

應用 ISSR 分子標誌研究台灣檫樹之族群遺傳變異
Genetic Diversity in *Sassafras randaiense* (Hay.) Rehder
(Lauraceae) Based on ISSR Fingerprinting

何坤益* 蔡忠誠 呂福原

Kuen-Yih Ho*, Chung-Cheng Tsai and Fu-Yuan Lue

國立嘉義大學森林暨自然資源學系 嘉義市學府路 300 號

Department of Forestry and Natural Resources, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan

* 通訊作者: kyho@mail.ncyu.edu.tw

* Corresponding author: kyho@mail.ncyu.edu.tw

摘 要

台灣檫樹 *Sassafras randaiense* (Hay.) Rehder 為台灣特有種樟科(Lauraceae)植物，本研究運用簡單序列重複區間(inter-simple sequence repeat, ISSR)分子標誌分析族群之遺傳結構與多樣性。採集自 7 處之自然分布區域共 137 株樣木，使用 8 個 ISSR 引子進行 PCR 擴增試驗獲得 39 個條帶，多型性條帶有 38 條(97.44%)。族群遺傳變異分析結果顯示台灣檫樹具有高歧異度($H=0.3438$)與遺傳分化($G_{st}=0.2788$)，分子變異分析(AMOVA)結果顯示族群間變異成分 16.47% ($p<0.0001$)，族群內為 83.53% ($p<0.0001$)，族群遺傳變異主要成分來自於族群內；依遺傳變異矩陣與地理距離矩陣之相關性測驗(Mantel test)無顯著關聯($r=0.1542$)，歸群與主座標分析所顯示遺傳變異與地理親緣不具分布關係。本研究顯示族群遺傳變異主要來自地區族群內，為維持族群遺傳多樣性，在保育策略上建議在自然生育地區實施就地保育措施，避免濫伐等人為干擾。同時可選擇移地保育，進行各地區族群引種育林之遺傳交流，擴大種原資源保育。

Abstract

Sassafras randaiense (Hay.) Rehder (Lauraceae) is an endemic species of Taiwan. We collected 137 individuals from 7 natural populations and examined ISSR fingerprintings of the DNA sequences. PCR amplification with 8 ISSR primers yielded 39 DNA fragments, of which 38 were polymorphic (97.44%). AMOVA revealed that variance component among the populations was 16.47% ($p < 0.0001$), while within population was 83.53% ($p < 0.0001$). Mantel test exhibited low correlation ($r = 0.2830$, $p = 0.1542$) between the genetic variation and the spatial distribution. Popgene analysis revealed high genetic diversity ($H = 0.3438$) of the species and also high genetic differentiation among the populations ($G_{st} = 0.2788$). Cluster analysis and the principal coordinate analysis (PCOA) revealed no significant correlation ($r = 0.6635$, $p = 0.9995$) between the genetic differentiation and the spatial distribution. The conservation strategy for the species is to maintain in situ biodiversity and further to raise its gene diversity by hybridization among the populations in ex situ conservation.

關鍵詞：台灣檫樹、簡單序列重複區間、基因歧異度、遺傳分化

Key words: *Sassafras randaiense*, ISSR, genetic diversity, genetic differentiation

收件日期：98年10月2日

接受日期：99年4月19日

Received: October 2, 2009

Accepted: April 19, 2010

緒 言

台灣檫樹 *Sassafras randaiense* (Hay.) Rehder 是世界上珍貴的闊葉樹種，曾繁茂於新生代第三紀之上新世(距今約 180 萬年)，目前全球檫樹屬(*Sassafras*)植物僅存 3 種，台灣檫樹係台灣特有種，另尚有檫樹(*S. tsumu* Hemsl)、北美檫樹(*S. albidum* Nees) (劉等 1994)。檫樹屬植物目前因分布稀少，有絕滅之危險。台灣檫樹在本地母樹甚少，每年無法採得足量種子，種子發芽率又極低，因而在育苗瓶頸亦難於突破，致使無法供應大量造林。

近年來，分子標誌廣泛應用在物種遺傳變

異的研究，甚至用於生態學、分類學、遺傳學及生物地理學的研究。Zietkiewicz 等人(1994)所發展以聚合酶連鎖反應技術為基礎之簡單序列重複區間(inter-simple sequence repeat, ISSR)分子指紋標誌，具操作方便、實驗花費較少及所需 DNA 樣本數少，具有多型性(polymorphism)高及再現性(reproducibility)高等優點，因此廣泛應用於遺傳連鎖分析及建構遺傳圖譜，研究物種族群遺傳變異，區分種內、亞種，或品系及栽培種及研究自然族群的雜交現象等(Adams *et al.* 2003; Barth *et al.* 2003; Christoph *et al.* 2003; Ge *et al.* 2003; 侯等 2007; 張等 2009)。素有「國蝶」之稱的寬尾鳳蝶喜歡在台灣檫樹

的新芽及嫩葉上產卵，當台灣檫樹開始發芽時，剛孵化之幼蟲即取食新葉。其幼蟲屬單食性，唯一寄主植物為台灣檫樹，也因此突顯台灣檫樹在寬尾鳳蝶生態保育工作上不可或缺的生態地位。

就物種保育而言，了解族群各種特徵為最首要工作，探討族群遺傳結構、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。台灣檫樹相關研究資料缺乏，若能深入探討族群遺傳結構，有助於了解其基因庫規模及分化程度，同時，分析族群多樣性將利於資源保育與利用的策略規劃。有鑑於此，本

研究廣泛採集各生育地族群，應用 ISSR 分子標誌探討遺傳結構與族群多樣性，以了解族群之遺傳變異，對保育族群提供參考。

材料與方法

一、材料

廣泛採集自台灣北、中、南及東部地區等 7 個自然分布地區(圖 1)；每區取 11-21 個樣株，共採得 137 株樣株，每株選取表面無病蟲害葉片 5-10 枚，並以矽膠乾燥劑脫水乾燥，其相關位置資料如圖 1 及表 1。

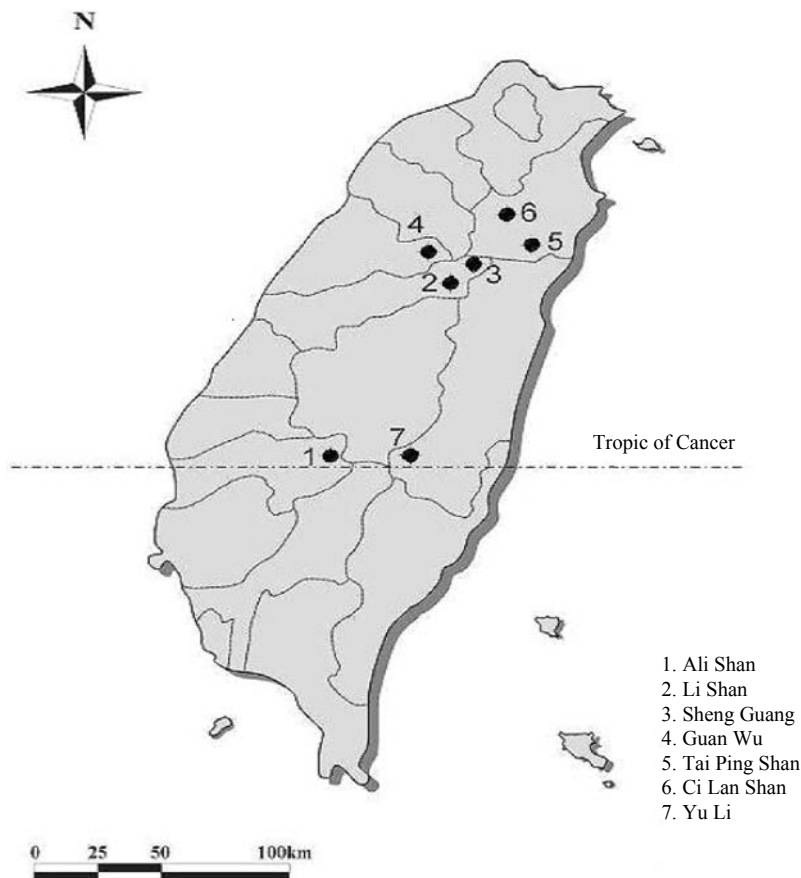


圖 1. 台灣檫樹之採集地理位置圖。

Fig. 1. Collection sites (solid circles) of *Sassafra randaiense* in Taiwan.

表 1. 台灣檫樹採集地區之位置資料

Table 1. Collection sites, elevations, and sample sizes of *Sassafras randaiense* collected from Taiwan

| Collected site | Latitude/Longitude | Elevation (m) | Sample size |
|------------------|-------------------------|---------------|-------------|
| 1. Ali Shan | 23°31'09"N/120°48'32"E | 2,309 | 15 |
| 2. Li Shan | 24°15'23" N/121°14'59"E | 1,902 | 15 |
| 3. Sheng Guang | 24°22'15" N/121°20'17"E | 1,862 | 23 |
| 4. Guan Wu | 24°30'24"N/121°06'55"E | 2,102 | 21 |
| 5. Tai Ping Shan | 24°29'40"N/121°32'02"E | 1,729 | 20 |
| 6. Ci Lan Shan | 24°40'51"N/121°30'10"E | 1,495 | 25 |
| 7. Yu Li | 23°23'24"N/121°22'37"E | 1,032 | 18 |
| Total | | | 137 |

二、方法

本試驗之 Genomic DNA 萃取主要參考 Kobayashi *et al.* (1998) 之改良 CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) 方法進行萃取。參考 Ziekiewicz *et al.* (1994) 的方法加以修改，其反應溶液總體積為 25 μ L，試劑濃度為：10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.0 mM MgCl, 0.1% gelatin (w/v), 1% Triton X-100 (w/v), 10 ng template

DNA, 100 μ M dNTPs, 0.2 μ M primer, 以及 0.5 units Taq polymerase (HT Biotechnology, England)。ISSR 試驗引子取自 UBC (University of British Columbia) Biotechnology Laboratory 之 100 組隨機引子，共篩選出 8 組最合適之引子(表 2)進行放大。PCR 經溫度梯度與引子篩選之最佳化(optimization)測試後，ISSR 分子標誌擴增之引子、最佳黏合溫度與循環參數，分別如下：

表 2. 台灣檫樹 ISSR 分析之 8 組引子序列與黏合溫度

Table 2. Primers and annealing temperatures used for the extraction of ISSR DNA sequences of *Sassafras randaiense*

| Primer No. | Sequence (5' - 3') | Annealing temperature |
|------------|-------------------------------------|-----------------------|
| UBC 825 | ACA CAC ACA CAC ACA CT | 57°C |
| UBC 855 | ACA CAC ACA CAC ACA CYT | 57°C |
| UBC 857 | ACA CAC ACA CAC ACA CYG | 57°C |
| UBC 864 | ATG ATG ATG ATG ATG ATG | 55°C |
| UBC 866 | CTC CTC CTC CTC CTC CTC | 58°C |
| UBC 888 | BDB ¹ CAC ACA CAC ACA CA | 58°C |
| UBC 889 | DBD ¹ ACA CAC ACA CAC AC | 58°C |
| UBC 891 | HVH ¹ TGT GTG TGT GTG TG | 58°C |

¹ B=(G/T/C), D=(G/A/T), H=(A/T/C), V=(G/A/C).

以溫度循環儀(mastercycler gradient)進行 PCR 反應，其反應溫度與循環參數為：DNA 前期變性(94°C, 6 min)，39 個循環之 DNA 變性(94°C, 30 sec)、引子黏合(52-56°C, 50 sec)、延伸反應(72°C, 2 min)，最後維持在 72°C, 7 min 完成反應。PCR 擴增之產物以 1.5%之 Agarose 膠片電泳分離。電泳緩衝液為 0.5×TBE buffer，大片膠(200 mL)以電壓 200V 分離 100 min，將擴增的 DNA 產物進行電泳。電泳分離後之膠片以溴化乙錠(ethidium bromide)溶液進行染色，於暗房中以紫外燈觀察條帶，並以 Polaroid 667 照相記錄。

讀取清晰、亮度大具多型性之條帶，以代碼 1 (出現)和 0 (不出現)記錄條帶出現狀況。再利用 NTSYS 套裝軟體(Rohlf 1993)，以 Simple Matching 公式計算兩兩樣本間之相似度矩陣 (SSM)。以 Dice 公式(Dice 1945)計算兩兩樣本間之相似度(SAB)矩陣。將 SSM 相似度矩陣轉換成 Excoffier *et al.* (1992)發表的 D 距離矩陣。求出遺傳距離矩陣後，以 Popgene (Yeh *et al.* 1997)軟體分析族群間遺傳變異，計算 Nei's 遺傳歧異度指數(Nei 1973)，以及計算族群間遺傳分化係數 Gst (Nei 1973)，再利用 Gst 估算基因流傳值 Nm [$Nm=0.5 \times (1-Gst)/Gst$] (Slatkin and Barton 1989)。以 Simple Matching 公式計算遺傳變異矩陣，再以 Biom 軟體之 Mantel test 公式(Mantel 1967)，進行地理矩陣之關聯分析檢定。其中，地區族群間之距離矩陣係以兩地區族群間之所在位置之地理距離求得。

以 AMOVA v1.55 程式(Excoffier *et al.* 1992) 分析各地區族群遺傳變異成分，包括屬於地理位置之中南部、北部族群，分別就二大地理範圍、地理範圍內族群間及族群內等三級變異影響；地區族群所分屬之中央山脈、雪山山脈及玉山山脈之三級變異影響；及僅就所有族群間、族群內個體間之二級變異影響，計算各層級之變異成分值及所占總變異成分之百分比，並以 9,999 次隨機重排測驗各變異成分的顯著

性。

將 NTSYS-pc ver 2.0 所計算出之各樣本間 Dice 相似度矩陣及 AMOVA 所算出之地區間距離(Φst)矩陣，以 NTSYS-pc v.2.0 的 SAHN (sequential, agglomerative, hierarchial, and nested clustering method)程式、UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages)方法進行各地區族群的歸群分析，並建立其關係樹狀圖(dendrogram)，以及進行主座標分析，以二、三維所占變異最大主要軸繪成平面圖及立體圖，求出各地區族群的變異關係。

結 果

經聚合酶連鎖反應得到 39 個條帶，其中多型性條帶有 38 個(97.44%)，以 Popgene 計算族群 Nei's 基因歧異度值為 0.3438，各地區族群介於 0.0877-0.4038，以棲蘭山地區最高，阿里山地區最低，遺傳分化分析結果遺傳分化係數(Gst)為 0.2788 (表 3)。

表 3. 台灣檫樹之遺傳歧異度、遺傳分化及遺傳流
Table 3. Popgene analysis of genetic diversity (H) and genetic differentiations (Gst) based on ISSR DNA sequences of *Sassafras randaiense* from the 7 collection sites of Taiwan

| Collection sites | H | Gst |
|------------------|--------|--------|
| 1. Tai Ping Shan | 0.1403 | |
| 2. Yu Li | 0.3372 | |
| 3. Ci Lan Shan | 0.4038 | |
| 4. Ali Shan | 0.0877 | |
| 5. Guan Wu | 0.2546 | |
| 6. Li Shan | 0.2966 | |
| 7. Sheng Guang | 0.1251 | |
| | 0.3438 | 0.2788 |

將樣區間遺傳距離矩陣(表 4)與海拔距離(表 5)進行關聯測驗(Mantel test)之相關係數為 0.2830，經 1,000 次隨機排列測驗未達顯著相關($p=0.1542$)。

若將分布於台灣中南、北部地理位置，進

行三級變異分析結果，地理區間之變方成分是-3.07% ($p<0.722$)，族群間地理位置之變方成分是 17.92% ($p<0.01$)，族群內地理位置的變方成分是 85.15% ($p<0.01$) (表 6)。

表 4. 台灣檫樹之 ISSR 分析之遺傳距離(Φ_{st})矩陣

Table 4. A matrix of Nei's genetic distances (Φ_{st}), based on ISSR DNA sequences of *Sassafras randaiense*, among 7 collection sites (1, Tai Ping Shan; 2, Yu Li; 3, Ci Lan Shan; 4, Ali Shan; 5, Guan Wu; 6, Li Shan; 7, Sheng Guang)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 2 | 0.0473 | | | | | |
| 3 | 0.1482 | 0.0726 | | | | |
| 4 | 0.3236 | 0.1881 | 0.1844 | | | |
| 5 | 0.3407 | 0.2470 | 0.1993 | 0.1751 | | |
| 6 | 0.0586 | 0.0249 | 0.0781 | 0.2190 | 0.2612 | |
| 7 | 0.2714 | 0.1001 | 0.1030 | 0.1955 | 0.0855 | 0.1493 |

表 5. 台灣檫樹樣區族群之海拔距離矩陣

Table 5. A matrix of elevation distances of *Sassafras randaiense* among 7 collection sites (1, Tai Ping Shan; 2, Yu Li; 3, Ci Lan Shan; 4, Ali Shan; 5, Guan Wu; 6, Li Shan; 7, Sheng Guang)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|-------|------|-------|-------|------|------|
| 2 | 57.2 | | | | | |
| 3 | 12.2 | 69.4 | | | | |
| 4 | 131.0 | 95.8 | 140.0 | | | |
| 5 | 42.3 | 76.3 | 41.8 | 113 | | |
| 6 | 38.7 | 47.0 | 46.5 | 93.3 | 30.7 | |
| 7 | 24.3 | 50.8 | 31.5 | 108.0 | 27.0 | 15.1 |

表 6. 台灣檫樹 ISSR 分析之分子變方成分分析表

Table 6. Analysis of molecular variance based on ISSR DNA sequences of *Sassafras randaiense*

| Source of variation | | df ¹ | SSD ² | MSD ³ | Variation component | Total var. (%) | p-value |
|----------------------------|--|-----------------|------------------|------------------|---------------------|----------------|---------|
| Nested Analysis | | | | | | | |
| Exposure group | Variance among groups | 1 | 8.87 | 8.87 | -0.01 | -3.07% | <0.722 |
| | Variance among populations within groups | 5 | 68.39 | 13.68 | 0.57 | 17.92% | <0.01 |
| | Variance within populations | 130 | 351.07 | 2.70 | 2.70 | 85.15% | <0.01 |
| Mountains group | Variance among groups | 2 | 29.64 | 14.82 | 0.02 | 0.55% | <0.237 |
| | Variance among populations within groups | 4 | 47.62 | 11.91 | 0.52 | 16.02% | <0.01 |
| | Variance within populations | 130 | 351.07 | 2.70 | 2.70 | 83.43% | <0.01 |
| Analysis among populations | | | | | | | |
| Populations | Variance among populations | 6 | 77.26 | 12.88 | 0.53 | 16.47% | <0.001 |
| | Variance within populations | 130 | 351.07 | 2.70 | 2.70 | 83.53% | <0.001 |

¹ df: degree of freedom.

² SSD: sum of square.

³ MSD: mean square.

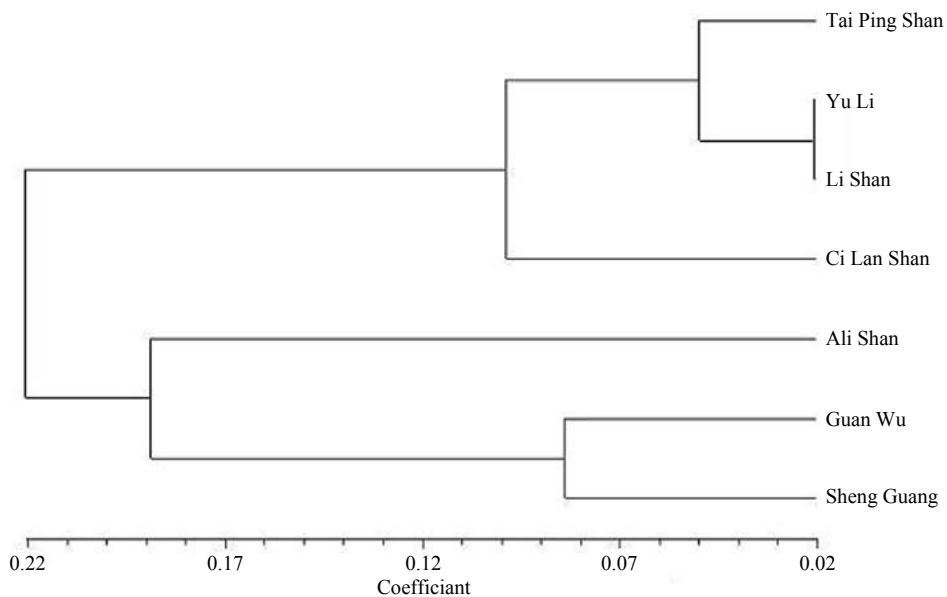


圖 2. 台灣檫樹歸群分析(UPGMA)之樹狀圖。

Fig. 2. UPGMA dendrogram of 7 populations of *Sassafras randaiense* based on ISSR DNA sequences.

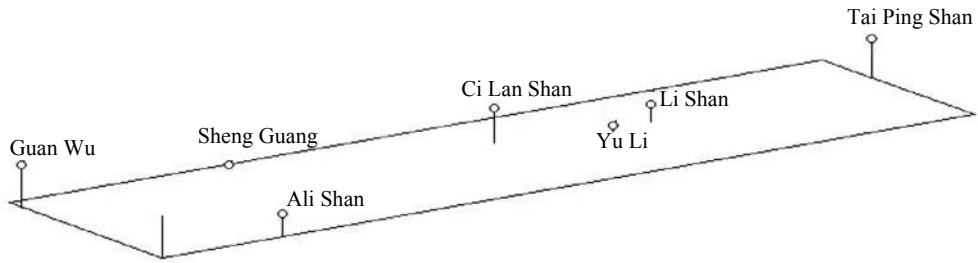


圖 3. 台灣檫樹主座標分析之三維座標圖。

Fig. 3. Three-dimensional principal coordinate analysis among 7 populations of *Sassafras randaiense* based on the ISSR DNA sequences.

若以地區族群所分布之山系進行三級變異分析結果，則山系變異成分是 0.55% ($p < 0.237$)，族群山系間之變異成分是 16.02% ($p < 0.01$)，山系內的變異成分是 83.43% ($p < 0.01$)。若僅就所有地區族群間、族群內個體間之二級變異影響，則族群間之變異成分是 16.47% ($p < 0.0001$)，族群內的變異成分是 83.53% ($p < 0.0001$)，顯示族群大部分變異仍存在於各地區之族群內(表 4)。

地區族群歸群分析建立樹狀圖，經比對遺傳距離矩陣與相似度矩陣所得之協表相關係數(cophenetic correlation coefficient, r)為 0.76008，顯示此歸群圖尚未扭曲表現真實群團關係，歸群圖(圖 2)遺傳距離座標值介於 0.02 到 0.22 之間，在距離 0.14 的地方可以大致將族群間呈現出 3 群團，顯示無地理分布關聯，第一群包括太平山、花蓮、棲蘭山及梨山共 4 個族群；第二群僅有阿里山族群；第三群觀霧、勝光 2 個族群。再由主座標分析結果來比較族群間之關係，座標圖族群間之地理關係亦不明顯(圖 3)。

討 論

台灣檫樹各地區天然林之族群經遺傳變異分析結果(Popgene)，族群 Nei's 基因歧異度($H = 0.3438$)與同樣應用 ISSR 分析研究之台灣特有種玉山杜鵑(*Rhododendron pseudochrysanthum*

Hayata) 基因歧異度為 0.3371 (鄭 2003)、刺柏(*Juniperus formosana* Hayata) 基因歧異度為 0.3536 (蔡 2004)、及唐杜鵑(*R. simsii* Planch.) 族群基因歧異度為 0.3423 (陳 2005)等相當，亦與大陸瀕危二色胡枝子(*Lespedeza bicolor*) 之基因歧異度 0.392 (趙等 2007)相當，推測本種與上述原植物等同具高度之遺傳歧異度現象。台灣檫樹各地區天然林族群之歧異度值從 0.0877 至 0.4038 間，以棲蘭山族群具有最高之歧異度(0.4038)，而阿里山族群最低(0.0877)，顯示各地區族群具高度遺傳歧異度現象。本種分布於中低海拔區域之崩塌地，為次生演替先驅種之生態特性，隨著人為森林開發，各族群受干擾之影響使其遺傳變異發生，一如 Li *et al.* (2002)研究所指出特有種、瀕危植物具較高之遺傳多樣性一般；同時，其受環境變異、繁殖限制、先驅者效應或冰河期殘存等因素(Ranker 1994; Li and Ge 2002)，亦促使族群具有較高之遺傳多樣性。

此外，台灣檫樹族群的遺傳分化係數(G_{st})為 0.2788，族群間的遺傳變異占總變異量的 27.88%，其族群間遺傳分化高於 Hamrick *et al.* (1992)在 220 屬中之 662 種林木中所研究之遺傳分化平均水平($G_{st} = 0.129$)。Buso *et al.* (1987)認為分化指數介於 0-0.05 代表種間分化弱，0.05-0.15 表示中等分化，大於 0.25 則分化明

顯；同時與其他應用 ISSR 研究族群遺傳分化相比，如水柳族群之遺傳分化(Gst)為 0.1820 (蔡 2001)，玉山杜鵑遺傳分化(Gst)為 0.2659 (鄭 2003)，顯見台灣檫樹在族群的遺傳分化相當明顯。

階層性遺傳變異分析顯示各地區族群不因分布於中南、北部地理位置之影響，主要變異仍存在於地理位置內的各地區族群內。同時，地區族群所分布之山系關係，顯示族群變異受山系影響不大，大部分變異仍存在於各地區族群內。因此，就所有地區族群間、族群內個體間之變異影響，則族群變異成分大都存在於各地區族群內，顯示其族群變異主要來自於各地區族群內。鄭 (2003)研究台灣特有的玉山杜鵑其族群間的變異成分占 24.92%，族群內個體間為 75.08%；Ge *et al.* (2003)以 ISSR 研究稀有植物四合木(*Tetraena mongolica* Maxim.)其變異成分 15.2%存在於族群間，84.8%存在於各地區族群內；刺柏遺傳變異之變異成分 22.79%存在於族群間，77.03%存在於各地區族群內(蔡 2004)。上述族群遺傳變異之變異成分顯示其族群分化之傾向，即本種如玉山杜鵑、四合木及與刺柏等族群自然分布之族群，大部分變異存在於各地區族群內，此印證了台灣檫樹各地區族群之遺傳變異分析結果，族群具有較高之遺傳多樣性與分化明顯之現象。

一般植物之族群分化起源有多種模式，如隨環境梯度變化而形成漸變模式，或者是不同生態環境造成分化，或地理距離的隔離，或者不同族群發育歷程所造成分化等(Sokal and Oden 1978)；由台灣檫樹族群遺傳變異矩陣與各地區族群地理距離矩陣之關聯測驗結果未達顯著相關，反映其遺傳變異可能不隨環境梯度變化而變異，即本種天然分布於中、高海拔區域內，可見於砍伐跡地、火燒跡地、造林地初期及次生林先驅角色，即各地族群間適應生育地之表現，推測其族群變異非連續性變異，而是來自生育地各別適應影響，即生育地環境差異

所產生分化趨勢。此現象亦符合其歸群分析結果，所顯示各地區族群間並無地理分布之關聯，同時主座標分析之座標圖亦顯示族群間地理關係亦不明顯(圖 3)。目前台灣檫樹分布於中高海拔區域，隨著人為森林開發破壞，加上其崩場地先驅種之生態特性，使其遺傳變異持續發生，維持了較高遺傳多樣性與分化明顯之現象。本研究顯示族群遺傳變異主要來自地區族群內，然而各地區族群受植群自然演替後，生育環境之不利其天然更新影響，又因本種與台灣特有種蝶類—寬尾鳳蝶之生活史息息相關，在保育策略上建議在自然生育地實施就地保育措施，避免濫伐等人為干擾，以維持各地區族群之遺傳多樣性。同時，亦可選擇適合生長之崩塌或裸露林地用於移地保育，各族群進行引種育林，以增加族群遺傳交流，擴大種原資源保育。

結 論

台灣檫樹族群遺傳變異分析具高度遺傳歧異度與族群分化的遺傳多樣性，族群大部分變異存在於各地區族群內，族群遺傳歸群分析顯示無地理歸群現象，Mantel測驗結果推演族群變異非連續性變異，而是來自生育環境各別適應之關聯，由於本種天然分布於砍伐跡地、火燒跡地、造林地初期及次生林整理後之林地，適應於林緣或孔隙氣候，各地區族群受植群自然演替後即不利其天然更新影響，顯然生育地環境差異產生族群分化趨勢。

本研究顯示族群遺傳變異主要來自地區族群內，然而，又因本種與台灣特有種蝶類—寬尾鳳蝶之生活史息息相關，在保育策略上建議在自然生育地實施就地保育措施，避免濫伐等人為干擾，以維持族群遺傳多樣性。同時可選擇移地保育，進行各地區族群引種育林之遺傳交流，擴大種原資源保育。

引用文獻

- 陳硯茹。2005。應用 ISSR 研究唐杜鵑之族群遺傳變異。國立中興大學生命科學研究所碩士論文。
- 侯渝嘉、何橋、李中林、李品武、梁國魯、徐進。2007。應用 ISSR 分子標記對茶樹種質資源進行分子鑑定。西南農業學報 20 (6): 1272-1276。
- 張蕊、周志春、全國慶、駱文監。2009。南方紅豆杉種源遺傳多樣性和遺傳分化。林業科學 45(1): 50-56。
- 鄭之煒。2003。應用 ISSR 研究玉山杜鵑之族群遺傳變異。國立中興大學生命科學研究所碩士論文。
- 趙楊、陳曉陽、王秀榮、駢瑞琪。2007。二色胡枝子遺傳多樣性 ISSR 分析。植物遺傳資源學報 8(2): 195-199。
- 蔡承憲。2001。應用 ISSR 研究台灣水柳與水社柳之遺傳變異。國立中興大學植物學研究所碩士論文。
- 蔡依綺。2004。應用 ISSR 研究刺柏之族群遺傳變異。國立中興大學生命科學研究所碩士論文。
- 劉業經、呂福原、歐辰雄。1994。台灣樹木誌。國立中興大學農學院。131 頁。
- Adams, R. P., A. E. Schwarzbach and R. N. Pandey. 2003. The concordance of terpenoid, ISSR and RAPD markers, and ITS sequence data sets among genotypes: An example from *Juniperus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 375-387.
- Barth, S., A. E. Melchinger and T. Lubberstedt. 2003. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology* 11(3): 495-505.
- Buso, G. S. C., P. H. Rangel and M. E. Ferreira. 1987. Analysis of genetic variability of south American wild rice population (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. *Molecular Ecology* 7(1): 107-117.
- Christoph, R., P. Poschlod and R. Wingender. 2003. Genetic variation of *Saxifraga paniculata* Mill. (Saxifragaceae): Molecular evidence for glacial relict endemism in central Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* 80: 11-21.
- Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- Excoffier, L., P. E. Smouse and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Ge, X. J., Y. Yu, N. X. Zhao, H. S. Chen and W. Q. Qi. 2003. Genetic variation in the endangered Inner Mongolia endemic shrub *Teteaena mongolica* Maxim. (Zygophyllaceae). *Biological Conservation* 111: 427-434.
- Hamrick, J. L., M. J. W. Godt and S. L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- Kobayashi, N., T. Horikoshi, H. Katsuyama, T. Handa and K. Takayanagi. 1998. A simple and efficient DNA extraction method for plants, especially woody plants. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 4: 76-80.
- Li, A. and S. Ge. 2002. Advances in plant conservation genetics. *Biodiversity Science*. 82: 141-149. (in Chinese with English abstract)
- Li, Q. M., Z. F. Xu and T. H. He. 2002. Ex situ genetic conservation of endangered *Vatica*

guangxiensis (Dipterocarpaceae) in China.
Biological Conservation 106: 151-156.

Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27: 209-220.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 70: 3321-3323.

Ranker, T. A. 1994. Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern *Adenophorus periens* and implications for conservation management. Biological Conservation 70: 19-24.

Rohlf, F. J. 1993. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Applied Biostatistics, New York. 256 pp.

Slatkin, M. and N. H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution 43: 1349-1368.

Sokal, R. R. and N. L. Oden. 1978. Spatial auto correlation in biology. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. Biological Journal of the Linnean Society 10: 229-249.

Yeh, F. C., R. C. Yang, T. B. J. Boyle, Z. H. Ye and J. X. Mao. 1997. Popgene 3.2, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda .1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20: 176-183.

