

台灣長鬃山羊族群具有顯著遺傳變異之兩個分群 以粒線體DNA之D-loop序列比對

Two Distinct Phylogenetic Groups of Formosan Serow (*Naemorhedus swinhoei* Gray) Population in Taiwan: Based on Mitochondrial D-loop Region Sequences

洪東奇¹ 黃獻文¹ 梁佑全² 歐柏榮²

Dong-Chi Horng¹, Hsien-Wen Huang¹, Yu-Chuan Liang² and Bor-Rung Ou²

¹行政院農業委員會特有生物研究保育中心 南投縣集集鎮民生東路1號

²東海大學畜產學系 台中市台中港路三段181號

¹Taiwan Endemic Species Research Institute, Chichi, Nantou, Taiwan

²Department of Animal Science, Tunghai University, Taichung, Taiwan

摘要

本研究的目的是利用粒線體DNA的序列了解台灣長鬃山羊族群的遺傳變異與地理分布的關係，在取得的25隻台灣長鬃山羊中，定出14隻粒線體DNA的D-loop完整DNA序列(1122 bp–1124 bp)，並比較25隻粒線體DNA的D-loop 5'端變異最大部分DNA序列(493 bp–495 bp)，分析結果顯示這25隻山羊中有14種單套型 (haplotypes)，各單套型之間的遺傳變異在 0.24%至6.85%之間；利用親緣樹關係分析結果，得到比用cytochrome b序列所建立之台灣長鬃山羊親緣樹有更高可信度的相同兩群—花蓮太魯閣群及南投-台東群，兩分群之間平均遺傳距離約為5.53%。從粒線體DNA的D-loop的資料顯示，台灣長鬃山羊族群至少在55萬年前的亞洲大陸可能就已分群，並於晚更新世冰河時期經由陸橋分別遷徙至台灣島，且分析兩群在台灣島的地理分布結果，可能是台灣湍急陡峭的河川加上中央山脈複雜地形造成地理條件上的阻隔。

Abstract

To investigate genetic variation of the Formosan serow (*Naemorhedus swinhoei* Gray) population, the nucleotide sequences (1122-1124 bases) of the mitochondrial DNA D-loop region was examined for 14 of 25 samples collected from Nantou, Taidong, HualienTaroko and Wulai areas of Taiwan. Fourteen haplotypes were detected from 25 samples with a pairwise comparison of the partial sequences (493-495 bases) of the D-loop region. Genetic distance divergences were estimated to be 0.24%-6.85% among the

14 haplotypes. The phylogenetic trees constructed by the sequences indicated that the Formosan serow was separated into two highly genetically variable groups: the Nantou-Taidong group and the HualienTaroko group. The separation of the two groups was estimated to have occurred over 0.55 million years ago, resulting from repeated colonization from the Asia continent to Taiwan. The rivers in the Central Mountain Range were probably a geographic barrier for allopatric differentiation of the two groups. Our result provided an insight into the understanding of the evolutionary history, phylogeny and population genetics of the Formosan serow.

關鍵詞：台灣長鬃山羊、粒線體DNA、D-loop

Key words: Formosan serow, *Naemorhedus swinhoei*, mitochondrial DNA, D-loop region

收件日期：91年9月10日

接受日期：91年12月25日

Received: September 10, 2002

Accepted: December 25, 2002

緒 言

台灣長鬃山羊(*Naemorhedus swinhoei* Gray)是台灣列為珍貴稀有之特有種保育類物種，也是唯一偶蹄目牛科的中大型草食性動物，由於棲息地的減少及人類的盜獵行為，一直威脅著台灣長鬃山羊的生存，基於對台灣長鬃山羊保育，有必要了解台灣長鬃山羊的生態習性及遺傳上的變異，以作為物種經營管理的依據。

為了解台灣長鬃山羊的遺傳變異，先前對19隻台灣長鬃山羊粒線體DNA中cytochrome b及12S rRNA序列研究結果顯示(洪等 2001)，台灣長鬃山羊在遺傳上仍具有多樣性且有分群現象，惟由於cytochrome b在粒線體DNA內為具有protein-coding的基因片段，在演化速率上適合應用於種間的系統演化與分類研究(Irwin *et al.* 1991; Chikuni *et al.* 1995)，前文以cytochrome b序列建立neighbor-joining method及UPGMA method之

親緣樹關係時，在太魯閣地區台灣長鬃山羊群顯示其經1000 replicates bootstrap test結果，其可信度均低於50%(洪等 2001)；雖然用cytochrome b序列得到的台灣長鬃山羊個體間之遺傳變異有顯著差異(0.3%–2.0%，1–6/307 bp)，但於親緣樹分群的可信度仍嫌不足。而粒線體DNA中D-loop控制區序列是粒線體DNA變異最大的一段，它的鹼基取代速率是粒線體DNA中其它序列的五倍(Aquadro and Greenberg 1983)，故有關物種族群內的遺傳變異均是以調查粒線體DNA D-loop區序列為主要對象(Gravlung *et al.* 1998, Nagata *et al.* 1999, Matsushashi *et al.* 1999)。

基於以上理由，本研究為繼續深入探討台灣長鬃山羊族群遺傳變異及確定其分群現象，以台灣長鬃山羊的粒線體DNA演化速率快速的D-loop區序列為研究對象，來探討其遺傳上的特性，並討論台灣長鬃山羊族群內的親緣關係及在台灣本島的演化歷史。

材料與方法

一、樣本的收集

25 隻樣本來自花蓮、台東、南投及烏來等地區(表1)。

二、DNA的抽取

取樣本的肌肉研磨後，採用proteinase K/phenol/chloroform (Kocher *et al.* 1989)抽取細胞核酸 (total DNA)，抽取的細胞DNA則以 1.2% 瓊脂膠體(agarose gel) 電泳檢視並用分光光度計(Beckman DU640)定量後，保存於4°C 下。

表1. 在本研究中台灣長鬃山羊的樣本編號、來源及各樣本D-loop的單套型

Table 1. Sample numbers and collection localities of the Formosan serow and the haplotypes of their D-loop (495 bp)

Localities	Sample number	Haplotype
花蓮太魯閣地區	HL096	HL1
花蓮太魯閣地區	HL097	HL1
花蓮太魯閣地區	HL366	HL1
花蓮太魯閣地區	HL375	HL3
花蓮銅門地區	HL374	HL2
台東壠坵地區	TD376	TD1
台東壠坵地區	TD377	TD1
台東壠坵地區	TD378	TD1
台東延平地區	TD364	TD2
台東延平地區	TD365	TD3
台東利嘉林道	TD306	TD4
台東關山地區	TD315	TD5
南投不明地區	NT121	NT1
南投丹大地區	NT413	NT2
南投不明地區	NT134	NT3
南投信義地區	NT412	NT3
南投信義地區	NT417	NT3
南投不明地區	NT135	NT4
南投丹大地區	NT394	NT4
南投信義地區	NT416	NT4
南投信義地區	NT420	NT5
南投信義地區	NT421	NT5
烏來福山地區	WL383	WL1
烏來福山地區	WL384	WL2
烏來福山地區	WL418	WL2

三、PCR 核酸引子(primers)

用來擴增(amplification)及定序(sequencing)粒線體DNA內之D-loop 基因所需的引子序列是以人類(Anderson *et al.* 1981)及牛(Anderson *et al.* 1982)的粒線體DNA內具有一致性的序列為基礎而設計：

t-pro (5'-TCACCATCAACCCCAAAGC-3')及

t-phe (5'-TCATCTAGGCATTTTCAGTG-3')

為得到D-loop 完整序列(complete sequence)，另外新設計三條引子：

HD1 (5'-GCTGGTTTCACGCGGCATGG-3')、

LD3 (5'-GTCAAATCCATCCTCGTCAACA-3')及

HD4 (5'-TGTTGACGAGGATGGATTTGAC-3')

四、聚合酶連鎖反應(PCR)

對D-loop 進行雙股DNA擴增與延伸的PCR反應(Kocher *et al.* 1989)所使用的試劑，採用AmpliTaq Gold reagent kit(Applied Biosystems)，並依據製造商所提供的說明書操作整個PCR反應包括5 μ l 的10X PCR buffer，5 μ l 的25 mM MgCl₂ solution，各1 μ l 的10 mM dATP、dCTP、dGTP、dTTP，0.25 μ l AmpliTaq Gold(1.25 unit / reaction)，各5 μ l 的10 μ m的輕重兩股引子，5 μ l 的template DNA(1 μ g)，20.75 μ l 的ddH₂O，使反應總體積為50 μ l。

整個PCR的反應使用Applied Biosystems Thermal Cycler 9700，其條件為先在95°C下加熱10分鐘後，進行94°C 1分鐘、50°C–55°C 1分鐘、72°C 2分鐘的循環流程，總共完成40次循環，將此PCR產物以含0.05% 溴化乙錠之1.2% 瓊脂膠體電泳後在紫外光激發下觀察照相。

五、DNA定序

PCR產物的純化採用QuickStep PCR Purification Kit (EdgeBio Systems)，所得到的純PCR產物DNA利用BigDye Terminator Cycle

Sequencing Ready Reaction Kit (ABI)及ABI Thermal Cycler 9700進行標定反應，反應後的產物在ABI 310 DNA自動定序儀定序。

六、DNA序列分析

經由定序完成的資料，採用Lasergene套裝軟體(Dnastar, Wisconsin 1999)分析並編輯每一樣本的DNA序列並進行排列(alignment)比對，遺傳距離(sequence genetic distance)的分析則採用MEGA 電腦程式軟體2.1版(Kumar *et al.* 2001)中的Kimura's two-parameter genetic distance 方法估算，而親緣關係樹的建立同樣採用MEGA 程式軟體中Neighbor-joining method(NJ)(Saitou and Nei 1987)並進行1000 bootstrap replicates, Maximum parsimonious with heuristic search(MP)用PAUP 4.0 beta10版(Swofford 2002)，其參數設定為random addition sequence, the tree-bisection-reconnection (TBR)，經100 bootstrap replicates 得到—50% majority consensus unrooted的樹狀圖。

結 果

一、粒線體DNA的變異度

用PCR直接定序技術，利用三組t-pro/HD4、t-pro/HD1及LD3/t-phe引子對已成功定出25隻中14隻台灣長鬃山羊粒線體DNA中的完整D-loop序列(HL096、HL097、HL366、HL374、HL375、NT121、NT134、NT135、TD315、TD364、TD365、TD376、TD378及WL383)，序列總長度為1122-1124 bp，此14隻山羊之序列比對結果，共有94個位置有鹼基替換，發現在D-loop的5'端有兩段具有高度變異區(hypervariable regions)，位於第201–300共22個位置替換及第401–500共18個位置替換，另在3'端也有一段顯著變異，位於第851–950有15個位置替換(圖1)。

為了解台灣長鬃山羊族群的遺傳距離，進行比對(pairwise comparison)25隻山羊粒線體DNA D-loop序列中5'端變異大的部分序列(493-495 bases)，並以日本長鬃山羊粒線體DNA D-loop序列(中山大學生物系張學文教授提供)為外群，比較結果顯示在25隻山羊中總共得到14種單套型，其中花蓮地區3種(5隻)，台東地區4種(7隻)，南投地區5種(10隻)及烏來福山地區2種(3隻)(表1)。

14種單套型的 Kimura's two-parameter 遺傳距離比對結果(刪除有gap的位置)如表2，鹼基變異範圍從最小0.24% (1/495 bases) 的台東地區 (TD1與TD2) 到最大6.85% (27/495 bases) 的花蓮太魯閣與南投地區(HL2與NT1)，與日本長鬃山羊的遺傳距離則高達19%。另495個鹼基對總共有60個位置有替換現象，其中有1-5個位置發生transversion (A-T, A-C and G-T)，其餘位置均為transition (A-G, T-C)，其transversion 替換數高於牛族群(1/60)(Loftus *et*

al. 1994)及日本梅花鹿族群(1-2個)(Nagata *et al.* 1999)，而與日本長鬃山羊 transversions 比較，則有8-11個替換數。

本報告內有關14隻山羊之完整序列已登錄於Genebank之序列資料庫內，其Accession numbers 為AF547433、AY139642、AY149638、AY149639、AY149640、AY149641、AY149642、AY149643、AY149644、AY149645、AY149646，其中HL096、HL097及HL366三隻為同一單套型，TD376及TD378兩隻為另一單套型。

二、親緣樹的建立

為建立此14種單套型的親緣關係，利用MEGA 2.1版的Neighbor-joining 方法並對DNA序列進行1000次bootstrap test建立親緣樹如圖2及用PAUP 4.0的maximum parsimonious with heuristic search方法進行100次 bootstrap test 建立其親緣樹(phylogenetic tree)(圖3)。兩親緣樹狀圖得到相同的結果，能夠很明顯的將台

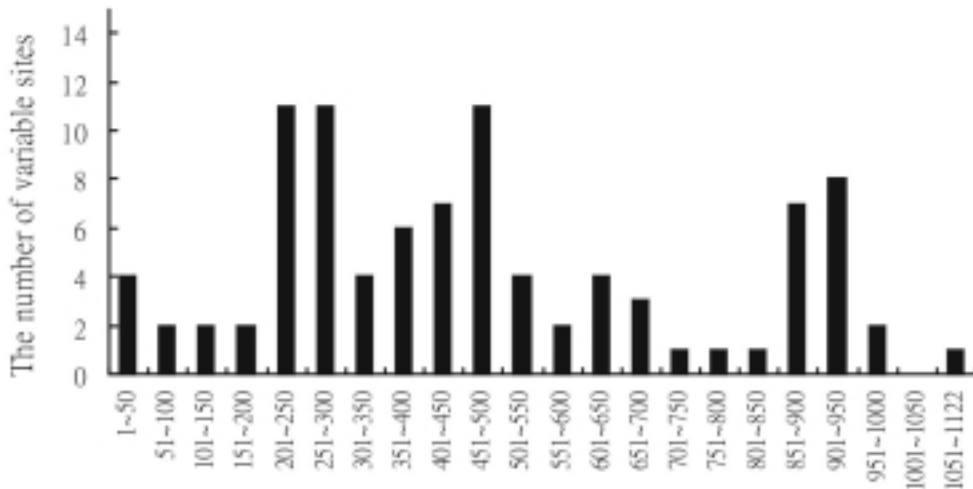


圖1. 台灣長鬃山羊粒線體DNA完整D-loop內鹼基替換的分布圖，橫軸以不重疊之每50鹼基為單位，縱軸為每單位中變異位置數目，圖中顯示於201-300，401-500及851-950位置有高變異。

Fig. 1. Distribution of base substitutions in the Formosan serow mtDNA D-loop region. Numbers of sequence variable sites in the data set are examined in consecutive blocks of 50 bp, and hypervariable domains are shown at nucleotide positions 201-300, 401-500 and 851-950.

表2. 台灣長鬃山羊的14種D-loop 單套型的Kimura兩參數遺傳距離(右下角部分)及 Transitions/Transversions替換數(左上角部分)之比較

Table 2. Kimura's two-parameter genetic distance(%) (below diagonal) and the numbers of Transitions/Transversions (above diagonal) of the D-loop (495 bp) among 14 haplotypes of the Formosan serow and the Japanese serow (JSD)

OTUs	HL1	HL2	HL3	NT1	NT2	NT3	NT4	NT5	TD1	TD2	TD3	TD4	WL1	WL2	JSD
HL1		7/0	10/0	23/3	17/5	20/3	17/3	23/2	20/2	19/2	16/3	17/2	10/0	22/2	58/10
HL2	1.70		9/0	24/3	18/5	21/3	18/3	24/2	21/2	20/2	19/3	18/2	3/0	21/2	57/10
HL3	2.45	2.20		21/3	17/5	20/3	17/3	21/2	20/2	19/2	18/3	15/2	10/0	20/2	56/10
NT1	6.58	6.85	6.04		9/4	16/2	10/2	0/1	13/1	12/1	11/2	12/1	23/3	7/1	59/9
NT2	5.49	5.75	5.49	3.18		10/4	0/2	9/3	7/3	6/3	1/2	8/3	19/5	8/3	56/11
NT3	5.77	6.04	5.77	4.47	3.43		10/2	16/1	7/1	6/1	9/2	11/1	22/3	13/1	57/9
NT4	4.98	5.25	4.98	2.94	0.48	2.94		10/1	7/1	6/1	1/0	8/1	19/3	9/1	57/9
NT5	6.32	6.59	5.79	0.24	2.93	4.22	2.69		13/0	12/0	11/1	12/0	23/2	7/0	59/8
TD1	5.52	5.79	5.52	3.45	2.43	1.94	1.94	3.20		1/0	8/1	11/0	22/2	14/0	60/8
TD2	5.26	5.52	5.26	3.20	2.18	1.70	1.70	2.95	0.24		7/1	10/0	21/2	13/0	59/8
TD3	4.72	5.51	5.25	3.19	0.72	2.69	0.24	2.94	2.19	1.94		9/1	20/3	10/1	58/9
TD4	4.73	4.99	4.21	3.20	2.68	2.94	2.19	2.95	2.70	2.45	2.44		17/2	7/0	57/8
WL1	2.45	0.72	2.45	6.58	6.02	6.31	5.51	6.32	6.05	5.79	5.77	4.73		20/2	58/10
WL2	6.05	5.79	5.52	1.94	2.68	3.45	2.44	1.70	3.46	3.20	2.69	1.70	5.52		54/8
JSD	19.11	18.77	18.43	19.15	18.72	18.47	18.47	18.86	19.20	18.86	18.81	18.18	19.11	17.18	

灣長鬃山羊分為兩群，再檢視兩群內取樣的分布情況又發現花蓮太魯閣成一群，而南投-台東則另成一群，比較兩群的平均遺傳距離為5.53%(4.21%–6.85%，17–27/495)，而花蓮太魯閣群的平均遺傳距離為1.58%(0.72%–2.45%，3–10/495)，南投-台東群為2.45%(0.24%–4.47%，1–18/495)，若以各單套型與日本長鬃山羊的平均遺傳距離則高達18.19%(表2)。

討論

一、台灣長鬃山羊mtDNA D-loop的特性及分歧時間

Kocher及Wilson(1991)報告有關哺乳類動物的mtDNA D-loop段具有兩個高變異區，從台灣長鬃山羊mtDNA D-loop段同樣具有兩個高變異區，此外在3'端的位置另有一段顯著變異區。且mtDNA D-loop段鹼基取代速率是粒線體DNA中其它序列的5倍(Aquadro and Greenberg 1983)，先前研究利用台灣長鬃山羊mtDNA cytochrome b與12S rRNA序列作為族群內的親緣關係比較得到遺傳距離分別為0.3%–2.0%與0.3%–0.8%(洪等 2001)，然而本研究用D-loop的遺傳距離為0.24%–6.85%，顯示在台灣長鬃山羊 mtDNA D-loop的替換速率大約為cytochrome b的3.4倍之多。

在其它不同哺乳類動物用mtDNA D-loop進

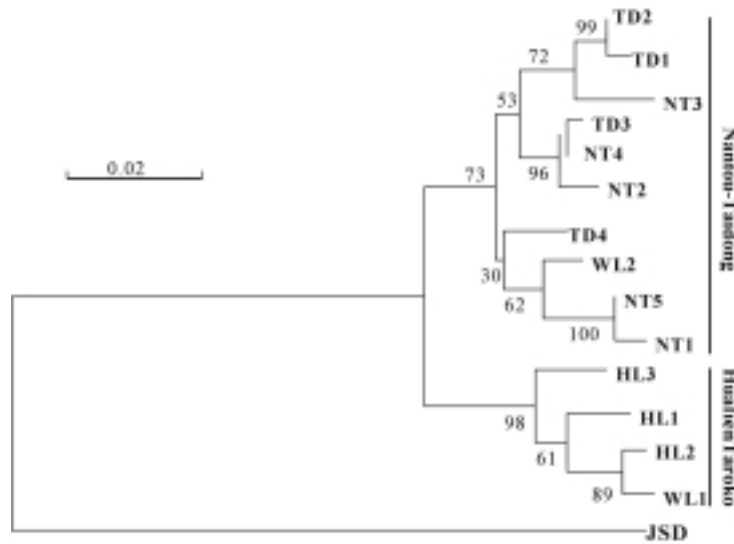


圖2. 用neighbor-joining方法建立台灣長鬃山羊 mtDNA D-loop 14種單套型親緣樹關係圖，以日本長鬃山羊(JSD)為外群。

Fig. 2. A phylogenetic tree constructed for 14 haplotypes of mtDNA D-loop sequences (495 bp) of the Formosan serow, using the neighbor-joining method with Kimura's two-parameter genetic distance and the haplotype of the Japanese serow (JSD) as an outgroup (the bootstrap values derived from 1000 replications is indicated as a number at each node when the value is >50%).

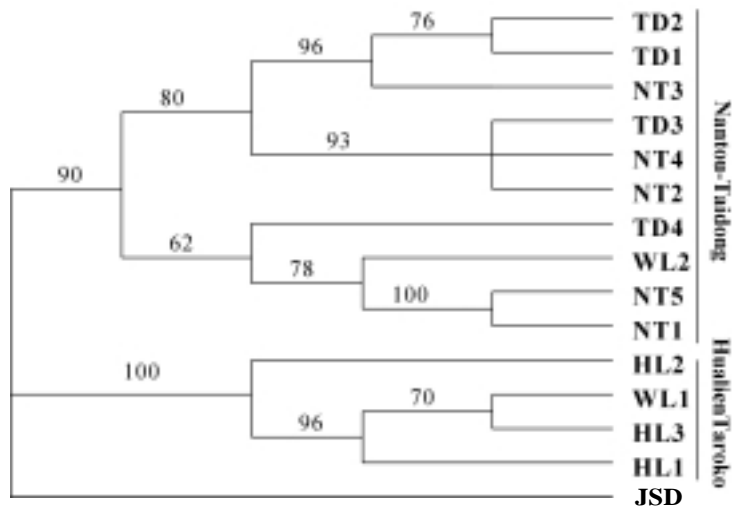


圖3. 用maximum parsimony方法建立台灣長鬃山羊 mtDNA D-loop 14種單套型親緣樹關係圖，以日本長鬃山羊(JSD)為外群。

Fig. 3. A phylogenetic tree constructed for 14 haplotypes of mtDNA D-loop sequences (495 bp) of the Formosan serow, using the maximum parsimony method (MP) and the haplotype of the Japanese serow (JSD) as an outgroup (the bootstrap value derived from 100 replications is indicated as a number near each of the internal branches).

行族群內研究，如加拿大與瑞典的麋鹿(moose)族群D-loop遺傳距離為3.9%(Mikko and Anderson 1995)、日本猴(Japanese monkey)D-loop遺傳距離為0.6%–4.3%(Hayasaka *et al.* 1991)、日本灰熊(Japanese brown bear)族群為2.0%–3.7%(Matsuhashi *et al.* 1999)及日本梅花鹿(Sika deer)為0.2%–5.0%(Nagata *et al.* 1999)，均顯示台灣長鬃山羊mtDNA D-loop的變異(0.24%–6.85%)與這些哺乳類動物相似。

Loftus等人(1994)的報告，利用mtDNA D-loop 5'端高度變異的375 bp探討歐亞非家牛族群的遺傳變異並比較與牛已分歧距今約一百萬年的美國野牛(American bison)，指出牛的mtDNA D-loop鹼基替換速率估計約每百萬年為10.6%，本研究台灣長鬃山羊的花蓮太魯閣與南投-台東兩群的平均遺傳距離為5.53%，如果以牛科的mtDNA D-loop鹼基替換速率(10.6%/Myr)來估算同為牛科台灣長鬃山羊兩群的分歧演化時間，則大約在至少55萬年前；與日本長鬃山羊遺傳距離比較結果(18.19%)，可能更早在一百八十萬年前即分歧演化。從台灣長鬃山羊兩群間存在高遺傳距離顯示，台灣長鬃山羊可能在前中更新世(Pleistocene)(至少55萬年前)其mtDNA遺傳結構可能在亞洲大陸已分歧演化而分群，而後隨著晚更新世冰河時期從亞洲大陸不同地點先後藉由因冰河時期形成的陸橋(land bridge)遷徙至台灣島。從表2的台灣長鬃山羊各單套型遺傳距離及圖2(NJ)、圖3(MP)親緣樹關係的結果，推測台灣長鬃山羊至少有兩次以上從亞洲大陸不同地點移入台灣，且台灣長鬃山羊的祖先可能並不是來自同一支系。

二、台灣長鬃山羊之分子親緣關係與台灣地緣關係

由圖2及圖3的D-loop親緣關係樹顯示台

灣長鬃山羊具有顯著遺傳變異的兩群並有極高的bootstrap值。從取得樣本的地點及從台灣地理的分布來看很明顯分為南投-台東群及花蓮太魯閣群，與先前用cytochrome b與12S rRNA序列比對得到的NJ親緣樹的結果是一致的(洪等 2001)，且有更高的可信度(圖3 NJ方法為98%及73%，圖4 MP方法為100%及90%)，分析南投-台東群內的分布雖可能存在有兩個亞群，但並沒有如預期中分為台東一亞群及南投一亞群的分布，而是南投及台東各單套型混合在一起，此現象可能是在更新世不同冰河時期先後移入台灣，在南投及台東之間混居的結果；比較令人有趣的結果是花蓮太魯閣群(木瓜溪以北、奇萊山以東及南湖大山以南區域)的台灣長鬃山羊自成一群，由於太魯閣群的遺傳距離與南投-台東的變異很大，且其群內各單套型平均遺傳距離較小(1.58%)，故推測其移入台灣的時間最晚，沒有與南投-台東群混居。

從台灣長鬃山羊的生態習性得知，台灣長鬃山羊的活動處所，都在陡峭的山坡行動，以台灣中央山脈的地形應無法阻止其遷移，基於這種生態習性的判斷，如以分子生物遺傳學角度探討，得到結果的兩群中，每群應該有各地的樣本，也就是說在南投-台東群應有太魯閣地區的樣本，反之亦然；但從本研究結果顯示兩群中的各單套型確實互不存在於對方與中山大學生物系張學文教授完成的14個台灣長鬃山羊D-loop結果相同，私人通訊)，且兩群平均遺傳距離相差很大(5.53%以上)，此結果顯示著在此兩群中存在有某種因素的隔離。檢視本研究樣本來源南投-台東群均集中於南投縣丹大七彩湖(信義鄉)以南一直延伸至台東縣南端的壠坵，而花蓮太魯閣群之樣本來源則集中於木瓜溪以北、奇萊山以東及南湖大山以南區域，從台灣地理角度來看，其兩群交界處，在中央山脈西邊是濁水溪發源地，東邊為木瓜溪發源



圖4. 南投-台東群與花蓮太魯閣群的位置圖(橢圓形部分)，圖中矩形部分為可能存在的生物地理阻隔區域。

Fig. 4. The map of Taiwan showing the locations of Nantou-Taidong group and Hualien Taroko group (elliptical regions) and a probably existing area of biogeographic boundaries (rectangular region).

地(圖4)，由本研究結果推測當山羊於不同冰河時期從亞洲大陸不同地點遷徙台灣(或從台灣海峽東來或沿著日本島弧南下，其確切遷徙路線尚不清楚)，隨著冰河時期結束後，因河川解凍，湍急陡峭的河川及中央山脈複雜地形，使得源於奇萊山下的濁水溪及木瓜溪對台灣長鬃山羊可能形成地理上的阻隔效

應，造成兩群隔離至今。至於烏來福山取的二種單套型則呈現不同結果各分於兩群內，且從地理上雪山山脈(福山地區屬於雪山山脈)與中央山脈被大甲溪及蘭陽溪分隔，有可能是冰河時期遷入台灣的兩群山羊均先後遷入雪山山脈，但因雪山山脈樣本數太少，有必要蒐集更多樣本進行研究探討。

由本研究樣本的地點及參考中山大學張學文教授更多採得樣本地點的資料並得到同樣分群的結果並配合台灣地理的位置，台灣幾條發源於中央山脈的河川(濁水溪、大甲溪、蘭陽溪及木瓜溪等)在台灣生物地理阻隔上及生物遷徙路線可能扮演重要角色。

本研究的結果說明了利用粒線體DNA序列的遺傳距離來估算台灣長鬃山羊族群的遺傳變異並建立族群內分群及演化的關係，另嘗試從台灣長鬃山羊的分群現象討論台灣生物地理阻隔(biogeographic boundaries)，提供對台灣長鬃山羊在其演化歷史、親緣關係及族群遺傳有較深入了解。

謝 誌

感謝行政院農業委員會特有生物研究保育中心顏主任仁德的支持與幫忙；感謝南投縣政府、台東縣政府、花蓮縣政府、國立自然科學博物館(IM096、IM097)及屏東科技大學野生動物保育學系(IM374、IM376、IM377、IM378)等單位提供之樣本，另外感謝中山大學張學文教授於資料與意見上的提供及東海大學生物系林良恭教授的寶貴意見。

引用文獻

洪東奇、賴淑雅、黃獻文、梁佑全、歐柏榮。2001。台灣長鬃山羊個體間粒線體DNA之12S rRNA 及cytochrome b序列分

- 析比較。特有生物研究 3: 37-48。
- Anderson, S., A. T. Bankier, B. G. Barrell, M. H. L. de Bruijn, A. R. Coulson, J. Drouin, I. C. Eperon, D. P. Nierlich, B. A. Roe, F. Sanger, P. H. Schreier, A. J. H. Smith, R. Staden, and I. G. Young. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-465.
- Anderson, S., M. H. L. de Bruijn, A. R. Coulson, I. C. Eperon, F. Sanger, and I. G. Young. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* 156: 683-717.
- Aquadro, C. F., and B. D. Greenberg. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics* 103: 87-312.
- Chikuni, K., Y. Mori, T. Tabata, M. Saito, M. Momma, and M. Kosugiyama. 1995. Molecular phylogeny based on the κ -Casein and cytochrome b sequences in the mammalian suborder ruminantia. *Journal of Molecular Evolution* 41: 859-866.
- Gravlung, P., M. Meldgaard, S. Pääbo, and P. Arctander. 1998. Polyphyletic origin of the small-bodied, high-arctic subspecies of Tundra reindeer (*Rangifer tarandus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 151-159.
- Hayasaka, K., T. Ishida, and S. Horai. 1991. Heteroplasmy and polymorphism in the major noncoding region of mitochondrial DNA in Japanese monkeys: Association with tandemly repeated sequences. *Molecular Biology and Evolution* 8: 399-415.
- Irwin, D. M., T. Kocher, and A. C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32: 128-144.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca, and A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 86: 6196-6200.
- Kocher, T. D., and A. C. Wilson. 1991. Sequence evolution of mitochondrial DNA in human and chimpanzees: Control region and a protein-coding region. *In*: S. Osawa and T. Honjo (eds.). *Evolution of Life*. pp. 391-413. Springer-Verlag, New York.
- Kumar, S., K. Tamura, I. B. Jakobsen, and M. Nei. 2001. MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis software. Arizona State University. Tempe, Arizona, USA.
- Loftus, T., D. E. MacHugh, D. G. Bradley, P. M. Sharp, and P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 91: 2757-2761.
- Matsuhashi, T., R. Masuda, T. Mano, and M. C. Yoshida. 1999. Microevolution of mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Molecular Biology and Evolution* 16: 676-684.
- Mikko, J., and L. Anderson. 1995. Low major histocompatibility complex class II diversity in European and North American

- Moose. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 92: 4259-4263.
- Nagata, J., R. Masuda, H. B. Tamate, S. Hamasaki, K. Ochiai, M. Asada, S. Tatsuzawa, K. Suda, H. Tado, and M. C. Yoshida. 1999. Two genetically distinct lineages of the Sika deer, *Cervus Nippon*, in Japanese islands: Comparison of mitochondrial D-loop region sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 13: 511-519.
- Saitou, N., and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4: 406-425.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Wilson, A. C., R. L. Cann, S. M. Carr, M. George, U. B. Gyllensten, K. M. Helm-Bychowski, G. Higuchi, S. R. Palumbi, E. M. Prager, R. D. Sage, and M. Stroneking. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. Biological Journal of the Linnean Society 26: 375-400.