in Oddou-Muratorio et al. 2001, where C is the chloroplast and N is the nucleus), and was within the range of species of *Quercus* of 190–500 (Squirrell et al. 2001). The lack of clear spatial genetic patterns is far more likely to reflect incomplete lineage sorting, with nuclear genes having a greater expected coalescence time than differential gene flow by pollen.

#### Conformance of the Trend of Population Divergence of Three Genes (Loci)

The most significant discovery in this study is the conformance of different genes/loci having similar trends of genetic divergence for each population from the remaining populations. In terms of the mean values of pairwise  $F_{ST}$  for each population against the remaining populations, the most divergent populations were situated in two places. The first region was found in Kukuang (6) and Huisun (7) on the western side of the CMR and Taroko (12) at a comparable latitude on the eastern side of the CMR (fig. 5A). This region is located in the northern part of central Taiwan between 24.00°N and 24.25°N and is in proximity to the most genetically divergent areas determined for *Trochodendron aralioides* (Huang et al. 2004) and *Cunninghamia konishii* (Chung et al. 2004). Although the  $F_{ST}$  values for nDNA were fairly small (around 6%), a peak was evident. In fact, the region of the Huisun population has major peaks of  $F_{ST}$  for both nDNA and cpDNA. mtDNA data also showed that Lungchien (13) in the northern part of central Taiwan had high degrees of mean  $F_{ST}$ . An exception was found on the western side of the CMR, where a high  $F_{ST}$  value from mtDNA analysis was not detected in the northern part of central Taiwan. A second peak of  $F_{ST}$  in nDNA was found for the Chinshuiying (10), Hungyeh (14), and Taimali (17) sites, which are similar to sites with peak  $F_{ST}$  values in cpDNA of Chinshuiying (10), Hungyeh, Taimali, and Laiye (close to population 17) (fig. 5B). This region is located in southeastern Taiwan between 22.40°N and 22.90°N; mtDNA data also showed that the Taimali (17) and Mutan populations of southern Taiwan had high values of mean  $F_{ST}$ , reinforcing the impression of similar regions having significant differentiation from other regions. High mean  $F_{ST}$  of the population Liukuei (9) is an exception that could not be detected in cpDNA and *G3pdbh*. The profile on the western side might imply that several smaller shelters existed in southern Taiwan

during the last glaciation. The correlations between mean  $F_{ST}$  values for each population of cpDNA and *G3pdbh* against latitude were tested using the partial Mantel test, and the results support the average  $F_{ST}$  profiles being correlated well but not being the result of chance alone.

The average  $F_{ST}$  values for each population of mtDNA are only partially in accord with those of cpDNA, and values of nDNA are unclear at present. We found that the gene genealogical tree of mtDNA was partially congruent with the cpDNA tree (Lin et al. 2003). The average  $F_{ST}$  values of mtDNA for each population against latitude differed from those of cpDNA in *Machilus kusanoi* Hay. (S. Y. Hwang, unpublished data), indicating that mtDNA has a different evolutionary history from cpDNA.

The contribution of a differentiation component to total diversity (CT) of the *G3pdbh* gene and chloroplastic gene of each population also supports the hypothesis that the northern part of central Taiwan contributed most of the differentiation component to the total diversity of *Q. glauca*. This was due to the specific rare alleles in each population, which resulted in high contributions to differentiation. The contribution of the differentiation component of the *G3pdbh* gene of each population to CT was undetectable in the southeastern part. In the chloroplastic gene, however, the south (Laiye; close to population 17) contributed most to the differentiation component.

It is interesting to note that the Wushe (8) population has a very low average  $F_{ST}$  among all populations but the highest nucleotide diversity in both nDNA and cpDNA, indicating that the high diversity may have been derived from a mixing of different colonization routes. Wushe (8) also has a large number of derived haplotypes (fig. 2), indicating a mixed nature of its composition. Yangmingshan (1), at the northern tip of the island, also had the highest haplotype richness of cpDNA and a high average  $F_{ST}$  of nDNA and could also have been a cryptic shelter.

In this article, we predicted potential refugia using high average  $F_{ST}$  estimates. This idea is based on a study of numerous publications on European plant phylogeography and on a theoretical study of island biogeography. It may be that these cases of European plants are unique and not necessarily applicable to our study. This cannot be resolved until fossil pollen data are available in the future.

#### Acknowledgments

We thank Dr. P.-F. Lee, associate professor in the Institute of Ecology and Evolutionary Biology, National Taiwan University, for invaluable assistance with the preparation of figure 1. This investigation was funded by the National Science Council (grant NSC93-2313-B-002-037), Executive Yuan, Taiwan.

#### Literature Cited

- Avise JC 2000 Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Boggs S, WC Wang, FS Lewis, JC Chen 1979 Sediment properties and water characteristics of the Taiwan shelf and slope. Acta Oceanogr Taiwan 10:10–49.
- Bonnet E, Y Van de Peer 2002 ZT: a software tool for simple and partial Mantel tests. J Stat Software 7:1–12.
- Chung JD, TP Lin, YC Tan, MY Lin, SY Hwang 2004 Genetic diversity and biogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an island species in Taiwan: a comparison with *Cunninghamia lanceolata*, a mainland species in China. Mol Phylogenet Evol 33:791–801.
- Comes HP, JW Kadereit 1998 The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. Trends Plant Sci 3:432–438.



- Ennos RA 1994 Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity* 72:250–259.
- Grant PR, BR Grant 1997 Genetics and origin of bird species. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:7768–7775.
- Grivet D, RJ Petit 2002 Phylogeography of the common ivy (*Hedera* sp.) in Europe: genetic differentiation through space and time. *Mol Ecol* 11:1351–1362.
- Hare MP 2001 Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends Ecol Evol* 16:700–706.
- Heuertz M, JF Hausman, OJ Hardy, GG Vendramin, N Frascaria-Lacoste, X Vekemans 2004 Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southern European populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Evolution* 58:976–988.
- Huang SF, SY Hwang, JC Wang, TP Lin 2004 Phylogeography of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) in Taiwan and its adjacent areas. *J Biogeogr* 31:1251–1259.
- Huang SSF, SY Hwang, TP Lin 2002 Spatial pattern of chloroplast DNA variation of *Cyclobalanopsis glauca* in Taiwan and East Asia. *Mol Ecol* 11:2349–2358.
- Johnson KP, FR Adler, JL Cherry 2000 Genetic and phylogenetic consequences of island biogeography. *Evolution* 54:387–396.
- Kimura M 1996 Quaternary paleogeography of the Ryukyu arc. *J Geogr* 105:259–285. (In Japanese with English abstract.)
- Lin TP, WZ Chuang, SSF Huang, SY Hwang 2003 Evidence for the existence of some dissociation in an otherwise strong linkage disequilibrium between mitochondrial and chloroplast genomes in *Cyclobalanopsis glauca*. *Mol Ecol* 12:2661–2668.
- Luo Y, ZK Zhou 2001 Phytogeography of *Quercus* subg. *Cyclobalanopsis*. *Acta Bot Yunnanica* 23:1–16. (In Chinese with English summary.)
- Manos PS, Z-K Zhou, CH Cannon 2001 Systematics of Fagaceae: phylogenetic tests of reproductive trait evolution. *Int J Plant Sci* 162:1361–1379.
- McCauley DE 1995 The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trends Ecol Evol* 10:198–202.
- Moore WS 1995 Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49:718–726.
- Murray MG, WF Thompson 1980 Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8:4321–4325.
- Nei M 1977 *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann Hum Genet* 41:225–233.
- Newton AC, TR Allnutt, ACM Gillies, AJ Lowe, RA Ennos 1999 Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trends Ecol Evol* 14:140–145.
- Oddou-Muratorio S, RJ Petit, B Le Guerroue, D Guesnet, B Demesure 2001 Pollen-versus seed-mediated gene flow in a scattered forest tree species. *Evolution* 55:1123–1135.
- Okuyama Y, N Fuji, M Wakabayashi, A Kawakita, M Ito, M Watanabe, N Murakami, M Kato 2005 Nonuniform concerted evolution and chloroplast capture: heterogeneity of observed introgression patterns in three molecular data partition phylogenies of Asian *Mitella* (Saxifragaceae). *Mol Biol Evol* 22:285–296.
- Olsen KM, BA Schaal 1999 Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5586–5591.
- Petit RJ, I Aguinagalde, JL de Beaulieu, C Bittkau, S Brewer, R Cheddadi, R Ennos, et al 2003 Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science* 300:1563–1565.
- Petit RJ, A El Mousadik, O Pons 1998 Identifying populations for conservation on the basis of genetic marker. *Conserv Biol* 12:844–855.
- Pons O, RJ Petit 1996 Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144:1237–1245.
- Rosenberg MS 2001 PASSAGE: attern analysis, spatial statistics, and geographic exegesis. Version 1.0. Department of Biology, Arizona State University, Tempe.
- Rowe KC, EJ Heske, PW Brown, KN Paige 2004 Surviving the ice: northern refugia and postglacial colonization. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:10355–10359.
- Rozas J, R Rozas 1999 DnaSP, version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15:174–175.
- Schaal BA, DA Hayworth, KM Olsen, JT Rauscher, WA Smith 1998 Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Mol Ecol* 7:465–474.
- Schneider S, D Roessli, L Excoffier 2000 Arlequin version 2.000: a software for population genetic data analysis. *Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.*
- Squirrel J, PM Hollingsworth, RM Bateman, JH Dickson, MH Light, M MacConaill, MC Tebbitt 2001 Partitioning and diversity of nuclear and organelle markers in native and introduced populations of *Epipactis helleborine* (Orchidaceae). *Am J Bot* 88:1409–1418.
- Templeton AR, KA Crandall, CF Sing 1992 A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132:619–633.
- Tsukada M 1966 Late Pleistocene vegetation and climate in Taiwan (Formosa). *Proc Natl Acad Sci USA* 55:543–548.
- Wright S 1931 Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97–159.



## UNIFORM GENETIC DIVERSITY, LOW DIFFERENTIATION, AND NEUTRAL EVOLUTION CHARACTERIZE CONTEMPORARY REFUGE POPULATIONS OF TAIWAN FIR (*ABIES KAWAKAMII*, PINACEAE)<sup>1</sup>

FU-LUNG SHIH,<sup>2</sup> SHIH-YING HWANG,<sup>3</sup> YU-PIN CHENG,<sup>2</sup> PEI-FEN LEE,<sup>4</sup> AND TSAN-PIAO LIN<sup>2,5</sup>

<sup>2</sup>Institute of Plant Biology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan; <sup>3</sup>Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yangmingshan, Taipei 111, Taiwan; and <sup>4</sup>Institute of Ecology and Evolutionary Biology, National Taiwan University, Taipei 111, Taiwan

Based on fossil pollen, the distribution range of Taiwan fir [*Abies kawakamii* (Hay.) Ito] (Pinaceae) is smaller than it was 50 000 years ago. To characterize the present refuge populations of *A. kawakamii*, which survive only in subalpine forests in Taiwan, we surveyed nuclear genes and chloroplast intergenic spacers to assess the genetic diversity of Taiwan fir. Populations maintain high genetic diversity and contain similar numbers of haplotypes for the *GapC* (cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) fragment. Haplotypes for *GapC* are generally widespread, and population-specific haplotypes accounted for 2.5% of the total. Differentiation among populations is very low ( $G_{ST} = 0.01$ ). Only three haplotypes were detected for the cpDNA marker, and every population had one or two haplotypes. In a neutrality test, the variation in nucleotides did not deviate from that expected with neutral evolution for either marker. A retreat route to higher elevations was not evident from either the *GapC* or cpDNA markers. Hsuehshan was the site of the most divergent population in Taiwan. We concluded that uniform genetic diversity, low differentiation, low numbers of population-specific haplotypes, and neutral evolution characterize contemporary refuge populations of Taiwan fir.

**Key words:** *Abies kawakamii*; genetic divergence; glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; phylogeography; Pinaceae; refugium; Taiwan; *trnL-trnF* intergenic spacer.

The advance and retreat of glaciers have significantly influenced the distribution and diversity of plant species. The massive climatic changes associated with glaciation led to large-scale migrations and reductions in populations followed by colonization and population expansion as the glaciers retreated (Pielou, 1991). In the northern hemisphere, temperate zone species are believed to have survived these unfavorable episodes in refugial areas before expanding their ranges during the present interglacial period (Hewitt, 2000; Taberlet and Cheddadi, 2002; Abbott and Brochman, 2003). At northerly latitudes, there are immense territories for recolonization. A different situation exists in subtropical regions where subtropical and temperate species live at different elevations. During the Ice Ages, it is believed that subtropical plants might have been forced into refuge sites, whereas the lowlands became suitable environments for temperate plants (Tsukada, 1967).

In Taiwan, the subalpine forests are restricted to 2500–3700 m a.s.l., and Taiwan fir [*Abies kawakamii* (Hay.) Ito], the only Taiwanese species in the genus, is the dominant tree between 3000 and 3500 m a.s.l. throughout the region. Taiwan fir is adapted to a cold, humid environment at high elevations and typically occurs in sheltered to windswept sites (Huang, 2002). Trees form pure stands or patches and are always accompanied by characteristic shrubs and herbs, especially *Yushania*

*nitakayamensis* (Hay.) Keng (Poaceae), which prefers relatively open canopies. In *Abies* forests at lower elevations (2500–3000 m a.s.l.), the following four conifers are usually found growing sporadically in association with Taiwan fir: Taiwan Armand pine (*Pinus armandii* Fr. var. *mastersiana* Hay.), Taiwan hemlock [*Tsuga chinensis* Pritz. var. *formosana* (Hay.)], Taiwan spruce (*Picea morrisonicola* Hay.), and mountain juniper [*Juniperus squamata* Lamb. var. *morrisonicola* (Hay.) Li et Keng]. *Abies kawakamii* is one of 40 fir species worldwide but has received little attention. The total area covered by Taiwan fir is believed to be less than 20 000 ha (Taiwan Forest Bureau, 1995), apparently because the world is currently in an interglacial stage, a very restricted range; thus it is endangered.

Taiwan is thought to have been connected to the Asian continent during the glacial maximum in the late Pleistocene (Boggs et al., 1979). A more-recent land configuration proposed for the late Pleistocene (0.2–0.02 million years ago [Ma]) indicates that a large land bridge extended from eastern China to Taiwan, the Ryukyus, and probably to the main islands of Japan (Kimura, 1996), which would have provided the opportunity for gene flow among haplotypes. Most of the flora of Taiwan is thought to have originated from the Asian mainland during cycles of temperature oscillations. Although the land in Taiwan has never been covered by ice sheets except on the highest peaks, the tremendous temperature and climatic changes should have influenced species distributions and evolution. Palynological records from a lake core at an elevation of 745.5 m a.s.l. in central Taiwan suggest that the temperature during the last glacial age was 8.0–11.0°C cooler than today and that the lowland vegetation was dominated by cool-temperate species and boreal elements (Tsukada, 1966, 1967). Taiwan fir was one of the dominant species of the boreal element between 50 000 and 60 000 years Ma (covering the time span of the maximal Tali glaciation), at which time

<sup>1</sup> Manuscript received 21 July 2006; revision accepted 21 November 2006.

The authors are indebted to Mr. S. Huang for collecting *Abies spectabilis* from Deurali, Nepal, where he made a field trip in March 2005. This investigation was funded by a grant (NSC92-3114-B-002-005) from the National Science Council, Executive Yuan, Taiwan.

<sup>5</sup> Author for correspondence (e-mail: tpl@ntu.edu.tw); present address: National Taiwan University, Institute of Plant Biology, No. 1 Roosevelt Road, Section 4, Taipei 106, Taiwan; fax: 886-2-2368-9564



Taiwan fir was widespread over low elevations. During the last 50000 years Ma, Taiwan fir has again recolonized higher elevations. Such a contraction–expansion model is well documented by pollen records in Europe and North America (Taberlet and Cheddadi, 2002), but evidence for this is largely lacking in Taiwan.

Subtropical and warm-temperate species that now comprise large areas of the lowland and montane vegetation are undergoing population expansion and colonization. In Taiwan, glacial refugia were predicted to have occurred in two regions: north-central Taiwan and southern Taiwan (Huang et al., 2002; Chung et al., 2004). In a previous report, we used chloroplast DNA sequences to document that the southeastern part of Taiwan may have been a potential refugium for lowland plants during the last glacial stage (Huang et al., 2002). Another potential refuge site for subtropical and temperate plant species was localized in the Hsuehshan Range in north-central Taiwan (Chung et al., 2004; Huang et al., 2004).

Nuclear DNA is considered the fastest evolving among the three genomes in the cell (Wolfe et al., 1987). In most phylogeographical studies in plants, cytoplasmic DNA has been used to characterize population structure and evolutionary history, and only limited use has been made of nuclear genes as a marker, i.e., glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (Olsen and Schaal, 1999; Tani et al., 2003) and vacuolar invertase (Caicedo and Schaal, 2004). Studies with these traditional phylogeographical goals often use nuclear data to corroborate initial results based on cytoplasmic loci (Hare, 2001). Even though the genealogical tree constructed using nuclear genes may contain errors introduced by recombination (Schierup and Hein, 2000), selection, and allelic discrimination (Zhang and Hewitt, 2003), nuclear genes can more completely reveal the mosaic of genealogical patterns evolving in genomes in response to historical and environmental conditions (Hare, 2001).

In typical phylogeographic studies, descriptions of population expansion from refuges have been based on pollen fossil and molecular evidence in temperate regions (Comes and Kadereit, 1998; Hewitt, 2000). In fact, several relictual conifers in subtropical Mexico are of great relevance to this study. Examples include studies of four species of *Abies* (Aguirre-Planter, 2000), two species of *Picea* (Ledig et al., 2000, 2002), *Pinus nelsonii* (Cuenca et al., 2003), *P. maximartinezii* (Ledig et al., 1999), and *P. sylvestris* (Robledo-Arnuncio et al., 2005) in refugial populations of Spain. The objective of this study was to characterize the population structure and evolutionary history of *A. kawakamii* in Taiwan using chloroplast DNA and nuclear genes. We hypothesized that the high-mountain region is the contemporary refuge for Taiwan fir and other species. Results of the phylogeographical analysis in this study revealed selected genetic characteristics of a refuge population of an extant plant species.

## MATERIALS AND METHODS

**Sampling of plant populations**—Leaves of *A. kawakamii* were collected from eight populations in Taiwan (Table 1). The Hsuehshan and Tapachienshan populations represent the Hsuehshan Range, and the remaining populations represent the Central Mountain Ridge. Yushan reaches the highest elevation (3954 m a.s.l.) in East Asia. Eight individuals were sampled for each population, except only six were sampled for Wumingshan and seven for Yushan. One sample of *A. spectabilis* collected from Deurali, Nepal (83.73° E, 28.55° N) was also analyzed.

**Polymerase chain reaction (PCR) and sequencing**—DNA was extracted from foliage with the following modification of a standard protocol (Murray and Thompson, 1980). For chloroplast genes, we tested four pairs of primers (Table 2). For nuclear genes, one pair of primers was designed according to the *GapC* intron sequence of three Japanese *Abies* species (Isoda and Shiraiishi, 2001). Mitochondrial DNA was also tested with two universal primers (Demesure et al., 2000). The PCR using these primers could amplify a partial sequence corresponding to intron 2 of *nad1*. A chloroplast microsatellite, which was shown to be polymorphic in several *Abies* species (Parducci et al., 2001), was amplified using the P30204 primer pair. The PCR solution was prepared as follows: 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% gelatin, 100 mM Tris-HCl (pH 8.3), 250 μM of each dNTP, 2 μM of each primer, 0.04–20 ng template DNA, 1 μg RNase, 0.5 unit *Taq* polymerase (Amersham Biosciences, Taipei, Taiwan), and double-distilled water to a final volume of 10 μL. Amplifications were performed with an initial denaturing of 2 min at 95°C, then 35 cycles of 1 min at 95°C, 90 s at 62°C, and 2 min at 72°C, followed by a 9-min extension at 72°C.

Nucleotide sequences were determined by direct sequencing of the purified PCR products on an ABI 3300 Genetic Analyzer with BigDye terminator cycle sequencing reagents (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). This was applied to sequences of homozygotes or sequences containing few polymorphic sites. Clones, however, were sequenced for each individual when sequences contained many polymorphic sites and indels (pGEM-T Easy Vector System I; Promega Madison, Wisconsin, USA). The two sequences of a heterozygote were differentiated by comparing the sequences of the PCR products to those of the cloned colony to avoid error from *Taq* polymerase (Okuyama et al., 2005). The evidence suggested that the present *GapC* haplotypes were derived from a single gene. No more than two haplotypes were identified per individual (as would be expected for a diploid nuclear gene).

**Genealogical analyses**—Sequence alignment was performed using CLUSTAL W (Thompson et al., 1994) with manual adjustment. Haplotypes and their relationships were determined using the computer program TCS, version 1.06 (Templeton et al., 1992), and fragments of insertions or deletions (indels) in sequences were treated as a single mutation event. Nucleotide diversity, haplotype diversity, tests of neutrality, and determination of associated significance were carried out using the program DnaSP, version 4.10 (Rozas et al., 2003). Haplotype (gene) diversity and its sampling variance were based on Nei (1987, eqs. 8.4 and 8.12). The standard deviation is the square root of the variance. Nucleotide diversity,  $\pi$ , the average number of nucleotide differences per site between two sequences, was based on Nei (1987, eqs. 10.5 or 10.6), and its sampling variance was based on equation 10.7. The standard deviation (or standard error) is the square root of the variance. Tests for departure from neutrality on the total number of segregating sites were based on the *D* test of Tajima (1989) and the *D*\* and *F*\* tests of Fu and Li (1993). To survey possible recombination events, the minimum number of recombination events (*R*<sub>m</sub>) based on the four-gamete test (Hudson and Kaplan, 1995) was estimated using the DnaSP, version 4.10 (Rozas et al., 2003).

**Analysis of the population substructure**—Measures of diversity (*G*<sub>ST</sub>) and differentiation (*N*<sub>ST</sub>) were analyzed using the program Hapstep (Pons and Petit, 1996). *G*<sub>ST</sub> depends only on the frequencies of the haplotypes. However, *N*<sub>ST</sub> is influenced by both haplotype frequencies and the distances between haplotypes. Distances between haplotypes were calculated according to the number of mutational steps separating the paired haplotypes. Thus, the amount of substructure (*N*<sub>ST</sub>) can be calculated. A test of the matrix of pairwise genetic distance against the matrix of pairwise geographic distance was performed using a software tool for simple and partial Mantel tests (Bonnet and Van de Peer, 2002). The geographic distance between populations was calculated using Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA), and the latitudes and longitudes in Table 1. To test if genetic differentiation might be geographically related, we separated populations into four groups and tested them with analysis of molecular variance (AMOVA) (Excoffier et al., 1992). AMOVA with statistical significance was determined by permutation analyses to partition genetic variation at different levels. Significance was determined by 1000 permutations.

The genetic distance, *D*<sub>XY</sub> (Nei, 1987, eq. 10.20), incorporating the allelic frequencies for compared populations, and the mean number of nucleotide substitutions per site between populations using a one-parameter substitution model (Jukes and Cantor, 1969) were estimated using DnaSP version 4.10 (Rozas et al., 2003). Thus, *D*<sub>XY</sub> provides more information than *F*<sub>ST</sub> regarding divergence comparisons. In addition, the amount of divergence for each



TABLE 1. Populations, sample sizes (*N*), and haplotypes based on the *GapC* intron of *Abies kawakamii* in Taiwan.

Population	Location	<i>N</i>	Haplotypes (No. alleles)
Tapachienshan (Ta)	121.25°E, 24.47°N	8	A (5), B (3), C (1), D (4), E (1), I (1), J (1)
Hsuehsan (Sy)	121.23°E, 24.38°N	8	A (2), B (2), C (7), D (1), E (3), I (1)
Nanhutashan (Na)	121.42°E, 24.37°N	8	A (6), B (6), C (1), D (1), E (1), G (1)
Wumingshan (Wu)	121.37°E, 24.25°N	6	A (4), B (4), C (1), D (1), F (1), G (1)
Hohuanshan (Ho)	121.27°E, 24.15°N	8	A (8), B (5), C (1), E (1), F (1)
Chilaishan (Ch)	121.33°E, 24.08°N	8	A (7), B (5), D (1), E (1), F (2)
Yushan (Yu)	120.93°E, 23.47°N	7	A (5), B (3), C (1), E (1), F (2), H (2)
Kuanshan (Ku)	120.90°E, 23.23°N	8	A (5), B (7), C (1), D (1), E (1), G (1)

population from the remaining populations was calculated as the mean of the pairwise values of  $D_{xy}$  for each population against the remaining populations.

Spatial AMOVA (SAMOVA) was used to identify the population groups that maximized the proportion of total genetic variance (Dupanloup et al., 2002). SAMOVA was undertaken assuming two, three, four, five, or six groups as simulated by the SAMOVA program version 1.0 (Dupanloup et al., 2002).

## RESULTS

**Sequence analyses and distribution patterns of chloroplast DNA markers**—We sequenced the *nadl* fragment of mitochondrial DNA in random samples from different populations and found no variation in nucleotide sequences (data not shown). One chloroplast microsatellite (Pt30204) was tested using randomly selected individuals, and all of them contained 19T. We then sequenced four fragments of cpDNA (intergenic spacers *trnT-trnL*, *trnR-trnG*, and *trnL-trnF* and coding region *rbcl*), and only a few polymorphic sites were found (Table 2). Fragment *trnL-trnF* generated three haplotypes: kawakamii1 was the most abundant one; kawakamii2 occurred in one individual each from the Nanhutashan, Hohuanshan, Chilaishan, and Kuanshan populations; and kawakamii3 occurred in one individual from Hsuehsan. Therefore, each population had either one or two haplotypes.

**Sequence and genealogical analysis of the *GapC* intron gene**—We amplified an intron of the *GapC* (cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) gene of 603 base pairs (bp). In total, 122 sequences of 61 individuals were obtained, and 67% of the samples were heterozygous. Ten haplotypes were assigned from A to J (with GenBank accession nos., Table 3). Haplotype H has an insertion of

194 bp beginning at bp 442, and the insertion was transformed by a one-step substitution. The genealogical relationships of these haplotypes are shown in Fig. 1, and the number of alleles containing various haplotypes are shown in Table 1. Possible recombinations were investigated by the minimum number of recombination events ( $R_m$ ) based on the four-gamete test (Hudson and Kaplan, 1995). In a number of 153 pairwise comparisons, no recombination event was detected in the aligned *GapC* sequences of 10 haplotypes. Therefore, only one *GapC* genealogy was derived from the TCS analysis.

Taiwan fir appears to have the closest relationship with *A. homolepis* (Kormutak and Yang, 1998; Xiang et al., 2004). Fortunately, several DNA sequences of the *GapC* of *A. firma*, *A. homolepis*, and *A. veitchii* of Japan (Isoda and Shiraishi, 2001) were found to be available in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) databank and were used in addition to *A. spectabilis* from Nepal (accession nos.: Ne1, DQ116587 and Ne2, DQ116588) as outgroups to determine the ancestral haplotype of *GapC* in Taiwan fir. The haplotypes of the first two species from Japan were rejected by the TCS tree, and the haplotype of *A. spectabilis* was found to be inserted between haplotypes A and C. *Abies veitchii* of Japan formed another independent branch. Haplotypes F and H of *A. kawakamii* were derived from another *A. spectabilis*.

**Distribution patterns of haplotypes**—Mapping geography onto the haplotype network of *GapC* produced a complicated pattern (Fig. 1). Among the 10 haplotypes found in Taiwan, haplotypes A and B accounted for 63% (77 of 122 alleles) of the total. These two haplotypes were spread throughout Taiwan's populations (Fig. 1, Table 1). Most populations had six haplotypes, and most were generally widely distributed. In

TABLE 2. Primer pairs for chloroplast and nuclear DNA used in this study. Haplotypes and accession numbers are listed for *Abies kawakamii*.

Region	Sequence (5'→3')	Base pairs	Polymorphic characters	Haplotype (Accession no.)
Chloroplast				
<i>trnR-trnG</i>	CTCTGATCCATCTAAAGCTC GGATTGAACCTATACCGAA	950	0	(DQ112530)
<i>rbcl</i>	CTTCGTCGTTGTGGATTAC <sup>a</sup> ATGTCACCAAAAACAGAGACT <sup>a</sup>	1281	0	(DQ112531)
<i>trnL-trnF</i>	TTGGCTTTATAGACCGTGAG <sup>a</sup> CCAGGAACCAGATTTGAACT <sup>a</sup>	413	2	kawakamii1 (DQ116573) kawakamii2 (DQ116574) kawakamii3 (DQ116575)
Nucleus				
<i>GapC</i> intron	GTTGCCCAAACCTCTCTAATTGC <sup>b</sup> ACTCCAACCTCAGCCAAGTATG <sup>b</sup>	603	23	See Table 3

<sup>a</sup> Refer to Suyama et al. (2000).

<sup>b</sup> These were designed based on the *GapC* intron sequence of three Japanese *Abies* species (Isoda and Shiraishi, 2001).



TABLE 3. Haplotypes and accession numbers of *Abies kawakamii* according to mutations of the *GapC* intron.

Haplotype (Accession no.)	No. alleles	Mutation site of haplotype																						
		0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
A (DQ116577)	42	GCATCTTCGTC	--	CTTCAGGATCGT	--	G																		
B (DQ116578)	35	GCATCTTCATC	--	CTTCAAGATCAT	--	G																		
C (DQ116579)	13	ACATCTTCGTC	--	CTTCAAGATCGT	--	G																		
D (DQ116580)	9	GCAGCTTCGTC	--	CTTCAGGATCGT	--	G																		
E (DQ116581)	9	G--TTTTCGACCTCTTTT	TAGA	-CATT	TG																			
F (DQ116582)	6	GCATCTCGGTCCTCTT	CAAG	-CAG	--	T																		
G (DQ116583)	3	GCATCTTCATC	----	CAAGATCAT	--	G																		
H (DQ116584)	2	GCATCTCGGTCCTCTT	CAAAA	-GAT	--	T																		
I (DQ116585)	2	ACATCTTCGTT	--	CTTCAAGATCGT	--	G																		
J (DQ116586)	1	GCATCCTCATC	--	CTTCAAGATCAT	--	G																		

contrast, haplotype H was only found at Yushan; haplotype I was found at Hsuehshan and Tapachienshan; and haplotype J, a singleton, was only found at Tapachienshan. Thus, population-specific alleles accounted for 2.5% of the total haplotypes. The rare I and J haplotypes both appeared at Hsuehshan and Tapachienshan, which represent the Hsuehshan Range, and might reflect the separation of the Hsuehshan Range from the Central Mountain Range, which contained the remaining populations.

**Analysis of the population genetic structure**—For the *GapC* intron sequences, genetic differentiation among populations ( $G_{ST}$ ) was 0.010 ( $\pm 0.0280$ ),  $H_S$  (intrapopulational diversity) was 0.773 ( $\pm 0.0198$ ), and  $H_T$  (total diversity) was 0.781 ( $\pm 0.0305$ ). The degree of substructure,  $N_{ST}$ , was 0.015. The value of  $N_{ST} - G_{ST}$  of 0.005 was not significant. Thus, the spatial genetic patterning was determined to be very weak. Moreover, genetic distances did not correlate with geographic

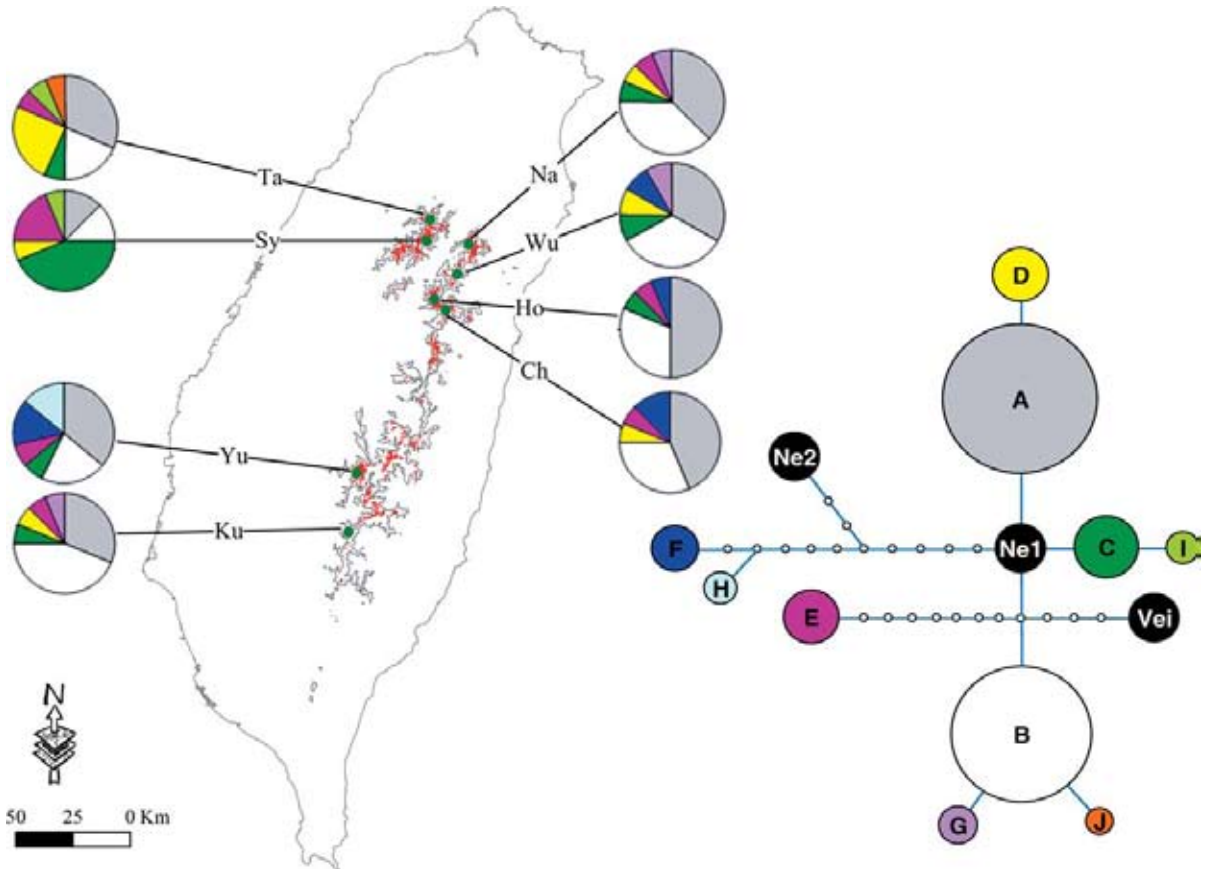


Fig. 1. Map of the geographical distribution of the *GapC* haplotypes and the proportions of each haplotype in each population of *Abies kawakamii* in Taiwan. Only elevations above 2700 m a.s.l. in the mountains are shown. Red dots represent locations of Taiwan fir. Colors indicate different haplotypes that are shown in the gene tree. Relationships of haplotypes of the nuclear gene marker *GapC* (unrooted) reconstructed by the computer program TCS v. 1.06 (Templeton et al., 1992) are shown on the right. Haplotypes indicated by circles of variable sizes reflect the numbers of alleles found. A dot represents a mutation for which a haplotype was not found within the sample. Ne1 and Ne2, two haplotypes of *A. spectabilis* of Nepal; Vei, haplotype of *A. veitchii* of Japan (Isoda and Shirashi, 2001). Haplotypes of *A. firma* and *A. homolepis* were excluded from the network.



TABLE 4. Analysis of molecular variance based on the *GapC* sequences of *Abies kawakamii* in Taiwan. Populations were divided into four groups: Tapachienshan and Hsuehshan, Nanhutashan and Wumingshan, Hohuanshan and Chilaishan, and Yushan and Kuanshan. Levels of significance are based on 1000 random permutations.

Source of variation	df	MSD	Variance components	Percentage of total ( <i>P</i> )
Among groups	3	9.848	0.03174	1.56 (0.21408)
Among populations within groups	4	9.249	0.02198	1.08 (0.28641)
Within populations	114	225.601	1.97896	97.36
Total	121	244.698	2.03267	—

Note: MSD, mean squared deviation.

distances based on the results of the Mantel test for  $D_{XY}$  ( $r = 0.110998$ ,  $P = 0.319868$ ). We suspect that populations of the Hsuehshan Range and the Central Mountain Range may greatly differ, so populations were divided into four groups for further testing. Genetic differentiation among groups was low as assessed by the AMOVA, and more than 97% of the variance resided within populations (Table 4).

Nucleotide diversities ( $\pi$ ) were extremely low for the cpDNA marker (data not shown). Values for haplotype diversity and nucleotide diversity varied from 0.68 to 0.83 and from 0.0050 to 0.0098, respectively, for the *GapC* marker (Table 5). The Yushan (Yu) population had the highest nucleotide diversity, followed by Hsuehshan (Sy), whereas Kuanshan (Ku), a marginal population, had the lowest value. The Tapachienshan (Ta) population had the highest haplotype diversity because of the seven haplotypes recovered, followed by Yushan. Overall, the DNA variation among populations in Taiwan did not deviate from the expectation of neutrality, according to Tajima's criterion ( $D = -0.24877$ ,  $P > 0.05$ ) and the Fu and Li tests ( $D^* = 1.39979$ ,  $P > 0.05$ ;  $F^* = 0.91182$ ,  $P > 0.05$ ) (Table 5). The same tests were applied to the chloroplast *trnL-trnF* sequences, and again, the DNA variation of populations did not deviate from the expectation of neutrality, according to Tajima's criterion ( $D = -1.07583$ ,  $P > 0.05$ ) and the Fu and Li tests ( $D^* = -0.94732$ ,  $P > 0.05$ ;  $F^* = -1.14678$ ,  $P > 0.05$ ).

**Pairwise  $D_{XY}$  statistics according to nucleotide differences and population divergence**—The mean  $D_{XY}$  values according to the *GapC* intron of each population compared with every other population were small and varied from 0.0058 (Nanhutashan) to 0.0083 (Yushan). Two peaks of average  $D_{XY}$  values were found at Yushan and Hsuehshan (0.0073) (Fig. 2). The

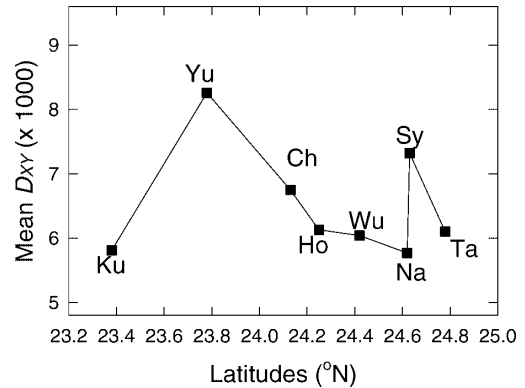


Fig. 2. Plot of the mean  $D_{XY}$  values of each population compared with every other population against the population latitude in *Abies kawakamii* using *GapC* sequences. Population codes are labeled according to Table 1.

peak decreased to low values for the Nanhutashan and Kuanshan (0.0058) populations. The paired  $D_{XY}$  values of the chloroplast *trnL-trnF* intergenic spacer for each population compared against the remaining populations were one order of magnitude lower than those of *GapC* values ( $D_{XY} = 0.2-0.5 \times 10^{-4}$ ). Hsuehshan again was the population with the highest value. Genetic divergence among populations was generally fairly small, and Hsuehshan was the only location common to both chloroplast and nuclear DNA sequences.

**Zones of sharp genetic change**—To investigate the genetic structure of Taiwan fir in greater detail, we applied SAMOVA algorithms to define groups and find the location of the most important genetic uniqueness among the eight populations. Table 6 gives the composition of the corresponding groups of populations inferred by the algorithms, their associated fixation indices, and their significance evaluated by permuting the populations without considering their geographical position (Excoffier et al., 1992). In the two-group case, Hsuehshan (Sy) was separated from the remaining *A. kawakamii* populations under investigation, yielding a 7.92% intergroup variance for the *GapC* marker; however, this value was not significant ( $P > 0.05$ ). By assuming that three populations are associated and grouping them together (Sy/Yu/Ta, Wu, Ho, Ch, Na, and Ku), we found that the three-group assumption had the greatest

TABLE 5. Estimates of haplotype diversity ( $h$ ), nucleotide diversity ( $\pi$ ), and test statistics of selection for Taiwanese populations of *Abies kawakamii* according to mutations in the *GapC* intron.

Population	No. sequences	No. haplotypes	Haplotype diversity ( $h$ )	Nucleotide diversity ( $\pi$ )	$D$	$D^*$	$F^*$
Taiwan	122	10	0.780 $\pm$ 0.023	0.00648 $\pm$ 0.00065	-0.24877	1.39979	0.91182
Ta	16	7	0.842 $\pm$ 0.059	0.00542 $\pm$ 0.00148	-1.08653	-1.62025	-1.69542
Sy	16	6	0.783 $\pm$ 0.085	0.00730 $\pm$ 0.00170	0.16672	0.83024	0.74399
Na	16	6	0.750 $\pm$ 0.078	0.00491 $\pm$ 0.00140	-1.16207	-2.15816	-2.16691
Wu	12	6	0.818 $\pm$ 0.084	0.00570 $\pm$ 0.00174	-1.10118	-1.75900	-1.80591
Ho	16	5	0.683 $\pm$ 0.091	0.00598 $\pm$ 0.00186	-1.33477	-1.92511	-2.02895
Ch	16	5	0.733 $\pm$ 0.079	0.00738 $\pm$ 0.00193	-0.71622	-0.32392	-0.49960
Yu	14	6	0.835 $\pm$ 0.070	0.00982 $\pm$ 0.00161	-0.03590	-0.13603	-0.12485
Ku	16	6	0.742 $\pm$ 0.084	0.00486 $\pm$ 0.00140	-1.18511	-2.15816	-2.17427

Note:  $D$ ,  $D$  test of Tajima (1989);  $D^*$ , Fu and Li (1993);  $F^*$ , Fu and Li (1993). See Table 1 for full names of populations.



TABLE 6. Fixation indices corresponding to groups of populations inferred by SAMOVA algorithms for *Abies kawakamii* populations in Taiwan tested for the *GapC* introns and for chloroplast *trnL-trnF* intergenic spacers.

Marker	Group	Population groupings	$F_{CT}$	$P$
<i>GapC</i>	2	Sy/Yu, Ta, Wu, Ho, Ch, Na, Ku	0.07917	0.12708
	3	Sy/Yu/Ta, Wu, Ho, Ch, Na, Ku	0.09967	0.04301
	4	Sy/Yu/Ta/Wu, Ho, Ch, Na, Ku	0.08361	0.01466
	5	Sy/Yu/Ta/Ho, Ch/Na, Wu, Ku	0.07719	0.00098
	6	Sy/Yu/Ta/Wu/Ho, Ch/Na, Ku	0.07367	0.00782
<i>trnL-trnF</i>	2	Sy/Ta, Yu, Wu, Na, Ho, Ch, Ku	0.1003	0.12708
	3	Sy/Ta, Yu, Wu/Na, Ho, Ch, Ku	0.1194	0.00293
	4	Sy/Ta, Yu, Wu/Na, Ho, Ch/Ku	0.1058	0.01075
	5	Sy/Ta, Yu, Wu/Na, Ho/Ch/Ku	0.1009	0.00391

variance among groups and resulted in a statistically maximal variance (9.97%,  $P < 0.05$ ). This conforms to the result from the pairwise  $D_{XY}$  study. The four-group assumptions (Sy/Yu/Ta/Wu, Ho, Ch, Na, and Ku) also resulted in a statistically significant variance (8.36%,  $P < 0.05$ ). The five- and six-group assumptions, although significant, had less differentiation.

SAMOVA was also applied to the cpDNA sequences. The three-group assumptions (Sy/Ta, Yu, Wu/Na, Ho, Ch, Ku) had the greatest variance among groups and resulted in a statistically maximum variance ( $F_{CT} = 0.1194$ ,  $P < 0.01$ ). The four- and five-group assumptions also resulted in statistically significant variances but with lower percentages of variance (Table 6).

## DISCUSSION

The *GapC* genealogical tree showed that several species of *Abies* have mixed haplotypes, contrary to what would be expected of alleles assumed to have become species specific. This is probably not due to hybridization/introgression between distantly distributed species because the same condition was observed among three Japanese species of *Abies* (Isoda and Shiraiishi, 2001). The mixture of haplotypes among different species might be due to incomplete lineage sorting; thus, the *GapC* gene tree does not accurately reflect the species tree. A potential cause of noncoalescence is incorrect taxonomy. But this is not applicable to *A. kawakamii* because morphological distinctness was confirmed by Liu (1971). We believe that the sequence polymorphism found in the *GapC* intron is consistent with allelic divergence predating the speciation of *Abies* in Asia. This result is congruent with the findings of Bouille and Bousquet (2005) for the genus *Picea* in which intraspecific- as well as transspecific-shared polymorphisms were detected in the DNA among three distantly related species.

### Characteristics of the genetic structure of populations—

The genetic diversity of Taiwan fir is extremely low in terms of both mtDNA and cpDNA sequences, but is moderate in nuclear DNA ( $\pi = 0.00648$ ). Populations of Taiwan fir are characterized by a uniform distribution of genetic diversity. Populations have similar numbers of haplotypes, and most of the haplotypes are widely distributed. This uniform genetic diversity results in low genetic differentiation among populations. Few population-specific haplotypes exist because of exchanges of genetic information between refugia. Even

though species of *Abies* have very long generation times and heavy pollen grains, they apparently are able to establish highly efficient pollen-mediated gene flow between distant sites (Liepelt et al., 2002). Our observations indicated that refuge sites of Taiwan fir slightly differ from refugial areas in temperate regions that have high molecular diversity and a high proportion of unique alleles based on many studies of European plants and animals (see references in Comes and Kadereit, 1998).

We detected some similarities with several *Abies* species having fragmented ranges and small isolated populations. The average heterozygosity ( $H_O$ ) of *Abies* in southern Mexico and Guatemala (*A. flinckii*, *A. guatemalensis*, *A. hickeli*, and *A. religiosa*) is lower than the range reported for most conifers (0.069–0.113, Aguirre-Planter, 2000), whereas differentiation among populations is higher than that observed in most conifer species studied ( $F_{ST}$ , the proportion of total genetic diversity among populations, 0.073–0.271). Populations of Mexican spruce (*Picea mexicana* Martínez), an endangered species in Mexico, are widely separated, and the  $F_{ST}$  was 0.069 (Ledig et al., 2002), while moderate genetic diversity ( $H_E = 0.125$ ) was maintained. A similar situation also occurs with *Pinus nelsonii*, a relictual pinyon pine distributed across a wide elevational range in semiarid zones of Mexico that has low to moderate population differentiation (Cuenca et al., 2003). The present-day Iberian distribution of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) conforms to a warm-stage pattern, with fragmented populations sheltering at isolated high elevations on different mountain chains. Scots pine maintains high within-population and low among-population diversities for neutral genetic markers (Robledo-Arnuncio et al., 2005). Thus, in most of those studies, relictual conifers have moderate differentiation among populations. There is a strong correlation between genetic differentiation and the geographic extent of the sampling. The species studied in a restricted area had a lower  $G_{ST}$  value compared to those studied across a larger fraction of the species' range (Petit et al., 2005). Because *A. kawakamii* is a narrow endemic, its small range is a potential factor influencing  $G_{ST}$ .

Petit et al. (2005) compiled studies of genetic structure based on three genomes in seed plants and concluded that in conifers, paternally and biparentally inherited markers also have very similar levels of genetic structure, as shown by the relatively tight positive correlation between the two sets of  $G_{ST}$  estimates. There is more heterogeneity in  $G_{ST}$  estimates based on paternally inherited markers than for those based on biparentally inherited ones. Hence,  $G_{ST}$  values at cpDNA markers will reach equilibrium faster than  $G_{ST}$  values at nuclear genes, resulting in transient situations in which the  $G_{ST}$  of paternally inherited genes is smaller than the  $G_{ST}$  of biparentally inherited genes. This may explain how the paired  $D_{XY}$  values of chloroplast DNA for each population compared against the remaining populations were smaller than those of *GapC* values in this study.

**Phylogeographical structure**—In theory, the phylogeographical structure is expected to be less pronounced at diploid nuclear loci compared with cytoplasmic loci because of their different effective population sizes (McCauley, 1995; Moore, 1995). In addition, a clear picture of migration did not emerge from the nuclear DNA analysis. This may have been due to the increased likelihood of encountering incomplete lineage sorting with nuclear genes, which have a greater expected coalescence



time than do organelle genes (Avisé, 2000). In this study, however, cpDNA had little nucleotide diversity, and a clear route of retreat was not obvious. Pinaceae species are known to have paternal inheritance of their chloroplast genome (Mogensen, 1996). Even though the phylogeographic structure can be obtained from paternally inherited cpDNA (Robledo-Arnuncio et al., 2005; Walter and Epperson, 2005), this cpDNA has generally obscured information about migration routes. The effective role of pollen flow in homogenizing the genetic structure of Scots pine has eroded the genetic imprints of its population history (Robledo-Arnuncio et al., 2005) that maternally inherited mtDNA markers seem to retain (Hu and Ennos, 1999).

A star-like distribution of haplotypes indicating population expansion was shown by Tajima's  $D$  test for several local subtropical and montane species: *Quercus glauca* (Huang et al., 2002), *Cunninghamia konishii* (Chung et al., 2004), *Castanopsis carlesii* (Cheng et al., 2005), and *Machilus thunbergii* (Wu et al., 2006). The selective neutrality for the nuclear *GapC* fragment and cpDNA shown for Taiwan fir, however, had no evidence of population expansion and may be another important characteristic of refuge populations. This outcome probably resulted from a demographic history of rapid contraction that eliminated most of the diversity. A similar situation was found for relictual species of Maxipañon (*Pinus maximartinezii*) (Ledig et al., 1999) and Martínez spruce (*Picea martinezii*) (Ledig et al., 2000). Both species occur in only one or a few locations in Mexico, and genetic diversity measured by expected heterozygosity was moderate (around 0.120). Significant gametic disequilibrium is in agreement with an origin from an extreme bottleneck (Ledig et al., 1999).

**Population divergence**—The degree of average genetic divergence of each population in comparison with the remaining populations can be used to examine the consequence of historical and contemporary geographical population subdivisions on evolutionary processes (Johnson et al., 2000) and is important for reconstructing phylogeographical histories that have evolved during pre- and postcolonization events (Grant and Grant, 1997). Each population of common ivy and of other species in Europe were genetically differentiated from the remaining populations ( $F_{ST}$ ) as revealed by a latitudinal pattern, with populations from the south significantly more differentiated from the pooled remaining populations than were either the central or northern populations (Grivet and Petit, 2002; Petit et al., 2003). Thus, population divergence or genetic differentiation can be a useful criterion for locating likely glacial refugia.

In our study, small genetic divergences, in terms of  $D_{XY}$ , of each population from the remaining populations were found for both markers, particularly the chloroplast DNA marker. Upon closer examination, the mean values of pairwise  $D_{XY}$  for each population when compared against the remaining populations revealed that the common divergent population for both markers was situated in a single location: Hsuehshan. The potential refugia deduced from the extant pattern of genetic diversity for *Trochodendron aralioides* (Huang et al., 2004), *Cunninghamia konishii* (Chung et al., 2004), *Castanopsis carlesii* (Cheng et al., 2005), and *Machilus thunbergii* (Wu et al., 2006) also occur at a latitude identical to that of the Hsuehshan Range.

Results of SAMOVA allowed us to identify maximally differentiated population groups. The three-group assumptions

had the greatest variance found among groups for both the *GapC* and *trnL-trnF* sequences. This also led to the identification of genetic barriers between Hsuehshan/Yushan and the remaining populations. This result supports the uniqueness of the Hsuehshan population and possibly of the Yushan population as suggested by the results of the genetic divergence ( $D_{XY}$ ) study. Taiwan fir populations at Hsuehshan and Yushan represent subalpine regions that still contain broad areas of pure stands (Fig. 1). It seems likely that, during a range change, retreating edges suffered shrinkage, dissection, and extinction, such that the last surviving populations are likely to be severely bottlenecked.

#### LITERATURE CITED

- ABBOTT, R. J., AND C. BROCHMAN. 2003. History and evolution of the Arctic flora: in the footsteps of Eric Hulten. *Molecular Ecology* 12: 299–313.
- AGUIRRE-PLANTER, E., G. R. FURNIER, AND L. E. EGUIARTE. 2000. Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *American Journal of Botany* 87: 362–371.
- AVISE, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- BOGGS, S., W. C. WANG, F. S. LEWIS, AND J. C. CHEN. 1979. Sediment properties and water characteristics of the Taiwan shelf and slope. *Acta Oceanographic of Taiwan* 10: 10–49.
- BONNET, E., AND Y. VAN DE PEER. 2002. zt: a software tool for simple and partial Mantel tests. *Journal of Statistical Software* 7: 1–12.
- BOUILLE, M., AND J. BOUSQUET. 2005. Trans-species shared polymorphisms at orthologous nuclear gene loci among distant species in the conifer *Picea* (Pinaceae): implications for the long-term maintenance of genetic diversity in trees. *American Journal of Botany* 92: 63–73.
- CAICEDO, A. L., AND B. A. SCHAAL. 2004. Population structure and phylogeography of *Solanum pimpinellifolium* inferred from a nuclear gene. *Molecular Ecology* 13: 1871–1882.
- CHENG, Y. P., S. Y. HWANG, AND T. P. LIN. 2005. Two potential refugia in Taiwan revealed by the phylogeographical study of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae). *Molecular Ecology* 14: 2075–2085.
- CHUNG, J. D., T. P. LIN, Y. C. TAN, M. Y. LIN, AND S. Y. HWANG. 2004. Genetic diversity and biogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an island species in Taiwan: a comparison with *Cunninghamia lanceolata*, a mainland species in China. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 791–801.
- COMES, H. P., AND J. W. KADEREIT. 1998. The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. *Trends in Plant Sciences* 3: 432–438.
- CUENCA, A., A. E. ESCALANTE, AND D. PINERO. 2003. Long-distance colonization, isolation by distance, and historical demography in a relictual Mexican pinyon pine (*Pinus nelsonii* Shaw) as revealed by paternally inherited genetic markers (cpSSRs). *Molecular Ecology* 12: 2087–2097.
- DEMASURE, B., N. SODZI, AND R. J. PETIT. 2000. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology* 4: 129–131.
- DUPANLOUP, I., S. SCHNEIDER, AND L. EXCOFFIER. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571–2581.
- EXCOFFIER, L., P. E. SMOUSE, AND J. M. QUATTRO. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- FU, Y. X., AND W. H. LI. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133: 693–709.
- GRANT, P. R., AND B. R. GRANT. 1997. Genetics and origin of bird species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94: 7768–7775.
- GRIVET, D., AND R. J. PETIT. 2002. Phylogeography of the common ivy



- (*Hedera* sp.) in Europe: genetic differentiation through space and time. *Molecular Ecology* 11: 1351–1362.
- HARE, M. P. 2001. Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 700–706.
- HEWITT, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907–913.
- HU, X. S., AND R. ENNOS. 1999. Impacts of seed and pollen flow on population genetic structure for plant genomes with three contrasting modes of inheritance. *Genetics* 152: 441–450.
- HUANG, K. Y. 2002. Evaluation of the topographic sheltering effects on the spatial pattern of Taiwan fir using aerial photography and GIS. *International Journal of Remote Sensing* 23: 2051–2069.
- HUANG, S. F., S. Y. HWANG, J. C. WANG, AND T. P. LIN. 2004. Phylogeography of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) in Taiwan and its adjacent areas. *Journal of Biogeography* 31: 1251–1259.
- HUANG, S. S. F., S. Y. HWANG, AND T. P. LIN. 2002. Spatial pattern of chloroplast DNA variation of *Cyclobalanopsis glauca* in Taiwan and east Asia. *Molecular Ecology* 11: 2349–2358.
- HUDSON, R. R., AND N. L. KAPLAN. 1995. Deleterious background selection with recombination. *Genetics* 141: 1605–1617.
- ISODA, K., AND S. SHIRAIISHI. 2001. Allelic sequence polymorphisms in the intron region of the nuclear-encoded *GapC* gene preceded the speciation of three closely related *Abies* species (Pinaceae). *Theoretical and Applied Genetics* 102: 244–250.
- JOHNSON, K. P., F. R. ADLER, AND J. L. CHERRY. 2000. Genetic and phylogenetic consequences of island biogeography. *Evolution* 54: 387–396.
- JUKES, T. H., AND C. R. CANTOR. 1969. Evolution of protein molecules. In H. N. Munro [ed.], *Mammalian protein metabolism*, 21–132. Academic Press, New York, New York, USA.
- KIMURA, M. 1996. Quaternary paleogeography of the Ryukyu Arc. *Journal of Geography* 105: 259–285 (in Japanese with English abstract).
- KORMUTAK, A., AND J. C. YANG. 1998. The genetics and embryology of Taiwan fir (*Abies kawakamii* (Hayata) Ito). *Taiwan Journal of Forest Science* 13(1): Monograph 1.
- LEDIG, F. T., B. BERMEJO-VELAZQUEZ, P. D. HODGSKISS, D. R. JOHNSON, C. FLORES-LÓPEZ, AND V. JACOB-CERVANTES. 2000. The mating system and genetic diversity in Martínez spruce, an extremely rare endemic of México's Sierra Madre Oriental: an example of facultative selfing and survival in interglacial refugia. *Canadian Journal of Forest Research* 30: 1156–1164.
- LEDIG, F. T., M. T. CONKLE, B. BERMEJO-VELAZQUEZ, T. EGUILUZ-PIEDRA, P. D. HODGSKISS, D. R. JOHNSON, AND W. S. DVORAK. 1999. Evidence for an extreme bottleneck in a rare Mexican pinyon: genetic diversity, disequilibrium, and mating system in *Pinus maximartinezii*. *Evolution* 53: 91–99.
- LEDIG, F. T., P. D. HODGSKISS, AND V. JACOB-CERVANTES. 2002. Genetic diversity, mating system, and conservation of a Mexican subalpine relict, *Picea mexicana* Martínez. *Conservation Genetics* 3: 113–122.
- LIEPPELT, S., R. BIALOZYT, AND B. ZIEGENHAGEN. 2002. Wind-dispersed pollen mediates postglacial gene flow among refugia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 99: 14590–14594.
- LIU, T. S. 1971. A monograph of the genus *Abies*. Department of Forestry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
- MCCAULEY, D. E. 1995. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 198–202.
- MOGENSEN, H. L. 1996. The hows and whys of cytoplasmic inheritance of seed plants. *American Journal of Botany* 83: 383–404.
- MOORE, W. S. 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49: 718–726.
- MURRAY, M. G., AND W. F. THOMPSON. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8: 4321–4325.
- NEI, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, New York, USA.
- OKUYAMA, Y., N. FUJII, M. WAKABAYASHI, A. KAWAKITA, ITO, M. WATANABE, N. MURAKAMI, AND M. KATO. 2005. Nonuniform concerted evolution and chloroplast capture: heterogeneity of observed introgression patterns in three molecular data partition phylogenies of Asian *Mitella* (Saxifragaceae). *Molecular Biology and Evolution* 22: 285–296.
- OLSEN, K. M., AND B. A. SCHAAL. 1999. Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 96: 5586–5591.
- PARDUCCI, L., A. E. SZMIDT, A. MADAGHIELE, M. ANZIDEI, AND G. G. VENDRAMIN. 2001. Genetic variation at chloroplast microsatellites (cpSSRs) in *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei and three neighboring *Abies* species. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 733–740.
- PETTIT, R. J., I. AGUINALDE, J. L. DE BEAULIEU, C. BITTKAU, S. BREWER, R. CHEDDADI, R. ENNOS, S. FINESCHI, D. GRIVET, M. LASCoux, A. MOHANTY, G. MULLER-STARCK, B. DEMESURE-MUSCH, A. PALME, J. P. MARTIN, S. RENDELL, AND G. G. VENDRAMIN. 2003. Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science* 300: 1563–1565.
- PETTIT, R. J., E. DUMINIL, S. FINESCHI, A. HAMPE, D. SALVINI, AND G. G. VENDRAMIN. 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology* 14: 689–701.
- PIELOU, E. C. 1991. *After the ice age*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- PONS, O., AND R. J. PETTIT. 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237–1245.
- ROBLEDO-ARNUNCIÓ, J. J., C. COLLADA, R. ALIA, AND L. GIL. 2005. Genetic structure of montane isolates of *Pinus sylvestris* L. in a Mediterranean refugial area. *Journal of Biogeography* 32: 595–605.
- ROZAS, J., J. C. SÁNCHEZ-DELBARRIO, X. MESSEQUER, AND R. ROZAS. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496–2497.
- SCHIERUP, M. H., AND J. HEIN. 2000. Consequences of recombination on traditional phylogenetic analysis. *Genetics* 156: 879–891.
- SUYAMA, Y., H. YOSHIMARU, AND Y. TSUMURA. 2000. Molecular phylogenetic position of Japanese *Abies* (Pinaceae) based on chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16: 271–277.
- TABERLET, P., AND R. CHEDDADI. 2002. Quaternary refugia and persistence of biodiversity. *Science* 297: 2009–2010.
- TAIWAN FOREST BUREAU/ANONYMOUS. 1995. *The third forest resources and land use inventory in Taiwan*. Taiwan Forest Bureau, Taiwan Province, Council of Agriculture, Taipei, Taiwan (in Chinese).
- TAJIMA, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585–595.
- TANI, N., Y. TSUMURA, AND H. SATO. 2003. Nuclear gene sequences and DNA variation of *Cryptomeria japonica* samples from postglacial period. *Molecular Ecology* 12: 859–868.
- TEMPLETON, A. R., K. A. CRANDALL, AND C. F. SING. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619–633.
- THOMPSON, J. D., G. D. HIGGINS, AND T. J. GIBSON. 1994. ClustalW: improving the sensitivity of progressive sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- TSUKADA, M. 1966. Late Pleistocene vegetation and climate in Taiwan (Formosa). *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 55: 543–548.
- TSUKADA, M. 1967. Vegetation in subtropical Formosa during the Pleistocene glaciation and the Holocene. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 3: 49–64.
- WALTER, R., AND B. EPPERSON. 2005. Geographic pattern of genetic diversity in *Pinus resinosa*: contact zone between descendants of glacial refugia. *American Journal of Botany* 92: 92–100.
- WOLFE, K. H., W. H. LI, AND P. M. SHARP. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 84: 9054–9058.



- WU, S. H., C. Y. HWANG, T. P. LIN, J. D. CHUNG, Y. P. CHENG, AND S. Y. HWANG. 2006. Contrasting phylogeographic patterns of two closely related species, *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi* (Lauraceae), in Taiwan. *Journal of Biogeography* 33: 936–947.
- XIANG, Q. P., Q. Y. XIANG, A. LISTON, AND X. C. ZHANG. 2004. Phylogenetic relationships in *Abies* (Pinaceae): evidence from PCR-RFLP of the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region. *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 425–435.
- ZHANG, D. X., AND G. M. HEWITT. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology* 12: 563–584.



## 臺灣原生植物冰河期避難所

鄭育斌

行政院農委會林業試驗所生物組

### 摘 要

利用臺灣原生殼斗科植物長尾栲(*Castanopsis carlesii*)葉綠體DNA (cpDNA)的多型性和地理分佈，探討臺灣原生植物的冰河期避難所位置。包括30個族群，201個單株，分析二段非編碼區序列(*trnL* intron 和 *trnV-trnM*)，共得到28個單套基因型(haplotype)，其中2個為原始型(ancestral type)，普遍分佈於大部分族群中。由核苷酸歧異度( $\pi$ , nucleotide diversity)分析顯示，長尾栲在臺灣地區有3個歧異度較高的族群，分別為北部的福山、中部蓮華池和東南部的利嘉一帶。基因型基因歧異度(h, haplotype diversity)較高的族群分別為，福山、鎮西堡、鞍馬山、蓮華池和藤枝。分析所有族群和中央山脈(CMR, Central Mountain Range)二側的遺傳分化值( $N_{ST} - G_{ST}$ )，發現族群間具有高度的分化( $G_{ST} = 0.723$ )，但在中央山脈的二側族群間並沒有明顯的親緣地理結構。由葉綠體基因型的分佈情形顯示，中央山脈對臺灣東、西部族群間的基因交流造成明顯阻礙，族群遷徙和基因交流僅能在中央山脈東西二側進行南北向的遷徙。根據TCS網狀譜系分析、稀有或獨特基因型的分佈、歧異度和族群間的分化(genetic divergence)等資料，推測在臺灣中北部尤其是雪山山脈北端和臺灣東南部各有一個冰河時期植物的可能避難所(potential refugia)。由星狀(star-like)的基因型演化關係樹和中性檢測(neutrality test)等分析，顯示長尾栲族群正處於族群擴張(demographic expansion)的階段。

### 前 言

第四紀(Quaternary)冰河事件被認為是影響現今地球植物分佈、物種遺傳變異或分化最重要的氣候因子。第四紀開始於約240萬年前，大約在70萬年前進入冰河期和間冰期的反復循環，大約在持續10萬年的冷冰期後，會進入1至2萬年溫暖潮濕的間冰期(Comes & Kadereit 1998)，即所謂的Milankovitch cycle (Bennett 1990)。

根據證據顯示第四紀以來，地球至少經歷過四次較大的冰河期，當冰期來臨時氣溫下降，氣候乾燥，高緯度地區受冰帽覆蓋，植物往南遷徙，族群分佈北限往南移，高海拔植物往低海拔降遷，在低緯度地區或更低海拔處氣候適合的地區存活下來，這些地區就是所謂的避難所(refugia) (Hewitt 1996)。冰河期結束後進入溫暖的間冰期，植物由避難所向外擴散。冰期和間冰期氣溫冷熱的交替發生，干擾物



種的分佈範圍和改變選汰壓力(selection pressure)，這些地質歷史事件也可能影響現生物種的基因庫，或影響基因的多型性變化(Taberlet & Cheddadi 2002)。以植物而言，現有遺傳變異的空間分佈，往往是經歷多次的冰河事件後呈現的結果。例如，北半球高緯地區的植物類型，通常呈現出較低的歧異度。原因是這些植群可能都是冰河期結束後由南方的避難所往北擴展而來。在往北或高緯方向擴展的過程，新建族群都僅包含來源族群的一部份變異或來自於單一或少數個體的創始效應(founder effect) (Davis & Shaw 2001; Taberlet *et al.* 1998)，所以常呈現往北或高緯地區，遺傳變異遞減的現象(Hewitt 1996, 2000; Tzedakis *et al.* 2002)，這種趨勢常會隨著遷徙或傳播距離增加，而呈現隔離分化(isolation by distance)的現象。另一可能的狀況是，避難所族群如果沒有往外擴展，經過長期的隔離結果，避難所族群往往會呈現較高的遺傳分化(Petit *et al.* 2003)。

歐洲大陸是研究氣候變遷對植物組成和植被影響最清楚的地區(Comes & Kadereit 1998)，由於冰河對植物的全面性的摧毀，現今歐洲大陸的植物組成和分佈方式，都是最後一次冰期結束後重新拓殖的結果。由地下花粉資料(Huntley & Birks 1983)，可清楚確定最後一次冰期歐洲三個主要的避難所位置，分別為伊比利半島(Iberia Peninsula)、義大利半島(Italy Peninsula)和巴爾幹半島(Balkan Peninsula)。現有族群大致都由三個避難所往外擴散，由於有地下花粉的詳細資料可比對，所以可推算族群往北擴展的速度(Hewitt 1999;

Brewer *et al.* 2002)，再加上分子工具的使用，更可精確地出往北拓展的路徑(Ferris *et al.* 1993, 1995)。

近年來分子技術的發展提供親緣地理學研究良好的方法和工具，尤其是胞器DNA (organelle DNA)單親遺傳(uniparental inheritance)的特性，被普遍用於親緣地理研究 (Avisé 2000)。植物的胞器DNA包括葉綠體DNA (cpDNA)和粒線體DNA (mtDNA)，二者可能為同一遺傳機制或來自不同遺傳方式，大部分的被子植物粒線體DNA和葉綠體DNA均為母系遺傳(Dumolin-Lapegue *et al.* 1995)。母系遺傳的特性反映的是透過種子的基因流傳，這種特性讓它成為進行族群遷徙路徑探討或確認的良好工具。尤其是葉綠體DNA不似核DNA般易於發生重組(recombination) (Clegg & Zurawski 1992)，也具有較低的突變率(Wolfe *et al.* 1987; Li 1997)，可以回推到古老或原始的基因型。因此葉綠體DNA的多型性或變異，被普遍用於植物親緣地理研究或是近緣種間親緣關係研究。

近十餘年來歐洲大陸和美洲地區利用葉綠體DNA重建族群間的地理親緣的例子非常普遍，如oaks (Petit *et al.* 1993; Dumolin-Lapegne *et al.* 1997; Lumaret *et al.* 2003)和beech (Demesure *et al.* 1996; Vettori *et al.* 2004)等。Ferris *et al.* (1995)、Petit *et al.* (1993, 1997)和Dumolin-Lapegene *et al.* (1997)等利用葉綠體DNA的資料則發現oaks和Alnus高度的遺傳變異，主要的原因在於這些冰河子遺物種古老的演化歷史，有更多的機會累積變異在譜系(lineage)之中，他們根據不同cpDNA



lineage推測殼斗科樹種在歐洲大陸重新拓殖的路線。Ferris *et al.* (1998)利用cpDNA的證據確認後冰河期歐洲oaks重新拓殖的三條路徑，並確認遷徙進芬蘭是從東西兩條不同的路徑。Matyas & Sperisen (2001)更精確的提出oaks跨越阿爾卑斯山區的路徑。Demesure *et al.* (1996)利用cpDNA研究歐洲山毛櫸(*Fagus sylvatica*)的親緣地理，cpDNA共分成11個單套基因型(haplotype)。亞洲地區的研究，如Tomaru *et al.* (1998)利用mtDNA研究日本山毛櫸(*Fagus crenata*)的種內遺傳變異和親緣地理關係，由mtDNA的證據顯示日本山毛櫸現今的分佈是在最後一次冰河期結束之後，由日本海和太平洋沿岸的低海拔族群，往高海拔和東北方向拓展。Fujii *et al.* (2002)利用葉綠體DNA研究*Fagus crenata*的親緣地理，13個cpDNA基因型歸群為二個主要的clade，支持*F. crenata*在後冰河期由避難所擴散的二條主要路徑，一為沿著日本海沿岸，另一為沿著太平洋岸往東北擴展。

臺灣為位於歐亞板塊大陸棚邊緣的大陸型島嶼，生物組成和鄰近的地區有高度的相似性，這一區域的共同地質歷史與動植物的組成有非常密切的關係。尤其是距今約11萬年前的最後一次冰期，臺灣海峽因海平面下降，使臺灣島與中國大陸甚至是琉球群島之間，經由陸橋的聯繫，進行物種的交流。冰期結束氣候回暖，臺灣海峽水位上升，臺灣島生物族群又與歐亞大陸隔離，島內的植物族群重新拓展，遂形成現今的分佈方式。臺灣的植物組成，就在第四紀以來多次冰期和間冰期交替發生的狀況下不斷的交流，因此與鄰近的中國

大陸、日本和菲律賓等地有高度的相似性，也因有不斷的隔離效應，造成高度的特有性(Hsieh *et al.* 1994)。台灣原生植物的相關研究，最早來自是allozyme marker所獲得的資料。Lin (2001)以allozyme研究臺灣烏心石(*Michelia formosana*)的遺傳變異，並綜合其他物種的資料，顯示幾乎所有的物種遺傳歧異度最高的族群，均位於臺灣中部，因此推測台灣中部山區是冰河時期植物的避難所。Wu *et al.* (2001)同樣以allozyme為marker探討昆欄樹(*Trochodendron aralioides*)的生物地理和遺傳變異，同樣也獲得中部地區族群具有較高歧異度的結果。Huang *et al.* (2002)利用殼斗科青剛櫟(*Cyclobalanopsis glauca*)的葉綠體DNA空間變異，推測臺灣東南部為青剛櫟在上一次冰河期的避難所。Hwang *et al.* (2003)利用葉綠體DNA非編碼區的序列資料，討論香杉(*Cunninghamia konishii*)的親緣地理，發現香杉呈現低度遺傳變異，並且得到近期曾發生瓶頸效應(bottleneck)的訊息。Chung *et al.* (2004)以AFLP研究香杉的遺傳歧異度和生物地理，確認香杉的多次起源和長距離傳播的現象。Huang *et al.* (2004)研究臺灣和鄰近地區昆欄樹的親緣地理，發現在中、北部山區約在北緯24° 06'至24° 46'之間為昆欄樹可能的避難所。Wu *et al.* (2006)利用葉綠體DNA序列，研究紅楠(*Machilus thunbergii*)和大葉楠(*M. kusanoi*)的親緣地理，發現中央山脈西側的中北部為紅楠的歧異度中心(diversity center)，大葉楠的歧異度中心位於南部的壽卡和墾丁一帶。由這些研究累積的結果，可拼湊出最後一次冰河事件對臺灣植物的影響。不



過不同植物種類因對環境適應和需求的差異，呈現的結果和提出的避難所位置也有差異。為更清楚呈現台灣植物的演化歷史和親緣地理關係，選擇生態幅度或分佈較廣物種，才有可能呈現完整的面貌。

長尾栲是殼斗科的常綠闊葉樹種，主要分佈於中低海拔山區(800至2300公尺)，是*Machilus-Castanopsis*林型和evergreen oak林型的重要組成樹種(Hsieh *et al.* 1994; Shen 1994)。殼斗科植物大都具有大型的堅果，種子除少數可能靠嚙齒類等動物傳播之外，主要的傳播機制是靠重力傳播，這種特性讓其適合作為探討親緣地理的良好材料。本研究利用長尾栲葉綠體DNA的變異來探討臺灣原生植物冰河期的可能避難所位置，同時也根據各葉綠體DNA基因型的地理分佈討論後冰河期族群拓展歷史，包括中央山脈對基因交流和族群拓展所造成的地理阻礙。

## 材料與方法

### 一、取樣

總計在全島採集30個長尾栲族群，共計201個單株，每一族群在3-11株之間(Table 1, Fig. 1)。各族群分佈於不同海拔高度和區域，以涵蓋各種不同生育地。每一族群採集當年生已展開之新葉，立即以冰箱冰存或於野外以矽膠乾燥劑迅速脫水乾燥後，帶回實驗室置於-80°C冰箱保存備用。

### 二、聚合酶連鎖反應(PCR, Polymerase Chain Reaction)和定序(Sequencing)

將保存於-80°C冰箱的樣本，以液態

氮急速冷凍，迅速研磨成粉末狀態後，以Plant Genomic DNA Miniprep System Kit (Viogene, Taipei) 進行總DNA的萃取。利用二段葉綠體DNA的非編碼區(noncoding region)片段，包括一基因內含子(*trnL* intron) (Primer 1: 5'-TGGATTGAGCCTTGG TATGG-3', Primer 2: 5'-TCTACCAGCTGAGCTA TCCC-3')和一基因間片段(IGS, intergenic spacer) *trnV-trnM* (Primer 1: 5'-GCTATACGGGCTCG AAC-3', Primer 2: 5'-TACCTACTATTGGATT TGAACC-3')序列分析。

PCR反應依DNA片段不同而不同，*trnL* intron片段增殖條件為95°C 5分鐘的denature後，94°C 1分鐘、52°C 1分鐘、72°C 1分鐘，重覆35循環，結束後加上10分鐘72°C的延長反應。*trnV-trnM*片段增殖之條件為95°C 5分鐘的denature後，94°C 1分鐘、62°C 1分鐘、72°C 1分鐘，重覆35循環，結束後加上10分鐘72°C的延長反應。PCR完成後進行電泳分析，確認PCR結果是否有產物，產物是否為單一條帶及片段大約長度，確認後將PCR產物進行定序分析。

### 三、遺傳變異(Genetic variation)和親緣關係分析(Phylogenetic analysis)

以Clustal W (Thompson *et al.* 1994) 進行序列比對排序，再轉存成MEGA和PHYLIP格式。利用DnaSP 4.0 (Rozas *et al.* 2003)軟體分析核苷酸歧異度( $\pi$ , Nucleotide diversity)(Nei 1987)和單套基因型歧異度(h, Haplotype diversity)(Nei & Tajima 1983)。除此之外，利用Tajima's (1989) D test、Fu & Li's (1993) D\* 和F\* test等三種檢定方法進行中性假說檢定(Neutral theory test)。



利用MEGA 3 (Kumar *et al.* 2004) 軟體，以Kimura 2-parameter distance (Kimura 1980) 進行單套基因型的Neighbor-Joining unrooted tree的建構。利用TCS (Clement *et al.* 2000)基因譜系分析(genealogy analysis)，建構單套基因型間的親緣關係。

#### 四、族群結構和遺傳分化分析(analysis of genetic structure genetic divergence)

以Hapstep軟體計算各族群歧異度和遺傳分化指數(Pons & Petit, 1996)。此方法是將每一基因型視為一獨立之等位基因(allele)，第一種方法計算族群內的平均歧異度指數( $H_S$ )、全部族群平均歧異度

( $H_T$ )和遺傳分化指數( $G_{ST}$ )；另一方法為計算族群內歧異度指數( $V_S$ )、全部族群歧異度( $V_T$ )和遺傳分化( $N_{ST}$ )。二個遺傳分化值主要的差異是 $G_{ST}$ 的計算只考慮基因型頻率， $N_{ST}$ 除考慮基因型間的頻率之外，也同時考慮基因型間的遺傳距離。 $G_{ST}$ 和 $N_{ST}$ 值的差異可用來判斷族群間是否存在親緣地理結構，當同一族群內的基因型間的遺傳距離低於族群外其他族群，也即是同一族群內為近緣的基因型時，則 $N_{ST}$ 大於 $G_{ST}$ ， $N_{ST} - G_{ST}$ 為正值，並呈現顯著差異。若 $N_{ST}$ 顯著小於 $G_{ST}$ ， $N_{ST} - G_{ST}$ 為顯著負值，代表族群內的遺傳距離高於族群間，表示族群內的基因型可能來自不同lineage (Pons & Petit 1996)。

Table 1. Population numbers, sample sizes, estimates of haplotype diversity (h), nucleotide diversity ( $\pi$ ) and haplotypes of *Castanopsis carlesii* sampled in this study.

Populations	Sample sizes	Number of haplotype	Polymorphic sites	h	$\pi \times 10^{-3}$	Haplotypes (no. of individuals)
Total	201	28	26	0.761	0.95	
1. Yangmingshan (YM)陽明山	8	1	0	0.000	0.000	H1(8)
2. Kungliao (KL)貢寮	6	2	1	0.333	0.20	H1(1), H2(5)
3. Fushan (FS)福山	6	4	5	0.800	1.16	H1(3), H17(1), H18(1), H19(1)
4. Tungyenshan (TY)東眼山	10	2	1	0.200	0.12	H2(9), H16(1)
5. Tungao (TA)東澳	9	2	1	0.222	0.13	H2(8), H16(1)
6. Sanhsing (SH)三星	6	2	1	0.533	0.48	H1(2), H2(4)
7. Kuanwu (KW)觀霧	5	3	2	0.700	0.48	H1(3), H2(1), H12(1)
8. Chenghsipao (CH)鎮西堡	7	3	2	0.762	0.57	H1(2), H3(3), H5(2)
9. Litungshan (LT)李棟山	6	2	1	0.600	0.36	H1(3), H2(3)
10. Chialishan (CL)佳里山	3	2	1	0.677	0.40	H1(1), H2(2)
11. Anmashan (AM)鞍馬山	5	4	3	0.900	0.84	H1(1), H2(1), H11(1), H12(2)
12. Lishan (LS)梨山	5	2	1	0.600	0.36	H3(2), H4(3)
13. Liyushan (LY)鯉魚山	8	2	2	0.500	0.30	H14(7), H20(1)
14. Juisui (JS)瑞穗	5	2	1	0.400	0.24	H14(1), H15(4)
15. Meifeng (MF)梅峰	8	3	3	0.464	0.45	H3(1), H6(6), H28(1)
16. Lienhuachih (LH)蓮華池	6	5	4	0.933	1.36	H2(1), H4(1), H7(2), H25(1), H26(1)
17. Tataka (TT)塔塔加	5	2	1	0.400	0.24	H1(4), H2(1)
18. Alishan (AL)阿里山	6	1	0	0.000	0.00	H1(6)
19. Tengchih (TC)藤枝	7	5	4	0.857	0.69	H1(1), H8(3), H21(1), H22(1), H27(1)
20. Nanheng (NH)南橫	11	1	0	0.000	0.00	H1(11)
21. Tona (TN)多納	5	1	0	0.000	0.00	H1(5)
22. Peitawu (PT)北大武	6	2	1	0.333	0.20	H1(1), H11(5)
23. Tahanshan (TH)大漢山	6	2	1	0.600	0.36	H1(3), H2(3)
24. Shouchia (SC)壽卡	9	3	3	0.470	0.40	H1(7), H10(1), H13(1)
25. Nanjenshan (NJ)南仁山	6	1	0	0.000	0.00	H1(6)
26. Hsinkangshan (HK)新港山	6	1	0	0.000	0.00	H9(6)
27. Lumingshan (LM)鹿鳴山	9	4	3	0.694	0.50	H1(5), H2(2), H23(1), H24(1)
28. Lichia (LC)利嘉	10	4	6	0.644	0.91	H1(6), H9(1), H10(1), H13(2)
29. Tawu (TW)大武	6	2	1	0.533	0.32	H1(2), H2(4)
30. Taimali (TM)太麻里	6	1	0	0.000	0.00	H1(6)



Table 2. Estimates of haplotype diversity ( $h$ ), nucleotide diversity ( $\pi$ ) and test statistics of neutrality of two noncoding spacers of cpDNA.

	No. of sites	No. of haplotypes	No. of polymorphic sites	$h$	$\pi$	$D$	$D^*$	$F^*$
Total	1663	28	26	0.761	0.00095	-1.79054*	-1.96175	-2.27687
<i>trnL</i> intron	801	21	21	0.734	0.00148	-1.80135*	-2.18348	-2.443368
<i>trnV-trnM</i>	862	6	5	0.239	0.00045	-1.04333	-0.16634	-0.55017

族群間的遺傳分化(genetic divergence)係根據族群內葉綠體DNA序列變化，利用Arlequin (Schneider *et al.* 2000)計算兩兩族群間的Pairwise  $F_{ST}$  (Hudson *et al.* 1992)。並由每一族群相對於其他族群的pairwise  $F_{ST}$ 平均值，得到遺傳分化平均值(mean  $F_{ST}$ ) (Petit *et al.* 2003)。

## 結果與討論

### 一、葉綠體DNA的多型性和遺傳多樣性

二段葉綠體DNA非編碼區(noncoding region)的序列，經排序後共有1663 bp，其中*trnL* intron共有801個核苷酸，*trnV-trnM*為862個核苷酸。共有26個(1.5%)多型性位點(polymorphic sites)，其中18個為點突變(point mutation)，另8個多型性位點來自於indels (insertion and deletion)。比較二段非編碼區片段的歧異度，可發現*trnL* intron( $\pi = 0.00148$ )的歧異度約為*trnV-trnM* ( $\pi = 0.00045$ )的三倍 (Table 2)。各族群核苷酸歧異度( $\pi$ )介於0至0.00136之間，平均為0.00095。其中以位於台灣中部的蓮華池(LH)具有最高的核苷酸歧異度( $\pi = 0.00136$ )，其次為北台灣的福山(FS) ( $\pi = 0.00116$ )，接續為東南部的利嘉(LC) ( $\pi = 0.00091$ ) (Table 1)。

組合二段序列共獲得28個單套基因型，各族群之單套基因型歧異度

(haplotype diversity)介於0至0.933之間，平均值為0.761。蓮華池具有最高的單套基因型歧異度( $h = 0.933$ )，其次為鞍馬山( $h = 0.900$ )，接續為藤枝( $h = 0.857$ )、福山( $h = 0.800$ )、鎮西堡(CH)( $h = 0.762$ )等。若以基因型數目而言，蓮華池同樣具有最高的基因型數目(5個)，藤枝也出現5個，福山、鞍馬山、鹿鳴山(LM)和利嘉都具有4個 (Table 1)。

葉綠體 DNA 因不具遺傳重組、母系遺傳(大部分的被子植物)和低突變率等特性，非編碼區域(noncoding region)的序列，包括基因間片段(intergenic spacer)和內含子(intron)，適合作為屬內種間或種內族群間等低階分類群演化過程的或親緣地理研究的工具(Soltis & Soltis, 1998)。由於各段非編碼區的突變率並不一致，所以進行研究時往往必須合併多段的序列才能獲得更多有訊息性(informative)的變異。和其他已研究過的樹種比較，長尾栲的歧異度高於青剛櫟( $\pi = 0.00065$ , Huang *et al.* 2002)、昆欄樹( $\pi = 0.00052$ , Huang *et al.* 2004)、紅楠( $\pi = 0.00031$ , Wu *et al.* 2006)、大葉楠( $\pi = 0.00051$ , Wu *et al.* 2006)和香杉( $\pi = 0.00038$ , Ma 2002)等。臺灣樹種的遺傳變異和親緣地理研究，最近數年來累積了許多的資料，提出多個歧異度中心，如東南部為青剛櫟的可能避難所(Huang *et*



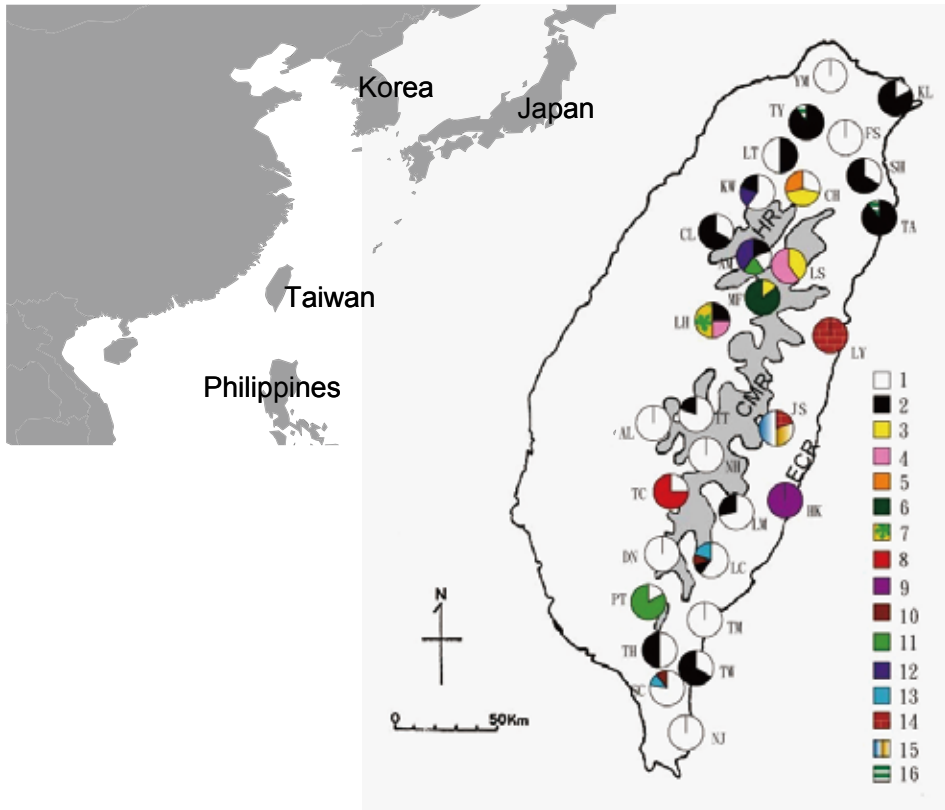


Fig. 1. Map of East Asia and Taiwan and the geographical distribution of cpDNA haplotypes of *Castanopsis carlesii*. Only the sixteen haplotypes that occurred in more than two individuals are shown. CMR, Central Mountain Ridge; HR, Hsuehshan Range; ECR, East Coastal Range.

al. 2002), 昆欄樹的歧異度中心位於中北部(Huang *et al.* 2004), 中央山脈西側的中北部為紅楠的歧異度中心, 大葉楠的歧異度中心位於南部的壽卡和墾丁一帶。不同的樹種因其歷史和生態環境需求的不同而呈現差異。長尾栲屬於廣泛分佈的殼斗科植物, 北部福山(FS) ( $\pi = 0.00116$ )、中部蓮華池(LH) ( $\pi = 0.00136$ )和東南部利嘉(LC) ( $\pi = 0.00091$ )為三個核苷酸歧異度較高的族群。單套基因型歧異度最高為蓮華池( $h = 0.933$ ), 其次為鞍馬山(AM)( $h = 0.900$ ), 接續為藤枝(TC)( $h = 0.857$ )、福山( $h = 0.800$ )、鎮西堡(CH)( $h = 0.762$ )、觀霧

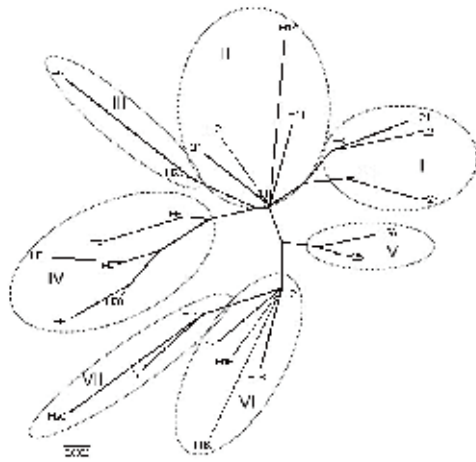


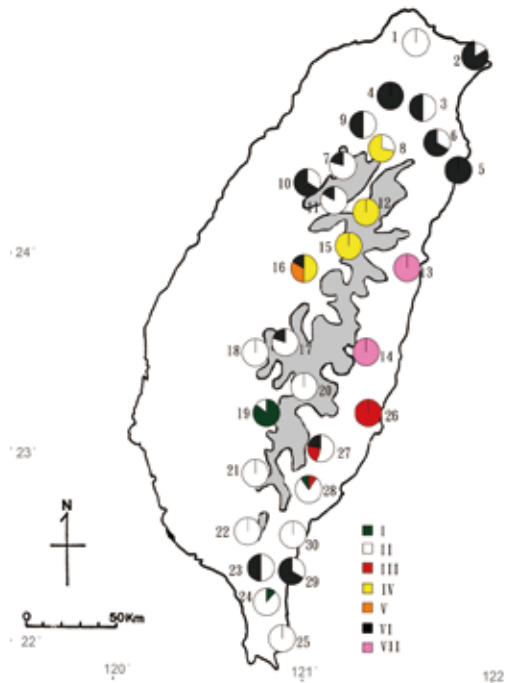
Fig. 2. Seven lineages of cpDNA haplotypes are identified using the Neighbor-Joining unrooted tree.



壽卡和利嘉等三個南部和東南部族群。Lineage II和VI是由二個原始基因型為主組成的Lineage，各含5個基因型，分別為H1、H11、H12、H13、H24和H2、H16、H17、H18、H19。以分佈而言，這二個Lineage雖為廣泛分佈的Lineage，但不分佈於東部和中部族群，而且二者的分佈頻率也有南北的差異，Lineage II則以南部族群為主，Lineage VI以北為主。Lineage III由H9和H23組成，侷限於東南部的鹿鳴山和新港山二個族群。Lineage IV則由H3、H4、H5、H6、H7和H28等6個基因型組成。最特別的是這個lineage僅分佈於鎮西堡、梨山、梅峰和蓮華池四個族群。Lineage V包括H25和H26二個基因型，僅分佈於蓮華池，都和原始型H1和H2僅1 bp的差異，應是近期才產生的變異。Lineage VII由H14、H15和H20三個基因型組成，僅分佈於東部的瑞穗和鯉魚山二族群，也是東部特有的Lineage (Fig. 3)。

### 三、基因型的地理分佈和親緣關係

基因譜系親緣分析 (genealogy analysis) 即可用來分析基因型之間的親緣關係或演化關係。根據溯祖理論 (coalescent theory) (Hudson 1990)，由現今世代的基因型的變異，反向回推變異產生的歷程，最終可推至一原始的共同祖先。網狀譜系分析所呈現的結果，位於中間 (interior) 位置的基因型，有較多的機會發生變異衍生出其他的基因型，這些位於中間的基因型可被視為較原始的基因型，而後來衍生出的基因型都位於外圍或是演化樹末端 (tip) 的位置 (Templeton *et al.* 1995)。根據基因譜系分析的結果，可推測基因



型間的演化先後順序，如再配合在族群中 Fig. 3. The geographical distribution of 7 lineages of haplotype, divided by the unrooted Neighbor-Joining tree using *MEGA 3* program.

出現的頻率和基因型的地理分佈，可用來推測冰河期避難所的位置或追蹤後冰河期族群拓展的路徑。由TCS遺傳譜系分析 (Fig. 4)，共計得到28個基因型，其中H1和H2為二個最普遍的基因型。H1出現於87個單株(43%)，H2基因型共有44個單株(22%)。這二個基因型普遍出現於大部分族群，有趣的是中部的梨山(LS)、梅峰(MF)和東部的鯉魚山(LY)、瑞穗(JS)和新港山(HK)等族群，並未出現H1和H2二個普遍基因型 (Fig. 1)。由H1和H2這二個基因型衍生出其他26個基因型，H3衍生自H1，又從H3衍生出H4、H5、H6、H7、H28等五個基因型。由H1演變成H28，其間已發生5次的突變。由地理位置來看，



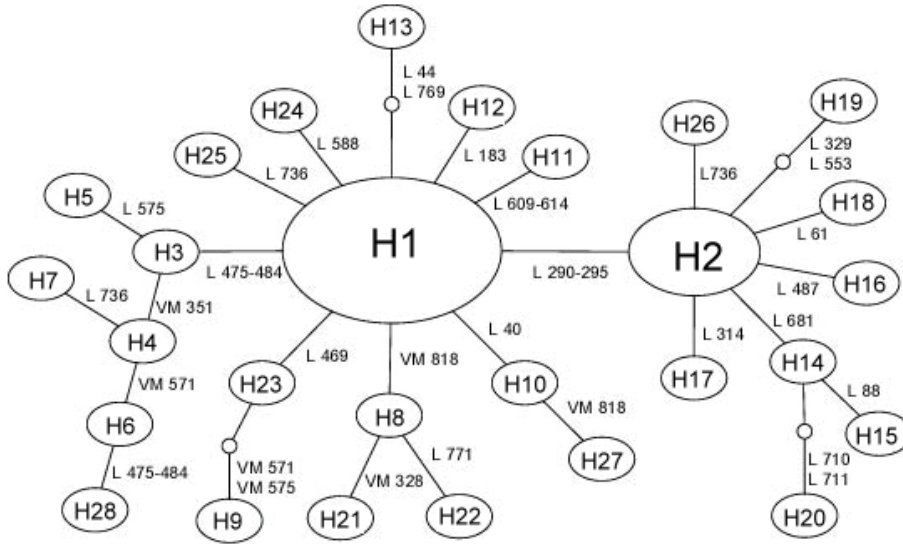


Fig. 4. The genealogical relationships between haplotypes of *Castanopsis carlesii* based on the *trnL* intron and *trnV-trnM* spacer of the cpDNA genome. Each line between haplotypes represented a mutational step, with numbers on lines indicating the variable base pair position.

這六個基因型僅分佈於中北部族群，如蓮華池、梅峰、梨山和鎮西堡。H23也衍生自H1，這個基因型僅出現於鹿鳴山(LM)的一個單株，不過卻由它衍生出H9，而H9僅出現於利嘉(1株)和新港山(6株)。H9和H23二基因型僅出現於鹿鳴山、新港山和利嘉，屬東南部特有的基因型。

H8是另一衍生自H1的基因型，又由H8衍生出H21和H22，這三個基因型僅出現於藤枝(TC)。H10也衍生自H1，再衍生出H27，這二個基因型出現於藤枝、利嘉和壽卡(SC)，是中央山脈南端族群共有的基因型。其餘衍生自H1的基因型，如H13、H24、H25都是僅出現於一個單株的基因型。H2是另一個普遍的基因型，由其衍生出8個基因型(H14 ~ H20和H26)，除H20之外，都是1至2個步驟的變化。其中H14又衍生出H15和H20，這三個基因型僅出現於瑞穗(JS)和鯉魚山

(LY)，是中央山脈東側特有的基因型，其餘基因型(H16、H17、H18、H19和H26)都僅出現於北部族群。

從28個基因型的地理分佈(Fig. 1)和TCS (Fig. 4)的網狀基因譜系分析結果，這種基因型分佈方式應是後冰河期族群重新擴展的結果。H1和H2位於網狀基因圖的中央部位，為二個最原始的基因型，廣泛分佈在大部分的族群中，原始型這種廣泛分佈的方式，並無法明確找出避難所位置和確認遷徙路徑。但由衍生基因型和部分特有基因型的分佈，配合基因型親緣關係分析，應有助於推測避難所位置和推定遷徙路徑。TCS分析顯示由二個原始基因型衍生出的網狀關係圖，變化步驟最多為5次突變(H1至H28)。葉綠體DNA在演化為較保守的genome (Palmer & Stein 1986)，尤其是非編碼區序列的突變率約為二百萬年改變一個鹼基(Bohle *et al.* 1994)。最近



一次的冰河期約開始於11萬年前，由突變率來看，在TCS分析中許多基因型變化，應不是近期内產生的變異，而是在最後一次冰期前就已存在的變異。因此由這些基因型的分佈位置，可能更容易推測冰河期避難所位置。例如Lineage IV內的基因型最多5個步驟的變化，應是長期累積的效應，這個lineage包括H3、H4、H5、H6、H7、H28等基因型，僅出現於鎮西堡、梨山、梅峰和蓮華池；Lineage III包括H9和H23，僅分佈於東南部鹿鳴山和新港山；Lineage VII包括H14、H15和H20，分佈於東部瑞穗和鯉魚山；Lineage I包括H8、H10、H21、H22和H27，分佈於藤枝、壽卡和利嘉等南部和東南部族群。這些區域應都有可能為冰河期避難所。

二個原始基因型廣泛分佈在大部分族群，有趣的是在中部的梅峰和梨山二族群，東部的瑞穗、鯉魚山和新港山三族群，都沒有原始基因型的分佈。同樣的現象也呈現於青剛櫟(Huang *et al.* 2002)的研究結果中。在後冰河期的族群擴展過程中，最普遍的基因型應有最高的機率可以分佈到其他區域，而這些族群都沒有普遍基因型的存在。genetic drift的發生是一可能的原因，在族群拓殖過程中原始基因型完全被衍生基因型所取代，genetic drift的效應將原始基因型全部清除，只留下這些稀有的衍生基因型。但是這種可能性必須有非常強大的drift效應，對於族群非常優勢並且可產生大量種子的長尾桫欏而言，可能性並不高。另一造成這種分佈方式的原因，可能是來自於創始效應(founder effect)，也即是說在後冰河期的族群拓展過程，這些衍生型即進入新的生育地，

新的拓殖者佔據生育地後，會透過niche preemption效應和種內競爭的作用，阻止後來的族群生存或建立族群(Silvertown 2004)。創始族群佔據這些地區之後，其他型即無法與之競爭，所以呈現都是衍生型的狀況。另一可能原因是這些就已存在並被孤立局部區域，隔離的效應有助於突變產生後的fixation效應。在氣候回暖之後族群擴展過程，這些基因型僅有短距離的遷徙。這種可能性也有助於避難所位置的推測。

#### 四、中央山脈對基因交流的阻隔

28個單套基因型中，除H1和H2二個基因型為普遍分佈及部份singleton基因型之外，其餘基因型的分佈明顯具有地域性。如H3、H4、H5、H7、H8等分佈於中央山脈西側的中北部山區，H12分佈於觀霧和鞍馬山二個族群，H9、H13、H14、H15等僅分佈於中央山脈東側。長尾桫欏綠體DNA為母系遺傳，它所反映的是透過種子進行的基因交流，長尾桫欏種子主要靠重力傳播，應難以跨越主脊達3000公尺以上的中央山脈。由基因型的分佈顯示，中央山脈兩側各具有特有的基因型，顯示中央山脈對於東西向的葉綠體基因交流是一明顯的地理阻礙。而由H16分佈於北部東眼山和東澳二族群，H10和衍生型H27分佈於南部壽卡、利嘉和藤枝，可發現這些基因型有在中央山脈南北二端進行短距離傳播的現象。由此可見，中央山脈對東西族群的葉綠體基因交流造成阻礙，東西族群唯一有機會進行交流或遷徙的路徑應在中央山脈南北兩端較低海拔的區域。



### 五、中性假說檢定與族群擴張效應

中性假說的理論基礎為遺傳變異存在族群與否只受隨機的基因漂變(genetic drift)影響，而不受天擇(selection)和族群大小(demography)變動等因素的影響(Kimura 1983)。利用DnaSP軟體測試三種中性假說：Tajima's D test、Fu & Li's D\* test和Fu & Li's F\* test。30個族群合併二段序列所做的檢定值都呈現負值(D = -1.9054；D\* = -1.96175；F\* = -2.27687)，其中僅Tajima's D為顯著負值(p < 0.05)，另二者不呈顯著。若以地理區域來看，將中央山脈二側的族群分別檢測，西部族群的Fu & Li's D\*和F\*都呈顯著負值(D\* = -2.48941；F\* = -2.53368)，Tajima's D則不顯著；東部族群三個檢測值均不顯著(Table 3)。

現生植物的分佈，受氣候變化等歷史因素的影響，造成族群的擴張或退縮

(Hewitt 2000)。觀測植物族群在氣候變遷之下的變動情形，最好的工具是地下花粉的資料，台灣地區並沒有清楚而全面的地下花粉資料，僅有局部性和地域性的資料(Tsukada 1966, 1967; Kuo & Liew 2000; Liew *et al.* 2005)。所以要進行冰河期影響族群變動或遷徙的路徑，僅能利用分子資料來進行推測。現今植物族群的規模和遺傳基因型的分佈，其實反映了後冰河期的族群變動或是拓殖的過程。由Tajima's D test呈現顯著，顯示長尾栲族群近期曾經發生過擴張的現象。由TCS基因譜系分析顯示，所有基因型都衍生自二個主要的基因型，雖然有些位於網狀演化樹末端的基因型是經過多次變異才產生。整體而言，28個基因型呈現類似星狀(star-like)的譜系圖，顯示有recent range expansion的現象。Range expansion的效應代表冰河期結束後

Table 3. Population numbers, estimates of haplotype diversity (h), nucleotide diversity ( $\pi$ ) and test statistics of neutrality of *Castanopsis carlesii* sampled in this study.

	No. of populations	No. of haplotypes	No. of polymorphic sites	h	$\pi$	D	D*	F*
Total	30	28	26	0.761	0.00095	-1.79054*	-1.96175	-2.27687
Western Taiwan <sup>1</sup>	19	20	17	0.761	0.00087	-1.50225	-2.48941*	-2.5336*
Eastern Taiwan <sup>2</sup>	11	11	12	0.750	0.00099	-1.02965	-0.76420	-1.01878

<sup>1</sup> included populations 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 and 22.

<sup>2</sup> included populations 5, 13, 14, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 and 30.

\* P < 0.05.

Table 4. Analysis of population substructure of *Castanopsis carlesii* in Taiwan.

Diversity parameters	Total	West of CMR <sup>a</sup>	East of CMR <sup>b</sup>
$H_s$	0.123(0.0403)	0.147(0.0571)	0.082(0.0495)
$H_T$	0.444(0.0532)	0.413(0.0637)	0.496(0.0817)
$G_{ST}$	0.723(NC)	0.644(NC)	0.835(0.0574)
$V_s$	0.087(0.0307)	0.104(0.0434)	0.059(0.0382)
$V_T$	0.379(0.0797)	0.326(0.0788)	0.450(0.1382)
$N_{ST}$	0.770(0.0661)	0.681(0.0630)	0.870(0.0834)
$N_{ST}-G_{ST}$	0.047*	0.037	0.035

<sup>a</sup> included populations 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 and 22.

<sup>b</sup> included populations 5, 13, 14, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 and 30.

\* indicated significantly different from zero at the P < 0.05 level.



由避難所的殘餘族群往外擴展，在拓殖的過程中植物個體所擁有的基因型，隨族群播遷而拓展，所以根據各族群的基因型組成和分佈，應可推測拓殖的路徑和族群間的親緣關係。

#### 六、族群結構和分化

由基因型頻率計算族群歧異度和分化值，得到遺傳分化指數 $G_{ST} = 0.723$ ，另一分化指數 $N_{ST} = 0.770$  (Table 4)，二者皆顯示族群間具有高度的分化，大部分的變異存在於族群之間。 $N_{ST}$ 和 $G_{ST}$ 值的差異是否顯著，可用來檢測族群是否具有地理結構。若同一族群或區域內的基因型呈現較小的距離，表示這些基因型系衍生自同一譜系(lineage)；若共存在同一族群或區域的基因型距離高於不同族群或區域間的距離，則表示這些基因型非衍生自共同譜系，而可能是匯集自不同族群或區域。利用perturbation test檢測若 $N_{ST}$ 與 $G_{ST}$ 之間的差異若顯著( $p < 0.05$ )，即表示族群間有明顯的地理結構。本研究30個族群的 $N_{ST} - G_{ST} = 0.047$ ，經permutation test檢測後呈顯著差異( $p < 0.05$ )，表示臺灣地區的長尾桫欏族群的基因型分佈呈現明顯的地理結構，也代表台灣地區的長尾桫欏族群的基因型，匯集不同的譜系。

若將中央山脈二側族群分開來看，西側族群的 $H_S = 0.147$ 、 $H_T = 0.413$ 、 $G_{ST} = 0.644$ ，另一指數 $V_S = 0.104$ 、 $V_T = 0.326$ 、 $N_{ST} = 0.681$ ， $N_{ST}$ 與 $G_{ST}$ 間的差異並不呈顯著性。東部族群之 $H_S = 0.082$ 、 $H_T = 0.496$ 、 $G_{ST}$ 值高達0.835，另一指數 $V_S = 0.059$ 、 $V_T = 0.450$ 、 $N_{ST} = 0.870$ ， $N_{ST}$ 與 $G_{ST}$ 值的差異不呈顯著性。也就是說單就

中央山脈東西二側族群來看，各自並無明顯地理結構存在。而比較二側族群之分化值( $N_{ST}$ 與 $G_{ST}$ )，很明顯的東側族群的遺傳分化值要高於西側族群。

#### 七、冰河期避難所

冰河期避難所區域的判定或確認，最直接和有效的方法就是利用地下花粉的資料，由地下花粉的組成、數量和比例，可回推某一時期的物種組成。不過要推定避難所位置，必須要有廣泛和全面性的資料，才能真正觀察某一時期的植群狀況。

除此之外，歧異度(genetic diversity)和基因型的特有性或數量等的變化也可作為判斷依據。在後冰河期族群拓展的過程中，這些參數都被觀察到會隨遷徙而降低歧異度或豐富度(Hewitt 1999)。不過族群歧異度的高低受長期演化歷程的多種因素影響，當一個區域或族群具有高度的歧異度時，可能受到二種效應的影響：第一種可能是在氣候變遷、環境惡化時，這個區域可能是一個環境相對溫暖或長期穩定的區域，可提供大多數的生物適宜的生存空間。物種由多個方向匯集進入後，也將各種變異帶入，所以這些區域會累積更多的變異，經長期的演化又會衍生出新的變異，這種即所謂的避難所效應(refugium effect) (Tzedakis *et al.* 2002)。另一種可能性是這些歧異度高的區域，正好是位於後冰河期不同遷徙路徑的交會處。來自不同避難所的拓殖族群交會之後造成此一區域的歧異度高於來源族群，這是所謂的admixture effect，而這些高歧異度的區域稱為melting pots (Comps *et al.* 2001, Petit *et al.* 2003)。



本研究中位於中央山脈西側中、北部的族群如蓮華池、鞍馬山和福山等族群分別具較高的核苷酸歧異度( $\pi = 0.00136$ 、 $0.00084$ 、 $0.00116$ )和基因型歧異度( $h = 0.933$ 、 $0.900$ 、 $0.800$ )，有多個基因型是這個區域特有。中央山脈東側族群僅有利嘉的核苷酸歧異度( $\pi = 0.00091$ )接近於所有族群平均值，但是卻有許多獨特基因型分佈在這個區域，例如H9分佈於利嘉和新港山，H10分佈於利嘉和壽卡，H14、H15和H20分佈於瑞穗和鯉魚山。這一區域共有11個基因型，其中8個為特有基因型。由核苷酸歧異度和基因型歧異度呈現這些族群的重要性，是否冰河期的避難所就在這些族群之間呢？根據各族群基因型的分佈和歧異度，台灣北部的最高歧異度族群如福山擁有4個基因型( $h = 0.800$ )，鎮西堡有3個基因型( $h = 0.762$ )，觀霧有3個基因型( $h = 0.700$ )，這個區域三個族群共出現8個基因型，其中6個為特有或稀有基因型。H3為衍生自H1的重要基因型之一，由H3在衍生出H4、H5、H6、H7和H28等5個基因型。有趣的是這六個基因型都僅分佈於鎮西堡、梨山、梅峰和蓮華池。再看其出現頻率，H3於鎮西堡出現頻率最高，它又為其餘5個基因型的原始型，根據基因型間的親緣關係和稀有基因型的出現頻率，可推測鎮西堡應是梨山、梅峰和蓮華池三族群的來源族群(source population)，梨山、梅峰和蓮華池族群的相關基因型可能由它而來。根據基因型的分佈和數目，可推測包括鎮西堡、觀霧甚至到福山這一帶，也即是在雪山山脈北段較低海拔的區域，為長尾栲可能的避難所位置之一。這一區域作為作為避難所的推

論其實也出現於另二個溫帶樹種，香杉(Hwang *et al.* 2003)和昆欄樹(Huang *et al.* 2004)。由基因型親緣關係分析(Fig. 4)，鎮西堡、梨山、梅峰和蓮華池這四個族群擁有H3、H4、H5、H6、H7和H28等基因型，歸屬同一個支系(lineage IV)，這種關係可能隱含著後冰河期族群重新拓殖的路徑位置。

臺灣東部或南部族群僅有利嘉呈現較高的核苷酸歧異度( $\pi = 0.00091$ )，不過由基因型的分佈和數量呈現的結果，共出現5個基因型，鄰近的鹿鳴山(LM)和瑞穗(JS)各有4和2個基因型，瑞穗2個基因型都是稀有型，其中一個為特有，另一個共同出現於瑞穗和鯉魚山。新港山僅出現一個基因型(H9)，這一型是由H23經二個步驟衍生出，H23僅出現於鹿鳴山的一個單株。包括利嘉、鹿鳴山、瑞穗、鯉魚山和新港山的這一區域，共出現9個基因型，其中7個為特有。由基因型的親緣關係分析顯示，Lineage III和VII都位於這一區域內，這二個Lineage間的基因型為僅出現於中央山脈東側族群的共衍徵(synapomorphy)，分別由原始型H1和H2衍生出，並包括至少4至5次變異的基因型。由 $N_{ST}$ 和 $G_{ST}$ 的差異檢定，東部族群雖未呈現顯著差異，不過由基因型分佈來看，很明顯的這一區域的基因型是由不同lineage匯集。因此由歧異度、特有基因型和lineage分析推測，這一區域可能是另一冰河避難所，此區域和青剛櫟研究所提出的位置是重疊的(Huang *et al.* 2002)。

Grivet & Petit (2002)針對歐洲長春藤(common ivy)的研究顯示，每一族群相對於其餘族群的分化值和所處位置的緯



度相關，南歐族群的mean  $F_{ST}$ 值高於中歐和北歐，因此認為遺傳分化指數(genetic divergence or genetic differentiation)可作為判斷避難所位置的指標。Petit *et al.* (2003) 檢測避難所族群是否擁有大部分的種內變異，結果顯示位於避難所區域的族群其實是具有較高的遺傳分化值(genetic divergence)和較多的特有基因型。冰河期避難所區域或族群具有較高度的遺傳分化值的推論，在歐洲common ash (*Fraxinus excelsior*) (Heuertz *et al.* 2004) 和日本闊葉樹種(Akio *et al.* 2004)研究中獲得支持。長尾栲平均遺傳分化值(mean  $F_{ST}$ )分析顯示最高者位於梨山和新港山，其次為瑞穗、鯉魚山、梅峰和北大武 (Fig. 5)。瑞穗、鯉魚山、新港山、北大武等族群的位置和東南部避難所的區域是吻合的，而梨山和梅峰二族群的位置則比前面推論的第一個避難所的區域略為偏南，但由mean  $F_{ST}$ 推論亦可能為避難所位置。

綜合上述之結果，在台灣地區至少存在二個冰河時期的植物避難所，一為中北部山區，尤其是雪山山脈北段低海拔區域，另一為台灣東南部至東部區域 (Fig. 6)。

#### 八、臺灣中部高歧異度來自於匯集效應 (Admixture effect)

長尾栲的核苷酸歧異度分析，呈現三個歧異度較高的族群，分別為中部的蓮華池 ( $\pi = 0.00136$ )、北部福山 ( $\pi = 0.00116$ ) 和東南部的利嘉 ( $\pi = 0.00091$ )，後二者所在區域已被推測為可能的避難族群，而核苷酸歧異度最高的蓮華池族群同時也具有最高的基因型歧異度，為何呈現高度的歧異度又其原因為何？許多的研究也

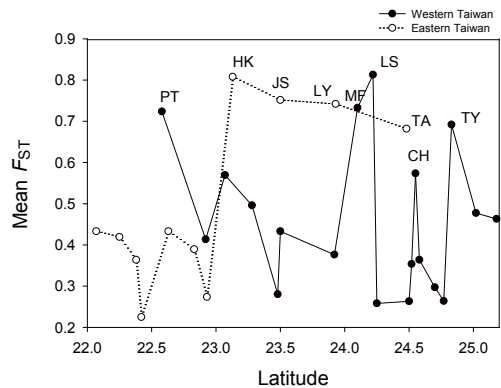


Fig. 5. Mean  $F_{ST}$  of each population along the latitudinal gradient. The black circles and open circles present the western and eastern populations, respectively.



Fig. 6. Two potential refugia of native plants in Taiwan, one locate at central to northern Taiwan, the other locate at southern to eastern Taiwan.

發現中部地區是一個歧異度中心(diversity center)，Lin (2001)綜合多種樹種的歧異度資料，如烏心石、楊梅(*Myrica rubra*)、牛樟(*Cinnaminom kanehirae*)、昆欄樹和紅



檜(*Chamaecyparis formosensis*)等，均顯示在臺灣中部地區，尤其是南投附近山區具有最高的歧異度。造成某一區域具高度歧異度的原因，可能來自於避難所效應或匯集效應，北部和東南部二族群福山和利嘉的高歧異度來自於避難所效應無疑問，中部蓮華池族群的高歧異度是來自於避難所效應嗎？蓮華池族群具有高的核苷酸歧異度( $\pi$ )和基因型歧異度( $h$ )，依Grant & Bowen (1998)解釋基因譜系的演化歷程，具有高 $\pi$ 和 $h$ 的可能原因，為具有較久遠演化歷史的穩定族群，或是由二個高度分歧的族群第二次接觸後譜系混雜所造成的現象。

由日月潭的地下花粉研究資料顯示距今約50,000至60,000年前，當地氣溫約較現今低8至11°C，低海拔山區植群是以針葉樹為主(Tsukada 1966, 1967)。鄰近的頭社盆地(750 m)地下花粉資料(Kuo & Liew, 2000, Liew *et al.* 2005)也顯示，上次冰期最冷的時期(LGM, last glacial maximum)大約距今約20,000年前，出現非常高比例的禾本科成分，木本植物則以*Quercus*為主。由花粉資料透露出某些訊息，禾本科植物的生育地大致偏愛於開闊地而且環境較為乾燥，大量禾本科花粉的出現，顯示當時的植群應以禾本科為主的草生地為主。而*Quercus*為溫帶的優勢闊葉樹，生育地亦偏向於低溫乾燥，*Quercus*花粉的出現顯示當時盆地週邊山地森林植群應是以落葉溫帶樹種為主的。由這些成分顯示當時的環境應是低溫乾旱，應不適合目前這些亞熱帶或暖溫帶闊葉樹生長。Kuo & Liew (2000)的資料也顯示*Castanopsis*花粉大量出現的時間大概在更

新世(Pleistocene)和全新世(Holocene)交替時期，大概距今約10,000年前，也即是距今最後一次冰河期結束的時期。由這些資料顯示，在最後一次冰河期間，蓮華池附近山區的環境應不適合這種亞熱帶至暖溫帶樹種生存。其基因型H25和H26為singleton，可能為近期才衍生出，其他基因型非屬特有基因型，可能為其他族群匯入。由mean  $F_{ST}$ 分析顯示蓮華池的分化值僅為0.376，遺傳分化值遠低於其他的族群，並不支持其為避難所族群。因此，蓮花池族群的高歧異度應不是來自於避難所效應，而可能是來自於最後一次冰河期結束，從不同拓殖路徑匯集之後的admixture effect。

Box 1. 核苷酸歧異度( $\pi$ , Nucleotide diversity) 和單套基因型歧異度( $h$ , Haplotype diversity)

核苷酸歧異度( $\pi$ )為兩個對偶子序列裡被觀察到的核苷酸差異的平均數。

$$\pi = n \sum x_i x_j \pi_{ij} / (n-1)$$

$n$ 為取樣的DNA序列數量， $\pi_{ij}$ 是第*i*個與第*j*個基因型間的序列差異。

單套基因型歧異度( $h$ )代表的是不同等位基因的數量及頻率

$$h = n(1 - \sum x_i^2) / (n-1)$$

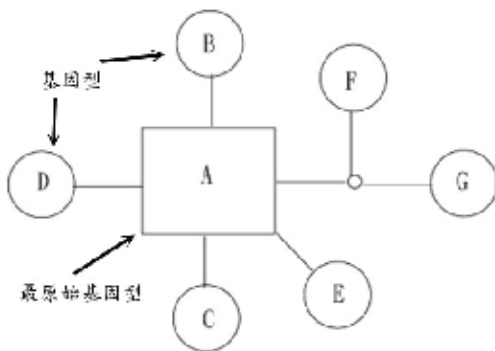
$x_i$ 是第*i*個基因型的頻率， $n$ 為取樣的個體數。二個歧異度指數皆可代表族群內的遺傳變異， $\pi$ 顯示的是族群中不同個體間序列的差異，與基因型的數量無關， $h$ 顯示族群內不同的等位基因的數量及頻率，不受其序列上的變異影響。



## Box 2. TCS 基因譜系分析

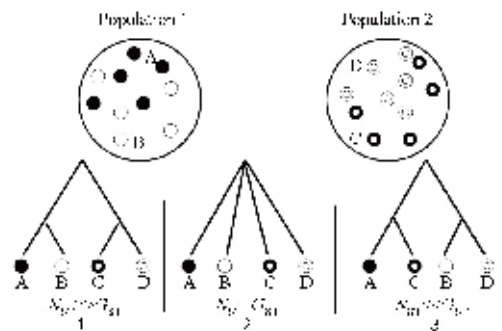
系統學或是親緣關係的研究結果，都會建構親緣關係樹呈現分類群間的關係。傳統的譜系分析方法如Parsimony、Neighbor-joining或Maximum-likelihood，均為二分叉樹狀圖，其現生族群或基因型位於演化樹分枝最末端，最原始的基因型已不存在，假設性的共同祖先位於節點位置，這些方法通常需要大量的變異才能建構正確的親緣關係樹。在族群階層的研究，往往因為變異不多，而無法建構基因型間正確的親緣關係圖。

根據Coalescent theory原理，族群內最原始的基因型為頻率最高或是最普遍的基因型。TCS即根據DNA的序列變異，分析族群中不同基因型的親緣關係。原理是利用單套型出現頻率和每一變異步驟運算，回溯基因型的共同祖先。TCS分析可呈現基因型間的親緣關係、演化步驟、基因型間的差異位點，出現機率或數量最高的基因型即最原始之基因型，基因型間之每一線段代表一次之變異。



## Box 3. 族群結構和分化

$N_{ST}$ 和 $G_{ST}$ 為二個遺傳分化值，主要的差異是 $G_{ST}$ 的計算只考慮單套型頻率，並將單套型之變化視為無序列性的(unordered) allele變化； $N_{ST}$ 除考慮單套型間的頻率之外，也同時考慮單套型間的遺傳距離，所以單套型的變異被視為有序列性的(ordered) allele變化。 $N_{ST}$ 和 $G_{ST}$ 數值的差異受幾個因素影響，包括人為取樣誤差、各族群突變率的差異或族群間具親緣地理結構。因此 $N_{ST}$ 和 $G_{ST}$ 值的差異是否顯著，可用來檢測族群是否具有地理結構。當同一族群內的基因型間的遺傳距離低於族群外其他族群，也即是同一族群內為近緣的單套型時，表示這些基因型系衍生自同一譜系(lineage)，則 $N_{ST}$ 顯著大於 $G_{ST}$ 。若共存在同一族群或區域的基因型距離高於不同族群或區域間的距離，則表示這些基因型非衍生自共同譜系，而可能是匯集自不同族群或區域，則 $N_{ST}$ 顯著小於 $G_{ST}$ ，代表族群內的基因型可能來自不同譜系。



## 參考文獻

- Aoki K., Suzuki T, Hsu TW, Murakami N. 2004. Phylogeography of the component species of broad-leaved evergreen forests in Japan, based on chloroplast DNA variation. *Journal of Plant Research* **117**: 77-94.
- Avise JC. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Bennett KD. 1990. Milanokovitch cycles and their effects on species in ecological and evolutionary time. *Paleobiology* **16**: 11-21.
- Bohle UR, Hilger H, Cerff R, Martin WF. 1994. Non-coding chloroplast DNA for plant molecular systematics at the infrageneric level. In: *Molecular ecology and evolution: Approaches and applications*. eds Schierwater B, Streit B, Wagner GP, DeSalle R. pp. 391-403.
- Brewer S, Cheddadi R, de Beaulieu JL, Reille M, Data Contributors (2002) The spread of deciduous Quercus throughout Europe since the last glacial period. *Forest Ecology and Management*, **156**, 27-48.
- Cheng YP, Chien CT, Lin TP (2000) Population genetics of geographically restricted and widespread species of Myrica (Myricaceae). *Journal of Heredity*, **91**, 61-66.
- Chung JD, Lin TP, Tan YC, Lin MY, Hwang SY (2004) Genetic diversity and biogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an island species in Taiwan: A comparison with *Cunninghamia lanceolata*, a mainland species in China. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **33**, 791-801.
- Clegg MT, Zurawski G (1992) Chloroplast DNA and the study of plant phylogeny: present status and future prospects. In: *Molecular Systematics of Plants*. eds Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ, pp.1-13. Chapman & Hall, New York.
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657-1660.
- Comps B, Gomory D, Letouzey J, Thiebaut B, Petit J (2001) Diverging trends between heterozygosity and allelic richness during postglacial colonization in the European beech. *Genetics*, **157**, 389-397.
- Comes HP, Kadereit JW (1998) The effect of quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. *Trends in Plant Science*, **3**, 432-438.
- Davis MB, Shaw RG (2001) Range Shifts and Adaptive Responses to Quaternary Climate Change. *Science*, **292**, 673-679.
- Demesure B., Comps B, Petit RJ (1996) Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. *Evolution*, **50**, 2515-2520.
- Dumolin-Lapegue S, Demesure B, Fineschi S, Lecorre V, Petit RJ (1997) Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics*, **146**, 1475-1487.
- Dumolin-Lapegue S, Demesure B, Petit RJ (1995) Inheritance of chloroplast and mitochondrial genome in pendunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theoretical and Applied Genetic*, **91**, 1253-1256.
- Ferris C, King RA, Vainola R, Hewitt GM (1998) Chloroplast DNA recognizes three refugial sources of European oaks and suggests independent eastern and western immigrations to Finland. *Heredity*, **80**, 584-593.



- Ferris C, Oliver RP, Davy AJ, Hewitt GM (1993) Native oak chloroplasts reveal an ancient divide across Europe. *Molecular Ecology*, **2**, 337-344.
- 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.
- Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, **133**, 693-709.
- Fujii N, Tomaru N, Okuyama K, Koike T, Mikami T, Ueda K (2002) Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus crenata* (Fagaceae) in Japan. *Plant Systematics and Evolution*, **232**, 21-23.
- Grant WAS, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, **89**, 415-426.
- Graur D, Li WH (2000) *Fundamentals of Molecular Evolution*, 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Grivet D, Petit RJ (2002) Phylogeography of the common ivy (*Hedera* sp.) in Europe: genetic differentiation through space and time. *Molecular Ecology*, **11**, 1351-1362.
- Heuertz M, Hausman JF, Hardy OJ, Vendramin GG, Frascaria-Lacoste N, Vekemans X (2004) Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southern European populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Evolution*, **58**, 976-988.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **58**, 247-276.
- Hewitt GM. 1999. Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society* **68**: 87-112.
- Hewitt GM (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **359**, 183-195.
- Hsieh CF, Shen CF, Yang KC (1994) Introduction to the flora of Taiwan 3. Floristics, phytogeography, and vegetation. In: *Flora of Taiwan. Volume one* (ed. Editorial Committee of Flora of Taiwan), 2nd ed., pp. 7-18. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, Taiwan.
- Huang SSF, Hwang SY, Lin TP (2002) Spatial pattern of chloroplast DNA variation of *Cyclobalanopsis glauca* in Taiwan and East Asia. *Molecular Ecology*, **11**, 2349-2358.
- Huang SF, Hwang SY, Wang JC, Lin TP (2004) Phylogeography of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) in Taiwan and its adjacent areas. *Journal of Biogeography*, **31**, 1291-1239.
- Hudson RR (1990) Gene genealogies and the coalescent process. In Futuyma DJ, Antonovics J (eds.), *Oxford Surv. Evolution Biology*, **7**, 1-44. Oxford University Press, New York.
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP (1992) Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, **132**, 583-589.
- Huntley B, Birks HJB (1983) *An Atlas of Past and Present Pollen Maps for Europe, 0-13000 Years Ago*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Hwang SY, Lin TP, Ma CS, Lin CL, Chung JD,



- Yang JC (2003) Postglacial population growth of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae) inferred from phylogeographical and mismatch analysis of chloroplast DNA variation. *Molecular Ecology*, **12**, 2689-2695.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **10**, 111-120.
- Kimura M (1983) Rare variant alleles in the light of the neutral theory. *Molecular Biology and Evolution*, **1**, 84-93
- Kumar S, Tamura K, Nei M (2004) MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, **5**, 150-163.
- Kuo CM, Liew PM (2000) Vegetational history and climatic fluctuations based on pollen analysis of the Toushe peat bog, central Taiwan since the Last Glacial Maximum. *Journal of the Geological Society of China*, **43**, 379-392.
- Li WH (1997) *Molecular Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Liew PM, Huang SY, Kuo CM (2005) Pollen stratigraphy, vegetation and environment of the last glacial and Holocene—a record from Toushe basin, central Taiwan. *Quaternary International*, **147**, 16-33.
- Lin TP (2001) Allozyme variations in *Michelia formosana* (Kanehira) Masamune (Magnoliaceae), and the inference of glacial refugium in Taiwan. *Theoretical and Applied Genetic*, **102**, 450-457.
- Lumaret R, Mir C, Michaud H, Raynal V (2003) Phylogeographical variation of chloroplast DNA in holm oak (*Quercus ilex* L.). *Molecular Ecology*, **11**, 2327-2336.
- Ma CS (2002) Microevolution and phylogeography of *Cyclobalanopsis glauca* in Taiwan and East Asia. *Molecular Ecology*, **11**, 2349-2358.



## Research paper

## Allozyme Variations of a Widespread Tree Fern, *Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon (Cyatheaceae), in Taiwan

Yu-Pin Cheng,<sup>1)</sup> Shih-Hui Liu,<sup>2)</sup> Yao-Moan Huang,<sup>1)</sup>  
Chien-Wen Chen,<sup>1)</sup> Wen-Liang Chiou<sup>1,3)</sup>

## 【 Summary 】

Allozymes were used to detect the genetic diversity of *Alsophila spinulosa*, a widespread tree fern in Taiwan. Allozyme polymorphisms of 6 enzyme systems, including 9 loci and 12 alleles, were used to estimate the genetic diversity of *A. spinulosa* from 9 sites throughout Taiwan. The mean number of allele per locus (A) was 1.34, the percentage of polymorphic loci (P) was 34.5%, the observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.145, and the expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.141. The genetic diversity of *A. spinulosa* in Taiwan was higher than mean values of other diploid ferns and tree ferns. The large population size and an intergametophytic outcrossing mating system were thought to be important factors in *A. spinulosa* maintaining a higher level of genetic diversity. Inbreeding has also sometimes occurred, and this might have assisted the successful colonization by a single long-distance dispersal spore. At the population level, the Nanjenshan population (NJ), located in southern Taiwan, showed the highest expected heterozygosity ( $H_e$ ). Additionally, lower levels of genetic differentiation among populations were detected and are thought to be a result of high gene flow due to spores.

**Key words:** allozyme variations, *Alsophila spinulosa*, Cyatheaceae, Taiwan.

**Cheng YP, Liu SH, Huang YM, Chen CW, Chiou WL. 2008.** Allozyme variations of a widespread tree fern, *Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon (Cyatheaceae), in Taiwan. Taiwan J For Sci 23(1):21-34.

## 研究報告

## 台灣廣泛分佈之樹蕨類植物台灣杪羅的同功酶遺傳變異

鄭育斌<sup>1)</sup> 劉世慧<sup>2)</sup> 黃曜謀<sup>1)</sup> 陳建文<sup>1)</sup> 邱文良<sup>1,3)</sup>

## 摘要

<sup>1)</sup> Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan. 林業試驗所森林生物組, 10066台北市南海路53號。

<sup>2)</sup> Department of Life Science, National Taiwan Normal University, 88 Ting-Chow Rd., Sec. 4, Taipei 11677, Taiwan. 國立台灣師範大學生命科學系, 11677台北市文山區汀州路四段88號。

<sup>3)</sup> Corresponding author, e-mail: chiou@tfri.gov.tw 通訊作者。

Received May 2007, Accepted July 2007. 2007年5月送審 2007年7月通過。



本研究利用同功酵素研究廣泛分佈於台灣的樹蕨類植物台灣桫欏(*Alsophila spinulosa*)的遺傳變異。測試6個酵素系統中，共獲得9個基因座(loci)和12個對偶基因(alleles)。分析各族群的遺傳歧異度，對偶基因平均數(A)為1.34，多型性基因座比率(P)為34.5%，異質結合度觀察值( $H_o$ )為0.145，異質結合度期望值( $H_e$ )為0.141。和其他蕨類或樹蕨類的遺傳歧異度平均值比較，台灣桫欏具有較高的遺傳歧異度。大的族群規模和配子體間的異交配育系統是造成台灣桫欏維持遺傳歧異度的重要原因。除此之外，部份的自交配育行為可能有助於單一孢子長距離傳播後的族群建立。以族群而言，南台灣的南仁山族群具有最高的異質結合度。經由孢子傳播進行的基因交流和廣泛分佈的特性，是台灣桫欏能維持族群間遺傳低度分化的重要因素。

關鍵詞：同功酶變異、台灣桫欏、桫欏科、台灣。

鄭育斌、劉世慧、黃曜謀、陳建文、邱文良。2008。台灣廣泛分佈之樹蕨類植物台灣桫欏的同功酶遺傳變異。台灣林業科學23(1):21-34。

## INTRODUCTION

Genetic variation in a species indicates its evolutionary potential and the ability to adapt to various environments (Hamrick et al. 1992). Many factors have been considered to influence levels of genetic variation in plant species, including mating systems, gene flow, selection pressures, mutations, genetic drift, life history, and historical events such as glaciation (Loveless and Hamrick 1984, Hewitt 1996, Tomaru et al. 1997). These factors also influence genetic differentiations among populations and reflect levels of gene flow. For example, species with a continuous geographic distribution or seed dispersal by wind might be considered to have a higher efficiency of gene flow and to show lower levels of genetic differentiation (Hamrick et al. 1992). Numerous studies on the genetic diversity of seed plants have been published (Tomaru et al. 1997, Lin et al. 1998, Hiramatsu et al. 2001, Wu et al. 2001, Cheng et al. 2006); however, studies about ferns are relatively rare. In comparison with seed plants, ferns and their allies have different reproductive traits. Two independent generation phases, gametophytes and sporophytes, are present in their life cycles. They also differ in the mechanisms of gene flow, which is pri-

marily conducted by sexual reproduction by gametophyte and spore dispersal, including homosporous and heterosporous.

The breeding system is one of the major factors affecting levels of genetic variability both within and among populations (Loveless and Hamrick 1984, Hamrick and Godt 1989, Hamrick et al. 1992). Predominantly outcrossing species tend to have greater genetic diversity within populations and less genetic differentiation among populations than do predominant inbreeders (Hamrick et al. 1992). The breeding systems of ferns, including outcrossing and inbreeding, are primarily determined by independent gametophyte generation. There are 3 major types of mating systems in ferns and fern allies: intragametophytic selfing, intergametophytic selfing, and intergametophytic crossing (Klekowski 1969, 1979). The biology of fern gametophytes provides the opportunity for 2 forms of inbreeding. Intergametophytic selfing is similar to selfing in seed plants and occurs when 2 gametophytes are derived from the same sporophyte. Another type, intragametophytic selfing, is a more-extreme form of selfing which occurs when a single bisexual gametophyte produces a completely homozygous sporo-



phyte. The latter mechanism allows a single dispersed spore to be an effective colonizer which can found a new population after long-distance dispersal. Intergametophytic outcrossing occurs when 2 gametophytes originating from spores of different sporophytes at the same site are sexual mature at the same time, and sperm must travel from 1 to the other gametophyte to unite with the egg.

*Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon, of the Cyatheaaceae, is a diploid tree fern ( $n = 69$ , Tsai and Shieh 1983, 1984;  $2n = 138$ , Wang et al. 1997) with a single, erect trunk. From fossil records, it is known that it was distributed worldwide during the Jurassic period (Fu 1991). Extant populations of *A. spinulosa* are mainly restricted to tropical and subtropical regions, including India, China, Japan, and Taiwan (Shieh 1994). This species is a homosporous tree fern, adapted to warm, humid, and shady habitats of lowland forests, and is widespread throughout Taiwan. Homosporous fern gametophytes may have the potential for self-fertilization because of their hermaphroditism. Several studies had proposed that intragametophytic selfing is the primary mode of reproduction for homosporous ferns (Klekowski 1979, Soltis and Soltis 1990a). However, Chiou et al. (2003) studied the mating systems of Cyathaceae native to Taiwan and found that *A. spinulosa* primarily produced sporophytes by intergametophytic outcrossing. Intergametophytic outcrossing might provide more opportunities to gain genetic material from other gametophytes, which would influence the genetic diversity and structure.

Allozyme analysis is a powerful tool for investigating levels of genetic variation within populations and the distribution of variations within and among populations (Loveless 1992, Lin et al. 2000, Cheng et al. 2006). Allozyme markers can also be used to estimate

the actual incidence of inbreeding or outcrossing in natural populations (Korpelainen and Kolkkala 1996) and the evolutionary history of a species (Doyle et al. 2003, Crawford et al. 2006). In addition, allozyme data can be used to estimate levels of interpopulational gene flow (Ledig et al. 2006), which can also directly affect population diversity and genetic structure (Wright 1951).

In this study, allozyme loci were used to evaluate the genetic diversity of *A. spinulosa* in Taiwan. The objectives of this study were (1) to estimate the amount and distribution of genetic diversity within and among populations, (2) to compare our results with previous studies of other ferns, and (3) to estimate gene flow among populations. Additionally, factors influencing genetic diversity and structure are also discussed.

## MATERIALS AND METHODS

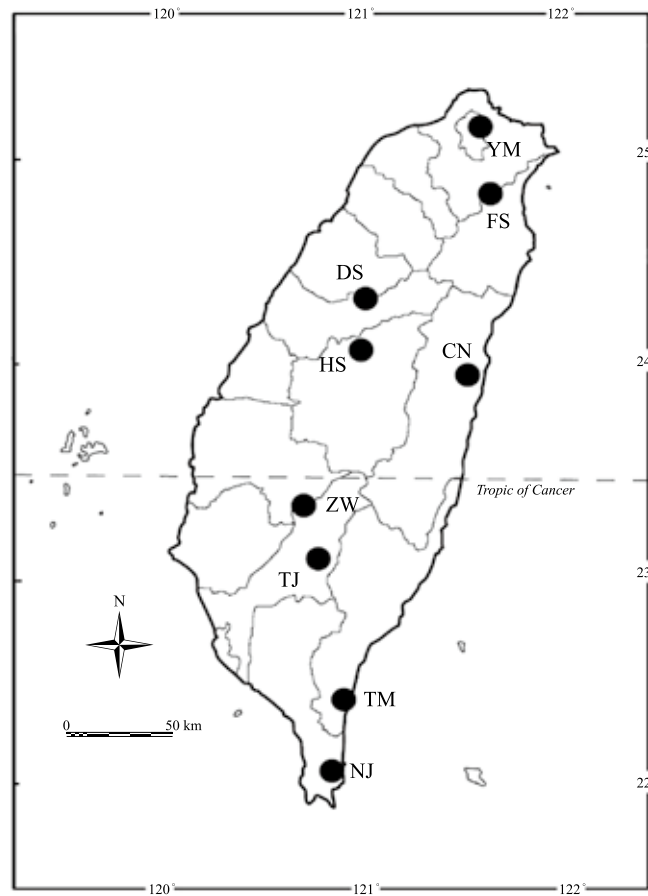
### Sampling

In this study, we collected samples of *A. spinulosa* from 9 natural populations in Taiwan; Chihnan (CN), Dasyueshan (DS), Fushan (FS), Hueisun (HS), Nanjenshan (NJ), Taimali (TM), Tengjhih (TJ), Yangmingshan (YM), and Zengwun (ZW) (Fig. 1). In total, 237 individuals were sampled, and the fresh fronds of 21~32 individuals of each population were collected from the field.

### Enzyme electrophoresis

Fresh samples were ground up with liquid nitrogen and extracted with buffer according to the protocols of Feret (1971). The extracted enzymes were absorbed onto Whatman 3MM filters ( $4 \times 12$  mm), stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until needed for analysis. Allozyme variation was studied by means of horizontal starch gel electrophoresis using 12% starch gels. The following 6 enzyme systems were examined:





**Fig. 1.** Map of Taiwan and sampling sites of *Alsophila spinulosa* in this study. CN, Chihnan; DS, Dasyueshan; FS, Fushan; HS, Hueisun; NJ, Nanjenshan; TM, Taimali; TJ, Tengjih; YM, Yangmingshan; ZW, Zengwun.

EST (esterase, E.C.3.1.1.1), IDH (isocitrate dehydrogenase, E.C.1.1.1.42.), MDH (malate dehydrogenase, E.C.1.1.1.37.), MR (meandione reductase, E.C.1.6.5.2.), 6PGD (6-phosphogluconate dehydrogenase, E.C.1.1.1.44.), and SkDH (shikimic acid dehydrogenase, E.C.1.1.1.25.). Electrophoresis and staining protocols followed the procedures described by Cheliak and Pitel (1984).

#### Data analysis

Allelic frequencies in each population of *A. spinulosa* were calculated from the loci ex-

amined in this study. The following estimated genetic parameters were used to quantify the level of genetic diversity within populations using the BIOSYS-1 program (Swofford and Selander 1981): the mean number of alleles per locus ( $A$ ), the effective number of alleles per locus ( $A_e$ ) (Crow and Kimura 1970), the proportion of polymorphic loci ( $P$ ), the average observed heterozygosity ( $H_o$ ), and the average expected heterozygosity or genetic diversity ( $H_e = 1 - \sum p_i^2$ , where  $p_i$  is the frequency of the  $i$ th allele at a locus) (Nei 1975).

Wright's (1969)  $F$ -statistics ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,



and  $F_{ST}$ ) were used to quantify the degree of differentiation among populations and to describe the genetic structure of this species. Values of  $F_{IS}$  and  $F_{IT}$  indicate the level of deviations from Hardy-Weinberg (H-W) expectations at the population and species levels, respectively. An  $F_{IS}$  value equal to or nearly zero indicates that the mating system is random; on the other hand, a significant negative value indicates an excess of heterozygotes, while a significant positive value indicates an excess of homozygotes. The Chi-squared test was used to evaluate whether  $F_{IS}$  and  $F_{IT}$  values for each locus significantly differed from 0 (Li and Horvitz 1953). Values of  $F_{ST}$  indicate genetic variations among populations or the levels of genetic differentiation among populations. Fixation indices ( $F$ ), reflecting deviations from H-W equilibrium of each population, were calculated by the formula  $F = (1 - H_o / H_e)$ , and the outcrossing rate ( $t$ ) was estimated using  $t = (1 - F) / (1 + F)$  (Weir 1990). We also estimated the level of gene flow among populations using Wright's (1951) formula,  $Nm = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$ .

Nei's (1978) unbiased genetic identity ( $I$ ) and genetic distance ( $D$ ) were calculated for all pairs of populations. A cluster analysis based on Nei's genetic distance (Nei 1978) via the unweighted pairwise group method (UPGMA) was used to present relationships among populations. A Mantel test (Mantel 1967) with 1000 random permutations was performed between the matrix of genetic differentiation and geographic distance to test whether isolation by distance was significant. Pairwise genetic differentiation between populations was expressed as  $F_{ST} / (1 - F_{ST})$  (Rousset 1997).

## RESULTS

### Genetic diversity of *A. spinulosa*

The 6 enzyme systems resolved were interpreted as being encoded by 9 putative loci: *EST-2*, *MR-2*, *SkDH-1*, *IDH-1*, *IDH-2*, *MDH-1*, *MDH-3*, *MDH-4*, and *6PGD-1*. Among these 9 loci, *EST-2*, *MR-2*, *6PGD-1*, and *SkDH-1* were polymorphic for at least 1 of the population examined, while the others were monomorphic (Table 1). No significant correlations were found between allelic frequencies in relation to longitudinal or latitudinal gradients (data not shown). Only 1 rare allele, 6PGD-1b, was recorded in the southernmost population, Nanjenshan (NJ).

Measures of genetic diversity are presented in Table 2. The mean number of alleles per locus ( $A$ ) was 1.34 (1.33~1.44); the effective number of alleles per locus ( $A_e$ ) was 1.17, the average percentage of polymorphic loci ( $P$ ) was 34.5% with a range, from 33.3~44.4%; the observed heterozygosity ( $H_o$ ) for each population varied from 0.122 to 0.199, with an average of 0.145; and the expected heterozygosity ( $H_e$ ) varied from 0.120 to 0.172, with an average of 0.141.

At the population level, the southernmost population, Nanjenshan (NJ), exhibited the highest genetic diversity and maintained the highest values of  $A$ ,  $P$ , and  $H_e$ , followed by the population at Tengjih (TJ), southern Taiwan, and Yangmingshan (YM), northern Taiwan. Zengwun (ZW), a southwestern population, exhibited the lowest value of diversity.

### Genetic structure and differentiation

Results of the genetic structure analyses of *A. spinulosa* carried out with Wright's  $F$ -statistics are given in Table 3. The mean  $F_{IS}$  value, representing the average deviation from H-W expectations within populations, for all polymorphic loci was 0.0161, and it showed no significant deviation from 0. That indicates that allelic frequencies within populations are close to random mating. Only 2 loci, *EST-2*



**Table 1. Allelic frequencies of polymorphic loci in 9 populations of *Alsophila spinulosa* in Taiwan**

Locus/Allele	Population								
	CN	DS	FS	HS	NJ	TM	TJ	YM	ZW
<i>EST-2</i>									
a	0.315	0.143	0.203	0.103	0.364	0.339	0.310	0.238	0.037
b	0.685	0.857	0.797	0.897	0.636	0.661	0.690	0.762	0.963
<i>MR-2</i>									
a	0.796	0.589	0.500	0.655	0.500	0.516	0.362	0.548	0.556
b	0.204	0.411	0.500	0.345	0.500	0.484	0.638	0.452	0.444
<i>6PGD-1</i>									
a	1.000	1.000	1.000	1.000	0.978	1.000	1.000	1.000	1.000
b	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>SkDH-1</i>									
a	0.370	0.304	0.281	0.328	0.455	0.210	0.414	0.405	0.444
b	0.630	0.696	0.719	0.672	0.545	0.790	0.586	0.595	0.556

CN, Chihnan; DS, Dasyueshan; FS, Fushan; HS, Hueisun; NJ, Nanjenshan; TM, Taimali; TJ, Tengjih; YM, Yangmingshan; ZW, Zengwun.

**Table 2. Genetic diversity for each studied population of *Alsophila spinulosa* using allozyme analysis**

Population (Code)	Elevation (m)	Longitude (E°)	Latitude (N°)	N	A	A <sub>e</sub>	P <sup>1)</sup>	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F	t
1. Chihnan (CN)	400	121.50	23.92	27	1.33	1.16	33.3	0.123	0.138	0.109	0.803
2. Dasyueshan (DS)	1100	120.80	24.20	28	1.33	1.15	33.3	0.127	0.130	0.023	0.955
3. Fushan (FS)	700	121.58	24.75	32	1.33	1.16	33.3	0.170	0.139	-0.223	1.574
4. Hueisun (HS)	1000	121.00	24.08	29	1.33	1.14	33.3	0.199	0.122	-0.631	4.420
5. Nanjenshan (NJ)	300	120.83	22.08	23	1.44	1.21	44.4	0.130	0.172	0.241	0.612
6. Taimali (TM)	600	120.97	22.60	31	1.33	1.17	33.3	0.122	0.144	0.153	0.735
7. Tengjih (TJ)	900	121.75	23.08	29	1.33	1.18	33.3	0.134	0.155	0.135	0.762
8. Yangmingshan (YM)	700	121.50	25.17	21	1.33	1.18	33.3	0.169	0.153	-0.104	1.232
9. Zengwun (ZW)	500	121.58	23.25	27	1.33	1.14	33.3	0.132	0.120	-0.100	1.222
Mean				26.1	1.34	1.17	34.5	0.145	0.141	-0.028	1.057

<sup>1)</sup> A locus was considered polymorphic if more than 2 alleles were detected. N, number of individuals sampled; A, mean number of alleles per locus; A<sub>e</sub>, effective number of alleles; P, percentage of polymorphic loci; H<sub>o</sub>, observed heterozygosity; H<sub>e</sub>, expected heterozygosity; F, fixation index,  $F = (1 - H_o/H_e)$ ; t, outcrossing rate.

and *SkDH-1*, were found by the Chi-squared test to show significant deviations from H-W expectations. The mean  $F_{IT}$  value (0.0720) also showed no significant deviation at the species level. The  $F_{ST}$  value indicates the level

of genetic differentiation or variation among populations. In this study, the  $F_{ST}$  value of each polymorphic locus ranged from 0.0197 to 0.0865, with an average of 0.0568; thus < 6% of the genetic variation was explained



**Table 3. Contingency Chi-squared tests (with degrees of freedom, df) and estimates of Wright's (1951)  $F$ -statistics and gene flow for the polymorphic loci in *Alsophila spinulosa***

Locus	$\chi^2$	df	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	Nm
<i>EST-2</i>	127.334 <sup>1)</sup>	1	0.7180	0.7424	0.0865	2.64
<i>MR-2</i>	2.257	1	0.0956	0.1505	0.0608	3.86
<i>6PGD-1</i>	0.122	1	-0.0222	-0.0120	0.0197	12.44
<i>SkDH-1</i>	85.980 <sup>1)</sup>	1	-0.5900	-0.5437	0.0292	8.31
Mean	6.402		0.0161	0.0720	0.0568	4.15

<sup>1)</sup> Chi-squared values are significant at  $p < 0.001$ .  $F_{IS}$ , level of deviation from Hardy-Weinberg (H-W) expectations at the population level;  $F_{IT}$ , level of deviation from Hardy-Weinberg (H-W) expectations at the species level;  $F_{ST}$ , genetic differentiation among populations; Nm, level of gene flow among populations.

by differences among populations, which indicates a low level of genetic differentiation among populations (Wright 1978). Gene flow (Nm) (Wright 1951) estimated for each polymorphic locus ranged from 2.64 to 12.44 (average, 4.15), which indicated that high gene flow had occurred among *A. spinulosa* populations.

Mean fixation indices ( $F$ ) for each population of *A. spinulosa* ranged from -0.631 to 0.241, with an average of -0.028 (Table 2). Four populations, FS, HS, YM, and ZW, exhibited negative values, indicating an excess of heterozygotes. The outcrossing rate ( $t$ ) based on the fixation indices ranged from 0.612 to 4.420 (Table 2).

#### Genetic relationship among populations and test of isolation by distance

The unbiased genetic identity ( $I$ ) and standard genetic distance ( $D$ ) between populations (Nei 1978) are summarized in Table 4. The  $D$  values between populations ranged from 0.0003 to 0.0282 with a mean of 0.009. From the matrix of genetic distance, Fushan (FS) and Dashushan (DS) had the lowest genetic distance (0.0003). The highest genetic distance was between Hueisun (HS) and Nanjenshan (NJ) (0.0282). According to the theory of isolation by distance (Wright 1946), the genetic distance or genetic differentiation might be positively correlated with geographic distance. In this study, we used a

**Table 4. Genetic distance ( $D$ ) (below the diagonal) and genetic identity ( $I$ ) (above the diagonal) for populations of *Alsophila spinulosa***

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Chihnan	****	0.9916	0.9874	0.9929	0.9754	0.9879	0.9768	0.9929	0.9835
2. Dasyueshan	0.0085	****	0.9997	0.9996	0.9782	0.9946	0.9897	0.9991	0.9972
3. Fushan	0.0127	0.0003	****	0.9966	0.9853	0.9982	0.9952	0.9993	0.9940
4. Hueisun	0.0071	0.0004	0.0034	****	0.9718	0.9900	0.9840	0.9972	0.9977
5. Nanjenshan	0.0249	0.0221	0.0148	0.0282	****	0.9877	0.9975	0.9906	0.9732
6. Taimali	0.0122	0.0054	0.0018	0.0100	0.0124	****	0.9928	0.9953	0.9825
7. Tengjih	0.0235	0.0104	0.0048	0.0161	0.0025	0.0072	****	0.9966	0.9871
8. Yangmingshan	0.0071	0.0009	0.0007	0.0028	0.0095	0.0047	0.0034	****	0.9964
9. Zengwun	0.0166	0.0028	0.0060	0.0023	0.0272	0.0176	0.0130	0.0036	****



Mantel test to detect for a correlation between geographic distance and genetic differentiation measured as  $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ . The result showed no significant correlation between these 2 matrices ( $r = 0.047102$ ;  $p = 0.384615$  with 1000 permutations), indicating that the genetic distance of each population pair had no correlation with its geographic distance.

The UPGMA dendrogram (Fig. 2) of 9 populations, produced using the pairwise genetic distances, roughly generated 2 major groups: 1 including NJ and TJ, located in southern Taiwan, and the other including YM, FS, HS, DS, CN, ZW, and TM located mostly in central and northern Taiwan.

## DISCUSSION

### Comparison of genetic diversities between *A. spinulosa* and other ferns

*Alsophila spinulosa* is a widespread and common tree fern in Taiwan. However, due

to its rare and restricted populations in China, it is regarded as being in a National Protection Category on the Red List (Fu 1991). Sequence data of chloroplast DNA have been used to discuss genetic structure and phylogeographical patterns of *A. spinulosa* in China. Higher levels of haplotype and nucleotide diversities were detected and it was speculated that these were probably associated with a long evolutionary history (Su et al. 2004). However, a very low level of intraspecific genetic diversity was detected in China, as inferred from RAPD markers, which may have been due to both a bottleneck effect and founder effect associated with glacial events (Wang et al. 2004). In this study, the genetic diversity of *A. spinulosa* in Taiwan as estimated by the allozyme data was higher than values reported for other diploid ferns (Maki and Asada 1998) (Table 5). It was also higher than the average of other tree ferns examined by Soltis et al. (1991) and another tree fern

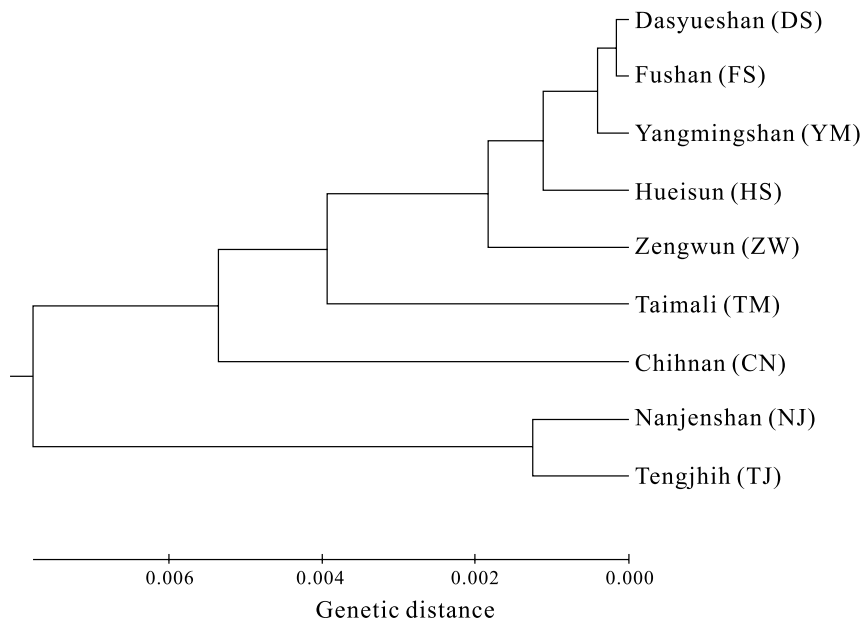


Fig. 2. Dendrogram of the cluster analysis for 9 populations of *Alsophila spinulosa* constructed using the UPGMA method based on Nei's (1978) genetic distance.



**Table 5. Comparisons of genetic diversity in *Alsophila spinulosa*, other fern species, and tree species in Taiwan based on allozyme analysis**

Species	A <sup>1)</sup>	P <sup>2)</sup>	H <sub>e</sub> <sup>3)</sup>	Reference
<i>Alsophila spinulosa</i>	1.3	32.1	0.141	This study
<i>Alsophila firma</i>	1.24	20.0	0.078	Soltis et al. 1991
<i>Cyathea stipularis</i>	1.2	17.5	0.037	Soltis et al. 1991
<i>Lophosoria quadripinnata</i>	1.2	19.0	0.047	Soltis et al. 1991
<i>Sphaeropteris lepifera</i>	1.1	12.5	0.057	Chen 1995
<i>Polystichum otomasui</i>	1.93	61.9	0.177	Maki and Asada 1998
Diploid homosporous ferns	1.52	31.5	0.110	Maki and Asada 1998
<i>Cinnamomum kanehirae</i>	2.0	58.0	0.214	Lin et al. 1997
<i>Myrica rubra</i>	1.9	63.6	0.191	Cheng et al. 2000
<i>Alnus formosana</i>	1.8	59.1	0.175	Sue et al. 2000
<i>Michelia formosana</i>	2.0	75.6	0.241	Lin 2001
<i>Castanopsis carlesii</i>	2.5	69.0	0.270	Cheng et al. 2006
Widespread seed plants	1.72	43.0	0.159	Hamrick and Godt 1989

<sup>1)</sup> Mean number of alleles per locus.

<sup>2)</sup> Percentage of polymorphic loci.

<sup>3)</sup> Mean expected heterozygosity.

species with similar ecological characteristics, *Sphaeropteris lepifera*, in Taiwan (Chen 1995). When compared with other local tree species, the genetic variation of *A. spinulosa* was lower than some widespread tree species previously reported, such as *Alnus formosana* (Sue et al. 2000), *Castanopsis carlesii* (Cheng et al. 2006), *Cinnamomum kanehirae* (Lin et al. 1997), *Michelia formosana* (Lin 2001), and *Myrica rubra* (Cheng et al. 2000) (Table 5).

#### Factors influencing genetic variation

In a review by Hamrick et al. (1992), the range of distribution, breeding system, and life history were considered to be important factors influencing the level of genetic diversity and genetic differentiation of plant species. As in seed plants, geographically widespread species always have higher levels of genetic variation than their restricted congeners (Sherman-Broyles et al. 1992, Purdy and Bayer 1996). The large population size

at the species level of *A. spinulosa* in Taiwan might provide a good opportunity to maintain higher genetic variation than seen for other tree fern species. Although no other congeneric species were studied, we think that *A. spinulosa* may have a higher level of genetic diversity than other species with restricted or isolated distributions in Taiwan.

The breeding system of a species is thought to be a major determinant of patterns of genetic variation in plants (Hamrick and Godt 1989). The outcrossing mating system is thought to predominate in terrestrial ferns (Soltis and Soltis 1987, 1990a, b). Although most diploid homosporous fern species exhibit high outcrossing (Soltis and Soltis 1992), a gametophyte of a homosporous fern may have the potential for self-fertilization because of hermaphroditism, an important mechanism to construct a population from a single spore after long-distance dispersal (Baker 1955, Klekowski 1979). Reported as an outcrossing fern species, *A. spinulosa* produces



sporophytes primarily by intergametophytic mating, especially intergametophytic crossing (Chiou et al. 2003). The reasons that *A. spinulosa* maintains relatively higher genetic diversity than other ferns might be closely related to its mating system. The outcrossing habit of *A. spinulosa* may play a key role in the maintenance of its genetic diversity.

#### Genetic structure and population differentiation of *A. spinulosa*

The fixation index can be used to infer the relationship of a mating system in a population. From Wright's  $F$ -statistics, the estimated mean value of  $F_{IS}$  for the 9 populations showed no deviations from H-W equilibrium. The values of both  $F_{IS}$  and  $F_{IT}$  values being close to 0 indicates a random mating system. However, their slightly positive values indicate existing homozygosity, which originated from inbreeding within the population and at the species level. This phenomenon might be partially due to restricted dispersal of spores that fell near the mother tree and increased the opportunity for mating between congeners.

Inbreeding events were also indicated from the outcrossing rate ( $t$ ). The  $t$  values of the populations sampled suggested that *A. spinulosa* is not a completely outcrossing species, but may permit some degree of inbreeding. If inbreeding is indeed significant, the observed heterozygosity should be lower than the expected heterozygosity, such as for the CN, DS, NJ, TM, and TJ populations. Homosporous ferns potentially have bisexual gametophytes that have been suggested to promote inbreeding in natural populations (Klekowski 1969, Haufler and Ranker 1985). Soltis and Soltis (1987) also discussed a variety of mating systems from inbreeding through mixed crossing to outcrossing for some homosporous ferns. The possibility of inbreeding in *A.*

*spinulosa*, suggested by the values of the fixation indices and outcrossing rate conducted in this study, imparts an advantage of being a colonizer able to occupy distant habitats.

Genetic differentiation among populations is primarily a function of gene flow among populations via pollen and seed dispersal in seed plants (Loveless and Hamrick 1984). However, in ferns, gene flow is principally carried out by spore dispersal (Tryon 1986). In general, widespread species should have higher levels of gene flow than species with restricted or isolated populations. In homosporous ferns, the ability for spore dispersal is believed to be higher than the dispersal capability of most seed plants because of their aerodynamic properties (Tryon 1970, Soltis and Soltis 1990b). The low level of genetic differentiation among populations of *A. spinulosa* indicates extensive gene flow among them. The intergametophytic crossing system of *A. spinulosa* might provide many opportunities to increase the gene flow or gene exchange among individuals. Additionally, *A. spinulosa* produces light wind-dispersed spores. The taller trunk may also enhance the capability and opportunity for long-distance dispersal of spores by wind. Thus gene flow via spore dispersal is easy and frequent, which may reduce the genetic differentiation among populations. In conclusion, the higher level of gene flow in *A. spinulosa* is consistent with high spore production, high dispersability, and long spore viability in homosporous ferns (Tryon and Gastony 1975, Tryon 1986). On the other hand, an inbreeding capability enhances the possibility of successful production of a sporophyte from a single long-distance dispersal spore acting as a colonizer to establish a new population.

#### Correlations among populations

From the UPGMA of 9 populations (Fig.



2), 2 major groups were resolved. The isolation-by-distance analysis showed no significant pattern, suggesting that the distribution of genetic variation might not be explained by the geographic distances separating the populations. The genetic relationships among populations might be determined by gene flow among populations (Martinsen et al. 2001), selection pressures (Hamrick 1982), or historical events (Ge et al. 2005, Gonzalez-Astorga et al. 2005). No significant isolation by distance was also reported from an allozyme analysis of a widespread tree species, *Castanopsis carlesii*, in Taiwan (Cheng et al. 2006). The intermixing of different nuclear loci was thought to be a possible factor causing the erosion of the spatial genetic structure that led to no significance of the isolation-by-distance test for *C. carlesii*. That might also be a key factor for *A. spinulosa*. In addition, historical events have also been considered to be important factors affecting the regional geographic structure (Ge et al. 2005, Gonzalez-Astorga et al. 2005). No significant isolation by distance might also be influenced by postglacial recolonization. The colonization routes of *A. spinulosa* in Taiwan might have occurred in more than 1 direction from different glacial refugia. The multidirectional colonization effect would have promoted intermixing among populations of *A. spinulosa*. However, it is difficult to examine the effects of historical events on the distribution of *A. spinulosa* because the allozyme data cannot provide sufficient detail to reveal the migration history of this species. DNA markers, on the other hand, like chloroplast and mitochondrial DNA, are good at revealing the evolutionary history of plant species.

## LITERATURE CITED

- Baker HG. 1955.** Self-compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal. *Evolution* 9:347-9.
- Cheliak WM, Pitel JA. 1984.** Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Canadian Forestry Service Information Report PI-X-42. Ontario, Canada: Petawawa National Forestry Institute. p 19-45.
- Chen ML. 1995.** The study of genetic structure of *Sphaeropteris lepifera* (Hook.) Tryon (Cyatheaceae) in Taiwan [Master thesis]. Taipei, Taiwan: Department of Biology, National Taiwan Normal University. [in Chinese with English summary].
- Cheng YP, Chien CT, Lin TP. 2000.** Population genetics of geographically restricted and widespread species of *Myrica* (Myricaceae). *J Hered* 91:61-6.
- Cheng YP, Hwang SY, Chiou WL, Lin TP. 2006.** Allozyme variation of populations of *Castanopsis carlesii* (Fagaceae) revealing the diversity centres and areas of the greatest divergence in Taiwan. *Ann Bot* 98:601-8.
- Chiou WL, Huang YM, Lee PS. 2003.** Mating systems of Cyatheaceae native to Taiwan. In: Chandra S, Srivastava M, editors. Pteridology in the new millennium. NBRI Golden Jubilee Volume. London: Kluwer Academic Publishers. p 485-9.
- Crawford DJ, Archibald JK, Santos-Guerra A, Mort ME. 2006.** Allozyme diversity within and divergence among species of *Tolpis* (Asteraceae-Lactuceae) in the Canary Islands: systematic, evolutionary, and biogeographical implications. *Am J Bot* 93:656-64.
- Crow JF, Kimura M. 1970.** An introduction to population genetics theory. New York: Harper and Row.
- Doyle JJ, Doyle JL, Rauscher JT, Brown AHD. 2003.** Diploid and polyploidy reticulate evolution throughout the history of the perennial soybeans (*Glycine* subgenus *Glycine*). *New Phytol* 161:121-32.
- Feret PP. 1971.** Isozyme variation in *Picea*



- glauca* (Moench) Voss seedlings. *Silvae Genet* 20:46-50.
- Fu LG. 1991.** The red list of Chinese plants. Beijing: Science Press.
- Ge XJ, Yu Y, Yuan YM, Huang HW, Yan C. 2005.** Genetic diversity and geographic differentiation in endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) populations in desert regions of northwest China as revealed by ISSR analysis. *Ann Bot* 95:843-51.
- Gonzalez-Astorga J, Vovides AP, Cruz-Angon A, Octavio-Aguilar P, Iglesias C. 2005.** Allozyme variation in the three extant populations of the narrowly endemic cycad *Dioon angustifolium* Miq. (Zamiaceae) from north-eastern Mexico. *Ann Bot* 95:999-1007.
- Hamrick JL. 1982.** Plant population genetics and evolution. *Am J Bot* 69:1685-93.
- Hamrick JL, Godt MJ. 1989.** Allozyme diversity in plant species. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS, editors. Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sunderland, MA: Sinauer Associates. p 43-63.
- Hamrick JL, Godt MJ, Sherman-Broyles SL. 1992.** Factors influencing levels of genetic diversity in wood plant species. *New For* 6:95-124.
- Haufler CH, Ranker TA. 1985.** Effects of differential antheridiogen response on evolutionary mechanisms in *Cystopteris*. *Am J Bot* 71:878-81.
- Hewitt GM. 1996.** Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol J Linn Soc* 58:247-76.
- Hiramatsu M, Ii K, Okubo H, Huang KL, Huang CW. 2001.** Biogeography and origin of *Lilium longiflorum* and *L. formosanum* (Liliaceae) endemic to the Ryukyu Archipelago and Taiwan as determined by allozyme diversity. *Am J Bot* 88:1230-9.
- Klekowski EJr. 1969.** Reproductive biology of the Pteridophyta. II. Theoretical considerations. *Bot J Linn Soc* 62:347-59.
- Klekowski EJr. 1979.** Sexual and subsexual systems in the homosporous ferns: a new hypothesis. *Am J Bot* 60:535-44.
- Korpelainen H, Kolkkala M. 1996.** Genetic diversity and population structure in the outcrossing populations of *Equisetum arvense* and *E. hyemale* (Equisetaceae). *Am J Bot* 83:58-62.
- Ledig FT, Hodgskiss PD, Johnson DR. 2006.** Genetic diversity and seed production in Santa Lucia fir (*Abies bracteata*), a relict of the Miocene broadleaved evergreen forest. *Conser Genet* 7:383-98.
- Li CC, Horvitz DG. 1953.** Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Am J Human Genet* 5:107-17.
- Lin TP. 2001.** Allozyme variations in *Michelia formosana* (Kanehira) Masamune (Magnoliaceae), and the inference of a glacial refugium in Taiwan. *Theor Appl Genet* 102:450-7.
- Lin TP, Cheng YP, Huang SG. 1997.** Allozyme variation in four geographic areas of *Cinnamomum kanehirae*. *J Hered* 88:433-8.
- Lin TP, Sun YC, Lo HC, Cheng YP. 2000.** Low genetic diversity of *Cycas taitungensis* (Cycadaceae), an endemic species in Taiwan, revealed by allozyme analysis. *Taiwan J For Sci* 15:13-9.
- Lin TP, Wang CT, Yang JC. 1998.** Comparison of genetic diversity between *Cunninghamia konishii* and *C. lanceolata*. *J Hered* 89:370-3.
- Loveless MD. 1992.** Isozyme variation in tropical trees: patterns of genetic organization. *New For* 6:67-94.
- Loveless MD, Hamrick JL. 1984.** Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann Rev Ecol Syst* 15:65-95.
- Maki M, Asada Y. 1998.** High genetic variability revealed by allozymic loci in the narrow endemic fern *Polystichum otomasui* (Dryopteridaceae). *Heredity* 80:604-10.
- Mantel N. 1967.** The detection of disease clus-



tering and a generalized regression approach. *Can Res* 27:209-20.

**Martinsen GD, Whitman TG, Turek RJ, Keim P. 2001.** Hybrid populations selectively filter gene introgression between species. *Evolution* 55:1325-35.

**Nei M. 1975.** Molecular population genetic and evolution. New York: American Elsevier.

**Nei M. 1978.** Estimation of heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-90.

**Purdy BG, Bayer RJ. 1996.** Genetic variation in populations of the endemic *Achillea millefolium* ssp. *megacephala* from the Athabasca sand dunes and the widespread ssp. *lanulosa* in western North America. *Can J Bot* 74:1138-46.

**Rousset F. 1997.** Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F-statistics* under isolation by distance. *Genetics* 145:1219-28.

**Sherman-Broyles SL, Gibson JP, Hamrick JL, Bucher MA, Gibson MJ. 1992.** Comparison of allozyme diversity among rare and widespread *Rhus* species. *Syst Bot* 17:551-9.

**Shieh WC. 1994.** Cyatheaaceae. In: Editorial Committee of Flora of Taiwan, editors. *Flora of Taiwan*, Vol. 1. 2<sup>nd</sup> ed. Taipei, Taiwan: Editorial Committee of the Flora of Taiwan. p 144-9.

**Soltis DE, Soltis PS. 1987.** Polyploidy and breeding systems in homosporous Pteridophyta: a reevaluation. *Am Nat* 130:219-32.

**Soltis DE, Soltis PS. 1992.** The distribution of selfing rates in homosporous ferns. *Am J Bot* 79:97-100.

**Soltis DE, Soltis PS, Smith AR. 1991.** Breeding systems of three tree ferns: *Alsophila fima* (Cyatheaaceae), *Cyathea stipularis* (Cyatheaaceae), and *Lophosoria quadripinnata* (Lophosoriaceae). *Plant Sp Biol* 6:19-25.

**Soltis PS, Soltis DE. 1990a.** Evolution of inbreeding and outcrossing in ferns and fern allies. *Plant Sp Biol* 1:1-11.

**Soltis PS, Soltis DE. 1990b.** Genetic variation

within and among populations of ferns. *Am Fern J* 73:620-9.

**Su Y, Wang T, Zheng B, Jiang Y, Chen G, Gu H. 2004.** Population genetic structure and phylogeographical pattern of a relict tree fern, *Alsophila spinulosa* (Cyatheaaceae), inferred from cpDNA *atpB-rbcL* intergenic spacers. *Theor Appl Genet* 109:1459-67.

**Sue CY, Fang K, Huang S. 2000.** Patterns of genetic variation of *Alnus formosana* in Taiwan. *Taiwania* 45:95-106.

**Swofford DL, Selander RK. 1981.** BIOSYS-1, a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Urbana, IL: University of Illinois.

**Tomaru N, Mitsutsuji T, Takahashi M, Tsumura Y, Uchida K, Ohba K. 1997.** Genetic diversity in *Fagus crenata* (Japanese beech): influence of the distributional shift during the late-Quaternary. *Heredity* 78:241-51.

**Tryon RM. 1970.** Development and evolution of fern floras of oceanic islands. *Biotropica* 2:76-84.

**Tryon RM. 1986.** The biogeography of species, with special reference to ferns. *Bot Rev* 52:117-56.

**Tsai JL, Shieh WC. 1983.** A cytotoxic survey of the Pteridophytes in Taiwan (1). Material collection and chromosome observation. *J Sci Engin Natl Chung Hsing Univ* 20:137-60.

**Tsai JL, Shieh WC. 1984.** A cytotoxic survey of the Pteridophytes in Taiwan (2). Chromosome and spore characteristics. *J Sci Engin Natl Chung Hsing Univ*. 21:57-70.

**Tyron RM, Gastony GJ. 1975.** The biogeography of endemism in the Cyatheaaceae. *Fern Gaz* 11:73-9.

**Wang JH, Yao SH, Cheng GZ. 1997.** Researching on the karyotype of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon of Guizhou. *J Guizhou Normal Univ* 15:21-5. [in Chinese with English summary].

**Wang T, Su YJ, Li XY, Zheng B, Chen GP,**



**Zeng QL. 2004.** Genetic structure and variation in the relict populations of *Alsophila spinulosa* from southern China based on RAPD markers and cpDNA *atpB-rbcL* sequence data. *Hereditas* 140:8-17.

**Weir BS. 1990.** Genetic data analysis. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

**Wright S. 1946.** Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics* 31:39-59.

**Wright S. 1951.** The genetic structure of populations. *Ann Eugen* 15:323-54.

**Wright S. 1969.** Evolution and the genetics

of populations, Vol. 2, The theory of gene frequencies. Chicago, IL: University of Chicago Press.

**Wright S. 1978.** Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. Chicago, IL: University of Chicago Press.

**Wu JE, Huang S, Wang JC, Tong WF. 2001.** Allozyme variation and the genetic structure of populations of *Trochodendron aralioides*, a monotypic and narrow geographic genus. *J Plant Res* 114:45-57.



# 台灣殼斗科植物的多樣性

\*◎前林業試驗所森林生物組·鄭育斌

## 前言

殼斗科植物是北半球溫帶和亞熱帶地區重要的森林組成樹種，不僅是在科學研究或是民生利用上，這個類群一直受到廣泛的重視，加上它造型奇特的果實，更是許多植物愛好者的蒐集目標。全世界的殼斗科植物共9個屬，約1000個種。而根據台灣植物誌(Flora of Taiwan)的記載，臺灣共有七個屬，40多種原生殼斗科植物，分別為水青岡屬(*Fagus*)、栲(苦槠)屬(*Castanopsis*)、槲(淋漓)屬(*Limlia*)、石櫟屬(*Lithocarpus*)、柯屬(*Pasania*)、槲屬(*Cyclobalanopsis*)和櫟屬(*Quercus*)。但若以廣義的殼斗科分類來看，台灣共有四個屬，分別為栲屬(*Castanopsis*)、水青岡屬(*Fagus*)、石櫟屬(*Lithocarpus*)和櫟屬(*Quercus*)。

森林植群型或林相常用優勢植物類群來命名，台灣中海拔500~1800公尺山區稱為楠櫟林帶，楠代表的是樟科楠木屬植物，櫟就是殼斗科的栲屬(*Castanopsis*)植物；而海拔1500~2500公尺間的闊葉林則被稱為櫟林帶，意即以殼斗科櫟屬植物為優勢的森林，也有學者將這個植群帶稱為樟殼林，主要是以殼斗科和樟科為優勢種的森林，由植群型的命名即可看出殼斗科植物在台灣森林所佔的分量。

## 殼斗科植物的多樣性

台灣的中低海拔森林以常綠性闊葉樹為主體，殼斗科植物就是最優勢類群之一，在海拔500公尺以下的亞熱帶闊葉林，常見的殼斗科樹種有青剛櫟和三斗石櫟等；500~1800

公尺的暖溫帶闊葉林，則以栲屬的長尾栲、火燒栲和櫟屬的錐果櫟、毬子櫟、狹葉櫟等較為優勢；1800~2500公尺的涼溫帶針闊葉混合林，則以森氏櫟、高山櫟、大葉石櫟、長尾栲等為主體。而除了常綠性的殼斗科植物之外，台灣也保有少數溫帶成份的落葉性殼斗科樹種，如台灣山毛櫟、栓皮櫟、槲樹、槲櫟和思茅槠櫟。這一群植物共同呈現的特色就是族群小、分布侷限，在台灣是屬於衰退、孑遺分佈的物種。

殼斗科植物在台灣島的空間分佈，呈現一些有趣的現象，野外的觀察常會發現同一種植物在不同的分佈地或生育地會有很大的形態差異，如青剛櫟的堅果由圓到近似於子彈型，葉的大小、寬窄、鋸齒特徵更是變化多端，長尾栲的葉背顏色由鐵銹色到銀白色、葉緣鋸齒由無到多等特徵，在不同地區也呈現多樣的變化。就空間分佈而言，除全島分佈的廣泛種之外，部分種僅分佈於中部以北，如子彈石櫟、火燒栲等，也有許多種是屬於南部或是東部分佈的類型，例如星刺



殼斗科植物是台灣中低海拔森林的主要組成樹種





殼斗科的雄花序。A.栲屬的上舉型雄花序 B.水青岡的下垂型雄花序 C.櫟屬的雄花序為下垂狀的葇荑花序 D.E.石櫟屬上舉型花序包括單純的雄花序和雄花在上雌花在下雌雄同花序

栲、印度栲、后大埔石櫟、嶺南青剛櫟、太魯閣櫟等，稀有種更是僅侷限於少數生育地。近年來一些相關的研究顯示，這些不同的分布類型，除了和植物對環境的適應之外，和古氣候的變遷及台灣島的演化歷史皆有密切的相關。

### 殼斗科植物的特徵

殼斗科植物為常綠性或落葉性喬木，單性花，雌雄同株，不過花序的構造卻有很

大的差異，雌雄花會生長於同花序或不同花序。雄花通常聚集成葇荑花序，雌花數朵聚生或形成短花序。花序的構造和特徵，尤其是雄花序，可用來作為辨識屬的特徵，如水青岡、栲和櫟屬為雌雄花異花序，水青岡的雄花序軸較短，花序近似頭狀。栲屬和櫟屬的雄花序均由1-3朵小花聚集後，再形成長串的花序，但栲屬雄花序成上舉狀，而櫟屬為下垂的葇荑花序。石櫟屬則會出現二種上舉型花序排列，一為單純的雄花序，另一為雄



花在上而雌花在下的雌雄同花序。花和花序的構造與傳粉的機制有密切相關，殼斗科植物兼具風媒和蟲媒二種傳粉機制，櫟屬的花朵小且無香味，無法吸引昆蟲傳粉，但下垂的雄花序會產生大量的花粉，而雌花數量雖較少，不過3裂狀花柱上的黏液，會黏住隨風飄散的花粉，是很典型的風媒花。水青岡屬也屬下垂型雄花序，也是靠風傳粉的類型。栲屬和石櫟屬的花序會散發或濃或淡的香氣來吸引昆蟲，是屬於蟲媒花的類型。

### 多樣的橡實

殼斗科的果實為具殼斗的堅果，又稱為橡實(acorn)。橡實是殼斗科植物最迷人的特徵，在果實分類上屬於乾果，由不開裂的堅果和殼斗組成，堅果會部份或整個被殼斗包覆。殼斗由雌花的總苞發育而來，主要的作用是保護花的成長和發育，在果實發育的階段，總苞就木質化發育為殼斗，作為承載或保護堅果的構造。常見的殼斗為杯狀或盤狀，但並不是所有殼斗科的殼斗都是這種類型，它的形狀和鱗片有非常多樣的變化，要認識殼斗科植物，從殼斗的辨識開始，即可以輕鬆入門。殼斗型態和被覆在外的鱗片是殼斗科分屬的重要依據，例如櫟屬和石櫟屬的殼斗為盤狀或碗狀，堅果外露。櫟屬的殼斗鱗片合生成同心圓狀或分離成覆瓦狀排列，在台灣植物誌(Flora of Taiwan)中，將其分為稠屬和櫟屬，主要就是依據鱗片的排列方式，前者為同心圓排列，如青剛櫟、錐果櫟、狹葉櫟或毬子櫟等；後者為覆瓦狀排列，如太魯閣櫟、高山櫟和榲櫟等。石櫟屬的殼斗大部份也是盤狀，不過鱗片的排列呈



多樣的橡實

不規則的覆瓦狀。也有部份石櫟屬的殼斗幾乎完全把堅果包覆，僅在果實先端留下小孔，根據這個差異，台灣植物誌將石櫟屬分為殼斗全包的石櫟屬和堅果外露的柯屬。栲屬和水青岡屬的殼斗為另一種類型，它在成熟前將堅果完全包覆，成熟時開裂露出堅果。如栲屬的殼斗一直到成熟前都將堅果整個包覆，成熟後殼斗才開裂，內藏1粒種子，殼斗外的鱗片呈長針狀或短刺狀。水青岡殼斗外的鱗片則成軟刺狀，成熟時開裂，內藏2粒種子。





青剛櫟為中低海拔山區最常見的殼斗科植物，廣泛分布於全台各地，果實和葉部形態的變化非常多樣




栓皮櫟為溫帶成份的落葉性殼斗科植物，主要生長於乾旱的坡地

## 橡實生態

殼斗科種子屬於異儲型種子，對於乾燥的耐受力很弱，種子的含水率越低壽命就越短。這一類種子在成熟掉落之後若沒有得到適當的保護，很快就會因為失去水分而喪失發芽能力。它並不像其他果實類型具有特殊的傳播構造，因為橡實具較大的體積和重量，成熟後就大多直接掉落於母樹下。幸好森林中許多野生動物，如飛鼠、松鼠、獼猴等，甚至如黑熊都以它為食物來源，而透過

採食或是儲藏的動作，可幫助種子散播，擴大其族群範圍。橡實依生長期的長短可分為一年型和二年型，在春天開花結實，當年秋冬成熟的為一年型；若開花後果實至隔年秋天才成熟的稱為二年型。果實生長型反映殼斗科植物的生育環境和演化歷史，一年型類群幾乎都屬於溫帶或是落葉性類群，如水青岡或是落葉性的櫟樹。二年型大都屬於亞熱帶或熱帶分佈類型，例如石櫟屬、栲屬或大部份常綠型的櫟屬等。

## 殼斗科植物的保育

在40多種原生殼斗科植物中，14種為特有種，列名為稀有植物者也有14種。高特有種比例，也凸顯台灣殼斗科植物的重要性。除少數如錐果櫟、森氏櫟、狹葉櫟和大葉石櫟等為廣泛分佈特有種之外，其他特有種大都屬分佈狹隘的稀有種。以地理分佈而言，台灣特、稀有殼斗科植物的主要分佈區域，大抵以中部和東南部二個區塊為主，如南投石櫟、槲樹和思茅儲櫟分佈於台中谷關至南投蓮華池附近低至中海拔山區。柳葉石櫟、台灣石櫟、波緣葉櫟、灰背櫟、浸水營石櫟、加拉段石櫟、槲樹等，則是分佈於大武山以南的南部和東南部中低海拔山區。若以特有或稀有植物保育重點而言，這二個區域應視為區外保育的熱點(hotspot)。

\* 鄭育斌副研究員於98年2月25日在野外進行殼斗科植物採集時，不幸辭世，本文為其遺作。







# 珠璣字字

---

專文摘要

## Allozyme Variation in Four Geographic Areas of *Cinnamomum kanehirae*

T.-P. Lin, Y.-P. Cheng, and S.-G. Huang

The once dominant endemic broadleaf tree species in Taiwan, *Cinnamomum kanehirae* Hay., has become a rare and endangered species due to overcutting. A clone bank, consisting of at least 220 clones collected islandwide, was established at the Liukuel station, Taiwan Forestry Research Institute. Genetic diversity within and genetic differentiation among four geographic areas of *C. kanehirae* were investigated using 164 clones collected from the clone bank. Seven out of the 11 loci examined were polymorphic. The average proportion of polymorphic loci per area was 51% at the 99% criterion for polymorphism. Mean expected heterozygosity ranged from 0.188-0.261 in the different areas, and 0.238 at the species level. On average the percent heterozygous loci per individual ranged from 13.9-21.6%, the number of alleles per locus ranged from 1.7-1.9, and the effective number of alleles per locus ranged from 1.34-1.54 at the area level. The much higher expected heterozygosity and higher number of alleles per locus compared to other local woody species investigated may support the hypothesis that Taiwan was a distributional center of *Cinnamomum*. Partitioning the genetic variability into within- and among-geographic area components with *F* statistics and gene diversity analysis led to an estimate of within-area variation amounting to 88% of the total variation. A slight barrier to gene flow among areas could be due to the large seed size and to insect pollination. The limitation of seed dispersion, erratic flowering times, and several subpopulations within the same geographic areas may contribute to the lower levels of observed heterozygosity than expected heterozygosity among the seven polymorphic loci, indicating some degree of inbreeding and the Wahlund effect and thus a slight deficiency of heterozygotes ( $F_{is} = 0.157$ ). Area 4, located in southeastern Taiwan has a much lower elevational distribution and showed a higher proportion of polymorphic loci, implying that genetic variation of area 4 may have developed under different climate conditions.



## Population Genetics of Geographically Restricted and Widespread Species of *Myrica* (Myricaceae)

Y.-P. Cheng, C.-T. Chien, and T.-P. Lin

Allozyme variation of 11 putative loci in five populations of the rare *Myrica adenophora* Hance, and four populations of its widespread congeneric species, *M. rubra* (Lour.) Sieb. & Zucc. was studied. Among the 21 alleles studied, no unique allele was detected for *M. adenophora*, whereas *M. rubra* had 3 alleles not found in the former species. In terms of genetic diversity, populations of the rare species contained fewer alleles per locus (1.5 versus 1.7), fewer effective number of alleles per locus (1.12 versus 1.20), fewer number of alleles per polymorphic locus (2.14 versus 2.46), lower percentage of polymorphic loci (30.9 versus 40.9), and lower expected heterozygosity (0.106 versus 0.163) than populations of the widespread species. Genetic distances within species average 0.043 for *M. adenophora* and 0.045 for *M. rubra*, and between species ranged from 0.052 to 0.177, with a mean of 0.103, which agrees with the very similar gross morphologies of these two species. Intra-population differentiation was similar in both species:  $G_{st} = 0.152$  for *M. adenophora*, and 0.146 for *M. rubra*, whereas estimated gene flow based on  $G_{st}$  values were moderate in these two species ( $Nm = 1.39$  versus 1.46). We inferred that *M. rubra* and *M. adenophora* are a progenitor-derivative species pair that emerged before migrating into Taiwan during the last glacial period. We consider the Hengchun population (Chiupeng, Hsuhai, and Chufengpi) and Taitung population (Tienkuan and Lanshan) of *M. adenophora* which probably arose from two subsets of the genome of *M. rubra*. Genetic drift was inferred to be one of the forces shaping the observed genetic structure in *M. adenophora* and *M. rubra*.



## Allozyme Variation of *Cyclobalanopsis championii* (Fagaceae), a Narrowly Distributed Species in Southern Taiwan

Y.-P. Cheng, C.-T. Chien, H.-W. Chen, and T.-P. Lin

Allozyme genetic variability in five natural populations of *Cyclobalanopsis championii* (Fagaceae) in Taiwan was investigated using 12 loci from 9 enzyme systems. The average values of parameters describing within-population variation, expected heterozygosity ( $H_e = 0.151$ ), the percentage of polymorphic loci per individual ( $P = 50\%$ ), the average number of alleles per locus ( $A = 1.7$ ), effective number of alleles per locus ( $A_e = 1.25$ ), and the average number of alleles per polymorphic loci ( $AP = 2.2$ ) are comparable to those of other long-lived woody plants. The overall fixation index ( $F_{is} = 0.208$ ) indicates a significant deficiency of heterozygotes at the population level. Allelic frequency deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was found for different loci in different populations. An exact test for population differentiation using the Tools for Population Genetic Analyses program also indicates that allelic frequencies among populations are significantly different ( $P < .001$ ). Among-population variation,  $G_{sp}$ , accounted for 9.2% of the total heterozygosity. The population at Shouchia and the southernmost population Nanjenshan had higher inbreeding coefficients (0.177 and 0.153, respectively) than did the northern populations. Genetic drift is supported by the observations of the variance components of linkage disequilibrium and a large proportion of loci in Nanjenshan and Shouchia that show pairwise locus disequilibrium. We believe continuous genetic drift in the southern populations will increase genetic divergence among populations of *C. championii* in Taiwan. Significant correlation was found between elevation and expected heterozygosity. We therefore inferred that temperature is the most important ecological factor to influence the genetic diversity of *C. championii*.



## 紀台灣原生植物之新栽培品種(五)

呂勝由<sup>1,3)</sup> 胡大維<sup>2)</sup> 鄭育斌<sup>1)</sup> 朱麗萍<sup>1)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生栽培品種，即‘千禧檜’ *Chamaecyparis formosensis* 'Millennium' (柏科)，‘圓葉土樟’ *Cinnamomum reticulatum* 'Obtuse' (樟科)，‘黃花琉球鐵線蓮’ *Clematis tashiroi* 'Yellow Flower' (毛茛科)，‘圓葉榕’ *Ficus microcarpa* 'Rotund' (桑科)。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、扁柏屬、樟屬、鐵線蓮屬、榕屬。

呂勝由、胡大維、鄭育斌、朱麗萍。2001。紀台灣原生植物之新栽培品種(五)。台灣林業科學 16(1):43-5。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (V)

Sheng-You Lu,<sup>1,3)</sup> Da-Wei Hu,<sup>2)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1)</sup> Li-Ping Ju<sup>1)</sup>

### 【Summary】

Four new cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Chamaecyparis formosensis* 'Millennium' (Cupressaceae), *Cinnamomum reticulatum* 'Obtuse' (Lauraceae), *Clematis tashiroi* 'Yellow Flower' (Ranunculaceae), *Ficus microcarpa* 'Rotund' (Moraceae). These cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words:** Cultivar, *Chamaecyparis*, *Cinnamomum*, *Clematis*, *Ficus*.

Lu SY, Hu DW, Cheng YP, Ju LP. 2001. New cultivars from native plants of Taiwan (V). Taiwan J For Sci 16(1):43-5.

<sup>1)</sup>行政院農業委員會林業試驗所森林生物系，台北市100南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup> 100臺北市和平西路二段75巷6號2樓 2F, No. 6, Lane 75, Hoping West Rd., Sec. 2, Taipei 100, Taiwan.

<sup>3)</sup> 通訊作者 Corresponding author

2000年8月送審 2000年12月通過 Received August 2000, Accepted December 2000.



## Chloroplast DNA phylogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an endemic conifer of Taiwan

Sheng-You Lu, Ching-I. Peng, Yu-Ping Cheng, Kuo-Hsiang Hong, and Tzen-Yuh Chiang

In this study, we investigated the genetic structure and phylogeographic pattern of the genus *Cunninghamia*, a member of the Cupressaceae restricted to mainland China and Taiwan, based on sequences of the *trnD-trnT* noncoding spacer of the chloroplast DNA. Maternal inheritance of chloroplasts was determined experimentally. No paternal leakage was detected. Both parsimony and neighbor-joining analyses revealed the polyphyly of *Cunninghamia konishii*, populations of which were nested in clades of *C. lanceolata* from mainland China. The nucleotide diversity of chloroplast DNA sequences within *C. konishii* (0.0118) was higher than that between species (0.0104), which agrees with a previous allozyme investigation. Based on mutational differences between sequences, a minimum spanning network consisting of five clades was constructed. Significant genetic differentiation ( $\Phi_{ST} = 0.130$ ,  $P < 0.001$ ) was detected between the clades based on AMOVA analyses. We infer several possible refugia in the Yunnan, Zhejiang, and Guangdong provinces of south China, all located in the minimum network as interior nodes. We also infer possible migration routes of *Cunninghamia* populations. The phylogeographic pattern shown in the reconstructed network suggests that the present-day *Cunninghamia* populations in Taiwan were derived from six different sources in continental Asia via long-distance seed dispersal. A migrant-pool model explains the heterogeneous composition of the organelle DNA in Taiwan's populations and the low differentiation between populations of Taiwan and China ( $\Phi_{CT} = 0.012$ ,  $P = 0.454$ ). In contrast with the genetic heterogeneity within geographic populations, many local populations have attained coalescence at the *trnD-trnT* alleles, which has led to significant differentiation at the population level.

**Key words:** AMOVA, coalescence, cpDNA, *Cunninghamia konishii*, *Cunninghamia lanceolata*, minimum spanning network, phylogeography.

Received August 8, 2000. Accepted June 11, 2001. Published on the NRC Research Press Web site at <http://genome.nrc.ca> on August 19, 2001.

Corresponding Editor: R.S. Singh.

**S.-Y. Lu and Y.-P. Cheng.** Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei 100, Taiwan.

**C.-I. Peng.** Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei 115, Taiwan.

**K.-H. Hong and T.-Y. Chiang.**<sup>1</sup> Department of Biology, National Cheng-Kung University, Tainan 701, Taiwan.

<sup>1</sup> Corresponding author (e-mail: [tychiang@mail.ncku.edu.tw](mailto:tychiang@mail.ncku.edu.tw)).



## Genetic variation and population differentiation of *Michelia formosana* (Magnoliaceae) based on cpDNA variation and RAPD fingerprints: relevance to post-Pleistocene recolonization

Sheng-You Lu · Kuo-Hsiang Hong · Show-Ling Liu · Yu-Pin Cheng · Wen-Luan Wu ·  
Tzen-Yuh Chiang

We used sequence variation of the *atpB-rbcL* intergenic spacer of cpDNA and nested clade analysis to assess the phylogeographic pattern of *Michelia formosana*, a species restricted to Taiwan and the Ryukyus. In total, 31 haplotypes were identified and clustered into four major chlorotypes. Genetic composition of nearly all populations was heterogeneous and paraphyletic phylogenetically. Although the apportionment of cpDNA variation hardly revealed a geographic pattern due to the coancestry of dominant sequences, some chlorotypes were restrictedly distributed. According to the patterns of clade dispersion and displacement, a reconstructed minimum spanning network revealed that historical events of past fragmentation and range expansion, associated with glaciation, may have shaped the phylogeographic patterns of *M. formosana*. Four possible refugia were identified: the Iriomote and Ishigaki Islands (the southern Ryukyus), Wulai (northern Taiwan), and Nanjen (southern Taiwan), on the basis of the interior positions of their haplotypes in the network and the high level of nucleotide diversity. Given insufficient time for coalescence at the cpDNA locus since the late Pleistocene recolonization, lineage sorting led to low levels of genetic differentiation among populations. In contrast, hierarchical examination of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) data scored from six populations across three geographical regions, using an analysis of molecular variance (AMOVA), indicated high genetic differentiation both among populations ( $\Phi_{ST} = 0.471$ ) and among regions ( $\Phi_{CT} = 0.368$ ). An unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) tree of the RAPD fingerprints revealed that populations of two offshore islands of eastern Taiwan (*M. formosana* var. *kotoensis*) were clustered with geographically remote populations of the Ryukyus instead of those in southern Taiwan, suggesting some historical division due to geographic barriers of the central mountain range. In contrast to the paraphyly of the nearly neutral cpDNA alleles, differentiated RAPDs may have experienced diversifying selection.

**Key words:** *atpB-rbcL* noncoding spacer · cpDNA · *Michelia formosana* · Minimum spanning network · Phylogeography · RAPD

**S.-Y. Lu · Y.-P. Cheng**

Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei, Taiwan

**K.-H. Hong · S.-L. Liu · W.-L. Wu · T.-Y. Chiang** (✉)

Department of Biology, Cheng-Kung University, Tainan 701, Taiwan

e-mail: tychiang@mail.ncku.edu.tw



**PHYLOGEOGRAPHY AND CONSERVATION OF  
*ARCHANGIOPTERIS SOMAI* HAYATA AND *A. ITOI* SHIEH  
BASED ON NUCLEOTIDE VARIATION OF THE *ATPB-RBCL*  
INTERGENIC SPACER OF CHLOROPLAST DNA**

T.Y. CHIANG<sup>1</sup>, Y.C. CHIANG<sup>2</sup>, C.H. CHOU<sup>3</sup>, Y.P. CHENG<sup>4</sup> & W.L. CHIOU<sup>4,5</sup>

**Key words:** *Archangiopteris itoi*; *A. somai*; *atpB-rbcL* intergenic spacer; chloroplast DNA, conservation; phylogeography.

*Archangiopteris*, a genus of the eusporangiate ferns, is endemic to Southeast Asia. A single population of *A. itoi* and two populations of *A. somai* remained threatened in Taiwan due to human overexploitation. This study investigated levels of genetic diversity and phylogeographic pattern based on nucleotide sequences of the *atpB-rbcL* intergenic spacer of cpDNA. Unexpectedly high levels of genetic variation were detected. A neighbour-joining tree revealed parphyly at the cpDNA noncoding spacer within each morphologically differentiated *Archangiopteris* species. Lower levels of cpDNA variation were detected in *A. itoi*, due to smaller population number and size. No genetic differentiation was detected between populations of *A. somai*. The short isolation period since the last glaciation may have caused the parphyly of each population due to the insufficient period for coalescence. Increasing individuals and populations through habitat protection, transplantation, cultures and reintroduction could decrease the threat of their extinction.

<sup>1</sup>Department of Biology, Cheng-Kung University, Tainan 701, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Biology, Washington University, St. Louis, MO 63139, USA; <sup>3</sup>Pingtung University of Science and Technology, Pingtung 912, Taiwan; <sup>4</sup>Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei 100, Taiwan; <sup>5</sup>Author for correspondence.



## 紀台灣原生植物之新栽培品種(六)

呂勝由<sup>1,4)</sup> 鄭育斌<sup>1)</sup> 羅榮盟<sup>2)</sup> 張淵順<sup>3)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生栽培品種，即‘春雪光腊樹’*Fraxinus griffithii* ‘Spring Snow’ (木犀科)，‘福山山桂花’*Maesa perlaria* ‘Fushan’ (紫金牛科)，‘花葉台灣烏心石’*Michelia compressa* ‘Taiwan’ (木蘭科)，‘翡翠草海桐’*Scaevola sericea* ‘Emerald’ (草海桐科)。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、光腊樹屬、山桂花屬、烏心石屬、草海桐屬。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、張淵順。2003。紀台灣原生植物之新栽培品種(六)。台灣林業科學 18(3):255-8。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (VI)

Sheng-You Lu,<sup>1,4)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1)</sup> Rong-Mong Lo,<sup>2)</sup> Yuan-Shuenn Chang<sup>3)</sup>

### 【Summary】

Four new cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Fraxinus griffithii* ‘Spring Snow’ (Oleaceae), *Maesa perlaria* ‘Fushan’ (Myrsinaceae), *Michelia compressa* ‘Taiwan’ (Magnoliaceae), and *Scaevola sericea* ‘Emerald’ (Godeniaceae). These cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words :** cultivar, *Fraxinus*, *Maesa*, *Michelia*, *Scaevola*.

**Lu SY, Cheng YP, Lo RM, Chang YS. 2003.** New cultivars from native plants of Taiwan (VI). Taiwan J For Sci 18(3):255-8.

<sup>1)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，100台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup> 彰化縣田尾鄉饒平村中山路一段395號 395 Chung Shan Rd., Sec. 1, Tienwei 522, Changhua, Taiwan.

<sup>3)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所福山研究中心，宜蘭郵政第132號信箱 Research Center of Fushan, Taiwan Forestry Research Institute. Box 132, Ilan 260, Taiwan.

<sup>4)</sup> 通訊作者 Corresponding author, e-mail: Lus@serv.tfri.gov.tw

2003年3月送審 2003年4月通過 Received March 2003, Accepted April 2003.



## 紀台灣原生植物之新栽培品種(七)

呂勝由<sup>1,3)</sup> 鄭育斌<sup>1)</sup> 羅榮盟<sup>2)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名桑科榕屬的台灣原生栽培品種，即‘福報榕’ *Ficus microcarpa* ‘Fu Pau’，‘翡翠榕’ *F. microcarpa* ‘Emerald’，‘銀河榕’ *F. microcarpa* ‘Milky Way’，‘西子灣榕’ *F. microcarpa* ‘Shi Tzyy Wan’。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、榕屬。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟。2003。紀台灣原生植物之新栽培品種(七)。台灣林業科學18(3):259-61。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (VII)

Sheng-You Lu,<sup>1,3)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1)</sup> Rong-Mong Lo<sup>2)</sup>

### 【Summary】

Four new *Ficus* (Moraceae) cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *F. microcarpa* ‘Fu Pau’, *F. microcarpa* ‘Emerald’, *F. microcarpa* ‘Milky Way’, *F. microcarpa* ‘Shi Tzyy Wan’. These cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words:** cultivar, *Ficus*.

**Lu SY, Cheng YP, Lo RM. 2003.** New cultivars from native plants of Taiwan (VII). Taiwan J For Sci 18(3):259-61.

<sup>1)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，100台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup> 彰化縣田尾鄉饒平村中山路一段395號 395 Chung Shan Rd., Sec. 1, Tien wei 522, Changhua, Taiwan.

<sup>3)</sup> 通訊作者 Corresponding author, E-mail: Lus@serv. tfri.gov.tw

2003年4月送審 2003年5月通過 Received April 2003, Accepted May 2003.



## 紀台灣原生植物之新栽培品種(八)

呂勝由<sup>1)</sup> 鄭育斌<sup>1,3)</sup> 羅榮盟<sup>2)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生植物栽培品種，即‘袖珍葉蘭嶼肉桂’ *Cinnamomum kotoense* ‘Miniature Leaves’，‘紅柄榕’ *Ficus microcarpa* ‘Reddish Petioles’，‘清心海桐’ *Pittosporum tobira* ‘Ching Shin’，‘迷你葉台東莢蒾’ *Viburnum taitoense* ‘Mini’。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、肉桂屬、榕屬、海桐屬、莢蒾屬。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟。2004。紀台灣原生植物之新栽培品種(八)。台灣林業科學19(3):259-62。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (VIII)

Sheng-You Lu,<sup>1)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1,3)</sup> Rong-Mong Lo<sup>2)</sup>

### 【Summary】

Four new cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Cinnamomum kotoense* ‘Miniature Leaves’, *Ficus microcarpa* ‘Reddish Petioles’, *Pittosporum tobira* ‘Ching Shin’, and *Viburnum taitoense* ‘Mini’. These cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words:** cultivar, *Cinnamomum*, *Ficus*, *Pittosporum*, *Viburnum*.

Lu SY, Cheng YP, Lo RM. 2004. New cultivars from native plants of Taiwan (VIII). Taiwan J For Sci 19(3):259-62.

<sup>1)</sup>行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，100台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute. 53 Nanhai Rd., Taipei 100, Taiwan.

<sup>2)</sup>彰化縣田尾鄉饒平村中山路一段395號 395 Chung Shan Rd., Sec. 1, Tienwei 522, Changhua, Taiwan.

<sup>3)</sup>通訊作者 Corresponding author, e-mail: Ypcheng@serv.tfri.gov.tw

2004年3月送審 2004年5月通過 Received March 2004, Accepted May 2004.



## 紀台灣原生植物之新栽培品種(九)

呂勝由<sup>1,2)</sup> 鄭育斌<sup>1,4)</sup> 羅榮盟<sup>3)</sup>

### 摘要

本文描述四種新命名的台灣原生植物栽培品種，即‘花葉龍船花’ *Clerodendron kaempferi* ‘Variegated Leaves’ (馬鞭草科)，‘台南允水蕉’ *Crinum asiaticum* ‘Tainan’ (石蒜科)，‘花葉白樹仔’ *Gelonium aegureum* ‘Variegated Leaves’ (大戟科)，‘袖珍葉蘭嶼羅漢松’ *Podocarpus costalis* ‘Mini’ (羅漢松科)。這四種栽培品種將可供園藝觀賞及景觀綠美化之用。

**關鍵詞：**栽培品種、龍船花、允水蕉、白樹仔、蘭嶼羅漢松。

呂勝由、鄭育斌、羅榮盟。2005。紀台灣原生植物之新栽培品種(九)。台灣林業科學20(3):265-8。

### Research note

## New Cultivars from Native Plants of Taiwan (IX)

Sheng-You Lu,<sup>1,2)</sup> Yu-Pin Cheng,<sup>1,4)</sup> Rong-Mong Lo<sup>3)</sup>

### 【Summary】

Four new cultivars from native plants of Taiwan are described in this paper: *Clerodendron kaempferi* ‘Variegated Leaves’ (Verbenaceae), *Crinum asiaticum* ‘Tainan’ (Amaryllidaceae), *Gelonium aegureum* ‘Variegated Leaves’ (Euphorbiaceae), and *Podocarpus costalis* ‘Mini’ (Podocarpaceae). These cultivars are useful for ornamental and landscape planting.

**Key words:** cultivar, *Clerodendron kaempferi*, *Crinum asiaticum*, *Gelonium aegureum*, *Podocarpus costalis*.

**Lu SY, Cheng YP, Lo RM. 2005.** New cultivars from native plants of Taiwan (IX). Taiwan J For Sci 20(3):265-8.

<sup>1)</sup> 行政院農業委員會林業試驗所森林生物組，10066 台北市南海路53號 Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan.

<sup>2)</sup> 國立中山大學生物科學系，80424高雄市蓮海路70號 Department of Biological Sciences, National Sun Yat-Sen University, 70 Lienhei Rd., Kaohsiung 80424, Taiwan.

<sup>3)</sup> 52242 彰化縣田尾鄉饒平村中山路一段395號 395 Chung Shan Rd., Sec. 1, Tianwei, Changhua 52242, Taiwan.

<sup>4)</sup> 通訊作者 Corresponding author, e-mail: Ypcheng@tfri.gov.tw

2005年4月送審 2005年5月通過 Received April 2005, Accepted May 2005.



## Potential refugia in Taiwan revealed by the phylogeographical study of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae)

YU-PIN CHENG,<sup>\*</sup> ‡SHIH-YING HWANG† and TSAN-PIAO LIN<sup>\*</sup>

### Abstract

In this study, we examined spatial patterns of chloroplast DNA (cpDNA) variation in a total of 30 populations of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae), a subtropical and temperate tree species, including 201 individuals sampled throughout Taiwan. By sequencing two cpDNA fragments using universal primers (the *trnL* intron and the *trnV-trnM* intergenic spacer), we found a total of 1663 bp and 21 polymorphic sites. These gave rise to a total of 28 cpDNA haplotypes. The level of differentiation among the populations studied was relatively high ( $G_{ST} = 0.723$ ). Two ancestral haplotypes are widely distributed. The Central Mountain Ridge (CMR) of Taiwan represents an insurmountable barrier to the east–west gene flow of *C. carlesii*. Among the populations studied, three separated populations, at Lienhuachih, Fushan and Lichia, have high nucleotide diversity. Estimates of  $N_{ST}-G_{ST}$  for populations on both sides of the CMR indicate that no phylogeographical structure exists. According to the genealogical tree, number of rare haplotype and population genetic divergence, this study suggests that two potential refugia existed during the last glaciation: the first refugium was located in a region to the north of Hsuehshan Range (HR) and west of the CMR; the second refugium was located in south, especially southeastern Taiwan. In fact, the second refugium happens to be the same as that reported for *Quercus glauca*. A ‘star-like’ genealogy is characteristic when all haplotypes rapidly coalesce and is a general outcome of population expansion. The neutrality test and mismatch distribution also suggest demographic expansion recovering from a bottleneck.

**Keywords:** *Castanopsis carlesii* Hayata, cpDNA, phylogeography, refugium, Taiwan

Received 1 January 2005; revision accepted 1 March 2005

<sup>\*</sup>Institute of Plant Biology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, †Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yangmingshan, Taipei 111, Taiwan, ‡Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei 100, Taiwan



## Contrasting phylogeographical patterns of two closely related species, *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi* (Lauraceae), in Taiwan

Su-Hwa Wu<sup>1†</sup>, Ching-Yuan Hwang<sup>1†</sup>, Tsan-Piao Lin<sup>2</sup>, Jeng-Der Chung<sup>3</sup>, Yu-Pin Cheng<sup>4</sup> and Shih-Ying Hwang<sup>1\*</sup>

### ABSTRACT

**Aim** The purpose of this paper was to study the patterns of genetic variation, demographic history, haplotype relationships and potential location of diversity centres of two closely related species, *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi*.

**Location** The phylogeography of *M. thunbergii* and *M. kusanoi* was examined by sampling 110 and 106 individuals from 25 and 16 sampling sites, respectively, across their distributional range in Taiwan. *Machilus thunbergii* is distributed on the Asian mainland, South Korea, southern Japan, the Ryukyus, Taiwan and the Philippines, whereas *M. kusanoi* is endemic to Taiwan. These two species are closely related, and both are widely distributed in Taiwan but occupy different altitudinal zones and habitats.

**Methods** The range-wide variation of *M. thunbergii* and *M. kusanoi* in Taiwan was studied using chloroplast DNA (cpDNA) variations. A haplotype network was constructed with the computer program TCS. Nested clade analysis was conducted with the computer program GEO DIS, and various parameters of genetic diversity were calculated and neutrality tested by the computer program DnaSP. Population differentiation was estimated using the programs ARLEQUIN and HAPSTEP. The contribution of the populations to gene diversity and to allelic richness was calculated using the software CONTRIB. The level of divergence for each population from the remaining populations was calculated as the mean value of pairwise  $F_{ST}$  for each population against the rest of the populations.

**Results** Extremely low levels of genetic differentiation were found for both species. This result suggested that these two species probably survived in multiple relict refugia with different population sizes throughout the island during low-temperature periods of the Pleistocene. In addition, nested clade analysis (NCA) of cpDNA haplotypes indicated that restricted gene flow with isolation-by-distance characterized the recolonization after the Pleistocene by Tashueshan and Shiouhluan populations of *M. thunbergii* in the north-central area west of the Central Mountain Range (CMR). In contrast, NCA analysis indicated that a major diversity centre on the southern tip of the island (Kending population) and contiguous



range expansion characterized the recolonization by *M. kusanoi* of northern areas along the east side of the CMR. The major diversity centres found for the two species examined were further supported by the results of the mean  $F_{ST}$  for individual populations in comparison with other populations, and of the contribution of the divergence component to the total diversity.

**Main conclusions** This research supports the multiple relict refugia hypothesis for both species investigated. Populations of *M. thunbergii* at Shiouhluan and Tashueshan in the north-central area west of the CMR represent a diversity centre currently expanding its size. A diversity centre at the southern-edge population of *M. kusanoi*, and a contiguous range expansion from Kending, were found. These results indicate that the *M. thunbergii* populations at Tashueshan and Shiouhluan and the *M. kusanoi* population at Kending, and even Soukar, are evolutionarily significant units for conservation programmes.

### Keywords

cpDNA, diversity centre, *Machilus kusanoi*, *Machilus thunbergii*, phylogeography, Taiwan.

<sup>1</sup> Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yangmingshan, Taipei,

<sup>2</sup> Institute of Plant Biology, National Taiwan University, Taipei and Divisions of

<sup>3</sup> Silviculture and <sup>4</sup> Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei, Taiwan

\* Correspondence: Shih-Ying Hwang, Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, 55 Hwagan Road, Yangmingshan, Taipei, Taiwan 11114.

E-mail: hsy9347@ms34.hinet.net

† The first two authors contributed equally to this work.



## Allozyme Variation of Populations of *Castanopsis carlesii* (Fagaceae) Revealing the Diversity Centres and Areas of the Greatest Divergence in Taiwan

YU-PIN CHENG<sup>1,3</sup>, SHIH-YING HWANG<sup>2</sup>, WEN-LIANG CHIOU<sup>3</sup> and TSAN-PIAO LIN<sup>1\*</sup>

- **Background and Aims** The genetic variation and divergence estimated by allozyme analysis were used to reveal the evolutionary history of *Castanopsis carlesii* in Taiwan. Two major questions were discussed concerning evolutionary issues: where are the diversity centres, and where are the most genetically divergent sites in Taiwan?
- **Methods** Twenty-two populations of *C. carlesii* were sampled throughout Taiwan. Starch gel electrophoresis was used to assay allozyme variation. Genetic parameters and mean  $F_{ST}$  values of each population were analysed using the BIOSYS-2 program. Mean  $F_{ST}$  values of each population against the remaining populations, considered as genetic divergence, were estimated using the *FSTAT* program.
- **Key Results** Average values of genetic parameters describing the within-population variation, the average number of alleles per locus ( $A = 2.5$ ), the effective number of alleles per locus ( $A_e = 1.38$ ), the allelic richness ( $A_r = 2.38$ ), the percentage of polymorphic loci ( $P = 69\%$ ), and the expected heterozygosity ( $H_e = 0.270$ ) were estimated. High levels of genetic diversity were found for *C. carlesii* compared with other local plant species. Genetic differentiation between populations was generally low.
- **Conclusions** From the data of expected heterozygosity, one major diversity centre was situated in central Taiwan corroborating previous reports for other plant species. According to the mean  $F_{ST}$  value of each population, the most divergent populations were situated in two places. One includes populations located in north central Taiwan between  $24.80^\circ$  N and  $24.20^\circ$  N. The other is located in south-eastern Taiwan between  $22.40^\circ$  N and  $23.10^\circ$  N. These two regions are approximately convergent with the most divergent locations determined for several other plant species using chloroplast DNA markers published previously. An important finding obtained from this study is that unordered markers like allozymes can be used to infer past population histories as well as chloroplast DNA markers do.

**Key words:** Diversity centre, allozymes, *Castanopsis carlesii*, Fagaceae, genetic divergence.

<sup>1</sup>Institute of Plant Biology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, <sup>2</sup>Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yangmingshan, Taipei 111, Taiwan and <sup>3</sup>Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, Taipei 100, Taiwan

Received: 22 March 2006 Returned for revision: 10 April 2006 Accepted: 18 May 2006 Published electronically: 27 June 2006



## Phylogeographic study reveals the origin and evolutionary history of a *Rhododendron* species complex in Taiwan

Jeng-Der Chung<sup>a</sup>, Tsan-Piao Lin<sup>b</sup>, Yu-Ling Chen<sup>c</sup>, Yu-Pin Cheng<sup>d</sup>, Shih-Ying Hwang<sup>c,\*</sup>

### Abstract

This study infers a single origin and a once-widespread distribution of the *Rhododendron pseudochrysanthum* species complex in Taiwan based on chloroplast DNA (cpDNA) variation. In total, 124 individuals from five endemic *Rhododendron* species were used for amplifications of two chloroplast intergenic spacers: *trnL-trnF* and *atpB-rbcL*. The haplotype and nucleotide diversities were much lower for the *R. pseudochrysanthum* complex, comprised of the species *R. pseudochrysanthum*, *R. morii*, *Rhododendron rubropunctatum*, and *Rhododendron hyperythrum*, than for *Rhododendron formosanum*. Two measures of pairwise population differentiation,  $N_{ST}$  and  $F_{ST}$ , consistently revealed mostly non-significant levels of genetic divergence between populations of the *R. pseudochrysanthum* complex. No genetic difference was found among the four species of the *R. pseudochrysanthum* complex by analysis of molecular variance (AMOVA), which is concordant with the parsimonious topology of cpDNA haplotypes for the complex. Nested clade analysis (NCA) of the cpDNA haplotypes indicated that restricted gene flow with isolation-by-distance characterized the recolonization pattern of the *R. pseudochrysanthum* complex. In contrast, the NCA analysis indicated a contiguous range expansion for cpDNA haplotypes of *R. formosanum*. This research suggests a once-widespread distribution of the *R. pseudochrysanthum* complex probably via north-to-south colonization of mid-elevations during low-temperature periods of the Pleistocene. Population fragmentation followed the warmer climate which began in the Holocene and resulted in the present-day range contraction into high elevations.

© 2006 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** cpDNA; Evolutionary origin; Phylogeography; *Rhododendron*; Species complex; Taiwan

<sup>a</sup> Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Road, Taipei 10066, Taiwan

<sup>b</sup> Institute of Plant Biology, National Taiwan University, 1 Roosevelt Road, Section 4, Taipei 10617, Taiwan

<sup>c</sup> Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, 55 Hwagang Rd., Yangmingshan, Taipei 11114, Taiwan

<sup>d</sup> Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Road, Taipei 10066, Taiwan

Received 17 October 2005; revised 28 May 2006; accepted 14 June 2006

Available online 16 September 2006



## Divergent Evolution of the Chloroplast Small Heat Shock Protein Gene in the Genera *Rhododendron* (Ericaceae) and *Machilus* (Lauraceae)

MIAO-LUN WU<sup>1</sup>, TSAN-PIAO LIN<sup>2</sup>, MIN-YI LIN<sup>3</sup>, YU-PIN CHENG<sup>4</sup> and SHIH-YING HWANG<sup>1,\*</sup>

- **Background and Aims** Evolutionary and ecological roles of the chloroplast small heat shock protein (CPsHSP) have been emphasized based on variations in protein contents; however, DNA sequence variations related to the evolutionary and ecological roles of this gene have not been investigated. In the present study, a basal angiosperm, *Machilus*, together with the eudicot *Rhododendron* were used to illustrate the evolutionary dynamics of gene divergence in CPsHSPs.
- **Methods** Degenerate primers were used to amplify CPsHSP-related sequences from 16 *Rhododendron* and eight *Machilus* species that occur in Taiwan. Manual DNA sequence alignment was carried out according to the deduced amino acid sequence alignment performed by CLUSTAL X. A neighbour-joining tree was generated in MEGA using conceptual translated amino acid sequences from consensus sequences of cloned CPsHSP genes from eight *Machilus* and 16 *Rhododendron* species as well as amino acid sequences of CPsHSPs from five monocots and seven other eudicots acquired from GenBank. CPsHSP amino acid sequences of *Funaria hygrometrica* were used as the outgroups. The aligned DNA and amino acid sequences were used to estimate several parameters of sequence divergence using the MEGA program. Separate Bayesian inference of DNA sequences of *Rhododendron* and *Machilus* species was analysed and the resulting gene trees were used for detection of putative positively selected amino acid sites by the Codeml program implemented in the PAML package. Mean hydrophobicity profile analysis was performed with representative amino acid sequences for both *Rhododendron* and *Machilus* species by the Bioedit program. The computer program SplitTester was used to examine whether CPsHSPs of *Rhododendron* lineages and duplicate copies of the *Machilus* CPsHSPs have evolved functional divergence based on the hydrophobicity distance matrix.
- **Key Results** Only one copy of the CPsHSP was found in *Rhododendron*. However, a higher evolutionary rate of amino acid substitutions in the *Hymenantes* lineage of *Rhododendron* was inferred. Two positively selected amino acid sites may have resulted in higher hydrophobicity in the region of the  $\alpha$ -crystallin domain (ACD) of the CPsHSP. By contrast, the basal angiosperm, *Machilus*, possessed duplicate copies of the CPsHSP, which also differed in their evolutionary rates of amino acid substitutions. However, no apparent relationship of ecological relevance toward the positively selected amino acid sites was found in *Machilus*.
- **Conclusions** Divergent evolution was found for both *Rhododendron* lineages and the paralogues of CPsHSP in *Machilus* that were directed to the shift in hydrophobicity in the ACD and/or methionine-



rich region, which might have played important roles in molecular chaperone activity.

**Key words:** Adaptive evolution, chloroplast small heat shock protein, *Machilus*, *Rhododendron*.

<sup>1</sup>Graduate Institute of Biotechnology, and <sup>3</sup>Department of Forestry and Natural Resources Conservation, Chinese Culture University, 55 Hwagang Road, Yangmingshan, Taipei 11114, Taiwan, <sup>2</sup>Institute of Plant Biology, National Taiwan University, 1 Roosevelt Road, Section 4, Taipei 10617, Taiwan and <sup>4</sup>Division of Forest Biology, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Road, Taipei 10066, Taiwan

Received: 3 September 2006 Returned for revision: 8 November 2006 Accepted: 27 November 2006 Published electronically: 9 February 2007







# 言隨意遣

---

著作目錄

## A. 期刊論文

---

1. Lin, T. P., Y. P. Cheng, S. G. Huang. 1997. Allozyme variation of four geographical areas of *Cinnamomun kanehirae*. **Jouranal of Heredity** 88: 433-438. (SCI)
2. Cheng, Y. P., C. T. Chien, T. P. Lin. 2000. Population genetics of geographically restricted and widespread species of *Myrica* (Myricaceae). **Journal of Heredity** 91(1): 61-66. (SCI)
3. Lin, T. P., Y. C. Sun, H. C. Lo, Y. P. Cheng. 2000. Low genetic diversity off *Cycas taitungensis* (Cycadaceae), an endemic species in Taiwan, revealed by allozyme analysis. **Taiwan Journal of Forest Science** 15(1): 13-19. (EI)
4. Cheng, Y. P., C. T. Chien, H. W. Chen, T. P. Lin. 2001. Allozyme variation of *Cyclobalanopsis championii* (Fagaceae), a narrowly distributed species in southern Taiwan. **Journal of Heredity** 92(1): 65-70. (SCI)
5. 呂勝由、鄭育斌、陳舜英 2001 紀台灣原生植物之新栽培品種(四) 台灣林業科學 16(1): 39-42. (EI)
6. 呂勝由、胡大維、鄭育斌、朱麗萍 2001 紀台灣原生植物之新栽培品種 (五) 台灣林業科學 16(1): 43-45. (EI)
7. Lu, S. Y., C. I. Peng, Y. P. Cheng, K. H. Hong, T. Y. Chiang. 2001. Chloroplast DNA phylogeography of *Cuninghamia konishii* (Cupressaceae), an endemic conifer of Taiwan. **Genome** 44: 797-807. (SCI)
8. Lu, S. Y., K. H. Hong, S. L. Liu, Y. P. Cheng, W. L. Wu, T. Y. Chiang. 2002. Genetic variation and population differentiation of *Michelia formosana* (Magnoliaceae) based on cpDNA variation and RAPD fingerprints: relevance to post-Pleistocene recolonization. **Journal of Plant Research** 115: 203-216. (SCI)
9. 李建堂、鄭育斌、邱文良、林則桐、陳建文、王儀臻 2002 關渡自然保留區 1986-1998 年植群變遷 台灣林業科學 17(1):41-50. (EI)
10. Chiang, T. Y., Y. C. Chiang, C. H. Chou, Y. P. Cheng, W. L. Chiou. 2002 Phylogeography and conservation of *Archangiopteris somai* Hayata and *A. itoi* Shieh based on nucleotide variation of *atpB-rbcL* intergenic spacer of chloroplast. **Fern Gazette** 16(6, 7, & 8): 335-340.
11. 呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、張淵順 2003 紀台灣原生植物之新栽培品種 (六) 台灣林業科學 18(3): 255-258. (EI)



12. 呂勝由、鄭育斌、羅榮盟 2003 紀台灣原生植物之新栽培品種 (七) **台灣林業科學** 18(3): 259-261. (EI)
13. 呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、張淵順 2004 紀台灣原生植物之新栽培品種 (八) **台灣林業科學** 19(3): 259-262. (EI)
14. 王相華、孫義方、簡慶德、潘富俊、郭紀凡、游孟雪、伍淑惠、古心蘭、鄭育斌、陳舜英、高瑞卿 2004 墾丁喀斯勒森林永久樣區之樹種組成及生育地類型 **台灣林業科學** 19(4): 323-336. (EI)
15. 呂勝由、鄭育斌、羅榮盟 2005 紀台灣原生植物之新栽培品種 (九) **台灣林業科學** 20(3): 265-268. (EI)
16. 呂勝由、鄭育斌、羅榮盟、陳文明、陳建文 2005 紀台灣原生植物之新栽培品種 (十) **台灣林業科學** 20(4): 361-364. (EI)
17. Cheng, Y. P., S. Y. Hwang, T. P. Lin. 2005. Potential refugia in Taiwan revealed by the phylogeographical study of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae). **Molecular Ecology** 14: 2075-2085. (SCI)
18. Cheng, Y. P., S. Y. Hwang, W. L. Chiou, T. P. Lin. 2006. Allozyme variations of populations of *Castanopsis carlesii* (Fagaceae) revealing the diversity centers and areas of the greatest divergence in Taiwan. **Annals of Botany** 98: 601-608 (SCI)
19. Shih, F. L., Y. P. Cheng, S. Y. Hwang, T. P. Lin. 2006. Partial concordance between nuclear and organelle DNA in revealing the genetic divergence among *Quercus glauca* (Fagaceae) populations in Taiwan. **International Journal of Plant Sciences** 167(4): 863-872 (SCI)
20. Wu, S. H., C. Y. Hwang, T. P. Lin, J. D. Chung, Y. P. Cheng, S. Y. Hwang. 2006. Contrasting phylogeographical patterns of two closely related species, *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi* (Lauraceae), in Taiwan. **Journal of Biogeography** 33: 936-947. (SCI)
21. Chung J. D., T. P. Lin, Y. L. Chen, Y. P. Cheng, S. Y. Hwang. 2007. Phylogeographic study reveals the origin and evolutionary history of a *Rhododendron* species complex in Taiwan. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 42(1): 14-24 (SCI)
22. Shih, F. L., S. H. Hwang, Y. P. Cheng, P. F. Lee, T. P. Lin. 2007. Uniform genetic diversity, low differentiation, and neutral evolution characterize contemporary refuge populations of Taiwan fir (*Abies kawakamii*, Pinaceae). **American Journal of Botany** 94: 194-202. (SCI)



23. Wu M. L., T. P. Lin, M. Y. Lin, Y. P. Cheng, S. Y. Hwang. 2007. Divergent evolution of the chloroplast small heat shock protein gene in the genera *Rhododendron* (Ericaceae) and *Machilus* (Lauraceae). **Annals of Botany** 99: 461-475. (SCI)
24. Cheng, Y. P., S. H. Liu, Y. M. Huang, C. W. Chen, W. L. Chiou. 2008. Allozyme variations of a widespread tree fern, *Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon (Cyatheaceae), in Taiwan. **Taiwan Journal of Forest Science** 23(1): 21-34. (EI)
25. Chung, J. D., T. P. Lin, Y. P. Cheng, S. Y. Hwang. 2010. Geographical variation and differential selection modes of paralogs of chloroplast small heat shock protein genes in *Machilus kusanoi* (Lauraceae). **Botanical Studies** 51: 27-36. (SCI)
26. Kuo, D. C., C. C. Lin, K. C. Ho, Y. P. Cheng., S. Y. Hwang, T. P. Lin. 2010. Two genetic divergence centers revealed by chloroplastic DNA variation in populations of *Cinnamomum kanehirae* Hay. **Conservation Genetics** DOI: 10.1007/s10592-009-9901-5
27. Liao, P. C., H. C. Shih, T. B. Yen, S. Y. Lu, Y. P. Cheng, Y. C. Chiang. 2010. molecular interspecific hybrids between *Acer albopurpurascens* and *A. buergerianum* var. *formosanum*. **Botanical studies** 51: in press. (SCI)

## B. 研討會論文集

---

1. 鄭育斌、黃松根、林讚標 1997 牛樟四個地區同功酶變異分析 牛樟生物學及育林技術研討會論文集。林業叢刊第72號，p55-62。
2. 呂勝由、鄭育斌 2000 台灣稀有及瀕危溼地植物調查 2000年海峽兩岸生物多樣性與保育研討會論文集545-555頁。國立自然科學博物館印。
3. 鄭育斌、邱文良、黃士穎、林讚標 2004 長尾栲葉綠體DNA的空間變異和親緣地理研究(摘要)。植物多樣性與保育遺傳學多樣性研討會。
4. 鄭育斌 2007 台灣原生植物冰河期避難所 台灣植物多樣性研究現況與前瞻研討會－基因與生態演化論文集(林讚標主編) 16-29頁。國立台灣大學生命科學院。

## C. 專書及專書論文

---

1. 鄭育斌 1992 南仁山區亞熱帶雨林地被層植物之研究 國立台灣大學植物研



究所碩士論文。

2. 謝長富、陳尊賢、孫義方、鄭育斌、王國雄、蘇夢淮、江斐瑜 1992 墾丁國家公園亞熱帶雨林永久樣區之調查。內政部營建署墾丁國家公園。
3. 邱文良、鄭育斌、黃裕舜 1999 關渡自然保留區與自然公園生物資源變遷之研究-水陸域植物。關渡自然保保留區與自然公園生物資源變遷之研究期末報告，pp44-77。台北市政府印行。
4. 邱文良、鄭育斌、陳建文 2000 關渡自然保留區與自然公園生物資源變遷之研究-水陸域植物。關渡自然保保留區與自然公園生物資源變遷之研究期末報告，pp22-46。台北市政府印行。
5. 呂勝由、邱文良、鄭育斌 (編) 2000 台灣稀有及瀕危植物之分級 彩色圖鑑 (V)。行政院農業委員會印行，175 pp。
6. 呂勝由、鄭育斌、鍾慧元 2000 台灣地區新增工業區綠化實用圖鑑。經濟部工業局編印，227 pp。
7. 呂勝由、邱文良、鄭育斌、陳建文 (編) 2001 台灣稀有及瀕危植物之分級彩色圖鑑 (VI)。行政院農業委員會印行，175 pp。
8. 鄭育斌 2006 長尾栲的親緣地理學研究。國立台灣大學植物科學研究所博士論文。

#### D. 其他

---

1. 邱文良、鄭育斌、何坤益、薛美莉 1998 西表島的紅樹林 **林業試驗所專訊** 26: 12-13。
2. 簡慶德、郭紀凡、潘富俊、陳舜英、鄭育斌、孫義方、游孟雪 2001 墾丁高位珊瑚礁自然保留區之森林組成與結構分析 **林業研究專訊** 39: 13-14。
3. 鄭育斌、呂勝由 2002 恆春熱帶植物園 **林業研究專訊** 49: 1-4。
4. 鄭育斌、呂勝由 2002 風姿綽約萬人迷-野生蘭 **發現綠色台灣 台灣植物專輯** p132-137。
5. 呂勝由、鄭育斌 2002 高山仙子-高山野花 **發現綠色台灣 台灣植物專輯** p190-195。
6. 鄭育斌 2008 橡實世界 **科學發展月刊** 425: 26-35。
7. 鄭育斌 2009 台灣殼斗科植物的多樣性 **林業研究專訊** 16(1): 11-14。





育斌的最後身影。(陳俊銘提供)



國家圖書館出版品預行編目資料

鄭育斌紀念文集 / 鍾慧元編輯--初版-- 臺北市：  
農委會林業試驗所，民 99.03  
面：公分  
部分內容為英文

ISBN 978-986-02-2482-5 (平裝)

1. 鄭育斌 2. 傳記 3. 遺傳植物學 4. 文集

373.407

99001828

## 鄭育斌紀念文集

---

發行人 黃裕星

策劃 邱文良

編輯 鍾慧元·陳建文

攝影 鄭育斌

美術編輯 許明峰

出版單位 行政院農業委員會林業試驗所  
10066台北市中正區南海路53號  
電話: 02-23039978  
傳真: 02-23142234  
網址: <http://www.tfri.gov.tw>

印刷 財團法人台北市私立勝利身心障礙潛能發展中心  
電話：02-2325-8576

出版日期 中華民國九十九年三月 初版

工本費 新台幣300元整

ISBN 978-986-02-2482-5

GPN 1009900656

本叢書僅供研究及學術交換用途