

林務局台東林區管理處主管科技計畫 103 年度單一計畫 103-Chen-9

臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案 (2/2)

The genetic unit survey and conservation action program
for *Amentotaxus formosana* Li (2/2)

研究報告



委託機關：林務局台東林區管理處

執行機關：中山大學生物科學系

中華民國 104 年 05 月

目 錄

研究報告計畫成果摘要.....	1
中文摘要.....	5
英文摘要.....	6
第一章 前言.....	9
第二章 材料與方法.....	15
第三章 研究結果與討論.....	21
第四章 結論與建議.....	33
第五章 參考文獻.....	37
附表.....	43
附圖.....	60
附錄.....	73

臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案 (2/2)

The genetic unit survey and conservation action program for *Amentotaxus formosana* Li (2/2)

研究報告計畫成果摘要

一、委託單位：行政院農業委員會林務局臺東林區管理處

二、受委託單位：國立中山大學

三、計畫主持人：江友中 (國立中山大學)

四、研究人員：

<u>序號</u>	<u>機關名稱</u>	<u>單位名稱</u>	<u>研究人員</u>	<u>職稱</u>
1	國立中山大學	生物科學系	江友中	教授
2	國立中山大學	生物科學系	劉和義	副教授
3	國立屏東科技大學	森林系	陳朝圳	教授
4	國立屏東科技大學	生物資源研究所	洪國翔	助理教授
5	國立屏東科技大學	森林系	陳建璋	助理教授
6	國立屏東科技大學	生物資源研究所	何錦尚	博士候選人
7	國立中山大學	生物科學系	鍾菡薇	研究助理
8	國立中山大學	生物科學系	黃敏純	研究助理
9	國立中山大學	生物科學系	柯雅筑	研究助理
10	國立中山大學	生物科學系	沈仙惠	碩士生
11	國立中山大學	生物科學系	周詩縈	碩士生

五、計畫目標：

本年度將針對前一年度完成的大武臺灣穗花杉自然保留區內之臺灣穗花杉族群保育遺傳單位之個體進行採穗與扦插苗試驗，同時針對茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境的臺灣穗花杉族群進行相關族群遺傳多樣性檢測，並與前一年度完成大武臺灣穗花杉自然保留區內之臺灣穗花杉族群遺傳資訊相結合，探討臺灣穗花杉二最大族群分布地區的遺傳多樣性與族群分化程度，其目標條列如下：

1. 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的樣本與基本資訊之收集、全基因組 DNA 之抽取、遺傳多樣性與遺傳分化情況等基本遺傳資訊之評估。
2. 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群現生族群的有效族群大小與祖先族群之有效族群大小之估算。
3. 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境和大武臺灣穗花杉自然保留區之臺灣穗花杉族群的遺傳結構分析，利用 STRUCTURE 及 INSTRUCT 等分析程式進行族群遺傳組成之分析工作。
4. 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境和大武臺灣穗花杉自然保留區之臺灣穗花杉族群的遺傳熱點測試，利用 GENELAND 結合地理資訊與遺傳資訊進行分群測試。
5. 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的遺傳保育單位之界分工作。在獲得管理單位核准原則下，與臺東林管處人員共同完成大武臺灣穗花杉自然保留區境內之臺灣穗花杉族群現生族群的重要保育單株之採穗工作，進行扦插苗發根條件處理測試與管理工作。完成後轉交由臺東林管處進行溫室健化與採穗園建立工作。
6. 整合第一年與第二年之臺灣穗花杉遺傳分析資訊，提出可行的保育或復育之經營與管理建議，以利後續之現地維護、扦插苗建構異地採穗園等策略之實施。

六、研究成果：

- (1) 完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群野外調查與採集工作，採集自 5 個樣區，共計 383 個樣本。二年期調查與採樣三區域共計 678 單株樣本。
- (2) 茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境之臺灣穗花杉野生族群的遺傳多樣性相關參數偏低，其平均有效對偶基因數目(A_E)值為 3.31、平均對偶基因豐富度(A_r)值為 3.87、平均異型合子期望值(H_E)為 0.64、平均異型合子觀測值(H_O)為 0.31。茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境之 5 樣區族群間無顯著差異。二年調查結果皆呈現三地區的臺灣穗花杉野生族群的遺傳多樣性相關參數偏低。
- (3) 臺灣穗花杉族群分別進行哈溫平衡檢測，均顯示所有基因座皆因異型合子嚴重喪失而顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)。
- (4) 分子變異分析(AMOVA)分析及 F 統計結果顯示，臺灣穗花杉族群遺傳變異存在於族群內(44.35%)及個體間(46.70%)。不同樣區間的臺灣穗花杉族群間遺傳變異累積少，僅 8.95%。族群間的遺傳分化指數值(F_{ST})為 $F_{ST} = 0.09$, $P < 0.05$ ，顯示臺灣穗花杉族群間有族群結構存在，但分化程度低， F_{IS} 及 F_{IT} 分別為 0.49 和 0.53，所有數值皆具顯著性 ($P < 0.05$)，顯示族群呈現嚴重近親繁殖狀態，而空間結構與棲地區塊化為導致近親繁殖之因素。
- (5) 利用 Isolation with migration analysis(IMa)和連鎖不平衡方式之 LDNe 推估臺灣穗花杉祖先族群之有效族群大小、現生族群之有效族群大小，以 IMa 方式利用

Thuja plicata 的突變速率範圍 6.3×10^{-4} (3.0×10^{-5} 至 4.0×10^{-3}) (O'Connell, Ritland 2004) 推估祖先族群之有效族群大小和茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境 (CHCH)、大武臺灣穗花杉自然保留區族群 (DAWU) 及大里力山東稜 (DL) 之臺灣穗花杉族群的有效族群大小範圍分別為 16145.2 (12804.84 至 17258.69)、27.8175 (9.2857 至 250.5159) 和 9.8016 (4.2063 至 1131.865)。結果推估臺灣穗花杉族群面臨嚴重的族群收縮問題。有效族群大小影響族群動態與穩定性，亦決定族群未來的命運，現今結果推測臺灣穗花杉族群過往至今之族群收縮問題，在人為不干擾狀態下仍有可能因為近親繁殖造成遺傳漂變而持續呈現族群收縮現象。

- (6) 隱蔽亞族群結構和遺傳單位界分模型，DAWU 族群獨立分群結果在 2 分群有最高支持度，其次為 3 分群。DL 族群獨立分群結果在 2 分群時有最高支持度，其次在 6 分群。CHCH 族群獨立分群結果在 2 分群時有最高支持度，其次在 3 分群。
- (7) 利用 GENELAND 模型結合多基因座遺傳資料及相關之族群地理空間資訊，加以評估實際的亞分群地理結構，輔助界定不同基因型家族結構及遺傳保育單位。
- (8) 在現地保育方面，以大樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，大樹齡個體的認定標準上以挑選 DBH 在 DAWU 和 DL 為大於 15cm，CHCH 因樹形較小，主要挑選對象為挑選 DBH 為大於 10cm 單株，若不足時則不考慮此項標準，另少數個體的雌雄資料為已知，故挑選上亦將以此資訊為挑選的依據，此次共挑選出 69 單株樣本表列於附錄，分別由 DAWU 族群、DL 族群、CHC 族群中挑選出 32、13 和 24 單株。
- (9) 在異地保育方面，因規劃進行扦插繁殖方式保存最大遺傳變異，考慮繁殖成功機率，以中樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，而中樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有 DBH 資料為參考進行挑選，以挑選 DBH 大於 5cm 為主要挑選對象，分別由 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群中挑選出 38、13、23 單株。
- (10) 扦插試驗部分，諮詢屏東科技大學森林系相關專業學者意見、參考民間苗場對於裸子植物扦插方式、環境與設施和文獻紀錄之扦插方式，因應後續搬遷移動，以能夠保持環境潮濕度，避免環境因子因搬遷變動產生劇烈差異變化，設計大型塑膠桶進行設備設計成為箱式栽植方式進行。
- (11) 扦插試驗部分，第三、四、五批扦插試驗樣本已成功誘導發根，至 2015.02.24 已存活超過 22、20、17 個月，利用扦插苗方式進行異地保育方式應為可行。第六、七、八批重要保育單株扦插試驗，至 2015.02.24 已存活 12、4、3 個月，大多數扦插苗已發根，獲得野外棲地不同遺傳單位界分的扦插苗，以保育重要保育單株。

七、建議

- (1) 臺灣穗花杉族群遺傳研究顯示族群呈現嚴重近親交配狀態，不論是在大武臺灣穗花杉自然保留區、大里力山或茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內族群，因為棲地區塊化導致近親繁殖現象，域內管理與異地保育應同時進行。
- (2) 臺灣穗花杉祖先族群與現存有效族群大小推估呈現祖先有效族群遠大於現存

有效族群，族群面臨嚴重的族群收縮問題，易導致基因僵化問題，挑選不同遺傳單位進行異地保育應進行。

- (3) 在 F 統計檢測顯示臺灣穗花杉族群內有亞族群存在，需要詳細評估保育遺傳單位。
- (4) 臺灣穗花杉雌雄異株，已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群，現地保育與異地保育個體需要後續植群調查，將為之性別個體詳細記錄。
- (5) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群之現地保育部分所挑選之單株個體，需要加強野外管理，包含定期巡視與記錄生長勢，包含雄雌毬花枝產生、雌毬果發育、種子成熟時期觀察、種子收穫與後續種子品質檢驗、種子發芽試驗與小苗培育工作。
- (6) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群之異地保育部分所挑選之單株個體，多以中低年齡層為主進行挑選，此挑選之主因為異地保育主要觀念為扦插苗建置與保育遺傳母樹林之建置，異地保存母樹林可以進一步依據不同基因型方式進行人工授粉，致使基因座呈現同型合子比例降低，異型合子比例提升，以恢復臺灣穗花杉有性繁殖之成功率，進而提升有效族群大小至評估值。
- (7) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群異地保育之重要保育單株扦插苗培育，後續照顧與管理需要專人與場域配合。
- (8) 臺灣穗花杉依據二年計畫結果，已完成現地保育與異地重要保育單株扦插苗培育，此現地保育與異地保育之行動方案流程以圖解於圖十五，做為臺灣珍稀瀕危植物保育行動方案準則與流程。

中文摘要

臺灣穗花杉為臺灣珍貴稀有之特有物種，僅分布於南臺灣海拔 800 m-1,400 m 的原始闊葉林中，根據 2012 年「臺灣維管束植物紅皮書初評名錄」，臺灣穗花杉被評定為瀕危物種(EN)，亦為農業委員會依據「文化資產保存法」所公告之自然紀念物，其狹隘的生育環境特性，造成族群量萎縮或面臨滅絕的嚴重威脅。臺灣穗花杉族群數量少，有性繁殖方式受限，以無性繁殖維持族群數量的情況，增加近親交配機率，將導致近親衰退危機提高，相關族群遺傳研究亦指出臺灣穗花杉遺傳變異偏低等現象，顯示此物種高度之滅絕危機。故為維持其族群遺傳多樣性，避免遺傳僵化，因此，本研究使用共顯性分子標誌之微衛星體基因座鑑定技術，利用族群遺傳變異統計分析和貝氏分派分析方法，評估 DAWU、DL 和 CHCH 族群遺傳變異及有效族群大小等遺傳資訊，並結合遺傳資料及地理資訊，進行族群遺傳結構之劃分，輔助遺傳保育單位的界定及遺傳保育個體之挑選，以協助異地保育工作進行，藉由加強保護具遺傳特異性的單株個體，作為母樹林或異地扦插苗來源，使臺灣穗花杉存有最大的遺傳多樣性及最小的近親交配機率，提升遺傳保育工作之效率。結果顯示族群遺傳多樣性相關參數偏低，異型合子實際值皆低於期望值而偏離哈溫平衡，顯示基因座皆因異型合子嚴重喪失導致。分子變異分析(AMOVA)分析顯示臺灣穗花杉族群間的遺傳分化低， F 統計結果呈現近親繁殖狀態。有效族群推估顯示祖先族群大小為現生族群的數十到數百倍，臺灣穗花杉族群面臨嚴重的族群收縮問題。分派檢測結果顯示有隱蔽亞族群結構和界分不同遺傳單位，依現地保育和異地保育不同目的，挑選出個體以進行保育策略制定。野外觀察臺灣穗花杉具有萌蘗能力，可進行扦插試驗，為避免後續搬遷時環境因子劇烈變動，以箱式栽植進行，扦插試驗已可成功誘發側根生長，共進行八批試驗，前二批為前測試，無存活個體，第三至第五批為扦插基質、藥劑測試，已成功誘導發根與存活，第六、七、八批重要保育單株扦插試驗，存活率分別為 11.5%至 18.48%、44.25%至 65.48%和 48.93%至 75.58%，扦插樣本最久存活扦插苗已達 22 個月，所獲得存活之扦插苗將進行重要保育單株的異地保育工作。

關鍵字：臺灣穗花杉、微衛星體 DNA、遺傳多樣性、族群遺傳結構、有效族群大小

英文摘要

Abstract

Amentotaxus formosana is an endemic insular species with its only population in southern Taiwan. This species was categorized as endangered species enlisted in the “A Preliminary Red List of Taiwanese Vascular Plants” according to the IUCN Red List Categories and Criteria Version 3.1 and announced as natural monument by the Council of Agriculture based on “Cultural Heritage Preservation Act”. In the inventory study, this species is thousands individuals, few seedlings are found in the field, and asexual reproduction by sprouting in the field. Therefore, the conservation strategies for *A. formosana* should be including the in situ protection and managements and ex situ conservation strategies such as clonal orchard. To avoid the Wahlund effect happened by small effective population size, we will try to estimate the genetic variations and distinct different genetic units for in situ and ex situ conservation administrations. In this project, we use simple sequence repeat (SSR) technology to calculate the different genetic units based on Bayesian assignment test. In this study, we evaluate the genetic diversity within the remain population, estimate the grouping and genetic hotspots based on STRUCTURE · INSTRUCT and GENELAND analyses, distinct different genetic units, test the asexual reproduction technique for preliminary test, and select the individuals for *in situ* and *ex situ* conservation managements to cover the maximum genetic variations of *A. formosana*. In the final report, we evaluate the parameters of population genetics and biodiversity. The low values indicated decline of population heterozygosity and significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. Low differentiation between Dawu Taiwan Amentotaxus Nature Reserve (DAWU), Mt. Dalili (DL), and Chachayalaishan Major Wildlife Habitat (CHCH) populations reflected continuous population in past and recently habitat defragmentation causing the distribution of *A. formosana*. However, populations of the DAWU, DL, and CHCH have the high value of inbreeding coefficient but the lowest effective population size, and large effective population size for ancestral population displayed the recent severe bottleneck or fragmentation could be the reason of population size decline. Low population differentiation indicated recently separation from single large population. In addition, individuals between populations under continuous low gene flow will cause genetic drift by small population and increase possibility of extinction. Cryptic structure and distinct genetic unit are identified by assignment test based by MCMC and Bayesian analysis. For *in situ* and *ex situ*, individuals from different genetic units should be selected for conservation management purposes. In field observation, *A. formosana* can asexual reproduction by sprouting. In order to avoid the extremely changing of environmental condition for moving, we design the grow cases for cutting barnchs. Cutting branches can induced adventitious roots and survived. Finally, eight experiments for asexual reproduction technique already done. The first two experiments are previously tests for conditions to induced adventitious roots, but none cutting seedling survived. The third to fifth experiments are conditions test for material and chemical tests and succeeded to induced adventitious roots. Sixth to eighth experiments are asexual reproduction for important individuals for conservation management and survival reate ranged from 11.5% to 18.48%, 44.25% to 65.48%, and

48.93% to 75.58%, respectively. For the asexual reproduction technique, cuttings could induce the adventitious roots and survive more than 22 months. Our results showed information of population genetic structure in the populations of *A. formosana*, and could provide conservation suggestions in considering the geographic distribution and distinct the genetics units. In addition, successfully survival cutting seedlings for asexual reproduction could build the *ex situ* conservation orchards for *ex situ* conservation purpose.

Keywords: *Amentotaxus formosana*, microsatellite DNA, genetic diversity, population genetic structure, effective population size

第一章 前言

1. 珍稀瀕危物種臺灣穗花杉簡介、瀕危程度與現今問題

臺灣穗花杉(*Amentotaxus formosana* Li)是臺灣珍貴稀有之特有物種，根據台灣植物誌將穗花杉歸於穗花杉科(Amentotaxaceae)穗花杉屬(*Amentotaxus*) (Li and Keng, 1994)，為雌雄異株的裸子植物，臺灣穗花杉性喜潮濕溫暖之山坡及谷地，生育地分布海拔介於 770-1,427 公尺間，最適界為 1,100 公尺之中上坡，海拔最低者為里龍山地區(楊，1996)，其族群結構呈反 J 型，在生育地的空間上分布型屬集落分布(葉等，1992)，分布於臺灣之中央山脈南段尾陵區域，包括大里力山區、大漢山區、姑子崙山區、浸水營野生動物重要棲息環境、大武臺灣穗花杉自然保留區、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境與里龍山等(張，1992；楊，1994，1996，2007；葉，2004)。臺灣穗花杉狹隘的生育環境特性，易因伴生樹種的競爭或生育環境的變遷與破壞，造成族群量萎縮或面臨滅絕的嚴重威脅，此外，此物種在野外族群中極少抽穗結實(楊，2007)。即便在徑級 20cm 以上的植株亦如此，再加上先前調查中的 2-5 年苗木甚少，顯示其有性繁殖的能力不佳，使其在族群拓展上成為一個限制因子。在臺灣，依據「文化資產保存法」由行政院農業委會與經濟部於 1988 年公告臺灣穗花杉為瀕臨絕種之珍貴稀有植物，予以列入保護，並在臺東縣大武鄉第三十九林班地內設置「臺灣穗花杉保留區」，於其生育地劃設大武臺灣穗花杉保留區與茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境，供域內保育研究，以保存生育地及族群之延續。

根據新生代(Cenozoic)第四紀(Quaternary)前的第三紀(Tertiary)古新世(Paleocene)至中新世(Miocene)上層沉積岩層中之化石證據顯示，穗花杉曾廣布於北半球的北美及歐洲等地(Farjon, 2001；Follieri, 2010)。然而此物種於第四紀冰河期的更新世與全新世期間分布縮減，現今分布狹隘，屬於第三紀孑遺殘存植物(Ferguson *et al.*, 1978; Royer *et al.*, 2003)。由穗花杉化石證據中另可發現其於不同的植物化石組成，此證據支持穗花杉在當時的生育環境中，經常與不同的植物伴生於中生森林(mesophytic forest)及常綠闊葉林中，可生存於廣泛的生態環境之下。然而，現今穗花杉屬的生育範圍非常狹窄，只存在潮濕且特殊的生態棲地(Ferguson *et al.*, 1978)。在臺灣，臺灣穗花杉自中新世起，便有其花粉化石的證據，為一活化石植物，然而臺灣穗花杉受到棲地破碎化等因素的影響，其伴生的闊葉林棲息地面積縮小，造成其族群數量日趨稀少，分布受限制，個體數量不多，而有滅絕的危機，因而在國際自然保育聯盟(IUCN, 2012)制定的紅皮書中，臺灣穗花杉被列為極危物種等級(CR)(IUCN, 2012)。依據臺灣維管束植物紅皮書初評名錄評估結果，臺灣穗花杉被列為瀕危物種等級(EN)(王等，2012)。而國際自然保育聯盟在 2013 年時重新評估中，臺灣穗花杉被列為受威脅物種等級(VU)(Thomas, 2013)。不論何種評估結果，臺灣穗花杉皆因棲地狹隘而成為需要人為關注的物種。

臺灣穗花杉於過往植群社會及族群構造等野外研究調查中指出，其小苗之補充常藉萌蘗苗庫更新，行無性繁殖，使族群數量維持而不易衰敗，然而有性繁殖能力甚低，可能造成遺傳多樣性低(楊，1996)。吳東原及羅漢強(1992)針對臺灣穗花杉族群進行個體間形態差異與地理分布之間的相關性，結果顯示，族群內個體形態變異與地理分布無相關性，且幼木之形態變異受母樹遺傳之影響效應大於微生育環境之影響效應。Lin 等人(2007)結合空間分析方法及樹輪年代分析法(tree ring analysis)，研究茶茶牙賴及大武生育地的臺灣穗花杉天然林分在自然環境下的更新過程、樹齡結構和生長特性，分析的結果指出，其生育地之林下環境中大多

數之樹種平均年齡 56 年，而臺灣穗花杉的平均樹齡 58 年，並指出臺灣穗花杉處於中度更新狀態，且臺灣穗花杉和周圍硬木的生長速率彼此間呈現負相關。楊勝任(2007)於臺灣穗花杉可能的生育地進行探勘及樣區設置，結果顯示臺灣穗花杉生育地植群社會主要為小西氏楠-江某植群型，調查顯示大里力山至渡鴨原山支稜為臺灣穗花杉的最北界，里龍山則為最南界，並利用臺灣穗花杉之徑級，分析其族群結構，族群徑級結構均呈反 J 型模式(林和邱，1989；楊，1993；王，2003)。現今臺灣穗花杉族群分布區域南北約 20 公里範圍，主要分布於中央山脈兩側區域，楊勝任(2007)之「臺灣穗花杉族群分布及植物社會之研究」的調查報告中提及，臺灣穗花杉族群分布目前確定有 5 個地區 6 處生育地，包括有大里力山區、浸水營野生動物重要棲息環境、大武臺灣穗花杉自然保留區、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境與里龍山。主要族群分布於大里力山區、大武臺灣穗花杉自然保留區、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境，然而，就分布區域而言，主要是以之前提及之中央山脈兩側區域。林務局於 2009 年針對茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境，進行臺灣穗花杉之植群結構與族群消長調查，並進行林木健康與生育狀況等評估，認為臺灣穗花杉於此區之現地保育具有成效。由前人之研究得知，臺灣穗花杉之野外族群調查及森林健康調查工作等分析資料的收集完善，然而，其遺傳方面研究有限，並且尚未有相關之遺傳保育策略之研究提出。

在遺傳多樣性的研究方面，由過往的研究中顯示，利用同功酵素電泳分析(isozyme analysis)及隨機擴增多型性 DNA(Random Amplified Polymorphic DNA；RAPD)等分析技術檢視臺灣穗花杉族群，顯示茶茶牙賴山與大武山兩族群之間無族群分化現象，且兩族群遺傳變異偏低(吳，1991；Wang *et al.*, 1996)。由前人研究已知臺灣穗花杉族群內普遍具有低度遺傳變異等問題，因此族群內可能潛在近親衰敗等易滅絕因素存在，然而前述研究大多為顯性遺傳標誌，少有共顯性(codominance)分子標誌如微衛星體 DNA 基因座(microsatellite loci)等靈敏度和解析力高的分子檢測技術進行族群遺傳結構之相關研究，因此本計畫將針對此方向進行研究，利用近十年新發展的統計分析方法，如 MCMC 演算法進行分派檢驗(assignment test)，了解其分群結構，以利進一步探討相關之研究保育遺傳策略。

2. 保育與遺傳多樣性

根據國際自然保育聯盟(IUCN)於 1980 年時對保育所提出的定義為：「對人類所使用的生物圈進行管理，以盡可能達到最大的永續利益，同時維護能滿足後代的需要及渴望的生物潛能。」此外並提到保育的目標在於維持必需的生態過程及維生體系，保護遺傳的多樣性及確保物種及生態系的永續利用。因此，保育工作目的在於藉由人為的力量，減緩物種滅絕的速度，將現今面臨滅絕的物種回復以降低滅絕危機。尤其在這全球氣候快速變遷，物種快速滅絕的時代而言，保育工作更顯重要。保育可由生態的觀點或是遺傳方面著手進行討論。現代的保育工作，不僅僅依靠物種的豐富度作為保育的依據，更甚者需要將親緣關係的多樣性(phylogenetic diversity)列入保育決策的參考依據，使保育決策更加可行(Pio *et al.*, 2011)。

其中，保育遺傳學是一門利用理論性遺傳觀點於實際性保護物種，使其有能力對抗環境改變並使滅絕危機降至最低的科學(Frankham *et al.*, 2002)，遺傳多樣性的觀點是保育遺傳的重點之一，維持遺傳多樣性更是保育珍稀瀕危物種的重點工作項目，遺傳變異的存在對於環境變遷之適應能力扮演重要的角色，可使物種更具有抵抗未來全球性氣候變遷的潛能，因而可說遺傳變異是族群永續發展的關鍵。保育遺傳學的工作大致包括：小族群之遺傳管理，使其

存有最大的遺傳多樣性及最小的近親交配、劃定管理單位及利用分子遺傳分析以瞭解物種演化過程等。保育遺傳著重在遺傳多樣性保育的研究，應用族群遺傳結構、基因庫規模、遺傳變異及分化程度，為保育族群之策略規劃重要依據(Friedman and Foster, 1997)，透過遺傳變異及族群結構的研究，瞭解保育對象之物種及族群的現況，有助於管理、保存族群遺傳歧異度，釐清保育遺傳單位的界定，進而提出保育之策略，以提高保育工作的效能。

在保育策略訂定方面，鑑定物種及物種內的保育單位為保育策略的關鍵，可以幫助保育效能提高、作為管理及監測的指標並且便於應用於保育分類群及保育棲地的法律訂定(Allendorf and Luikart, 2007)。而鑑定物種及物種內的保育單位(conservation unit)則大致可從三個不同的方向著手，以做為鑑定保育之優先等級並訂定保育單位的參考依據，分別為物種的鑑定、有效演化單位(Evolutionary Significant Units, ESUs)(Ryder, 1986)以及管理單位(Management Unit, MUs)(Moritz, 1994)的制定。其中"ESUs"可廣泛被定義為具有被單獨管理價值或具有優先保育重要性的一個族群或族群內的一個群集(group)，"MUs"則通常被定義為具獨立族群數量統計的族群，也就是說此族群的族群動態(成長率)主要依靠其所屬族群內的出生及死亡率，而非依賴遷移所造成(Allendorf and Luikart, 2007)。ESUs強調歷史上的族群結構及分離情況，主要為長期管理，而MUs強調的是現今的族群結構，主要為短期管理，ESUs及MUs等遺傳單位的界分，可避免保育管理資源的浪費。

雖然依據前人的研究顯示，茶茶牙賴山與大武山兩族群的臺灣穗花杉無顯著的遺傳分化現象，然而，由前人調查研究中可知臺灣穗花杉多以萌蘗苗庫行無性繁殖，可能增加非隨機交配的可能性，加上生育地棲地破碎化等因素，種種現象推測臺灣穗花杉族群間的基因交流可能受到影響而導致其間交流受限，並可能進而存在不同的遺傳單位。故此計畫將利用保育遺傳的觀念，建立臺灣穗花杉的保育遺傳之劃分，以增加保育工作之有效性。

3. 共顯性之簡單序列重複片段(SSR)分子鑑定技術

近年來分子生物技術蓬勃發展，分子技術被廣泛用於各種不同的領域之中，大量遺傳標記的使用，提供了許多的資訊，幫助我們釐清欲探討物種的親緣關係、族群遺傳結構以及遺傳變異等問題。分子鑑定技術和生物條碼觀念的發展，建構在分子生物與個體遺傳變異的基礎上，物種經由長期世代傳遞與演化後，在其DNA層次上留下了可供鑑別的變異，可供鑑別與應用(Herbert *et al.* 2003；Marshall 2005)。運用分子標記以評估保育策略及植物遺傳資源(plant genetic resources；PGR)的趨勢有顯著的增加中，分子技術同樣也在親緣學(phylogeny)研究及物種演化研究上扮演一個關鍵的角色，並且輔助我們更加瞭解物種內的遺傳分布及遺傳變異程度。在植物方面，以基本的生物現象為基礎瞭解其所牽涉的分子階層資訊，為有效的保育、管理以及利用於植物遺傳資源研究的關鍵。分子生物分析方式亦包括許多不同的DNA分子標記，可適用於多樣化的分析，不同的標記技術有不同的遺傳特性，可以具有顯性或共顯性的特性，或可擴增表現序列或非表現序列等特性，分子標記相較於以外表型為基礎的標記而言，其具有穩定且可應用於所有組織(不論是生長、分化或發育組織)，不受環境、多效性(pleiotropic)或上位性(epistatic)效應而影響。分子標記是一個多功能的檢測工具，其可以藉由比較遺傳多樣性來鑑定族群的遺傳上所面臨的危機，從而有助於解決分類上的不確定性及建立物種內的管理單位。

此次所採用的分子標記技術為微衛星體基因標記技術，亦稱為簡單重複序列(SSR)，是在

真核生物基因組內發現的一種重複序列。其構形單元(motif)2-6 個核苷酸組成之重複序列，其基因座的多型性為微衛星體在長度上的變異程度，也就是說為 motif 不同重複數目所造成的多型性。其對偶基因的多型性主要是因為這種頭尾相接排列(tandem)的重複單位，在 DNA 複製過程中產生序列上的滑動(slippage)或不對稱的互換(unequal crossing-over)，造成重複次數的差異，形成我們所見的長度上的變異(Schlötterer and Tautz, 1992)。微衛星體序列突變速度較一般序列高，利用具有識別力的引子對進行 PCR，分析微衛星體常能顯示出大量的個體間長度多型性。微衛星體標記技術為廣受歡迎的遺傳標記之一，其具有共顯性遺傳(co-dominant inheritance)、在基因組中廣泛分布且數量豐富、高重複性、對偶基因變異程度大、容易評估 SSR 長度變異等特性。但缺點為引子的設計因為需要瞭解其 DNA 序列才能設計引子，所以較為費時費力。微衛星體因具有高度多型性特性，因此被認為是極適合用於分析族群遺傳結構、保育生物學及族群動態等研究的 DNA 遺傳標記(Zhang and Hewitt, 2003)。近年來利用微衛星體 DNA 進行之相關研究呈現急速上升之趨勢，大量應用於致病基因的連鎖分析、族群遺傳變異、族群家族分析與分子鑑定技術的應用，微衛星體 DNA 可利用於親代、親緣關係的分析，並可應用在個體和族群層次上進行樣本的重複，例如臺東蘇鐵(Ju *et al.*, 2011)、桃實百日青(Chiang *et al.*, 2011)。

4. 亞族群結構劃分與 MCMC 演算法

在瀕危物種保育策略的擬定過程中，族群結構的鑑定是很重要的關鍵(Allendorf and Luikart, 2007)，探討族群內亞族群存在與否，有助於保育單位的劃分，提高保育的效率。族群的定義可以很主觀，其中，利用遺傳方式進行分派，而後進一步利用其他主觀性的分類方式加強佐證其分類結果，則更具有科學性依據，也就更適合用於進一步的研究。探討族群內存在之隱密性族群結構(即無法用外部形態觀測到的亞分群，而在遺傳上有顯著差異的亞族群結構)及族群細分成亞族群結構的程度，對於鑑定及診斷族群瀕危程度而言是一個極為重要的參數(Höglund, 2009)。概括來說，族群結構的形成可以說是生物體對特定環境的局部適應反應的結果，換句話說，結構的形成是某事件發生後影響整個族群的結果。族群可經由現今正在發生的事件(例如：基因交流受限)或歷史事件(例如：棲地破碎化)進而被細分成不同的亞族群結構(Yuasa *et al.*, 2007)。

當一個數量且廣泛分布的族群數目降低，其可能是因為不同的原因而造成原先族群密度較低的區域發生局部性的滅絕事件，假設此族群嚴重衰退，可能導致滅絕的範圍逐漸擴散，並進而造成新生的亞族群(subpopulation)間相對的被隔離(isolation)開來，若族群間彼此分隔的距離夠長，則各個亞族群間將各自演化及局部的適應，並且伴隨而來的基因漂變將造成亞族群間的遺傳分化問題的產生(Charlesworth *et al.*, 2003)。對於珍稀瀕危植物之保育遺傳而言，利用族群遺傳資訊，推算族群亞分群的情況，藉由探討族群遺傳結構的模型，可提供我們瞭解族群結構的演化歷程之大量資訊，並可幫助在物種管理上保育的單位界分，然而，現今雖然有許多研究調查破碎化族群的遺傳結構以協助瀕危族群的遺傳保育及管理，卻很少研究針對同質性生育環境內族群的遺傳變異及破碎化情況，藉由此類研究來探討這些缺乏生態環境多樣性或人為干擾下的隱蔽性亞族群及遺傳變異的分布情形，可以幫助保育工作者快速連接這些不同的亞族群，避免這些隔離的亞族群遭遇大範圍環境變異時而滅絕的情況發生，並藉以此類資訊將其實際運用於有效的族群遺傳保育策略的制定。

保育遺傳上經常利用族群遺傳的觀點進行預測，評估族群遺傳結構，探討族群的遺傳多樣性，其通常先進行哈溫平衡檢測，檢測族群是否偏離哈溫理論值，並評估族群間和族群內的遺傳變異情形，推論族群正面臨的危機。雖然利用哈溫定律衍生之族群遺傳係數可有效評估族群遺傳變異、基因交流和族群分化等資訊，但是，對於利用族群遺傳變異進行譜系或是家族之界分則無法獲得有效支持。近年來利用貝氏定律與 Markov Chain Monte Carlo(MCMC)分析法，進行分群測試，將族群遺傳資料中的變異分群，界分不同遺傳單位方式，了解野生族群基因型家族分布與分群關係(Jakobsson and Rosenberg, 2007)。現今利用遺傳資料進行群集分配的應用軟體非常多，用於檢測這些隱蔽性族群遺傳結構的方法也漸從以傳統的遺傳距離為基礎的方法轉為利用 Bayesian model 為基礎的方法(Pritchard *et al.*, 2000)。這些常被使用來推論大量族群遺傳結構的軟體多應用 MCMC 演算法為運算的基礎原理。MCMC 為結合 Markov Chain process 與 Monte Carlo integration 的一種模擬(simulation)演算方法，其主要是針對 state space 過大而不宜抽樣運算的情況下，利用亂數隨機抽樣出具有代表性的樣本，以抽樣平均的方式估算期望值。其利用抽樣的樣本數夠大時，樣本平均數會趨近於母體平均數的觀念進行運算，並且同時利用 Markov Chain 的變數分配將機率函數收斂至可代表原分配的程度(Gilks *et al.*, 1996)。

MCMC 廣泛的被使用於推演族群遺傳結構，其之所以如此廣泛的被使用，原因在於應用上相對較簡單，並且提高了抽樣效率及計算的準確性，其透過大量且隨機抽取樣本，計算其事後機率分布(posterior probability distribution)之最大機率值，此方法避開了繁瑣的積分，使得運算更為簡單。MCMC 的使用使得大量遺傳資料的運算有了突破性的大改革，解決了 Bayesian 在變數維度高時得不到分析結果的問題，使得在 Bayesian 分析法下更適用較複雜的 model 進行分析(Link and Eaton, 2012)。因此，本次計畫將利用此運算原理，結合個體的空間分布與年齡結構資訊，藉以推測出不同亞族群結構的分布情況，界定遺傳保育單位。

5. 臺灣穗花杉生育地棲地環境資料

依據吳(1991)資料顯示，臺灣穗花杉生育地條件為光度小、濕度高且溫度低。相較其他的針葉樹而言，臺灣穗花杉對於氣候及生育地海拔幅度等條件之需求範圍較小(吳東原 1991)。根據邱少婷等人於 2011 年的「臺東地區冰河時期孑遺植物及其生育地保育行動方案」研究報告中指出，在 39 林班地大武臺灣穗花杉自然保留區進行實地調查結果顯示，各項相關環境因子基礎資料如下列：

- (1) 土壤基本特性顯示，此區土壤的電導性(EC)為 113-309(ds/m³)，酸鹼度(pH)為 3.46-4.92，有機質含量百分比為 17.79-55.26%，屬於酸性森林下腐植質高的土壤。全區土壤厚度因含石率不同，但仍屬於土壤鬆軟型，土壤硬度為 0.33-6.29(kg/cm²)。
- (2) 環境溼度而言，臺灣穗花杉保護區分布的海拔高度超越 1000 公尺，夏季高溫約 20℃，冬季溫度可低於 10℃。由相對濕度監測資料之月平均變化幾乎維持在 90%以上。
- (3) 光照而言，其生長環境屬於陰蔽潮濕的霧林區，生長於針闊葉混合林中，光照度長期多處於 7000 lux 以下。

根據林務局屏東林區管理處於 2009 年的「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測」成果報告書中指出，在茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境進行實地調查結果(潮

州事業區第 28、29、30 林班)顯示，各項相關環境因子基礎資料如下列：

- (1) 地質環境而言，茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之地質年代是中新世，地層組成為廬山層，主要由黑色到深灰色的頁岩及深灰色的硬砂岩組成，地形為中央黏板岩母質風化而成。
- (2) 氣候因子部分，因為茶茶牙頓內山未設氣候觀測站，以最接近之大武氣象站為根據，其溫度、雨量、風向、溼度及日照分別如下：
 - 甲、溫度：年平均氣溫為 25°C，月平均最高溫為 32.71°C，以各月平均溫度分析，1 月份平均溫度最低，7 月份最高。
 - 乙、雨量：全年平均年雨量 2,400 mm 以上，降雨集中在 5 月~9 月，冬季 11 月~2 月為明顯的乾季，屬臺灣南部典型的夏雨型氣候區。
 - 丙、溼度及日照：全年相對濕度約在 70%~80%之間，年平均濕度約為 75%。日照時數則以夏季(6~10 月)較高，春季(2~4 月)較低。研究樣區內全天光空域以 90-100%的時間最多，占 13.8%。光照時間 30%以下的區域所佔比例低，顯示研究區域內之日照情形良好。

根據葉慶龍等(1992)利用地理資訊系統歸納出大武臺灣穗花杉保留區生育地之臺灣穗花杉之生態最適界為海拔介於 1,110-1,250 m 間，水分指數顯示為潮濕生育地，全天光空域(Whole light sky space,WLS)10-60%之潮濕陰蔽環境。張明財(1992)提出大武生育地內土質化育不完全，含石率達 60%以上；土壤質地為砂質壤土及壤土，pH 值 4.1，為強酸性土壤。另外相關報告包含楊勝任(1996)植群生態研究調查報告和姜家華等(1995)調查大武山及茶茶牙頓山二個主要生育地之氣象及土壤養分的結果顯示，土壤環境為酸性土壤環境，臺灣穗花杉生育環境則為霧林區之針闊葉混合林，屬於潮濕環境。

6. 異地保育(*ex situ* conservation)

異地保育又稱為區外保育或是遷地保育，其主要目的是為了保護生物多樣性，將受到因生存條件不復存在、物種數量極少或難以找到配對對象，導致生存和繁衍受到嚴重威脅的生物物種，以永續經營管理的觀念，以人為的力量，將物種遷出原始棲地，移入人為建立的動物園、保護區、植物園、樹木園、水族館、瀕危生物繁殖中心等等人為有效管理的單位，進行特殊的保護、繁殖和管理，其中心理念為維持生物物種持續存活繁衍，為對自然族群現地保育的補充。

異地保育是為了將具有滅絕危機的生物給予其物種繼續生存的機會，一般而言，當一物種的族群破碎化、個體數量極少、族群或個體數量快速下降、物種原有生存環境過度脆弱、或者自然或者人為因素破壞導致棲地喪失，導致物種直接面對滅絕現象，因此，異地保育成為保護物種的重要且必須手段。通過異地保育，可以深入認識被保護生物的形態特徵、系統和演化關係、生長發育等生物學規律，從而為現地保護的管理和提供相關數據與依據，而異地保育的最終極目標是當原棲地野生族群過低或是滅絕時，可以提供物種種原與遺傳庫，從而建立野生族群以恢復原棲地生態族群。

臺灣穗花杉族群因棲地的嚴重破碎化、生殖策略及本身的傳播能力差等因素，推測將導致現今族群間的基因交流程度極低，因此，族群存在嚴重的近親交配現象等威脅，加上現今氣候變動劇烈的環境之下，可能造成生育地大範圍喪失，均可能增加臺灣穗花杉的滅絕危機。

因此，在本計畫中完成相關遺傳單位分析後，除了可以針對特定之保育遺傳個體或管理單位進行現地保育，以期能維持野外族群之遺傳多樣性外，可針對遺傳重要性高的個體進行無性繁殖或是種子收集工作，以進行異地保育之異地保存工作，建構人為管理下之適合環境之採穗園或是母樹林建置，確保異地保育族群可以帶有野生族群之最高之遺傳多樣性的保留，當原棲地野生族群過低或是滅絕時，可以提供物種種原與遺傳庫，從而建立野生族群以恢復原棲地生態族群。

7. 穗花杉無性繁殖技術

臺灣穗花杉族群因上述棲地破碎、生殖策略與傳播能力差等因素，導致可能的族群衰敗現象，人為介入的建立和管理之採穗園或是母樹林建置，可為保育物種生存，藉由族群遺傳檢測，可確保異地保育族群可以帶有野生族群之最高之遺傳多樣性的留存。後續的繁殖方式的選取，則為此重要保育策略的成功關鍵。依據相關研究顯示，臺灣穗花杉的有性繁殖在保育策略上不易成功，第一為雌雄異株植物，種子苗無法在生長前期即鑑別雌雄性別，須待成熟植株進行有性繁殖時才可得知。第二為有性繁殖為重新組合遺傳物質，就族群遺傳階層而言，可能有無法覆蓋全部遺傳多樣性現象。第三為種子收集有季節性與豐歉年問題，需要長時間調查雌株與規劃種子成熟採收計畫。在野外觀察臺灣穗花杉有萌蘗生長現象，推測無性繁殖方式為可行方式。

臺灣穗花杉在野外具有萌蘗之無性繁殖方式，農業委員會林務局委託國立台灣大學生物資源暨農學院實驗林管理處執行的研究計畫「臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究」(2004)，利用介質為泥炭土：蛭石：珍珠石=2：1：1 的培養盤，以不同植物生長激素混和方式誘導發根，結果以 60ppm 的 IBA 與 40ppm 的 NAA 之組合誘導發根率最佳，在扦插 40 天後可由插穗末端發生不定根。同屬植物中國穗花杉則有相關研究報告，利用商業用的中國林科院 ABT1 號生根粉進行扦插試驗，對穗花杉一年生枝條插穗不定根的形成有顯著作用，ABT1 生根粉(內含 30% IAA 與 20% NAA)稀釋液最佳濃度為 2×10^{-4} ，最理想的浸泡時間為 2 小時，其扦插發根過程為三個月形成癒傷組織，產生不定根原基，六個月左右不定根形成(陳兆鳳 2006)。顯示扦插方式可以順利誘導不定根，具有無性繁殖能力。

第二章 材料與方法

1. 臺灣穗花杉野外族群資料收集

針對臺灣珍稀瀕危植物臺灣穗花杉進行採樣，依據前人相關研究結果，可歸整得知臺灣穗花杉主要分布地點包含大武臺灣穗花杉自然保留區、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境、大里力山區三區為主要族群分布區域，南段至里龍山區則個體數量稀少，因此此計畫擬以二年期進行，主要分年採集茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內(Chachayalaishan Major Wildlife Habitat)、大武事業區臺灣穗花杉自然保留區(Dawu Taiwan Amentotaxus Nature Reserve)與大里力山族群，並且記錄各株臺灣穗花杉植株海拔高度、經緯度座標、健康程度並測量每棵樹的胸高直徑 DBH。

將野外採集之新鮮的嫩葉組織，以矽膠乾燥劑迅速脫水乾燥保存，進行樣本的全基因組 DNA 萃取。將萃取所得的全基因組 DNA 儲存於 -80°C 冰箱保存以待後續實驗進行。

2. 建構全基因組微衛星體分子標誌遺傳資料

選取單一個體之臺灣穗花杉全基因組 DNA 原液，以 *MseI*(Promega, Madison, Wisconsin, USA)進行限制酶切割，酶切完之 DNA 產物利用 T4 DNA ligase 將 DNA 與 *MseI*-adapter 接合，接合完成後，利用與 *MseI*-adapter 相對應之 *MseI*-N primer(5'-GATGAGTCCTGAGTAAN-3')進行不同循環次數的 PCR 反應，挑選出最佳化之擴增產物(沒有主帶，且於 200-800bp 均勻彌散分布之產物)。並於最佳反應條件下重新擴增一次，以供後續實驗之用。

利用在 5'端具有 biotin 標定之重複微衛星序列[(AG)₁₅、(AC)₁₅、(TTG)₁₀ 及 (TCC)₁₀]為探針 (probes)，和上述之 PCR 產物混勻後，與 hybridization buffer 均勻混合，以 68°C 加熱 1 分鐘使 DNA 變性(denature)，並進行雜合反應。將雜合產物與 Streptavidin 磁珠(Promega)均勻混合，結束後用磁力柱吸附磁珠，將吸附有目標產物之 Streptavidin 磁珠進行洗滌，並吸除上清液，去除非特異性片段，最後進行洗脫，使具有微衛星 DNA 之雜交產物與磁珠分離，並利用異丙醇將 DNA 沉澱後，離心將 DNA 回溶，再一次進行雜交產物 PCR 擴增，跑膠檢測後，利用 Geneaid Gel/PCR DNA Purification Extraction Kit(Protech, Taipei, Taiwan)進行 DNA 純化回收，獲得高濃度具微衛星體 DNA 的雜交產物，並進行微衛星序列之選殖及質體 DNA 之萃取，並將純化回收之質體 DNA 交送基龍米克斯生技公司，利用 ABI PRISM 3730XL DNA sequencer(Applied Biosystems, Foster City, California, USA)進行核苷酸序列分析。分析資料利用 Tandom Repeats Finder version 4.0(Benson, 1999)偵測序列中是否有微衛星序列，以設計微衛星序列基因座之引子，進行多型性測試，挑出具有多型性之微衛星體基因座，以供後續研究之用。

取臺灣穗花杉樣本進行 PCR 反應，並利用解析度較高的聚丙烯醯胺膠體電泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)判別 DNA 片段長度，以更精準判別個體間的 DNA 片段差異，利用 Quantity One version 4.62(Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA)軟體輔助計算出片段大小，並以人工方式加以判讀片段大小。由於臺灣穗花杉為二倍體個體，因此若樣本於 PAGE 上呈現單一條帶，則表示其為同型合子，若有兩條等亮度之條帶，則表示其為異型合子，藉此檢測每個樣本個體的基因型，以供後續分析之用。

3. 基因座中性檢測

將預期獲得之微衛星體基因座資料，LOSITAN(Antao *et al.*, 2008)進行基因座的中性檢測。LOSITAN 程式利用 Beaumont(2005)及 Lewontin and Krakauer(1975)等提出的觀念，利用遺傳分化指數(F_{ST})及平均異型合子期望值(H_E)的觀念進行基因座的中性測試(Beaumont, 2005; Lewontin and Krakauer, 1975)。其認為基因座中的對偶基因在不同族群中若受到正向天擇 [directional(positive)selection] 會表現出較高的基因頻度，使得其基因座呈現異常高程度的遺傳分化值(F_{ST})，同樣的，若基因座受到平衡性天擇(balancing selection)則會使得基因座呈現較低程度的遺傳分化。而此種利用族群間遺傳分化程度來推斷天擇作用的觀念，最先是由 Cavalli-Sforza 所提出(Cavalli-Sforza, 1966)。因此本研究利用 LOSITAN 進行 100,000 simulations，分析所選用之 15 組基因座，檢測可能受到天擇效應的影響，挑選掉 F_{ST} 較為離群(outlier)的非中性基因座，以進行後續的分析。

4. 遺傳多樣性分析與族群變動分析

將建立起的微衛星條帶圖譜資料檔案進行遺傳多樣性分析，利用 GenAlex 6 (Peakall and Smouse, 2006; 2012)計算對偶基因數目(A)、有效對偶基因(A_E)、對偶基因豐富度(allelic richness: A_r)和特有對偶基因豐富度(private allelic richness: A_p)，並計算異型合子觀測值(H_o)以及異型合子期望值(H_E)，依據基因頻度利用卡方檢測(χ^2)檢測族群是否符合哈溫平衡。利用 Arlequin (Excoffier and Lischer, 2010)進行分子變異分析(analysis of molecular variance, AMOVA)以及 F 統計。用以檢測不同階層下族群遺傳分化情形。

有效族群評估為保育遺傳策略訂定的重要評估參數之一，有效族群大小的評估可以決定族群維持遺傳變異的能力(Höglund, 2009)。利用 Isolation with migration analysis(IMa)(Hey and Nielsen, 2007)針對茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內與大武臺灣穗花杉自然保留區兩樣區中的臺灣穗花杉進行祖先族群之有效族群(N_A)及現生族群之有效族群(N_1 、 N_2)評估，此外亦評估其雙向的基因交流程度(M_1 、 M_2)。IMa 由 Isolation with migration 發展而來，主要觀測的對象為兩個彼此分離，但彼此間仍有些許遷移發生的族群，其為基於溯祖理論發展而來的 model。主要為檢測兩個族群或物種形成的歷史過程中基因交流程度的分析方法。另外，有效族群大小之估算亦可利用連鎖不平衡進行估算而不需要經由突變速率轉換，此分析擬利用 Waples and Do (2008)發展出來的軟體 LDNe 進行估算，在此軟體設定上，採以最寬鬆的方式(採計所有的對偶基因座)來評估臺灣穗花杉族群之有效族群大小。

5. 利用分派檢驗(assignment test)的方式進行族群遺傳結構之分析

分群檢驗方式不若 AMOVA 及利用族群分化指數等方式須預先劃分族群數進行分析，其以個體為分派單位，並根據遺傳變異為分群依據，因此相對下較能反映出當代的族群間基因交流的狀況。故利用分派檢驗的方式，使用遺傳資訊計算每個取樣個體其基因型隸屬於某一族群的機率，決定最佳分群數，進而可鑑定族群內不同遺傳單位。採用近來常被使用之貝氏分派檢定(Bayesian assignment test)方式，利用 MCMC 計算事後機率，進行分群分析。運用以 Bayesian 分群方法為基礎的統計軟體 STRUCTURE、INSTRUCT 和 GENELAND 進行分派檢定。使用 STRUCTURE 2.3.1 以及 INSTRUCT 進行分群分析，從個體階層計算對偶基因頻度，分析樣本的基因差異並以此為分群依據，進行模擬運算，評估各對偶基因在各分群情況下的

分派情形並重新分群。同時利用 INSTRUCT 進行分析，摒除 STRUCTURE 分析中，族群內基因座符合哈溫平衡的假設，取而代之，利用多基因座遺傳標誌估算族群於近親交配或自交情況下的基因型頻度，推估分群，消除 STRUCTURE 運算中可能產生的偽亞族群結構，提供近親交配值或自交值，以及個體可能起源族群之分類等資訊(Gao *et al.*, 2007)。利用 GENEAND 4.0.3(Guillot *et al.*, 2005a; 2005b)軟體進行分析，GENELAND 利用 MCMC 演算法為運算原理，主要目的為處理個體多基因座遺傳資料，其建立於空間顯式模式 (spatial explicit model) 基礎下，同時結合遺傳資料及地理資訊以評估族群遺傳結構並勾畫出空間組成(François and Durand, 2010; Guillot *et al.*, 2012)。GENELAND 利用 poisson-voronoi tessellation 的方式(Lantuéjoul, 2002)，以塊狀鑲嵌圖表示空間上遺傳結構間斷的亞族群分群情形，鑑定族群間存在的屏障 (boundary)，檢視族群近代 admixture 的情況。

本研究利用以上不同分群分析軟體，界定亞族群結構及其所包含之個體成員後，利用這些遺傳資料，結合族群年齡結構(如 DBH 資料)資訊與空間分布資料，進一步輔助界定遺傳保育單位及遺傳保育個體之挑選。

6. 臺灣穗花杉扦插繁殖方法與流程

臺灣穗花杉扦插試驗方面，延續“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫之第一年的扦插試驗，總計共進行八批次的扦插試驗。第一批至第五批為第一年計畫期間進行扦插試驗，第一批至第三批試驗均為室內扦插過程測試，並且使用商用發根計系統測試。第四批至第八批試驗為室外環境試驗，其中第一批次至第三批次效果不佳，其扦插方法已於臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)詳細記載敘述。第四批至第五批試驗，為諮詢屏東科技大學森林系相關專業學者意見後，同時間赴中部與南部不同民間園藝植栽業者進行考察環境與設施，所進行的改良扦插方法之前試驗(無指定重要保育單株進行扦插)，第六批至第八批為重要保育單株的扦插試驗。為了因應後續搬遷移動，以能夠保持環境潮濕度，避免環境因子因搬遷變動產生劇烈差異變化，以大型塑膠桶進行設備設計成為箱式栽植方式進行，以下就前試驗及其後的重要保育單株扦插試驗的扦插方法進行詳細敘述：

扦插結果進行相關統計分析，使用套裝軟體 Statistical Product and Service Solutions version 19 (SPSS ver. 19) 進行統計分析，選用變異數分析(Analysis of variance, ANOVA) 進行組內與組間分析與選用費雪最小顯著差異法(Fisher's least significant difference, LSD) 進行多重比較分析，檢測不同處理存活率結果及其顯著性分析，顯著性以 $p < 0.05$ 為顯著差異存在，比較各處理間之顯著性差異存在與否。

(1) 前試驗：(第四批、第五批：測試介質與發根藥劑)

a. 扦插材料：

- (a) 野外採集臺灣穗花杉母樹之健康且成熟的枝條，第四批母樹共三株，編號為 69、70、169，第五批母樹共五株，編號為 69、70、73、167、169，採集後浸潤切口，低溫保濕迅速帶回至實驗室後，將未木質化的中段及末段枝條作為扦插試驗用枝條，其中以輪生枝條(萌蘖枝條)為最優選擇，側生枝條次之，但因輪生枝條數量稀少，扦插枝條以側生枝條為主。本次採集大武事業區臺灣穗花杉自然保留區內之臺灣穗花杉枝條進行扦插前試驗，將採集的健康枝條剪成長約 10-25 cm 的小枝

條，枝條上的葉片無須過度修剪，只要將枝條下層的部分葉片拔除即可進行扦插作業。

(b) 介質：(使用五種不同的介質進行試驗)

(A 處理)泥炭土：珍珠石= 2：1。

(B 處理)頁岩脆化碎石：赤玉土：碳化稻殼：珍珠石= 2：2：1：1。

(C 處理)椰子纖維：碳化稻殼= 3：1。

(D 處理)頁岩脆化碎石。

(E 處理)直接插在沾濕的岩棉上保濕，並用此種方式直接進行發根。

(c) 藥劑：

發根的藥劑處理上主要是以 IBA、IAA、NAA 及中國林科院 ABT1 號生根粉四種藥劑為主。

b. 方法與流程：

(a) 發根之藥劑處理：

IBA、IAA、NAA 三項生長調節處理方面，將此三項藥劑 10000ppm 的母液稀釋成 2000ppm 之試驗濃度，並將欲扦插枝條的底部浸泡藥劑約 30 秒(or 1 分鐘)後，晾乾 10 多分鐘，使藥劑吸收，進行扦插(IBA 與 IAA 兩種藥劑皆同時搭配 NAA 進行處理)。ABT1 號生根粉處理方面，參考陳兆鳳於 2006 年發表之穗花杉扦插試驗文章，利用中國林科院生產的 ABT1 號生根粉，將 1000 ppm 的母液稀釋成 200ppm 之試驗濃度，並浸泡約 2 小時候，進行扦插。

(b) 試驗設施：

將藥劑處理完成之枝條扦插於上述之 5 種栽培介質中，使用 2.5 寸加高透明軟盆(口徑 7.5 公分 x 盆高 8.2 公分 x 底徑 5.5 公分)進行試驗，以利發根情形的觀察，並將其置於大型橘色塑膠桶(常 76 公分 x 寬 55 公分 x 高 44 公分、140 公升)進行試驗，箱內裝發泡煉石，高度約 10 公分，並在發泡煉石之 2/3 高的地方打洞(協助排水)，將扦插完的小栽培盆放在上面，並在箱頂蓋上有打洞的透明塑膠布(協助透氣)，栽植的環境四周用百分之七十遮陰的園藝用黑網布覆蓋，進行遮光處理(圖十二)。

(c) 處理數目：

第四批為前試驗，僅進行 23 盆之少量扦插發根試驗，第五批為藥劑與介質測試試驗，進行 4 種不同藥劑處理，加上對照組(無任何藥劑處理)，配合 5 種不同介質處理，每種處理組合 16 個扦插枝條，共試驗 400 個扦插枝條 (5 處理 x 4 重複 x 5 介質 x 4 重複 = 400 試驗盆)。

(d) 管理與發根觀察：

i 濕度管理方面，在剛開始扦插的 1-2 個禮拜每天要噴水 2-3 次，後期每天噴一次水，維持箱內的濕度。

ii 溫度管理方面，於日間利用灑水系統及風扇將溫度維持於 25-27°C。

iii 殺菌劑使用方面，扦插完後馬上噴一次殺菌劑，之後每 10-15 天左右必須補噴一次殺菌劑(此循環約進行 3 次)，殺菌劑種類 2-3 種不同的殺菌劑替換使用[貝芬替(Carbendazim)-50%可濕性粉劑及亞托敏(Azoxystrobin)-23%水懸劑]。

iv 發根情形觀察方面，每批扦插試驗時間維持 3 個月以上，且參考陳兆鳳於 2006 年發表之文章提及穗花杉約在 3 個月左右開始發根，因此統一於扦插試驗滿 3 個月左右，進行發根之觀察與統計作業。

(2) 重要保育單株扦插試驗：[第六批、第七批、第八批：介質依據第四、五批結果使用 A 處理(泥炭土：珍珠石=2：1)、發根藥劑依據第四、五批結果使用 IBA、NAA]

a. 扦插材料：

(a) 野外採集臺灣穗花杉母樹之健康且成熟的枝條，回實驗室後，將未木質化的中段及末段枝條作為扦插試驗用枝條，其中以輪生枝條(萌蘖枝條)為最優選擇，側生枝條次之，但因輪生枝條數量稀少，扦插枝條以側生枝條為主。本次延續“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫，採集代表不同基因型(DG15-1 至 DG15-15)之重要保育單株進行扦插。將採集的健康枝條剪成長約 10-25 cm 的小枝條，枝條上的葉片無須過度修剪，只要將枝條下層的部分葉片拔除即可進行扦插作業。

(b) 介質：

扦插試驗所用之介質選用第五次扦插試驗結果之最佳的 A 處理介質—泥炭土：珍珠石=2：1。

(c) 藥劑：

發根的藥劑處理上選用第五次扦插試驗結果之最佳的兩種藥劑進行處理，分別為 IBA 及 NAA。

b. 方法與流程：

(a) 發根之藥劑處理：

IBA 及 NAA 生長調節劑處理方面，將藥劑 10000ppm 的母液稀釋成 2000ppm 之試驗濃度，並將欲扦插枝條的底部浸泡藥劑約 30 秒(or 1 分鐘)後，晾乾 10 多分鐘，使藥劑吸收，進行扦插。

(b) 試驗設施：

將藥劑處理完成之枝條扦插於上述之 5 種栽培介質中，使用 2.5 寸加高透明軟盆(口徑 7.5 公分 x 盆高 8.2 公分 x 底徑 5.5 公分)進行試驗，以利發根情形的觀察，並將其置於大型橘色塑膠桶(常 76 公分 x 寬 55 公分 x 高 44 公分、140 公升)進行試驗，箱內裝發泡煉石，高度約 10 公分，並在發泡煉石之 2/3 高的地方打洞(協助排水)，將扦插完的小栽培盆放在上面，並在箱頂蓋上有打洞的透明塑膠布(協助透氣)，栽植的環境四周用百分之七十遮陰的園藝用黑網布覆蓋，進行遮光處理(圖十二)。

(c) 處理數目：

2 種不同藥劑處理，加上對照組(無任何藥劑處理)，配合一種介質處理，視每個重要保育單株採集的健康枝條數多寡，平均搭配每種處理組合，第六批、第七批、第八批扦插之每個單株扦插數量分別為 5-17、5-25 和 8-36 個枝條數目(附錄三)，此三次重要保育單株扦插試驗分別共扦插 389、382 及 379 個扦插枝條。

(d) 管理與發根觀察：

- i 濕度管理方面，在剛開始扦插的 1-2 個禮拜每天要噴水 2-3 次，後期每天噴一次水，維持箱內的濕度。
- ii 溫度管理方面，於日間利用灑水系統及風扇將溫度維持於 25-27°C。
- iii 殺菌劑使用方面，扦插完後馬上噴一次殺菌劑，之後每 10-15 天左右必須補噴一次殺菌劑(此循環約進行 3 次)，殺菌劑種類 2-3 種不同的殺菌劑替換使用[貝芬替(Carbendazim)-50%可濕性粉劑及亞托敏(Azoxystrobin)-23%水懸劑]。
- iv 發根情形觀察方面，每批扦插試驗時間維持 3 個月以上，且參考陳兆鳳於 2006 年發表之文章提及穗花杉約在 3 個月左右開始發根，因此統一於扦插試驗滿 3 個月左右，進行發根之觀察與統計作業。

第三章 研究結果與討論

1. 臺灣穗花杉族群樣本收集

完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群樣本採集工作(其後以 CHCH 簡稱此族群)，採集自 5 個樣區，採集樣本數目分別為 82 (樣區簡稱：Cha-1)、55 (樣區簡稱：Cha-2)、91 (樣區簡稱：Cha-3)、96 (樣區簡稱：Cha-4) 及 59 (樣區簡稱：Cha-5) 個樣本，全樣本共計 383 個樣本(表一)，此次採集之樣本均有其植株海拔高度、經緯度座標、健康程度及胸高直徑(DBH)等記錄資料。圖一中顯示 2009 年臺灣穗花杉林木健康調查之 748 株臺灣穗花杉分布資料(林務局屏東林區管理處，2009)，而本次遺傳研究所採之實驗樣本涵蓋 2009 年調查之各主要樣區(圖一)。其後將野外採集之新鮮的嫩葉組織，以矽膠乾燥後，將樣本放置於密封的保鮮盒中，置於 4°C 冰箱保存，以便後續的 DNA 萃取工作。

此計畫之前一年度已完成大武事業區臺灣穗花杉自然保留區(族群代碼：DAWU)及大里力山東稜(1256 峰)西側族群(族群代碼：DL) 的野外族群分析工作，共計大武事業區臺灣穗花杉自然保留區(DAWU) 228 株和大里力山東稜(1256 峰)西側族群(族群代碼：DL) 67 株，二年期調查與採樣三區域共計 678 單株樣本。

2. 臺灣穗花杉 CHCH 族群之多型性微衛星體基因座中性基因座檢測

利用「臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)」所開發獲得的 15 組具有多型性之引子對(Am-3mer-5、14、16、71A、71B、114、117、118、124、143、197、239 及 Am-2mer-1-60、1-96、7-9)進行茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的基本遺傳資訊建構(表二)，其中共包含 9 組三核苷酸(trinucleotide)重複序列之引子對(其中 7 組為單一組合之三核苷酸重複序列；2 組為複合型之三核苷酸重複序列)、5 組雙核苷酸(dinucleotide)重複序列之引子對(其中 2 組為單一組合之雙核苷酸重複序列；3 組為複合型之雙核苷酸重複序列)及 1 組五核苷酸(pentanucleotide)重複序列之引子對。

利用 LOSITAN(Antao *et al.*, 2008)進行本次研究所選用之 15 組微衛星基因座的中性檢測，計算各基因座 F_{ST} 值和平均異型合子期望值以檢測這些基因座可能受到的天擇效應，結果顯示(圖二)，此 15 組多型性微衛星體基因座中有 1 個基因座呈現偏離，Am-3mer-117 基因座因遺傳變異度及分化程度過高，落於 95%信賴區間之外，呈現可能為受到正向天擇的基因座，但其值($P=1.0$)未達顯著($P > 0.05$)。因此 15 個基因座均視為中性演化之基因座，適用於後續相關分析研究。

3. 臺灣穗花杉遺傳多樣性分析

利用 15 組多型性微衛星體基因座(表二)進行臺灣穗花杉遺傳多樣性相關參數分析，包含對偶基因數目(number of different alleles: A)、有效對偶基因數目(number of effective alleles: A_E)、對偶基因豐富度(allelic richness: A_r)、特有對偶基因豐富度(private allelic richness: A_p)、異型合子觀測值(observed heterozygosity: H_o)和期望值(expected heterozygosity: H_e)，並且進行哈溫平衡檢測(表三)。分析結果顯示：

- (1) 有效對偶基因數目(A_E):全樣本分析之有效對偶基因數目(A_E)最高為 5.88 (Am-2mer-1-96), 最低為 1.47(Am-3mer-71A), 平均有效對偶基因數目(A_E)值為 3.31, 另將 5 樣區分別計算之結果顯示, 有效對偶基因數目(A_E)最高為 5.94 (Am-2mer-1-96: Cha-3), 最低為 1.04 (Am-3mer-71B: Cha-3), 平均有效對偶基因數目(A_E)值之最高值為 3.14 (Cha-3), 其最低平均值為 2.71 (Cha-2)。
- (2) 對偶基因豐富度(A_r):全樣本分析之對偶基因豐富度(A_r)值最高為 5.89 (Am-2mer-1-96), 最低為 2.01(Am-3mer-71B), 平均對偶基因豐富度(A_r)值為 3.87, 5 樣區分別計算之結果顯示, 對偶基因豐富度(A_r)最高為 6.17(Am-2mer-1-96: Cha-3), 最低為 1.29 (Am-3mer-71B: Cha-3), 平均對偶基因豐富度(A_r)之最高值為 3.73 (Cha-1), 其最低平均值為 3.30 (Cha-2)。
- (3) 特有對偶基因豐富度(A_p):以 5 樣區各別檢視其特有對偶基因豐富度(A_p)最高為 1.26(Am-3mer-197: Cha-1), 平均特有對偶基因豐富度(A_p)之最高值為 0.32 (Cha-1), 其最低平均值為 0.05 (Cha-2)。
- (4) 異型合子期望值(H_E)和異型合子觀測值(H_O):全樣本分析之異型合子期望值(H_E)為 0.31 至 0.83, 平均異型合子期望值(H_E)為 0.64; 異型合子觀測值(H_O)為 0.00 至 0.87, 平均異型合子觀測值(H_O)為 0.31。以 5 樣區分別計算之結果顯示, 異型合子期望值(H_E)為 0.16 至 0.79 (Cha-1)、0.34 至 0.76 (Cha-2)、0.04 至 0.83 (Cha-3)、0.21 至 0.83 (Cha-4)、0.20 至 0.83 (Cha-5), 平均值分別為 0.59 (Cha-1)、0.60 (Cha-2)、0.60 (Cha-3)、0.58 (Cha-4)、0.58 (Cha-5); 異型合子觀測值(H_O)為 0.00 至 0.96 (Cha-1)、0.00 至 0.96 (Cha-2)、0.00 至 0.91 (Cha-3)、0.00 至 0.89 (Cha-4)、0.00 至 0.94 (Cha-5), 平均值分別為 0.36(Cha-1)、0.30 (Cha-2)、0.30 (Cha-3)、0.28 (Cha-4)、0.29 (Cha-5)。

哈溫平衡檢測結果顯示(表三), 無論是全樣本進行檢測或各自將 5 樣區之族群進行檢測, 其結果均顯示所有基因座皆因異型合子嚴重喪失而顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)。

與前一年度 DAWU 族群及 DL 族群之遺傳多樣性相關參數相比較, 有效對偶基因數量(A_E) 分別為 1.08 至 5.29 及 1.07 至 5.33, 平均分別為 2.83 及 2.47; 異型合子觀測值(H_O) 分別為 0.00 至 0.95 及 0.00 至 0.96, 平均分別為 0.26 及 0.23; 異型合子期望值(H_E) 分別為 0.08 至 0.81 及 0.06 至 0.81, 平均分別為 0.59 及 0.54。在茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群之有效對偶基因數目(A_E) 最低為 1.47, 最高為 5.88, 平均值為 3.31; 異型合子觀測值(H_O)為 0.00 至 0.87, 平均值為 0.31; 異型合子期望值(H_E)為 0.31 至 0.83, 平均值為 0.64 之結果相較, 茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群有較高的有效對偶基因數量和異型合子觀測值, 顯示此區域臺灣穗花杉族群遺傳多樣性較 DAWU 族群及 DL 族群為高, 依據林務局屏東林區管理處(2009)「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書」, 此區域中調查族群數量為 748 株, 依據楊勝任 (2007)「臺灣穗花杉族群分布及植物社會之研究」中資料描述大武 39 林班民國 94 年資料為 762 株, 二地區族群數量相近, 但遺傳多樣性具有差異, 就此研究結果顯示茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群具有較高遺傳多樣性。

然而, 不論是 DAWU、DL 和 CHCH 族群在哈溫平衡檢測, 其結果均顯示所有基因座皆

因異型合子嚴重喪失而顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)。哈溫平衡檢測是分析族群是否受到某些演化機制的影響而使其偏離，如天擇作用、基因交流和基因漂變等，以進行後續物種內遺傳變異分析以及檢測族群內或族群間存在的遺傳結構等議題之探討，進而推估族群經歷的演化歷程。一般而言，野生物種應維持一定之對偶基因數量，例如裸子植物的 *Pinus pinaster* 為 23 至 31 個 (Mariette *et al.*, 2001)、歐洲赤松 (*P. sylvestris*) 及火炬松 (*P. taeda*) 的 10.33 個的 9.6 個 (Scalfi *et al.*, 2009)、歐洲紫杉 (*Taxus baccata*) 的 15.13 個 (Dubreuil *et al.*, 2010)、喜馬拉雅紅豆杉 (*Taxus wallichiana*) 的 2.9 個 (Yang *et al.*, 2009)、關島兩種蘇鐵為 2 至 7 和及 5 至 15, (Cibria'n-Jaramillo *et al.*, 2008)、臺東蘇鐵、琉球蘇鐵、德寶蘇鐵分別為 1 至 9、1 至 11、1 至 15 (Ju *et al.*, 2011)、雲南穗花杉為 2 至 9 (Miao *et al.*, 2008)、桃實百日青、叢花百日青、大葉羅漢松、小葉羅漢松和蘭嶼羅漢松之對偶基因數目分別為 5 至 7、1 至 13、1 至 14、1 至 13 和 1 至 8 (Chiang *et al.*, 2011)、攀枝花蘇鐵對偶基因數目為 2-5 (Zhang *et al.*, 2010)，臺灣油杉大武族群之對偶基因數目則為 5 至 14，平均為 8.88 (Ho *et al.*, 2014)。合併二年資訊，臺灣穗花杉平均對偶基因數量(A)最低 2.00、最高 14.00，平均為 6.53，相當於雲南穗花杉，高於喜馬拉雅紅豆杉的 2.9 個，但是低於其他裸子植物，顯示臺灣穗花杉的對偶基因數量呈現低值，另外將 DAWU、DL 和 CHCH 族群進行哈溫平衡檢測呈現顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)，其異型合子觀測值(H_o)皆遠小於異型合子期望值(H_e)，顯示異型合子呈現喪失現象，這現象推測族群受到配對系統之近親繁殖現象，導致基因漂變效應產生。

4. 臺灣穗花杉分子變異分析與遺傳分化估算

遺傳結構的檢測中，以分子變異分析(AMOVA)分析及 F 統計進行茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群內遺傳分化情形檢測，將 5 樣區(Cha-1 至 Cha-5)視為 5 個不同族群，分析其內遺傳變異來源以及其遺傳差異結果顯示(表四)，臺灣穗花杉之 CHCH 族群遺傳變異大多存在族群內及個體間，累積遺傳變異分別達 44.35%及 46.70%。其不同族群間遺傳變異極少(8.95%)。此結果顯示在微衛星體基因座之結果，遺傳變異主要保存在族群內個體間。經由顯著性檢測結果顯示，在族群間和族群內個體間所佔的遺傳變異皆達到顯著性，此結果顯示臺灣穗花杉在族群間雖然其遺傳變異所佔比例低(8.95%)，二族群間仍存在差異性，顯示此二族群仍存在差異結構。計算 F 統計之分化指數，檢測族群遺傳分化程度，計算不同層次下的固定指數(fixation indices)，其分別評估 F_{ST} 、 F_{IS} 及 F_{IT} 等固定指數，並檢定其 95% 信賴區間(confidence interval)以評估其顯著性，檢測結果顯示(表四)，族群間的分化指數(F_{ST})值為 $F_{ST} = 0.09$, $P < 0.05$ ，顯示臺灣穗花杉 5 族群間有族群遺傳結構存在，但分化程度低， F_{IS} 檢測族群內個體間的分化指數，以檢視族群近親交配程度的指標，當 $F_{IS} > 0$ 時，表示族群可能有近親交配的現象；反之 $F_{IS} < 0$ 時，則表示可能有遠親交配的情況產生， F_{IT} 則是檢測族群間近親交配程度的指標。檢測結果顯示(表四) F_{IS} 及 F_{IT} 均大於 0 ($F_{IS}=0.49$, $F_{IT}=0.53$)，所有數值皆具顯著性 ($P < 0.05$)，表示族群處於近親繁殖(inbreeding)狀態。

與前一年度 DAWU 族群及 DL 族群之 F 統計結果相比較，族群間的分化指數(F_{ST})值為 0.05, $P < 0.05$ ，顯示族群有分化，但分化程度低，此結果與今年度 CHCH 之結果相類似，顯示臺灣穗花杉在不同地區皆呈現有族群遺傳結構存在，但分化程度低的現象。DAWU 族群及 DL 族群的 F_{IS} 及 F_{IT} 均大於 0 ($F_{IS}=0.56$, $F_{IT}=0.58$)，與 CHCH 結果相同，且所有數值皆具顯著性 (P 值均小於 0.05)， $F_{IS} > 0$ 表示族群處在近親交配(inbreeding)狀態，故顯示臺灣穗花杉族群之

個體間，推測因為雌雄植株授粉不均勻，雄株花粉發散應有距離限制，導致可能存在近親繁殖的問題。一般而言， F 統計下自交係數的提高，常常和棲地破碎化相關，自然的棲息環境因外在的力量或影響而被切割為各自分離的小區塊 (Trocmé *et al.*, 2003)。當棲地遭受到外力干擾而產生破碎化的時候，原始生存於該棲地的生物也隨之被限制在破碎化的棲地內，地理隔離與遷移能力的降低，可能使原本為同一族群的生物被切分為不同族群，當一個有效族群的大小發生縮減時，其基因間的交流會降低(Couvet, 2002)，族群內的遺傳漂變機率提高(Ellstrand and Elam, 1993)，增加了近親交配的機會(Keller and Waller, 2002)，形成華倫效應(Allendorf and Luikart, 2007)，進而導致遺傳訊息的缺失，Vranckx 等人(2012)分析 98 個木本植物資料，顯示當棲地破碎化後，遺傳多樣性隨之降低。因為當形成小而孤立的族群時，伴隨而來的就是隨機遺傳漂變、自交現象或近親繁殖和降低基因交流能力，導致快速的遺傳變異降低 (Aguilar *et al.*, 2008)。進一步而言，在破碎化的棲地環境下，族群大小與密度影響授粉者移動(Kunin 1993; Kunin, 1997)，導致花粉來源與距離的限制(Oster and Eriksson, 2007)，進一步而言，上述顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)與異型合子觀測值(H_o)皆遠小於異型合子期望值(H_e)之異型合子顯著缺失， F_{IS} 係數呈現偏高的正值，此現象造成的因素推測為近親繁殖(inbreeding)造成 (Charrier *et al.*, 2014)。

5. 臺灣穗花杉族群之有效族群大小與基因交流程度評估

為評估臺灣穗花杉總體的現有族群之有效族群大小及族群彼此間的基因交流程度等資訊，故分析現有之三大族群[茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)、大武臺灣穗花杉自然保留區(DAWU)及大里力山東稜(DL)之臺灣穗花杉族群]並利用 Isolation with migration analysis(IMa)進行臺灣穗花杉之祖先族群之有效族群大小(N_A)及現生族群之有效族群大小(N_1 、 N_2)評估，亦評估其雙向的基因交流程度($M_{1 \rightarrow 2}$ 、 $M_{2 \rightarrow 1}$)。因臺灣穗花杉無直接相關物種之微衛星體的突變速率的計算，因此突變速率的使用方面，參考現有紀錄之植物微衛星體的突變速率做為參考依據，此次選用美西側柏(*Thuja plicata*)之突變速率 6.3×10^{-4} (3.0×10^{-5} - 4.0×10^{-3})(O'Connell and Ritland K 2004)，取其相對範圍，進行相關係數轉換。分析結果顯示(表五、圖三)， N_A (祖先族群之有效族群大小)值平均為 16145.2 (95% confidence interval 12804.84-17258.69)[上下限之值介於 2542.869 (95% confidence interval 2016.763-2718.244) 至 339049.2 (95% confidence interval 268901.7-362432.5)]，CHCH 族群的現生族群之有效族群大小(N_1)值平均為 27.8175 (95% confidence interval 9.2857-250.5159)[上下限之值介於 4.3813 (95% confidence interval 1.4625-39.4563) 至 584.1667 (95% confidence interval 195-5260.833)]，DAWU 及 DL 族群的現生族群之有效族群大小(N_2)值平均為 9.8016 (95% confidence interval 4.2063-1131.865)[上下限之值介於 1.5438 (95% confidence interval 0.6625-178.2688) 至 205.8333 (95% confidence interval 88.3333-23769.17)]，以上數值均達收斂(圖三)。檢測結果顯示 CHCH 族群之有效族群大小遠大於 DAWU 及 DL 族群之有效族群大小，但是相較於祖先族群之有效族群大小，其現生族群之有效族群大小的數量明顯萎縮，顯示臺灣穗花杉族群面臨嚴重的族群極度收縮問題。

此外，進一步利用 LDNe 分析軟體協助評估本次研究之重點族群茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)內之臺灣穗花杉的有效族群大小，LDNe 利用連鎖不平衡的計算，進行有效族群大小之相對值的估算，LDNe 利用不同評估標準將稀有對偶基因(rare alleles)摒除而不

列入評估，有利於具有高度多型性的遺傳標記(ex:微衛星體標記)之有效族群大小估算，且其不以隨機交配等假設為前提進行評估，使其有效族群之評估適用於真實的自然族群情形(Waples and Do, 2008)。LDNe 估算有效族群大小的前提為使用中性基因座、族群間的關係近且世代不重疊，且不易受到高遷移率(high migration rate)之影響(Waples and England 2011)，此些假設前提與本次研究之臺灣穗花杉的情形幾盡相符，故此次利用 15 組中性演化之微衛星體基因座估算連鎖不平衡，進行有效族群之評估，其計算結果列於表六，其使用三種不同最低對偶基因頻度以摒除稀有對偶基因，分別為頻度低於 0.05、0.02 和 0.01。以 CHCH 族群總體檢測之計算而言，有效族群大小(N_e)在三種不同評估條件下之值分別為 94.4 (95% CIs 74.4-141.0)、102.1 (95% CIs 78.7-134.2)、105.1 (95% CIs 81.8-136.9)。分別檢測其內之 5 樣區之計算結果，Cha-1 之有效族群大小(N_e)的值介於 55.7-62.6、Cha-2 之有效族群大小(N_e)的值介於 25.2-30.3、Cha-3 之有效族群大小(N_e)的值介於 45.6-73.1，Cha-4 之有效族群大小(N_e)的值介於 30.0-45.7，Cha-5 之有效族群大小(N_e)的值介於 45.2-66.7。由此分析結果對照 IMA 分析之有效族群大小的結果，臺灣穗花杉之現生族群的有效族群大小均偏低。

依據臺灣穗花杉外部形態特徵，其雄毬形態應為風媒花，花粉散發主要以風為媒介，可進行長距離傳播，但就野外觀察與前人研究，穗花杉的結種率低，可能因素為花粉抵達雌毬後成功受精機率低，導致其無法正常發育成種子，因此基因交流無法順利完成，此種胚敗育或胚珠敗育而導致受精胚發育失敗的情況於台灣杉(*Taiwania cryptomerioides*) (Chen *et al.*, 2006)、歐洲赤松(*Pinus sylvestris*) (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004)、加拿大紅豆杉(*Taxus canadensis*) (Wilson *et al.*, 1996) 及花旗松(*Pseudotsuga menziesii*) (Owens *et al.*, 1991) 等物種中均有類似的研究報告。然而，臺灣穗花杉世代時間長，且易形成無性繁殖方式的萌蘖生長，世代間重疊時間亦長，不順暢之基因交流易導致近親間授粉機率大增，進而導致遺傳漂變現象產生，在微衛星體基因座檢測，其異型合子觀測值(H_o)遠低於異型合子期望值(H_e)，顯示族群內個體同型合子比例高，此易造成族群潰敗。

利用 IMA 計算臺灣穗花杉的雙向基因交流方面，結果顯示(表五、圖三)，由 CHCH 族群→DAWU & DL 族群($M_{1\rightarrow 2}$)的基因交流值平均為 0.0005 (95% confidence interval 0.0002-0.0978)[上下限之值介於 0.00002 (95% confidence interval 0.000007- 0.0047)至 0.0029 (95% confidence interval 0.001- 0.6211)]，DAWU & DL 族群→CHCH 族群($M_{2\rightarrow 1}$)的基因交流值平均為 0.0001 (95% confidence interval 0.0006-0.1295)[上下限之值介於 0.000004 (95% confidence interval 0.00003-0.0062) 至 0.0005 (95% confidence interval 0.0035- 0.8225)]。檢測結果顯示彼此基因交流程度極低，其中 CHCH 族群→DAWU & DL 族群之基因交流值略大於 DAWU & DL 族群→CHCH 族群之基因交流值。由極低之基因交流值可推測兩族群間應具有遺傳分化的現象，然而對應 F_{ST} 值顯示其兩族群間具有極低的遺傳分化，此情況可由兩族群間分歧時間(T)極低[平均值 0 (95% confidence interval 0-19.048)](表五、圖三)之結果推測兩族群現在仍為一連續族群，然而，由極低之基因交流及明顯萎縮的有效族群大小等資訊可推測長期以後，二者間之分化程度會持續上升，增加小族群產生的可能性，可能面臨更加強烈的遺傳漂變等影響，增加滅絕危機。

6. 臺灣穗花杉主座標分析(PCoA)結果

利用 GenAlex 進行主座標分析(PCoA)，檢視茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群在各座標軸分布的情形，以遺傳距離進行 PCoA 主座標分析其結果顯示第一軸值佔 20.39%、第二軸值佔 19.16%、第三軸值佔 17.36%，合計前三軸佔 56.92%遺傳變異(詳見於圖四)。由圖四的分群圖顯示臺灣穗花杉 CHCH 族群的 5 個樣區之間(Cha-1~ Cha-5)無明顯的分群情況，個體均隨機散佈於四象限中，其中 Cha-1 及 Cha-4 經 3D 轉向後可見群聚現象，但仍有遺傳組成重疊現象，此結果與後續的分群分析檢測有相符合的結果。其餘分群則呈現分散現象，如同上述遺傳分析中顯示的遺傳變異度低而不足以將彼此區分開，顯示個體間彼此的遺傳關係相當接近。

7. 臺灣穗花杉隱蔽性(cryptic)族群遺傳結構分析

為了探討茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的分群關係，以及其內可能存在之遺傳單位，使用 STRUCTURE、INSTRUCT 和 GENELAND 三種以 Bayesian 分群方法為基礎的統計軟體進行分派檢定。分析結果詳列於表七及圖五，以下就此三種分析之分群數結果列項於下：

- (1) STRUCTURE：STRUCTURE分析是從個體階層計算對偶基因頻度，分析樣本的基因差異並進行分群分析，並根據likelihood值的事後機率及 ΔK 值判斷最佳的分群結果。分析結果顯示，以 ΔK 值進行檢視，CHCH族群在2分群時有最高 ΔK 值(129.42)(表七、圖五)其次在3分群，其 ΔK 值為89.27(表七、圖五)，第三高之 ΔK 值出現在第4分群，其 ΔK 值為52.95(表七、圖五)，此外在 $K=8$ 時亦有出現高峰，其 ΔK 值為4.25(表七、圖五)， $K=8$ 分群的結果與 GENELAND分群結果一致。由STRUCTURE分析顯見CHCH族群內的亞族群結構不穩定且複雜(圖五)，因此分析至 $K=20$ 時其變動仍未完全收斂，但由圖五可見其 $K=8$ 之後的分群結果雖未穩定，但其後的 ΔK 值均小於此分群值。STRUCTURE分析結果的遺傳組成結構顯示在圖六中。
- (2) INSTRUCT：利用INSTRUCT分析推估族群於近親交配或自交情況下的基因型頻度，以此推算分群，加以佐證STRUCTURE的分群結果，並摒除STRUCTURE 運算中可能產生的偽亞族群結構，INSTRUCT分析之判斷最佳分群值方法為使用最小偏差信息準則(deviance information criterion, DIC)和最大平均likelihood值[Mean LnP(K)]為依據，然因其使用likelihood值不易辨別最佳之分群結果，因此參考STRUCTURE之 ΔK 值的計算，轉換likelihood值，以輔助判別最佳分群結果。分析結果顯示，在2分群時有最高 ΔK 值(0.1026)(表七)，但若以likelihood值和DIC值檢視結果在18分群時出現最小DIC值(16213.84)和最大Mean LnP(K)值(-8106.92)(表七)，由此亦可見CHCH族群遺傳結構的複雜性。INSTRUCT分析結果的遺傳組成結構顯示在圖六中。
- (3) GENELAND：GENELAND分析為結合多基因座遺傳資料及相關之族群地理空間資訊，加以評估實際的亞分群地理結構，輔助界定不同基因型家族結構及遺傳保育單位，此分析藉由評估最高likelihood值以做為最佳分群評估之依據。分析結果顯示支持8分群，且事後機率均超過40%，顯示在8分群時有最高之可信度(圖五)。此分群結果於STRUCTURE分析中亦有出現。GENELAND分析於地理分布上的分群實際情形顯示在圖七的熱點圖中

綜觀 3 種不同的分群分析結果顯示這些分群分析結果雖然不盡相同，但仍可發現部分一

致性的結果。以 STRUCUTE 及 INSTRUCT 分析最均可支持將 CHCH 族群區分為 2 分群，STRUCUTE 及 GENELAND 均可進一步將此族群細分為 8 分群。STRUCUTE 及 INSTRUCT 分群結果比較 (圖六)，可發現其分群結果一致性高(STRUCTURE-K=2 與 INSTRUCT-K=2)，且 INSTRUCT 摒除 STRUCTURE 運算中可能產生的偽亞族群結構，並提高了相同分群下的準確度，故於後續與 GENELAND 分析結果比較時，採用 INSTRUCT 的分析結果做進一步分群比較分析。此外，因 GENELAND 分析結合了地理資訊加以分群，且其分群數於 STRUCUTE 亦可獲支持，故於後續基因型家族的界分與種原母樹林族群的挑選部分，以 8 分群為依據，尤以 GENELAND 之分群結果為主要依據，因其同時結合遺傳資料及地理資訊進行評估，故於基因型家族的界分與種原母樹林族群的挑選上更具實質意義。

一般而言，裸子植物因為世代長、世代間容易互相授粉等問題，導致族群在短距離內具有顯著的細微尺度遺傳結構(或稱為空間遺傳結構)問題存在(Pandey and Rajora, 2012)，人為干擾和族群破碎化會顯著影響的此類小尺度的遺傳結構的裸子植物，譬如 *Thuja occidentalis* (Pandey and Rajora, 2012)、*Pinus elliottii* var. *densa*(Williams *et al.*, 2007)、*Pinus pinaster*(De-Lucas *et al.*, 2009)，此類裸子植物皆有混和交配問題(mixed-mating)，即存在近親繁殖(inbreeding)與異交(outbreeding)現象，同時，此類裸子植物種子傳播範圍小，以平均鄰域大小(mean neighborhood size)方式檢測，此類植物在中心族群之平均鄰域大小大於邊緣族群(Pandey and Rajora, 2012)，導致遺傳區隔呈現區塊化現象，此類區塊化的鑑別與物種遺傳資源保育具有重要的訊息(Pandey and Rajora, 2012)。同時，植物結構對於風媒植物種類的授粉和配對是非常重要的因子，在低密度族群之瀕危物種 *Abies pinsapo* 的樹冠結構對於花粉傳播、配對系統和子代質量研究顯示，其花粉平均傳播距離僅為 113 至 227 公尺，樹高與相對樹冠高度影響配對成功機率，同時底部種子含有胚的比例與自交比例遠高於頂部種子，顯示此類低密度分布裸子植物為因應花粉傳播問題而呈現自交比例提高問題(Sánchez-Robles *et al.*, 2014)。由此而言，臺灣穗花杉為雌雄異株植物，面對花粉傳播上會比雌雄同株植物更為嚴峻，族群密度的維持與授粉成功之間，推估應呈正比現象存在，由上述相關研究推測，臺灣穗花杉族群呈現區塊化後，地區間的族群遺傳物質交換機率應降低，族群內因為近親授粉繁殖，導致族群授到遺傳漂變影響而呈現族群內累積遺傳變異，族群間開始累積遺傳分化現象，因此，此類區塊化的鑑別與物種遺傳資源保育具有重要的訊息(Pandey and Rajora, 2012)。

8. 臺灣穗花杉基因型家族鑑定與重要遺傳保育個體選取

利用上述分群結果的組成進一步評估基因型家族，由圖六可詳見其各分群組成的分布情形。結合上述三種不同分群軟體(STRUCUTE、INSTRUCT 和 GENELAND)之分析結果，界定不同之亞族群結構組成及其內所包含之個體，並結合年齡資訊，篩選出重要之現地與異地遺傳保育個體。綜合準確度較高的 INSTRUCT 分析，與結合地理資訊資料與遺傳資料進行分析的 GENELAND 分析結果，進行不同分群下之遺傳單位鑑定。此次分析結果顯示，GENELAND 因結合地理資訊資料與遺傳資料進行分析，其分群數目較 INSTRUCT 高且具地理分布上的參考意義，因此以 INSTRUCT 的 2 分群為基礎，再將 GENELAND 分群結果(CG-8-1~CG-8-8)分別於 INSTRUCT 的 2 分群結果(CI-2-1~CI-2-2)下進行分群基因型組成檢視，藉以比較並整合兩分群分析結果(圖八)。

由圖八顯示(各樣區內基因型比例圖)，以 K=2 情況下進行不同分析方法的結果比較分析(因 INSTRUCT 與 STRUCTURE 分析均高度支持 K=2)，由圖十顯示，在 INSTRUCT 分析結果的基因型 CI-2-1 與 CI-2-2 下，分別在 GENELAND 分群分析可以被進一步建構出更細部的分群，列述各樣區的比較結果於下：

- (1) Cha-1：於 INSTRUCT 分析中此區存有兩群基因型(CI-2-1 與 CI-2-2)，其中 CI-2-1 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在三型基因型(CG-8-5、CG-8-7 及 CG-8-8)，CI-2-2 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在兩型基因型(CG-8-5 及 CG-8-8)，CG-8-5 在五個區域中均有存在，CG-8-8 在 Cha-3 和 Cha-4 區域中均有存在，CG-8-7 為 Cha-1 區域所獨有的一群基因型家族。
- (2) Cha-2：於 INSTRUCT 分析中此區存有兩群基因型(CI-2-1 與 CI-2-2)，其中 CI-2-1 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在一型基因型(CG-8-6)，CI-2-2 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在三型基因型(CG-8-1、CG-8-5 及 CG-8-6)，CG-8-1 在 Cha-5 區域中亦有存在，CG-8-6 在 Cha-3 區域中亦有存在。
- (3) Cha-3：於 INSTRUCT 分析中此區存有兩群基因型(CI-2-1 與 CI-2-2)，其中 CI-2-1 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在四型基因型(CG-8-3、CG-8-5、CG-8-6 及 CG-8-8)，CI-2-2 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在一型基因型(CG-8-3)，CG-8-3 為 Cha-3 區域所獨有的一群基因型家族。
- (4) Cha-4：於 INSTRUCT 分析中此區存有一群基因型(CI-2-1)，CI-2-1 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在四型基因型(CG-8-2、CG-8-4、CG-8-5 及 CG-8-8)，CG-8-2 和 CG-8-4 為 Cha-4 區域所獨有的兩群基因型家族。
- (5) Cha-5：於於 INSTRUCT 分析中此區存有兩群基因型(CI-2-1 與 CI-2-2)，其中 CI-2-1 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在兩型基因型(CG-8-1 和 CG-8-5)，CI-2-2 基因型組成在 GENELAND 分群檢測結果存在兩型基因型(CG-8-1 和 CG-8-5)。

由圖七的熱點圖和圖八的圓餅圖比較中雖然顯示在 GENELAND 分析中，基因型 CG-8-1~CG-8-8 中，僅有 CG-8-2、CG-8-3、CG-8-4 及 CG-8-7 為不同區域中所獨有的基因型家族，不與其餘區域共享基因型，但是由圖六的直條圖(圖六右上)和圖七的熱點圖均可見其五個區域間均僅有少數個體有混雜其餘基因型的情況，不同區域間大部分仍分屬有其獨有的基因型家族。此分群檢測結果與 PCoA 的檢測結果(Cha-1 及 Cha-4 的群聚現象)有所相互呼應。另外與遺傳多樣性分析中 Cha-1 擁有最高的特有對偶基因豐富度(A_p)，Cha-1 特有對偶基因豐富度(A_p)最低的結果亦有所相呼應。由於 CHCH 族群於分群分析中顯示的亞族群結構不穩定及複雜性(圖五)，因此，亦進一步檢測各區域在 GENELAND 分析結果中的各型基因型家族於 INSTRUCT 分析之 K=18 結果下的組成，並列表於表八。由表八顯示 GENELAND 分析下的各區域各基因型大多被進一步細成不同的遺傳單位，由此可見 CHCH 族群可能存在的隱蔽性(cryptic)族群遺傳結構。本次分群結果 INSTRUCT 進一步降低了 STRUCTURE 分析的雜訊，但分群結構仍不及 GENELAND 的清楚及有地理分布上的意義，故仍以 GENELAND 所檢測出的八型基因型家族為 CHCH 族群的遺傳單位，進一步進行重要遺傳保育個體的挑選。

在現地保育方面，以大樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，大樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有胸高直徑(DBH)資料為參考(圖九)，以挑選 DBH 大於 10cm 為主要挑選對象，並參考健康等級的資料進行重要保育個體的挑選，健康等級的標準同 2009 年「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書」所訂定之”1”為枯死、”2”為不健康、”3”為產生劣化、”4”為健康、”5”為很健康，於挑選上以健康等級 4 及 5 為優先挑選對象。然而因某些遺傳單位組成中，僅存在少數個體，例如 CG-8-8 僅有 4 個體，故挑選上不考慮此項標準。此次共挑選出 24 單株樣本表列於附錄一。

在異地保育方面，因為規劃進行扦插繁殖方式保存最大遺傳變異，考慮繁殖成功機率，以中樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，而中樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有 DBH 資料為參考(圖九)進行挑選，以挑選 DBH 大於 5cm 為主要挑選對象，並參考健康等級的資料進行重要保育個體的挑選，健康等級的標準同 2009 年「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書」所訂定之”1”為枯死、”2”為不健康、”3”為產生劣化、”4”為健康、”5”為很健康，於挑選上以健康等級 4 及 5 為優先挑選對象。然而因某些遺傳單位組成中，僅存在少數個體，例如 CG-8-8 僅有 4 個體，故挑選上不考慮此項標準。此次共挑選出 23 單株樣本表列於附錄二。

由於 CG-8-8 遺傳單位內的個體數少，因此挑選之現地與異地遺傳保育個體會重複的情況發生，其餘個體挑選上均無重複。整合所挑選之重要遺傳保育個體，將其分布情況詳細標示於地圖上(圖十)。

9. 臺灣穗花杉扦插繁殖與成效統計分析

臺灣穗花杉扦插試驗方面，延續“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫之第一年的扦插試驗，持續進行存活之扦插枝條照護工作，重要保育單株試驗目標設定在每個挑選單株需有 2 棵以上的成功扦插枝條，原定依“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫中所挑選的 38 棵單株進行移地扦插，但考量現場作業及部分植株編號或已遺失或健康狀態不良，因此根據遺傳資訊於現場重新進行挑選並採集(相關試驗樣本的遺傳資訊及基礎資料列於附錄四)。目前多數單株之扦插成功枝條已達 2 棵以上的目標，不足的基因型均已於後續補採集並扦插，截至 2015.02.24 為止，所有基因型均已扦插成功並達目標棵數。重要保育單株試驗之存活率成效良好，且陸續觀察到發根情形，詳見圖十三，且存活植株之健康情況良好。

相關統計分析部分，總計共進行八批次的扦插試驗，其中第一批至第三批試驗均為室內試驗，且最後總共僅剩下 8 個植株，因此這三次前試驗並不列入後續統計分析及討論。第四批至第八批試驗為室外環境試驗，其採集及扦插日期與高雄當月平均溫度及相對溼度資料列於表九。總計共八批次的扦插試驗尚有 624 扦插枝條存活(統計截至 2015.02.24)，包含 54 棵重要保育單株母樹，其母樹編號、相關資訊及存活數目列於表十，相關統計數據列於表十一~表十三，除第五批扦插前試驗為前期多個不同藥劑與介質處理，且無重複處理，無法進行表十一和表十三的統計，僅進行 ANOVA 檢定。各處理存活率趨勢呈現於圖十一，扦插設施及扦插發根情形呈現在圖十二及圖十三。以下就第四批至第八批次試驗結果列述：

- (1) 第四批次扦插試驗：第四批臺灣穗花杉扦插試驗於 2013.06.26 開始進行，此批次為少量前測試，扦插試驗的枝條數目不多，僅有 23 盆，且為五種不同的栽植介質加上單一藥劑的隨機處理，重複數不足，故不列於後續的相關統計分析。此批扦插枝條截至 2015.02.24 已扦插將近 20 個月，尚有 10 株扦插枝條存活，存活率 43.48%，且均已發根，枝條與葉片的健康度佳。
- (2) 第五批次扦插試驗：第五批臺灣穗花杉扦插試驗於 2013.10.02 採集，並於 2013.10.03 開始扦插，第五批之扦插試驗使用 IBA、IAA、NAA 及中國林科院 ABT1 號生根粉四種藥劑，加上對照組(無任何藥劑處理)，搭配五種不同的栽植介質，每種處理組合 16 個扦插枝條，共試驗 400 個扦插枝條。截至 2015.02.24 已扦插將近 16 個多月，尚有 138 株扦插枝條存活，存活率 34.5%。第五批次扦插試驗於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢呈現於圖十一，由圖中的趨勢圖顯示，多數處理於扦插前三個月之存活率大幅下降，之後趨於穩定，僅岩棉處理(E 處理)的實驗組別於六個月後始趨於穩定，此外於圖十一趨勢圖中可見在 2014.08.24 時間點前後有另一波存活率下降的趨勢，此次下降的原因為期間栽植環境移交的因素，導致部分處理的植株大幅度死亡，且因扦插其間遇 5-9 月之悶熱氣候，造成扦插植株於扦插 3 個月後之穩定期的期間大量死亡。此批次試驗仍非特定重要保育單株的扦插試驗，為前期多個不同藥劑與介質處理，且無多重處理，故僅進行 ANOVA 檢定，檢定結果顯示(表十二)，於試驗至二~三個月左右進行統計，顯示各處理間的扦插繁殖存活率具有顯著性差異($P=0.026$)，然而在後期統計顯示各處理間的扦插繁殖存活率不具有顯著性差異($P=0.118$)。圖十一趨勢圖中可見存活率最佳的發根藥劑為 IBA，其次為 ABT、CK(無處理)及 NAA，此批次扦插試驗約在三個月左右可觀察到發根的枝條，目前多數枝條均已發根，且發根情況良好(圖十三 C、D)。
- (3) 第六批次扦插試驗：第六批臺灣穗花杉扦插試驗於 2014.02.15 採集，並於 2014.02.16 開始扦插，第六批之扦插試驗使用發根的藥劑處理上選用“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫中試驗結果之最佳的兩種藥劑進行處理，分別為 IBA 及 NAA，雖 ABT 效果亦佳，但考量日後試驗藥劑取得之方便性，仍使用 IBA 及 NAA 進行扦插試驗。此批次扦插試驗共採集 32 個重要保育單株進行扦插(DG15-1 至 DG15-15 的基因型大多已包含，仍缺少基因型 DG15-5、DG15-8 和 DG15-10 之植株)，共扦插 389 個枝條，目前僅剩 67 個枝條，其各處理的平均存活率分別為 IBA: 18.4764%、NAA: 17.9461%及 CK(對照組): 11.5152% (表十一)。第六批次扦插試驗於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢呈現於圖十一，由圖中的趨勢圖顯示，多數處理於扦插前三個月之存活率大幅下降，之後趨於穩定，此外於圖十一趨勢圖中可見在 2014.08.24 時間點前後有另一波存活率下降的趨勢，此次下降的原因為期間栽植環境移交的因素，導致部分處理的植株大幅度死亡(同第五批的移交時間點)，同時因扦插其間遇 5-9 月之悶熱氣候，造成扦插植株於扦插 3 個月後之穩定期的期間存活率略為下降，目前已漸趨穩定，然亦因此因素導致此批次試驗的整體存活率偏低。另外進行 ANOVA 檢定結果顯示(表十二)，於試驗至二~三個月左右進行統計及後期統計均顯示各處理間的扦插繁殖存活率不具有顯著性差異($P=0.502$ 及 $P=0.405$)。LSD 法多重比較結果之亦顯示各處理間亦均不存在顯著性差異(表十三)。此批次扦插試驗約在三個月左右可觀察到發根的枝條，目前多數枝條均已發根，

且發根情況良好(圖十三 B)。

- (4) 第七批次扦插試驗：第七批臺灣穗花杉扦插試驗於 2014.10.07 採集，並於 2014.10.08 開始扦插，本批次目的為補充第六批扦插試驗所欠缺的基因型及未達目標棵數的基因型。此批次扦插試驗共採集 21 個重要保育單株進行扦插，共扦插 382 個枝條，目前剩 193 個枝條，其各處理的平均存活率分別為 IBA：44.2457%、NAA：52.8119%及 CK(對照組)：65.4767% (表十一)。第七批次扦插試驗於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢呈現於圖十一，由圖中的趨勢圖顯示，多數處理於扦插前三個月之存活率大幅下降，之後存活率漸趨穩定。另外進行 ANOVA 檢定結果顯示(表十二)，於試驗至二~三個月左右進行統計，顯示各處理間的扦插繁殖存活率具有顯著性差異($P=0.021$)，然而在後期統計顯示各處理間的扦插繁殖存活率不具有顯著性差異($P=0.085$)。LSD 法多重比較結果之顯示 IBA 與 CK 處理間存在顯著性差異($P=0.028$)，IBA 和 NAA 處理間不存在顯著性差異($P=0.366$) (表十三)。此批次扦插試驗約在三個月左右可觀察到發根的枝條，目前發根情況良好(圖十三 A)，枝條與葉片的健康度佳。
- (5) 第八批次扦插試驗：第八批臺灣穗花杉扦插試驗於 2014.11.17 採集，並於 2014.11.18 開始扦插，本批次目的為補充第六批及第七批扦插試驗後仍欠缺的基因型及未達目標棵數的基因型。此批次扦插試驗共採集 16 個重要保育單株進行扦插，共扦插 379 個枝條，目前剩 208 個枝條，其各處理的平均存活率分別為 IBA：48.9300%、NAA：56.8838%及 CK(對照組)：75.5800% (表十一)，第八批次扦插試驗於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢呈現於圖十一，由圖中的趨勢圖顯示，多數處理於扦插前三個月之存活率大幅下降，之後存活率漸趨穩定。另外進行 ANOVA 檢定結果顯示(表十二)，於試驗至二~三個月左右進行統計，顯示各處理間的扦插繁殖存活率具有顯著性差異($P=0.000$)，截至 2015.02.24 為止統計顯示各處理間的扦插繁殖存活率仍具有顯著性差異($P=0.017$)。LSD 法多重比較結果之顯示 IBA 和 NAA 與 CK 處理間存在顯著性差異($P=0.005$ 、 $P=0.046$)，IBA 和 NAA 處理間不存在顯著性差異($P=0.388$) (表十三)。此批次扦插試驗約在三個月左右可觀察到發根的枝條，目前發根情況良好，枝條與葉片的健康度佳。

總體而言，在臺灣穗花杉之重要保育單株扦插方面，已進行了八批次的扦插試驗，截至 2015.02.24 為止，所有基因型均已扦插成功並達目標棵數。重要保育單株試驗之存活率成效良好，陸續觀察到發根情形，且存活植株之健康情況良好。前幾批次的前試驗(第一批至第五批)扦插效果不佳，但是在改良了栽植的設施環境及扦插方法之後，目前的重要保育單株扦插狀況均良好，目前栽植的所有扦插植株其扦插時間最久達將近 22 個多月，且枝條與葉片的健康度均良好，且已有部分枝條因根部生長良好需要進行移盆，圖十四(A)為需要移盆的植株，圖十四(B)為已進行漸進移盆後的植株樣貌。此外，於後期照護方面，仍需注意已發根扦插枝條照顧管理，少數發根情形良好的枝條於後期亦有死亡的情形發生(圖十四 C、D)，故仍需密切的注意並管理發根植株後期的健康情況。

依據野外觀察與相關文獻資料，臺灣穗花杉在野外具有萌蘖之無性繁殖方式，與穗花杉相關的扦插研究，分別有 2004 年農業委員會林務局委託國立台灣大學生物資源暨農學院實

驗林管理處執行的研究計畫「臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究」(2004)、2006年陳兆鳳(2006)「ABT1 號生根粉在穗花杉地插生根試驗中的應用」，進一步進行組織培養方式已獲得試管苗(喻曉雁、劉克旺 2004)。中國穗花杉利用商業用的中國林科院 ABT1 號生根粉(內含 30% IAA 與 20% NAA)進行扦插試驗，在濃度 5×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 2×10^{-4} 、 3×10^{-4} 時，一年生枝條插穗不定根的形成分別為 29.1%、41.5%、87.1%、38.9%，因而推估最佳濃度為 2×10^{-4} (陳兆鳳 2006)，但此文獻中敘述對照試驗組幾乎不產生愈傷組織和形成不定根。2004 年執行之「臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究」，以 IAA、IBA、NAA 三長生長調節劑對四種濃度和 IBA 與 NAA 不同濃度組合試驗，結論為 60 ppm 的 IBA 和 40 ppm 的 NAA 之組合誘導發根率達 46.7%，效果較好。本計畫第一年期第一至三批皆以上述文獻數值資料為依據進行，但結果並不如預期，第四(2013.06.26)至五批(2013.10.02)開始調整扦插步驟，獲得可發根之結果，已成功誘導發根與抽芽。

第四章 結論與建議

一、結論

本研究第二年度已經完成茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群樣本採集工作，依據其區域可區分為 5 個樣區，此地區在 2009 年時曾進行臺灣穗花杉林木健康調查，共記錄 748 株臺灣穗花杉分布資料(林務局屏東林區管理處，2009)，本年度依據其調查結果，進行野外樣本採集，共 383 個樣本，占總調查數量之 51.2%，主要是以胸高直徑(DBH)為篩選對象，將胸高直徑(DBH)較大的個體進行挑選與取樣，以獲得族群資訊。第一年度已完成大武事業區臺灣穗花杉自然保留區(族群代碼：DAWU)及大里力山東稜(1256 峰)西側族群(族群代碼：DL) 的野外族群分析工作，共計大武事業區臺灣穗花杉自然保留區(DAWU) 228 株和大里力山東稜(1256 峰)西側族群(族群代碼：DL) 67 株)，二年期調查與採樣三區域共計 678 單株樣本。楊勝任(2007)「臺灣穗花杉族群分布及植物社會之研究」中敘述由臺東林區管理處提供的民國 86 年大武 39 林班臺灣穗花杉每木調查資料計有 750 單株，民國 94 年補充資料有 12 株，共計有 762 株，占總調查數量之 29.9%，二年調查結果皆呈現三地區的臺灣穗花杉野生族群的遺傳多樣性相關參數偏低。同樣的，在哈溫平衡檢測項目，各樣區的臺灣穗花杉族群的檢測結果皆呈現顯著偏離哈溫平衡($P < 0.001$)之現象，檢視實驗數據，異型合子實際值皆低於異型合子期望值而偏離哈溫平衡，顯示基因座對偶基因皆因異型合子嚴重喪失導致。

在分子變異分析(AMOVA)分析及 F 統計結果顯示，茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內五樣區的臺灣穗花杉之遺傳分化情形，族群遺傳變異存在於族群內(44.35%)及個體間(46.70%)，在不同樣區間僅占 8.95%。在 F 統計所得到的分化指數，包含 F_{ST} 、 F_{IS} 及 F_{IT} 等固定指數，結果顯示族群間的分化指數(F_{ST})值為 $F_{ST} = 0.09$, $P < 0.05$ ，顯示臺灣穗花杉 5 族群間有族群結構存在，但分化程度低， F_{IS} 及 F_{IT} 均大於 0 ($F_{IS} = 0.49$, $F_{IT} = 0.53$)，所有數值皆具顯著性 ($P < 0.05$)，表示族群處於近親繁殖(inbreeding)狀態。與第一年結果而言，大武事業區臺灣穗花杉自然保留區及大里力山的臺灣穗花杉族群間遺傳變異累積少，僅 4.97%。族群分化程度低， F_{IS} 及 F_{IT} 分別為 0.56092 和 0.58273 ($P < 0.05$)，顯示族群呈現嚴重近親交配狀態。由此結果推測，臺灣穗花杉在其三區域的野生族群皆存在棲地區塊化現象，進而導致近親繁殖。然而，以臺灣穗花杉現況推測族群呈現近親交配的可能因素包含雌雄異株導致花粉傳播致雌株主要由鄰近雄株為來源、種子傳播距離受限、生長於闊葉林下與棲地破碎化現象、華倫效應等現象造成，尤其是華倫效應所反映的是族群內存在亞族群結構，此現象會造成族群內存在不同遺傳單位或是家族現象，導致進一步的遺傳漂變現象。微棲地環境導致地理隔離現象，加上臺灣穗花杉雌雄異株，花粉需要傳遞至雌株進行授粉，若因為花粉本身傳遞能力低，導致遷移能力的降低，可能使原本為同一族群的生物被切分為不同族群，當一個有效族群的大小發生縮減時，其基因間的交流會降低(Couvet, 2002)，族群內的遺傳漂變機率提高(Ellstrand and Elam, 1993)，增加了近親交配的機會(Keller and Waller, 2002)，形成華倫效應(Allendorf and Luikart, 2007)，進而導致遺傳訊息的缺失。在結果中臺灣穗花杉族群遺傳變異存在於族群內為主，族群間低程度分化現象， F 統計之 F_{IS} 及 F_{IT} 指數均大於 0，加上在大武事業區臺灣穗花杉自然保留區和茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉採樣數量皆超過百分之三十，已具有代表性，此結果已指出臺灣穗花杉族群呈現嚴重近親交配狀態，而空間結構與棲地區塊化為導致近親繁殖之因素。

本計畫所使用的微衛星體基因座分子標誌，可以進行祖先族群與現生族群的有效族群大小推估，以了解有效族群變動是否影響族群動態與穩定性，進而決定族群未來的命運，此次取樣之臺灣穗花杉族群和第一年取樣的臺灣穗花杉野生族群所得結果進行分析，不論在 Isolation with migration analysis 或是連鎖不平衡方式推估，呈現的有效族群大小不論是在整體族群或是個別有效族群大小之範圍皆不達百株，茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內臺灣穗花杉的有效族群大於大武臺灣穗花杉自然保留區與大里力山族群，雖然野外調查族群個體數量可達到數千單株，在遺傳變異評估上，實際有效族群僅達不到百株單株，另外在 Isolation with migration analysis 模式下推估的臺灣穗花杉祖先族群大小約 16145.2 (12804.84 至 17258.69)，遠大於現生族群的數量，由此推測臺灣穗花杉族群過往至今面臨嚴重的族群收縮問題。因此，以臺灣穗花杉現況推測族群呈現近親交配的可能因素包含雌雄異株導致花粉傳播致雌株主要由鄰近雄株為來源、種子傳播距離受限、生長於闊葉林下與棲地破碎化現象、華倫效應等現象造成，尤其是華倫效應所反映的是族群內存在亞族群結構，此現象會造成族群內存在不同遺傳單位或是家族現象，導致進一步的遺傳漂變現象。而有效族群大小影響族群動態與穩定性，亦決定族群未來的命運，現今結果推測臺灣穗花杉族群過往至今之族群收縮問題，在人為不干擾狀態下仍有可能因為近親繁殖造成遺傳漂變而持續呈現族群收縮現象。

DAWU 及 DL 二族群分歧時間分析顯示為近代分歧或族群不分歧， F 統計顯示二族群間有分化但分化程度低。由二族群之基因交流及有效族群大小可推測長期以後，二者間之分化程度會持續上升，增加小族群產生的可能性，可能面臨更加強烈的遺傳漂變等影響，增加滅絕危機。使用不同隱蔽亞族群結構和遺傳單位界分模型，DAWU 的族群獨立分群結果，顯示 2 分群時最佳，其次在 3 分群。DL 的族群獨自分群結果，顯示在 2 分群時最佳，其次在 3 分群與 6 分群時。利用 GENELAND 模型結合多基因座遺傳資料及相關之族群地理空間資訊，加以評估實際的亞分群地理結構，輔助界定不同基因型家族結構及遺傳保育單位。在現地保育方面，以大樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，大樹齡個體的認定標準上以挑選 DBH 大於 15cm 為主要挑選對象，若不足時則不考慮此項標準，另少數個體的雌雄資料為已知，故挑選上亦將以此資訊為挑選的依據，此次共挑選出 45 單株樣本表列於附錄一，分別由 DAWU 族群與 DL 族群中挑選出 32 和 13 單株。在異地保育方面，因規劃進行扦插繁殖方式保存最大遺傳變異，考慮繁殖成功機率，以中樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，而中樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有 DBH 資料為參考進行挑選，以挑選 DBH 大於 5cm 為主要挑選對象，分別由 DAWU 族群與 DL 族群中挑選出 38 和 13 單株。

結合二年度計畫結合資訊，在 F 統計皆呈現族群間有分化但分化程度低，族群之基因交流及有效族群大小評估結果可推測長期以後，族群間之分化程度會持續上升，使小族群產生的可能性，可能面臨更加強烈的遺傳漂變等影響，增加滅絕危機。今年度進行茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內五樣區的臺灣穗花杉族群遺傳分析，在 INSTRUCT 分析下獲得 2 分群之支持，因此以 INSTRUCT 的 2 分群為基礎，結合涵蓋地理空間資訊與遺傳資訊的 GENELAND 分群分析，由此可以細部區分為 8 界分基因型。在第一年計畫進行的大武事業區臺灣穗花杉自然保留區及大里力山東稜(1256 峰)西側臺灣穗花杉族群不同隱蔽亞族群結構和遺傳單位界分模型，DAWU 的族群獨立分群結果，顯示 2 分群時最佳，其次在 3 分群。DL 的族群獨自分群結果，顯示在 2 分群時最佳，其次在 3 分群與 6 分群時。利用 GENELAND

模型結合多基因座遺傳資料及相關之族群地理空間資訊，加以評估實際的亞分群地理結構，輔助界定不同基因型家族結構及遺傳保育單位。

在現地保育方面，以大樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，大樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有胸高直徑(DBH)資料為參考(圖九)，以挑選 DBH 大於 10cm 為主要挑選對象，並參考健康等級的資料進行重要保育個體的挑選，健康等級的標準同 2009 年「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書」所訂定之“1”為枯死、“2”為不健康、“3”為產生劣化、“4”為健康、“5”為很健康，於挑選上以健康等級 4 及 5 為優先挑選對象。然而因某些遺傳單位組成中，僅存在少數個體，例如 CG-8-8 僅有 4 個體，故挑選上不考慮此項標準。此次共挑選出 24 單株樣本表列於附錄一。第一年度計畫則針對 DAWU 族群與 DL 族群中進行挑選，分別由 DAWU 族群與 DL 族群中挑選出 32 和 13 單株。在異地保育方面，因為規劃進行扦插繁殖方式保存最大遺傳變異，考慮繁殖成功機率，以中樹齡個體為主要挑選對象，在不同遺傳單位組成中挑選 1-3 個樣本，而中樹齡個體的認定標準上，整合此次樣本所有 DBH 資料為參考(圖九)進行挑選，以挑選 DBH 大於 5cm 為主要挑選對象，並參考健康等級的資料進行重要保育個體的挑選，健康等級的標準同 2009 年「茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書」所訂定之標準，於挑選上以健康等級 4 及 5 為優先挑選對象。然而因某些遺傳單位組成中，僅存在少數個體，例如 CG-8-8 僅有 4 個體，故挑選上不考慮此項標準。此次共挑選出 23 單株樣本表列於附錄二。第一年度計畫則分別由 DAWU 族群與 DL 族群中挑選出 38 和 13 單株。

結合第一年資料與第二年的結果，推測臺灣穗花杉族群過往至今有族群縮小現象，同時，針對臺灣穗花杉現在分布的地理環境，臺灣穗花杉生長環境的最適界為海拔介於 1,110-1,250m 間，水分指數顯示為潮濕生育地，全天光空域 10-60% 之潮濕陰蔽環境(葉慶龍等, 1992)。生育地土壤養分的結果顯示，土壤環境為酸性土壤環境(張明財, 1992; 姜家華等, 1995)，楊勝任(1996)植群生態研究調查報告提及臺灣穗花杉生育環境則為霧林區之針闊葉混合林，屬於潮濕環境。顯示在臺灣穗花杉對於生育地具有一定的條件需求，但此類型生育地多為闊葉林，因此臺灣穗花杉遺傳多樣性的保育工作，需同時考量地理分布、亞族群結構與棲地維護等工作。由於穗花杉生長於闊葉林下，環境潮濕，野外觀察下其葉片生長多有真菌附生，野外棲地環境脆弱，第一年野外調查時即已發現在大里力山分布的臺灣穗花杉族群，其生長棲地上方稜線另一面已崩塌，植株距離稜線崩塌地僅約不到百公尺；在大武事業區臺灣穗花杉自然保留區的臺灣穗花杉族群，其周遭環境易出現多處崩塌，最近的一處為進入主要族群前之山溝，其最近的植株就在崩塌地邊緣，同時，由姑子崙山登山口至主要族群位置，已有二處嚴重崩塌區域，其沿路區域原本就有零星分布單株，易受到崩塌影響；茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境原本進入道路為枋山林道已崩塌，須經由河床便道進入且易以崩塌至皆近臺灣穗花杉族群區域。因此，除野生族群棲地環境維護外，異地保育方式如苗圃與採穗園建置，配合族群遺傳之不同遺傳單位或是家族界分結果，挑選植株進行扦插或是種子收集與萌發為可嘗試之方法。種子收集因豐歉年有實質上的難度，例如二年度計畫野外調查皆未發現成熟種子。但是，野外觀察可見到臺灣穗花杉萌蘖生長現象，推估有扦插繁殖的可能性，經過二年度計畫執行結果顯示，扦插苗的方式為可應用於異地保存。

二年度計畫共執行八批次扦插試驗，第一年前期依據收集的文獻之方式進行第一、二批

扦插試驗，其結果並不順利，第一年後期則諮詢屏東科技大學森林系相關專業學者意見、參考民間苗場對於裸子植物扦插方式、環境與設施和文獻紀錄之扦插方式，因應後續搬遷移動，以能夠保持環境潮濕度，避免環境因子因搬遷變動產生劇烈差異變化，設計大型塑膠桶進行設備設計成為箱式栽植方式進行第三、四、五批扦插試驗樣本，同時多種發根之藥劑處理、試驗設施和管理方式，已成功誘導發根與抽芽，至 2015.02.24 已存活超過 20 個月，推估利用扦插苗方式進行異地保育方式應為可行。因此，依據前三批結果，進行第六、七、八批重要保育單株扦插試驗，分別以扦插至 2015.02.24 已存活 12、4、3 個月，且皆已發根，獲得野外棲地不同遺傳單位界分的扦插苗，以保育重要保育單株。

二、建議

根據本研究之成果，我們提出以下的建議：

- (1) 臺灣穗花杉族群遺傳研究顯示族群呈現嚴重近親交配狀態，不論是在大武臺灣穗花杉自然保留區、大里力山或茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內族群，因為棲地區塊化導致近親繁殖現象，域內管理與異地保育應同時進行。
- (2) 臺灣穗花杉祖先族群與現存有效族群大小推估呈現祖先有效族群遠大於現存有效族群，族群面臨嚴重的族群收縮問題，易導致基因僵化問題，挑選不同遺傳單位進行異地保育應進行。
- (3) 在 F 統計檢測顯示臺灣穗花杉族群內有亞族群存在，需要詳細評估保育遺傳單位。
- (4) 臺灣穗花杉雌雄異株，已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群，現地保育與異地保育個體需要後續植群調查，將為之性別個體詳細記錄。
- (5) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群之現地保育部分所挑選之單株個體，需要加強野外管理，包含定期巡視與記錄生長勢，包含雄雌毬花枝產生、雌毬果發育、種子成熟時期觀察、種子收穫與後續種子品質檢驗、種子發芽試驗與小苗培育工作。
- (6) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群、DL 族群和 CHCH 族群之異地保育部分所挑選之單株個體，多以中低年齡層為主進行挑選，此挑選之主因為異地保育主要觀念為扦插苗建置與保育遺傳母樹林之建置，異地保存母樹林可以進一步依據不同基因型方式進行人工授粉，致使基因座呈現同型合子比例降低，異型合子比例提升，以恢復臺灣穗花杉有性繁殖之成功率，進而提升有效族群大小至評估值。
- (7) 臺灣穗花杉已完成調查之 DAWU 族群異地保育之重要保育單株扦插苗培育，後續照顧與管理需要專人與場域配合。
- (8) 臺灣穗花杉依據二年計畫結果，以完成現地保育與異地重要保育單株扦插苗培育，此現地保育與異地保育之行動方案流程以圖解於圖十五，做為臺灣珍稀瀕危植物保育行動方案準則與流程。

第五章 參考文獻

- 王震哲 (2003) 大武山自然保留區生物資源調查研究—金崙溪。行政院農委會林務局保育研究系列 91-19 號。行政院農委會林務局臺東林管處。94 頁。
- 王震哲、邱文良、張和明 (2012) 臺灣維管束植物紅皮書初評名錄。行政院農業委員會特有生物研究保育中心。ISBN：9789860337693。
- 吳東原 (1991) 臺灣穗花杉族群結構之研究。國立台灣大學森林研究所碩士論文。112 頁。
- 吳東原、羅漢強 (1992) 臺灣穗花杉族群內個體間形態差異。台大實驗林研究報告 6:129-162。
- 林則桐、邱文良 (1989) 公告自保留區之植被調查(二)第一部份 大武事業區臺灣穗花杉自然保留區之植被。農委會 78 年生態調查報告第 21 號。1-15 頁。
- 林務局 (2004) 臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究。行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列93-05。
- 林務局屏東林區管理處 (2009) 茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境臺灣穗花杉調查與監測成果報告書。林務局屏東林區管理處，133 頁。
- 邱少婷 (2011) 臺東地區冰河時期子遺植物及其生育地保育行動方案。行政院農委會林務局。
- 姜家華、王亞男、張國楨、王介鼎、李鎮宇、林敏宜、朱建華(1995) 臺灣穗花杉兩生育地之氣象與土壤養分調查與分析。台大實驗林研究報告 9：77 - 87。
- 張明財 (1992) 臺灣穗花杉主要生育區植群及族群生態之研究。國立台灣大學森林學研究所碩士論文。55 頁。
- 陳兆鳳 (2006) ABT1 號生根粉在穗花杉地插生根試驗中的應用。福建林業科技 33: 228-231。
- 楊勝任 (1993) 茶茶牙頓山臺灣穗花杉保護區植群生態之調查之研究。台灣省農林廳林務局保育研究系列 82-9 號。47 頁。
- 楊勝任 (1994) 茶茶牙賴山臺灣穗花杉保護區植群生態之調查研究。中華林學季刊 27:3-18。
- 楊勝任 (1996) 臺灣穗花杉植群生態的研究。台灣大學森林研究所博士論文。140 頁。
- 楊勝任 (2007) 臺灣穗花杉族群分布及植物社會之研究。行政院農業委員會林局委託研究計畫保育研究系列 95-16 號。87 頁。
- 葉清旺 (2004) 里龍山植群多樣性之研究。國立屏東科技大學森林系碩士論文。95 頁。
- 葉慶龍、陳朝圳、鍾玉龍、范貴珠 (1992) 地理資訊系統應用於臺灣穗花杉族群變化之研究。遙感探測 16：28-51。
- Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, Herrerias-Diego Y, Lobo J (2008) Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, **17**, 5177-5188.
- Allendorf FW, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 642 pp.
- Antao T, Lopes A, Lopes RJ, Beja-Pereira A, Luikart G (2008) LOSITAN: a workbench to detect

- molecular adaptation based on a F_{ST} -outlier method. *BMC Bioinformatics*, **9**, 323.
- Beaumont MA (2005) Adaptation and speciation: What can F_{ST} tell us? *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 435-440.
- Benson G (1999) Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Research*, **27**, 573-580.
- Cavalli-Sforza LL (1966) Population structure and human evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **164**, 362–379.
- Charlesworth B, Charlesworth D, Barton NH (2003) The effects of genetic and geographic structure on neutral variation. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, **34**, 99-125.
- Charrier O, Dupont P, Pornon A, Escaravage N (2014) Microsatellite marker analysis reveals the complex phylogeographic history of *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) in the Pyrenees. *PLoS One* **9(3)**: e92976.
- Chen SH, Chung NJ, Wang YN, Lee CL, Lee YL, Tsai PF (2006) Study of male sterility in *Taiwania cryptomerioides* Hayata (Taxodiaceae). *Protoplasma*, **228**, 137-144.
- Chiang, YC, Shih HC, Chang LW, Li WR, Lin HY, Ju LP (2011) Isolation of 16 polymorphic microsatellite markers from an endangered and endemic species, *Podocarpus nakaii* (Podocarpaceae). *American Journal of Botany*, **98**, e306-e309.
- Couvet D (2002) Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conservation Biology*, **16**, 369-376.
- De-Lucas AI, Gonzales-Martinez SC, Vendramin GG, Hidalgo E, Heuertz M (2009) Spatial genetic structure in continuous and fragmented populations of *Pinus pinaster* Aiton. *Molecular Ecology*, **18**, 4564-4576.
- Dubreuil M, Riba M, Gonzalez-Martinez SC, Vendramin GG, Sebastiani F, Mayol M (2010) Genetic effects of chronic habitat fragmentation revisited: strong genetic structure in a temperate tree, *Taxus baccata* (Taxaceae), with great dispersal capability. *American Journal of Botany*, **97**, 303-310.
- Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 217-242.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564–567.
- Farjon A (2001) *World Checklist and Bibliography of Conifers*, 2nd edn. Royal Botanical Gardens, Kew, UK, 316 pp.
- Ferguson DK, Jähnichen H, Alvin KL (1978) *Amentotaxus* Pilger from the European tertiary. *Feddes*

- Repertorium*, **89**, 379–410.
- Follieri M (2010) Conifer extinction in Quaternary Italian records. *Quaternary International*, **225**, 37–43.
- François O, Durand E (2010) Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 773–784.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 617pp.
- Friedman ST, Foster GS (1997) Forest genetics on federal lands in the United States: public concerns and policy responses. *Canadian Journal of Forest Research*, **27**, 401–408.
- Gao H, Williamson S, Bustamante C (2007) A Markov chain Monte Carlo approach for joint inference of population structure and inbreeding rates from multilocus genotype data. *Genetics*, **176**, 1635–1651.
- Gilks W, Richardson S, Spiegelhalter D (1996) *Markov Chain Monte Carlo in Practice*. Interdisciplinary Statistics. Chapman and Hall, Boca Raton, London, 512 pp.
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005a) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, **170**, 1261–1280.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005b) GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, **5**, 712–715.
- Guillot G, Renaud S, Ledevin R, Michaux J, Claude J. (2012) A unifying model for the analysis of phenotypic, genetic and geographic data. *Systematic Biology*, **61(5)**, 897-911.
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society - Biological Sciences*, **270**, 313-321.
- Hey J, Nielsen R (2007) Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 2785–2790.
- Ho, CS, Shih HC, Liu HY, Chiu ST, Chen MH, Ju LP, Ko YZ, Shih YS, Chen CT, Hsu TW, Chiang YC (2014) Development and characterization of 16 polymorphic microsatellite markers from Taiwan cow-tail fir, *Keteleeria davidiana* var. *formosana* (Pinaceae) and cross-species amplification in other *Keteleeria* taxa. *BMC Research Notes* **7**:255
- Höglund J (2009) *Evolutionary conservation genetics*. Oxford University Press, USA, 189 pp.
- IUCN (2012) Conifer Specialist Group 2000. *Amentotaxus formosana*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. <www.iucnredlist.org>.
- Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*,

23, 1801–1806.

- Ju LP, Kuo CC, Chao YS, Cheng YP, Gong X, Chiang YC (2011) Microsatellite primers in the native perennial cycad, *Cycas taitungensis* (Cycadaceae). *American Journal of Botany*, **98**, e84–e86.
- Keller LF, Waller DM (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 230–241.
- Kunin WE (1993) Sex and the single mustard - population-density and pollinator behavior effects on seed-set. *Ecology*, **74**, 2145–2160.
- Kunin WE (1997) Population size and density effects in pollination: Pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology*, **85**, 225–234.
- Lantu'ejoul C (2002). Geostatistical simulations: Models and algorithms. Springer, Berlin.
- Lewontin R, Krakauer J (1975) Letters to the editors: Testing the heterogeneity of *F* values. *Genetics*, **80**, 397.
- Li, HL, Keng H (1994) Amentotaxaceae. Flora of Taiwan, Volume 2, Editorial, pp. 586–595. Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, Taiwan.
- Lin C, Chan MH, Chen FS, Wang YN (2007) Age structure and growth pattern of an endangered species, *Amentotaxus formosana* Li. *Journal of Integrative Plant Biology*, **49**, 157–167.
- Link WA, Eaton MJ (2012) On thinning of chains in MCMC. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 112–115.
- Mariette S, Chagne D, Lézier C, Pastuszka P, Raffin A, Plomion C, Kremer A (2001) Genetic diversity within and among *Pinus pinaster* populations: comparison between AFLP and microsatellite markers. *Heredity*, **86**, 469–479.
- Marshall E (2005) Will DNA bar codes breathe life into classification? *Science*, **307**, 1037.
- Miao YC, Su JR, Zhang ZJ, Li H, Luo J, Zhang YP (2008). Isolation and characterization of microsatellite markers for the endangered *Taxus yunnanensis*. *Conservation Genetics*, **9**, 1683–1685.
- Moritz C (1994) Defining 'Evolutionarily significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373–375.
- O'Connell LM, Ritland K (2004) Somatic mutations at microsatellite loci in western redcedar (*Thuja plicata* : Cupressaceae). *Journal of Heredity*, **95**, 172–176.
- Oster M, Eriksson O (2007) Sex ratio mediated pollen limitation in the dioecious herb *Antennaria dioica*. *Ecoscience*, **14**, 387–398.
- Owens JN, Colangeli AM, Morris SJ (1991) Factors affecting seed set in Douglas–fir (*Pseudotsuga menziesii*). *Canadian Journal of Botany*, **69**, 229–238.
- Pandey M, Rajora OP (2012) Higher fine-scale genetic structure in peripheral than in core populations

- of a long-lived and mixed-mating conifer - eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). *BMC Evolutionary Biology*, **12**, 48.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**, 288-295.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* **28**, 2537-2539.
- Pio DV, Broennimann O, Barraclough TG, Reeves G, Rebelo AG, Thuiller W, Guisan A, Salamin N (2011) Spatial predictions of phylogenetic diversity in conservation decision making. *Conservation Biology*, **25**, 1229–1239.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945–959.
- Robledo–Arnuncio J, Alía R, Gil L (2004) Increased selfing and correlated paternity in a small population of a predominantly outcrossing conifer, *Pinus sylvestris*. *Molecular Ecology*, **13**, 2567-2577.
- Royer DL, Hickey LJ, Wing SL (2003) Ecological conservatism in the “living fossil” Ginkgo. *Paleobiology*, **29**, 84–104.
- Ryder OA (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**, 9-10.
- Sánchez-Robles JM, García-Castaño JL, Balao F, Terrab A, Navarro-Sampedro L, Tremetsberger K, Talavera S (2014) Effects of tree architecture on pollen dispersal and mating patterns in *Abies pinsapo* Boiss. (Pinaceae). *Molecular Ecology* **23(24)**, 6165-6178.
- Scalfi M, Piotti A, Rossi M, Piovani P (2009) Genetic variability of Italian southern Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations: the rear edge of the range. *European Journal of Forest Research*, **128**, 377-386.
- Schlötterer C, Tautz D (1992) Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, **20**, 211–215.
- Thomas P (2013) *Amentotaxus formosana*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 09 September 2014.
- Trocme M, Cahill S, de Vries JG, Farrall H, Folkson L, Fry G, Hichs C, Peymen J (2003) Habitat fragmentation due to transportation infrastructure: The European review. COST Action 341.
- Vranckx G, Jacquemyn H, Muys B, Honnay O (2012) Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology*, **26**, 228–237.
- Wang CT, Wang WY, Chiang CH, Wang YN, Lin TP (1996) Low genetic variation in *Amentotaxus formosana* Li revealed by isozyme analysis and random amplified polymorphic DNA markers.

Heredity, **77**, 388–395.

- Waples RS, Do C (2008) LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 753-756
- Waples RS, England PR (2011) Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics*, **189**(2), 633-644.
- Williams DA, Wang Y, Borchetta M, Gaines MS (2007) Genetic diversity and spatial structure of a keystone species in fragmented pine rockland habitat. *Biological Conservation*, **138**, 256-268.
- Wilson P, Buonopane M, Allison TD (1996) Reproductive biology of the monoecious clonal shrub *Taxus canadensis*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **123**, 7-15.
- Yang JB, Li HT, Li DZ, Liu J, Gao LM (2009) Isolation and characterization of microsatellite markers in the endangered species *Taxus wallichiana* using the FIASCO method. *HortScience*, **44**, 2043-2045.
- Yuasa T, Nagata J, Hamasaki S, Tsuruga H, Furubayashi K (2007) The impact of habitat fragmentation on genetic structure of the Japanese sika deer (*Cervus nippon*) in southern Kantoh, revealed by mitochondrial D-loop sequences. *Ecological Research*, **22**, 97–106.
- Zhang DX, Hewitt GM (2003) Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, **12**, 563–584.
- Zhang F, Su T, Yang Y, Zhai Y, Ji Y, Chen S (2010) Development of seven novel EST-SSR markers from *Cycas panzhihuaensis* (Cycadaceae). *American Journal of Botany*, **97**, e159-161. Epub 2010 Nov 15.

附表

表一、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群樣本採集資料。

採集點	樣區代碼	Longitude(E)	Latitude(N)	採集數目
茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境	Cha-1	120°45'58"E	22°20'13"N	82
	Cha-2	120°46'06"E	22°20'24"N	55
	Cha-3	120°46'05"E	22°20'35"N	91
	Cha-4	120°46'18"E	22°20'36"N	96
	Cha-5	120°45'49"E	22°20'52"N	59
樣本總數				383

表二、15 組微衛星體基因座專一引子序列、基本構形單元、基因型數目、黏合溫度(annealing temperature)及預期片段大小。

Locus	Repeat motif	Primer sequence (5' - 3')	Fragment size (bp)	Ta (°C)
Am-3mer-5	(CAA) ₈	F: TAGAGATCAGTTGCAGGGA R: GGAGTCTACTTACCCTAGGAG	188	60
Am-3mer-14	(AT) ₆ (CA) ₁₄ (TA) ₅	F: TGATCGAACTAGCAGTGGT R: TCCTTGATATCCCCTTCACA	238	53
Am-3mer-16	(ACA) ₈	F: TGGATCACGCTGCAACAAC R: ATGGGGGAGAATGCCCCACG	336	58
Am-3mer-71A	(AAACA) ₅	F: TACGGGTTGCTTAGCCTGC R: TGTTAGCTCAGTCTCTTCCGT	198	60
Am-3mer-71B	(CAG) ₂ (CAA) ₈	F: CTACGGAAGAGACTGAGCT R: GATGAGTTACCAATCCCAGT	204	60
Am-3mer-114	(TGG) ₅ (AGG) ₅	F: ATTGCCTAGGGGTGTTTAC R: GCTACTTGGACGCTCTTGG	264	52
Am-3mer-117	(GT) ₂₀	F: CACAGAAACCCACTGTGAC R: GCACACTATCGCAAAAAGGCAC	248	52
Am-3mer-118	(CAA) ₁₅	F: ACTACAAACCGTTGCATGA R: ATTATATGGAGGGGGTACGT	306	55
Am-3mer-124	(TGT) ₁₈	F: GCCTTGATGAGGTTGACCT R: GAGATTGAAGGACATCCACA	207	60
Am-3mer-143	(GTT) ₁₇	F: GGGGATTAGAAGAAGCGGCA R: TCAACAGGCTAACCAATGAC	227	52
Am-3mer-197	(TGT) ₁₈	F: CAGCCTATTGTCTTGAGGAGG R: GGACACCCTACAAACCGTTGC	285	55
Am-3mer-239	(CAA) ₁₉	F: GGACATTCCAAAAATCGCTGT R: CCATGGTTGGGTTGACCTTGG	281	54
Am-2mer-1-60	(CA) ₂₅ (CT) ₄₄	F: CCTCCTTTCCATAGAAAACG R: TCCTATCCATGTTTGGCTCC	256	55
Am-2mer-1-96	(GA) ₆₆ (GT) ₁₂	F: GGTGTATTAGAAGGCTGAGG R: CATGAGATGGTCTTCATTGG	276	55
Am-2mer-7-9	(TC) ₃₈	F: TCCTTTAAGAGTGACACCTC R: TGACCCGAGGGTGAGGAATG	231	59

表三、利用 15 組微衛星體基因座分析茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的遺傳多樣性指數，參數包括對偶基因數目 (number of different alleles: A)、有效對偶基因數目 (number of effective alleles: A_E)、對偶基因豐富度 (allelic richness: A_r)、特有對偶基因豐富度 (private allelic richness: A_p)、異型合子觀測值 (observed heterozygosity: H_O) 和期望值 (expected heterozygosity: H_E)。並且進行哈溫平衡檢測，以 (*) 表示各基因座之卡方檢測 (χ^2 test) P 值，檢測是否偏離哈溫平衡 ($P < 0.05$)。

基因座	Total						Cha-1						Cha-2					
	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E
Am-3mer-5	5	2.27	2.90	–	0.77	0.56***	4	2.25	2.78	0.08	0.90	0.56***	2	1.86	2.00	0.00	0.72	0.46***
Am-3mer-14	6	2.23	3.14	–	0.19	0.55***	6	1.31	2.49	0.38	0.09	0.23***	5	2.30	3.33	0.22	0.20	0.57***
Am-3mer-114	6	2.48	3.18	–	0.00	0.60***	3	1.84	2.62	0.06	0.00	0.46***	4	2.29	3.06	0.06	0.00	0.56***
Am-3mer-124	3	2.33	2.77	–	0.00	0.57***	3	1.93	2.69	0.00	0.00	0.48***	3	1.52	2.53	0.00	0.00	0.34***
Am-3mer-197	7	3.39	4.34	–	0.01	0.71***	6	4.74	5.19	1.26	0.00	0.79***	5	3.21	4.07	0.18	0.00	0.69***
Am-3mer-239	9	5.01	5.22	–	0.87	0.80***	7	3.96	4.80	0.12	0.96	0.75***	4	3.95	3.96	0.00	0.96	0.75***
Am-3mer-143	4	2.10	2.37	–	0.00	0.52***	4	1.94	2.50	0.24	0.00	0.48***	3	2.15	2.46	0.12	0.00	0.54***
Am-3mer-118	5	3.40	4.26	–	0.06	0.71***	5	4.57	4.75	0.03	0.00	0.78***	5	2.48	3.63	0.05	0.40	0.60***
Am-3mer-71A	3	1.47	2.16	–	0.00	0.32***	2	1.19	1.76	0.00	0.00	0.16***	2	1.99	2.00	0.00	0.00	0.50***
Am-3mer-117	7	4.39	4.99	–	0.34	0.77***	7	3.60	4.83	0.88	0.77	0.72***	3	2.84	2.99	0.00	0.00	0.65***
Am-3mer-71B	3	1.70	2.01	–	0.00	0.41***	2	2.00	2.00	0.00	0.00	0.50***	2	1.90	2.00	0.00	0.00	0.47***
Am-3mer-16	7	3.21	3.67	–	0.59	0.69***	5	3.26	3.67	0.60	0.69	0.69***	4	2.62	3.41	0.08	0.69	0.62***
Am-2mer-1-60	9	4.85	5.38	–	0.38	0.79***	7	3.95	4.93	0.11	0.60	0.75***	6	4.19	4.91	0.01	0.50	0.76***
Am-2mer-1-96	10	5.88	5.89	–	0.76	0.83***	7	4.63	5.27	0.05	0.82	0.78***	7	4.12	5.09	0.02	0.55	0.76***
Am-2mer-7-9	14	4.92	5.76	–	0.62	0.80***	10	4.28	5.63	0.99	0.53	0.77***	5	3.18	4.11	0.01	0.49	0.69***
Mean	6.53	3.31	3.87	–	0.31	0.64	5.20	3.03	3.73	0.32	0.36	0.59	4.00	2.71	3.30	0.05	0.30	0.60

*Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.05$, **Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.01$, ***Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.001$

表三(續)、利用 15 組微衛星體基因座分析茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群的遺傳多樣性指數，參數包括對偶基因數目 (number of different alleles: A)、有效對偶基因數目 (number of effective alleles: A_E)、對偶基因豐富度 (allelic richness: A_r)、特有對偶基因豐富度 (private allelic richness: A_p)、異型合子觀測值 (observed heterozygosity: H_O) 和期望值 (expected heterozygosity: H_E)。並且進行哈溫平衡檢測，以 (*) 表示各基因座之卡方檢測 (χ^2 test) P 值，檢測是否偏離哈溫平衡 ($P < 0.05$)。

基因座	Cha-3						Cha-4						Cha-5					
	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E	A	A_E	A_r	A_p	H_O	H_E
Am-3mer-5	4	2.42	3.32	0.28	0.70	0.59***	3	2.11	2.34	0.34	0.85	0.53***	4	2.53	3.33	0.28	0.59	0.61***
Am-3mer-14	4	2.24	2.84	0.03	0.14	0.55***	4	2.08	2.56	0.02	0.09	0.52***	4	3.32	3.78	0.27	0.59	0.70***
Am-3mer-114	6	2.69	3.63	0.45	0.01	0.63***	4	2.21	2.70	0.02	0.00	0.55***	3	2.26	2.94	0.13	0.00	0.56***
Am-3mer-124	3	2.66	2.95	0.02	0.00	0.62***	3	2.34	2.76	0.00	0.00	0.57***	3	2.14	2.44	0.00	0.00	0.53***
Am-3mer-197	5	2.26	3.26	0.03	0.02	0.56***	4	2.36	2.89	0.34	0.00	0.58***	4	2.77	3.37	0.10	0.00	0.64***
Am-3mer-239	7	4.52	5.01	0.19	0.91	0.78***	6	5.92	5.64	0.53	0.89	0.83***	5	3.08	3.94	0.14	0.55	0.68***
Am-3mer-143	3	2.04	2.62	0.22	0.00	0.51***	2	1.53	1.98	0.00	0.00	0.35***	2	1.84	2.00	0.00	0.00	0.46***
Am-3mer-118	5	2.75	3.41	0.00	0.00	0.64***	5	2.91	3.41	0.00	0.00	0.66***	5	2.49	3.89	0.00	0.00	0.60***
Am-3mer-71A	2	1.36	1.93	0.00	0.00	0.26***	3	1.26	1.97	0.03	0.00	0.21***	3	1.55	2.65	0.66	0.00	0.35***
Am-3mer-117	6	3.35	4.26	0.04	0.15	0.70***	6	3.45	3.96	0.24	0.52	0.71***	4	1.24	2.26	0.00	0.07	0.20***
Am-3mer-71B	2	1.04	1.29	0.00	0.00	0.04***	2	1.34	1.92	0.00	0.00	0.26***	3	1.92	2.13	0.13	0.02	0.48***
Am-3mer-16	5	3.54	3.88	0.22	0.55	0.72***	5	3.01	3.51	0.12	0.34	0.67***	5	2.47	3.06	0.13	0.82	0.59***
Am-2mer-1-60	7	5.14	5.30	0.14	0.43	0.81***	7	3.27	4.72	0.19	0.29	0.69***	5	2.57	3.26	0.00	0.04	0.61***
Am-2mer-1-96	10	5.94	6.17	0.46	0.80	0.83***	8	5.90	5.98	0.22	0.69	0.83***	7	5.81	6.10	0.12	0.94	0.83***
Am-2mer-7-9	10	5.11	5.71	0.47	0.76	0.80***	10	4.91	5.24	0.36	0.60	0.80***	8	5.20	5.90	0.73	0.71	0.81***
Mean	5.27	3.14	3.71	0.17	0.30	0.60	4.80	2.97	3.44	0.16	0.28	0.58	4.33	2.75	3.4	0.18	0.29	0.58

*Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.05$, **Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.01$, ***Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium: $P < 0.001$

表四、利用軟體 Arlequin 進行分子變異分析(AMOVA)分析，檢測茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內的臺灣穗花杉族群遺傳分化關係之結果。

Source of variation	Sum of squares	Variance components	% of Variation	Fixation indexes
Among population	279.07	0.44	8.95	$F_{ST}=0.09^*$
Among individuals within populations	2362.44	2.18	44.35	$F_{IS}=0.49^*$
Within individuals	806.00	2.29	46.70	$F_{IT}=0.53^*$

Significant ($P<0.05$) values are indicated with asterisk (*)

表五、利用 IMa 計算臺灣穗花杉之有效族群大小與雙向基因交流值。N₁：茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)之現生族群有效族群大小；N₂：大武臺灣穗花杉自然保留區(DAWU)及大里力山(DL)現生族群有效族群大小；N_A：祖先族群之有效族群大小；M_{1→2}, M_{2→1}：雙向基因交流值；T：分歧時間；μ：突變速率 [使用相近物種 *Thuja plicata* Donn 之突變速率 6.3×10^{-4} (3.0×10^{-5} - 4.0×10^{-3}) (per allele per generation) (O'Connell and Ritland, 2004) 為參考之微衛星體突變速率，進行相關數值之換算]。

CHCH vs. DAWU & DL	N ₁	N ₂	N _A	M _{1→2}	M _{2→1}	T (× years)
raw data						
HiPt	0.0701	0.0247	40.6859	0.72	0.125	0
95%HPDLo	0.0234	0.0106	32.2682	0.24	0.875	0
95%HPDHi	0.6313	2.8523	43.4919	155.28	205.625	0.0006
6.3×10^{-4}						
HiPt	27.8175	9.8016	16145.2	0.0005	0.0001	0
95%HPDLo	9.2857	4.2063	12804.84	0.0002	0.0006	0
95%HPDHi	250.5159	1131.865	17258.69	0.0978	0.1295	19.048
$\mu = 3.0 \times 10^{-5}$						
HiPt	584.1667	205.8333	339049.2	0.00002	0.000004	0
95%HPDLo	195	88.3333	268901.7	0.000007	0.00003	0
95%HPDHi	5260.833	23769.17	362432.5	0.0047	0.0062	400
$\mu = 4.0 \times 10^{-3}$						
HiPt	4.3813	1.5438	2542.869	0.0029	0.0005	0
95%HPDLo	1.4625	0.6625	2016.763	0.001	0.0035	0
95%HPDHi	39.4563	178.2688	2718.244	0.6211	0.8225	3

Note: (1) HiPt: 具最高計數的 bin 值(The value of the bin with the highest count)

(2) 95%HPDLo: 95 % 最高事後檢驗密度(HPD)的估計下限[The lower bound of the estimated 95% highest posterior density (HPD) interval]

(3) 95%HPDHi: 95 % 最高事後檢驗密度(HPD)的估計上限[The upper bound of the estimated 95% highest posterior density (HPD) interval]

表六、利用 LDNe 進行茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內的臺灣穗花杉族群之相對有效族群大小估算。

Lowest Alleles Frequency used = 0.05				
	Independent Comparisons	Overall r^2	Expected r^2	Ne (95% CIs for Ne)
全樣本	1388	0.007	0.003	94.4(81.9-109.1) ¹ (74.4-141.0) ²
Cha-1	1096	0.02	0.014	55.9(42.2-77.7) ¹ (37.4-92.9) ²
Cha-2	835	0.033	0.021	25.2(19.1-34.1) ¹ (15.9-42.9) ²
Cha-3	948	0.02	0.013	45.6(35.2-60.9) ¹ (30.2-74.9) ²
Cha-4	959	0.024	0.013	30.0(24.2-37.8) ¹ (18.0-53.9) ²
Cha-5	937	0.028	0.021	45.2(31.9-69.4) ¹ (28.5-84.1) ²
Lowest Alleles Frequency used = 0.02				
	Independent Comparisons	Overall r^2	Expected r^2	Ne (95% CIs for Ne)
全樣本	2109	0.006	0.003	102.1(90.7-115.2) ¹ (78.7-134.2) ²
Cha-1	1631	0.02	0.014	55.7(44.1-72.7) ¹ (39.1-85.9) ²
Cha-2	912	0.031	0.021	29.9(22.5-41.3) ¹ (19.4-50.2) ²
Cha-3	1660	0.019	0.013	57.9(46.3-74.6) ¹ (41.1-87.8) ²
Cha-4	1248	0.021	0.013	42.0(33.7-53.5) ¹ (25.6-77.6) ²
Cha-5	1038	0.028	0.021	49.7(35.0-77.3) ¹ (32.4-88.0) ²
Lowest Alleles Frequency used = 0.01				
	Independent Comparisons	Overall r^2	Expected r^2	Ne (95% CIs for Ne)
全樣本	2258	0.006	0.003	105.1(93.6-118.3) ¹ (81.8-136.9) ²
Cha-1	1807	0.02	0.014	62.6(49.3-82.3) ¹ (42.1-103.8) ²
Cha-2	918	0.031	0.021	30.3(22.8-41.9) ¹ (20.0-49.8) ²
Cha-3	1832	0.017	0.013	73.1(57.2-97.4) ¹ (51.9-112.1) ²
Cha-4	1275	0.02	0.013	45.7(36.4-58.8) ¹ (26.7-91.5) ²
Cha-5	1112	0.026	0.021	66.7(44.5-116.7) ¹ (41.6-134.1) ²

1. Parametric

2. JackKnife on Loci

表七、使用 15 組微衛星體基因座進行茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內的臺灣穗花杉族群之 STRUCTURE 及 INSTRUCT 分群檢測，分析各分群數的 Mean LnP(K)、 ΔK 值及 DIC (deviance information criterion)值。

K	STRUCTURE		INSTRUCT		
	Mean LnP(K)	ΔK	Mean LnP(K)	DIC	ΔK
1	-13428.80	-	-10837.50	21675.01	-
2	-12832.49	<u>129.42</u>	-10362.98	20725.97	<u>0.1026</u>
3	-12441.13	<u>89.27</u>	-9988.75	19977.51	0.0028
4	-12148.29	<u>52.95</u>	-9644.31	19288.62	0.0017
5	-11901.71	<u>45.15</u>	-9353.26	18706.52	0.0010
6	-11715.53	0.31	-9113.01	18226.02	0.0001
7	-11527.50	<u>14.47</u>	-8876.90	17753.81	0.0007
8	-11376.07	<u>4.25</u>	-8704.82	17409.65	0.0002
9	-11245.49	1.45	-8549.30	17098.60	0.0005
10	-11105.50	0.16	-8443.90	16887.79	0.0002
11	-10961.07	3.09	-8365.35	16730.71	0.0001
12	-10893.78	2.06	-8295.96	16591.93	0.0001
13	-10774.57	2.60	-8231.75	16463.50	0.0003
14	-10701.64	0.63	-8190.46	16380.93	0.0001
15	-10616.11	0.71	-8155.03	16310.07	0.0002
16	-10517.94	0.44	-8131.16	16262.31	0.0001
17	-10425.93	0.06	-8114.16	16228.31	0.0002
18	-10335.25	0.74	<u>-8106.92</u>	<u>16213.84</u>	0.0002
19	-10263.29	2.94	-8123.12	16246.25	0.0000
20	-10221.03	-	-8138.33	16276.65	0.0002
21	-	-	-8167.77	16335.55	0.0002
22	-	-	-8184.52	16369.05	0.0003
23	-	-	-8218.55	16437.10	0.0001
24	-	-	-8246.25	16492.49	0.0001
25	-	-	-8279.33	16558.67	0.0000

Note: 粗體加底線之數值為本次研究參考的分群數之數值

表八、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內的臺灣穗花杉族群於 GENELAND 分群結果(CG-8-1~CG-8-8)下，針對 INSTRUCT 分群結果(CI-18-1~CI-18-18)進行細部分群檢視之基因型百分比。括號內為 GENELAND 分析結果中此區域此基因型所含個體數。

		CI-18-1	CI-18-2	CI-18-3	CI-18-4	CI-18-5	CI-18-6	CI-18-7	CI-18-8	CI-18-9	CI-18-10	CI-18-11	CI-18-12	CI-18-13	CI-18-14	CI-18-15	CI-18-16	CI-18-17	CI-18-18
Cha-1	CG-8-5(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	50.0%	-	-	-	-	-	-	-	50.0%	-
	CG-8-7(78)	-	3.8%	-	2.6%	-	11.5%	-	-	1.3%	1.3%	5.1%	-	3.8%	-	1.3%	20.5%	46.2%	2.6%
	CG-8-8(2)	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cha-2	CG-8-1(2)	-	-	-	-	50.0%	-	-	-	-	-	-	-	50.0%	-	-	-	-	-
	CG-8-5(1)	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CG-8-6(52)	-	26.9%	-	1.9%	5.8%	26.9%	-	-	-	-	1.9%	-	19.2%	3.8%	-	-	11.5%	-
Cha-3	CG-8-3(87)	4.6%	2.3%	-	4.6%	14.9%	16.1%	-	4.6%	5.7%	2.3%	14.9%	4.6%	3.4%	2.3%	9.2%	14.9%	-	6.9%
	CG-8-5(2)	-	-	-	-	-	-	-	50.0%	-	-	-	-	-	-	-	50.0%	-	-
	CG-8-6(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%	-
	G-8-8(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%	-
Cha-4	CG-8-2(22)	-	9.1%	-	-	-	-	4.5%	36.4%	9.1%	-	-	-	-	4.5%	31.8%	-	-	4.5%
	CG-8-4(64)	1.6%	-	-	1.6%	7.8%	-	3.1%	6.3%	50.0%	1.6%	-	1.6%	3.1%	6.3%	21.9%	1.6%	-	-
	CG-8-5(9)	-	-	-	-	-	-	-	-	22.2%	33.3%	-	-	11.1%	-	11.1%	-	11.1%	11.1%
	CG-8-8(1)	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cha-5	CG-8-1(56)	-	1.8%	1.8%	26.8%	35.7%	10.7%	1.8%	1.8%	1.8%	1.8%	-	1.8%	1.8%	8.9%	1.8%	1.8%	-	-
	CG-8-5(3)	-	-	-	-	-	-	-	33.3%	33.3%	33.3%	-	-	-	-	-	-	-	-

表九、臺灣穗花杉各扦插批次的採集日期與當月高雄溫度與濕度表(資料來源: 交通部中央氣象局全球資訊網)。

扦插批次	採集日期	扦插日期	平均溫度(°C)	相對濕度(%)
第四批	2013/06/26	2013/06/26	29.8	77
第五批	2013/10/02	2013/10/03	26.6	69
第六批	2014/02/15	2014/02/16	20.3	70
第七批	2014/10/07	2014/10/08	27.2	70
第八批	2014/11/17	2014/11/18	25.2	72

表十、臺灣穗花杉重要保育單株(針對大武臺灣穗花杉自然保留區境內的族群)之扦插樣本編號、植株資訊、基因型編號、扦插存活數目(統計至 2015.02.24 為止)等資訊。

編號	DBH(cm)	地徑(cm)	樹高(m)	大牌編號	雌雄	基因型	存活數
133	24.50	27.20	11.00	418	雌	DG15-1	16
173	12	16	9	395	-	DG15-1	4
114	19	25	10	69	雌	DG15-2	1
6	8.80	11.30	7.10	354	-	DG-15-2	39
116	15	18	5.5	67	雌	DG15-2	4
119	25	27	11	416	雄	DG15-2	1
120	17.00	22.00	13.00	62	-	DG-15-2	8
102	2	3	1	22	-	DG15-3	2
104	3	6	3	21	-	DG15-3	5
170	2.00	3.30	3.40	389	-	DG-15-3	7
172	3.00	2.60	2.90	394	-	DG-15-3	13
79	2	6	2	868	-	DG15-4	4
108	2	3	2	777	-	DG15-4	5
110	1	2	2	77	-	DG15-4	3
209	2	1	3.1	870	-	DG-15-5	8
210	2.80	4.00	2.50	-	-	DG-15-5	28
205	8.00	12.00	12.00	61	-	DG-15-6	9
208	8.00	11.00	9.00	7	-	DG-15-6	18
212	13.00	20.00	12.00	725	-	DG15-6	8
214	11	15	11	723	-	DG15-6	1
18	11.00	14.50	7.30	AT6006	-	DG-15-7	4
21	11.00	13.00	8.40	369	-	DG-15-7	22
37	8.20	16.00	4.00	AT6012	-	DG-15-7	18
54	2.00	5.00	1.80	AT6021	-	DG15-7	7
113	2	2	2	72	-	DG15-7	2
206	7.00	10.00	8.00	869	-	DG-15-8	9
207	2.50	3.50	3.50	16	-	DG-15-8	10
220	30.00	35.00	15.00	75	-	DG-15-9	10
227	16.50	18.50	12.00	236	-	DG-15-9	12
228	4.00	9.30	2.20	94	-	DG-15-9	4
142	1.60	3.50	2.50	222	-	DG-15-10	15
143	3.00	6.00	2.40	AT6024	-	DG-15-10	18
2	4	6	2	226	-	DG15-11	1

表十(續)、臺灣穗花杉重要保育單株(針對大武臺灣穗花杉自然保留區境內的族群)之扦插樣本編號、植株資訊、基因型編號、扦插存活數目(統計至 2015.02.24 為止)等資訊。

編號	DBH(cm)	地徑(cm)	樹高(m)	大牌編號	雌雄	基因型	存活數
25	16	25	9	AT6011	雄	DG15-11	1
27	3.00	5.00	2.60	384	雌	DG-15-11	13
35	11.00	15.00	8.30	385	-	DG-15-11	15
68	7	7	4	208	-	DG15-11	3
71	6.00	9.00	4.60	227	-	DG-15-11	9
57	4.00	3.00	1.60	9	-	DG-15-12	1
65	7.00	10.00	4.70	228	-	DG-15-12	17
69	4	6	4	207	-	DG15-12	4
72	0.00	0.00	0.25	AT6016	-	DG-15-12	5
73	8	11	5	1	-	DG15-12	3
82	3.50	6.00	3.80	42	-	DG-15-13	24
84	4	6	4	41	-	DG15-13	1
85	3	6	4	38	-	DG15-13	4
88	20	22	15	50	-	DG15-13	1
90	8.00	9.50	6.50	-	-	DG-15-13	7
124	10.00	13.00	9.00	55	-	DG-15-13	7
11	7.50	11.70	5.80	772	-	DG15-14	10
23	5	7	6	367	-	DG15-14	3
39	3.50	6.50	2.50	AT6014	-	DG-15-15	3
44	5.00	7.00	3.00	AT6019	-	DG15-15	17
169	3	5	2	387	-	DG15-15	4

Note: ” - “為缺少相關資訊。

表十一、臺灣穗花杉重要保育單株扦插之各藥劑處理的平均存活率相關統計列表(統計至 2015.02.24 為止)。

	平均存活率(%)	標準差	標準誤	95% 信賴區間		最小值	最大值
				下界	上界		
第六批							
IBA	18.4764	23.30811	4.05742	10.2117	26.7411	0.00	75.00
NAA	17.9461	22.50312	3.91729	9.9668	25.9253	0.00	80.00
CK	11.5152	24.09617	4.19461	2.9710	20.0593	0.00	100.00
總和	15.9792	23.29056	2.34079	11.3340	20.6244	0.00	100.00
第七批							
IBA	44.2457	24.97244	5.44943	32.8784	55.6130	0.00	100.00
NAA	52.8119	30.47703	6.65063	38.9389	66.6849	0.00	100.00
CK	65.4767	35.19843	7.68093	49.4545	81.4988	0.00	100.00
總和	54.1781	31.26880	3.93950	46.3032	62.0530	0.00	100.00
第八批							
IBA	48.9300	28.09696	7.02424	33.9582	63.9018	0.00	100.00
NAA	56.8838	25.52240	6.38060	43.2838	70.4837	22.22	100.00
CK	75.5800	23.67499	5.91875	62.9645	88.1955	25.00	100.00
總和	60.4646	27.67962	3.99521	52.4273	68.5019	0.00	100.00

表十二、臺灣穗花杉前試驗及重要保育單株扦插存活率之變方分析(Analysis of variance：ANOVA)檢定結果。

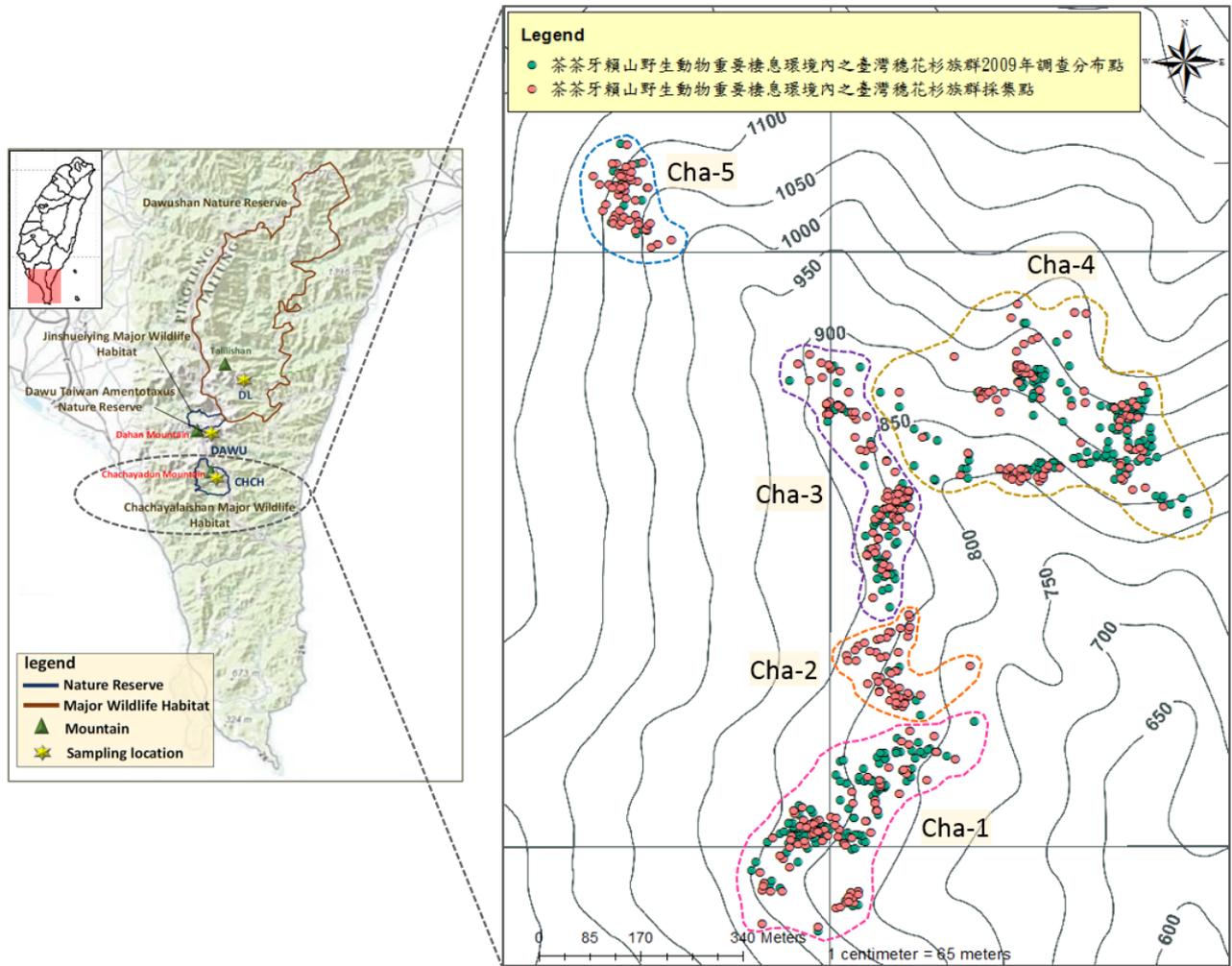
扦插二 ~ 三個月左右統計						最後統計				
第五批	2014.01.02					2015/02/24				
	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性
組間	20993.280	29	723.906	2.435	0.026	16454.15	29	567.384	1.71	0.118
組內	5350.616	18	297.256			5972.741	18	331.819		
總和	26343.896	47				22426.89	47			
第六批	2014/05/06					2015/02/24				
	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性
組間	1784.944	2	892.472	0.694	0.502	991.059	2	495.53	0.912	0.405
組內	123429.023	96	1285.719			52169.08	96	543.428		
總和	125213.966	98				53160.14	98			
第七批	2014/12/08					2015/02/24				
	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性
組間	5308.352	2	2654.176	4.100	0.021	4791.704	2	2395.852	2.575	0.085
組內	38839.040	60	647.317			55828.04	60	930.467		
總和	44147.392	62				60619.744	62			
第八批	2014/12/29					2015/02/24				
	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性	平方和	自由度	平均平方和	F	顯著性
組間	8055.506	2	4027.753	13.078	0.000	5989.517	2	2994.758	4.489	0.017
組內	13859.101	45	307.980			30020.055	45	667.112		
總和	21914.607	47				36009.572	47			

表十三、臺灣穗花杉重要保育單株扦插存活率之 LSD 法多重比較結果。

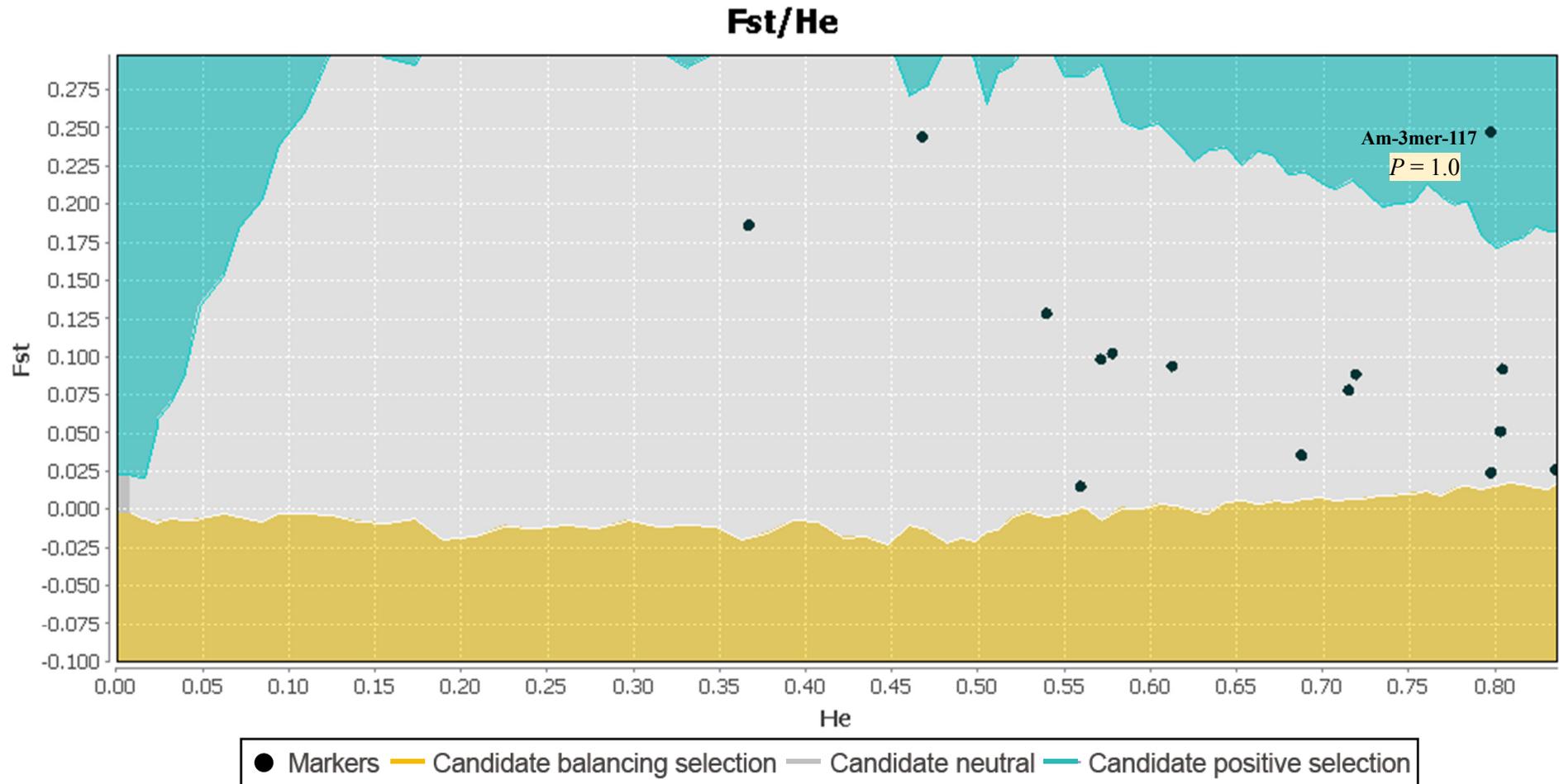
	藥劑處理 (I)	藥劑處理 (J)	平均差異 (I-J)	標準誤	顯著性	95% 信賴區間	
						下界	上界
第六批							
	IBA	NAA	0.5303*	5.7389	0.927	-10.8613	11.9219
		CK	6.96121*	5.7389	0.228	-4.4304	18.3528
	NAA	IBA	-0.5303*	5.7389	0.927	-11.9219	10.8613
		CK	6.43091*	5.7389	0.265	-4.9607	17.8225
	CK	IBA	-6.96121*	5.7389	0.228	-18.3528	4.4304
		NAA	-6.43091*	5.7389	0.265	-17.8225	4.9607
第七批							
	IBA	NAA	-8.56619*	9.4136	0.366	-27.3962	10.2638
		CK	-21.23095*	9.4136	0.028	-40.061	-2.4009
	NAA	IBA	8.56619*	9.4136	0.366	-10.2638	27.3962
		CK	-12.66476*	9.4136	0.184	-31.4948	6.1652
	CK	IBA	21.23095*	9.4136	0.028	2.4009	40.061
		NAA	12.66476*	9.4136	0.184	-6.1652	31.4948
第八批							
	IBA	NAA	-7.95375*	9.13176	0.388	-26.3461	10.4386
		CK	-26.65000*	9.13176	0.005	-45.0423	-8.2577
	NAA	IBA	7.95375*	9.13176	0.388	-10.4386	26.3461
		CK	-18.69625*	9.13176	0.046	-37.0886	-0.3039
	CK	IBA	26.65000*	9.13176	0.005	8.2577	45.0423
		NAA	18.69625*	9.13176	0.046	0.3039	37.0886

*：平均差異在 0.05 水準是顯著的。

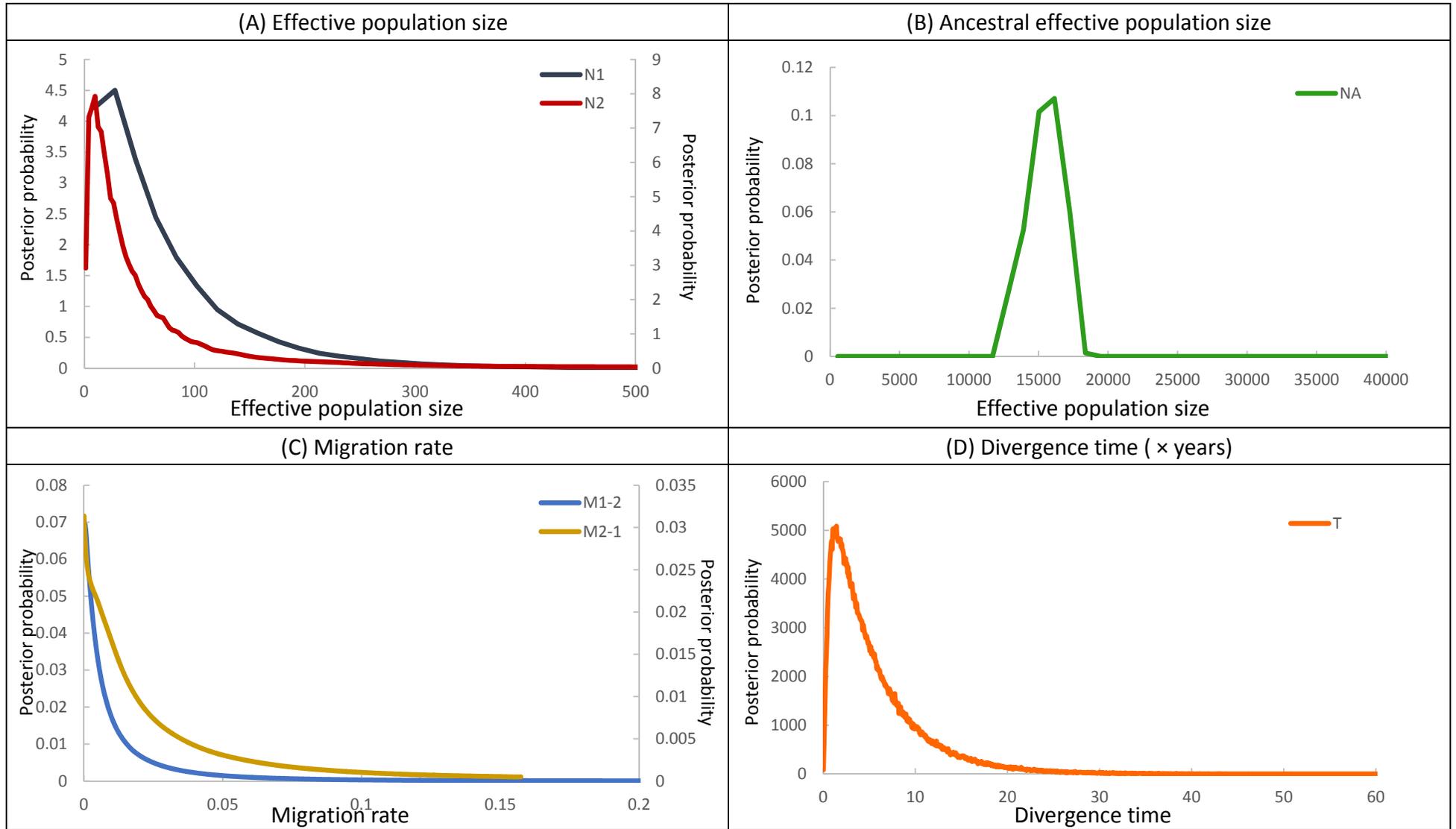
附圖



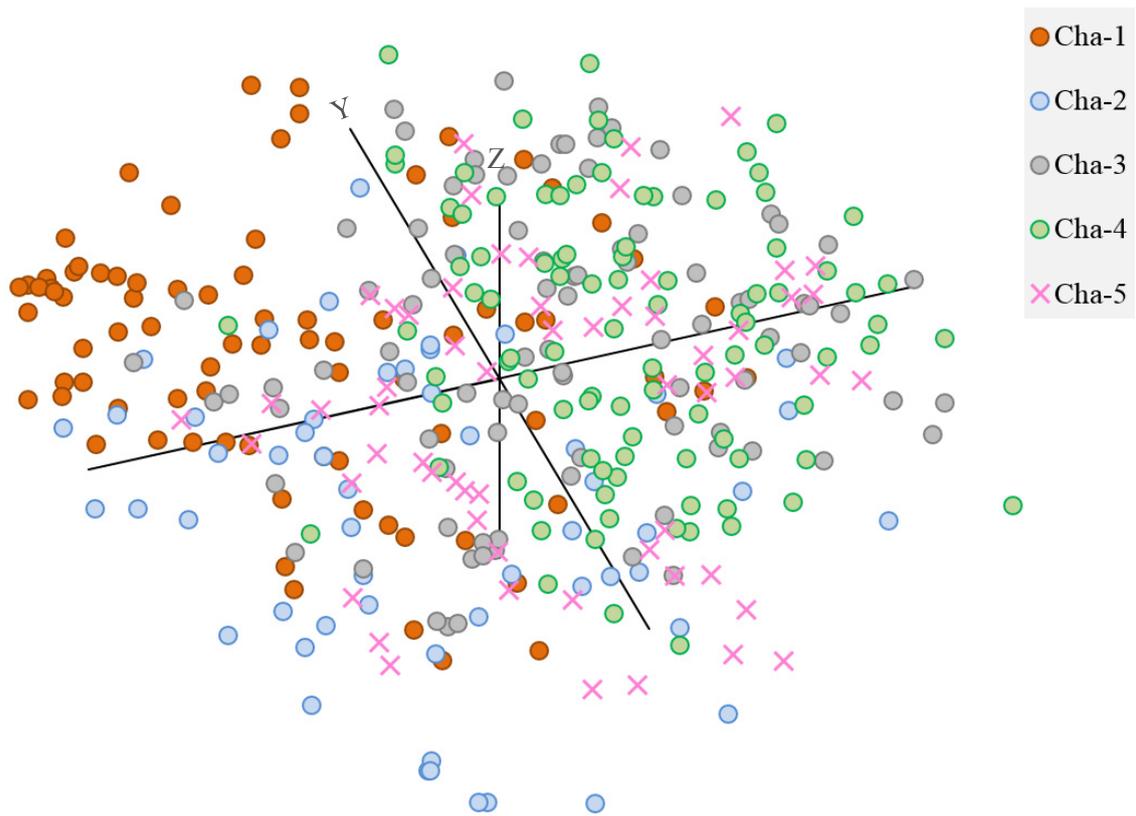
圖一、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群採集區域植株分布圖。



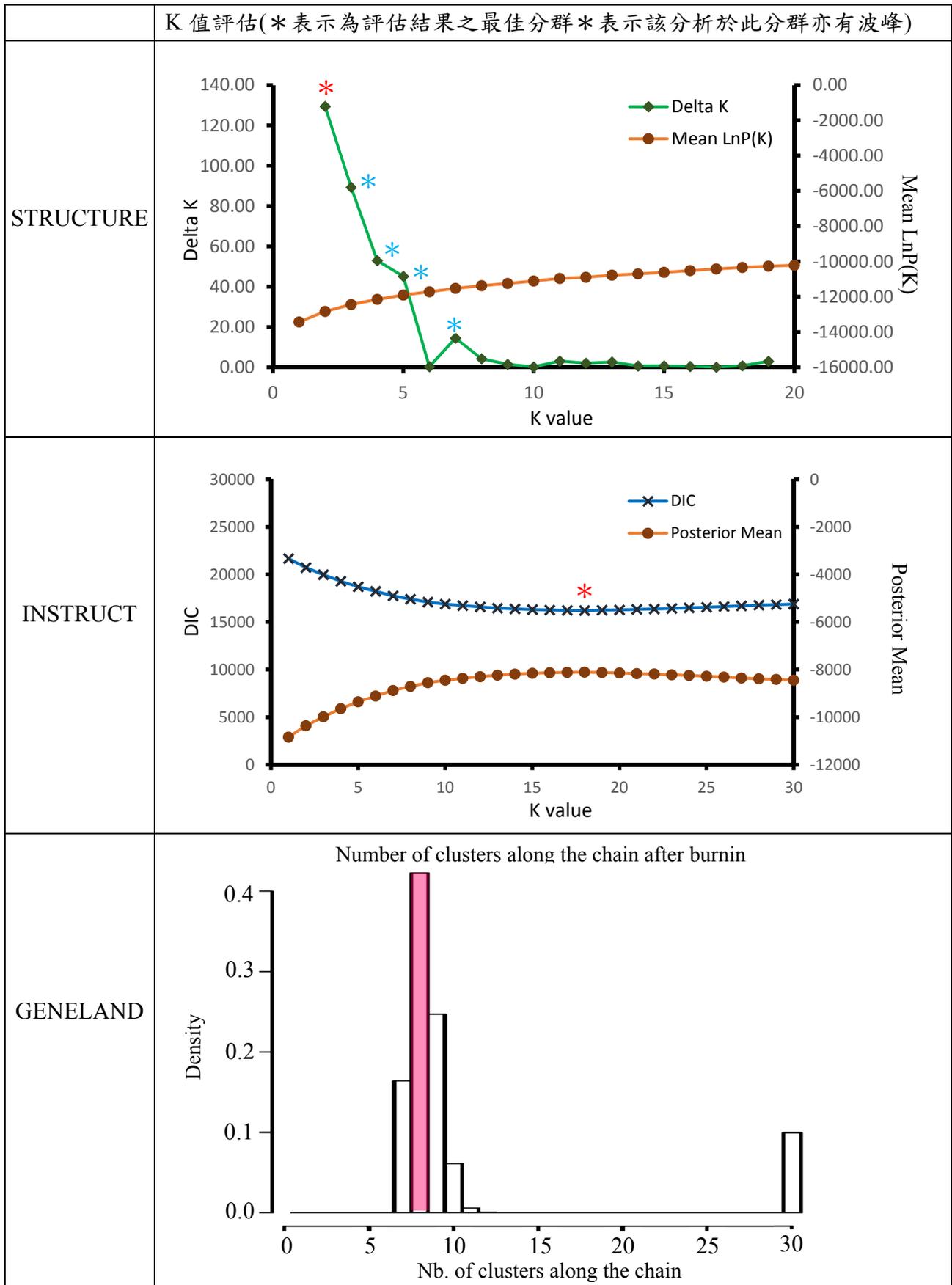
圖二、利用 LOSITAN 進行 15 組微衛星體基因座的中性檢測。其落於灰色區域表示為中性基因座，落於綠色區域表示其受到正向天擇，落於黃色區域表示其受到平衡性天擇。



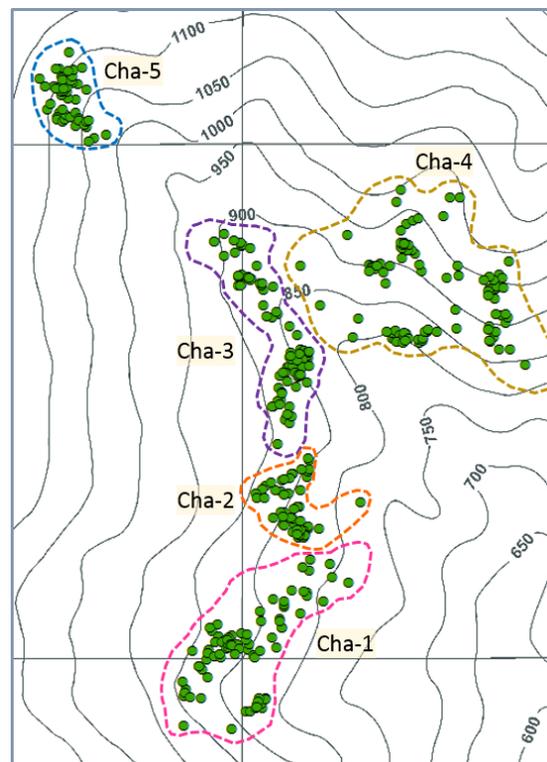
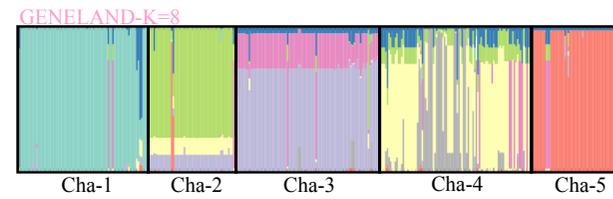
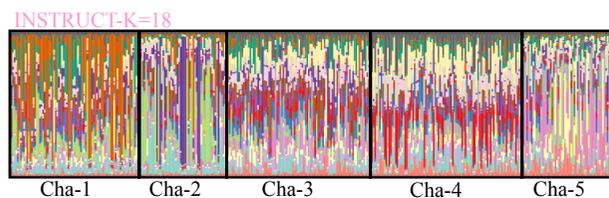
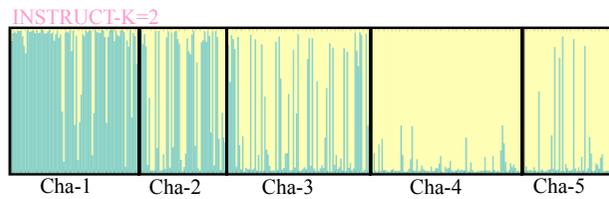
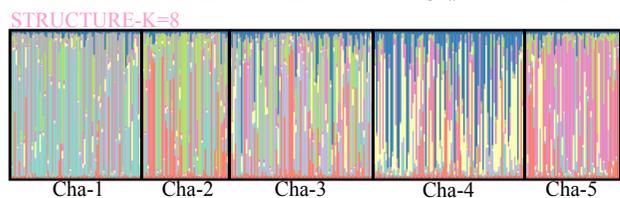
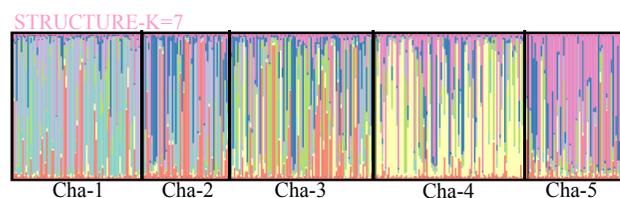
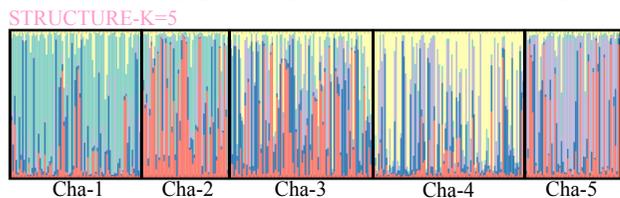
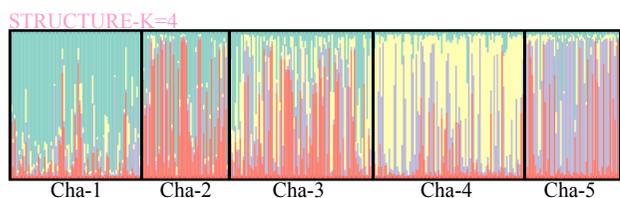
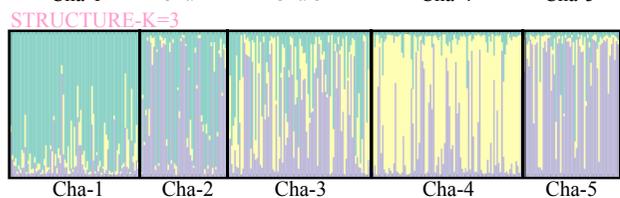
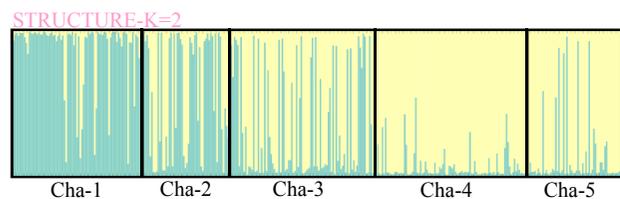
圖三、利用 IMA 計算臺灣穗花杉現生族群有效族群大小 [N₁: 茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)與 N₂: 大武臺灣穗花杉自然保留區(DAWU)及大里力山(DL)]、祖先族群之有效族群大小(N_A)、雙向基因交流 (M_{1,2}, M_{2,1})及分歧時間(T)。以 1×10⁷ 次的模擬運算，前 1×10⁶ 次忽略不紀錄方式進行分析，突變速率使用相近物種 *Thuja plicata* Donn 之平均突變速率 6.3×10⁻⁴ (per allele per generation) (O'Connell and Ritland,2004) 為參考之微衛星體突變速率，進行相關數值換算。



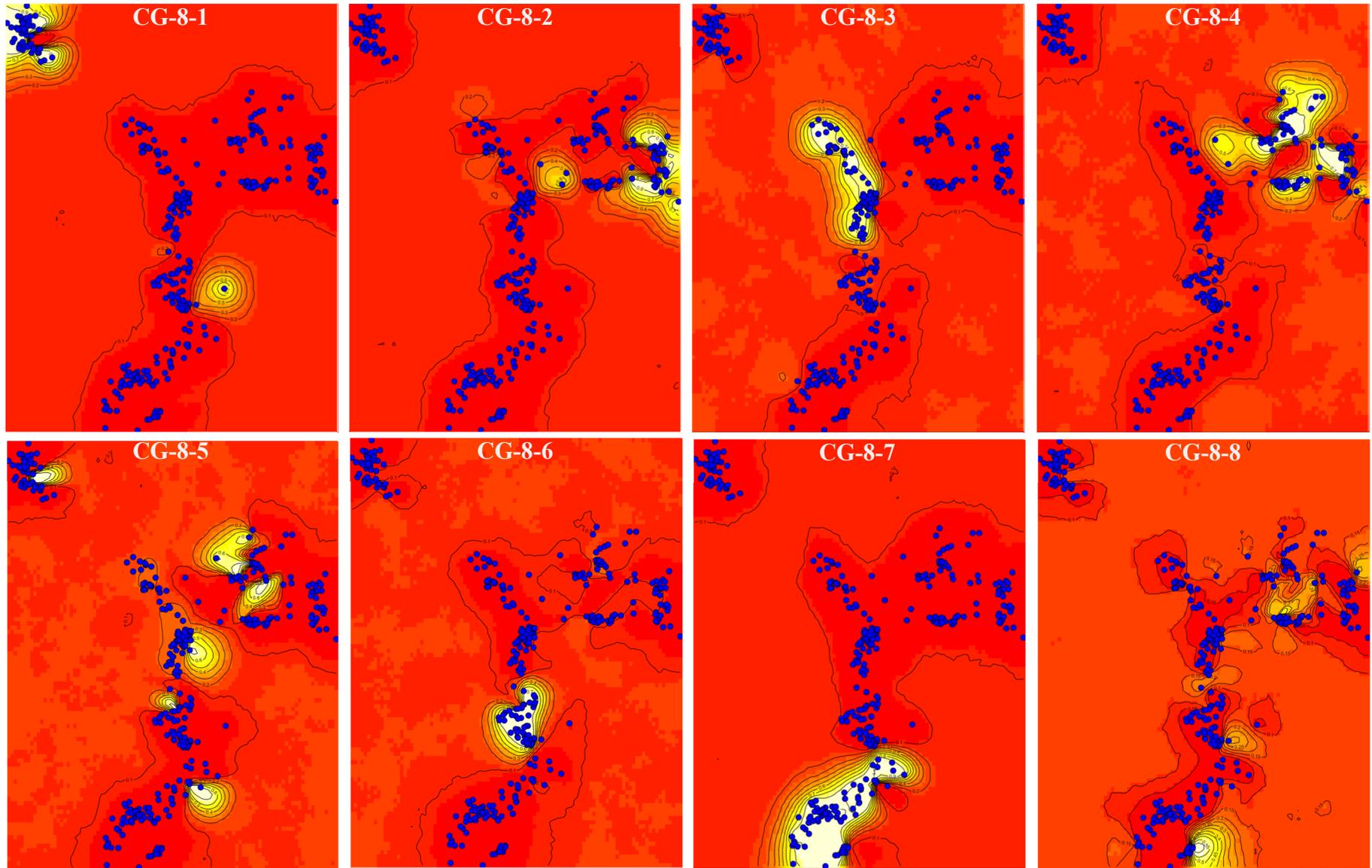
圖四、利用主座標分析(PCoA)檢測臺灣穗花杉於茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)內族群在 XY 座標軸分布情形。分析結果顯示，第一軸值佔 20.39%、第二軸值佔 19.16%、第三軸值佔 17.36%，合計前三軸佔 56.92%遺傳變異。顯示族群彼此間無明顯的分群情形。



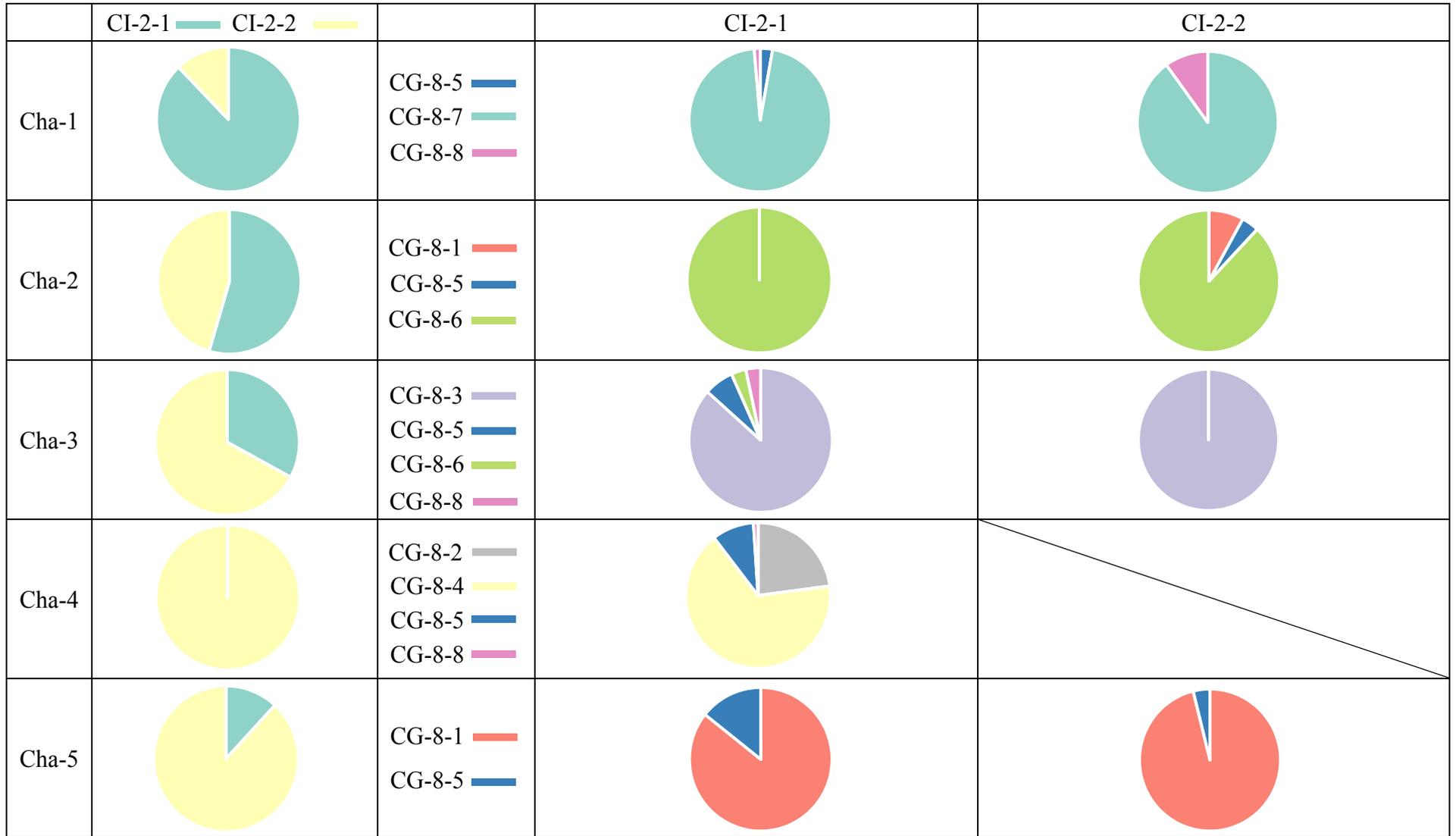
圖五、利用 STRUCTURE、INSTRUCT 及 GENELAND 進行臺灣穗花杉分群分析。STRUCTURE 及 INSTRUCT 評估各分群數之 Mean LnP(K)、 ΔK 、DIC (deviance information criterion) 值作為最佳分群數參考依據。GENELAND 藉由評估最高 likelihood 值做為最佳分群界定參考依據。



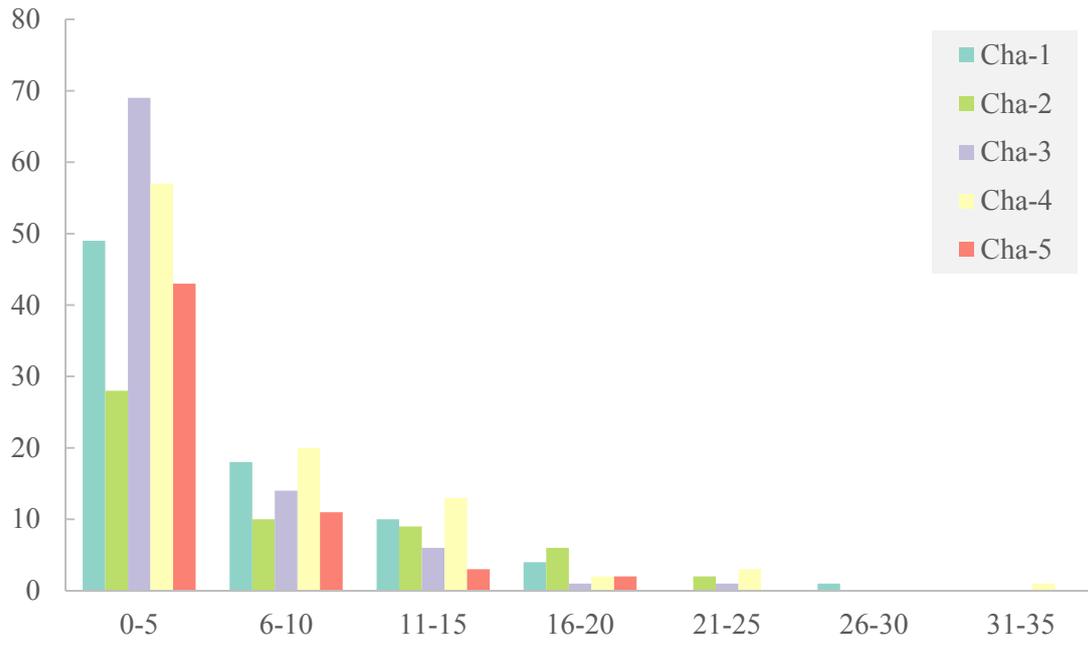
圖六、利用 STRUCTURE、INSTRUCT 與 GENELAND 進行臺灣穗花杉於茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)內族群的貝氏分群分析 (Bayesian clustering analysis)之結果，使用 DISTRUCT 軟體進行直條圖繪製，比較各分群分析結果一致性。STRUCTURE 分析結果在 K=2 為最佳分群數(其次為 K=3、4、5、7、8)，INSTRUCT 分析結果 K=18 為最佳分群數，GENELAND 分析結果於 K=8 為最佳分群數。每種顏色代表不同分群，每一條直條線代表不同個體。右下圖為各代碼定義位置示意圖。



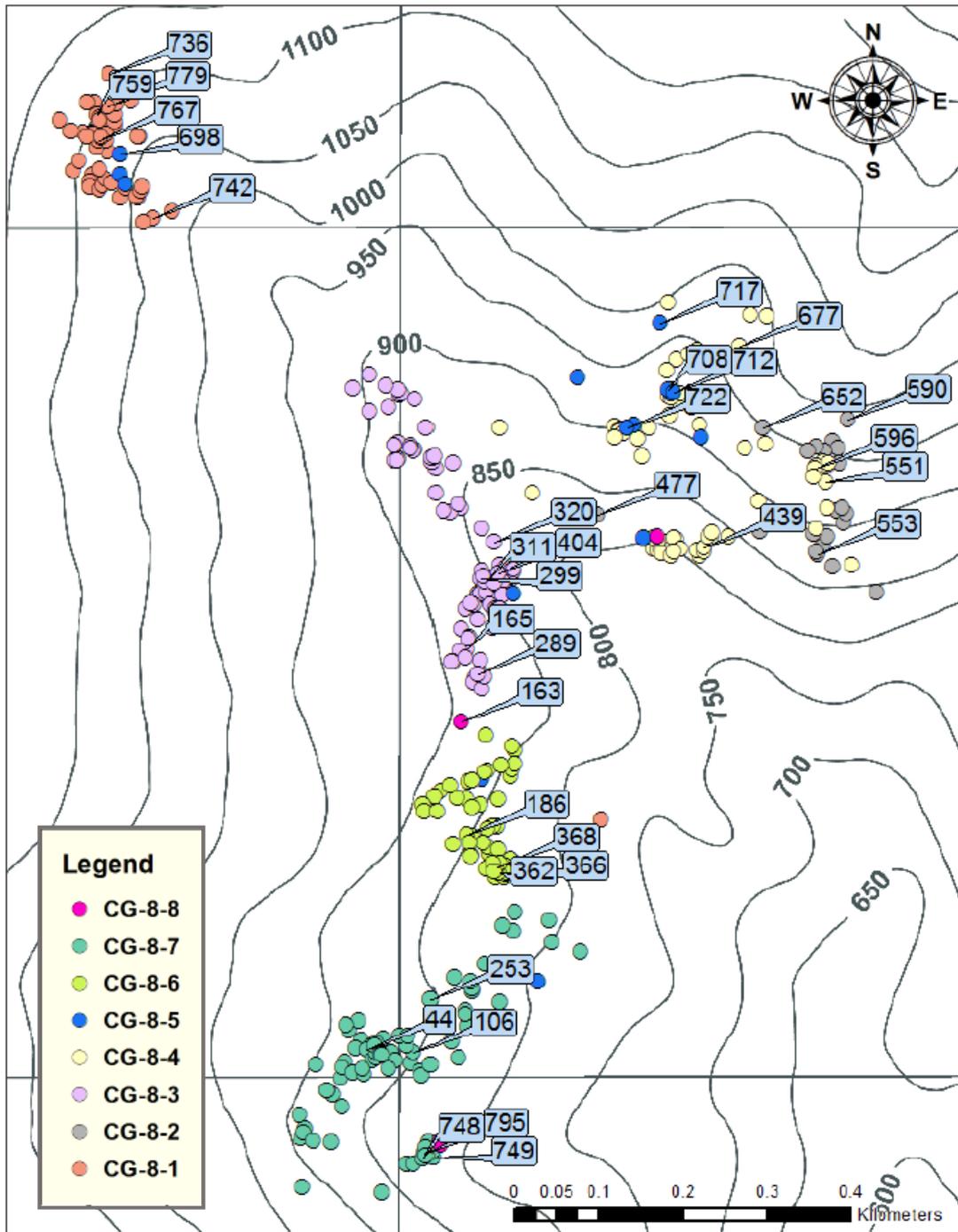
圖七、以 GENELAND 分群分析對遺傳分布及地理分布進行全樣本分析下之族群結構分布熱點圖(K=8)。CG-8-1~CG-8-8 為分群結果下之各分群結果的基因型代碼。黃白色區域為該群或亞群之主要分布的地理區，紅色區域為無分布或分布較少的地理區，藍色圓圈為樣本。



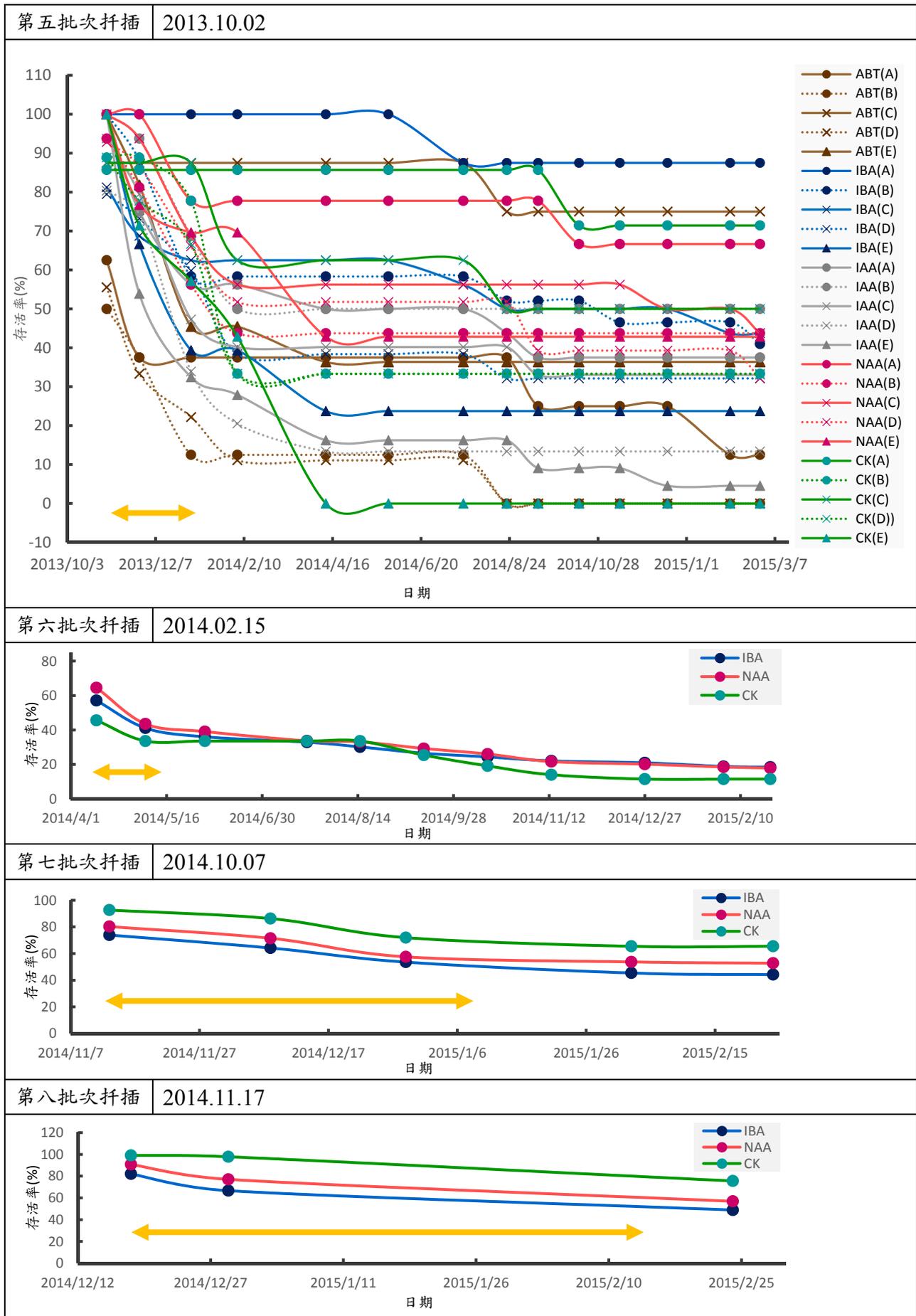
圖八、利用 GENELAND 分群分析針對 INSTRUCT 的 K=2 分群分析的結果進行細部分群檢測之各族群(Cha-1~ Cha-5)內基因型比例圖。CI-2-1~CI-2-2 為 INSTRUCT 分群分析結果(K=2)下各分群的基因型代碼。CG-8-1~CG-8-8 為 GENELAND 分群分析結果(K=8)下各分群的基因型代碼。



圖九、依據胸高直徑資料(DBH)，以 5 公分為一級距繪製出 DBH 分布長條圖。



圖十、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境(CHCH)內臺灣穗花杉族群 GENELAND 分析結果與挑選的重要遺傳保育個體分布情形(藍底文字框)，文字框內為重要遺傳保育個體的採集編號。



圖十一、臺灣穗花杉各扦插批次於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢。(雙箭頭為前三個月)

照片描述	扦插照片
<p>圖十二(A)：</p> <p>“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案”計畫之第一年的扦插試驗植株與第二年的臺灣穗花杉重要保育單株扦插之設施環境。</p>	 <p>11/03/2015 15:05</p>
<p>圖十二(B)：</p> <p>臺灣穗花杉重要保育單株扦插之設施環境內植株健康情形。</p> <p>(植株採集日期：2014.02.15)</p>	 <p>2014.02.24</p>
<p>圖十二(C)：</p> <p>單利用岩棉作為栽培介質進行重要保育單株扦插之情形。</p>	

圖十二、臺灣穗花杉重要保育單株之扦插設施。



圖十三(A)：
重要保育單株發根枝條(扦插5個多月，樣本編號：72)。(扦插日期：2014.10.08)



圖十三(B)：
重要保育單株發根枝條(扦插13個月，樣本編號：207)。(扦插日期：2014.02.16)



圖十三(C)：
“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案”計畫之第一年的扦插試驗植株發根情形。(扦插日期：2013.10.03)



圖十三(D)：
“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案”計畫之第一年的扦插試驗植株發根情形。(扦插日期：2013.10.03)

圖十三、臺灣穗花杉重要保育單株之扦插試驗成效。



圖十四(A)：
根部生長超出透明軟盆需進行移盆的植株。
(扦插日期：2013.10.03)



圖十四(B)：
採漸進移盆方式的已發根植株及移盆後樣貌。
(扦插日期：2013.10.03)

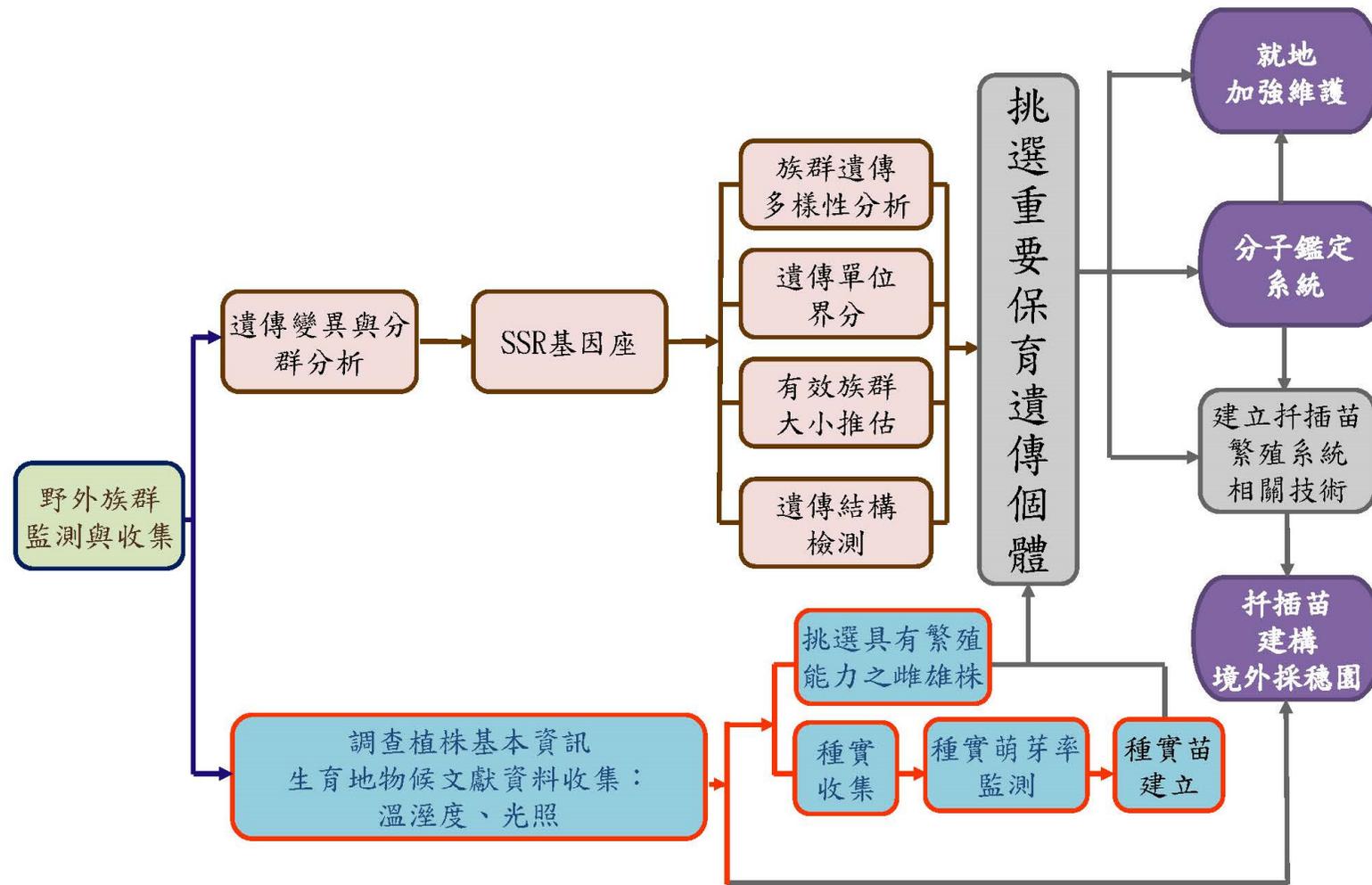


圖十四(C)：
第五批扦插試驗的發根枝條仍於後續死亡的情形。
(扦插日期：2013.10.03)



圖十四(D)：
第五批扦插試驗的發根枝條仍於後續死亡的情形。
(扦插日期：2013.10.03)

圖十四、臺灣穗花杉重要保育單株之扦插試驗後期照護問題。



圖十五、現地保育與異地遺傳保育行動方案流程

附錄

附錄一、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群現地遺傳保育之個體挑選。

No.	編號	族群	基因型	X-67	Y-67	DBH (cm)	健康等級	地徑 (cm)	樹高 (m)	大牌編號
1	742	Cha-5	CG-8-1			12	4	14.6	4	B075
2	779	Cha-5	CG-8-1			14	4	19	5	B184
3	736	Cha-5	CG-8-1			17	4	18.2	9	C107
4	652	Cha-4	CG-8-2			14	3	15.3	7	C061
5	477	Cha-4	CG-8-2			20	5	22.1	2	-
6	509	Cha-4	CG-8-2			34	5	36	9	C041
7	320	Cha-3	CG-8-3			15	5	16.4	7	D072
8	404	Cha-3	CG-8-3			16	4	25.2	9	C085
9	289	Cha-3	CG-8-3			22	4	28	7	-
10	596	Cha-4	CG-8-4			20	4	22.5	8	-
11	511	Cha-4	CG-8-4			22	5	30.5	4	C043
12	551	Cha-4	CG-8-4			22	4	31.7	8	C019
13	712	Cha-4	CG-8-5			11	4	12.9	8	C037
14	717	Cha-4	CG-8-5			11	3	15.5	5	A030
15	708	Cha-4	CG-8-5			22	4	-	7	-
16	186	Cha-2	CG-8-6			13	5	16.2	7	D088
17	362	Cha-2	CG-8-6			15	5	19.2	6	A074
18	240	Cha-2	CG-8-6			21	4	23.4	10	B206
19	795	Cha-1	CG-8-7			14	5	15	5	B144
20	106	Cha-1	CG-8-7			20	4	-	8	A144
21	44	Cha-1	CG-8-7			28	4	-	6	A165
22	163	Cha-3	CG-8-8			6	4	7.6	4	A246
23	791	Cha-1	CG-8-8			8	4	10.6	4	B148
24	792	Cha-1	CG-8-8			10	4	11.4	4	B146

Note: ” - “為缺少相關資訊。

附錄二、茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內之臺灣穗花杉族群異地遺傳保育之個體挑選。

No.	編號	族群	基因型	X-67	Y-67	DBH (cm)	健康等級	地徑 (cm)	樹高 (m)	大牌編號
1	759	Cha-5	CG-8-1			8	4	12	5	B176
2	767	Cha-5	CG-8-1			8	4	11	3	C174
3	731	Cha-5	CG-8-1			9	4	10.9	5	B181
4	553	Cha-4	CG-8-2			4	4	5.5	3	C009
5	590	Cha-4	CG-8-2			4	4	5.2	0	C183
6	311	Cha-3	CG-8-3			8	4	9	3	C089
7	165	Cha-3	CG-8-3			9	4	12.1	5	A209
8	299	Cha-3	CG-8-3			9	4	11.2	5	C099
9	439	Cha-4	CG-8-4			6	5	9	1	B004
10	677	Cha-4	CG-8-4			9	4	11.5	3	C067
11	706	Cha-4	CG-8-4			9	4	10.3	5	A049
12	698	Cha-5	CG-8-5			3	4	3.4	2	C163
13	719	Cha-4	CG-8-5			6	4	7.7	3	A014
14	722	Cha-4	CG-8-5			8	4	10.1	3	A013
15	366	Cha-2	CG-8-6			6	4	7.5	4	A076
16	368	Cha-2	CG-8-6			9	4	11.0	3	A078
17	184	Cha-2	CG-8-6			10	4	15.4	6	B207
18	748	Cha-1	CG-8-7			7	4	10	2	B189
19	749	Cha-1	CG-8-7			7	4	8.7	3	B150
20	253	Cha-1	CG-8-7			9	4	12.5	4	A192
21	163	Cha-3	CG-8-8			6	4	7.6	4	A246
22	791	Cha-1	CG-8-8			8	4	10.6	4	B148
23	792	Cha-1	CG-8-8			10	4	11.4	4	B146

附錄三、第六批、第七批、第八批之重要保育單株扦插各批次母樹編號及扦插數量。

第六批扦插試驗		第七批扦插試驗		第八批扦插試驗	
母樹編號	扦插數目	母樹編號	扦插數目	母樹編號	扦插數目
2	11	6	30	6	22
11	7	11	18	21	29
23	15	18	6	27	24
25	15	39	20	35	36
44	12	44	21	37	26
54	13	54	22	65	21
68	12	57	13	82	19
69	12	71	14	90	17
73	12	72	5	120	24
79	10	82	24	124	20
84	11	96	14	133	21
85	16	142	19	170	8
88	9	143	22	172	28
102	12	205	15	209	28
104	12	206	16	210	35
108	10	207	17	227	21
110	10	208	25	-	-
111	13	210	25	-	-
113	11	212	21	-	-
114	11	220	24	-	-
116	13	228	11	-	-
119	9	-	-	-	-
133	11	-	-	-	-
151	10	-	-	-	-
167	5	-	-	-	-
169	21	-	-	-	-
173	10	-	-	-	-
211	11	-	-	-	-
212	13	-	-	-	-
213	11	-	-	-	-
214	17	-	-	-	-
220	14	-	-	-	-
225	10	-	-	-	-

附錄四、大武臺灣穗花杉自然保留區境內的臺灣穗花杉族群(DAWU)之所有實驗樣本的編號、座標、植株資訊、基因型等資訊。

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
1			7	5.9	3.5	225	-	2	DG-15-11
2			6	4	2.1	226	-	2	DG-15-11
3			3	2.5	3.2	774	-	2	DG-15-11
4			17.8	2.5	2.3	201	萌	2	DG-15-11
5			12.5	10	6	378	-	3	DG-15-11
6			11.3	8.8	7.1	354	-	3	DG-15-2
7			9.6	8.5	8.2	377	-	3	DG-15-2
8			12.5	8.5	7.8	376	-	3	DG-15-2
9			25.5	16.5	12.2	372	-	3	DG-15-14
10			15.5	10.8	7	AT6009	-	2	DG-15-7
11			11.7	7.5	5.8	772	-	3	DG-15-14
12			4.5	2	2.2	-	-	3	DG-15-11
13			6	4	4.5	379	-	2	DG-15-11
16			16	12.5	9	AT65005	-	4	DG-15-14
17			17	14	8	744	-	3	DG-15-14
18			14.5	11	7.3	AT6006	-	3	DG-15-7
19			10	7.5	5.1	391	-	2	DG-15-7
20			20	17	14	381	-	4	DG-15-14
21			13	11	8.4	369	-	3	DG-15-7
22			11	6.6	3	AT6010	-	3	DG-15-7
23			7	4.5	6.2	367	-	3	DG-15-14
24			11	5	5.8	362	-	2	DG-15-15
25			25	15.7	9.1	AT6011	公	3	DG-15-11
26			17.6	9.8	7.8	T602	-	2	DG-15-15
27			5	3	2.6	384	母	3	DG-15-11
28			8.5	7	7.2	392	母	2	DG-15-15
29			6	4	4.2	393	母	3	DG-15-15
30			26	16.5	10	398	母	4	DG-15-15
31			4	2	2.5	-	-	3	DG-15-11
32			3.5	2.5	3.7	397	-	3	DG-15-11
33			2	1	1.8	53	-	3	DG-15-11
34			4	2.5	3.9	25	-	2	DG-15-11
35			15	11	8.3	385	-	3	DG-15-11
36			32	22	14	AT6007	-	4	DG-15-15
37			16	8.2	4	AT6012	-	3	DG-15-7
38			16.2	13.5	6.4	AT6013	-	4	DG-15-15
39			6.5	3.5	2.5	AT6014	-	3	DG-15-15
40			16	10	6.7	432	-	3	DG-15-15

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
41			7	4.5	3.8	220	-	4	DG-15-15
42			13.9	9.5	6	213	公	2	DG-15-1
43			11.3	8	4.5	214	-	4	DG-15-15
44			7	5	3	AT6019	-	4	DG-15-15
45			5	2.3	3.2	212	-	3	DG-15-7
46			10.5	8.5	6.3	216	-	3	DG-15-15
47			9	5	2	217	-	2	DG-15-12
48			3	2.3	1.8	211	-	3	DG-15-12
49			3	3	2	233	-	3	DG-15-12
50			4	1.5	2.2	231	-	3	DG-15-12
51			3	2	2	234	-	4	DG-15-12
53			4	2	2.6	238	-	3	DG-15-12
54			5	2	1.8	AT6021	-	3	DG-15-7
55			10	6	5.2	235	-	3	DG-15-7
56			11.5	8.2	6	AT6027	-	4	DG-15-12
57			3	4	1.6	9	-	3	DG-15-12
58			12	9	6.4	8	-	3	DG-15-12
59			9	6.5	5.3	11	-	3	DG-15-6
60			9	1.8	2.3	12	-	3	DG-15-6
61			3.5	2	2.9	765	-	3	DG-15-12
62			6.5	2.5	2.7	764	-	3	DG-15-12
63			14	7	6.1	AT6018	-	3	DG-15-12
64			3	1	2	756	-	3	DG-15-12
65			10	7	4.7	228	-	4	DG-15-12
66			6	4	3.2	209	-	3	DG-15-12
67			2.5	2	1.8	768	-	3	DG-15-12
68			7	6.5	3.8	208	-	4	DG-15-11
69			6	3.5	3.7	207	-	3	DG-15-12
70			4	3	3.1	767	-	3	DG-15-12
71			9	6	4.6	227	-	3	DG-15-11
72			-	-	0.25	AT6016	幼苗	3	DG-15-12
73			11	7.5	5.3	1	-	4	DG-15-12
74			3.5	3	2.4	2	-	3	DG-15-12
75			7	6.2	6	4	-	3	DG-15-12
76			11.5	8.5	6.5	6	-	4	DG-15-13
77			3	2	1.6	46	-	4	DG-15-12
78			0.5	-	0.35	-	幼苗	4	DG-15-4
79			6	2	1.7	868	-	3	DG-15-4
80			3.5	2.5	1.3	44	-	3	DG-15-4
81			5	3	2.1	AT6029	-	3	DG-15-4

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
82			6	3.5	3.8	42	-	4	DG-15-13
83			18.5	14	8	39	-	4	DG-15-13
84			6.3	4.3	4.2	41	-	3	DG-15-13
85			6	2.5	3.8	38	-	3	DG-15-13
86			8	3	3.6	245	-	3	DG-15-13
87			8	3	2.9	87	-	4	DG-15-13
88			22	20	15	50	-	4	DG-15-13
89			13	1	8	47	-	3	DG-15-13
90			9.5	8	6.5	-	-	4	DG-15-13
91			11.5	8.5	6.3	49	-	4	DG-15-13
92			4.5	2.7	2.8	37	-	3	DG-15-13
93			6	5	5.3	36	-	3	DG-15-13
94			1.8	1	1.2	35	-	2	DG-15-4
95			16	11.5	5.4	AT031	-	3	DG-15-13
96			18	12.9	6	AT6030	-	3	DG-15-13
97			17	14.2	7.4	33	-	4	DG-15-7
98			4	2.5	3.7	34	-	3	DG-15-13
99			4	2.7	2.1	29	-	3	DG-15-13
100			2.7	-	1	28	-	3	DG-15-13
101			2	1.5	1.3	23	-	3	DG-15-3
102			2.5	2	1.3	22	-	3	DG-15-3
103			4.8	2.8	1.9	AT6032	-	3	DG-15-3
104			6	2.8	2.5	21	-	4	DG-15-3
105			4.4	2.4	2.8	20	-	3	DG-15-4
106			1	-	0.6	811	-	4	DG-15-12
107			2.7	2.5	1.5	AT6033	-	4	DG-15-4
108			3	1.5	1.5	777	-	4	DG-15-4
109			17.5	14.7	8.5	-	-	3	DG-15-14
110			2	1.2	1.8	77	-	3	DG-15-4
111			27.5	23.8	12	73	-	4	DG-15-12
113			2	1.5	2	72	-	3	DG-15-7
114			25.3	19	10	69	母	4	DG-15-2
115			43.5	27	14	68	母	4	DG-15-2
116			18	14.5	5.5	67	母	4	DG-15-2
117			14.2	11	9	-	-	4	DG-15-7
118			23	17.5	10	65	-	4	DG-15-7
119			26.5	25	11	416	公	4	DG-15-2
120			22	17	13	62	-	4	DG-15-2
121			6	4.5	6	63	-	4	DG-15-2
122			2.5	1	1	AT6026	-	3	DG-15-7

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
123			35	34	13	54	公	4	DG-15-7
124			13	10	9	55	-	4	DG-15-13
125			18	16	10	56	-	4	DG-15-13
126			25	5.5	5.4	57	-	4	DG-15-7
127			5.3	3.5	2.9	61	-	3	DG-15-7
128			4.5	0.8	1.5	60	-	2	DG-15-7
129			4.8	2.5	1.8	310	-	3	DG-15-7
130			2.5	-	0.7	311	-	3	DG-15-7
131			28.8	25	9	257	公	4	DG-15-7
132			10.7	9.5	7.2	258	公	4	DG-15-1
133			27.2	24.5	11	418	母	4	DG-15-1
134			7.6	5.8	5.5	419	-	4	DG-15-1
136			2.6	2	3	254	-	3	DG-15-10
138			13	8.2	3.2	255	-	4	DG-15-1
139			3.5	2.5	2.9	251	-	4	DG-15-10
140			4.7	1.5	5.7	252	-	4	DG-15-10
141			7.7	5.7	4.2	221	-	3	DG-15-10
142			3.5	1.6	2.5	222	-	4	DG-15-10
143			6	3	2.4	AT6024	-	4	DG-15-10
144			5	3	2.7	304	-	3	DG-15-10
145			7.5	3.5	6	308	-	3	DG-15-7
146			1.5	-	0.8	307	-	3	DG-15-7
147			6	3.2	3	302	-	3	DG-15-7
148			7	3.7	3.2	301	-	4	DG-15-7
149			12	9	9	52	-	3	DG-15-7
151			9	7	5.1	242	-	3	DG-15-7
152			8	5.8	7.1	247	-	2	DG-15-7
153			12.5	9.8	8.5	248	-	4	DG-15-7
154			5	3.5	2.5	240	-	4	DG-15-7
155			3.5	2	3.5	241	-	3	DG-15-7
156			0.5	-	0.6	AT6025	-	3	DG-15-7
157			5	3.6	3.6	209	-	4	DG-15-7
158			3	2	1.7	AT6023	-	4	DG-15-7
159			2	-	1	239	-	2	DG-15-7
160			16	11.5	8	-	-	4	DG-15-7
161			4.5	1.5	1.7	AT6022	-	3	DG-15-7
162			6	4	2.6	422	-	3	DG-15-15
163			18	13	7	448	公	4	DG-15-15
164			31	28	8	386	-	4	DG-15-15
165			14.2	12.5	7.2	AT6008	公	3	DG-15-15

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
166			2	1.5	1.5	AT6017	-	2	DG-15-15
167			16.5	14	7	446	-	3	DG-15-15
168			10	9	6	388	母	4	DG-15-15
169			4.6	2.7	2.2	387	-	3	DG-15-15
170			3.3	2	3.4	389	-	3	DG-15-3
171			7	4.5	5	500	-	4	DG-15-1
172			2.6	3	2.9	394	-	4	DG-15-3
173			15.8	11.5	9.2	395	-	4	DG-15-1
174			37.5	27	17	441	-	4	DG-15-1
175			4.8	4.2	24	454	-	4	DG-15-1
176			3.5	2.5	1.7	497	-	4	DG-15-3
177			6	2	2	413	-	3	DG-15-3
178			16.9	12.5	4.7	414	-	4	DG-15-1
179			3.5	2.5	3	-	-	4	DG-15-3
180			3	1.5	1.7	142	-	4	DG-15-5
181			3	2	2.2	141	-	4	DG-15-5
182			3.5	2.5	2.5	343	-	4	DG-15-5
183			7.5	4.5	3.5	344	-	4	DG-15-1
184			4.5	2.5	2.2	144	-	4	DG-15-5
185			4.5	3.5	2.7	143	-	4	DG-15-5
186			4	2.5	2.1	871	-	4	DG-15-5
187			5	3	3.2	145	-	3	DG-15-9
188			7.5	5	4.5	146	-	4	DG-15-1
189			8	6	3.5	345	-	4	DG-15-9
190			9.5	6	4.1	346	-	4	DG-15-1
191			8	6	3.3	279	-	4	DG-15-9
192			9	5	3.1	281	-	4	DG-15-1
193			2.5	1.5	4	148	-	3	DG-15-9
194			5	3	4.5	147	-	4	DG-15-9
195			7	5	8	283	-	4	DG-15-1
196			6.5	4.5	5	284	-	4	DG-15-1
197			1.5	3	1.7	-	-	4	DG-15-9
198			1.5	2	1.4	118	-	4	DG-15-9
199			4	3	1.8	117	-	2	DG-15-9
200			7.5	3.5	4.8	116	-	4	DG-15-8
201			4.5	2	1.7	119	-	4	DG-15-8
202			3	1.5	1.7	149	-	4	DG-15-8
203			4	3	4.5	150	-	4	DG-15-8
204			2.5	1.5	2	140	-	4	DG-15-8
205			12	8	12	61	-	4	DG-15-6

code	X-67	Y-67	地徑(cm)	DBH(cm)	樹高(m)	大牌	雌雄	健康度	基因型
206			10	7	8	869	-	4	DG-15-8
207			3.5	2.5	3.5	16	-	2	DG-15-8
208			11	8	9	7	-	4	DG-15-6
209			1	2	3.1	870	-	4	DG-15-5
210			4	2.8	2.5	-	-	4	DG-15-5
211			13	11	10	700	-	4	DG-15-6
212			20	13	12	725	-	4	DG-15-6
213			11	7.5	8	-	-	4	DG-15-6
214			15	11	11	723	-	4	DG-15-6
215			44	28	15	-	-	3	DG-15-6
216			13	11	5.6	-	-	4	DG-15-6
217			22	18	11	350	-	4	DG-15-6
218			8	6	4	741	-	2	DG-15-9
219			11.8	9.5	7	721	-	4	DG-15-6
220			35	30	15	75	-	4	DG-15-9
221			35.2	26.7	11	314	-	4	DG-15-9
222			11.4	7.1	4.5	315	-	4	DG-15-9
223			5.4	3.8	3.8	316	-	4	DG-15-9
224			12	9.5	4.1	88	公	4	DG-15-9
225			25.5	21.5	9.8	90	母	4	DG-15-9
226			4	2.4	2.1	92	母	4	DG-15-9
227			18.5	16.5	12	236	-	4	DG-15-9
228			9.3	4	2.2	94	-	3	DG-15-9
229			4.2	4	3.9	95	-	3	DG-15-9
230			28	23	13	3537	-	4	DG-15-9
232			11	9	6.7	96	-	4	DG-15-9

Note : ” - “為缺少相關資訊及無法量測。

附錄五、期中報告意見回覆

期中報告審查意見	回覆
<p>(林委員敏宜-1)扦插處理方法敘述方式太過模糊，雖然附表 7 有較詳細採集資料，但是每株母樹採用多少枝條、枝條粗細度、採集部位皆是影響後續存活關鍵。</p>	<p>謝謝委員意見，已於研究報告的”臺灣穗花杉扦插繁殖方法與流程”內文中增補說明，每株母樹採用多少枝條的資訊亦已加列於附錄三。枝條粗細度部分，並無特別挑選，因本計畫主要目標為挑選臺灣穗花杉特定重要保育單株，其各保育單株於野外的植株生長情況不一，即便生長情況不佳且枝條偏細，仍須盡量挑選適當的健康成熟枝條，故於挑選上的重點不在枝條粗細度，而是成熟度與健康度，且目前扦插成功發根的枝條中，不乏枝條偏細仍有成功發根的情況。採集部位雖然以靠近母樹基部的枝條為主要採集對象，但野外情況若於此部位的枝條狀況不佳，仍須採用其他部位的枝條，故採集部位亦非採集枝條的考慮重點之一。臺灣穗花杉萌蘗力強，因此，若可採集到健康且成熟的枝條進行扦插，成功率便可提高，無須著重枝條粗細度及採集部位等因素。</p>
<p>(林-2)P.17 敘述扦插處理組合，但是無清楚描述 IBA 及 NAA 是混合或分開使用，是否只用 2000ppm 濃度，如何決定濃度選用，提高濃度是否可能提高存活率及發根率？</p>	<p>謝謝委員意見，IBA 及 NAA 為分開使用。此外，本次計畫目標為利用已知的發根處理方式，完成各基因型的扦插枝條達目標株數，目的不在測試不同濃度是否可能提高存活率及發根率。因此扦插繁殖方面，諮詢專業園藝植栽業者及國內相關專業學者後，採用 2000ppm 濃度進行扦插工作，並已成功達成各基因型所需的扦插枝條數量，且扦插枝條發根狀況良好(詳見期末報告的圖十三)。</p>

<p>(林-3)濕度及溫度是扦插環境成功關鍵，噴水量及日夜溫差都無敘述。</p>	<p>謝謝委員意見，已於研究報告的”臺灣穗花杉扦插繁殖方法與流程”內文中的”(d)管理與發根觀察”段落詳細說明溫度與濕度的管理。</p>
<p>(林-4)依據表 7 資料,採集 32 棵母樹，若是只用 1 種發根劑組合，但有 3 種介質，共用 389 個枝條，故平均每 1 種處理只有 4 個枝條，但是依據表 7 每 1 母樹存活數目又超過此數目，後續統計如何進行？</p>	<p>謝謝委員意見，內文敘述之不清楚處已進行修改，各批次之扦插的母樹數量已增列於附錄三。其存活數目與原先扦插數量並不衝突</p>
<p>(林-5)表 7 雌雄標示出現” - “請註記其意義。</p>	<p>謝謝委員意見，已於研究報告中註明。” - “為缺少相關資訊。</p>
<p>(林-6) P21 提到 5-7 月悶熱氣候造成扦插植株大量死亡，可能必須要有較強理論依據，扦插除冬天不適合外，其他季節皆可，夏天應該是較易存活的季節。</p>	<p>謝謝委員意見，相關存活率趨勢圖已於研究報告中增補。由研究報告的圖十一之”臺灣穗花杉各扦插批次於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢”圖中可見在 5-9 月時間，本應趨於穩定的扦插植株存活率下降，相對高雄的溫度，其在四月份平均溫度 25.9°C，但在五月份開始平均溫度均在 28°C 以上，最高達 30.3°C，爾後十月份平均溫度才下降回 27°C 左右。因此推測此段時間突然下降的存活率與溫度有相關聯，雖然當時已有進行設施環境的灑水及風扇降溫等措施，仍因偏高的溫度造成部分植株的死亡。</p> <p>此外，夏天扦插雖然容易發根，但是死亡率也相對高(對於臺灣穗花杉此物種而言，此季節溫度太熱)，秋天扦插的成功率較高，但是發根速度較慢，夏天採集的枝條雖然生長較佳，但容易於前期快速長葉之後植株便死亡。且由圖十一中的各批次存活率趨勢圖中可見，第七批及第八批扦插於 10 月份及 11 月份進行，扦插效果佳，存活率高，且</p>

	於扦插三個月後有觀察到發根的植株，故建議於此季節進行扦插。
(林委員虔隆-1)受託單位對穗花杉遺傳單元分子生物鑑定之分析成果豐碩，值得肯定。	謝謝委員意見。
(林-2)扦插繁殖方面，如採用民間作法(如圖3所示)較為粗放，學術方面研究宜嚴謹，方能獲致更進一步資訊。	謝謝委員意見，以期中報告的圖三為例，將扦插枝條置於塑膠桶或白色收納箱內進行試驗，箱內溫度約25-27°C，並維持環境高濕度，箱內裝發泡煉石，高度約10公分，並在2/3高的地方打洞(協助排水)，將扦插完的小栽培盆放在上面，並在箱頂蓋上有打洞的塑膠布(協助透氣)，栽植的環境四周用黑網布覆蓋，進行遮光處理。或單利用岩棉作為栽培介質並置於溫室中，亦有控制環境高濕度[期中報告的圖三C(研究報告的圖十二 C)]，栽植環境條件均有控制。
(林-3) p16 IBA 和 NAA 濃度或比例未敘明。	謝謝委員意見，於 p16 內文的「b. 方法於流程」中的「(a)發根之藥劑處理」的內文中有對於濃度有所敘述。IBA 及 NAA 生長調節劑處理方面，將藥劑 10000ppm 的母液稀釋成 2000ppm 之試驗濃度。
(林-4) p21 扦插結果未與因子(3 藥劑、3 介質)進一步敘明變因。	謝謝委員意見，此部分的相關論述與統計結果已於研究報告中增補其相關資訊。
(林-5) p37 DBH 徑、樹高之單位未標、扦插數未述；另應增加發根率與平均發根數。	謝謝委員意見，相關單位已於研究報告中增加。此外，重要保育單株扦插各批次母樹編號及扦插數量等資訊已列於附錄三。發根率與平均發根數的統計方面，由於考量發根後植株仍屬脆弱，如研究報告的圖十四(C)與(D)，發根後仍有死亡

	<p>的可能性，所以並不建議於發根初期移動植株，故沒有進行全面性的調查存活植株的發根情形，但仍有隨機抽查存活植株的發根情況(如研究報告的圖十三)，並發現存活超過三個月的植株其發根率高，故暫以存活率的統計取代發根率的統計。</p>
<p>(林-6) 基因型尚缺乏之母樹應如何彌補？(p37)</p>	<p>謝謝委員意見，基因型尚缺乏之母樹已於後續兩次扦插試驗中已補齊(第七批及第八批扦插試驗)，目前所有基因型均已補齊，並已達預計目標之扦插棵數(詳見研究報告的表十)。</p>
<p>(林-7) p37 所採取 32 株母樹，有多少是屬於同一萌櫟株？另外，是否重新調查樣區內母樹有多少是源自同一萌櫟株？</p>	<p>謝謝委員意見，本研究所實驗的所有樣本均於當初調查採集時已確定為不同單株，並沒有屬於同一萌櫟株的疑慮。故於後續挑選重要保育單株時，並不會有母樹源自同一萌櫟株的問題發生。</p>
<p>(董委員世良-1)目前扦插苗是否是經過遺傳保育個體的挑選採穗？</p>	<p>扦插試驗方面延續“臺灣穗花杉遺傳單元調查與保育行動方案(1/2)”計畫之第一年的扦插試驗，截至目前，總計共進行八批次的扦插試驗，其中第一批次至第五批次均為前期的扦插前測試，沒有針對特定單株進行扦插，第六批至第八批為重要保育單株的扦插試驗，已有挑選特定的遺傳保育個體進行採穗與扦插。</p>
<p>(董-2)扦插期間 5-7 月為悶熱氣候，請補述當時溫濕度資料，俾利分析是否為大量死亡因素。</p>	<p>謝謝委員意見，由研究報告的圖十一之“臺灣穗花杉各扦插批次於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢”圖中可見在 5-9 月時間，本應趨於穩定的扦插植株存活率下降，相對高雄的溫度，其在四</p>

	<p>月份平均溫度 25.9°C，但在五月份開始平均溫度均在 28°C 以上，最高達 30.3°C，爾後十月份平均溫度才下降回 27°C 左右。因此推測此段時間突然下降的存活率與溫度有相關聯，雖然當時已有進行設施環境的灑水及風扇降溫等措施，仍因偏高的溫度造成部分植株的死亡。</p>
<p>(董-3)臺灣穗花杉分子變異分析遺傳變異低導致遺傳漂變現象，族群亦有華倫效應，是否已演化靜止，國際研究是否有對物種滅絕克服的成功案例？</p>	<p>華倫效應 (Wahlund effect) 由 S. Wahlund 於 1928 年提出，Wahlund effect 反映出族群內可能存在亞族群結構，其指出族群結構的遺傳變異的重要性，並非表示已演化靜止。國際研究已有許多珍稀植物保護成功的案例，如 <i>Penstemon haydenii</i> 等案例。</p>
<p>(董-4)臺灣穗花杉已是極危物種 (CR)，經由本處研究及復育工作，可配合年底記者會發布新聞，喚起民眾注意，瞭解保育臺灣寶貝現況。</p>	<p>謝謝委員意見。</p>
<p>(林委員孟怡-1)肯定本計畫成果，後續扦插苗移交本處作業部份，請受託單位提供必要的照護微環境資訊，俾便本處規劃照養場所。</p>	<p>謝謝委員意見，設施環境首重排水，同時又可做到濕度的維持，光照部分，扦插前期宜進行遮光處理，但於扦插三個月後的穩定期，仍建議提供適量光線，以助其植株的生長。溫度部分，設施內溫度不宜超過 27°C。栽植方面，扦插前期宜用較小的栽培盆，且若栽培設施內有掉落的葉片一定要清除，不可以留在栽培設施內。殺菌劑的使用方面，扦插完後馬上噴一次殺菌劑 (稀釋 1000-1500 倍)，之後每 10-15 天左右必須補噴一次殺菌劑 (此循環約進行 3 次)，且殺菌劑種類要 2-3 種不同的殺菌劑替換使用。</p>

<p>(林-2)請受託單位提供穗花杉開花、結果時節的資訊，俾便本處後續派員觀察紀錄物候狀況，並規劃適當的果實保護工作。</p>	<p>謝謝委員意見，根據 2007 年楊勝任的「臺灣穗花杉族群分布及植物社會之研究」的研究報告第 34 頁的表 7 之”臺灣穗花杉物候表”，已有詳細的臺灣穗花杉花果物候觀測資料可供參考。</p>
<p>(劉委員瓊蓮-1)前期計畫審查時有建議受託單位與國內育苗學者進行諮詢合作，未知是否有進行？請於報告中敘明。</p>	<p>謝謝委員意見，已有向屏東科技大學的森林系相關學者諮詢相關資訊，並已於研究報告中敘明。</p>
<p>(劉-2)本案結束前請將正確的穗花杉扦插方法及過程製成標準作業程序手冊供本處運用；另現場採穗工作亦請受託單位聯繫大武工作站派員現場學習，並以錄影錄音方式紀錄。</p>	<p>謝謝委員意見，已於 2014.11.17 偕同大武工作站派員一同進行第八次扦插枝條收集工作，並已用錄影錄音方式紀錄。</p>
<p>(劉-3)本計畫如有確認季節所導致穗花杉扦插苗發根差異性（冬季穗苗發根性強、夏季穗苗發根性不佳）、發根促進劑與對照組無差異等發現，應有更嚴謹的科學性論述。</p>	<p>謝謝委員意見，均已於研究報告中增補相關統計資訊。此外”非冬季穗苗發根性強、夏季穗苗發根性不佳”，而是夏天扦插雖然容易發根，但是死亡率也相對高(因為太熱)，秋天扦插的成功率較高，但是發根速度較慢。</p>

附錄六、期末報告意見回覆

<p>期末報告審查意見</p>	<p>回覆</p>
<p>(林委員敏宜-1)共做 8 批扦插，第 5 次條件作為 6-8 批扦插重點，但第 5 批處理後，植物發根劑發根率依次為 IBA>ABT>CK>NAA；但 6-8 批只用 IBA 及 NAA，而 NAA 是處理表現中最差的，為何選用？前人研究中使用的 IBA+NAA，為何不採用？</p>	<p>謝謝委員意見，由圖十一“臺灣穗花杉各扦插批次於不同時間點之藥劑與介質處理結果存活率趨勢”可見其所有藥劑處理結果以 IAA 的表現效果為最差，並非 NAA，因此考量統計比較不同藥劑處理結果之存活率比較，選用兩藥劑以 IBA 及 NAA 為不同處理藥劑。不使用 ABT 原因為其考量日後藥劑品質穩定性而不考量使用商業化藥劑，但於未來相關單位大量繁殖時亦可考慮使用。前人研究中雖有使用 IBA+NAA 的藥劑組合，然由其“臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究”報告結果指出，其以 60 ppm IBA 與 40ppm NAA 之組合誘導發根效果較好，其誘導率為 46.7%。然本計畫於後期較穩定的第七批及第八批次扦插試驗統計結果(表十一、臺灣穗花杉重要保育單株扦插之各藥劑處理的平均存活率相關統計列表)中可見其效果均高於 46.7%，由於本計畫於扦插試驗的部分其原先目的便僅需達成各基因型個體之扦插植株達預先目標數目以供後續異地保育繁殖用途，故以扦插繁殖成功為首要目的，而非試驗不同藥劑或藥劑組合最佳發根條件，相關報告已於 2004 年國立台灣大學生物資源暨農學院實驗林管理處執行之“臺灣穗花杉林分結構與苗木繁殖之初步研究”計畫報告中已有進行，本計畫之扦插繁殖部分目的為成功繁殖重要保育個體，且均已達成目標數，植株狀況及發根狀況良好。後</p>

	<p>續於未來相關單位大量繁殖時亦可考慮使用。</p>
<p>(林-2)扦插主要結果分別在第 5、6、7、8 批圖示，但結果差異頗大，請問如何建議林管處後續標準復育流程。</p>	<p>謝謝委員意見，各批次扦插結果摒除第五批前試驗之結果有所差異外(為多重處理結果比較)，第六批因其採集與扦插季節在夏季導致存活率較低，第七批及第八批之重要保育單株扦插試驗結果一致，統計之多重比結果亦相似。因此未來交給林管處後續標準復育流程的建議會以後續幾批次的重要保育單株扦插試驗結果為依據，且於後續的扦插存活率亦較為高且穩定。</p>
<p>(林-3)圖 9 採集樣本 DBH 分布圖中，0-5 CM 是最大選樣木，是否它本身可以自我更新?否則 DBH 為 0-5 CM 之樣木偏小。</p>	<p>謝謝委員意見，圖九之胸高直徑資料(DBH)為當時調查之所有發現樣本的 DBH 資料，其調查結果便顯示臺灣穗花杉族群大多 DBH 偏小，根據詹明勳 (2005) 調查亦指出臺灣穗花杉樹齡約在 60-80 年生左右，且推測每隔 20 年才可能有 1-2 株實生苗木長至 5 公分以上的徑級，本計畫於當初挑選試驗樣本時亦有盡可能針對 DBH 較大的樣本進行挑選及試驗，雖其臺灣穗花杉 DBH 在 0-5 cm 偏小，仍可進行挑選。</p>
<p>(林-4)用箱式扦插方式，但塑膠箱不透氣，即使使用風扇降溫，箱內溫度仍會較實測值高，導致發霉。未來林管處因有溫室噴灌系統，可能原本秋天扦插有較佳存活率之情形，將不適用。</p>	<p>謝謝委員意見，起初此種扦插設計是為因應後續搬遷移動，以能夠保持環境潮濕度，避免環境因子因搬遷變動產生劇烈差異變化，以大型塑膠桶進行設備設計成為箱式栽植方式進行扦插，且成效皆達預期目標，至於發霉問題也均有效控制，未因使用箱式扦插方式導致發霉問題，後期甚可 1 個月噴灑殺菌劑一次便可控制整體扦插苗的病害等問題。且若此種方式都能成</p>

	<p>功，未來林管處使用溫室噴灌系統定能更加提高整體存活率，又能降低扦插苗交移時的折損，因此用箱式扦插設計有其優勢性與必要性。此外，根據台灣相關臺灣穗花杉扦插專業人員指出，於溫室栽植臺灣穗花杉扦插苗的經驗指出，夏天扦插雖然容易發根，但是死亡率也相對高(對於臺灣穗花杉此物種而言，此季節溫度太熱)，秋天扦插的成功率較高，但是發根速度較慢，夏天採集的枝條雖然生長較佳，但容易於前期快速長葉之後植株便死亡。有鑑於前人相關經驗，仍建議秋天扦插，以求臺灣穗花杉扦插苗穩定生長而非快速抽芽後死亡。</p>
<p>(林-5) P17(C) 處理統計無詳敘母株採集，無法計算統計如何進行。</p>	<p>謝謝委員意見，各批次母樹採集數目於內文”臺灣穗花杉扦插繁殖與成效統計分析”中有敘述，並於附錄三有列出各批次母樹編號及扦插數量。</p>
<p>(林-6)前人研究中，臺灣穗花杉調查已施行多年，但討論中並無詳細敘述超越前人族群遺傳分析部分，請再論述。</p>	<p>謝謝委員意見，相關比較於期末報告的前言部分”珍稀瀕危物種臺灣穗花杉簡介、瀕危程度與現今問題”段落最後一段已有相關論述內容。</p>
<p>(林-7) CK 存活率高於發根劑，是否發根劑失效?</p>	<p>謝謝委員意見，已確定藥劑無問題，且每次扦插試驗用藥劑均為當次現配的新鮮藥劑。</p>
<p>(林-8)發根有側根，但無鬚根，可能還是未能斷定成功，建議加入菌根菌，以增加鬚根生長，提高存活率。</p>	<p>謝謝委員意見。</p>
<p>(林-9)現地保育及易地保育挑選單株過少，可能讓遺傳更為窄化。</p>	<p>謝謝委員意見，本研究計畫於重要保育單株選取方面，以具有地理及遺傳分群意義的 GENELAND 分析結果進行遺傳單元界定，利用 GENELAND 所檢測出的基因型家</p>

	<p>族為 DAWU、DL 及 CHCH 族群的遺傳單位，進一步進行重要遺傳保育個體的挑選，挑選上同時依據 DBH、部分性別資料及健康度等資料進一步輔助個體的選取，因此現地保育及易地保育挑選單株數目多寡並非如此重要，雖然挑選數目不多，但已涵蓋本研究計畫所界定的所有遺傳單元，進行重點式且有效的遺傳復育進行，盡可能保持此具有遺傳多樣性低及存在多個破碎亞族群結構的物種其遺傳多樣性的維持。</p>
<p>(林委員虔隆-1)中英文摘要未說明扦插所用方法與扦插成功率。</p>	<p>謝謝委員意見，已增修。</p>
<p>(林-2) P17-19 請說明材料來源，另扦插成功率之變異數分析未考慮母數或基因型之效應。</p>	<p>謝謝委員意見，材料來源於後續基因型分析結果之保育個體挑選與”臺灣穗花杉扦插繁殖與成效統計分析”段落內有加以說明，此外於表十及附錄三中均有詳細說明第六批、第七批、第八批之重要保育單株扦插各批次母樹編號及扦插數量。本計畫於扦插試驗的部分其原先目的便僅需達成各基因型個體之扦插植株達預先目標數目以供後續異地保育繁殖用途，故僅針對整體存活率與藥劑處理進行相關扦插成功率之變異數分析，而不另外針對各別母樹或基因型進行相關統計分析。</p>
<p>(林-3)茶茶牙賴山地區臺灣穗花杉林木數與作為扦插試驗之母樹各為多少?(林木如源自於同一棵母樹之萌蘖，只能算是同一株母樹)</p>	<p>謝謝委員意見，茶茶牙賴山地區臺灣穗花杉林木數於 2009 年臺灣穗花杉林木健康調查有 748 株臺灣穗花杉，本次遺傳研究所採之實驗樣本共計 383 個樣本，所有樣本均於當初調查採集時已確定為不同單株，並沒有屬於同一萌</p>

	<p>藥株的疑慮。故於後續挑選重要保育單株時，並不會有母樹源自同一萌櫟株的問題發生。扦插試驗之母樹相關資料列於附錄三，包含母樹編號及扦插數目。</p>
(林-4) P36-41 參考文獻出處格式請統一。	<p>謝謝委員意見，已修改統一。</p>
(林-5) P51 應以扦插時與扦插後溫濕度變化情形圖表示之。另，試驗箱內溫濕度變化是否監測?其與高雄(目前扦插試驗地點)溫濕度變化情形並不一定相同。	<p>謝謝委員意見，試驗箱內溫濕度均有進行監測使其盡量維持於 25-27°C。</p>
(林-6)第 6-8 次扦插結果不合乎預期，且未進一步解釋表 11(P54)。	<p>謝謝委員意見，表十一存活率相關統計表中可見各批次存活率有所差異，因其本次扦插試驗為針對重要保育扦插個體進行特定植株扦插，故植株個體間的健康等條件本無法統一，因此扦插試驗的存活率統計上，其母數的來源本就無法統一，加以母數的條件差異有時無可避免的變動過大(因其扦插目標的重點為不同基因型母樹的挑選)，某些母樹本身健康度不夠適合進行扦插，然為涵蓋完整基因型收集，仍須針對其進行扦插，因此導致整體後續存活率的統計上變動較大。然本計畫於扦插試驗的部分其原先目的便僅需達成各基因型個體之扦插植株達預先目標數目以供後續異地保育繁殖用途，故相關扦插存活率統計分析僅供扦插試驗最後總體扦插存活個體及藥劑處理成效等資訊參考使用。</p>
(林-7)表 12 組內代表涵義為何?	<p>組間代表不同藥劑處理下的存活率，組內代表同一藥劑處理下不同母樹的存活率。</p>
(林-8) P71 種實萌芽率所指為何?另，繁殖系統技術是否可能有其他方式?	<p>種實萌芽率為種子萌芽率，另外繁殖系統技術部分本研究計畫所使用的是無性扦插繁殖系統，因</p>

	<p>臺灣穗花杉多以萌蘖苗庫行無性繁殖，因此認為以扦插方式搭配特定重要遺傳保育個體進行繁殖為可行方式之一，此外另外利用種子苗意為可行方法之一，但種子收集有季節性與豐歉年問題，需要長時間調查雌株與規劃種子成熟採收計畫。組織培養及空中壓條等技術亦為可行之繁殖技術。</p>
<p>(林-9)扦插存活率應以分區、分母樹(或基因型)表示之。</p>	<p>謝謝委員意見，由於本計畫於扦插試驗的部分其原先目的便僅需達成各基因型個體之扦插植株達預先目標數目以供後續異地保育繁殖用途，故僅針對整體存活率與藥劑處理進行相關扦插成功率分析，且本計畫之扦插試驗僅針對大武臺灣穗花杉自然保留區境內的臺灣穗花杉族群進行扦插試驗，無所謂的分區檢測，個別母樹扦插存活率於原始整理統計數據均有計算，但是並沒有加以呈現列出，因不同母樹的健康度差異大，均會導致整個統計的偏差與不準確，於統計上呈現出來實質意義不大。若要進行有意義的各別母樹扦插存活率相關統計，則各處理的試驗樣本數要夠多才具有統計上的意義，然不同藥劑處理加以統計達可信度所需之重複處理，會導致每棵母樹採樣的扦插枝條數過高，但並非每棵母樹均有如此大量的適合扦插枝條可採集使用，如此事後統計上勢必會導致整個統計的偏差與不準確，於統計上沒有意義，故本研究決定以整體存活率進行大致統計分析於相關統計數據呈現。</p>

<p>(林-10)附錄四、樹高、DBH、地徑若無法量測，應以” - “(無資料)表示之。</p>	<p>謝謝委員意見，已修改。</p>
<p>(董委員世良-1)現地保育與易地遺傳保育行動方案流程可改直式，字體就可放大清楚。</p>	<p>謝謝委員意見，圖片已放大。</p>
<p>(董-2)易地保存母樹林之工作，報告可建議棲地或挑選的棲地限制因子有哪些，以利母樹林之建置。</p>	<p>謝謝委員意見，臺灣穗花杉生長環境屬於陰蔽潮濕的霧林區，偏好酸性土壤，生長於土壤相較鬆軟型的區域。根據前人野外調查亦發現許多新的生育地，並指出臺灣穗花杉可能有許多尚未發現的潛在生育地，因此認為，導致臺灣穗花杉族群小且不連續分布的原因中，本身傳播能力受限的因素大於生育地微環境因素。故結合本計畫結果，認為適度的就近移地復育重要的基因型個體，可以有效保育臺灣穗花杉，並盡可能維持族群的遺傳多樣性，異地保育母樹林之棲地挑選上以鄰近大武臺灣穗花杉自然保留區及浸水營野生動物重要棲息環境等地，其生育條件與原先生育地環境相似，均為後續適合之母樹林建置地區。</p>
<p>(董-3)DAWU、DL、CHCH 族群已有做出獨立分群，是否建議林管處應有哪些工作配合，可強化棲地之保護。</p>	<p>謝謝委員意見，臺灣穗花杉族群內存在多個亞族群結構，此些破碎化的遺傳結構可能導致族群面臨更大的滅絕危機，利用此些分群分析結果，來輔助遺傳保育單位的界定以及遺傳保育個體之挑選，藉由加強保護具有遺傳特異性的母樹個體，盡可能維持野外族群之遺傳多樣性，並可於後續進一步依據不同基因型方式進行人工授粉，致使基因座呈現同型合子比例降低，異型合子比例提升，以恢復臺灣穗花杉有性繁殖</p>

	<p>之成功率，進而提升有效族群大小至評估值。</p> <p>臺灣穗花杉為雌雄異株植物，建議林管處在定期巡查期間，同時進行物候調查，對於臺灣穗花杉的生長週期如芽孢出現、雌雄毬花出現、種子發育、種子成熟等過程之紀錄，重要保育單位的現地巡查和異地扦插苗與採穗園建立，均為物種、族群和遺傳保育上的重要工作。</p>
<p>(董-4)臺灣穗花杉祖先族群大小為現生族群的數十到數百倍，其祖先的時間代表多久？</p>	<p>謝謝委員意見，本次計畫利用 Isolation with migration analysis(IMa)，針對茶茶牙賴山野生動物重要棲息環境內與大武臺灣穗花杉自然保留區兩樣區中的臺灣穗花杉進行祖先族群之有效族群(NA)及現生族群之有效族群(N1、N2)進行評估，其祖先族群(NA)是指兩族群於所估算之分歧時間(T)之前的有效族群大小，表示其於分歧時間 T 後兩族群分開後其各別有效族群分別為 N1、N2。因此祖先族群時間為一相對時間值。</p>
<p>(董-5)三個族群進行哈溫平衡檢測，顯示異型分子呈現喪失現象，除棲地破碎化等因素，是否裸子植物生命長，易導致此現象？</p>	<p>謝謝委員意見，根據相關研究指出生命長、遠交及演替後期物種其族群保留大部分的遺傳變異。臺灣穗花杉異型合子喪失，遺傳多樣性降低等情形推測因是棲地破碎化及近親交配等情形所造成。</p>
<p>(林委員孟怡-1)肯定本計畫成果，後續扦插苗移交本處作業部份，請受託單位提供必要的照護微環境資訊，俾便本處規劃照養場所。</p>	<p>謝謝委員意見，相關臺灣穗花杉扦插技術等資料已製作成”臺灣穗花杉扦插作業程序”手冊，於後續進行技術轉移。</p>
<p>(林-2)請受託單位將整個採穗、消毒、插穗管理等過程，連同影像資料，做成附錄手冊交委託單位，以利後續林管處自行辦理</p>	<p>謝謝委員意見，整個採穗過程等影像資料已偕同台東林管處與大武工作站相關人員進行影像紀</p>

<p>穗花杉扦插苗復育工作(請另外交給林管處，不宜做成公開資料)。</p>	<p>錄。相關臺灣穗花杉扦插技術等資料已製作成”臺灣穗花杉扦插作業程序”手冊，於後續進行技術轉移。</p>
<p>(林-3)請受託單位將這幾年來的遺傳分析結果(共有 3 區進行遺傳單元檢測)，各區區內之遺傳變異情形如何?各區區間之遺傳變異情形如何?後續管理建議為何?</p>	<p>謝謝委員意見，相關遺傳分析之遺傳變異情形與後續管理建議均已列於結案報告內文中</p>
<p>(林-4)承上，請受託單位將結果以圖表方式表示出來(實際穗花杉位置以模糊方式處理)，以利閱讀。</p>	<p>謝謝委員意見，相關結果已列於附表、附圖及期末繳交 100 張照片等資料內。並會將實際穗花杉位置以模糊方式處理。</p>
<p>(林-5)本計畫案所有調查及取樣之臺灣穗花杉位置，請以 TWD97 座標系統資料標記後交本處管理，不要印在報告上。</p>	<p>謝謝委員意見，已於結案報告中進行處理。</p>