

參、結果

一、形質分析

(一) 變異數分析 (ANOVA)

使用 87 個樣本針對 19 個特徵進行形質測量，逐項檢測喜岩堇菜與雪山堇菜兩個類群是否具有顯著差異，分項檢測結果列於表 4。各特徵分布狀況見圖 3A~S。

在 19 項特徵中，基瓣寬 ($P=0.0097$)、萼片寬 ($P<0.0001$)、花軸長 ($P=0.0294$)、側瓣鬚毛數 ($P<0.0001$)、葉長/葉寬 ($P=0.0002$) 及葉厚 ($P<0.0001$) 等 6 個特徵在喜岩堇菜與雪山堇菜間具統計上的顯著差異。

(二) 區別分析 (DA)

利用上瓣長、上瓣寬、側瓣長、側瓣寬、基瓣長、基瓣寬、花距長、花距寬、萼片長、萼片寬、花軸長、葉長、葉寬、葉最寬處長、葉柄長、側瓣鬚毛數、葉厚、葉長/葉寬、葉長/葉最寬處長等 19 項特徵為區別變數，進行區別分析。區別分析的第一軸即可區分 100% 的樣本數 (表 5)，組成第一軸最高比例的特徵向量為葉長/葉寬，其次葉長/葉最寬處長，第三為萼片寬；組成第二軸最高比例的特徵向量為葉長/葉寬，其次葉長/葉最寬處長，第三為葉長 (表 6)。從圖 4 可見樣本分布的情況，雪山堇菜的分布集中在圖的右側，喜岩堇菜的分布集中在圖的左側，兩者幾乎沒有重疊。表 7 為錯分個體的統計表，位於同一欄表示軟體根據區別函數預測的所屬類群，位於同一列的則是原本認定的類群，喜岩堇菜的錯分率為 2.86% (2/70)，雪山堇菜的錯分率為 5.88% (1/17)。

(三) 歸群分析 (CA)

利用上瓣長、上瓣寬、側瓣長、側瓣寬、基瓣長、基瓣寬、花距

長、花距寬、萼片長、萼片寬、花軸長、葉長、葉寬、葉最寬處長、葉柄長、側瓣鬚毛數、葉厚、葉長/葉寬、葉長/葉最寬處長等 19 項特徵，進行歸群分析，結果如圖 5 所示。圖中的數字代表樣本編號，由圖中可見喜岩堇菜分別歸在不同分支中；雪山堇菜有 7 個（41%）樣本位於同一分支中，另外 10 個（59%）樣本則與喜岩堇菜混雜。

二、分子資料

（一）序列分析

本研究共計使用 226 個樣本，分別來自 28 個族群。利用 PCR 成功擴增葉綠體 DNA 之 *trnV-trnM* 與 *trnG-trnS* 兩個片段，經排序（alignment）並去除前後雜亂序列後，得到 *trnV-trnM* 基因間片段長 759 鹼基，*trnS-trnG* 基因間片段長 457 鹼基。兩片段合併後序列總長共 1216 鹼基，共計有 21 個變異位點（variable sites），有 13 個變異位點位在 *trnV-trnM* 基因間片段，8 個變異位點位在 *trnG-trnS* 基因間片段。共計有 10 個 indels，其中 5 個為長 indels，分別位在 *trnV* 289-292（4bp）、*trnV* 511-525（15bp）、*trnG* 250-254（5bp）、*trnG* 301-308（8bp）及 *trnG* 362-370（9bp），8 個 singleton，13 個 parsimony informative sites。21 個變異位點共可組成 22 個單套型（haplotype），各單套型之變異位點組成見表 8，各族群所涵蓋單套型之資料列於表 2。

兩片段合併後的核苷酸平均組成為：腺嘌呤（A：adenine）佔 30.81%，鳥糞嘌呤（G：guanine）佔 19.05%，胸腺嘧啶（T：thymine）佔 31.7%，胞嘧啶（C：cytosine）佔 18.44%，為 AT-rich 片段，佔所有鹼基組成 62.51%，符合 intron 區間 G+C 含量較低的結果。

(二) 最小關聯網狀圖 (minimum spanning network) 與單套型分析

利用 Arlequin 得到 minimum spanning tree 的數值可畫出 minimum spanning network (圖 6)。各單套型在各族群中的分布情形見表 9 及圖 7。

最小網狀關聯圖呈現典型的放射狀星形結構，僅有三個延伸的分支：單套型 3、13、14、20 為一分支，單套型 9、19、21 為一分支，單套型 5 與 18 為一分支。21 個單套型中，有 14 個單套型 (66.7%) 源自單套型 2，其中 13 個單套型與單套型 2 僅差一個鹼基。距單套型 2 最遠的單套型 13 與之差距為 4 個鹼基。

(三) 各單套型在族群中的分布情形

226 個樣本中，有 123 個樣本屬於單套型 2，佔所有樣本的 54.4%，廣泛分布於 21 個族群；單套型 3 是第二大的單套型，共有 29 個樣本，佔所有樣本的 12.8%，分布於七卡山莊的喜岩董菜族群 (Ack)、中央尖溪的喜岩董菜族群 (Anh)、雪山北稜角的雪山董菜族群 (Ths) 和南湖大山的雪山董菜族群 (Tnh)；其他單套型的樣本數則介於 1~8，其中有 6 個單套型 (8、13、14、15、17、21) 僅有 1 個樣本，佔所有單套型比例 28.6% (6/21)。除了單套型 17 外，其餘 5 個單套型均經過重複定序確認。

在 21 個單套型中，有 14 個 (66.7%) 單套型各自侷限分布單一特定族群中，而單套型 2、3、5、7、9、11、19 等 7 個單套型 (33.3%)，則包含了來自兩個族群以上的樣本。

在梅峰地區 (AA) 的單套型 1、奇萊地區 (AcL) 的單套型 4、溪頭地區 (Aht) 的單套型 10 及瑞穗地區 (Ajs) 的單套型 12 均為特定族群具有的獨特單套型。

(四) 各族群與兩類群之單套型的組成

由表 9 可知在 28 個族群中，有 16 個族群 (57.1%) 有 2 個以上的單套型，族群內具有遺傳變異；有 12 個族群 (42.9%) 僅含有 1 個單套型，其中 6 個族群 (Achli、AkL、Tnkk、Ash、TcL、TksL) 僅具單套型 2，其中 2 個族群 (Ack、Ths) 僅具單套型 3，剩餘 4 個族群 (AA、AcL、Aht、Ajs) 則各自衍生獨特單套型，此 12 個族群在族群內不具遺傳變異。

以類群的角度來看，喜岩堇菜特有的單套型有：1、4、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18，共 14 個單套型，合計有 49 個樣本，佔全部樣本比例 21.68% (49/226)。雪山堇菜特有的單套型有：6、20、21，共 3 個單套型，合計有 11 個樣本，佔全部樣本比例 4.87% (11/226)。兩類群共有的單套型有：2、3、5、19，共 4 個單套型，合計有 166 個樣本，佔全部樣本比例 73.45% (166/226)。

(五) 遺傳變異分析

使用 DnaSP 軟體分別計算 28 個族群的核苷酸歧異度 (π) 介於 0~0.00143 (表 10)，其中位於中央尖溪的喜岩堇菜族群 (Anh) 有最高的核苷酸歧異度 (0.00143)，其次為小鬼湖的喜岩堇菜族群 (Ahkh, 0.00097)，第三高為玉山登山口附近的喜岩堇菜族群 (Ayu, 0.00093)，合併 28 族群得到的核苷酸歧異度為 0.00088。分成兩個類群來看，喜岩堇菜的核苷酸歧異度為 0.00078，雪山堇菜的核苷酸歧異度為 0.001。

單套型歧異度 (h) 介於 0~0.833 (表十)，其中小鬼湖的喜岩堇菜族群 (Ahkh) 有最高的單套型歧異度 (0.833)，其次為中央尖溪的喜岩堇菜族群 (Anh, 0.810)，第三高為上東埔的喜岩堇菜族群 (Astp, 0.750)，合併 28 族群得到的單套型歧異度為

0.682。分成兩個類群來看，喜岩堇菜的單套型歧異度為 0.644，雪山堇菜的單套型歧異度為 0.704。

各族群 Tajima's test 的結果列於表 10。所有族群的 D 值均不顯著。合併 28 個族群得到的 D 值為顯著負值 (-1.86292, $P < 0.05$)。分成兩個類群來看，喜岩堇菜的 D 值為顯著負值 (-1.92418, $P < 0.05$)，雪山堇菜的 D 值為 -0.70129，雖不顯著但呈相同負值趨勢。

利用 Arlequin 計算族群分化指數 (F_{ST}) 與基因流傳值 (Nm)。分成三部分去計算

(1) 依類群區分：喜岩堇菜與雪山堇菜之 F_{ST} 為 0.07913， Nm 值為 5.8187。

(2) 將 28 個族群區分成 5 個山脈區系，分別為：雪山山脈 (Ath、Achli、Ths、Acnc、Afp、Ack、Asy 共 7 個族群)、中央山脈東側 (Ahp、Tnkk、AkL、Awj、Ajs 共 5 個族群)、中央山脈西側北段 (Tnh、Anh、AcL、TcL、TE、TD、AA 共 7 個族群)、中央山脈西側南段 (Ash、TksL、Ahy、Ahkh 共 4 個族群)、玉山山脈 (Aht、Ats、Astp、Ayu、Tyu 共 5 個族群)。兩兩山脈區系間的 F_{ST} 介於 0.013~0.171， Nm 介於 2.43~38.99 (表 11)，均屬低度分化。顯示中央山脈西側北段與玉山山脈之族群間隔離程度最高，中央山脈西側南段與玉山山脈族群間基因交流最暢通。

(3) 從 28 個族群中，兩兩族群分別計算其 F_{ST} (表 12)。 F_{ST} 介於 0~1， Nm 介於 0~無限大 (inf.)。具獨特單套型的族群 F_{ST} 偏高，例如：梅峰的喜岩堇菜族群 (AA) 與其他族群間的 F_{ST} 介於 0.622~1。而含有單套型 2 的族群 F_{ST} 偏低，例如：基納吉的喜岩堇菜族群 (Acnc)，除了與含獨特單套型之 AA (0.89)、Ack (0.86)、AcL (0.82)、TD (0.62)、TE (0.58)、Aht (0.88)、Ajs (0.84)、Ths (0.88)、Tnh (0.77) 間之 F_{ST} 偏高，Acnc 與

其餘族群之 F_{st} 介於 0~0.3。

利用 Arlequin 軟體進行 AMOVA 分析。分成兩部份計算：

①將所有樣本分成喜岩堇菜與雪山堇菜兩個類群進行 AMOVA 分析：僅有 2.58% 的變異分布在類群間，其 P 值為 0.17，顯示在統計上兩個類群沒有顯著差異。有 57.88% 的變異分布在同一類群內不同族群間，有 39.53% 的變異分布在所有族群內（表 13A）。

②將 28 個族群分為 5 個山脈區系進行 AMOVA 分析：僅有 0.95% 變異分布在山脈區系間，其 P 值為 0.33，顯示在統計上 5 個山脈區系沒有顯著差異。有 59.02% 的變異分布在同一山脈區系內不同族群間，有 40.03% 的變異分布在所有族群內（表 13B）。

（六） 譜系樹的建構

1. 利用 21 個單套型以高度儉約法建構 MP tree，共得到 25 棵樹，圖 8 為 50% 多數一致性樹（50% majority rule tree），未設定外群，為一 unrooted tree。樹長 23，CI（consistency index）=0.913，RI（retention index）=0.75。樹形圖中顯示僅有單套型 5 與單套型 18 所在分支之 bootstrap 值為 65，其餘皆小於 50，顯示單套型間的關係大部份為未解（unresolved）。雖為一解析力低的譜系樹，但仍可見單套型 5、18 位於同一分支；單套型 7、19 位於同一分支；單套型 9、21 位於同一分支；單套型 3、13、14 位於同一分支。
2. 利用 21 個單套型以鄰近連接法建構 NJ tree（圖 9），未設定外群

，為一 unrooted tree。其樹形圖與 MP tree 完全一致，高於 50 的 bootstrap 值介於 51~68 間，其餘均低於 50，為一解析力低的譜系樹。由 branch length 可看出單套型 18、19、21、6、13 與其他單套型差異較大。

(七) Isolation by distance (IBD) test

使用 Isolation By Distance Web Service Version 3.15 計算的結果得到 $r = -0.1382$ ， $r^2 = 0.191$ ， $p = 0.926$ (圖 10)，顯示遺傳距離與地理距離之間沒有相關性，不符合 Isolation by distance 的 model。

(八) 族群變異分布測驗 (mismatch distribution)

使用所有樣本進行族群變異分布測驗，喜岩堇菜複合群呈現單峰分布 (圖 11A)，將其分為喜岩堇菜 (圖 11B)、雪山堇菜 (圖 11C) 兩個類群分別進行測試，亦皆呈現單峰分布，均顯示近期經歷族群擴張事件。