

蘇花海岸地形的物種阻隔效應-以兩種溪樹蛙為例

林彥博，陳盈蓉，林思民
國立台灣師範大學生命科學系



前言

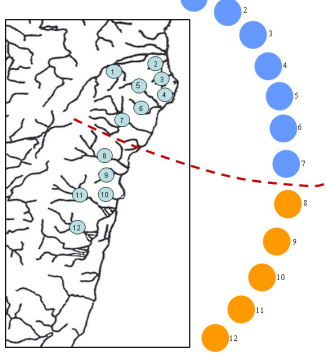
蘇花海岸地區特殊的地形地貌不但是世界性的地質景觀，也是影響台灣生物多樣性與遺傳多樣性的重要地形阻隔，無論從單純的物種組成，或藉由近年分子親緣地理學所得到的證據，均顯示這個地理屏障在生物地理學上占有重要的地位。然而過去的生物地理或親緣地理學研究多半將尺度著眼於台灣本島的分化，而缺少針對蘇花海岸，尤其是清水斷崖與立霧溪這段劇烈的地形屏障進行小尺度的探討。本研究將以兩種溪樹蛙：褐樹蛙 (*Buergeria robusta*) 及日本樹蛙 (*B. japonica*) 為研究模式物種，探討在小尺度範圍的蘇花海岸地形對其遺傳分化的影響。

材料與方法

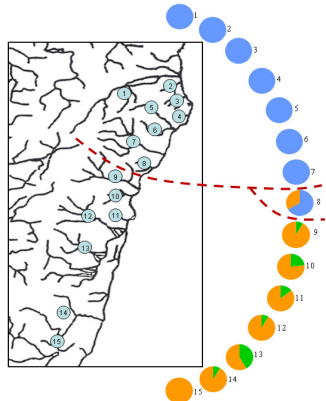
蘇花海岸地區採集的褐樹蛙包含了12個河川流域，總共212隻個體(圖一)，於蘇花沿岸15個河川流域共採得185個日本樹蛙樣本(圖二)，利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 增幅細胞色素 *b* 基因後約1100bp的特定片段，並利用自動定序儀 (ABI 3730) 進行定序，PCR反應與定序使用的引子如下：

褐樹蛙： BueCBF1: 5'-TTTCTGCCAggRTTYAACCTAgACC-3'
BueCBR2: 5'-gTCYARITTTgATgATgTTTTRITTTTC-3'
日本樹蛙： BueCBF1: 5'-TTTCTGCCAGGRTTYAACCTAGACC-3'
BueCBR2: 5'-AGTAGATTGSKGAAGCTAGTTGACC-3'

定序結果以人工方式使用 Sequencer 4.1 程式進行雙股序列校正，總共分析的長度分別為1080 bp(褐樹蛙)及1030bp(日本樹蛙)。定序212隻褐樹蛙個體，從中整理出80個基因單型 (haplotype)，定序185隻日本樹蛙個體，整理出59個基因單型。



圖一、褐樹蛙12個採集地點與遺傳組合。每個圓餅圖中的色塊代表一個樣區內各基因型支系的組合比例，而支序的定義請參見圖三。



圖二、日本樹蛙15個採集地點與遺傳組合。每個圓餅圖中的色塊代表一個樣區內各基因型支系的組合比例，而支序的定義請參見圖四。

遺傳多樣性

以 DnaSP 4.10 (Rozas et al., 2003) 計算單基因型歧異度 (haplotype diversity, H_d) 及核苷酸歧異度 (nucleotide diversity, π)。褐樹蛙各族群的 H_d 為 0.6550-0.9526， π 為 0.0012-0.0049 (表一)；日本樹蛙各族群的 H_d 為 0.4091-0.9546， π 為 0.0012-0.0103 (表二)。

表一、褐樹蛙各流域採集點的樣本數量 (N)、基因單型數量 (N_{hap})、基因型多樣性 (H) 與核苷酸多樣性 (π)。

採集點	遺傳分群	N	N_{hap}	H	π
蘭陽溪	北部群	13	10	0.9231	0.0049
新城溪	北部群	14	7	0.8242	0.0034
蘇澳溪	北部群	27	13	0.8860	0.0031
東澳溪	北部群	19	6	0.6550	0.0033
南澳北溪	北部群	16	14	0.9833	0.0057
南澳南溪	北部群	20	12	0.9105	0.0042
和平溪	北部群	13	7	0.7949	0.0043
立霧溪	東部群	14	8	0.9011	0.0019
三棧溪	東部群	19	8	0.7953	0.0012
美崙溪	東部群	20	7	0.6895	0.0013
木瓜溪	東部群	20	13	0.9526	0.0023
花蓮溪	東部群	17	7	0.8971	0.0013
合計		212	80	0.9545	0.0118

表二、日本樹蛙各流域採集點的樣本數量 (N)、基因單型數量 (N_{hap})、基因型多樣性 (H) 與核苷酸多樣性 (π)。

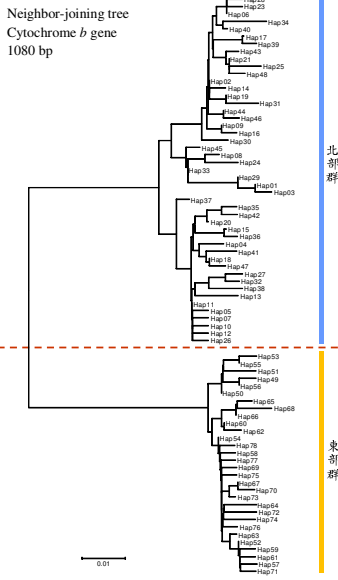
採集點	遺傳分群	N	N_{hap}	H	π
蘭陽溪	北部群	12	10	0.9546	0.0024
新城溪	北部群	12	2	0.4091	0.0016
蘇澳溪	北部群	13	6	0.8590	0.0020
東澳溪	北部群	13	4	0.8077	0.0018
南澳北溪	北部群	12	6	0.8485	0.0023
南澳南溪	北部群	12	4	0.7727	0.0012
和平溪	北部群	12	7	0.8637	0.0024
良里溪	北部群	12	6	0.8485	0.0053
立霧溪	東部I群, 東部II群	12	3	0.4394	0.0047
三棧溪	東部I群, 東部II群	13	9	0.9102	0.0084
美崙溪	東部I群, 東部II群	14	7	0.8241	0.0071
木瓜溪	東部I群, 東部II群	12	7	0.9242	0.0052
花蓮溪	東部I群, 東部II群	12	10	0.9546	0.0103
秀姑巒北溪	東部I群, 東部II群	12	9	0.9394	0.0064
秀姑巒南溪	東部I群	12	7	0.8333	0.0032
合計		165	59	0.9490	0.0072

遺傳分群	N	N_{hap}	H	π
北部群	122	48	0.9105	0.0043
東部群	90	32	0.9109	0.0019
合計	212	80	0.9545	0.0118

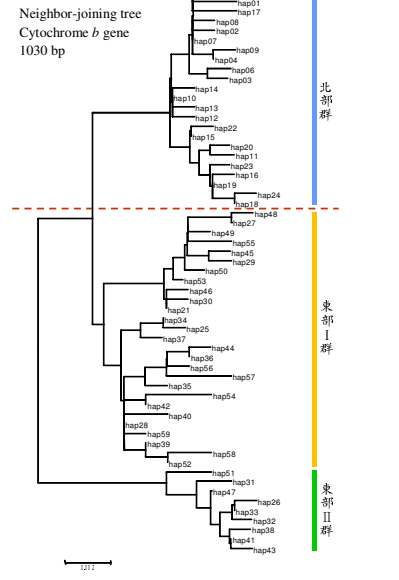
遺傳分群	N	N_{hap}	H	π
北部群	94	23	0.8911	0.0026
東部I群	78	27	0.8725	0.0043
東部II群	13	9	0.9259	0.0025
合計	165	59	0.9490	0.0072

親緣關係樹

利用 MEGA 4.1 (Kumar et al., 2001) 軟體，以 Neighbor-Joining (NJ) 建構單基因型之間的親緣關係樹，並以 1000 次 bootstrap 來計算親緣關係樹的支持強度。結果顯示蘇花海岸地區的褐樹蛙可以明顯區分成清水斷崖以北及以南兩個主要系群，其系群性受到 bootstrap 的高度支持(圖三)。蘇花海岸地區的日本樹蛙明顯區分成北部、東部 I 及東部 II 三大系群(圖四)。在系群的地理分布上，北部群與東部 I 群在良里溪流域具有重疊的區域，而與東部 II 群無重疊地理區。除了良里溪及秀姑巒南溪，東部 I 群與東部 II 群在地理上具有高度重疊，結合地理分布與遺傳支系，可發現和平溪與立霧溪之間，也就是清水斷崖的存在造成褐樹蛙與日本樹蛙族群具有明顯的遺傳隔離現象。



圖三、褐樹蛙80個基因型與地理分布。北部的基因型與東部的基因型完全沒有分布上的重疊。

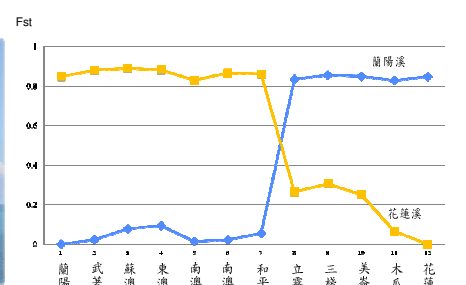


圖四、日本樹蛙59個基因型之親緣關係樹與地理分布。

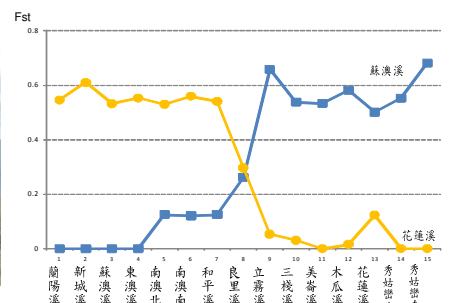
又見清水斷崖? 短距離內劇烈的阻隔效應!

中央山脈造成清楚的遺傳分化是台灣許多陸域動物共通的遺傳分化模式，這並不讓人驚奇，但是相隔短程20公里之內的褐樹蛙卻屬於完全不同遺傳支系，這樣的分化效應就格外引人注目。

我們在此利用 DnaSP 5.10 計算所得褐樹蛙及日本樹蛙族群間的遺傳分化指數 (fixation index, F_{st}) 來呈現清水斷崖造成的劇烈分化現象(圖五、圖六)。無獨有偶地，這個劇烈的分佈界線正好跟白頭翁、白頭翁、翠斑草蜥、鹿野草蜥的分佈界線幾乎完全吻合——座落在和平溪與立霧溪之間，也就是俗稱清水斷崖的區域。



圖五、各以北及東部一條流域(分別為蘭陽溪及花蓮溪)，與其他流域相比呈現遺傳分化指數的變化趨勢，發現兩側區域流域的褐樹蛙族群遺傳分化指數在跨越良里溪與立霧溪交界時， F_{st} 值會急劇的升高。



圖六、各以北及東部一條流域(分別為蘇澳溪及花蓮溪)，與其他流域相比呈現遺傳分化指數的變化趨勢，發現兩側區域流域的日本樹蛙族群遺傳分化指數在跨越良里溪與立霧溪交界時， F_{st} 值也會急劇的升高。

致謝

感謝研究室成員協助褐樹蛙及日本樹蛙的採集，本研究由太魯閣國家公園管理處經費支持下進行。

結論

日本樹蛙與褐樹蛙的親緣地理研究，顯示和平溪與立霧溪之間，亦即太魯閣國家公園的清水斷崖一帶，確實為造成台灣物種多樣性和遺傳多樣性的重要屏障，並與先前翠斑草蜥、鹿野草蜥、白頭翁與其他兩棲爬行動物分佈界線的研究相吻合。任何跨越蘇花海岸地區的公共工程，均應避免促成野生動物非天然狀況下的族群移動，以避免遺傳入侵與遺傳均質化的危機，並造成區域特性的降低。