

高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生
物學調查
成果報告書

委託單位：雪霸國家公園管理處

執行單位：國立臺灣大學

計畫主持人：朱有田

中華民國 111 年 12 月

本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見

高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生
物學調查
成果報告書

委託單位：雪霸國家公園管理處

執行單位：國立臺灣大學

計畫主持人：朱有田

中華民國 111 年 12 月

本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見

目錄

目錄.....	1
表次.....	4
圖次.....	5
摘要.....	7
第一章 緒論.....	9
第一節 計畫緣由.....	9
第二節 計畫目標.....	11
第三節 前人研究.....	13
第二章 材料與方法.....	24
第一節 研究地區.....	24
第二節 研究方法.....	25
第三章 結果與討論.....	29
一、山椒魚的沿線調查與螢光標放.....	29
1.山椒魚的沿線調查.....	29
2.全臺山椒魚分布調查結果.....	30
3.五種山椒魚的體型差異.....	32
4.軟性螢光標放.....	33
二、收集國家公園內山椒魚微棲地資訊.....	60
1.雪霸國家公園.....	60
2.太魯閣國家公園.....	60
3.玉山國家公園.....	60
4.族群監測熱點的微棲地種類.....	60
5.三座國家公園山椒魚族群監測熱點微棲地的異同.....	62
三、山椒魚的食性分析.....	66
1.食性樣本收集.....	66
2.臺灣產山椒魚胃內容物組成.....	66
3.胃內容物與排遺組成之比較.....	66
4.族群調查熱點山椒魚胃內容物組成及獵物出現頻率.....	67

5. 畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成.....	69
四、臺灣五種山椒魚的骨骼與生殖系統醫學影像.....	88
1. 建立山椒魚卵巢、輸精管醫學影像的成像技術.....	88
2. 建立山椒魚骨骼醫學影像的成像技術.....	88
3. 以微型磁振造影進行山椒魚的性別鑑定.....	89
4. 生殖腺的形態變化.....	89
5. 性別鑑定的建議方式.....	91
6. 骨骼形態分析.....	91
五、蛙壺菌與蠓蠟壺菌感染監測.....	107
1. 建立蛙壺菌及蠓蠟壺菌監測方法.....	107
2. 皮膚拭子 DNA 提取、蛙壺菌與蠓蠟壺菌檢測.....	107
六、域內人工圈養及山椒魚生活史研究.....	110
1. 人工圈養箱設置.....	110
2. 圈養環境下的山椒魚活動周期觀察.....	111
3. 圈養環境下的山椒魚生殖行為觀察.....	111
4. 山椒魚的生活史.....	113
七、野外山椒魚孵化時期生存威脅評估.....	120
1. 楚南氏山椒魚胚胎/蝌蚪的發育分期.....	120
2. 臺灣山椒魚胚胎/蝌蚪的發育分期.....	120
3. 楚南氏與臺灣山椒魚生殖棲所的環境因子.....	120
4. 山椒魚生殖微棲所中的水棲昆蟲與絲狀真菌.....	122
5. 固定產卵地點.....	123
6. 繁殖地土壤生態系.....	123
八、建構臺灣五種山椒魚親緣地理關係.....	128
1. 遺傳樣本採集與粒線體細胞色素 b 核苷酸序列單套型分析.....	128
2. 親緣關係分析.....	128
3. 分子遺傳變異分析.....	132
4. 距離隔離模式檢驗.....	133
九、表現標記微衛星標記 (EST-SSR) 的建立與親緣鑑定.....	139
1. 以轉錄體序列設計臺灣產山椒魚表現序列微衛星標記.....	139

2.多型性訊息含量分析與分派檢定	140
3.以表現序列微衛星標記分析臺灣產山椒魚的遺傳結構	141
十、臺灣原生山椒魚之生態解說網頁	147
第四章 結論與建議	148
附件一、研究方法細節	151
附件二 山椒魚全身骨骼	160
附件三、解剖學名詞縮寫與全名	161
附件四、第一次審查會議紀錄.....	162
附件五、第一次審查會議意見處理情形	172
附件六、第二次審查會議紀錄.....	180
附件七、第二次審查會議意見處理情形	188
附件八、第三次審查會議紀錄.....	194
附件九、第三次審查會議意見處理情形	206
附件十、第四次審查會議紀錄.....	213
附件十一、第四次審查會議意見處理情形	223
附件十二、第五次審查會議紀錄.....	234
附件十三、第五次審查會議意見處理情形	245
附件十四、山椒魚生態解說網站視覺化演示版本.....	251
附件十五、期末報告審查會議紀錄.....	254
附件十六、期末審查會議意見處理情形	265
參考文獻	271

表次

表一、臺灣五種山椒魚過去的食性研究	22
表 1-1、山椒魚族群分布與生態調查.....	35
表 1-2、五種山椒魚的形態量測值.....	39
表 1-3、巨木步道再捕捉個體資訊.....	40
表 1-4、820 林道再捕捉個體資訊.....	41
表 1-5、神木林道再捕捉個體	46
表 2-1、山椒魚微棲地資訊	63
表 2-2、神木林道阿里山山椒魚微棲地種類	64
表 2-3、巨木步道觀霧山椒魚微棲地種類	64
表 2-4、畢祿林道不同山椒魚物種的微棲地底質種類分析	64
表 3-1、山椒魚食性樣本採集地點及數量總表	71
表 3-2、臺灣產山椒魚的胃內容物組成（物種別）	73
表 3-3、山椒魚排遺組成（物種別）	77
表 3-4、山椒魚族群調查熱點的胃內容物組成	79
表 3-5、山椒魚族群調查熱點的胃內容物獵物種類之出現頻率	83
表 3-6、畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成.....	84
表 4-1、以微核磁共振掃描鑑別山椒魚的性別	96
表 4-2、臺灣產山椒魚骨格形態比較.....	96
表 5-1、蛙壺菌及蠓蝨壺菌 PCR 檢測結果.....	108
表 7-1、臺灣產山椒魚胚胎發育過程.....	124
表 8-1、臺灣產山椒魚不同水系間的分子變方分析.....	134
表 9-1、臺灣產山椒魚螢光標記引子對.....	143
表 9-2、臺灣產山椒魚微衛星標記多型性資訊分析.....	144
表 9-3、族群分派檢定樣本來源資訊.....	145

圖次

圖一、臺灣五種山椒魚的地理分布圖	17
圖二、臺灣產山椒魚粒線體細胞色素 b 基因全長序列親緣關係樹 (2018)	18
圖 1-1、雪霸國家公園及周邊地區山椒魚分布	47
圖 1-2、太魯閣國家公園及周邊地區山椒魚分布	48
圖 1-3、玉山國家公園及周邊區域山椒魚分布	49
圖 1-4、山椒魚分布地圖	50
圖 1-5、不同區域的觀霧山椒魚	51
圖 1-6、不同區域的臺灣山椒魚	52
圖 1-7、不同區域的南湖山椒魚	53
圖 1-8、不同區域的楚南氏山椒魚.....	54
圖 1-9、不同區域的阿里山山椒魚.....	55
圖 1-10、五種山椒魚的形態量測值盒鬚圖	56
圖 1-11、玉山圓峰標記年份約在 2009 至 2010 年間個體.....	57
圖 1-12、820 林道再捕捉的臺灣山椒魚個體	58
圖 1-13、山椒魚熱點調查數量	59
圖 2-1、畢祿林道不同山椒魚物種的微棲地底質種類.....	65
圖 3-1、山椒魚胃內容物.....	86
圖 3-2、臺灣產山椒魚胃內容物獵物數量組成	87
圖 4-1、南湖山椒魚 mMRI 影像.....	97
圖 4-2、楚南氏山椒魚 mMRI 影像.....	97
圖 4-3、阿里山山椒魚 mMRI 影像.....	98
圖 4-4、觀霧山椒魚 mMRI 影像.....	99
圖 4-5、臺灣山椒魚 mMRI 影像.....	100
圖 4-6、臺灣產山椒魚的生殖腺形態變化.....	101
圖 4-7、阿里山山椒魚與觀霧山椒魚生殖腺.....	102
圖 4-8、觀霧山椒魚全身骨骼 micro CT 影像.....	103
圖 4-9、五種山椒魚的頭骨形態	104
圖 4-10、臺灣山椒魚的中軸骨側面圖.....	105

圖 4-11、山椒魚的右前肢	105
圖 4-12、不同種山椒魚的左後肢	106
圖 4-13、四隻阿里山山椒魚的左後肢比較	106
圖 5-1、NCBI 資料庫之蠓螞壺菌 ITS 區域序列與陽性對照組序列差異	109
圖 5-2、蠓螞壺菌 PCR 反應陽性對照組質體圖譜	109
圖 5-3、蠓螞壺菌 PCR 陽性對照組反應條件測試	109
圖 6-1、山椒魚人工圈養箱設計圖	114
圖 6-2、棲地圈養環境與設施	114
圖 6-3、棲地圈養山椒魚之活動模式	115
圖 6-4、圈養箱中山椒魚活動模式與繁殖行為觀察	116
圖 6-5、棲地圈養觀霧山椒魚幼態時期生活史	117
圖 6-6、在玉山國家公園塔塔加圈養之阿里山山椒魚卵孵化過程	118
圖 6-7、2022 年 3 月在合歡山調察到臺灣山椒魚在繁殖地產下 7 叢卵串	119
圖 7-1、楚南氏山椒魚卵發育過程	125
圖 7-2、臺灣山椒魚卵發育過程	126
圖 7-3、2020 年與 2021 年合歡山產卵地點	127
圖 8-1、臺灣產山椒魚粒線體細胞色素 b 基因核苷酸全長序列親緣關係樹	134
圖 8-2、丹大至六順山一帶調查到之山椒魚	137
圖 8-3、以 Mantel test 分析距離效應之散布圖	138
圖 9-1、微衛星標記 PCR 反應與種間多型性測試	146
圖 9-2、以微衛星標記進行山椒魚種間分派檢定	146

摘要

臺灣的五種特有種山椒魚都棲息在海拔 1500 公尺以上的山區高山溪流源頭，棲地呈現不連續的小族群分佈。屬於分布於亞熱帶的冰河孑遺生物，臺灣的山椒魚對氣候環境敏感，易於受外界環境改變的衝擊而備受威脅。研究山椒魚於高海拔的族群分布與遺傳演化歷史，可佐證環境變遷。觀霧山椒魚、南湖山椒魚、臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚被行政院農業委員會野生動物保護法列於一級保育類動物(瀕臨絕種動物)；阿里山山椒魚依野生動物保護法列於二級保育類動物(珍貴稀有保育類野生動物)。過去對於五種山椒魚的研究皆由各國家公園進行個別研究，沒有進行系統性的整合研究。因此，本計畫針對三個高山型國家公園進行臺灣五種山椒魚跨區域的棲地分布、遺傳結構與生態學調查整合型計畫。

本計劃(一)完成全臺山椒魚的分布範圍及海拔區間調查，建立三年螢光埋植彈性標記的標放資料，提供未來監測族群及個體的長期辨識方法。(二)收集五種山椒魚在族群監測樣區的微棲地環境資料，各樣區皆以有蘚苔生長的石頭為主要覆蓋物。底質以單純腐質土為主。僅畢祿林道的南湖山椒魚以帶碎石的腐質土為主要利用的底質。(三)由胃內容物分析山椒魚的食性，皆以昆蟲綱鞘翅目、雙翅目為最主要的獵物種類。在昆蟲綱之外，五種山椒魚次要獵物的種類比例不同。由畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成可得知其組成有季節變化。昆蟲綱獵物在夏季消費較多菊虎科幼蟲及隱翅蟲的成蟲。(四)建立使用 mMRI 以非侵入性方式鑑定山椒魚性別的方法，取得五種山椒魚雄性及雌性生殖腺的影像資料，確認阿里山山椒魚與南湖山椒魚和小鮎科其他物種同樣會隨時間改變生殖腺的形態。(五)建立以 mCT 取得山椒魚骨骼醫學影像的流程，描述臺灣五種山椒魚的硬骨差異，其中四種山椒魚在頭骨骨骼間的開孔程度存在些許差異，其餘的骨骼形態在種內的變異相當常見。(五)以 PCR 檢測兩棲類壺菌，並未確認到蛙壺菌症或蠓螈壺菌症在臺灣的山椒魚族群中流行的跡象。(六)以直接觀察結合工業內視鏡方法完成野外楚南氏山椒魚及臺灣山椒魚卵的孵化過程記錄。孵化過

程中，生殖微棲所的水棲昆蟲如石蠶蛾的稚蟲、大蚊稚蟲以及龍蟲的成蟲可能為山椒魚胚胎、蝌蚪幼體的潛在天敵。(七) 建立觀霧山椒魚及阿里山山椒魚人工圈養環境，於繁殖箱內記錄到觀霧山椒魚及阿里山山椒魚卵的孵化過程、觀霧山椒魚由卵孵化自變態為陸棲形態的過程。(八) 完成臺灣的山椒魚的粒線體親緣地理分析，發現臺灣的山椒魚各種內可進一步區分出數個遺傳類群，分布於特定的地理範圍。水系及長距離亦為影響山椒魚遺傳差異的其中一個因素。(九) 完成山椒魚的轉錄體定序，開發 15 組表現標記微衛星標記於分派檢定下可成功區分臺灣的 5 種山椒魚。(十) 完成山椒魚生態解說網站架構。

本計劃建議在太魯閣國家公園 820 林道 (0-8 公里)、南湖圈谷；雪霸國家公園巨木步道、榛山步道與大雪山 230 林道 (0-5 公里)；玉山國家公園：玉山林道與神木林道等地點設立永久調查樣區或樣線，以本計劃建立之標準調查流程及資料分析方法進行族群的長期監測、棲地地表無脊椎動物相的調查分析來評估山椒魚的棲地品質變化。為能進一步的推廣山椒魚保育技術，本計劃在觀霧工作站與塔塔加管理站進行域內棲地圈養繁殖的經驗可與臺北市立動物園進行域外異地圈養繁殖計畫。因臺灣的山椒魚研究歷經百年，目前國際間團隊依舊相互合作。建議尋找合適媒體影像製作團隊，製作科普解說素材。發揮計劃成果價值。

第一章 緒論

第一節 計畫緣由

【雪霸國家公園】

依據過去的研究，雪霸國家公園有觀霧山椒魚與臺灣山椒魚，分佈在雪霸國家公園中的山椒魚有三大特色：第一是雪霸國家公園是觀霧山椒魚重要的棲地，觀霧山椒魚是臺灣分佈海拔最低的山椒魚，且觀霧山椒魚與亞洲大陸及日本山椒魚之遺傳距離最近。第二個的特色是雪霸國家公園是臺灣山椒魚分佈在雪山山脈最北側的棲地。臺灣山椒魚與觀霧山椒魚在園區內分布相鄰，釐清交界族群的遺傳結構，則有利於探討臺灣山椒魚與觀霧山椒魚遺傳分化的親緣地理學機制。故雪霸國家公園內的兩種山椒魚極適合做為研究臺灣的山椒魚分子演化歷程。根據呂光洋老師團隊「觀霧山椒魚 (*Hynobius fuca*) 之分布及棲息地的調查」調查結果顯示雪霸國家內山椒魚有觀霧山椒魚、臺灣山椒魚，雪山翠池亦可能有南湖山椒魚。但雪山翠池的南湖山椒魚缺乏遺傳證據，故有進一步釐清的必要。若要了解園區內山椒魚的演化歷史與保育方向需要對園區做更廣泛、深入且持續的調查研究，因此有必要的進行雪霸國家公園內更有系統性的山椒魚分佈調查研究、棲地偏好環境因子收集與保育醫學研究。研究了解雪霸國家山椒魚族群遺傳結構、造成遺傳分化的親緣地理因子可以了解過去族群動態變化與地景間的關係。

【太魯閣國家公園】

分佈在太魯閣國家公園中的山椒魚有三大特色。第一是種物種多樣性最高，包括臺灣、南湖與楚南氏三種山椒魚，而太魯閣園區恰為這些山椒魚分布的交會點，是作為山椒魚演化研究不可或缺的場域。第二個的特色是這幾種山椒魚在分布上有鄰域及特定地區兩種共域分布的現象，非常適合探討這些山椒魚遺傳分化甚至雜交。根據過去調查結果，太魯閣國家內臺灣山椒魚的棲地分布從南湖大山至能高。南湖山椒魚棲地分佈在南湖中央尖大山與畢祿山山區，族群數量極少與臺灣山椒魚有鄰域分布的現象。楚南氏山椒魚也分佈在合歡山、奇萊與磐石等高

山溪流源頭與臺灣山椒魚有鄰域分布的現象。2016 至 2018 年已對園區做廣泛的調查研究，同時進行太魯閣山椒魚偏好的棲地環境因子收集。2018 年研究了解太魯閣國家山椒魚族群粒線體遺傳結構；利用微電腦斷層造影技術已建立獲得山椒魚的骨骼形態學技術，但因無法進行公母辨別，故無法有效運用在分類上。2018 年亦建立監測危害兩棲類甚巨的蛙壺菌的技術，建立山椒魚健康監測與獲取生理學資訊技術。未來（2020 年-2022 年），持續地進行族群分佈調查與監測是首要工作。另外建立臺灣的山椒魚專屬的微衛星標記，進行不同族群是否有基因交流或雜交分析。另外，評估是否可以結合核磁共振技術（MRI）與內視鏡技術進行山椒魚的公母鑒別。目前對於園區內山椒魚的生活史的了解亦相當缺乏。

【玉山國家公園】

玉山國家公園是阿里山山椒魚主要棲地，具有二大特色。第一，阿里山山椒魚為小鮭屬下分佈最南端的山椒魚。第二個的特色是阿里山山椒魚是臺灣的山椒魚分佈面積與分佈海拔最廣的山椒魚，非常適合探討造成山椒魚在不同海拔遺傳分化的生態學或親緣地理學機制。

根據呂光洋老師與賴俊祥老師至 2008 年調查結果，阿里山山椒魚的棲地分布從海拔 2000 公尺至 3600 公尺。身體顏色斑紋變異不大。2008 年呂老師團隊亦對玉山國家公園內塔塔加、石山服務站、排雲山莊、圓峰山屋、神木林道與自忠步道（特富野步道）等特定地區進行山椒魚調查。另外，對於阿里山山椒魚的親緣地理、保育醫學、微棲地氣候資料收集與生活史亦沒有研究資料。2008 年的調查至今已屆十年，沒有針對玉山國家公園園區內阿里山山椒魚再次進行調查。若要了解園區內玉山國家公園內山椒魚的演化歷史與提供保育方向需要對園區做更廣泛、深入且持續的調查研究。

第二節 計畫目標

跨域整合計畫目標：

- 一、建構臺灣的山椒魚在國家公園內棲地分佈地圖。
- 二、收集分析臺灣五種山椒魚的微棲地資訊，包括遮蔽物、遮覆物與底質資訊。
- 三、建構臺灣五種山椒魚親緣地理關係。
- 四、進行臺灣五種山椒魚的食性分析，作為生活史研究的基礎資料。
- 五、利用醫學影像技術建立與分析臺灣五種山椒魚的骨骼影像與生殖系統，作為遺傳分類與生活史的依據。
- 六、進行臺灣五種山椒魚的保育醫學研究，如蛙壺菌與蠚蝨壺菌感染監測。
- 七、進行域內 (*in situ*) 人工圈養研究，收集臺灣至少兩種山椒魚生活史資料。
- 八、在三個國家公園山椒魚研究熱點進行山椒魚孵化時期生存威脅評估。
- 九、架設臺灣 5 種山椒魚之生態解說網頁。

逐年計畫目標：

一、109 年目標

1. 調查樣線與遺傳樣本收集：

【雪霸及周邊地區】大霸尖山地區、雪山地區、大雪山地區，觀霧地區，
嘉平林道；

【玉山及周邊地區】玉山群峰，塔塔加，中央山脈南段地區(南二段為主)；

【太魯閣】北二段地區，南湖群峰，合歡山地區

2. 在山椒魚熱點，於 3 月至 9 月間，每 3 個月進行軟性螢光標放。預做山椒魚食性分析。各個國家公園熱點如下：

【雪霸】巨木步道；

【玉山及周邊地區】神木林道；

【太魯閣】820 林道。

3. 保育醫學監測：建立蠚蝨壺菌監測方法。

4. 建立山椒魚骨骼影像、卵巢、輸精管影像及外生殖器影像的醫學成像技術。

5. 設計山椒魚養殖箱，並於 110 年 2-3 月開始進行山椒魚圈養。
6. 完成山椒魚轉錄體 (transcriptome) 的序列分析。

二、110 年目標

1. 調查樣線與遺傳樣本收集：

【雪霸及周邊地區】聖稜與武陵四秀地區，觀霧地區、大雪山地區、北插天山至南插天山地區；【玉山及周邊地區】中央山脈南段地區(南一段為主)，馬博橫斷，南橫三星地區，塔塔加，北大武地區；【太魯閣】南湖山區，合歡山地區。

2. 在山椒魚熱點，於 3 月至 10 月間，每 3 個月進行軟性螢光標放、排遺與胃內含物樣本收集，每種山椒魚預計收集 15 隻個體食性樣本。各個國家公園熱點：【雪霸】巨木步道；【玉山及周邊地區】神木林道；【太魯閣】820 林道。
3. 保育醫學監測：完成每種山椒魚各 30 隻之呼吸、心跳、體溫與蛙壺菌 SWAB 與檢測。
4. 建立阿里山山椒魚與觀霧山椒魚骨骼形態資料。
5. 建立楚南氏山椒魚、臺灣山椒魚與南湖山椒魚的卵巢、輸精管 MRI 形態資料。
6. 在三個國家公園山椒魚研究熱點進行山椒魚孵化時期生存威脅評估。
7. 於 9 月至隔年 3 月在棲地養殖箱中進行人工圈養研究與資料收集。
8. 提供山椒魚生態解說網站的架構。

三、111 年目標

1. 調查樣線與遺傳樣本收集：

【雪霸】雪見地區，塔克金溪上游，觀霧地區、大雪山地區；

【玉山及周邊地區】中央山脈南段地區(南三段為主)，新康橫斷，雙龍林道，塔塔加地區；

【太魯閣】南湖群峰，合歡山地區。

2. 完成五種山椒魚之食性分析。
3. 保育醫學監測：完成每種山椒魚各 30 隻蠚螯壺菌 SWAB 與檢測。
4. 建立五種山椒魚骨骼形態資料。
5. 完成阿里山山椒魚與觀霧山椒魚的卵巢、輸精管 MRI 形態資料，提供一個鑑定公母性別的方法。
6. 完成山椒魚親緣地理與遺傳結構分析。
7. 完成 2 種山椒魚孵化時期生存威脅評估。
8. 提供兩種山椒魚從卵至孵化的生活史研究資料。
9. 架設山椒魚生態解說網站，強化與推廣山椒魚保育之重要性。

第三節 前人研究

一、氣候動盪與地形交互作用形塑現今臺灣生物遺傳

面對氣候動盪 (climate oscillation)，物種會遷徙至適合棲地。高海拔山區物種，氣候暖化或間冰期時，退居在高海拔山區而產生遺傳分化，而後在再次的冰期，這些高海拔物種擴展至低海拔再次與其他物種接觸，甚至雜交。這樣的例子普遍發生在高山植物或高山動物 (Morueta-Holme *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2016; Stewart *et al.*, 2016)。臺灣屬高山島嶼，海拔 3,000 公尺以上的高山更達 268 座以上，垂直的海拔造就不同氣候帶，孕育多樣的植群與動物相。在動物地理學 (zoogeography)，陡峭山脈往往形成族群遺傳交流的障礙，進而產生動物遺傳分化，因此臺灣適合探討生物的遺傳結構如何受到山脈地形與氣候動盪的交互影響。反過來，研究特定動物的親緣地理、遺傳結構、族群變動歷史與基因交流，可以追溯過去的氣候動盪與地形的交互作用。

近年來，結合親緣地理學、共祖理論推論過去族群歷史數量變動與分子時鐘運算軟體的推論，可獲得冰河時期避難所 (refugium) 的位置，以及回暖期時可能的再拓殖 (recolonization) 路徑等等演化歷史 (evolutionary

history) 資訊 (Schneider *et al.*, 1998; Riddle *et al.*, 2001)。過去十年來對於臺灣生物的親緣地理學研究數量增加很多，以脊椎動物為例，有哺乳類的赤腹松鼠 (*Callosciurus erythraeus*) (Oshida *et al.*, 2006)；兩生類的梭德氏蛙 (*Rana sauteri*) (陳, 1994)、莫氏樹蛙 (*Rhacophorus moletrechti*) (葉, 1997)、澤蛙 (*Rana limnocharis*) (Toda *et al.*, 1998) 及拉都希氏蛙 (*Sylvirana latouchii*) (Jang-Liaw *et al.*, 2008)、褐樹蛙 (*Buergeria robusta*) (Lin *et al.*, 2012)；爬蟲類的斯文豪氏攀蜥 (*Japalura swinhonis*) (劉, 1994)、淡水魚類的高體鱒 (*Rhodeus ocellatus*)、革條副鱒 (*Tanakia himantegus*)、羅漢魚 (*Pseudorasbora parva*)、菊池氏細鯽 (*Aphyocypris kikuchii*) (Lin *et al.*, 2008)、何氏棘魮 (*Spinibarbus hollandi*) 與臺灣白甲魚 (*Onychostoma barbatulus*) (繁, 2001)。這些研究多以廣泛分布於臺灣全島的物種作為模式生物，探討中央山脈如何造成生物在臺灣東西部的分化。至於臺灣高海拔的生物，尤其是動物如何受到氣候與山脈阻隔而影響遺傳結構的研究仍是相當缺乏，如脊椎動物中臺灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*) (郭, 2002) 及短尾鮡 (*Anourosorex squamipes*) (袁, 2003)。但這些物種只在臺灣只有到亞種分群，不似臺灣產山椒魚在臺灣就有五個特有種。

二、小鯢屬山椒魚 (*Hynobius*) 適合作為研究氣候動盪與高山地形交互作用形塑物種遺傳結構

有尾兩棲類 (Caudata) 提供了檢測生物地理障礙對生物的影響一個很好的系統，其理由如下：(1) 為古老的類群，例如在北美洲有尾兩棲類已經存在了 4,000 萬年；(2) 他們定棲性很強，其活動範圍是脊椎動物中已知最小的 (小於 10 m)；(3) 某些種類分布非常侷限，對於找出特有性區域是非常有價值；而一些物種的地理分布則非常廣，提供檢驗大範圍地理區域的生物親緣地理故事。如 Martinez-Solano *et al.* (2007) 以蜥尾螈 (*Batrachoseps attenuates*) 來探討北美洲西部生物分布的主要障礙。

2016 年，Matsunami *et al.* 團隊提出小鯢屬山椒魚 (*Hynobius*) 符合上

述條件，因為其擴散速度緩慢，限制基因交流能力。Pereira *et al.* (2016) 利用能適應歐洲高緯度的 fire salamander 作為動物模式，探討冰期與間冰期氣候變遷與陡峭高山造就間冰期不同 fire salamander 族群被隔離在高海拔山頂而遺傳分化，而在間冰期期間不同族群再次擴張接觸、進而雜交增加基因多樣性與環境適應力，成為演化適應一個特殊的例子。至於，臺灣產山椒魚是否也會採類似的演化模式去適應高山地形與氣候，值得探討研究。

三、臺灣產山椒魚的遺傳分類、分布與棲地界限

山椒魚又稱為小鯢，為兩生綱 (Amphibia) 有尾目 (Caudata) 小鯢科 (Hynobiidae) 中的小鯢屬。小鯢屬分布包括中國中部 (貴州、湖南、福建、浙江等省)、東北亞 (中國東北、韓國及日本) 及臺灣，臺灣是其分布的最南界。山椒魚在生理上無法適應較高的溫度，其繁殖季介於冬天與春天之際；利用雪融的緩慢水流當繁殖的場所，因此小鯢屬大部分分布在溫帶地區，而亞熱帶的臺灣是牠分布的最南界。推測臺灣的山椒魚於某個冰河期時播遷到臺灣，當冰河退卻後，遷移至臺灣溫帶氣候的高山而隔離保留下來。而關於牠們的種類多樣性，Lai and Lue (2008) 的研究中已確認臺灣共有 5 種山椒魚，分別是觀霧山椒魚 (*Hynobius fuca*)、臺灣山椒魚 (*H. formosanus*)、楚南氏山椒魚 (*H. sonani*)、南湖山椒魚 (*H. glacialis*) 與阿里山山椒魚 (*H. arisanensis*)。觀霧山椒魚棲地分布在雪山山脈的西北地區至北橫，其分布海拔在 1,300 至 2,300 公尺 (呂與賴, 2010)；臺灣山椒魚在臺灣的分布較廣，包括了中央山脈能高安東軍以北至南湖中央尖及雪山山脈，然而每個地點的族群量不多，且族群之間在體色與斑紋上呈現極大的變異，其分布海拔在 2,300 至 2,900 公尺 (李等, 2016)。楚南氏山椒魚僅分布在合歡山、奇萊山、奇萊東稜與能高北部南華山一帶，其分布海拔在 2,600 至 3,100 公尺。而南湖山椒魚也只分佈南湖大山、中央尖山至碧祿山，其分布海拔在 3,200 至 3,400 公尺 (李等, 2016；朱等, 2019)。阿里山山椒魚則分布在中央山脈丹大山以南海拔 1,800 公尺至 3,600 公尺的山區 (李

等，2016)。結合呂光洋老師與賴俊祥老師與我們過去的研究，臺灣五種的山椒魚分布如圖一。

四、臺灣產山椒魚的分子遺傳學研究現況

為了釐清臺灣山椒魚、南湖山椒魚與楚南氏山椒魚的族群遺傳結構與演化歷史研究，我們研究團隊結合賴俊祥老師收集的山椒魚遺傳樣本，更擴大到太魯閣國家公園以外地區進行山椒魚的調查研究，包括大肚溪上游（北港河流域、關谷紅香）的山椒魚族群調查；大甲溪、濁水溪、南湖溪及木瓜溪等溪流上游的山椒魚棲地調查。所有的樣本，經 DNA 分析發現臺灣山椒魚有 26 個 *cytochrome b* 單套型 (haplotype)；南湖山椒魚 10 個單套型；楚南氏山椒魚共 30 個單套型。

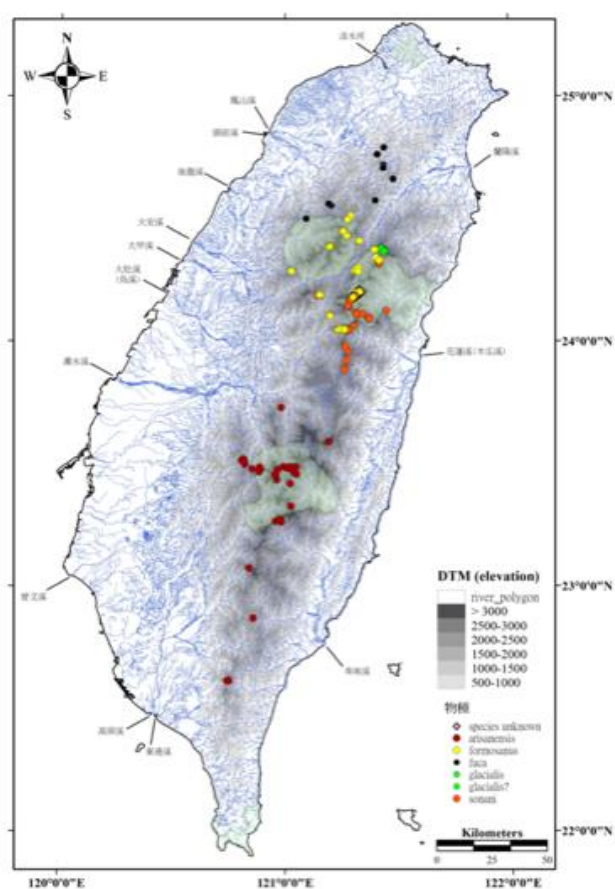
結合過去所獲得的山椒魚粒線體 *cytochrome b* 全長序列 (1,141 bp) 共 74 個單套型，結合過去所得阿里山山椒魚序列，另以 NCBI 網站公布之東北小鮎 (*Hynobius leechii*)、中國小鮎 (*Hynobius chinensis*)、安吉小鮎 (*Hynobius amjiensis*)、*Hynobius tokyoensis* 與 *Hynobius nebulosus* 等東亞地區及日本等地的山椒魚 *cytochrome b* 序列做為外群，以最大似然法建構親緣關係樹。觀霧山椒魚因缺乏 *cytochrome b* 全長序列資料，故未納入親緣關係樹的建構。

遺傳親緣關係分析（不包含觀霧山椒魚）顯示，可分為 5 個大類群 (Clade)（圖二）：由上至下分別為楚南氏山椒魚（紅色分支）、阿里山山椒魚（淺綠色分支）、白姑大山南湖賴氏族群（紫色分支）、南湖山椒魚（橘色分支）及臺灣山椒魚（藍色分支）。臺灣山椒魚可以再分出（1）南湖大山族群（南湖溪、中央尖溪）（圖二 F-I）；（2）雪霸國家公園族群（志樂溪、大安溪及淡水河）（圖二 F-II）；（3）730 林道耳無溪族群（圖二 F-III）；與（4）合歡山碧綠溪、能高族群（合歡溪、大肚溪、濁水溪）（圖二 F-IV）等 4 種次類群。

2018 至 2019 年研究顯示南湖山椒魚的分布除在南湖大山與中央尖山

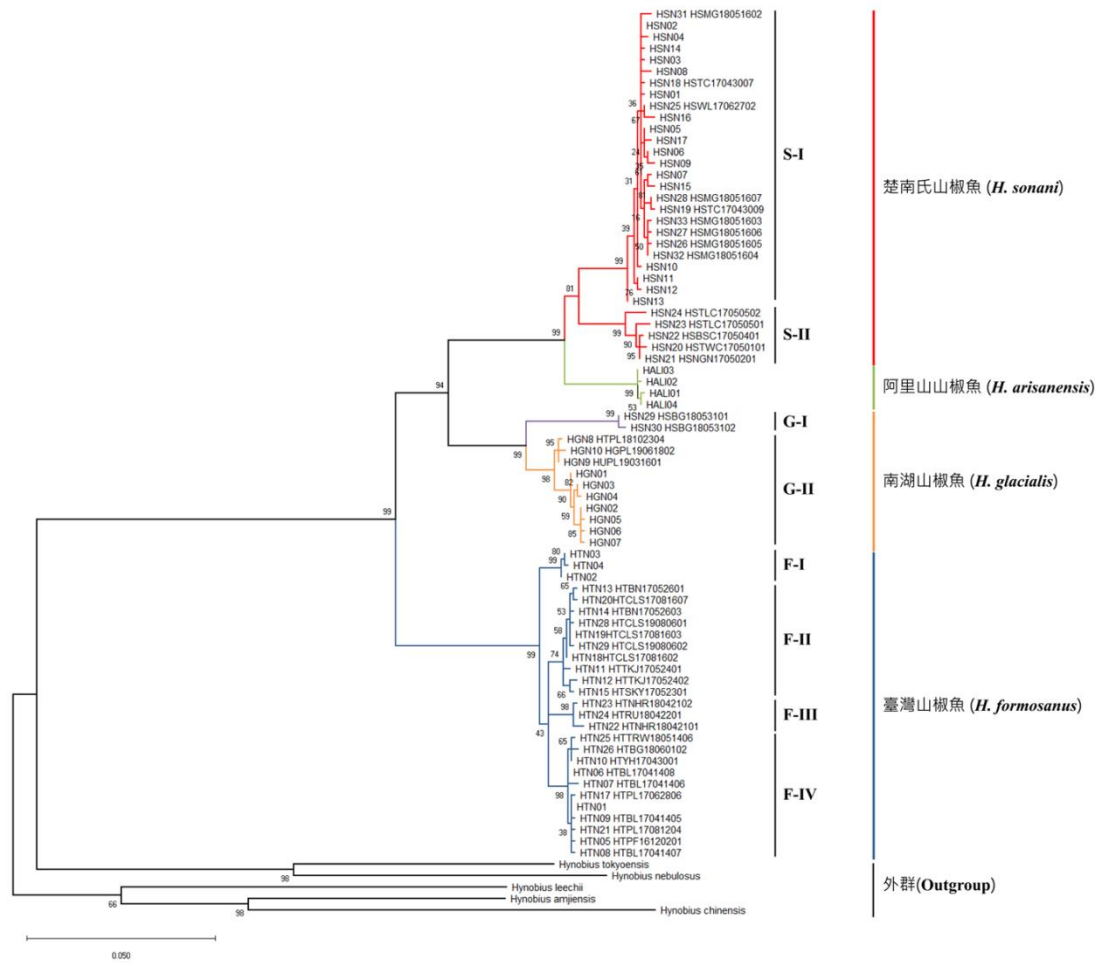
外，畢祿山亦有分布。依太魯閣國家公園的地景，推測南湖山椒魚的分布應該從南湖大山、中央尖山、甘藷峰、無明山、鈴鳴山一直到畢祿山皆有分布。另外，也在白姑大山調查到類似南湖山椒魚的新族群，遺傳分類地位尚需進一步研究。

調查結果顯示，臺灣的山椒魚的分佈尚需更有系統的調查。另外，未來還是有可能發現新種，因此需要更仔細的調查亦有必要。



圖一、臺灣五種山椒魚的地理分布圖

黑色圓圈表觀霧山椒魚、黃色圓圈表臺灣山椒魚、綠色圓圈表南湖山椒魚、橘色圓圈表楚南氏山椒魚、咖啡色圓圈表阿里山山椒魚。藍色細線表溪流（資料來源：朱，2018）。



圖二、臺灣產山椒魚粒線體細胞色素 b 基因全長序列親緣關係樹 (2018)

透過演化分析軟體 MEGA 10.0.5，以 Maximum Likelihood 法基於 General Time Reversible 核苷酸替代模型推演有最高 log likelihood 的演化樹所建構 (資料來源：朱，2018)。

五、臺灣的山椒魚棲地與基礎生理資料

微棲地的溫度與濕度的差異，顯著影響有尾兩棲動物的生理、生長、發育與繁殖 (Kukita *et al.*, 2015)。研究山椒魚棲地的環境因子與山椒魚的生理資料的交互作用，可以瞭解山椒魚在不同季節、不同發育時期與繁殖需求時的合適棲地條件 (Peterman and Semlitsch, 2013)。而不同棲地因子，如溫度與濕度會直接影響有尾兩棲動物的心跳、體溫等等生理條件 (Catenazzi, 2016)。過去，臺灣的山椒魚研究都集中在棲地溫度、濕度與光照的收集，但卻忽略對於山椒魚基礎體溫、心跳與呼吸資料的收集。2018 至 2019 年我們執行「太魯閣國家公園山椒魚棲地調查與族群遺傳結構研究」委託研究案，發現臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚與南湖山椒魚棲地的大氣溫度與濕度，在一天內變化極大，經統計分析，山椒魚被發現熱點與未曾發現山椒魚的臨近區域大氣的溫度與濕度並沒有顯著差異 (朱，2019)。因此，推測山椒魚棲地的大氣溫度與濕度並不是決定山椒魚棲地偏好的重要影響因子。考慮一般山椒魚會以土壤底下洞穴或地底伏流作為棲地，故未來會以監測有與沒有山椒魚棲地的土壤底下洞穴作為監測對象。

另外，建立山椒魚的生理資料，如與健康及緊迫 (stress) 有關的體溫、心跳與呼吸數據，有助於未來野外山椒魚與人工圈養下山椒魚的健康監測。2018 至 2019 年我們執行「太魯閣國家公園山椒魚棲地調查與族群遺傳結構研究」委託研究案我們已經獲得臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚與南湖山椒魚的體表體溫、呼吸、心跳量測記錄 (朱，2019)。也發現南湖山椒魚被麻醉後的體表體溫顯著的不同於其他兩種山椒魚；臺灣山椒魚麻醉後的心跳頻率也顯著的高於楚南氏山椒魚與南湖山椒魚。未來，我們也計畫進行阿里山與觀霧山椒魚之體表體溫、呼吸、心跳量測記錄。

六、疾病監測

蛙壺菌病 (chytridiomycosis) 是由蛙壺菌 (*Batrachochytrium dendrobatidis*, 簡稱 Bd) 所感染而導致的疾病。這疾病是在 1997 被發現，但 2015 年已有

42%的兩棲類物種被發現有感染，嚴重影響兩棲物動物的生存 (Zhu *et al.*, 2014)。蛙壺菌屬真菌 (fungus)，被寄生的兩棲類動物的腹部、後腿兩側皮膚會潮紅、腹部膨大。蛙壺菌對變態後敏感 (postmetamorphic susceptible) 兩棲類動物，蛙壺菌首先感染上皮細胞，造成角質化過度、電解質與滲透壓不平衡 (hyperkeratosis, electrolyte and osmotic imbalances)，導致死亡 (Zhu *et al.*, 2014)。溫度是影響蛙壺菌的重要因子，它生活的最適溫度為 4-25°C，溫度高於 30°C 或低於 4°C 皆可導致蛙壺菌死亡 (Bradley *et al.*, 2017)。臺灣的山椒魚棲地適合蛙壺菌生存。根據特生中心林春富研究員的標本檢測，1994 年及 2003 年的臺灣山椒魚 (*Hynobius formosanus*) 標本，以及 2001 年的阿里山山椒魚 (*Hynobius arisanensis*) 標本皆有檢測出蛙壺菌。

另外一種在危害兩棲動物的疾病為蠓螯壺菌 (*Batrachochytrium salamandrivorans*)，與蛙壺菌同屬，以危害溫帶地區兩棲動物著稱 (Martel *et al.*, 2013)。2018 至 2019 我們對太魯閣國家公園內山椒魚進行過蛙壺菌的監測，但未對蠓螯壺菌進行監控。未來，對分佈有山椒魚的國家公園的野外山椒魚進行蛙壺菌與蠓螯壺菌的監測實有必要。

七、山椒魚食性分析

有關小鯢屬 (*Hynobius*) 的食性研究目前有：日本的東京山椒魚 (*Hynobius tokyoensis*) 胃內以等足目 (Isopoda) 的氣肢蟲科 (Trachelipidae)、鼠婦科 (Porcellionidae) 兩科生物居多 (Ihara 1998)；而分佈於日本名古屋的霞山椒魚 (*Hynobius nebulosus*) 胃內則以寡毛類 (Oligochaeta) 為主 (Ihara and Fujitani 2005)。食性分析 (feeding habit) 不但可以了解山椒魚獵捕的食物，透過食性分析亦可了解這些獵物與棲地生態的關聯性。

臺灣的五種山椒魚的食性分析除南湖山椒魚外，其他四種皆有被研究過。臺灣研究山椒魚食性的文獻首推杜銘章和呂光洋 (1982) 解剖阿里山地區山椒魚的胃含物分析，不過樣本數僅有兩隻 (依 Lai and Lue 2008 的分類，該研究物種屬於阿里山山椒魚)，食性以等足目的鼠婦居多。陳世煌等 (1984)

進行臺灣產山椒魚(依 Lai and Lue 2008 的分類，該研究物種屬於阿里山山椒魚和南湖山椒魚)之生物學研究時，由胃部的解剖得知食性以昆蟲綱(Insecta)為主。林明杰(2007)進行了阿里山地區之山椒魚食性研究，以催吐法探討食性與棲地利用之間的關係，顯示阿里山山椒魚食性以節肢動物為主，包含鞘翅目(17%)、等足目(11%)、鱗翅目(10%)和蜘蛛目(9.3%)，且不同族群會因為棲地之差異而有不同的食性偏好。林春富等(2009)以排遺分析了楚南氏山椒魚的食性，結果發現 14 隻楚南氏山椒魚排遺中有 2 綱 8 目的節肢動物，以鞘翅目、蜘蛛目和雙翅目的數量最多(前 3 項占有動物隻次的 81%)。張立宜(2011)以催吐法探討了臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚食性與棲地利用的關係。中興大學吳聲海老師執行觀霧地區觀霧山椒魚研究時(歐辰雄等 2014)，以洗胃法分析了 91 隻觀霧山椒魚的食性，主要以蜈蚣、馬陸、蚯蚓、鞘翅目、雙翅目與鼠婦等為大宗，但未洗出任何東西的個體比率高達 73.6%；因此該研究也蒐集了山椒魚排遺 15 份，不過所分析的食性與洗胃法的食性略有差異，在 9 項獵物類群中，只有 3 類是兩種方法共同採得的，因此該報告認為若要了解山椒魚的食性，並行洗胃法和排遺法才能獲得完整的資料。陳世煌(2010)重新檢視將近三十年前阿里山山椒魚標本的胃內含物，所得的食物項目包含最多的三類為雙翅目、鞘翅目和等腳類。歐辰雄等人(2014)亦以胃沖提法與排遺分析兩種方法研究觀霧山椒魚的胃內食物種類，發現包括蟬蟎目、鞘翅目、雙翅目、半翅目、膜翅目、蜈蚣、馬陸、蚯蚓與鼠婦。胃沖提法與排遺分析可以觀察到的獵物種類數量不一。

由以上的文獻資料可知，臺灣產的五種山椒魚中，阿里山山椒魚(*H. arisanensis*)的食性被研究的最詳細，其相關的研究樣本數及研究方法，整理如表一。

臺灣的山椒魚的棲地周遭常有溪流、潮濕的土地與位於針闊葉林及箭竹林的落葉底層。地面常有棲息於森林底層的鞘翅目(步行蟲科)、雙翅目與蜘蛛目等節肢動物。溪流旁為隱翅蟲目或水中的龍蟲等鞘翅目等生物。

雖然山椒魚的食物來自森林底層落葉層與腐植土的動物，不同種山椒魚對於獵物的體型或種類會有特定的偏好。如日本的東京山椒魚對特定獵物體型有不同的偏好 (Ihara 1998)；日本霞山山椒魚捕食高比例的倍足綱 (Doratodesmidae) 動物 (Matsui 2003)。臺灣的五種山椒魚，在食性上是否有特定偏好，至今尚無有相關研究。

表一、臺灣五種山椒魚過去的食性研究

作者 \ 方法及物種	方法	台灣	觀霧	阿里山	南湖	楚南氏
		(樣本數，不含空胃)				
杜銘章等，1982	解剖胃			2		
林明杰，2017	催吐			178		
林春富等，2009	排遺					14
陳世煌等，2010	解剖胃			18	5	
張立宜，2011	催吐	*				*
歐辰雄等，2014	催吐		24			
歐辰雄等，2014	排遺		15			
*待確認						

八、臺灣山椒魚生殖與生活史的研究

小鮡屬的山椒魚主要分佈在溫帶的東亞地區，其分佈的最南端位於臺灣 (Sato, 1943 年)，目前計有 52 種 (Frost, 2020 年)。目前臺灣共有五種山椒魚，由於它們生態上的隱性習性，少有物種在野外能被觀察到它們的生殖生態現象。過去有關臺灣產的山椒魚生殖生態學研究僅有三篇，其一為 Kakegawa 等人 (1989) 1985 年將採自松原的楚南氏山椒魚 (*Hynobius sonani*) 雌雄個體以絨毛膜促性腺激素(HCG)催熟後，成功各取得卵串；於翠峰 1988 年在野外找到 1 條卵串臺灣山椒魚(*Hynobius formosanus*)，並以同樣方法採集雌雄成體催熟後，再次各取得卵串資料，然後簡略描述了圈養條件下的楚南氏山椒魚和臺灣山椒魚的卵和幼體的發生過程。另一文章為呂光洋老師，在玉山國家公園內發現兩窩臺灣山椒魚(其點位依目前分類

應為阿里山山椒魚)剛變態幼體，並指出山椒魚可能有護幼的行為(呂光洋等 1992)。第三篇為莫斯科的學者採集臺灣山椒魚在實驗室內進行胚胎發育過程，以及成體的骨骼結構變化的比較(Vassilieva *et. al.*, 2015)，2008 年在台研究期間共採集了 12 窩的卵串，文章中對卵串中卵粒數量與形態也做了一些描述。

在山椒魚的生活史中，尤其是對生殖生態學的了解，是擬定山椒魚的保育策略時的重要參考依據。依過去零星的野外觀察顯示，楚南氏山椒魚以及臺灣山椒魚的產卵時間都集中在每年 2 到 3 月間。因此，本研究規劃在山椒魚繁殖季期間(約 2 到 6 月間)進行野外生殖生態學的研究。研究的項目包括野外山椒魚產卵數量、形態與棲地資料的建立；山椒魚胚胎發育的過程；山椒魚野外親代照顧現象等研究。另以骨骼鑑年齡法，研究山椒魚年齡結構，以建立更完整的生活史資料。

九、小鯢屬的性別鑑定與人工圈養

在臺灣，因為山椒魚屬保育類動物，尚未有團隊對山椒魚的公母辨別進行有系統的研究。而公母辨別無論在進行物種的分類或是進行生殖醫學保育、人工圈養皆有其重要性。近期，研究設備的發展精進，因此國外有些團隊利用核磁共振造影技術進行有尾目體內器官的觀察 (Sanches *et al.*, 2017)。有些團隊，利用小動物內視鏡，進行兩棲動物的性別判定 (Chai, 2015)。

日本有鑒於氣候變遷與山椒魚棲地環境惡化，近年積極的進行山椒魚人工圈養研究，並且也獲得相當進展 (Fukuta *et al.*, 2019)。他們的研究顯示養殖箱內水流、砂粒、產卵場所設置、水溫皆會影響山椒魚的產卵與否。過去，臺灣的研究團隊對已收集相當多的棲地環境資訊，包括溫度、濕度與光照。相信，在這些基礎下，進行人工圈養臺灣的山椒魚，進行更進一步的研究應該可以獲得相當的進展。

第二章 材料與方法

第一節 研究地區

本計畫涵蓋臺灣三個高山型國家公園，包括在雪山山脈的雪霸國家公園、中央山脈北段的太魯閣國家公園與中央山脈南段的玉山國家公園。研究的物種主要為臺灣的五種特有種山椒魚。雪霸國家公園範圍東起羅葉尾山，西迄東洗水山，南至宇羅尾山，北抵境界山，總面積達 76,547.08 公頃，橫跨新竹縣五峰鄉和尖石鄉、苗栗縣泰安鄉、臺中市和平區。太魯閣國家公園位於花蓮、臺中及南投三縣市境內，其範圍以立霧河流域、中部東西橫貫公路沿線及其外圍山區為主，面積共約 92,000 公頃。玉山國家公園位居臺灣中央地帶，園區跨越花蓮、高雄、南投、嘉義等四個縣市，地形概分為東埔山塊、玉山山塊及中央山塊三大區，亦為濁水溪、高屏溪及秀姑巒溪等溪流上游之重要集水區，園區面積 103,121.4 公頃。這三個國家公園高海拔地區植物相以高山針葉林、玉山箭竹矮灌叢等類群為主，林線以上具有大面積的高山草原，中海拔地區植物相極為豐富，以闊葉林及針闊葉混淆林為主（楊遠波及徐國士 2004）。研究範圍如下：

一、雪霸國家公園：

109 至 111 年雪霸國家公園及周邊地區調查樣線包括：大霸群峰(包含東支線及西北稜)，雪山西稜，觀霧（包含巨木步道），大雪山，嘉平林道。聖稜，武陵四秀，南北插天山，北坑溪古道，喀拉業北稜，鹿場大山。

二、太魯閣國家公園：

109 至 111 年太魯閣國家公園及周邊地區調查樣線包括：北二段，南湖群峰，武嶺營區，820 林道，合歡溪步道，白姑大山。

三、玉山國家公園及周邊地區：

109 至 111 年玉山國家公園及周邊地區調查樣線包括玉山群峰，塔塔加（鹿林山及神木林道），南一段、南二段與南三段地區，馬博橫斷，南橫三星，新康橫斷，北大武，丹大山區，治茆山，阿里山。

第二節 研究方法

一、山椒魚的沿線調查與螢光標放

為瞭解山椒魚的壽命與族群量估算，我們進行樣線山椒魚的可見螢光埋植彈性標記（visible implant elastomer tags, VIE）標識。在樣區內以徒手方式翻開石頭或倒木找尋山椒魚，以pH 7.0之MS-222（Tricaine Methanesulfonate）麻醉，劑量 0.2 - 0.5 g/L 於幼體（larvae stage），0.8 - 1 g/L於成體，麻醉誘導時間低於5分鐘，成體依前述劑量可維持約25至45分鐘無翻正反射（righting-reflex）。麻醉期間依山椒魚分布調查記錄表（附件一）進行體型量測、拍照記錄個體外觀、採集表皮檢體SWAB與VIE-tag標識或標記，帶山椒魚清醒後於原捕獲地釋放。記錄的體型量測值取各種山椒魚前30%的各測量值進行ANOVA分析，比較不同山椒魚的體型差異。各個國家公園山椒魚分佈熱點如下：【雪霸】巨木步道；【玉山】神木林道；【太魯閣】820林道，熱點的監測頻度為每兩個月一次。

二、收集國家公園內山椒魚微棲地資訊，包括遮蔽物、遮覆物與底質資訊

以樣線沿線上有水源之處以徒手翻找地表物的方式尋找山椒魚。當找到山椒魚後，進行調查資訊、棲地資料及樣本採集之記錄（附件一）。

三、山椒魚的食性分析

為瞭解臺灣5種山椒魚的食性與提供圈養時的食物來源，山椒魚的食性研究結合排遺調查法與洗胃法（stomach flushing）。委由特有生物保育研究中心林春富研究員協助執行，分析方法詳見附件一。

四、利用醫學影像技術分析臺灣五種山椒魚的骨骼影像與生殖系統

為建立5種成體山椒魚的骨骼形態學（osteology）資料，以作為未來分類學的依據。山椒魚的公母鑒別也可能影響以形態學作為分類學的依據，也會影響山椒魚繁殖生理的研究。目前臺灣的山椒魚皆屬於保

育類動物，預計以核磁共振影像儀 (micro-MRI) 進行山椒魚公母鑒別，微電腦斷層造影 (micro-CT) 建立骨骼影像。醫學影像技術分析與生殖系統影像造影主要由臺灣大學獸醫學院余品奐助理教授協助執行，造影方法詳見附件一。

五、蛙壺菌與蠓蠟壺菌感染監測

為監測 3 個高山型國家公園的野生山椒魚是否感染壺菌症，以聚合酶鏈鎖反應偵測由山椒魚皮膚拭子所提取的總 DNA 內是否含有蛙壺菌或蠓蠟壺菌 5.8S 核糖體 DNA 片段。檢測方法詳見附件一。

六、進行域內 (in situ) 人工圈養研究，收集臺灣至少兩種山椒魚生活史資料

規劃於國家公園內建立適合山椒魚生存的人工圈養環境，並進行影像紀錄，以了解山椒魚其整個生殖過程。圈養環境設置及生活史觀察重點詳見附件一。

七、在三個國家公園山椒魚研究熱點進行野外山椒魚孵化時期生存威脅評估

氣候動盪對於山椒魚的生存有潛在的危機。山椒魚會在融雪後 2 月至 6 月產卵至緩流溪溝裏有水的岩石下。近年，暴雨或乾旱的氣候動盪可能威脅山椒魚受精卵的孵化。因此，本計劃預計找尋山椒魚的卵串，建立野外山椒魚產卵數量、形態與棲地資料。於每年山椒魚繁殖季 (每年 2 月至 6 月) 期間進行野外，當發現有產卵現象時，記錄卵及卵串數量、形態大小、發育階段，以及微棲(流水高度、流速)與巨棲環境(海拔、植被)等資料；定期以內視鏡或影像記錄器材記錄孵化過程，直到山椒魚卵孵化，幼體離開水體為止。以建立更完整的生殖生物學資料與獲得環境影響卵串孵化的因子。

八、建構臺灣五種山椒魚親緣地理關係

1. 基因組 DNA 萃取

本計畫所採集的尾部組織保存於 95%酒精中，以 Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA) 套組萃取基因組 DNA，以全波長光譜分析儀檢測濃度。實驗步驟詳見附件一。

2. 聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 擴增細胞色素 *b* 全長序列

擴增山椒魚粒線體細胞色素 *b* (cytochrome *b*, *cytb*) 全長序列，參考 NCBI 發表之臺灣山椒魚粒線體全長序列 (NC008084.1) 設計引子對，以 PCR 擴 *cytb* 全長 DNA 序列，在 1.2%瓊脂膠體/0.5X TBE 下分析反應產物。PCR 反應條件詳見附件一。

3. 粒線體細胞色素 *b* 全長序列分析

反應完成的 PCR 產物進行純化後以 DNA 定序儀進行序列定序。獲得的 DNA 序列經過序列分析軟體編輯、合併獲得粒線體細胞色素 *b* 全長序列後進行排序、比對，尋找核苷酸替代位點判定單套型。使用的分析軟體、器材與儀器詳見附件一。

4. 親緣關係樹繪製

獲得序列以演化分析軟體 MEGA 以具有最高 Likelihood 的核苷酸替代模型建構親緣關係樹，進行 1000 次靴帶式 (Bootstrap) 重複計算樹圖上各分支可信度。

5. 親緣地理分析

為了解山椒魚於水系的遺傳結構，利用 Arlequin 軟體進行分子遺傳變異分析 (Analysis of molecular variance, AMOVA)，估算所設定的地理區域 (水系) 間的遺傳變異程度 (variation among populations)，檢測水系間是否具有遺傳結構

利用 Mantel test 分析遺傳距離與地理距離之間的相關性來探討距離隔離效應 (isolation by distance, IBD) 是否存在。分析軟體及參數設置詳見附件一。

九、表現標記微衛星標記 (EST-SSR) 的建立與親緣鑑定

為更進一步地進行山椒魚的個體鑒別，驗證不同種山椒魚之間是否有基因交流，進行至少兩種山椒魚的轉錄體 (transcriptome) 定序，搜尋 EST-SSR 與設計引子擴增微衛星標記片段，檢測 EST-SSR 的訊息多樣性、分析微衛星基因座的鑒別能力，並進行族群哈溫平衡 (Hardy Weinberg equilibrium) 檢定與分派檢定。方法詳見附件一。

十、架設提供臺灣 5 種山椒魚之生態解說網頁

本研究第三年將根據過去的結果，提供一個專門介紹臺灣五種山椒魚的網頁。項目包括：1. 山椒魚的分類；2. 世界山椒魚的分佈；3. 臺灣的山椒魚地理與海拔分佈；4. 山椒魚的棲地特徵；5. 山椒魚的食性；6. 山椒魚的生理與繁殖；7. 山椒魚的生活史；8. 臺灣五種山椒魚的發現與研究歷史；9. 臺灣五種山椒魚的生存威脅。

第三章 結果與討論

一、 山椒魚的沿線調查與螢光標放

1. 山椒魚的沿線調查

研究計畫的調查期間自 2020 年 2 月至 2022 年 10 月，累計 865 筆山椒魚族群調查記錄（表 1-1）。

(1) 雪霸國家公園

在本年度計畫目標之調查區域雪山地區（聖稜線 O 型）、塔克金溪上游（品田山）、觀霧地區（巨木步道、樂山林道）、大雪山地區（大雪山林道鞍馬山、230 林道）皆調查到山椒魚分布。山椒魚的種類在雪山地區、塔克金溪上游及大雪山地區為臺灣山椒魚，觀霧地區為觀霧山椒魚。計畫全期於雪霸國家公園 230 林道、九九山莊、大南山西鞍、大鹿林道東支線、匹匹達水源、巴紗拉雲山屋、巨木步道、品田山、素密達斷崖、新達山屋及境界山東南鞍調查到臺灣山椒魚（圖 1-1、圖 1-6）；巨木步道、樂山林道、大鹿林道東支線及西支線調查到觀霧山椒魚（圖 1-1、圖 1-5）。

(2) 太魯閣國家公園

在本年度計畫目標之調查區域南湖群峰，於南湖南峰調查到新的族群，種類為南湖山椒魚。計畫全期於太魯閣國家公園調查範圍包含武嶺、合歡群峰（武嶺、小風口、松泉崗、820 林道）、北一段（舊雲稜山莊、香菇寮營地、南湖園谷、中央尖溪源頭及支流、審馬陣山、南湖南峰）、北二段（730 林道、遠多志山）（圖 1-2）。所記錄到的山椒魚物種有臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚及南湖山椒魚三種。北一段之舊雲稜山莊、香菇寮營地、中央尖溪支流，以及北二段地區調查到臺灣山椒魚（圖 1-6）；北一段之南湖園谷、中央尖溪源頭及支流、審馬陣山及南湖南峰調查到南湖山椒魚（圖 1-7）；武嶺、小風口記錄到楚南氏山椒魚（圖 1-

8)。其中，合歡山 820 林道為同時分布臺灣、楚南氏及南湖三種山椒魚的樣線。

(3) 玉山國家公園

在本年度目標之調查區域塔塔加地區，調查到之山椒魚種類皆為阿里山山椒魚。計畫全期於玉山國家公園調查範圍包含塔塔加（神木林道、玉山林道、鹿林山莊、鹿林小徑）、玉山圓峰、玉山南峰、南二段（拉庫音溪、轆轤谷山屋、塔芬谷山屋、大水窟山屋、南營地、巴奈伊克、八通關草原）、馬博拉斯橫斷（馬布谷、塔比拉斷崖前溪溝、馬利加南山）、南橫（塔關山、埡口林道）、荖濃溪營地樣區、南面山。玉山國家公園境內記錄到的山椒魚種類全為阿里山山椒魚（圖 1-3、圖 1-9）。

(4) 園區外之族群調查

為完善全臺山椒魚的分布界線，本計畫亦調查園區外山椒魚可能的棲息範圍，調查地區包含逐鹿山、北插天山、明池、棲蘭山、太平山、嘉平林道、羅山林道、720 林道（72 線林道）、塔班山、更孟山、瑞岩溪上游（台 14 甲 24.6K）、巒安堂、雙龍林道、馬路巴拉讓山、太平溪源、嘆息灣、新康橫斷（向陽山）、霧鹿林道、石山工作站、大鬼湖、北大武山區域的山椒魚族群。其中，逐鹿山、塔班山、更孟山、瑞岩溪上游、太平山為計畫執行期間新調查到的族群。

園區外之族群，於瑞岩溪上游記錄到楚南氏山椒魚；逐鹿山、北插天山、明池、棲蘭山、太平山、羅山林道調查到觀霧山椒魚；720 林道、塔班山、更孟山調查到臺灣山椒魚；巒安堂、雙龍林道、馬路巴拉讓山、太平溪源、嘆息灣、向陽、霧鹿林道、石山工作站、大鬼湖及北大武山記錄到阿里山山椒魚。嘉平林道未調查到山椒魚。

2. 全臺山椒魚分布調查結果

綜合計畫全期對全臺山椒魚分布調查的結果，更新全臺山椒魚的分布範圍：

觀霧山椒魚 觀霧山椒魚的分布範圍僅於台灣北部區域雪山山脈及中央山脈，南北方向的分布已知的最北界為卡保山，最南至雪霸國家公園大鹿林道西支線，主要沿雪山山脈北段海拔約 1,300-2,200 公尺中海拔山區。東西向分布最西側至樂山林道，最東側至中央山脈北段太平山一帶。

臺灣山椒魚 臺灣山椒魚分布範圍包含雪山山脈主脈、白姑山彙，以及中央山脈北段海拔 2,000-3,350 公尺的中高海拔地區，分布範圍北界自薩克亞金溪上游源頭區域，最南界至南華山能高越嶺古道一帶。在雪山山脈，臺灣山椒魚在主脈的兩側皆有族群分布，最北約在馬洋山，最南分布至鞍馬山，分布海拔約 2,400-3,350 公尺。臺灣山椒魚於中央山脈的分布僅位於山脈西側，北端起自舊雲稜山莊一帶，南端至太魯閣國家公園以南的南華山地區，於中央山脈的分布海拔約為 2,000-2,950 公尺。

南湖山椒魚 南湖山椒魚的分布地區集中於中央山脈北段，僅調查到三處已知且不連續的分布地，分別為中央山脈北段南湖大山（模式產地）、合歡山及白姑山彙三處。南湖山椒魚的分布海拔於中央山脈為 2,500-3,400 公尺；白姑山彙的族群分布海拔介於 2,400-2,500 公尺，為三個族群中最低者，亦為南湖山椒魚地理分布的最南界。

楚南氏山椒魚 楚南氏山椒魚分布於中央山脈的北段及中央山脈南段起始處，海拔 2,450-3,150 公尺的中高海拔山區，於中央山脈主脈的東西側皆有調查到族群分布。分布的北界於太魯閣地區北合歡，最南至關門山一帶。分布東界可達立霧主山，最西界至干卓萬山一帶。

阿里山山椒魚 阿里山山椒魚分布範圍包含阿里山山脈、玉山山脈及整個中央山脈南段的主稜，海拔高度 2,000-3,600 公尺的中高海拔山區。分布北界在玉山山脈北段支脈的西巒大山，南至中央山脈北大武山。東西向分布最西為阿里山山脈，最東至中央山脈東側盧利拉駱山。

3. 五種山椒魚的體型差異

分析五種（粒線體系譜）山椒魚吻肛長（snout-vent length, SVL）前 30%個體的 8 項形態量測值（表 1-2、圖 1-10），所有的量測值於種間具有顯著差異（Kruskal-Wallis test 或 One-way ANOVA p -value < 0.05 ）。以調查到的 SVL 前 30%作為成熟個體，使用 Dunn's test 進行多重比較的結果，可將臺灣的五種山椒魚的體型區分為 SVL 具有顯著差異的三個組別，以下以（1）大型、（2）中型與（3）小型代稱之。屬於大型體型者有南湖山椒魚與楚南氏山椒魚（SVL = 72.5 mm, IQR = 5.76 mm）。中型體型者有臺灣山椒魚與阿里山山椒魚，SVL = 67.0 mm (IQR = 3.86) 及 67.6 mm (IQR = 4.55)，屬於小型體型者僅觀霧山椒魚一種（SVL = 59.2 mm, IQR = 3.86）。

除 SVL 外，被歸類至大型體型的南湖山椒魚與楚南氏山椒魚，在其餘 7 項量測值兩者不具顯著差異。中等體型的阿里山與臺灣山椒魚，除花紋與趾式以外，在尾長（TL）、頭長（HL）、左前肢長（LFL）、左後肢長（LHL）、鼻間距（INS）有顯著差異。而觀霧山椒魚在其他 7 項量測值皆為五種山椒魚中最小者（ $p < 0.05$ ）。顯示觀霧山椒魚與其他四種臺灣的山椒魚在外觀花紋、體型以及形態上都有明顯的區別。

而在合歡山、白姑山彙、南湖山區等地區發現共域或臨域分布的臺灣山椒魚、南湖山椒魚與楚南氏山椒魚，除趾式可區分臺灣山椒魚與其他兩者外，三種山椒魚皆是屬於有斑紋的外觀形態。其中，臺灣山椒魚還有顯著較小的 8 項量測值可與南湖山椒魚或楚南氏山椒魚區別。

整體而言，臺灣的五種山椒魚屬於大型體型者（南湖山椒魚及楚南氏山椒魚），因趾式與花紋類似，若僅依靠形態量測值欲進行物種鑑別有其困難，還需納入分布地調查及遺傳分析的結果整合考量。

4. 軟性螢光標放

為瞭解山椒魚在原生棲地的壽命與長期族群量監測，於三座國家公園的指定樣線進行山椒魚的可見螢光埋植彈性標記 (VIE-tag) 標識，標放的頻率為 2 個月進行一次。

(1) 雪霸國家公園

雪霸國家公園指定標放樣區巨木步道完成 80 隻觀霧山椒魚的螢光標記埋植。全期 (2020 - 2022) 有 8 筆再捕捉紀錄，再捕捉率 8.79% (8/91)，再捕捉的平均間隔為 8.625 月，最長間隔為 24 個月，最短為 1 個月 (表 1-3)。

(2) 太魯閣國家公園

太魯閣國家公園 820 林道於 2020 至 2022 年累計完成 283 隻山椒魚的螢光標記埋植 (152 隻臺灣山椒魚、59 隻南湖山椒魚及 72 隻楚南氏山椒魚)。結合研究團隊自 2017 年起的標放資料，至 2022 年於 820 林道共累積 94 筆再捕捉紀錄，45 筆為臺灣山椒魚，10 筆為南湖山椒魚 (南湖山椒魚於 2018 年確認在 820 林道有族群分布，故僅有 2019-2022 期間的標放資料)，39 筆為楚南氏山椒魚。

全期 (2017-2022) 三種山椒魚的再捕捉率 (recapture rate) 為 13.02% (94/722)，臺灣山椒魚 11.51% (45/391)，南湖山椒魚 10.99% (10/91)，楚南氏山椒魚 16.25% (39/240)。三種山椒魚在 820 林道再捕捉的平均間隔時間為 11 個月 (表 1-4)，臺灣山椒魚為 13 個月，南湖山椒魚 11 個月，楚南氏山椒魚 9 個月，兩次捕捉紀錄的最長間隔為 62 個月 (臺灣山椒魚 BBBBO，2017/6/28 - 2022/8/29)，最短為 1 個月。

(3) 玉山國家公園

指定標放區神木林道完成 47 隻阿里山山椒魚的螢光標記埋植，全期 (2020 - 2022) 有 7 筆再捕捉紀錄，再捕捉率 12.73% (7/55)，再捕捉的平均間隔為 3 個月，最長間隔為 9 個月，最短為 2 個月 (表 1-5)。

(4) 由軟性螢光標記推算臺灣的山椒魚自然壽命

2020 年 7 月 3 日，團隊於玉山圓峰調查到一隻已被軟性螢光標記過的阿里山山椒魚（色標 GRYYN）（圖 1-11）。經查此個體應為呂光洋教授的研究團隊於 2009 至 2010 年進行「氣候暖化對玉山主峰附近山椒魚族群可能影響之探討和監測」計畫時所標放個體，依年份推算此個體在標記後已存活 10 年以上。

2022 年 8 月 29 日於畢祿林道再捕捉一筆臺灣山椒魚（色標 BBBBO），該個體為 2017 年 6 月 28 日由同樣之團隊所標記（表 1-4、圖 1-12），推算此個體在標記後又存活 62 個月（約 5 年），同樣之記錄於 820 林道的楚南氏山椒魚為 34 個月（2019/6/5-2022/4/27，約 3 年）（表 1-4）。

由再捕捉記錄所顯示野生阿里山山椒魚的自然壽命超過 10 年，臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚的自然壽命可達 4-5 年以上。捉放法的結果亦支持軟性螢光標記搭配相片記錄，可取代剪趾標記法作為山椒魚個體的長期辨識方法。

表 1-1、山椒魚族群分布與生態調查

調查日期	調查地點	操作
2020/2/26 -	神木林道、玉山林道	族群調查 (9 隻)、微棲地紀錄、VIE-tag 標記、遺傳樣本收集
2020/2/27		
2020/3/21 -	大鹿林道東支線	族群調查 (8 隻)、微棲地紀錄
2020/3/22		
2020/3/23	巨木步道	族群調查 (3 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/3/24 -	武嶺營區、820 林道	族群調查 (26 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集、卵串調查
2020/3/26		
2020/3/31	羅山林道	族群調查 (5 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/4/29 -	神木林道、玉山林道	山椒魚族群調查 (10 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/4/30		
2020/5/6	更孟山	族群調查 (7 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/5/9 -	巨木步道、大鹿林道	族群調查 (4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/5/10		
2020/5/25 -	大禹嶺、嘉平林道、松泉崗、武嶺營區、820 林道、翠峰	族群調查 (51 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集、卵串調查
2020/6/5		
2020/6/9 -	向陽、拉庫音溪、轆轤谷、塔芬谷、大水窟山屋、南營地、巴奈伊克、八通關草原	族群調查 (46 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/6/14		
2020/6/29 -	神木林道、鹿林山莊、玉山林道、鹿林小徑、玉山圓峰、荖濃溪	族群調查 (28 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/7/4		
2020/7/12 -	大南山西鞍、匹匹達、230 林道	族群調查 (7 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2020/7/15		
2020/7/18 -	玉山林道、鹿林山莊	族群調查 (4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2020/7/19		
2020/7/28	730 林道	族群調查 (1 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/8/1 -	遠多志山、820 林道	族群調查 (41 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/8/5		
2020/8/9 -	大鹿林道(東西支線)、巨木步道	族群調查 (14 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集
2020/8/11		食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/8/17 -	九九山莊水源、境界山東南鞍、境界山登山口、大鹿林道東支線	族群調查 (10 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/8/24		
2020/9/8 -	舊雲稜水源、南湖山屋、南湖下圈谷、中央尖溪源頭、中央尖溪支流、香菇寮	族群調查 (16 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/9/13		

調查日期	調查地點	操作
2020/9/16 -	神木林道、玉山林道	族群調查 (4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/9/17		
2020/10/6 -	820 林道	族群調查 (17 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2020/10/7		
2020/10/27	巨木步道、樂山林道	族群調查 (4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2020/11/24 -	武巔營區、820 林道、玉山林道、神木林道、巨木步道	族群調查 (18 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/11/30		
2021/2/18 -	巨木步道、逐鹿山	族群調查 (7 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2021/2/19		
2021/3/1	大禹嶺	族群調查 (1 隻)、微棲地紀錄
2021/3/15	北插天山	族群調查 (4 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/3/18 -	北大武山	族群調查 (10 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/3/19		
2021/3/21	神木林道、玉山林道	族群調查 (9 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/3/23 -	武巔營區、820 林道、台 14 線	族群調查(34 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/3/26		
2021/4/11 -	嘉平林道、巨木步道	族群調查(6 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/4/14		
2021/4/20	霧鹿林道	族群調查(8 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/5/1 -	雙龍林道、南橫(塔關山、大關山)	族群調查(11 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2021/5/4		
2021/5/16 -	神木林道、玉山林道	族群調查(9 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/5/17		
2021/5/18 -	武巔、820 林道、小風口	族群調查(26 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/5/20		
2021/6/20	巨木步道	族群調查(7 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/6/21 -	棲蘭山	族群調查(8 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2021/6/24		
2021/6/25 -	南湖山屋、審馬陣山屋、南湖溪源	族群調查(10 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2021/6/30		
2021/7/8	埡口林道、南橫(塔關山)	族群調查(3 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集、皮膚拭子收集
2021/7/16 -	素密達斷崖、巴紗拉雲山屋、品田山、720 林道、721 林道、新達山屋	族群調查(13 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/7/20		

調查日期	調查地點	操作
2021/7/26 -	武巔營區、820 林道	族群調查(37 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/7/27		
2021/7/29	神木林道、玉山林道	族群調查(11 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/8/11 -	200 林道、230 林道、231 林道、	族群調查(6 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集
2021/8/12		
2021/8/11 -	馬布谷、塔比拉、馬利加南東峰山	族群調查(24 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/8/17	屋、馬利加南山西鞍、嘆息灣、馬路巴拉讓西峰西鞍、太平溪源	
2021/8/27	巨木步道	族群調查(8 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2021/9/6 -	塔班山	族群調查(2 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集
2021/9/8		
2021/9/25 -	神木林道、玉山林道	族群調查(9 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2021/9/26		
2021/9/27 -	820 林道、武巔營區	族群調查(29 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2021/9/29		
2021/10/9	大關山隧道、埡口林道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2021/10/19	巨木步道	族群調查(5 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2021/10/24	大鬼湖	族群調查(3 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2021/11/21	巨木步道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2021/11/22 -	武巔營區、820 林道	族群調查(6 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集
2021/11/23		
2021/12/11	南橫埡口林道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2021/12/17	巨木步道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2021/12/30	樂山林道(白蘭部落水源)	族群調查(1 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2022/1/5 -	石山工作站	族群調查(11 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2022/1/6		
2022/2/6	巨木步道	族群調查(5 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2022/2/6	神木林道、玉山林道	族群調查(6 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2022/2/27 -	南面山	族群調查(6 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2022/2/28		
2022/3/6	南橫埡口林道	族群調查(2 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2022/3/8 -	820 林道	族群調查(17 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/3/9		

調查日期	調查地點	操作
2022/3/11	巨木步道	族群調查(8 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2022/3/13	明池	族群調查(1 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2022/4/1 -	關門山、關門北山	族群調查(14 隻)、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、皮膚拭子收集
2022/4/4		
2022/4/14 -	武巔生蛋池、神木林道、玉山林道、南橫埡口林道	族群調查(9 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、遺傳樣本收集、食性樣本收集
2022/4/16		
2022/4/25 -	820 林道	族群調查(31 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/4/27		
2022/5/4	太平山	族群調查(2 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、遺傳樣本收集
2022/5/5	巨木步道	族群調查(8 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/5/31	埡口林道	族群調查(8 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/6/13	巨木步道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、
2022/6/27 -	820 林道	族群調查(24 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/6/29		
2022/6/30 -	玉山林道、神木林道	族群調查(6 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2022/7/1		
2022/7/8	白姑大山	族群調查(3 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/8/1	巨木步道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2022/8/23	埡口林道	族群調查(2 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、食性樣本收集
2022/8/29 -	820 林道	族群調查(17 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、食性樣本收集、遺傳樣本收集
2022/8/30		
2022/9/1	神木林道	族群調查(2 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2022/9/14 -	南湖溪源頭、南湖南峰、南湖山屋	族群調查(5 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、遺傳樣本收集
2022/9/15		
2022/9/18	太平山	族群調查(1 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄、皮膚拭子收集、遺傳樣本收集
2022/9/19	巨木步道	族群調查(4 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄
2022/10/6	埡口林道	族群調查(9 隻)、VIE-tag 標記、微棲地紀錄

(本研究資料)

表 1-2、五種山椒魚的形態量測值。

Species	SVL				TL				HL				HW			
	N	Median	IQR		N	Median	IQR		N	Median	IQR		N	Mean	sd	
<i>H. fuca</i>	38	59.2	3.86	a	38	28.4	4.94	d	38	13.0	0.865	d	38	9.51	0.537	c
<i>H. formosanus</i>	138	67.0	4.14	b	138	41.4	6.06	c	138	15.0	1.09	c	138	10.5	0.821	b
<i>H. glacialis</i>	58	72.5	5.76	a	58	47.8	7.96	a	58	15.9	1.32	a	58	11.2	0.816	a
<i>H. sonani</i>	66	71.1	3.66	a	66	47.3	5.85	ab	66	15.8	1.12	a	66	11.0	0.792	a
<i>H. arisanensis</i>	83	67.6	4.55	b	83	45.0	7.23	b	83	15.3	1.17	b	83	10.3	0.658	b

Species	LFL				LHL				IOS			INS				
	N	Median	IQR		N	Median	IQR		N	Mean	sd		N	Mean	sd	
<i>H. fuca</i>	38	11.5	0.925	d	38	13.8	1.18	d	38	3.20	0.299	d	38	2.80	0.251	c
<i>H. formosanus</i>	70	13.2	1.16	c	70	16.0	1.74	c	66	3.44	0.315	c	68	3.28	0.324	b
<i>H. glacialis</i>	31	15.9	1.38	a	31	19.3	1.21	a	30	3.75	0.356	ab	31	3.66	0.333	a
<i>H. sonani</i>	41	15.6	1.58	ab	41	18.8	1.2	a	36	3.76	0.376	a	37	3.62	0.446	a
<i>H. arisanensis</i>	83	15.1	1.49	b	83	17.7	1.58	b	83	3.58	0.283	b	83	3.38	0.416	b

SVL 吻肛長，TL 尾長，HL 頭長，HW 頭寬，LFL 左前肢長，LHL 左後肢長，IOS 眼間距，INS 鼻間距。Mean 平均值，sd 標準差。Median 中位數，IQR 四分位距。

表 1-3、巨木步道再捕捉個體資訊。

紀錄	色標	日期	物種	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)							
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬
1	BGOPG	2020/8/10	<i>H. fuca</i>	-	2.85	2.65	12.41	14.20	54.93	28.14	12.52	8.52
		2022/8/1		24	2.99	2.59	12.17	13.55	58.68	30.15	12.22	9.09
2	BGRPN	2021/4/14	<i>H. fuca</i>	-	2.12	1.99	8.41	9.83	38.3	17.85	9.10	6.80
		2021/8/27		4	2.51	2.32	9.69	11.38	43.65	20.45	9.82	7.21
3	BGRPR	2021/4/14	<i>H. fuca</i>	-	3.19	2.48	11.45	13.62	56.11	24.73	13.25	9.59
		2022/5/5		13	2.88	2.55	11.55	13.91	57.72	24.50	12.77	10.07
4	BGYNY	2021/6/20	<i>H. fuca</i>	-	2.64	2.28	9.01	10.62	43.75	19.00	10.20	7.61
		2022/5/5		11	2.64	2.22	10.85	11.97	50.28	22.71	11.13	8.40
5	BNGNY	2021/8/27	<i>H. fuca</i>	-	2.76	2.19	9.26	10.84	46.05	19.06	10.13	8.25
		2022/5/5		9	2.58	2.22	8.99	11.88	48.68	22.42	10.83	8.86
6	BNNNG	2021/11/21	<i>H. fuca</i>	-	2.81	2.77	11.22	13.66	58.62	24.97	13.10	8.91
		2022/5/5		6	3.13	2.73	11.31	13.26	57.70	26.14	13.41	9.02
7	BNPBP	2022/5/5	<i>H. fuca</i>	-	3.25	2.86	10.40	13.03	57.03	31.28	12.49	9.20
		2022/6/13		1	3.35	2.91	11.36	13.66	57.31	33.28	12.81	9.61
8	BNPYO	2022/8/1	<i>H. fuca</i>	-	3.68	2.80	11.83	12.87	55.82	28.50	13.05	9.68
		2022/9/19		1	3.40	2.60	11.21	13.17	56.53	28.12	12.98	9.24

備註：於本計畫被捕捉時身上已有色標標記，但無法追溯最初標記日期的個體（如其他研究計畫標記的個體）不列入本表。

表 1-4、820 林道再捕捉個體資訊。

物種	記錄	色標	日期	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)								
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬	
<i>H. formosanus</i>	1	BBBBO	2017/6/28	-	-	-	-	-	-	68.37	45.66	15.20	10.88
			2022/8/29	62	3.65	3.11	13.94	16.55	69.22	38.76	15.38	9.73	
	2	BBBOP	2017/8/11	-	-	-	-	-	69.20	27.03	15.30	11.29	
			2018/6/9	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
			2019/3/15	-	-	-	-	-	62.31	32.61	14.04	12.08	
			2019/4/30	-	-	-	-	-	70.54	42.89	15.22	10.57	
			2019/4/30	-	-	-	-	-	70.11	29.89	14.14	10.93	
	3	BBBPP	2017/8/11	-	-	-	-	-	66.36	44.74	15.92	9.66	
			2018/6/9	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	4	BBBPR	2017/8/11	-	-	-	-	-	59.88	43.15	15.25	9.95	
			2017/12/7	4	-	-	-	-	60.07	38.02	10.05	7.55	
	5	BBBRB	2017/8/11	-	-	-	-	-	66.66	44.08	13.50	11.15	
			2018/6/9	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6	BBBYG	2017/8/12	-	-	-	-	-	63.53	39.46	12.55	9.38	
			2018/8/4	12	-	-	-	-	60.30	37.40	13.68	9.15	
	7	BBGOY	2018/3/7	-	-	-	-	-	66.52	42.21	15.68	10.90	
			2021/7/27	40	3.47	2.91	14.22	17.36	66.09	43.20	14.48	10.58	
			2018/3/7	-	-	-	-	-	65.70	41.36	14.72	10.56	
	8	BBGPB	2018/3/7	-	-	-	-	-	61.59	41.16	13.77	9.94	
			2018/4/13	1	-	-	-	-	70.18	45.25	14.30	10.12	
	9	BBGPG	2018/3/7	-	-	-	-	-	70.18	45.25	14.30	10.12	
			2022/8/30	53	3.89	3.30	15.00	17.59	71.35	47.56	15.72	10.45	
			2018/8/4	-	-	-	-	-	72.71	50.21	15.98	11.57	
	10	BBNRY	2019/10/4	14	3.82	3.67	14.36	18.08	73.46	48.92	16.17	10.59	
2020/3/25			5	3.21	3.53	13.40	17.50	72.75	49.67	14.47	10.97		
2018/8/4			-	-	-	-	-	70.40	44.32	5.13	10.58		
11	BBOBG	2019/6/4	10	-	-	-	-	68.80	44.60	14.58	10.02		
		2020/3/25	9	3.26	3.33	14.77	17.44	69.32	41.83	14.38	9.93		
		2018/10/23	-	-	-	-	-	49.05	29.51	10.38	7.56		
12	BBOPP	2020/6/3	20	2.79	2.93	13.01	14.79	57.19	35.18	12.78	8.64		
		2019/4/30	-	-	-	-	-	68.11	40.88	14.62	10.45		
13	BBPOP	2019/6/4	2	-	-	-	-	65.76	41.27	13.68	10.70		

高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查

物種	記錄	色標	日期	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)								
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬	
<i>H. formosanus</i>	14	BBPYY	2019/5/2	-	-	-	-	-	-	70.63	50.35	14.49	11.37
			2019/6/5	1	-	-	-	-	-	69.73	49.32	15.02	11.15
	15	BBRBR	2019/6/4	-	-	-	-	-	-	69.74	43.07	15.35	10.72
			2021/7/27	25	3.47	3.12	14.68	16.99	69.98	38.62	15.23	10.18	
	16	BBRNO	2019/6/5	-	-	-	-	-	58.98	34.18	12.26	10.13	
			2021/9/27	27	3.26	2.75	13.56	15.13	61.43	35.57	13.70	9.71	
	17	BBYGB	2019/7/24	-	-	-	8.25	10.90	42.01	23.14	10.21	7.74	
			2020/3/25	8	2.48	2.32	8.41	11.73	43.97	27.97	10.34	7.62	
	18	BBYGG	2019/7/24	-	-	-	13.46	15.37	61.78	34.80	13.44	9.71	
			2020/6/3	11	3.24	3.34	13.61	16.38	63.19	36.24	14.36	10.00	
			2020/11/25	5	3.47	3.37	12.84	16.74	65.83	38.63	13.97	10.56	
	19	BGBOP	2020/3/25	-	2.77	2.55	9.75	12.75	46.07	27.38	9.89	7.44	
			2021/11/22	20	3.16	2.60	11.77	14.99	55.75	34.67	12.92	9.00	
	20	BGOGY	2020/8/5	-	3.30	3.30	12.83	16.01	60.21	35.28	14.39	9.70	
			2020/11/24	3	3.04	3.48	13.66	15.97	60.72	35.94	14.79	9.64	
			2021/3/25	4	3.25	2.92	14.48	16.68	60.37	35.79	14.83	10.14	
	21	BGONN	2020/8/5	-	3.01	3.12	12.46	15.54	62.55	35.15	14.09	8.89	
			2020/11/25	3	3.50	3.32	12.12	16.16	63.72	36.31	14.21	9.47	
	22	BGPNB	2020/10/7	-	2.85	3.10	12.80	14.59	63.71	33.74	15.05	10.30	
			2021/7/27	9	3.01	2.71	12.39	15.56	62.61	35.21	14.23	9.98	
	23	BGPOO	2020/10/7	-	1.86	1.85	6.18	6.61	27.10	14.15	7.37	5.36	
			2022/4/25	18	1.92	2.00	7.51	9.06	37.27	18.70	8.97	6.61	
	24	BGRNO	2021/3/25	-	2.76	2.25	11.00	13.99	56.13	34.52	12.55	8.84	
			2021/5/19	2	2.83	2.55	11.60	13.58	55.94	33.18	12.25	8.82	
	25	BGROR	2021/3/25	-	3.01	2.74	11.30	14.01	56.49	35.53	12.54	9.51	
			2022/3/9	12	3.08	2.60	12.04	13.75	55.44	34.46	12.49	9.89	
	26	BNBPG	2021/7/27	-	3.09	2.97	11.38	14.37	60.05	36.51	13.87	9.83	
			2022/8/29	11	3.73	3.06	11.72	14.76	63.69	40.67	14.96	10.44	
	27	BNBPO	2021/7/27	-	2.86	2.60	10.97	14.72	53.07	30.11	12.66	8.56	
		2021/11/22	4	3.01	2.57	12.17	14.95	55.56	33.51	12.93	9.24		
28	BNBRG	2021/7/27	-	3.07	3.05	11.68	15.31	59.22	33.91	14.15	10.01		
		2021/9/28	2	3.14	2.96	11.41	14.89	58.36	35.73	14.00	9.50		
29	BNGRY	2021/9/28	-	2.19	1.94	9.61	11.49	43.75	25.03	10.57	7.22		
		2022/4/25	7	2.52	2.08	9.69	11.60	44.75	25.17	11.22	7.43		

物種	記錄	色標	日期	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)							
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬
<i>H. formosanus</i>	30	BNORN	2022/4/26	-	3.54	3.00	13.28	15.42	68.58	48.22	15.35	11.41
			2022/8/30	4	3.77	3.10	14.10	16.11	69.86	50.99	16.42	12.53
	31	BNPNP	2022/6/27	-	/	3.10	12.75	14.36	67.68	33.48	15.81	10.27
			2022/8/29	2	/	3.12	13.56	15.00	67.01	27.74	15.06	10.27
	32	GYGON	2020/8/4	-	3.55	4.15	13.91	17.75	68.70	41.19	15.95	11.25
			2021/3/25	7	3.43	3.19	13.16	16.56	68.59	41.83	16.00	11.65
	33	ONNOO	2022/6/28	15	3.99	3.29	13.24	17.32	68.37	39.25	15.90	11.84
			2017/4/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2017/6/29	2	-	-	-	-	60.04	25.17	13.29	10.04
	34	OORYR	2020/6/4	36	3.29	3.56	13.09	15.44	63.69	37.36	14.75	10.59
2018/8/4			-	-	-	-	68.13	45.80	14.99	10.26		
			2019/6/4	10	-	-	-	-	69.77	47.37	14.41	9.76
<i>H. glacialis</i>	1	BBPGP	2019/3/16	-	-	-	-	48.50	33.37	12.32	9.33	
			2019/4/30	1	-	-	-	43.14	26.82	9.45	7.67	
	2	BGBGN	2019/10/4	-	2.71	2.83	12.22	13.47	46.15	30.24	11.04	8.06
			2022/4/26	30	2.82	2.85	13.94	16.89	57.36	39.10	13.44	9.54
	3	BGGNY	2022/6/27	2	2.96	2.59	14.18	17.65	59.44	41.14	13.77	9.36
			2020/6/3	-	2.79	3.02	11.75	15.05	51.41	38.61	11.54	8.01
	4	BGNYG	2022/6/27	24	3.21	2.70	13.89	16.67	54.82	36.39	12.58	9.11
			2020/8/4	-	3.74	3.95	15.28	18.48	64.26	37.87	13.81	9.76
	5	BGPPN	2021/3/25	7	2.97	2.97	14.58	19.36	63.42	34.24	14.33	9.93
			2020/11/25	-	2.80	2.83	10.75	14.51	58.39	36.49	13.41	10.13
6	BGROB	2022/3/9	16	2.90	2.69	10.29	12.68	59.29	34.42	13.18	10.21	
		2021/3/25	-	3.48	3.13	13.89	16.98	66.74	51.60	15.30	10.00	
			2021/9/28	2	3.02	2.83	15.54	17.72	67.96	47.19	15.01	9.55
<i>H. sonani</i>	1	BBBNO	2017/6/29	-	-	-	-	76.32	49.54	16.53	12.42	
			2018/6/8	12	-	-	-	-	-	-	-	
	2	BBBNP	2017/6/29	-	-	-	-	61.89	43.23	14.08	10.43	
			2019/6/5	24	-	-	-	62.47	38.08	14.59	11.31	
	3	BBGRG	2019/10/3	4	3.41	3.48	13.85	16.44	64.97	40.81	14.46	10.71
			2018/4/13	-	-	-	-	67.86	49.86	15.90	11.38	
			2019/6/20	10	-	-	-	68.06	50.61	15.19	10.68	

高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查

物種	記錄	色標	日期	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)								
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬	
<i>H. sonani</i>	4	BBOBY	2018/8/5	-	-	-	-	-	-	68.16	42.34	12.59	9.97
			2019/6/20	10	-	-	-	-	-	68.98	37.67	14.90	10.48
	5	BBOGG	2018/8/5	-	-	-	-	-	-	72.03	53.14	14.19	10.09
			2019/6/20	10	-	-	-	-	-	72.75	57.26	16.67	10.55
	6	BBORG	2018/10/24	-	-	-	-	-	-	56.85	34.51	12.64	9.82
			2019/5/2	7	-	-	-	-	-	57.56	34.90	13.59	10.06
	7	BBPBN	2019/3/15	-	-	-	-	-	-	67.17	47.64	17.04	12.49
			2019/6/20	3	-	-	-	-	-	74.15	46.71	15.90	11.01
			2020/6/4	12	3.89	4.33	15.55	17.86	71.47	48.08	15.83	10.70	
			2020/8/5	2	3.61	4.38	14.90	18.75	72.36	46.86	15.57	10.71	
	8	BBPPP	2019/5/2	-	-	-	-	-	-	49.09	30.35	12.25	8.32
			2019/6/5	1	-	-	-	-	-	51.00	32.58	13.14	8.82
	9	BBPYB	2019/5/2	-	-	-	-	-	-	68.30	53.10	15.54	11.10
			2019/6/5	1	-	-	-	-	-	71.37	54.53	15.98	11.50
	10	BBPYG	2019/5/2	-	-	-	-	-	-	62.81	36.13	14.76	10.84
			2019/6/5	1	-	-	-	-	-	63.45	40.23	15.50	10.02
	11	BBPYR	2019/5/2	-	-	-	-	-	-	66.58	40.38	13.74	10.45
			2019/6/20	1	-	-	-	-	-	67.10	40.50	14.73	10.70
12	BBRGP	2019/6/5	-	-	-	-	-	-	64.61	45.72	14.47	10.91	
		2019/10/3	4	3.28	3.82	15.82	19.95	68.88	40.38	14.69	10.57		
		2020/3/26	5	3.76	3.76	14.06	18.47	65.52	41.49	15.31	10.29		
		2022/4/27	25	3.83	3.44	15.29	18.50	67.76	41.18	15.32	11.01		
13	BGBBR	2019/10/4	-	3.41	3.54	16.50	18.60	74.00	47.45	14.91	11.09		
		2020/6/4	8	3.84	3.80	14.31	18.60	72.29	47.19	15.15	11.32		
14	BGBRR	2020/3/26	-	2.94	3.44	14.88	18.37	62.20	31.07	14.54	9.80		
		2020/8/5	5	3.03	3.31	14.79	18.62	64.10	28.85	15.27	9.39		
		2021/9/27	13	3.26	2.89	13.84	17.70	63.69	28.78	14.22	10.02		
15	BGGPN	2020/6/4	-	2.22	2.61	8.93	10.81	36.70	19.71	8.83	6.46		
		2021/5/20	11	2.80	2.16	8.48	10.60	38.45	19.90	9.12	6.86		
16	BGOGN	2020/8/5	-	3.82	3.79	14.07	16.66	64.98	43.90	14.93	10.32		
		2021/9/27	13	3.56	3.16	13.86	15.91	67.98	44.07	17.08	10.18		
17	BGRBY	2021/3/23	-	3.24	3.04	14.27	16.91	60.84	37.62	13.91	9.27		
		2022/3/8	12	3.10	2.82	13.97	17.73	64.15	35.85	15.38	10.16		
18	BGRGB	2021/3/23	-	3.45	2.86	14.97	16.93	64.56	38.71	15.38	9.73		
		2021/9/27	6	3.13	2.69	14.77	16.38	66.00	34.31	14.91	10.33		

物種	記錄	色標	日期	再捕捉間隔 (月)	形態量測值 (mm)							
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬
<i>H. sonani</i>	19	BNBGG	2021/7/26	-	3.94	2.65	16.42	20.77	74.09	49.01	17.48	11.37
			2021/9/27	2	3.98	3.18	18.92	21.08	74.85	42.01	17.00	11.28
	20	BNBGO	2021/7/26	-	3.08	2.67	13.67	16.99	58.58	37.09	13.51	9.84
			2022/4/27	9	3.35	3.15	13.54	16.66	61.83	39.31	13.84	10.22
	21	BNBNN	2021/7/26	-	3.55	3.16	15.74	17.62	65.20	45.58	13.90	10.58
			2021/9/27	2	3.26	3.24	15.49	16.37	65.60	41.14	14.31	10.31
	22	BNGON	2021/9/27	-	2.92	2.27	10.67	12.83	47.78	27.86	11.74	8.03
			2022/4/27	7	2.72	2.37	11.38	13.79	48.03	23.57	11.61	7.71
	23	BNGPO	2021/9/27	-	3.65	3.05	14.71	16.57	61.89	42.64	14.14	10.21
			2022/6/29	9	3.78	3.33	14.80	17.28	63.11	44.47	13.85	10.87
			2022/8/29	2	3.67	3.17	14.58	17.81	63.74	46.12	13.99	10.91
	24	BNGPP	2021/9/27	-	3.41	2.90	13.83	15.85	58.97	37.58	14.38	9.54
			2022/6/29	9	3.33	3.22	14.98	16.86	58.77	33.35	13.56	9.89
	25	GGOOO	2019/5/2	-	-	-	-	-	63.53	33.53	13.75	9.39
			2019/6/5	1	-	-	-	-	59.63	37.88	14.42	8.90
	26	NPONO	2018/3/7	-	-	-	-	-	74.68	49.38	16.65	11.88
			2020/3/26	24	3.71	4.16	15.57	19.27	73.00	50.10	17.54	7.51
	27	NRYYN	2020/6/4	-	3.77	3.99	16.97	19.51	74.16	46.26	16.42	10.50
			2021/7/26	13	4.07	3.53	15.99	20.18	74.78	47.93	15.89	11.30
	28	OOGOO	2018/6/8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2020/3/26			21	2.55	3.13	13.44	17.21	59.08	31.72	10.57	9.28	

備註：於本計畫被捕捉時身上已有色標標記，但無法追溯最初標記日期的個體（如其他研究計畫標記的個體）不列入本表。

表 1-5、神木林道再捕捉個體。

記錄	色標	日期	物種	再捕捉間隔 (月)	形態量測值(mm)							
					眼間距	鼻間距	左前肢	左後肢	吻肛長	尾長	頭長	頭寬
1	BGBGY	2020/2/26	<i>H. arisanensis</i>	-	3.27	3.2	15.4	16.95	65.86	40.59	14.46	9.66
		2020/11/29		9	3.46	3.41	14.34	16.98	64.74	41.8	14.67	9.87
2	BGBNB	2020/2/26	<i>H. arisanensis</i>	-	2.72	2.74	13.25	14.95	56.51	39.29	12.65	8.96
		2020/4/29		2	2.48	2.68	12.7	15.19	55.16	34.52	12.38	8.42
3	BGBYO	2020/4/29	<i>H. arisanensis</i>	-	3.02	2.99	13.12	15.81	62.2	38.7	13.31	9.35
		2020/6/29		2	-	-	-	-	-	-	-	-
4	BGPYP	2021/3/21	<i>H. arisanensis</i>	-	3.69	2.81	16.74	18.68	70.36	50.39	17	10.04
		2021/5/16		2	3.72	2.96	15.78	18.59	72.22	43.16	17.17	10.24
5	BGPYR	2021/3/21	<i>H. arisanensis</i>	-	3.53	3.15	13.83	16.5	66.81	30.87	14.66	10.36
		2021/5/16		2	3.29	3.16	13.47	16.29	67.11	24.09	14.46	10.03
6	BGRRY	2021/5/16	<i>H. arisanensis</i>	-	2.59	2.2	9.97	12.29	46.48	27.43	10.94	7.75
		2021/7/29		2	2.76	2.19	10.97	12.57	48.01	29.76	11.22	8.04
7	BNPRG	2022/7/1	<i>H. arisanensis</i>	-	3.36	3.07	16.41	19.54	67.77	43.06	14.98	10.58
		2022/9/1		2	3.46	3.33	15.67	19.12	68.23	43.16	15.59	10.58

雪霸國家公園及周邊區域山椒魚分布

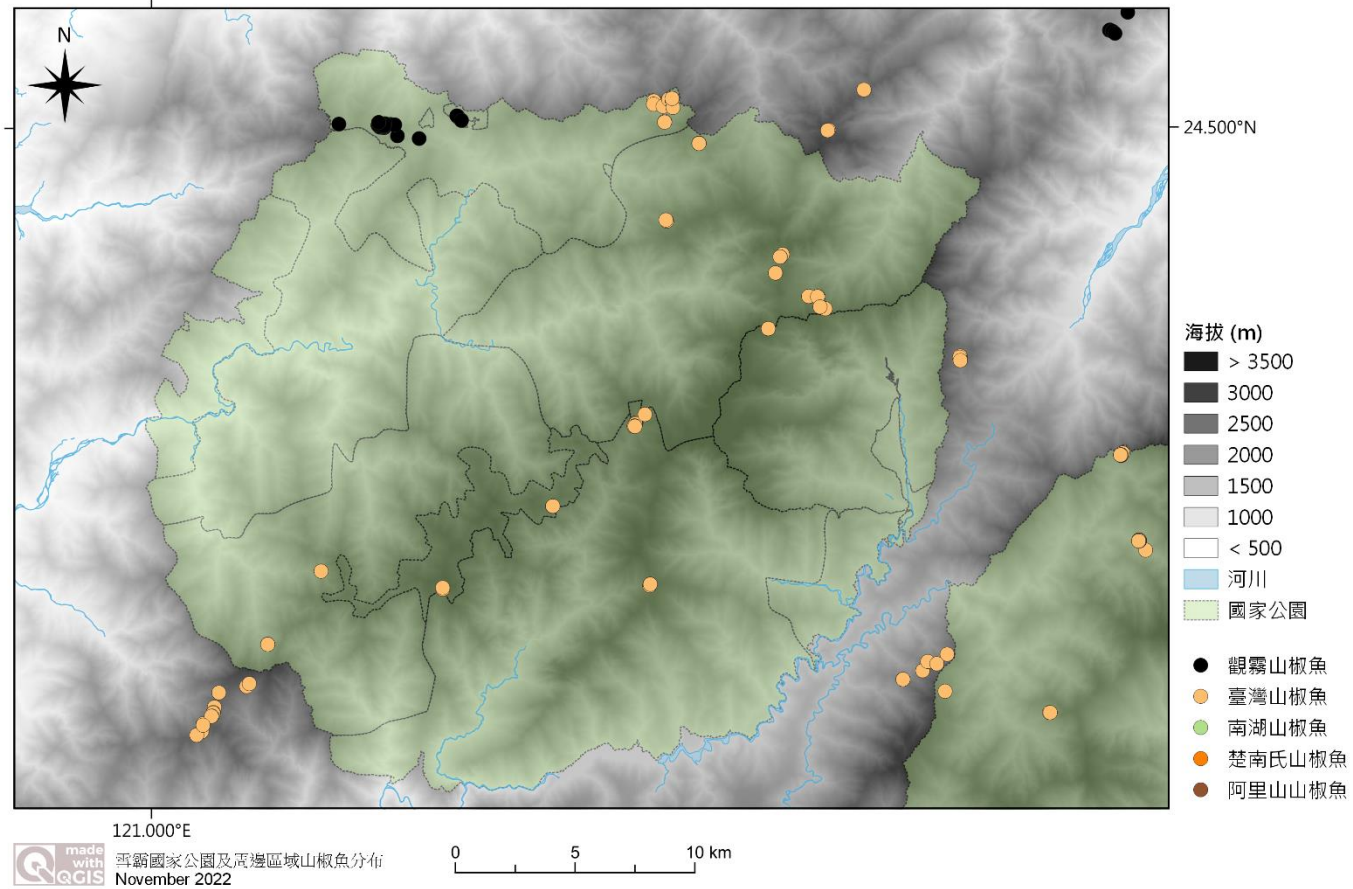


圖 1-1、雪霸國家公園及周邊地區山椒魚分布

1 : 200000 比例尺 (本研究資料)

太魯閣國家公園及周邊區域山椒魚分布

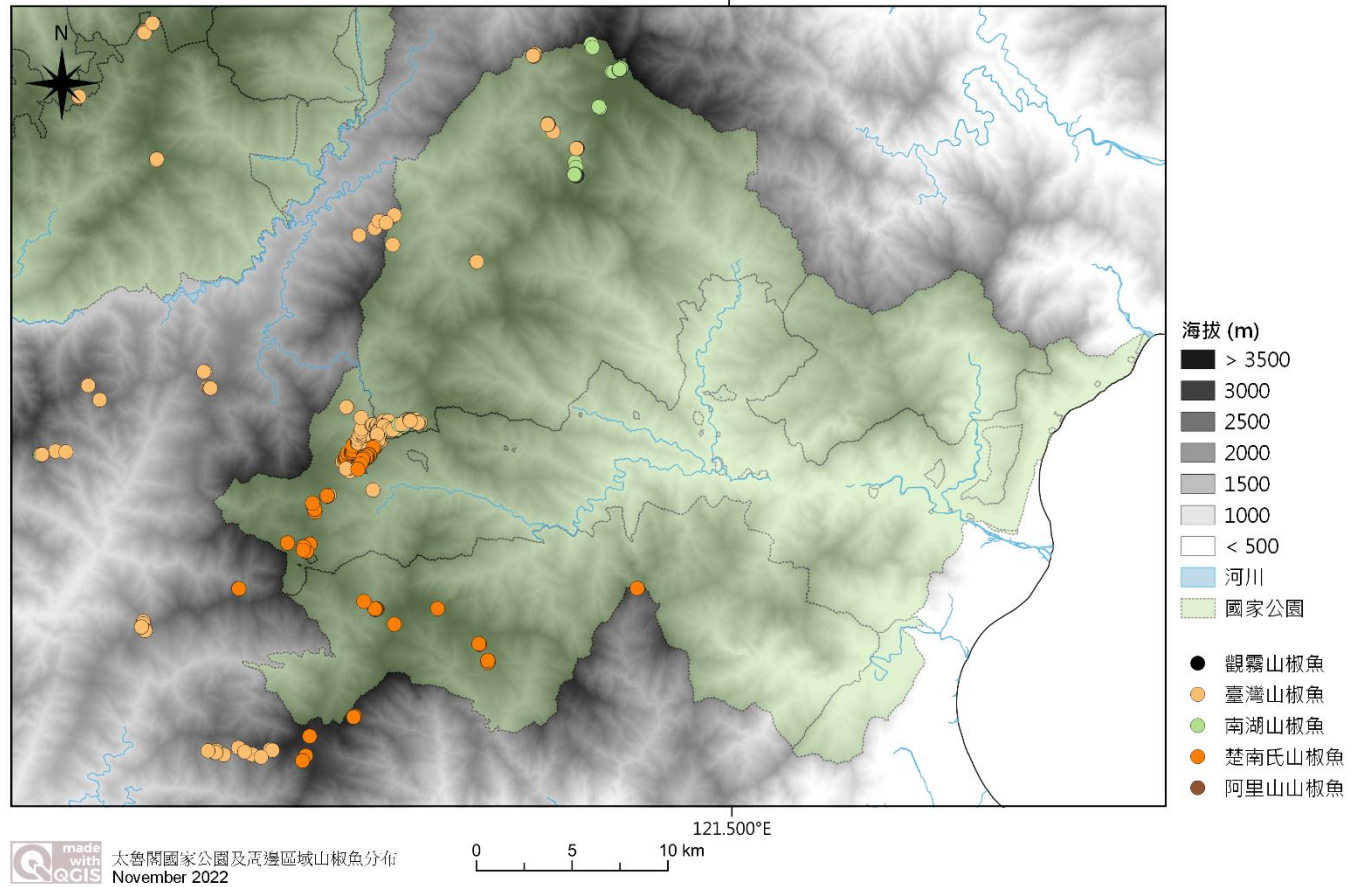


圖 1-2、太魯閣國家公園及周邊地區山椒魚分布

1 : 250000 比例尺 (本研究資料)

太魯閣國家公園及周邊區域山椒魚分布

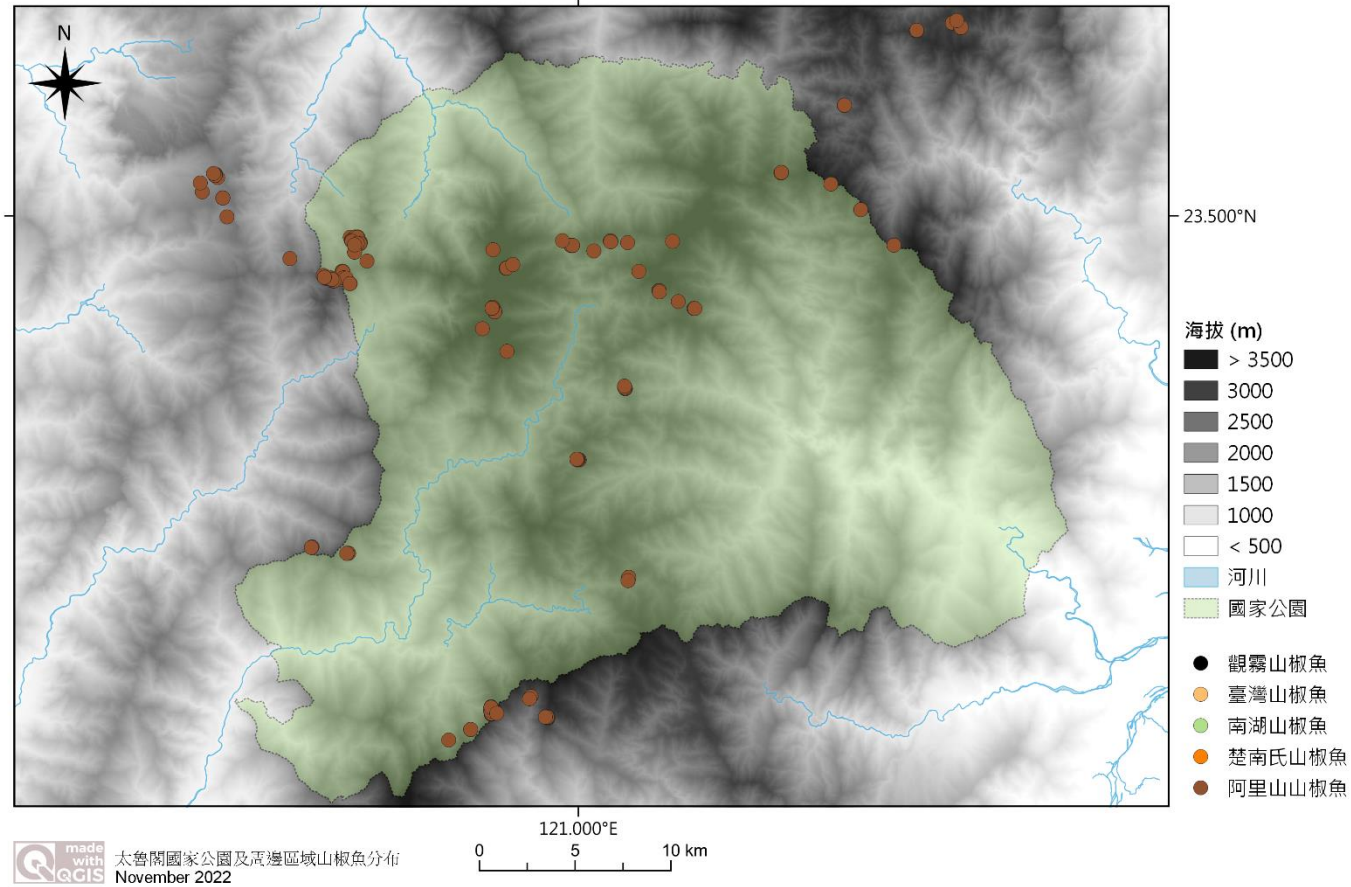


圖 1-3、玉山國家公園及周邊區域山椒魚分布

1 : 250000 比例尺 (本研究資料)

臺灣產山椒魚分布圖

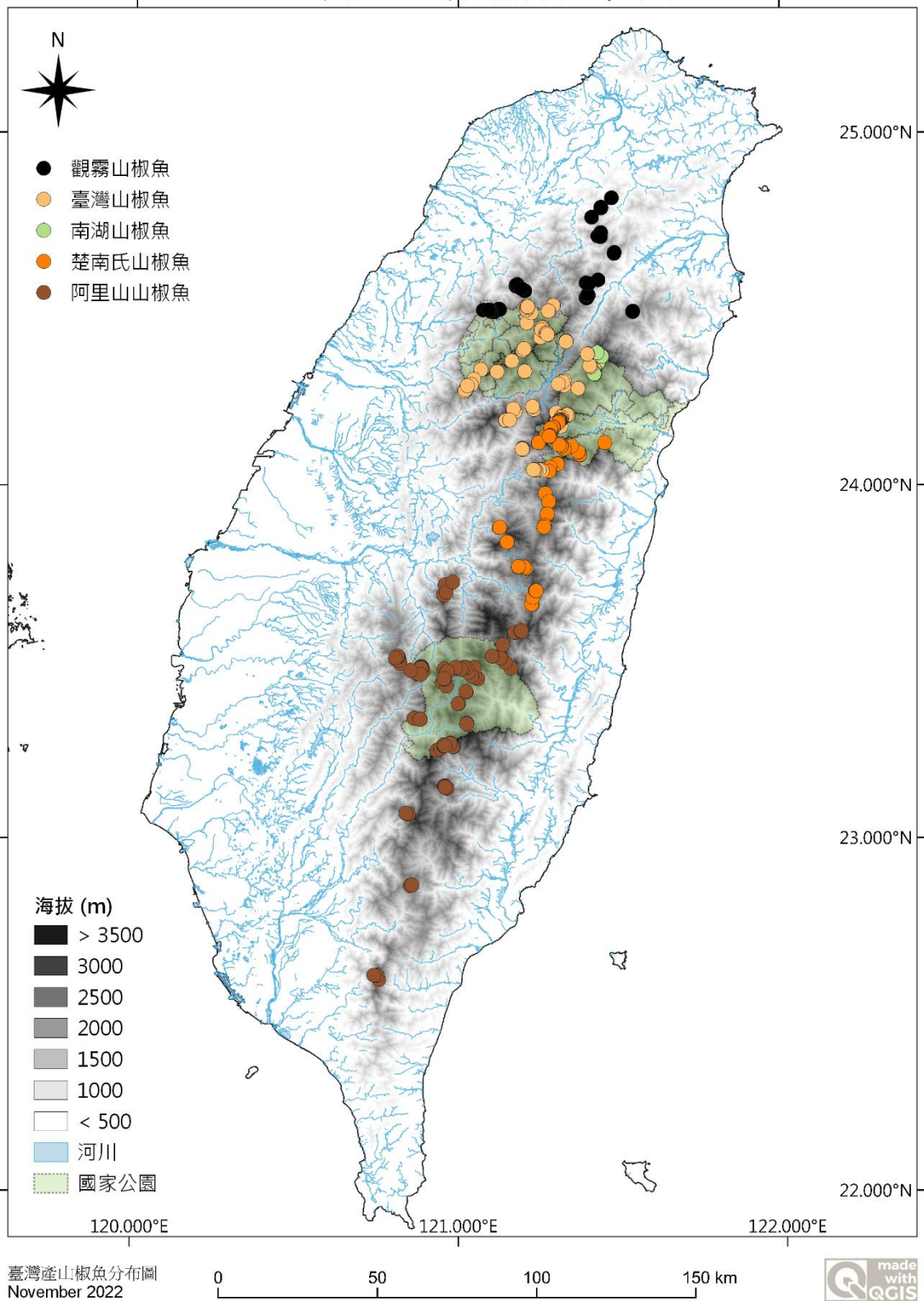


圖 1-4、山椒魚分布地圖

1 : 1,500,000 比例尺 (本研究資料)

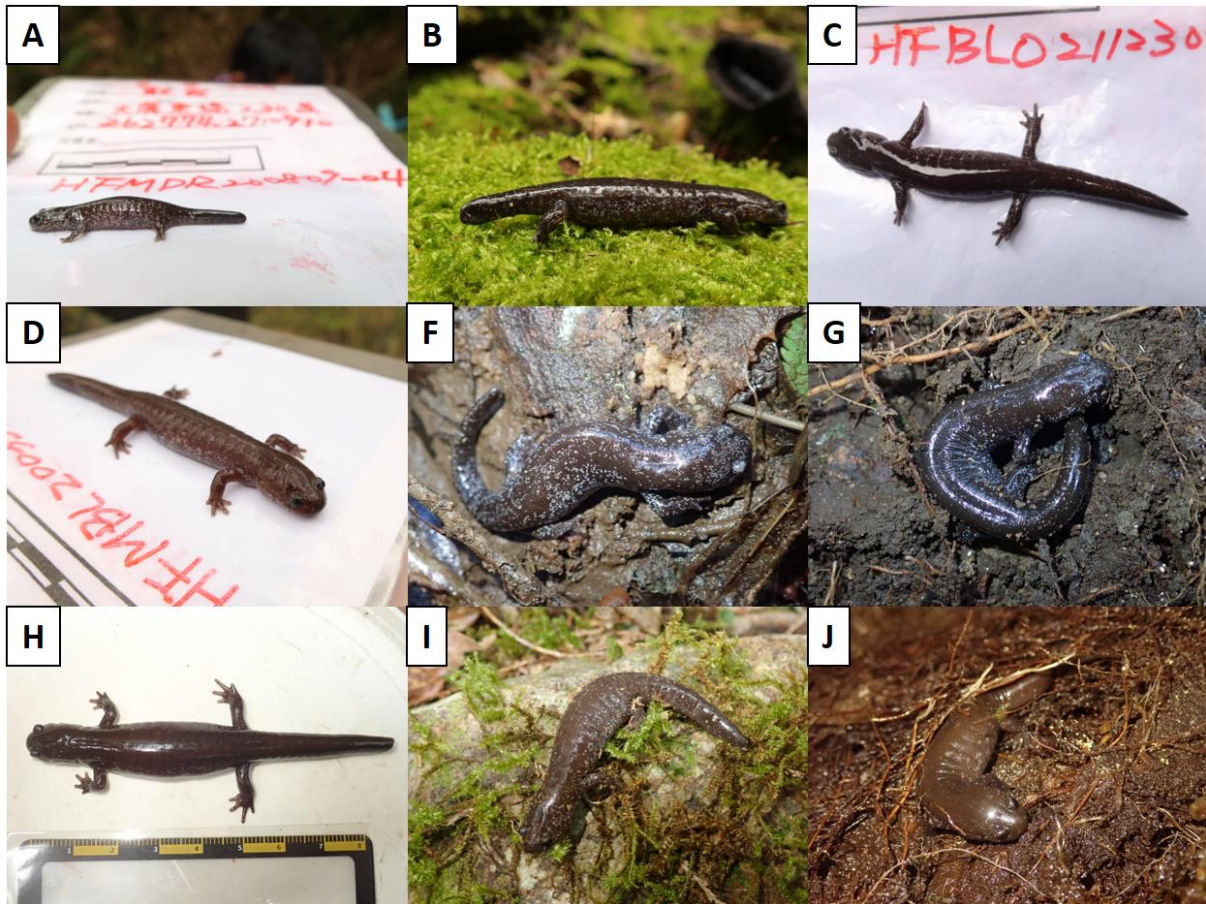


圖 1-5、不同區域的觀霧山椒魚。

(A) - (C) 觀霧地區 (大鹿林道、巨木步道、樂山林道)，(D) 羅山林道，(F) - (G) 插天山地區 (逐鹿山、北插天山)，(H) 明池，(I) 棲蘭地區，(J) 太平山。(本研究資料)



圖 1-6、不同區域的臺灣山椒魚。

(A) - (C) 雪山山脈西側，大雪山 (A)、境界山 (B) 及中雪山 (C)。 (D) - (E)，雪山山脈東側大劍山 (D)、巴紗拉雲山 (E)。 (F) - (H)，中央山脈畢祿林道 (F)、羅葉尾山 (G) 及中央尖山 (H)。(本研究資料)



圖 1-7、不同區域的南湖山椒魚。

(A) - (C) 南湖大山、中央尖山，(D) 畢祿林道，(E) 白姑大山。(本研究資料)



圖 1-8、不同區域的楚南氏山椒魚。

(A) – (C) 太魯閣地區，畢祿林道 (A)、武嶺 (B) 及瑞岩溪 (C)。(D) – (E) 能高山地區。
(F) 安東軍山地區。(G) – (H) 丹大地區。(本研究資料)



圖 1-9、不同區域的阿里山山椒魚。

(A) – (B) 玉山山脈西巒大山 (A) 及南面山 (B)。(C) – (E) 中央山脈南段，稜線西側石山林道 (C)、稜線東側馬博橫斷 (D) 及北大武山 (E)。(F) 阿里山山脈，阿里山國家森林遊樂區。
(本研究資料)

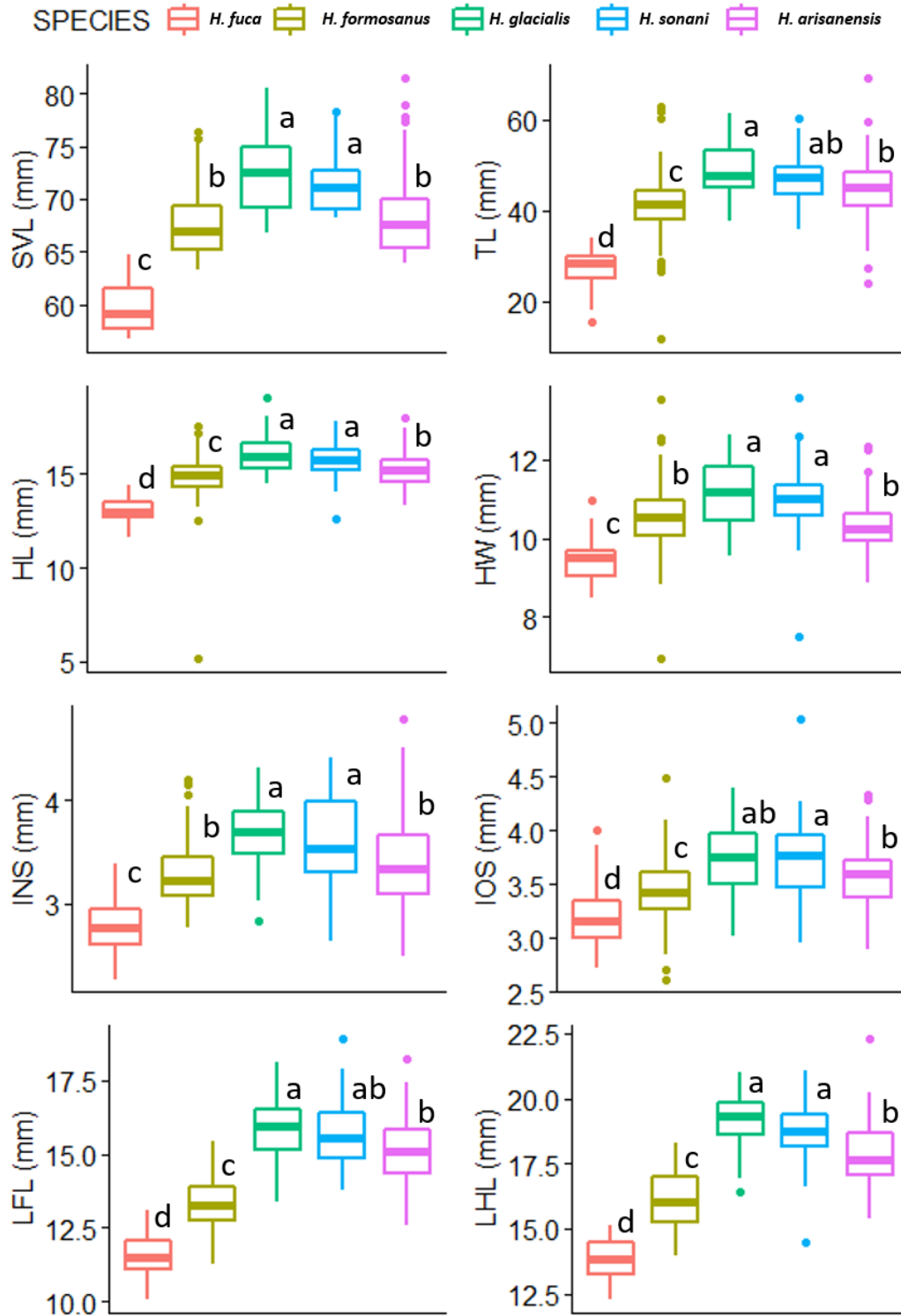


圖 1-10、五種山椒魚的形態量測值盒鬚圖。

實心圓點代表小於 $Q1-1.5 \cdot IQR$ 或大於 $Q3+1.5 \cdot IQR$ 的離群值(outlier)。對於非常態分佈(Anderson-Darling 或 Shapiro-Wilk 檢定 $p\text{-value} < 0.05$) 資料 SVL, TL, HL, LFL, LHL 以 Kruskal-Wallis 檢定比較中位數, Dunn' s test 進行多重比較。符合常態分佈的資料 HW、INS、IOS 以 One-way ANOVA 比較平均數, Tukey-Kramer test 進行多重比較。形態測量位置示意圖詳見附件一。(本研究資料)



圖 1-11、玉山圓峰標記年份約在 2009 至 2010 年間個體
色標 GRYYN (綠紅黃黃橘，相片：本研究資料)

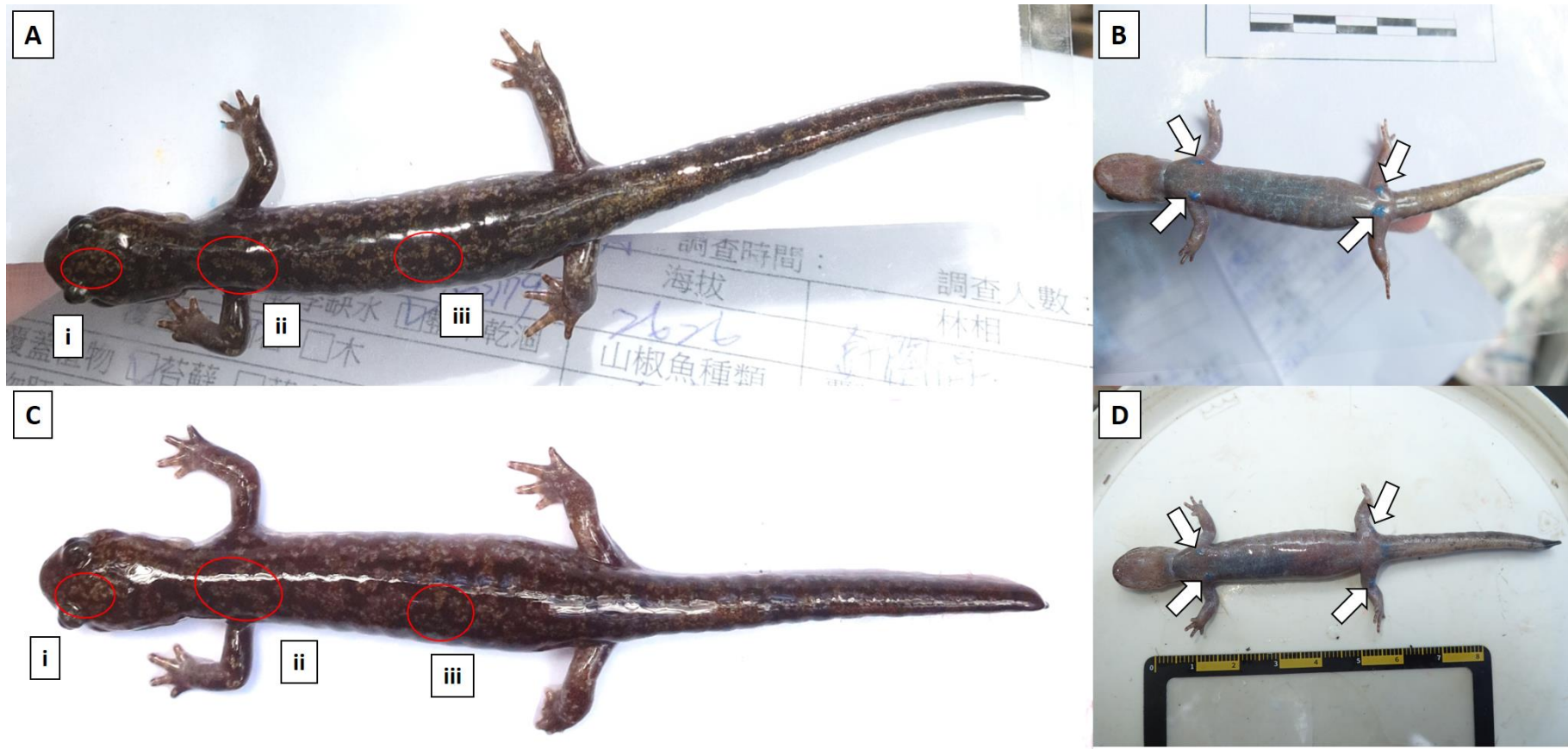


圖 1-12、820 林道再捕捉的臺灣山椒魚個體。

(A) - (B) 臺灣山椒魚個體 BBBBO 於 2017/06/28 首次捕捉進行螢光標記時的 (A) 背側及 (B) 腹側相片。(C) - (D) 個體 BBBBO 於 2022/08/29 再捕捉時的 (C) 背側 (相片對比度+10%) 及 (D) 腹側相片，圖 A 及圖 B 紅圈處 (i-iii) 可見兩隻山椒魚具有至少三處相同的特殊斑紋 (i 左眼上方 M 型斑點、ii 左前肢 Y 型斑點、iii 身體左側沙漏型斑點)，表示兩次捕捉為同一個體。圖 C 及圖 D 白色箭頭處為軟性螢光標記。(本研究資料)

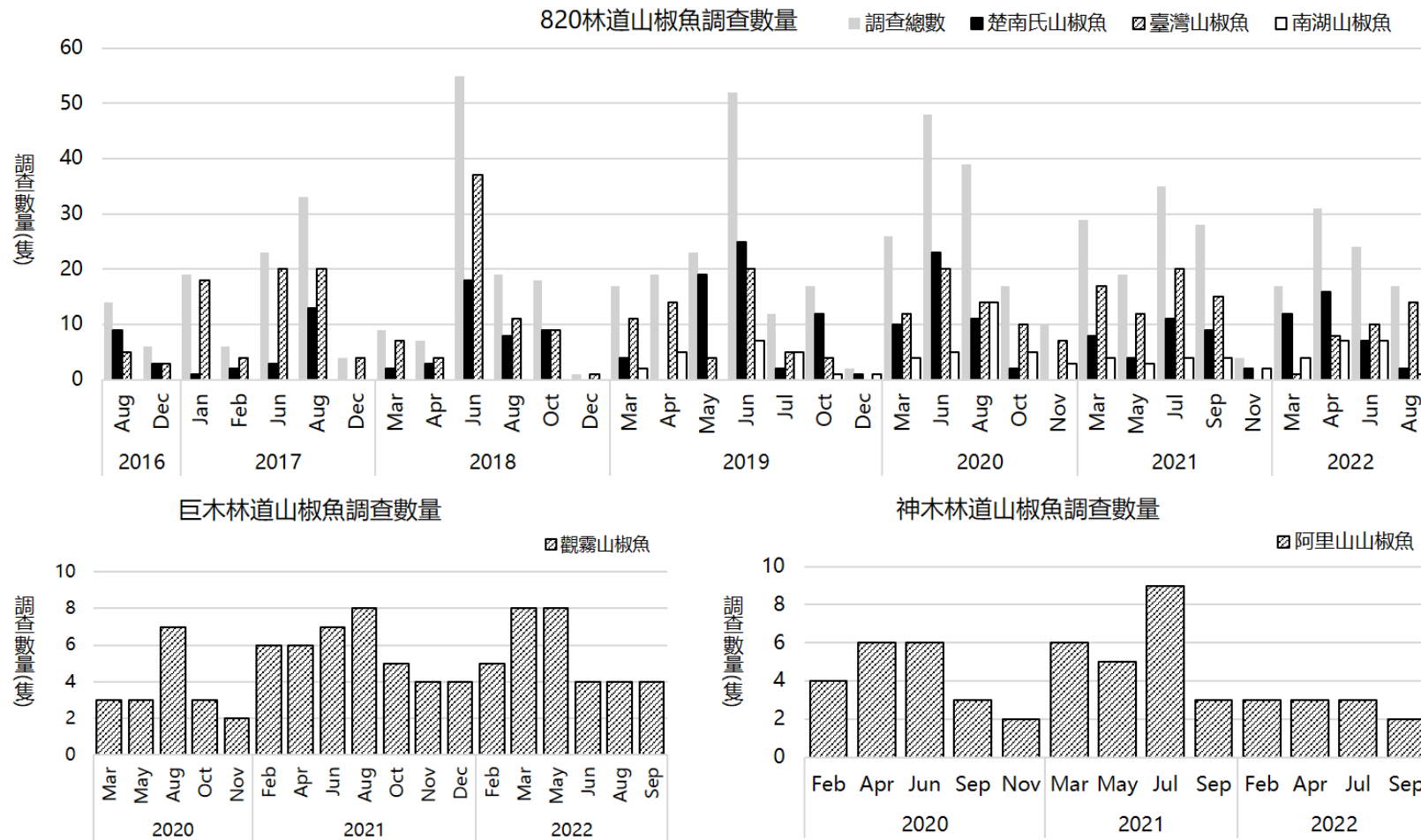


圖 1-13、山椒魚熱點調查數量

南湖山椒魚在 2018 年後始確認分佈範圍包含 820 林道，故僅有 2019 年以後的調查資料（本研究資料）

二、 收集國家公園內山椒魚微棲地資訊，包括遮蔽物、遮覆物與底質資訊

本計畫結合過去2017-2019年所收集的微棲地資訊，加上2020-2022年的資料，共收集雪霸國家公園170筆，太魯閣國家公園800筆，玉山國家公園217筆微棲地資訊（表2-1）。

1. 雪霸國家公園

雪霸國家公園調查到的山椒魚微棲地，水源狀況以為整年乾涸為主（72.4%），遮蔽物種類高比例為石頭（97.1%），覆蓋其上的植物以蘚苔為主，佔所有覆蓋植物的90.6%。底質以單一底質腐質土為主（41.8%），其次為腐質土混碎石（24.7%）。

2. 太魯閣國家公園

太魯閣國家公園調查到的微棲地集中於族群監測熱點的合歡山820林道（587筆，73.4%），部分在南湖群峰、武嶺及小風口、中央尖溪流域等區域。園區所調查到微棲地遮蔽物種類88.8%為石，9.6%為木；遮蔽物上覆蓋植物以蘚苔為大宗（81.1%），無植物覆蓋的遮蔽物占16.6%，另有蘚苔混和草本植物為遮蔽物，佔16筆調查紀錄，約2.0%，且有一筆枯葉作為遮蔽物的紀錄，佔比0.3%。34種微棲地底質種類中，72.8%屬於以腐質土為底的底質（583筆），其中又以單一底質腐質土為最多，占全部底質種類的35.9%，第二多為碎石及腐質土（30.6%）。

3. 玉山國家公園

玉山國家公園調查到的微棲地水源以整年乾涸占56.2%為主，整年有水29.0%，乾季缺水14.7%，乾季缺水的比例較另兩座國家公園高。遮蔽物種類以石為主占94.5%，且有21.7%的遮蔽物上沒有覆蓋植物，68.7%受蘚苔覆蓋，9.7%同時被蘚苔及草本植物覆蓋。

4. 族群監測熱點的微棲地種類

(1) 阿里山山椒魚於神木林道的微棲地種類分析

神木林道為本計畫於玉山國家公園選定之阿里山山椒魚族群監測熱

點。分析 55 筆調查記錄，當地山椒魚微棲地水源狀況 52.7% 為整年乾涸，27.3% 整年有水。調查到之覆蓋物全部為石頭，其上覆蓋的植物以蘚苔最多 (76.4%)。調查到有山椒魚棲息的底質以不含草根或碎石的單一腐質土底質為最大宗 (41.8%) (表 2-2)。

(2) 觀霧山椒魚於巨木步道的微棲地種類分析

雪霸國家公園觀霧山椒魚選定之族群監測熱點為巨木步道，本年度共分 91 筆微棲地資料，巨木步道的觀霧山椒魚微棲地水源 90.1% 為整年乾涸。覆蓋物種類主要為石頭 (98.9%)，且有一筆資料為木，僅占 1.1%，覆蓋的植物以蘚苔占最高比例 (95.8%)。底質則記錄到碎石、土、腐質土、草根土、碎石及土、碎石及腐質土、碎石及草根土、腐質土及草根土、土及草根土共 9 種，含有腐質土的底質為最大宗，佔所有底質的 47.3% (表 2-3)。

(3) 畢祿林道山椒魚微棲地種類與種間差異分析

畢祿林道 (820 林道) 為目前太魯閣國家公園內已知山椒魚物種及數量豐富的棲地，約 8 公里的樣線範圍分布有楚南氏山椒魚、臺灣山椒魚及南湖山椒魚等三種，適合探討同範圍的巨棲地內，山椒魚的微棲地是否存在種間差異。

分析當地 587 筆微棲地種類紀錄 (臺灣山椒魚 309 筆、楚南氏山椒魚 197 筆、南湖山椒魚 81 筆)，結果顯示三種山椒魚在 820 線林道的棲地水源狀況皆以整年乾涸佔最高比例 (臺灣山椒魚 94.2%；楚南氏山椒魚 92.2%；南湖山椒魚 85.2%)；遮蔽物種類，臺灣山椒魚 85.1% 為石遮蔽物，楚南氏山椒魚遮蔽物為石的樣本佔 87.8%，南湖山椒魚 88.9%。遮蔽物上覆蓋的植物種類則以蘚苔為主 (臺灣山椒魚 84.8%；楚南氏山椒魚 78.7%；南湖山椒魚 85.2%)。底質種類在臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚所記錄到最常見的三種依序為腐質土、碎石及腐質土、只有碎石，而南湖山椒魚為碎石及腐質土、腐質土、只有碎石 (圖 2-1)。

卡方獨立性檢定比較三種山椒魚在腐質土基底、碎石基底以及碎石/腐質土混和的三種底質種類，結果顯示物種與底質種類具有關聯($p < 0.05$)， $\chi^2 (df = 4, N = 496) = 24.078$ ， $p\text{-value} = 0.00008$ (表 2-4)。

5. 三座國家公園山椒魚族群監測熱點微棲地的異同

三座國家公園內被選作族群監測熱點的地區 (巨木步道、畢祿林道、神木林道) 除在地理位置上屬於三座高山型國家公園中較易到達的地點，三者也皆屬於能穩定調查到一定數量山椒魚的地點，認為是山椒魚族群穩定的地區。三處族群監測熱點的海拔、緯度等都有所不同，但在微棲地類型卻有不少相同處：如水源狀況皆以整年乾涸為主，覆蓋物為受蘚苔植物覆蓋的石塊。底質則以不含草根或石塊的單純腐質土為主，除了在畢祿林道，微棲地底質種類在不同物種間的分布不同。

表 2-1、山椒魚微棲地資訊

微棲地種類		水源狀況 (%)			遮蔽物 (%)				遮蔽物上覆蓋植物 (%)							
地點	N	整年有水	整年乾涸	乾季缺水	木	石	其他 (人造物)	無	蘚苔	其他 (枯葉、草本植物)			蘚苔及草本植物			
雪霸國家公園	170	25.3%	72.4%	2.4%	2.9%	97.1%	0.0%	5.9%	90.6%	0.0%			3.5%			
太魯閣國家公園	800	22.1%	75.9%	2.0%	9.6%	88.8%	1.6%	16.6%	81.1%	0.3%			2.0%			
玉山國家公園	217	29.0%	56.2%	14.7%	5.1%	94.5%	0.5%	21.7%	68.7%	0.0%			9.7%			

微棲地種類		底質																																		
地點	N	碎石	土	水	木	砂	砂土	腐質土	草根土	石板	草根土及水	碎石及水	碎石及葉	碎石及土	碎石及腐質土	碎石及草根土	碎石及木	土及碎石及草根土	碎石及草根土及草	碎石及腐質土及水	碎石及腐質土及樹枝	碎石及腐質土及樹根	碎石及腐質土及草根土	土及砂	土及水	土及木	土及腐質土	土及草根土	腐質土及木	腐質土及石	腐質土與草根土	腐質土與腐爛衛生紙	腐質土及芒草	腐質土及石片	草根土及廢紙	
雪霸國家公園	170	4.1%	3.5%	0.0%	1.2%	0.6%	0.6%	41.8%	3.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	10.0%	24.7%	4.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	0.8%	0.0%	0.8%	0.8%	0.0%	0.0%	3.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
太魯閣國家公園	800	12.4%	2.5%	0.1%	0.6%	0.0%	0.0%	35.9%	2.0%	0.0%	0.0%	2.0%	0.1%	4.0%	30.6%	2.4%	0.0%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.0%	0.4%	0.0%	0.3%	0.3%	0.8%	0.4%	4.4%	0.1%	0.0%	0.0%	0.1%	
玉山國家公園	217	6.9%	4.1%	0.0%	0.5%	0.0%	0.0%	29.0%	10.1%	0.5%	0.9%	1.8%	0.0%	7.4%	21.7%	6.5%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.9%	0.9%	0.9%	0.5%	0.5%	0.0%	5.1%	0.0%	0.5%	0.5%	0.0%	

¹人造物：枯葉、飼料麻袋。
(本研究資料)

表 2-2、神木林道阿里山山椒魚微棲地種類

微棲地種類	水源狀況 (%)			遮蔽物 (%)		遮蔽物上覆蓋植物 (%)			底質 (%)									
	整年有水	整年乾涸	乾季缺水	石	無	蘚苔	蘚苔/草本植物	碎石	土	腐質土	草根土	碎石及水	碎石及土	碎石及腐質土	土及腐質土	土及草根土	草根土及水	碎石及草根土
比例 (%)	27.3%	52.7%	20.0%	100.0%	7.3%	76.4%	16.4%	1.8%	7.3%	41.8%	10.9%	3.6%	12.7%	12.7%	3.6%	1.8%	1.8%	1.8%

N=55 (本研究資料)

表 2-3、巨木步道觀霧山椒魚微棲地種類

微棲地種類	水源狀況 (%)			遮蔽物 (%)		遮蔽物上覆蓋植物 (%)			底質 (%)									
	整年有水	整年乾涸	乾季缺水	木	石	無	蘚苔	蘚苔/草本植物	碎石	土	腐質土	草根土	碎石及土	碎石及腐質土	碎石及草根土	腐質土及草根土	土及草根土	
比例 (%)	6.6%	90.1%	3.3%	1.1%	98.9%	2.2%	93.4%	4.4%	3.3%	1.1%	47.3%	4.4%	5.5%	28.6%	4.4%	4.4%	1.1%	

N=91 (本研究資料)

表 2-4、畢祿林道不同山椒魚物種的微棲地底質種類分析

底質種類	臺灣山椒魚		楚南氏山椒魚		南湖山椒魚		總數	df	χ^2	p-value
	N	(%)	N	(%)	N	(%)				
碎石基底	25	8.1%	14	7.1%	15	18.5%	54	4	24.078	0.00008***
腐質土基底	113	36.6%	112	56.9%	24	29.6%	249			
碎石/腐質土混和	106	34.3%	54	27.4%	33	40.7%	193			

*顯著水準 p = 0.05 (本研究資料)

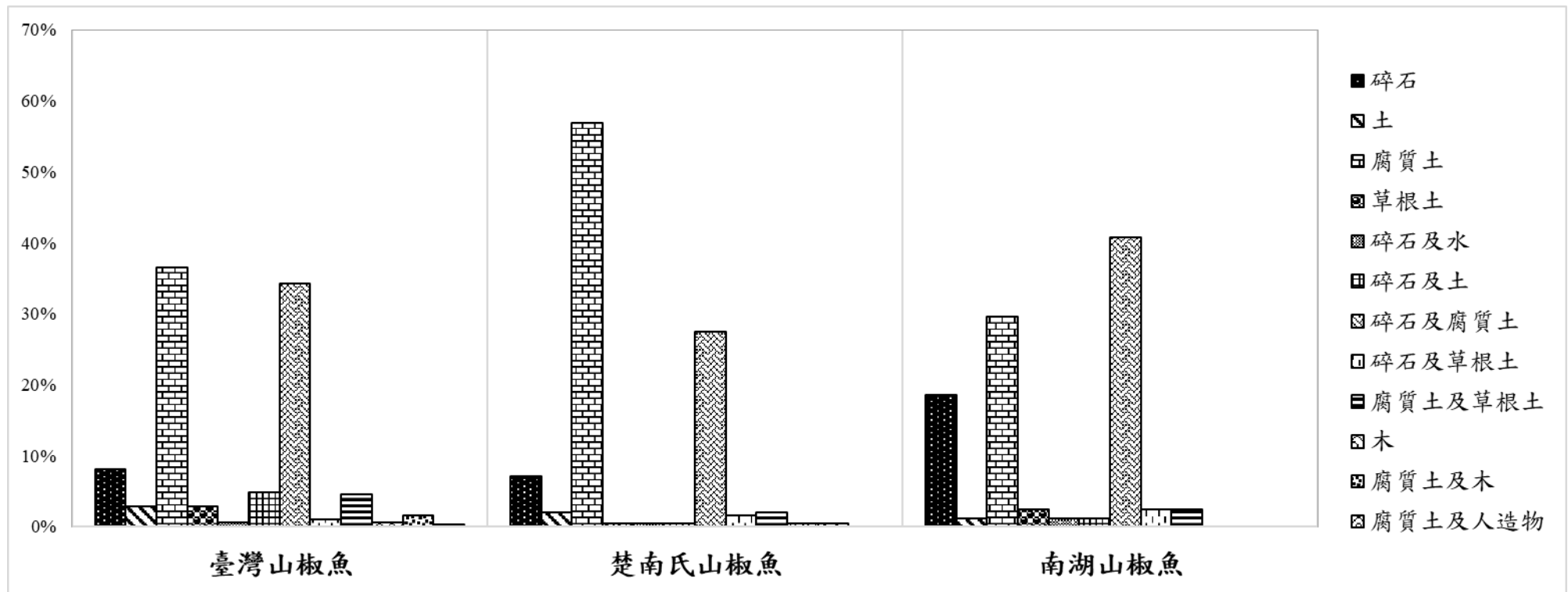


圖 2-1、畢祿林道不同山椒魚物種的微棲地底質種類

臺灣山椒魚 N = 309；楚南氏山椒魚 N = 197；南湖山椒魚 N = 81（本研究資料）

三、山椒魚的食性分析

1. 食性樣本收集

為瞭解野生山椒魚於棲息地的食性，可幫助瞭解棲地偏好外，亦可幫助推測棲地中與山椒魚食性相關的無脊椎動物相，協助建構野外山椒魚的生活史。自 2020 年 3 月至 2022 年 8 月 30 日，本計畫累積已分析山椒魚胃內容物樣本份 372 份，並累計已分析排遺樣本 45 份（表 3-1）。

2. 臺灣產山椒魚胃內容物組成

鑑定 372 份胃內容物樣本與 45 份排遺樣本，臺灣產山椒魚的獵物種類包含昆蟲綱、內口綱、倍足綱、唇足綱、軟甲綱、結合綱（綜合綱，Symphyla）、蛛形綱、腹足綱、寡毛亞綱、蛭亞綱及圓形動物門等。除可辨識的獵物碎片外，山椒魚的胃內容物亦有發現山椒魚的皮蛻、已無法辨識的獵物碎片（消化剩餘物、未知分類單元的節肢動物殘渣、皮膜、內臟）以及非獵物的植物、石塊、細砂及纖維，顯示山椒魚攝入非獵物的環境物是普遍的現象（表 3-2）。

五種山椒魚胃內容物的食性組成皆以昆蟲綱為最主要的獵物種類，鑑定出的 10 個目中，以鞘翅目獵物為主，雙翅目居第二。昆蟲綱之後，比例次高及第三高的獵物種類，在觀霧山椒魚為軟甲綱、倍足綱；臺灣山椒魚為軟甲綱、蛛形綱；南湖山椒魚，蛛形綱與唇足綱同樣為比例第二高的獵物種類，第三高比例獵物種類為軟甲綱；楚南氏山椒魚為倍足綱，唇足綱與蛛形綱同為比例第三高隻獵物種類；阿里山山椒魚為蛛形綱、唇族綱（表 3-2、圖 3-2）。研究資料顯示阿里山山椒魚同時會受到蛭亞綱的寄生，但也會捕食蛭亞綱。

3. 胃內容物與排遺組成之比較

比較山椒魚胃內容物與排遺組成，排遺所鑑定出的獵物種類（59 種類單元）明顯低於胃內容物（104 種），排遺的獵物數量仍然以昆蟲綱最

多，但缺乏禿翅目（表 3-3）。另外，排遺組成亦缺乏結合綱、蛭亞綱等能在胃內容物中發現的獵物。此類體型較小或可消化部分比例高的食物可能因被消化充分，排遺已無留下可辨認的殘骸（翅、腳、螯、頭胸部外骨骼等）。因此，以胃內容物沖洗法所獲得的食性樣本較能反應山椒魚的食性。

4. 族群調查熱點山椒魚胃內容物組成及獵物出現頻率

臺灣的五種山椒魚分布範圍廣泛，包含多座山脈。同一種山椒魚在不同的棲息地（如中央山脈與雪山山脈的臺灣山椒魚）可利用的獵物種類不盡相同，本計畫選定 3 處族群永久調查點（本計畫又稱為熱點）（包括：巨木步道、畢祿林道、神木林道）分析單一樣區山椒魚的食性組成，降低不同樣區樣本數量不均的影響。分析指標包含胃內容物的（a）獵物種類，以及（b）獵物種類的出現頻率。

分析出現頻率可以了解某獵物類別於山椒魚食性樣本中的普遍程度，在扣除胃內容物中無法辨識至綱分類階層的食渣、皮膜與內臟等半消化物、山椒魚自身的皮蛻，以及山椒魚無法消化的石塊、細沙、植物及纖維等項目後，以剩下的食性樣本數來計算：

$$\text{出現頻率 (\%)} = \text{出現指定獵物種類的食性樣本數} / \text{食性樣本總數}$$

(1) 神木林道的阿里山山椒魚胃內容物

神木林道完成 29 份樣本鑑定，樣本採集時間為 2020 年 3 月至 2022 年 8 月。鑑定出 9 個大分類階層的獵物：節肢動物門的內口綱、昆蟲綱、倍足綱、唇足綱、軟甲綱、蛛形綱，環節動物門的寡毛亞綱、圓形動物門與脊索動物門的兩棲綱（山椒魚皮蛻）。胃內容物獵物數量以昆蟲綱最多，共鑑定出 6 個目並以鞘翅目的獵物數量最多，軟甲綱等足目居次（表 3-4）。獵物出現頻率以昆蟲綱出現頻率最高（65.52%），

其次為軟甲綱 (34.48%) 與蛛形綱 (31.03%，表 3-5)。

(2) 觀霧巨木步道的觀霧山椒魚胃內容物

巨木步道完成 41 份樣本鑑定，樣本採集時間自 2020 年 3 月至 2022 年 8 月。共發現 9 個大分類階層的獵物種類：節肢動物門的昆蟲綱、倍足綱、唇足綱、軟甲綱、蛛形綱、內口綱，環節動物門的寡毛亞綱，軟體動物門的腹足綱，及脊索動物門的兩棲綱 (山椒魚皮蛻)。觀霧巨木步道的觀霧山椒魚胃內容物的獵物數量最多者為昆蟲綱，其次是軟甲綱 (表 3-4)。獵物出現頻率中昆蟲綱的出現頻率為 41.46%，次高的出現頻率為軟甲綱 (29.27%)，組成以等足目為主，以及倍足綱 (29.27%，表 3-5)。

(3) 畢祿林道三種山椒魚的胃內容物

畢祿林道 (820 林道) 完成 141 份胃內容物樣本鑑定，楚南氏山椒魚 49 份，臺灣山椒魚 61 份，南湖山椒魚 31 份。樣本採集時間為 2020 年 3 月至 2022 年 8 月。在獵物種類，畢祿林道的三種山椒魚胃內容物共鑑定出 11 個大分類階層的獵物種類，在三種山椒魚中共同出現有昆蟲綱、倍足綱、唇足綱、軟甲綱、蛛形綱、內口綱、腹足綱獵物，寡毛亞綱僅在楚南氏與南湖山椒魚發現，兩棲綱僅在楚南氏山椒魚與臺灣山椒魚發現，蛭亞綱僅在南湖山椒魚發現，圓形動物門僅在楚南氏山椒魚發現 (表 3-4)。

獵物數量以昆蟲綱最多，在目階層的獵物數量分布則不盡相同。昆蟲綱獵物在三種山椒魚中都以鞘翅目佔有最多的獵物數量，其次是雙翅目、半翅目、膜翅目及鱗翅目。鞘翅目中又以隱翅蟲科、菊虎科跟象鼻蟲科為組成大宗，另外 3 種目的獵物數量相對較少 (毛翅目、長翅目、脈翅目)，且毛翅目、長翅目及脈翅目獵物僅在其中一或二種山椒魚的胃內中被發現。直翅目、積翅目則沒有在長期監測的調查點

被發現。獵物數量居次的獵物類別，分布在林道前段的楚南氏山椒魚以倍足綱（帶馬陸目為主）、蛛形綱（盲蛛目為主）和唇足綱（石蜈蚣目為主）獵物佔有相同的比例；林道中後段的臺灣山椒魚以蛛形綱（絨蟎目、蜘蛛目為主）、軟甲綱（僅等足目）獵物數量較多；林道後段的南湖山椒魚則有較多的唇足綱石蜈蚣目及蛛形綱蜘蛛目、盲蛛目獵物（表 3-4）。

獵物的出現頻率，昆蟲綱在畢祿林道的三種山椒魚上出現頻率皆為五成左右。在昆蟲綱之外的種類則有較明顯的種間差異。楚南氏山椒魚胃內容物中，倍足綱、唇足綱與腹足綱獵物的出現頻率（倍足綱 26.53%，唇足綱 24.49%，腹足綱 10.2%）高於另外兩者；臺灣山椒魚中軟甲綱（19.67%）與蛛形綱（36.59%）出現頻率較高；南湖山椒魚中，以內口綱獵物的出現頻率（內口綱 12.90%）高於其他兩種山椒魚（表 3-5）。但畢祿林道上 3 種山椒魚食性是否有顯著性差別，仍需要納入更多年份的食性資料，並考慮林道整體無脊椎動物昆蟲相分布狀態，以進行更進一步的分析討論。

5. 畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成

三種山椒魚皆在夏季（6-8 月）收集到最多的食性樣本，春季（3-5 月）次之，秋季（9-11 月）與冬季（12-02 月）最少。獵物種類組成方面，昆蟲綱獵物在春季與夏季的種類豐富度不同，春季及秋季的食性樣本缺少毛翅目、長翅目及脈翅目獵物。平馬陸目、泡馬陸目、及寡毛亞綱的獵物亦僅在夏季的食性樣本中被發現。彈尾目、鞘翅目、等足目及蜘蛛目則是在春季夏季及秋季的食性樣本中皆能發現的獵物種類（表 3-6）。鞘翅目獵物雖在三季皆有出現，春季、夏季與秋季所包含的獵物種類豐富度卻差異頗大，春季的獵物種類主要為菊虎科的成蟲及幼蟲、象鼻蟲科成蟲。雙翅目亦在三季中皆有出現，組成包含水虻、黑翅蕈蚋、搖蚊、蚤蠅與毛

蚋，且成蟲數量多於幼蟲。夏季以菊虎科獵物數量最多，隱翅蟲則上升超過象鼻蟲科成為山椒魚在夏季數量第二多的鞘翅目獵物。

總結來說，畢祿林道的山椒魚其食性以鞘翅目、雙翅目，與軟甲目為主，在夏季消費較多菊虎科幼蟲及隱翅蟲的成蟲。由上述研究，不難發現山椒魚獵捕的動物大都屬夜行性的土棲型無脊椎動物。這些獵物生活史的某部分的或全部會在林下土壤、腐木、落葉堆或石頭下生活，如象鼻蟲、隱翅蟲、菊虎在幼蟲時期都在表層土壤或落葉堆裡生活。因此屬於夜行性的山椒魚很有機會在地表捕獲這類動物的幼體或成體。

表 3-1、山椒魚食性樣本採集地點及數量總表

地點	數量	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	阿里山山椒魚
胃內容物						
雪霸國家公園						
巨木步道	41	41	-	-	-	-
大鹿林道西線	1	1	-	-	-	-
大鹿林道東線	7	4	3	-	-	-
境界山登山口	1	-	1	-	-	-
樂山林道	1	1	-	-	-	-
大雪山	2	-	2	-	-	-
太魯閣國家公園						
更孟山北方	2	-	2	-	-	-
更孟山南方	2	-	2	-	-	-
820 林道	141	-	61	49	31	-
730 林道	1	-	1	-	-	-
中央尖溪源頭	3	-	-	-	3	-
小風口	2	-	-	2	-	-
南湖山屋	6	-	-	-	6	-
審馬牌山屋東方溪溝	3	-	-	-	1	-
武巔	1	-	-	1	-	-
遠多志山	1	-	1	-	-	-
玉山國家公園						
鹿林山莊	1	-	-	-	-	1
鹿林小徑	2	-	-	-	-	2
荖濃溪營地	2	-	-	-	-	2
玉山林道	19	-	-	-	-	19
玉山南峰	1	-	-	-	-	1
玉山圓峰水源	5	-	-	-	-	5
神木林道	29	-	-	-	-	29
大關山	1	-	-	-	-	1
埡口林道	13	-	-	-	-	13
南面山	1	-	-	-	-	1
嘆息灣	1	-	-	-	-	1
向陽山屋	4	-	-	-	-	4
其他						
羅山林道南線	2	2	-	-	-	-
卡保山	1	1	-	-	-	-

表 3-1、山椒魚食性樣本採集地點及數量 (續)

地點	數量	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	阿里山山椒魚
胃內容物						
南橫	3	-	-	-	-	3
阿里山森林遊樂區	65	-	-	-	-	65
棲蘭山	5	5	-	-	-	-
圈養環境	2	2	-	-	-	-
總計	372	57	73	52	41	147
排遺						
雪霸國家公園						
巨木步道	2	2	-	-	-	-
太魯閣國家公園						
820 林道	5	-	2	3	-	-
中央尖溪源頭	2	-	-	-	2	-
玉山國家公園						
神木林道	2	-	-	-	-	2
玉山林道	1	-	-	-	-	1
其他						
阿里山森林遊樂區	14	-	-	-	-	14
圈養環境	19	3	6	6	1	3
總計	45	5	8	9	3	20

註：資料日期：2020/03/21-2022/08/30，數量表示食性樣本數。

表 3-2、臺灣產山椒魚的胃內容物組成 (物種別)

物種	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	阿里山山椒魚
食性樣本數	(N=57)	(N=73)	(N=52)	(N=41)	(N=147)
獵物種類	碎片數				
節肢動物門	2	-	-	-	-
昆蟲綱	2	-	-	-	-
鱗翅目	2	6	14	5	1-
尺蛾科	-	1	-	2	1
螟蛾科	1	-	-	-	-
毛翅目	-	3	-	-	3
鞘翅目	2	4	2	2	5
隱翅蟲科	4	9	17	2	27
菊虎科	8	16	13	8	13
象鼻蟲科	1	6	3	3	7
紅螢科	1	4	-	1	2
金龜子科	-	1	-	-	-
叩頭蟲科	-	3	1	-	6
擬步行蟲科	-	-	1	-	1
步行蟲科	-	1	1	2	4
扁蟲總科	-	-	-	1	3
姬花螢科	-	-	-	-	1
金花蟲科	-	-	-	-	3
盤甲科	-	-	-	-	1
半翅目	-	-	-	-	-
異翅亞目	-	2	1	-	1
地長椿科	1	1	4	-	-
奇椿科	1	-	-	-	-
獵椿科	-	-	-	1	-
頸喙亞目	-	-	-	1	-
菱飛蟲科	-	4	2	3	1
圓飛蟲科	-	-	1	-	2
葉蟬科	-	-	1	-	1
沫蟬科	-	-	-	1	1
胸喙亞目	-	-	-	1	-
蚜總科	-	-	1	-	3
脈翅目	-	-	-	-	-
姬蛉科	-	1	1	-	-
翼蛉科	-	-	1	-	-

表 3-2、臺灣產山椒魚的胃內容物組成 (物種別) (續)

物種	觀霧山椒魚 (N =57)	臺灣山椒魚 (N =73)	楚南氏山椒魚 (N =52)	南湖山椒魚 (N =41)	阿里山山椒魚 (N =147)
獵物種類	碎片數				
膜翅目	-	-	-	-	-
蟻總科	-	1	1	1	-
寄生蜂下目	1	5	3	4	6
姬蜂科	-	1	-	-	-
廣腰亞目	-	-	-	-	-
葉蜂科	-	-	-	1	-
長翅目	-	-	-	-	-
蠍蛉科	-	2	2	-	-
雙翅目	-	1	-	1	-
長角亞目	-	-	-	-	-
黑翅蕈蚋科	1	1	2	3	5
大蚊科	3	6	6	2	4
蕈蚋科	1	2	-	3	5
劍蛇科	-	1	-	-	1
瘦蚋科	-	1	-	-	-
搖蚊科	1	-	3	1	4
毛蚋科	-	1	-	1	1
蠓科	-	-	1	-	-
蚊科	-	-	-	-	1
短角亞目	1	2	2	1	4
水虻科	1	3	1	3	3
鵲虻科	-	-	-	1	1
舞虻科	-	-	2	-	3
果蠅科	-	-	-	-	1
廁蠅科	-	-	-	-	1
水蠅科	-	-	-	-	1
沼蠅科	-	1	-	-	-
蚤蠅科	-	-	-	1	1
頭蠅科	-	-	-	1*	-
直翅目	-	1	-	1	1
菱蝗科	-	-	-	-	1
倍足綱	-	-	1	-	-
帶馬陸目	-	-	-	-	-

表 3-2、臺灣產山椒魚的胃內容物組成（物種別）（續）

物種	觀霧山椒魚 (N=57)	臺灣山椒魚 (N=73)	楚南氏山椒魚 (N=52)	南湖山椒魚 (N=41)	阿里山山椒魚 (N=147)
食性樣本數					
獵物種類	碎片數				
平馬陸目	-	-	1	-	-
泡馬陸目	1	-	2	1	1
唇足綱	-	-	-	1	-
石蜈蚣目	-	-	-	-	-
地蜈蚣目	5	11	11	8	19
軟甲綱	1	2	3	2	5
等足目	-	-	-	-	-
潮蟲亞目	-	-	-	-	-
海蟑螂科	2	2	2	2	3
喜陰蟲科	12	9	5	3	19
氣肢蟲科	3	4	3	1	-
端足目	2	1	-	-	1
跳蝦科	-	-	-	-	-
綜合綱	1	-	-	-	-
蛛形綱	-	-	-	-	1
蜘蛛目	-	1	-	-	-
絨蟎目	2	8	5	5	21
甲蟎亞目	2	1	-	-	-
盲蛛目	3	6	2	-	3
擬蠍目	1	5	6	4	13
內口綱	1	3	1	1	6
彈尾目	-	-	-	-	-
長角跳蟲科	-	-	-	-	-
疣跳蟲科	4	7	3	4	13
環節動物門	-	1	-	1	-
蛭亞綱	-	-	-	-	-
山蛭科	-	-	-	-	-
寡毛亞綱	-	-	-	1	6
圓形動物門	5	-	5	3	12
軟體動物門	-	1	-	-	5
腹足綱	-	-	-	-	-

表 3-2、臺灣產山椒魚的胃內容物組成（物種別）（續）

物種	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	阿里山山椒魚
食性樣本數	(N=57)	(N=73)	(N=52)	(N=41)	(N=147)
獵物種類	碎片數				
脊索動物門	-	-	-	-	-
兩棲綱	-	-	-	-	-
有尾目	-	-	-	-	-
山椒魚科（皮蛻）	4	8	3	1	13

註：資料日期：2020/03/21-2022/08/30，N 值表食性樣本數量，碎片數表鑑定物種數，*為幼蟲寄生於頭喙亞目昆蟲體內。

表 3-3、山椒魚排遺組成 (物種別)

物種	觀霧山椒魚 (N=5)	臺灣山椒魚 (N=8)	楚南氏山椒魚 (N=9)	南湖山椒魚 (N=3)	阿里山山椒魚 (N=20)
食性樣本數					
獵物種類	碎片數				
節肢動物門	-	-	-	-	-
昆蟲綱	-	-	2	-	1
鱗翅目	-	-	4	-	1
螟蛾科	1	3	2	1	-
尺蛾科	-	-	-	-	1
鞘翅目	-	-	1	-	2
菊虎科	1	2	4	-	4
隱翅蟲科	3	5	5	1	19
扁甲科	-	-	1	-	-
象鼻蟲科	-	-	-	-	4
紅螢科	-	-	-	-	1
偽瓢蟲科	-	-	-	-	1
圓花蚤科	-	-	-	-	1
擬步行蟲科	-	-	-	-	1
蟻形蟲科	-	-	-	-	1
膜翅目	-	-	-	-	-
寄生蜂下目	1	1	4	-	1
雙翅目	-	-	-	-	-
短角亞目	-	1	-	1	2
水虻科	-	-	-	-	1
長足虻科	-	-	-	-	1
長角亞目	-	-	1	-	-
大蚊科	-	-	-	-	3
蕈蚋科	-	1	-	-	1
毛蚋科	-	-	-	-	1
黑翅蕈蚋科	-	-	-	-	1
搖蚊科	-	-	-	-	1
半翅目	-	-	-	-	-
異翅亞目	-	2	-	-	2
地長椿科	-	-	-	-	2
頸喙亞目	-	-	-	-	1
葉蟬科	-	1	-	-	1
沫蟬科	-	-	-	1	-

表 3-3、山椒魚排遺組成 (物種別) (續)

物種	觀霧山椒魚 (N=5)	臺灣山椒魚 (N=8)	楚南氏山椒魚 (N=9)	南湖山椒魚 (N=3)	阿里山山椒魚 (N=20)
食性樣本數					
獵物種類	碎片數				
毛翅目	-	2	1	-	1
長翅目	-	-	-	-	-
蠍蛉科	-	-	-	-	1
蛛形綱	-	-	-	-	-
蜘蛛目	1	2	8	1	7
盲蛛目	1	-	-	-	3
擬蠍目	-	1	1	-	1
絨蟎目	-	-	3	-	2
甲蟎亞目	-	-	-	-	-
唇足綱	-	-	-	-	-
石蜈蚣目	1	-	1	-	9
倍足綱	-	-	-	-	-
帶馬陸目	1	1	-	1	4
軟甲綱	-	-	-	-	-
等足目	-	-	-	-	-
潮蟲亞目	-	1	-	-	-
內口綱	-	-	-	-	-
彈尾目	1	-	-	-	-
環節動物門	-	-	-	-	-
寡毛亞綱	1	-	2	-	-
圓形動物門	1	-	-	2	4
軟體動物門	-	-	-	-	-
腹足綱	2	-	2	-	1
脊索動物門	-	-	-	-	-
兩棲綱	-	-	-	-	-
有尾目	-	-	-	-	1

註：資料日期：2020/03/21-2022/08/30，N 值表食性樣本數量，碎片數表鑑定物種數。

表 3-4、山椒魚族群調查熱點的胃內容物組成

獵物種類 (碎片數)	採樣地點 物種 食性樣本數	神木林道		巨木步道		畢祿林道	
		阿里山山椒魚 (N = 29)	觀霧山椒魚 (N = 41)	臺灣山椒魚 (N = 61)	楚南氏山椒魚 (N = 49)	南湖山椒魚 (N = 31)	
節肢動物門		-	1	-	-	-	
昆蟲綱		-	2	-	-	-	
鱗翅目		3	2	6	14	4	
尺蛾科		-	-	-	-	2	
毛翅目		1	-	3	-	-	
鞘翅目		2	2	4	2	1	
隱翅蟲科		6	4	9	16	2	
菊虎科		9	6	14	13	8	
象鼻蟲科		2	-	6	3	2	
紅螢科		-	1	4	-	1	
金龜子科		-	-	1	-	-	
叩頭蟲科		1	-	3	1	-	
擬步行蟲科		-	-	-	1	-	
步行蟲科		-	-	1	1	2	
扁蟲總科		3	-	-	-	1	
半翅目		-	-	-	-	-	
頸喙亞目		-	-	-	-	-	
圓飛蝨科		1	-	-	1	-	
菱飛蝨科		-	-	4	2	1	
葉蟬科		-	-	-	1	-	
沫蟬科		-	-	-	-	1	
胸喙亞目		-	-	-	-	-	
蚜總科		2	-	-	1	-	
異翅亞目		-	-	2	1	-	
地長椿科		-	1	1	4	-	
獵椿科		-	-	-	-	1	
奇椿科		-	1	-	-	-	
膜翅目		-	-	-	-	-	
寄生蜂下目		2	1	6	2	4	
蟻總科		-	-	1	1	1	
脈翅目		-	-	-	-	-	
姬蛉科		-	-	-	1	-	
翼蛉科		-	-	-	1	-	

表 3-4、山椒魚族群調查熱點的胃內容物組成 (續)

獵物種類 (碎片數)	採樣地點 物種 食性樣本數	神木林道		巨木步道		畢祿林道	
		阿里山山椒魚	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	
		(N = 29)	(N = 41)	(N = 61)	(N = 49)	(N = 31)	
長翅目		-	-	-	-	-	
蠍蛉科		-	-	2	2	-	
雙翅目		-	-	1	-	-	
長角亞目		-	-	-	-	-	
大蚊科		-	3	6	6	1	
蕈蚋科		1	1	2	-	3	
搖蚊科		-	1	-	3	1	
黑翅蕈蚋科		1	-	1	2	3	
劍蛇科		-	-	1	-	-	
瘦蚋科		-	-	1	-	-	
毛蚋科		-	-	1	-	1	
蠓科		-	-	-	1	-	
短角亞目		-	1	1	2	1	
水虻科		1	1	2	1	3	
蚤蠅科		1	-	-	-	1	
舞虻科		-	-	-	1	-	
沼蠅科		-	-	1	-	-	
倍足綱		-	-	-	-	-	
帶馬陸目		1	11	4	11	2	
泡馬陸目		-	1	-	2	1	
平馬陸目		-	-	-	1	-	
多板馬陸目		-	-	-	-	1	
唇足綱		-	-	-	-	-	
石蜈蚣目		6	4	9	11	8	
地蜈蚣目		2	1	1	3	1	
軟甲綱		-	-	-	-	-	
等足目		-	-	-	-	-	
潮蟲亞目		3	2	-	2	2	
海蟑螂科		9	10	8	5	3	
氣肢蟲科		1	-	1	-	-	
喜陰蟲科		-	-	4	3	1	
端足目		-	-	-	-	-	
跳蝦科		-	1	-	-	-	

表 3-4、山椒魚族群調查熱點的胃內容物組成 (續)

獵物種類 (碎片數)	採樣地點 物種 食性樣本數	神木林道		巨木步道		畢祿林道	
		阿里山山椒魚 (N = 29)	觀霧山椒魚 (N = 41)	臺灣山椒魚 (N = 61)	楚南氏山椒魚 (N = 49)	南湖山椒魚 (N = 31)	
蛛形綱		-	-	1	-	-	
蜘蛛目		4	2	5	5	3	
絨蟎目		-	1	1	-	-	
甲蟎亞目		2	2	6	2	-	
盲蛛目		2	1	4	6	3	
擬蠍目		2	-	3	1	1	
內口綱		-	-	-	-	-	
彈尾目		-	-	-	-	-	
長角跳蟲科		1	4	6	2	4	
疣跳蟲科		-	-	1	-	1	
環節動物門		-	-	-	-	-	
蛭亞綱		-	-	-	-	-	
山蛭科		-	-	-	-	1*	
寡毛亞綱		1	2	-	5	1	
圓形動物門		1	-	1	-	-	
軟體動物門		-	-	-	-	-	
腹足綱		-	3	5	6	2	
脊索動物門		-	-	-	-	-	
兩棲綱		-	-	-	-	-	
有尾目		-	-	-	-	-	
山椒魚科		4	3	5	2	-	

註：資料日期為 2020/03/21-2022/08/30，N 值表食性樣本數量，碎片數表鑑定物種數。

*：外寄生個體。

表 3-4、山椒魚族群調查熱點的胃內容物組成 (續)

獵物種類 (碎片數)	採 樣 地 點 物 種	神木林道		巨木步道		畢祿林道	
		阿 里 山 山 椒 魚	觀 霧 山 椒 魚	臺 灣 山 椒 魚	楚 南 氏 山 椒 魚	南 湖 山 椒 魚	
		食性樣本數 (N = 29)	(N = 41)	(N = 61)	(N = 49)	(N = 31)	
綜合綱		-	-	-	-	-	
蛛形綱		-	-	1	-	-	
蜘蛛目		3	2	5	4	2	
絨蟎目		-	1	1	-	-	
甲蟎亞目		1	2	4	2	-	
盲蛛目		8	-	4	3	1	
擬蠍目		2	-	1	2	-	
內口綱		-	-	-	-	-	
彈尾目		-	-	-	-	-	
長角跳蟲科		1	2	6	2	4	
疣跳蟲科		-	-	1	-	1	
環節動物門		-	-	-	-	-	
蛭亞綱		-	-	-	-	-	
山蛭科		-	-	-	-	1	
寡毛亞綱		-	1	-	4	1	
圓形動物門		1	-	1	-	-	
軟體動物門		-	-	-	-	-	
腹足綱		-	1	5	5	2	
脊索動物門		-	-	-	-	-	
兩棲綱		-	-	-	-	-	
有尾目		-	-	-	-	-	
山椒魚科		3	1	4	2	-	

註：資料日期：2020/03/21-2021/09/26

表 3-5、山椒魚族群調查熱點的胃內容物獵物種類之出現頻率

採樣地點	神木林道		820 林道		
	阿里山山椒魚	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚
食性樣本數	(N = 29)	(N = 41)	(N = 61)	(N = 49)	(N = 31)
獵物種類	出現頻率 (%)				
內口綱	3.45	9.76	9.84	4.08	12.90
昆蟲綱	65.52	41.46	63.93	77.55	74.19
倍足綱	3.45	29.27	9.76	26.53	9.68
唇足綱	20.69	12.20	16.39	24.49	22.58
軟甲綱	34.48	29.27	19.67	18.37	16.13
蛛形綱	31.03	14.63	36.59	24.49	19.35
腹足綱	-	7.32	6.56	10.20	3.23
蛭亞綱	-	-	-	-	3.23
寡毛亞綱	3.45	4.88	-	10.20	3.23
圓形動物門	3.45	-	1.64	-	-

註：資料日期：2020/03/21-2022/08/30。

表 3-6、畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成

物種	楚南氏山椒魚			臺灣山椒魚			南湖山椒魚		
	春季	夏季	秋季	春季	夏季	秋季	春季	夏季	秋季
食性樣本數	6	30	2	13	24	2	5	12	2
碎片數	34	125	15	52	118	16	34	63	4
內口綱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
彈尾目	2	-	-	4	3	-	1	2	2
昆蟲綱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
毛翅目	-	-	-	-	3	-	-	-	-
半翅目	2	8	-	1	6	-	2	2	-
長翅目	-	2	-	-	2	-	-	-	-
脈翅目	-	2	-	-	-	-	-	-	-
膜翅目	-	3	-	2	5	-	2	3	-
鞘翅目	3	29	5	9	30	3	6	11	-
雙翅目	7	8	1	5	11	1	4	10	-
鱗翅目	3	10	1	-	5	1	2	4	-
倍足綱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
平馬陸目	-	1	-	-	-	-	-	-	-
泡馬陸目	-	2	-	-	-	-	-	1	-
帶馬陸目	1	10	-	2	1	1	-	2	-
多板馬陸目	-	-	-	-	-	-	1	-	-
唇足綱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
石蜈蚣目	3	8	-	3	6	-	6	2	-
地蜈蚣目	-	2	1	1	-	-	-	1	-
軟甲綱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
等足目	1	8	1	4	6	4	1	4	1
蛛形綱	-	-	-	-	1	-	-	-	-
盲蛛目	3	2	1	2	1	1	1	2	-
絨蟎目	-	2	-	3	4	-	-	-	-
蜘蛛目	2	2	1	1	3	1	1	2	-
擬蠍目	-	1	-	-	2	1	-	1	-
腹足綱	2	4	-	1	4	-	-	1	-
蝸牛	-	-	-	-	-	-	-	-	-
蛭亞綱	-	-	-	-	-	-	-	1	-
寡毛亞綱	-	5	-	-	-	-	-	1	-
蚯蚓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
圓形動物門	-	-	-	1	-	-	-	-	-
線蟲	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 3-11、畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成 (續)

物種	楚南氏山椒魚			臺灣山椒魚			南湖山椒魚		
	春季	夏季	秋季	春季	夏季	秋季	春季	夏季	秋季
食性樣本數	6	30	2	13	24	2	5	12	2
碎片數	34	125	15	52	118	16	34	63	4
其他	3	5	-	3	9	-	3	1	-
山椒魚皮蛻	1	1	-	2	3	-	-	-	-
內臟	-	-	-	1	-	-	-	-	-
無法辨識	-	-	-	-	-	-	-	-	-
非獵物攝入物	-	-	-	-	-	-	-	-	-
植物	1	10	4	7	14	2	4	8	1
石塊	-	-	-	-	-	1	-	3	-

註：資料日期：2020/03/21-2022/08/30，食性樣本數表採樣山椒魚個體數，碎片數表鑑定物種數。
春季：3-5月，夏季：6-8月，秋季：9-11月。(本研究資料)

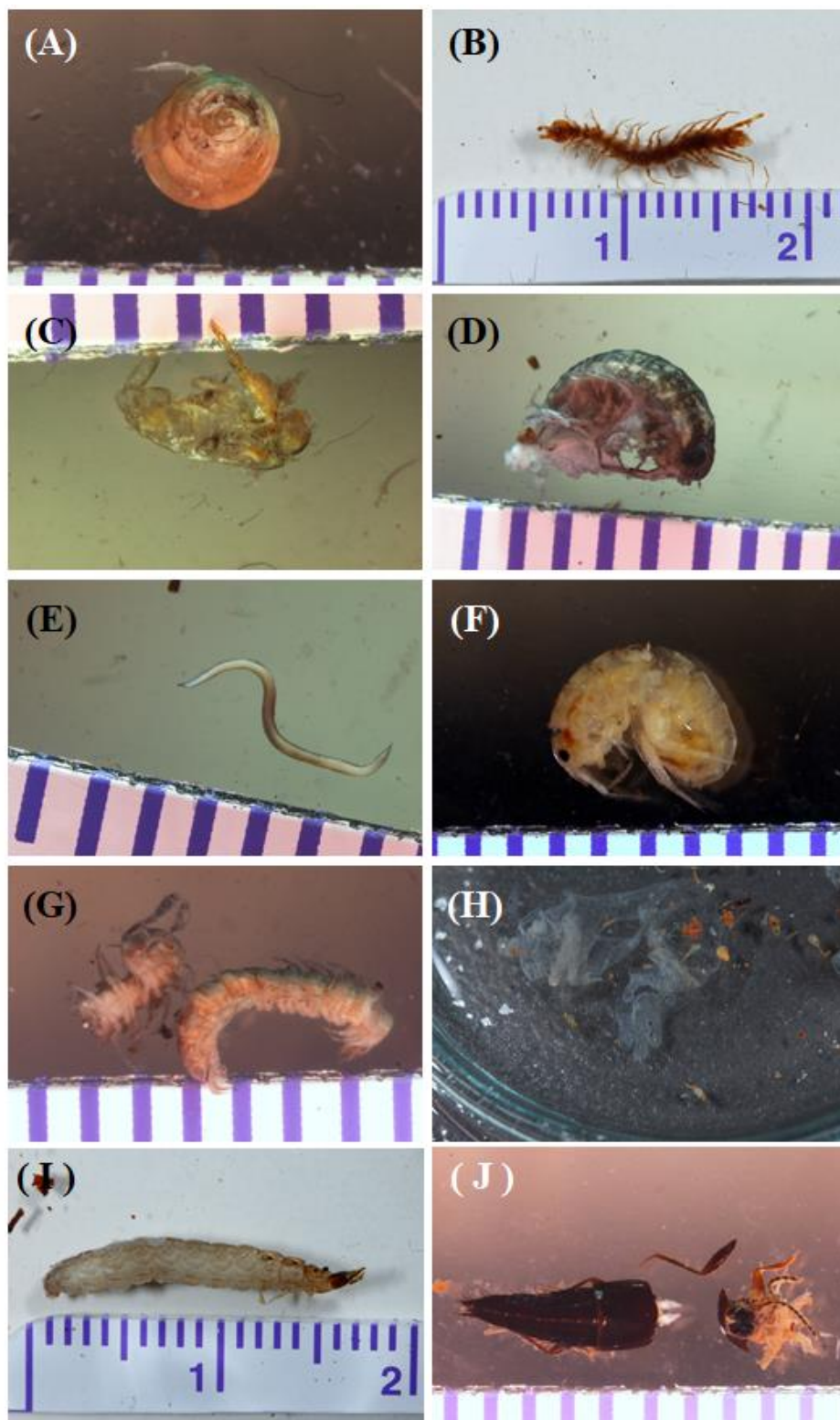


圖 3-1、山椒魚胃內容物

(A) 蝸牛 (腹足綱)；(B) 蜈蚣 (唇足綱 / 蜈蚣目)；(C) 長角跳蟲 (內口綱 / 彈尾目)；(D) 鼠婦 (軟甲綱 / 等足目)；(E) 線蟲 (圓形動物門)；(F) 跳蝦 (軟甲綱 / 端足目)；(G) 帶馬陸 (倍足綱 / 帶馬陸目)；(H) 山椒魚的皮蛻；(I) 菊虎 (幼蟲, 昆蟲綱 / 鞘翅目)；(J) 隱翅蟲 (昆蟲綱 / 鞘翅目)。(本研究資料)

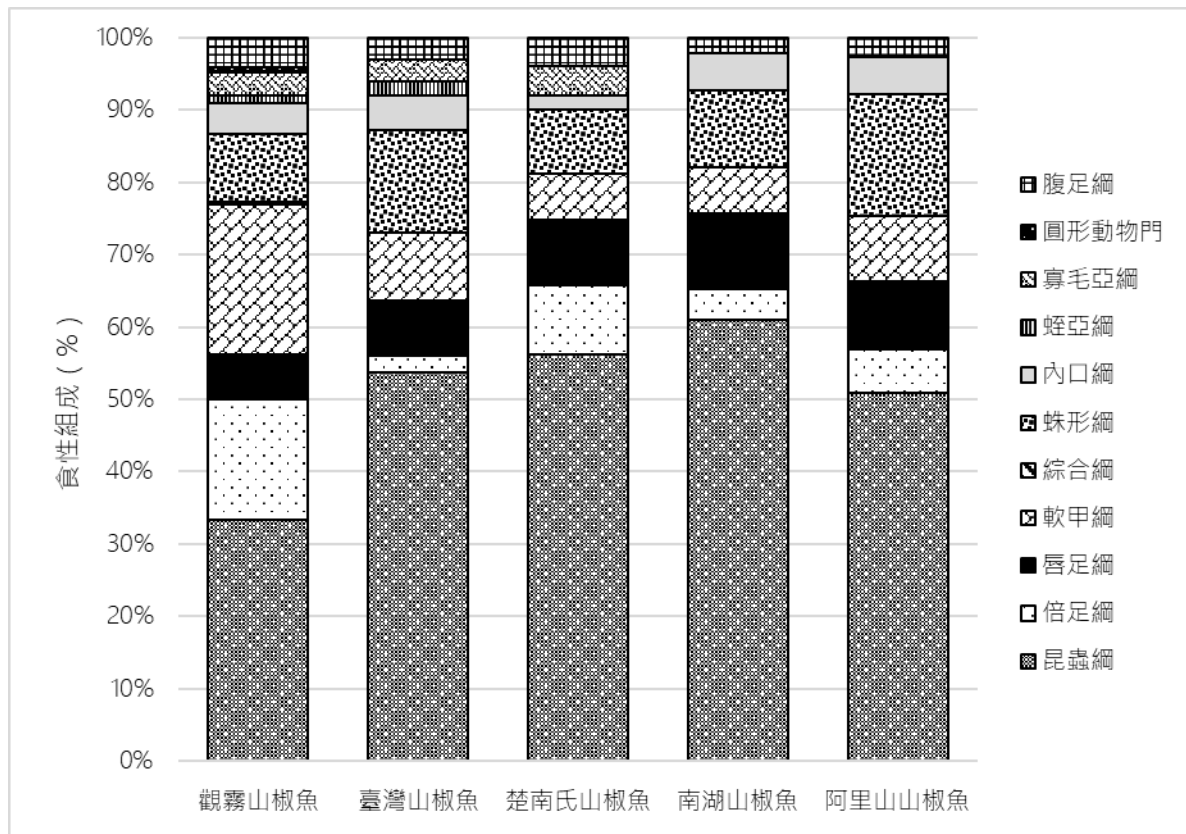


圖 3-2、臺灣產山椒魚胃內容物獵物數量組成
(本研究資料)

四、臺灣五種山椒魚的骨骼與生殖系統醫學影像

1. 建立山椒魚卵巢、輸精管醫學影像的成像技術

瞭解山椒魚的生殖生理是研究臺灣的山椒魚生活史至要的關鍵。臺灣的山椒魚難從外觀明確辨別雌雄，為建立低侵入性的性別鑒別方法，本計畫以微磁振造影(micro-MRI)、超音波掃瞄與泄殖腔內視鏡觀察法，完成 40 隻山椒魚的微磁振造影，取得 17 隻觀霧山椒魚、12 隻阿里山山椒魚、5 隻南湖山椒魚、3 隻臺灣山椒魚與 3 隻楚南氏山椒魚的生殖腺微磁振造影影像（表 4-1、圖 4-1 至 4-5）。

利用保冷運輸袋將採集的山椒魚自棲地移至低溫冷藏箱暫時飼養，溫度控制在 15-18°C。掃描當日，山椒魚以保冷運輸袋（維持袋內溫度低於攝氏 20 度）移至國立臺灣大學電機二館 7T 實驗室進行 micro-MRI 造影。以 MS-222 (Tricaine methanesulfonate) 80 mg / 100 mL 水溶液，碳酸氫鈉校正至 pH 7.0) 麻醉山椒魚，裝入預先開有直徑 1-2 mm 透氣孔的 50 mL 離心管，淋上適量麻醉維持液（40 mg / 100 mL MS-222 水溶液）保持體表濕潤，勿使山椒魚在液體中滑動，維持鼻孔朝上高出水面，以 BRUKER BIOSPEC 70/30 MRI 影像儀進行矢狀切面與冠狀切面造影，造影時間約 10 - 20 分鐘，加上前導麻醉時間總共約 25 - 30 分鐘可完成一隻山椒魚的生殖腺造影。取得影像後，參考極北鮡 (*Salamandrella keyserlingii*) 於不同季節的精巢與卵巢形態鑑定山椒魚的性別。

2. 建立山椒魚骨骼醫學影像的成像技術

山椒魚骨骼醫學影像的成像方法，將動物以低溫保存運輸至臺北市南港區「國家實驗動物中心」，以 MS-222 (80 mg/100 mL 水溶液) 浸泡麻醉後，浸於麻醉維持液（40 mg/100 mL MS-222 水溶液）保持體表濕潤，維持鼻孔朝上高出水面，放入小動物電腦斷層掃描儀(micro-computed tomography, SKYSCAN 1076 micro-CT) 進行骨骼造影，建立 35 μ m/slice

解析度的全身骨骼影像及 $18 \mu\text{m/slice}$ 解析度的頭部、前肢及後肢骨骼影像。完成全身骨骼影像的掃描後，以更低濃度的 MS-222 (20-30 mg/100 mL) 替換部分麻醉維持液，進行頭部、前肢及後肢骨骼造影。利用軟體 CTVOX (BRUKER) 進行 3D 影像重建。

3. 以微型磁振造影進行山椒魚的性別鑑定

完成的 40 隻山椒魚微型磁振造影中，34 隻 (85.0%) 山椒魚完成性別鑑定 (表 4-1)，有 31 隻 (77.5%) 在 1 次造影即可辨識出精巢或卵串的構造，有 3 隻在不同月份進行多次造影後可辨別出雌雄。另外有 6 隻無法辨別出性腺組織，種類全部為觀霧山椒魚。

觀霧山椒魚性別鑑定成功率較低 (65.0%) 的可能原因推測為造影的月份與繁殖季接近，由域內圈養的情形可見觀霧山椒魚約在 11 月 - 4 月進行繁殖，產卵月份約在 12 月。而無法鑑定性別的觀霧山椒魚，其進行造影的時間為 2 月份 3 隻、9 月份 1 隻、11 月份 1 隻、12 月份 1 隻，可能捕捉當下是已經繁殖結束的個體，卵巢和精巢都已經萎縮，加上觀霧山椒魚體型較小，萎縮的生殖腺在微型磁振造影下比其他四種山椒魚不易辨讀，增加性別鑑定的困難度。

4. 生殖腺的形態變化

有尾目 (urodele) 的生殖器官在不同季節有形態上的變化。以小鮡科為例，雄性極北鮡 (*S. keyserlingii*) 在春季時精巢 (testis) 的體積和重量達到最高。在精子排入輸精管 (spermiation) 後精巢體積和重量急遽下降，輸精管 (vasa deferentia) 直徑上升，至繁殖後進入夏季，精巢的體積重新上升；雌性極北鮡的卵串，如同雄性，在春季排卵前達到最大的卵串體積，卵巢在夏季重新開始產生卵子，輸卵管開始肥大 (YARTSEV and KURANOVA, 2015)。小鮡屬的黑山椒魚 (*H. nigrescens*)，雄性的精巢及輸精管同樣在繁殖季節與非繁殖季節有明顯的形態變化，輸精管在 3

月繁殖季高峰雄性山椒魚排精後有最大直徑，同時精巢的重量與體積縮小，於 7 月至 9 月恢復有最大的精巢重量，同時期的輸精管則萎縮呈細線狀，直到秋季，輸精管直徑才又開始上升 (Hasumi *et al.*, 1990)。

本研究以微型磁振造影追蹤 4 隻阿里山山椒魚 (3 雄 1 雌)、1 隻南湖山椒魚 (雄) 在不同月份下生殖腺的形態變化 (圖 4-6)。追蹤的 1 隻南湖山椒魚雄性個體 HGPL200804-13 於 2020 年 8 月捕捉，2020 年 9 月、12 月及 2021 年 9 月各進行一次造影，觀察到 2020 年 12 月的精巢體積略大於 9 月，兩者皆無明顯的輸精管構造被觀察到，而在 2021 年 9 月的精巢為三次造影中最大，並可觀察到呈螺旋狀的輸精管。追蹤的 4 隻阿里山山椒魚捕捉於 2020 年 6 月，分別敘述如下：

- (1) 雄性個體 HAHSS200629-07：於 2021 年 3 月及 8 月造影，觀察到精巢體積 8 月較 3 月為大，並可觀察到呈螺旋狀的輸精管
- (2) 雄性個體 HAHSS200630-07：於 2020 年 7 月及 2021 年 8 月造影，觀察到同樣在夏季，該個體的精巢體積在 2021 年 8 月明顯大於 2020 年 7 月。
- (3) 雄性個體 HAHSS200630-04：於 2020 年 8 月、12 月及 2021 年 8 月造影，可觀察到螺旋狀輸精管。
- (4) 雌性個體 HAHSS200630-05：於 2021 年 3 月及 8 月造影，在 3 月觀察到發育中的卵串，在 8 月的觀察時已經縮小。

搭配人工圈養追蹤同一個體的山椒魚其性腺的季節變化，以此方法追蹤的初步結果，確認阿里山山椒魚與南湖山椒魚和小鮡科的其他物種同樣會隨時間改變生殖腺的形態，並對臺灣產山椒魚在繁殖期與非繁殖期的生殖腺在 mMRI 影像下的形態有進一步瞭解，進而改善以 mMRI 進行性別鑒定的資料判讀準確度。然而，在部分雄性個體上觀察到，即使在同樣季節，前一年與當年的精巢形態差異甚鉅，是由於恆溫與光照固定的圈養環境造成生殖週期改變，或自然狀態下臺灣的山椒魚其繁殖週期間

隔本來就大於一年，受限執行期間限制未有明確定論。有待未來追縱光照與氣溫週期類似原生地的域內圈養個體。

5. 性別鑑定的建議方式

依據前述微型磁振造影的結果，以微型磁振造影進行臺灣產山椒魚的性別鑑定是可行的，觀霧山椒魚可於每年 7-8 月，臺灣山椒魚 9-11 月，楚南氏山椒魚 10 月，南湖山椒魚 9 月，阿里山山椒魚 3-10 月期間捕捉並進行微型磁振造影，每隻個體掃描冠狀切面及矢狀切面，約 30 分鐘即可獲得一隻個體的性別鑑定結果。

6. 骨骼形態分析

骨骼形態是重要的動物分類依據，為了建立臺灣的山椒魚骨骼形態資料，以微電腦斷層掃描造影，建立觀霧山椒魚，楚南氏山椒魚、南湖山椒魚、臺灣山椒魚、阿里山山椒魚的全身骨骼電腦斷層影像。並分析 13 隻阿里山山椒魚後肢骨骼影像。

(1) 頭部骨骼 (skull):

有尾目的頭骨由內部的軟骨組織 (endochondral bones) 以及外部的硬骨 (dermal bones) 所組成 (Duellman and Trueb, 1986)，兩者之中能在 micro-CT 下成像的組織為硬骨，因此本次的分析將針對硬骨，將頭骨分成四個部分描述及討論：

Dermal skull roof 從顱骨的背面 (dorsal) 來看，不同種的山椒魚及個體在前上頷骨 (premaxilla) 延伸至鼻骨 (nasal) 接合處的形狀有很大的差異。南湖山椒魚具有前額窗 (anterodorsal fenestra)，鼻骨和額骨 (frontal) 之間也有圍繞出孔洞，楚南氏山椒魚則缺乏前額窗，反而是鼻骨之間圍繞出孔洞，臺灣山椒魚有前額窗，兩片鼻骨之間也有圍繞出長條形的孔洞，阿里山山椒魚則是只有在前上頷骨的交接處有孔洞。

懸垂骨 (Suspensorium) 四種山椒魚 (南湖、楚南氏、臺灣、阿

里山)的懸垂骨在不少骨骼都有形態差異:(a). 差異最大的部分是前耳骨 (prootic) 對鱗骨 (squamosal) 的相對大小。從背面看, 南湖山椒魚與臺灣山椒魚的鱗骨都比前耳骨大許多, 但臺灣山椒魚的鱗骨長度更長, 而楚南氏山椒魚的鱗骨和前耳骨比例較為接近, 阿里山山椒魚的鱗骨則是四種山椒魚當中比例最小的。(b). 四種山椒魚的翼骨前外側突 (pterygoid anterolateral process) 長度與形狀亦有差異, 以楚南氏山椒魚的相對長度最長。

上顎 (palate) 山椒魚上顎的鋤齒 (vomerine teeth) 不只在同一個體的生活史不同時期會產生變化 (Xiong *et al.*, 2014), 不同個體間也有差異。在過去的研究中, 鋤齒也是一個分析時常用的衍徵 (Peng Zhang *et al.*, 2006), 但是臺灣過去的研究顯示鋤齒的形態以及齒數在較小的分類單元 (taxon) 的分類上並不是一個穩定的特徵 (賴, 2008), 臺灣的山椒魚是否能依照鋤齒形態來進行種或是族群尺度的分類, 尚需更多資料才能進一步推論。

下顎 (Mandible) 整個下顎由四種硬骨組成, 分別是齒骨 (dentary)、前關節骨 (prearticular)、隅骨 (angular), 還有關節骨 (articular)。齒骨是整個下顎最大的骨頭, 兩塊齒骨形成向內的弧度, 並且在前端組成下頷聯合 (mandibular symphysis)。臺灣五種山椒魚的下顎形態上都有些許差異, 依照其他研究 (Zelditch *et al.*, 2017) 顯示, 下顎的大小或形狀在特定情況下會與食性以及適應演化相關, 但是臺灣的山椒魚的下顎是否有適應性演化的作用則需要更加精細的測量與分析才能得知更多資訊。

(2) 中軸骨 (Axial skeleton):

小鯢科的中軸骨大約分成五個部分, 由吻端至尾端分別為單節的寰椎骨 (atlas, 第一頸椎骨), 15 - 19 節軀幹骨 (trunks), 連接腸骨 (ilium) 的單節薦骨 (sacrum), 2 - 4 節尾骶骨 (caudosacrals), 以

及 15 - 20 節尾椎骨 (caudal vertebrae) (圖 4-10)。臺灣過去的相關研究測量了臺灣五種山椒魚的中軸骨數量差異(陳及呂, 1987; 賴, 2008), 在種間或是種內, 中軸骨的數量都可能有變異。本計劃收集之樣本, 除了寰椎骨以及薦骨的數量在不同山椒魚都是 1 節, 其他部分的中軸骨數量都有差異, 其中尾椎骨的差異最大(表 4-2), 推估尾椎節數的差異大可能與體型差異或是有無斷尾過有關。蠃螈的脊椎數量在某些程度上決定了身型, 而脊椎數量可能與氣候相關 (Arntzen *et al.*, 2015)。如陸生型蠃螈的軀幹骨會隨著氣候越乾而增加數量, 可能是對挖掘泥土需求的適應。而臺灣的山椒魚分佈海拔差異極大, 期間涵蓋了各種不同雨量以及溫度的環境。比較脊椎數量或許能回答山椒魚適應與演化上的議題, 但需對特定族群或是不同氣候類型的山椒魚做更完整的採樣。

(3) 附肢骨 (Appendicular skeleton):

胸帶 (Pectoral girdle) 與前肢 (forelimbs) 胸帶只有由前烏喙骨 (procoracoid) 和烏喙骨 (coracoid) 融合形成的單一膊喙骨 (scapulocoracoid) 有骨化, 其他部分都維持軟骨。膊喙骨有一凹窩連接肱骨 (humerus), 肱骨的遠端分別連接橈骨 (radius) 以及尺骨 (ulna), 橈骨的形態近端維持圓筒狀, 遠端則變成寬大的扁平狀, 而尺骨則相反, 是近端呈扁平狀 (圖 4-11)。橈骨及尺骨遠端連接的是一組骨化的肢板 (mesopodium), 大約包含 6-7 個小骨頭, 在不同物種以及生活史之間骨化程度會有差異。肢板的比較結果顯示臺灣四種山椒魚基本的塊數是 7 塊 (表 4-2)。掃描的兩隻體型有區別的臺灣山椒魚在骨化的肢板元件 (mesopodial elements) 組成就有明顯差異。除了體型小的那一隻臺灣山椒魚外, 其他山椒魚外側的尺側腕骨 (ulnare) 與中間跗骨 (intermedium) 融合為一塊, 在近端與橈骨以及尺骨相接, 遠端與中央腕骨 (centrale) 相接, 但體型小的臺灣山椒魚個體, 其尺側

腕骨與中間跗骨的硬骨彼此分離，兩者之間只以軟骨連接。在肢板的遠端，有 *basale commune* 於遠端連接 1 號與 2 號掌骨 (*metacarpal 1, 2*)，3 號、4 號遠端腕骨 (*distal carpal 3, 4*) 則於遠端分別連接 3 號及 4 號掌骨 (*metacarpal 3, 4*)。除體型小的臺灣山椒魚個體外，其餘的山椒魚樣本在 1 號掌骨的近端皆有兩塊硬骨，分別是前拇指 (*prepolles*) 與橈側腕骨 (*radiale*)。橈側腕骨在近端與橈骨相接。已掃描的四種山椒魚，前肢掌骨數量皆是四支，與外表所見的四根前指對應，指式 (*phalangeal formula*) 在種間與種內都存在變異，這次的結果顯示楚南氏山椒魚的指式為 2-2-2-2，南湖山椒魚的指式為 2-2-2-2，臺灣山椒魚的指式為 2-2-2-2 以及 1-1-2-1，但指骨的節數可能會受損傷、再生階段與畸形影響。本計劃的結果顯示就算是同種山椒魚，其骨骼形式也可能會與個體差異或是生長階段有關聯。

腰帶 (Pelvic girdle) 與後肢 (hind limbs) 山椒魚的後肢構造與前肢相似，股骨 (*femur*) 的近端與 *acetabulum* 連接，股骨的長度與肱骨相當，近端較為接近圓柱，遠端則變為扁平狀，在靠近近端有一鈎狀突起，轉節 (*trochanter*) (圖 4-12)。股骨的遠端則連接腓骨 (*fibia*) 以及脛骨 (*tibia*)，腓骨以及脛骨的兩端為扁平狀，遠端共同與肢板元件連接。有尾目基本的肢板元件形式為 9 塊，與前肢一樣，數量以及骨化程度有個體差異。腓骨以及脛骨的遠端連接中間跗骨、脛側跗骨 (*tibiale*)、以及腓側跗骨 (*fibulare*)，中間跗骨的遠端以及腓側跗骨共同連接中央腕骨，脛側跗骨的遠端連接前拇趾 (*prehallux*)。四種山椒魚之中體型小的那一隻臺灣山椒魚的肢板元件與其他種差異最大，只有 6 塊硬骨，與典型的 9 塊肢板元件比較，除了缺乏 5 號遠端跗骨 (*distal tarsal 5*) 之外，脛側跗骨及前拇趾也沒有完成骨化。肢板的遠端有一塊 *basale commune* 與數塊遠端跗骨，*basale commune* 連接於 1 號及 2 號蹠骨 (*metatarsal*)，外觀有五隻腳趾的山椒魚有五根蹠骨，遠端跗骨的數

量為 3，而外觀有四隻腳趾的山椒魚只有四根蹠骨，遠端跗骨的數量為 2，蹠骨與遠端跗骨的對應方式與前肢相似（表 4-2）。臺灣山椒魚的後腳趾外觀數量為 4，趾式方面分別是臺灣山椒魚 2-2-3-2，而在後趾外觀為 5 趾的山椒魚之中，楚南氏山椒魚的趾式為 2-2-3-3-1，南湖山椒魚為 2-2-3-2-0（代表第五趾只有掌骨沒有趾骨），阿里山山椒魚主要為 2-2-2-3-2。另比較 13 隻阿里山山椒魚的後肢肢板差異，硬骨數量為 7-9 塊，顯示出種內的變異非常常見（圖 4-13）。

本研究初步地描述臺灣的山椒魚硬骨差異，除四種山椒魚在頭骨骨骼之間的開孔程度存在些許差異外，若由分析樣本，可發現骨骼形態在種內的變異相當常見（如阿里山山椒魚的後肢骨），且山椒魚的體型大小也可能影響前後肢腕骨的骨化程度及尾骨數量（如臺灣山椒魚）。且微電腦斷層需長時間麻醉，使用特定的儀器與實驗地點才有辦法進行，其方便性較低。因此，臺灣的山椒魚若依靠骨骼進行物種鑑別有其困難。另外，本研究分析用的樣本非常少，僅能提供初步的形態描述，未來如需量化骨骼的形狀以及大小作比較，需要使用如 Geometric morphometrics 的方式測量才能達成(Pogoda and Kupfer, 2018)。

表 4-1、以微核磁共振掃描鑑別山椒魚的性別

物種	完成造影 (隻)	雄 (隻)	雌 (隻)	無法判斷 (隻)	鑑別成功(%)
觀霧山椒魚	17	4	7	6	65
臺灣山椒魚	3	1	0	0	100
楚南氏山椒魚	3	2	1	0	100
南湖山椒魚	5	2	3	0	100
阿里山山椒魚	12	8	4	0	100

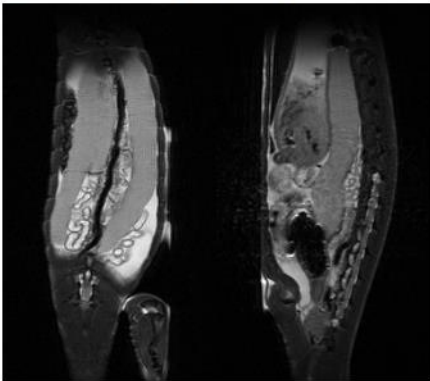
(本研究資料)

表 4-2、臺灣產山椒魚骨格形態比較。

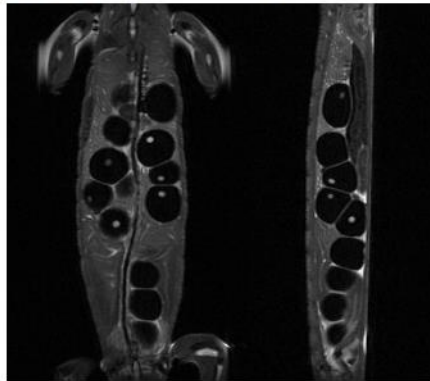
物種	觀霧山椒魚	臺灣山椒魚	楚南氏山椒魚	南湖山椒魚	阿里山山椒魚
中軸骨¹					
N	2	2	1	1	1
寰椎	1	1	1	1	1
軀幹骨	14, 15	15	16	16	16
薦骨	1	1	1	1	1
尾骶骨	2	2	2	2	2
尾椎	14, 16	16, 18	19	21	19
前肢掌骨					
N	2	2	1	1	1
前肢掌骨數量	6, 7	6, 7	7	6	6
前肢指式	2-2-2-1	2-2-2-2 ; 1-1-2-1	2-2-2-2	2-2-2-2	2-2-2-2
後肢掌骨					
N	2	1	1	1	13
後肢掌骨數量	8	6, 8	9	9	7-9
後腳趾式	2-2-3-2	2-2-3-2	2-2-3-3-1	2-2-3-2-0	2-2-2-3-2 為主

¹ 中軸骨 (axial skeleton); 寰椎 (atlas); 軀幹骨 (trunk); 薦骨 (sacrum); 尾骶骨 (caudosacral); 尾椎 (caudal)。(本研究資料)

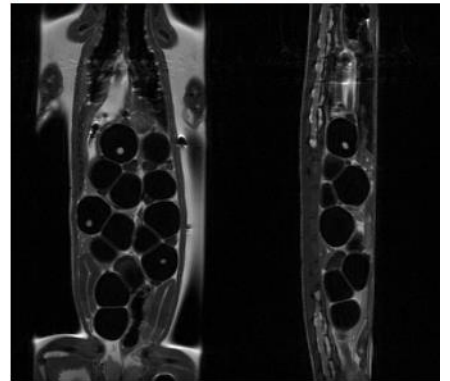
HGNH190703-03 (M)



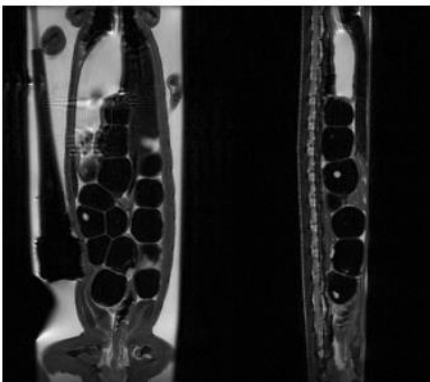
HGPL200804-09 (F)



HGPL200804-10 (F)



HGPL200804-11 (F)



HGPL200804-13 (M)

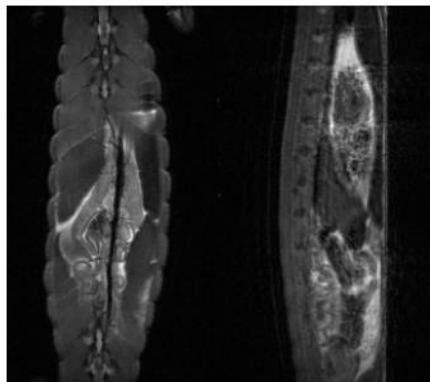
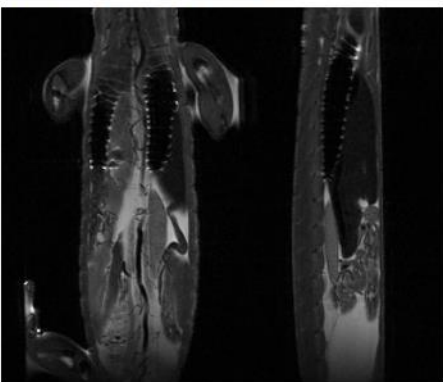
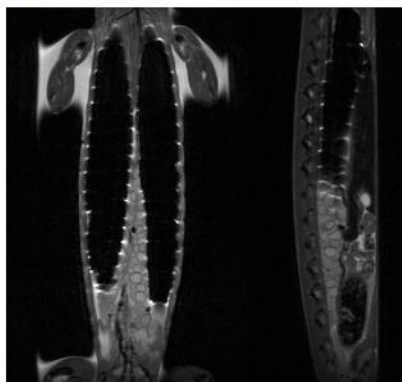


圖 4-1、南湖山椒魚 mMRI 影像
(本研究資料)

HSPL210927-05 (M)



HSPL210927-08 (F)



HSPL210927-09 (M)

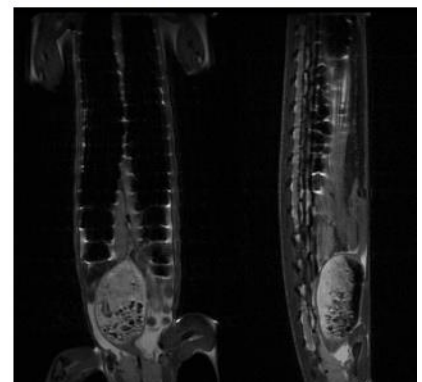


圖 4-2、楚南氏山椒魚 mMRI 影像
(本研究資料)

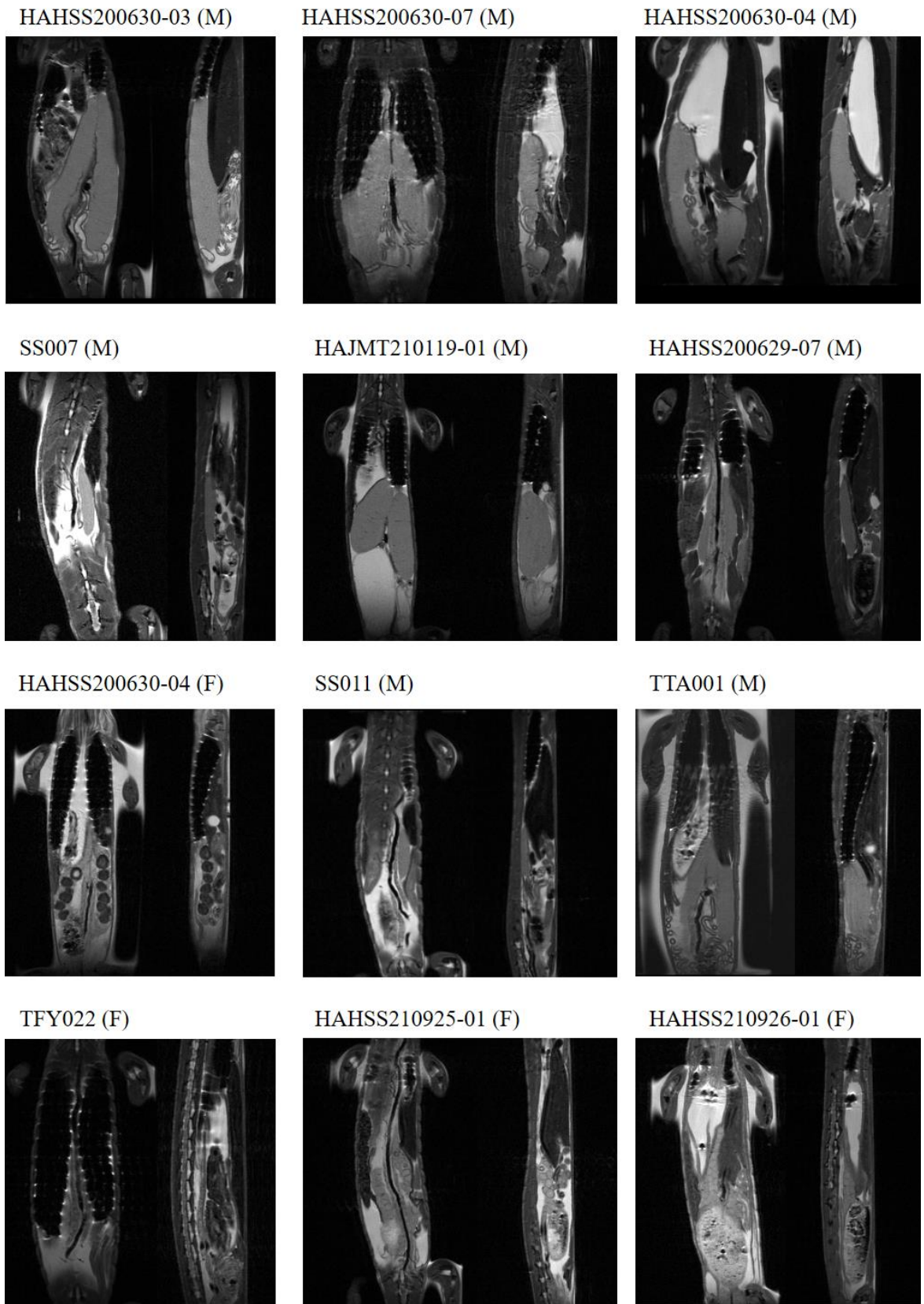
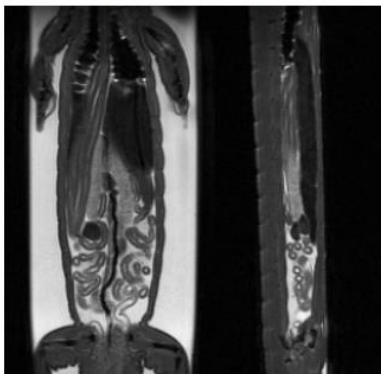
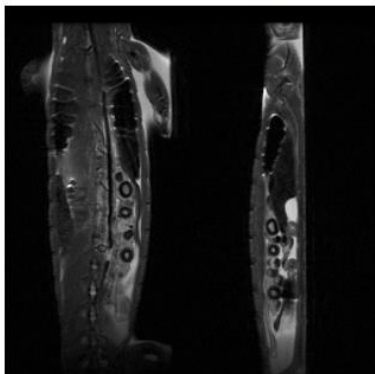


圖 4-3、阿里山山椒魚 mMRI 影像
(本研究資料)

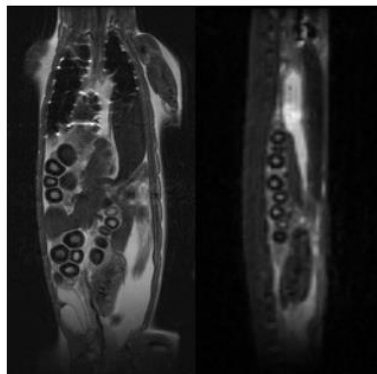
HFKW200509-01 (M)



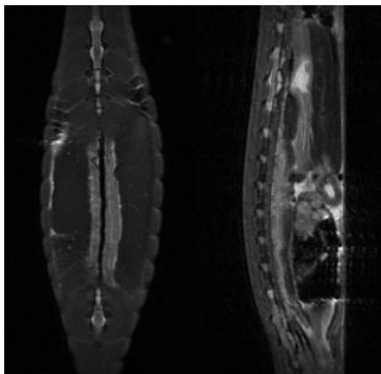
HFKW200509-02 (F)



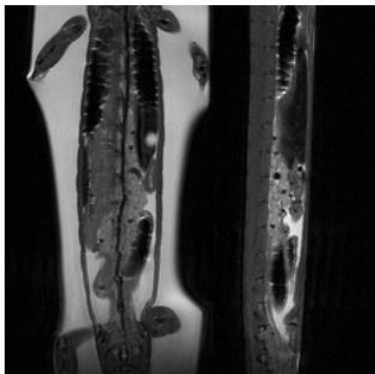
HFKW200509-03 (F)



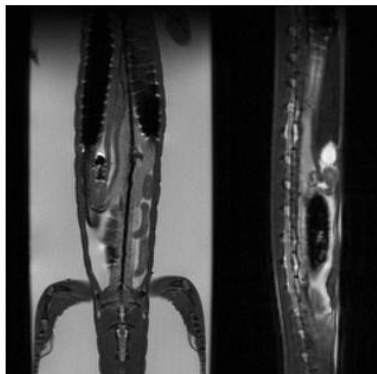
HFMDR200510-01 (M)



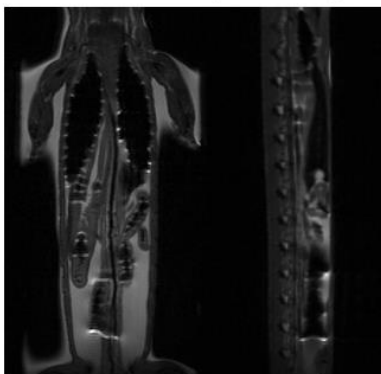
HFKW200810-07 (F)



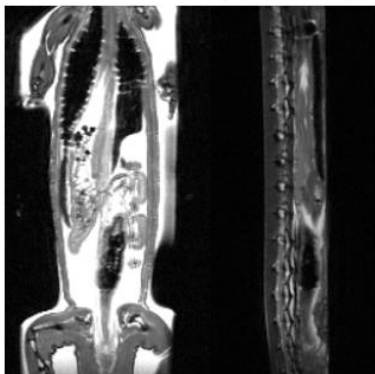
HFMDR200811-01 (M)



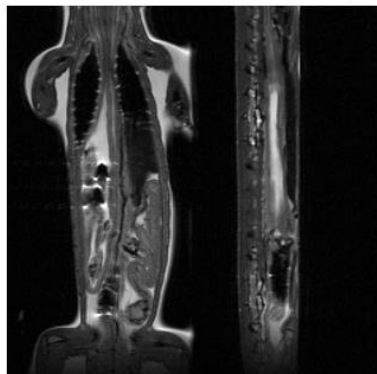
HF20210201-01 (無法判斷)



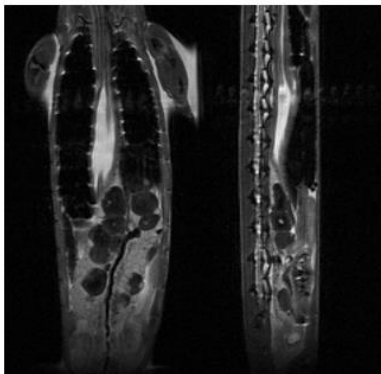
HF20210201-02 (無法判斷)



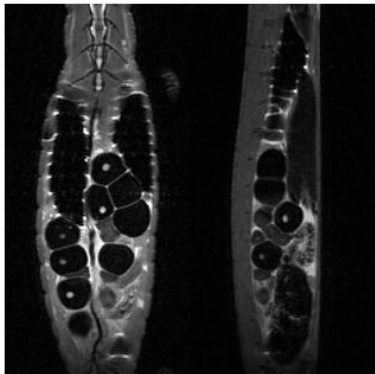
HF20210202-02 (無法判斷)



HF20210203-03 (F)



HFKW210827-01 (F)



HFKW210827-03 (F)

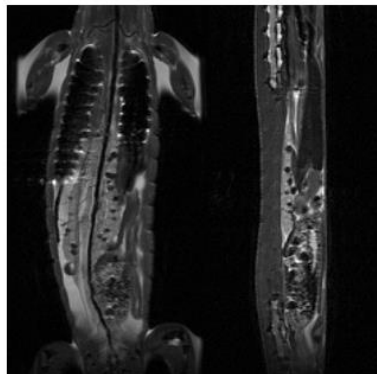
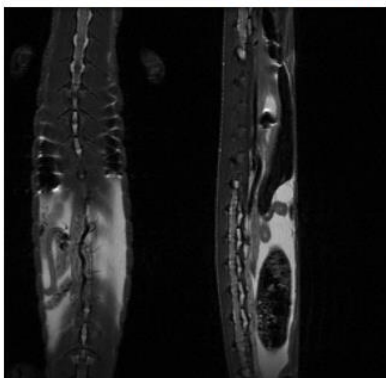


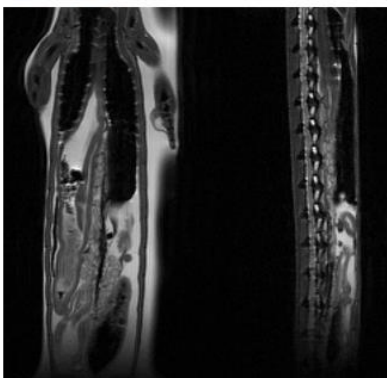
圖 4-4、觀霧山椒魚 mMRI 影像

(本研究資料)

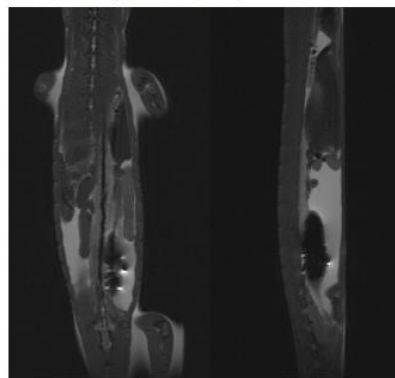
HFKW210827-04 (無法判斷)



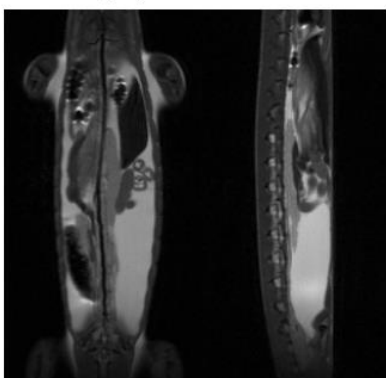
HF#01 (F)



HF#02 (無法判斷)



HF#03 (M)



HF#04 (無法判斷)

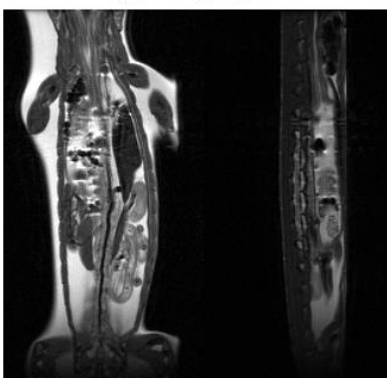
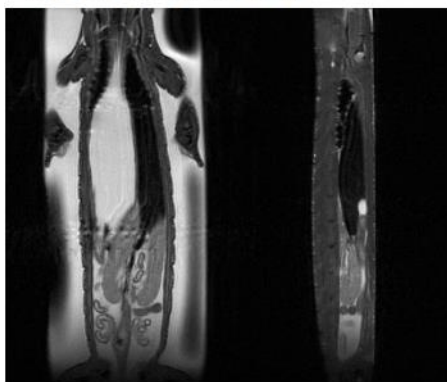


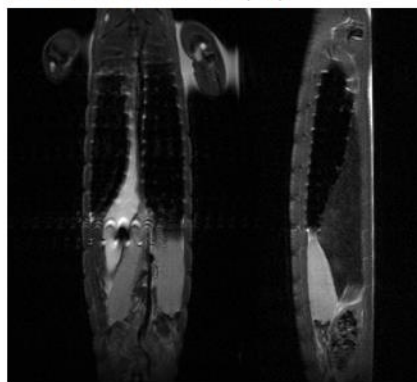
圖 4-4、觀霧山椒魚 mMRI 影像 (續)

(本研究資料)

HTPL210927-01 (M)



HTPL210928-01 (M)



HTPL210928-08 (F)

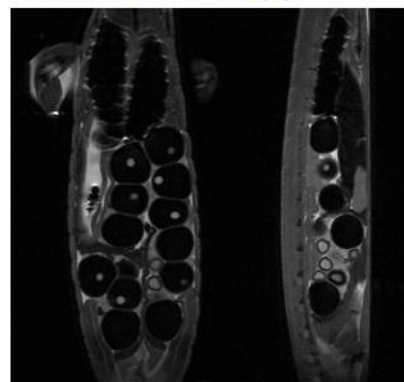


圖 4-5、臺灣山椒魚 mMRI 影像

(本研究資料)


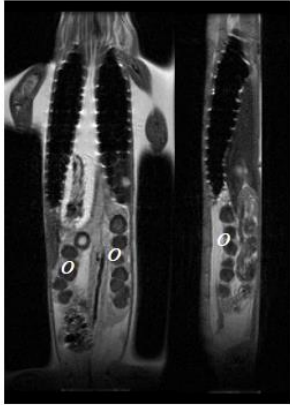
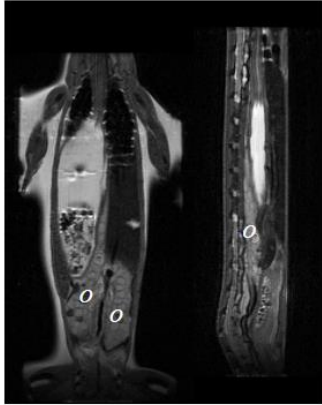

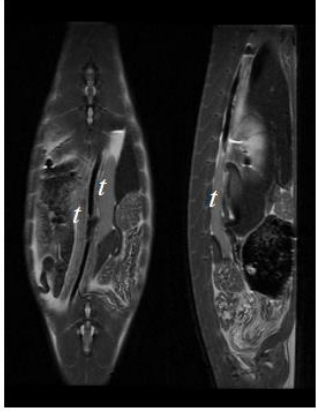
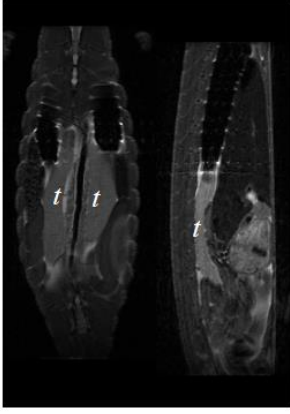
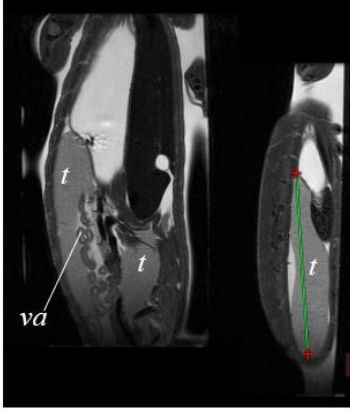

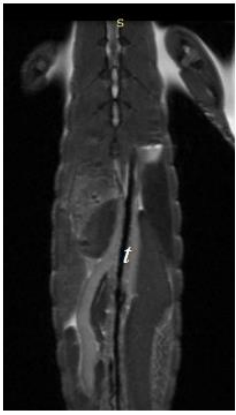
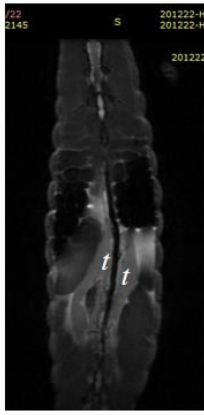
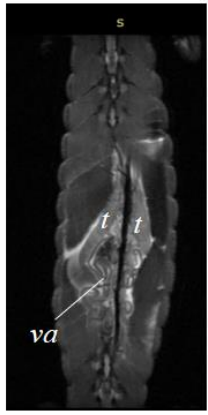
HAHSS200630-05 (阿里山山椒魚, 雌)			
2020年6月	2021年3月	2021年8月	
			
HAHSS200630-04 (阿里山山椒魚, 雄)			
2020年6月	2020年8月	2020年12月	2021年8月
			
HGPL200804-13 (南湖山椒魚, 雄)			
2020年8月	2020年9月	2020年12月	2021年9月
			

圖 4-6、臺灣產山椒魚的生殖腺形態變化
(本研究資料)

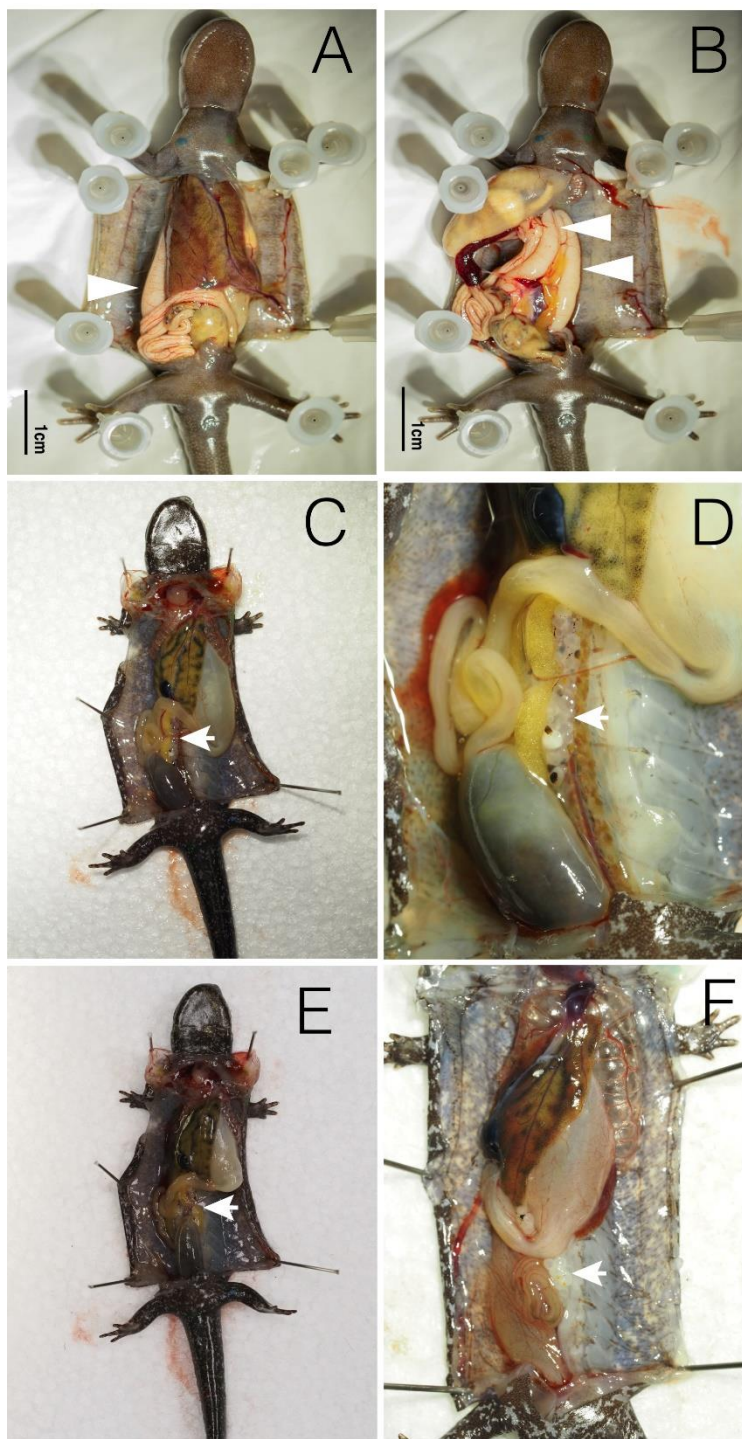


圖 4-7、阿里山山椒魚與觀霧山椒魚生殖腺

(A)(B)阿里山山椒魚(雄);(C)-(F)觀霧山椒魚(雌);箭頭:山椒魚的睪丸(圖A、B)及卵串(圖C至F)。(本研究資料)

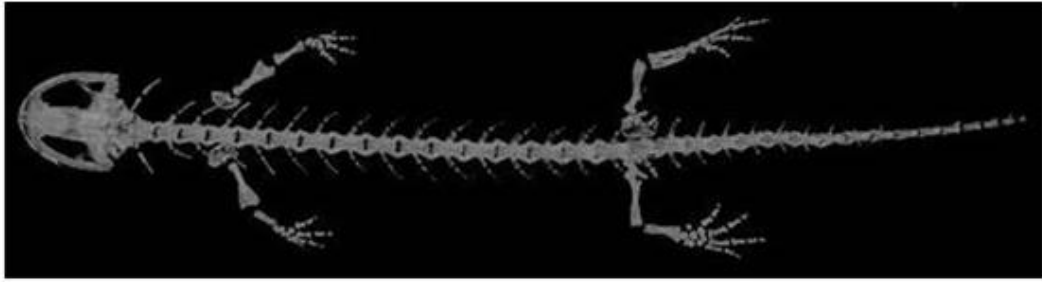


圖 4-8、觀霧山椒魚全身骨骼 micro CT 影像

(背側，個體 F2) (本研究資料)

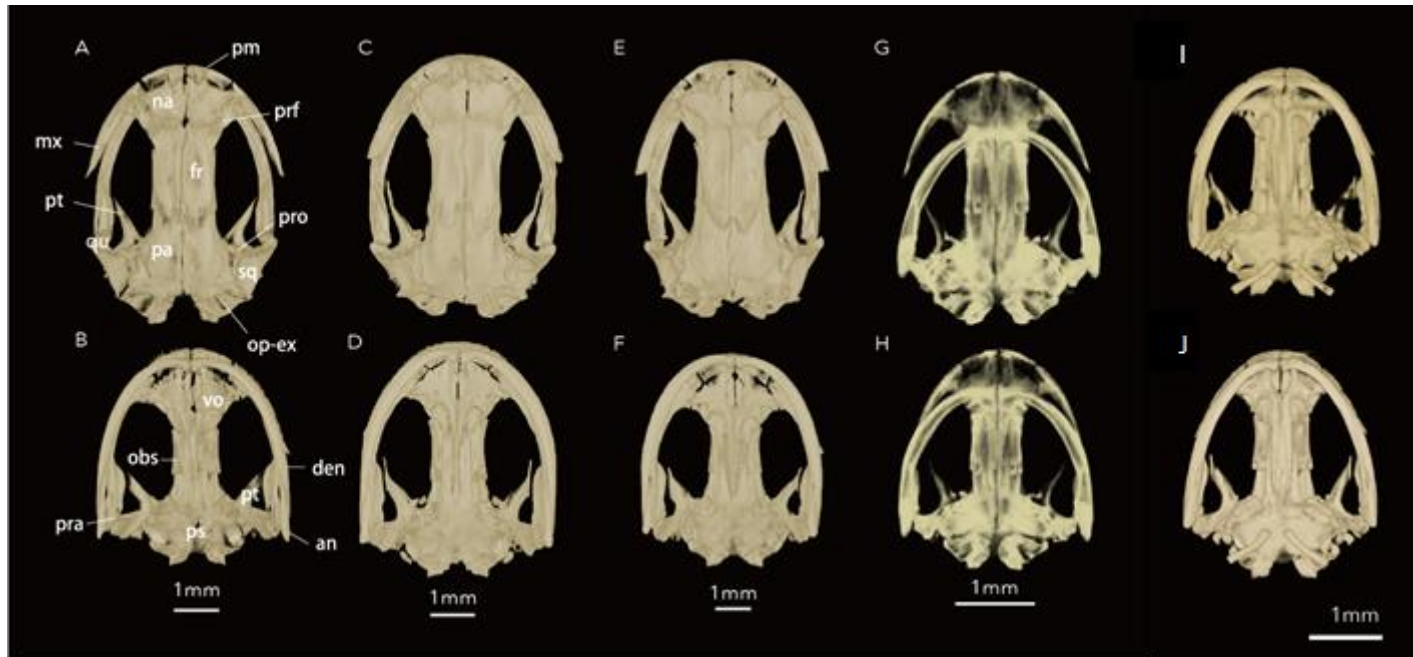


圖 4-9、五種山椒魚的頭骨形態

(A) 南湖山椒魚 (*dorsal view*)，(B) 南湖山椒魚 (*ventral view*)，(C) 楚南氏山椒魚 (*dorsal view*)，(D) 楚南氏山椒魚 (*ventral view*)，(E) 臺灣山椒魚 (*dorsal view*)，(F) 臺灣山椒魚 (*ventral view*)，(G) 阿里山山椒魚 (*dorsal view*)，(H) 阿里山山椒魚 (*ventral view*)，(I) 觀霧山椒魚 (*dorsal view*)，(J) 觀霧山椒魚 (*ventral view*)。an 髑白，den 齒骨，fr 額骨，mx 上頷骨，na 鼻骨，obs 眶蝶骨，op-ex 後耳骨-外枕骨聯合，pa 頂骨，pm 前上頷骨，pra 前關節骨，prf 前額骨，pro 前耳骨，ps 副蝶骨，pt 翼骨，qu 方骨，sq 鱗骨，vo 鋤骨。骨骼全名之中英文對照參見附件三。(本研究資料)

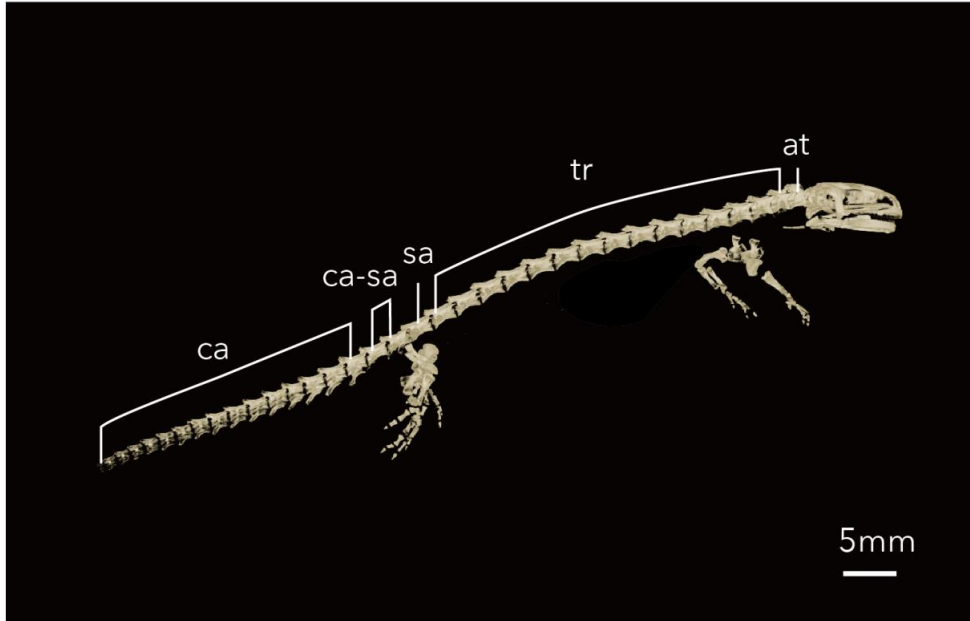


圖 4-10、臺灣山椒魚的中軸骨側面圖

(本研究資料)

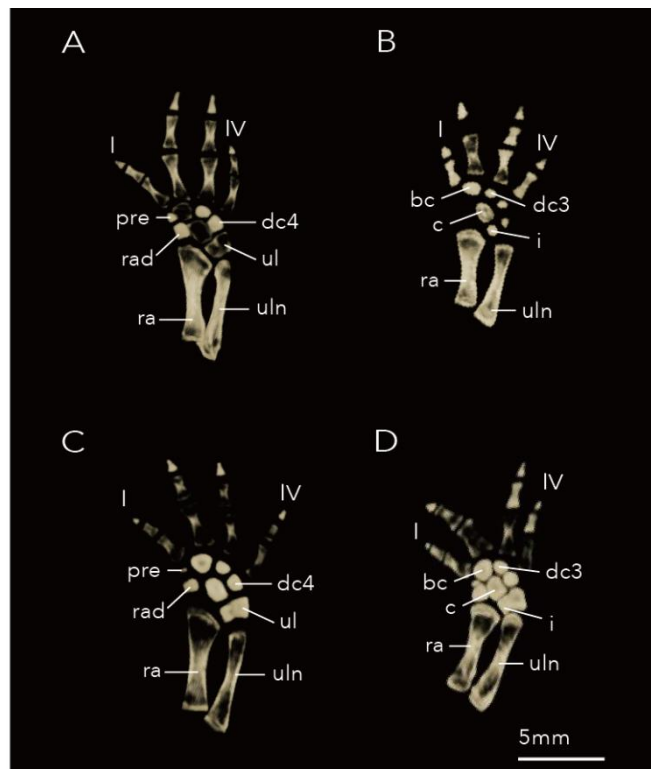


圖 4-11、山椒魚的右前肢 (dorsal view)

(A) 楚南氏山椒魚；(B) (D) 臺灣山椒魚；(C) 南湖山椒魚。(本研究資料)

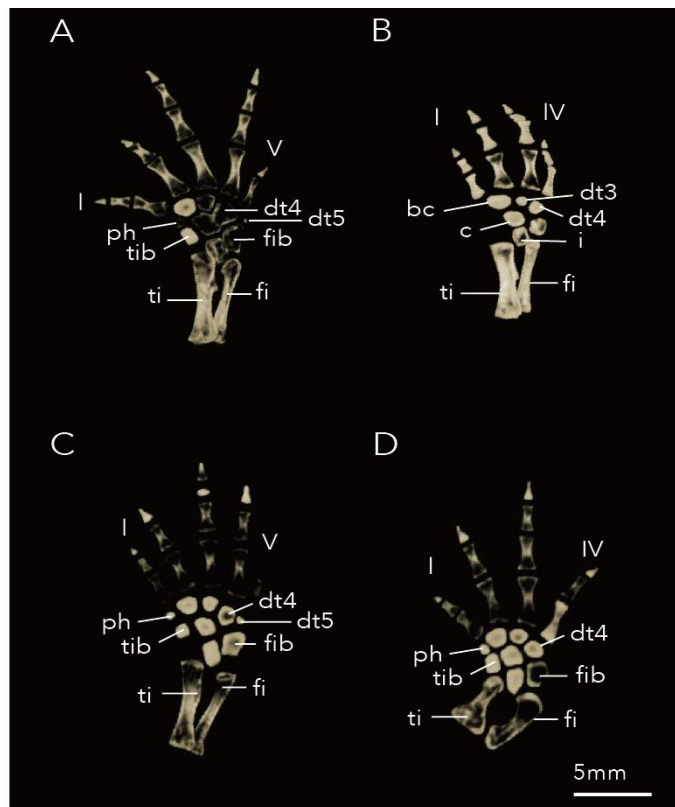


圖 4-12、不同種山椒魚的左後肢 (dorsal view)

(A) 楚南氏山椒魚, (B) 臺灣山椒魚 1, (C) 南湖山椒魚, (D) 臺灣山椒魚 2。(本研究資料)

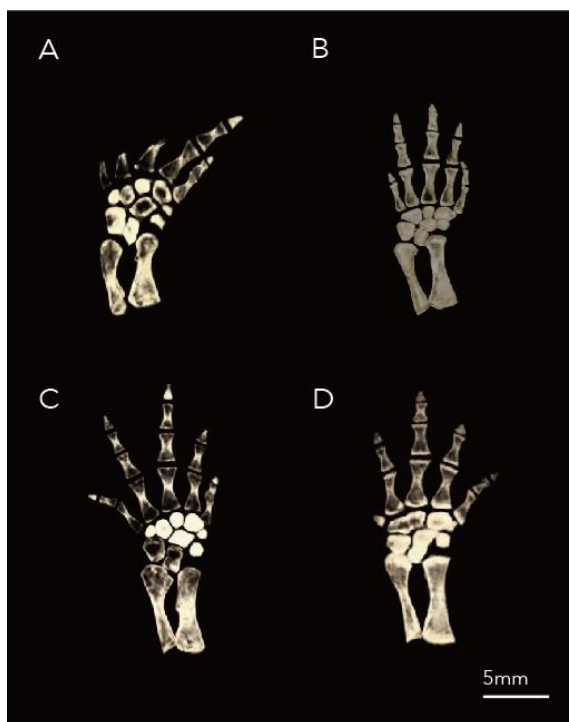


圖 4-13、四隻阿里山山椒魚的左後肢比較

腕骨數量與骨骼之間分離狀態在個體之間變異大。(本研究資料)

五、蛙壺菌與蠓蠟壺菌感染監測

1. 建立蛙壺菌及蠓蠟壺菌監測方法

本計劃建構蛙壺菌陽性對照組參照 Hanlon *et al.* (2018 年) 與 Koga *et al.* (2009 年)，委請生技公司合成 500 bps 之蛙壺菌 DNA。蠓蠟壺菌陽性對照組之建立根據 NCBI 資料庫之蠓蠟壺菌 CBS 135744 (NR_111867.1) ITS 區域序列，選擇包含增幅蠓蠟壺菌 5.8S 核糖體 RNA 基因序列的順向引子 STerF 向 5'端 100 bp 及反向引子 STerR 向 3'端 100 bp 的區域，共 361 bp 的 DNA 序列委請生技公司合成。部份序列以一段人工設計序列 5'-ACTGAGTCAG-3' 取代，用於區別 PCR 檢測中拭子樣本的蠓蠟壺菌與陽性對照組污染 (圖 5-1；圖 5-2)。合成的 DNA 序列選殖入 pUC57 質體，電穿孔法轉形勝任細胞大量培養，以 QIAGEN Plasmid Midi Kit (QIAGEN, USA) 純化質體，-20°C 冷凍保存做為後續 PCR 的陽性對照組。

蛙壺菌使用巢式 PCR 的方式檢測，第一次 PCR 所用的引子為順向引子 Bd18SF1 與反向引子 Bd28SR1，擴增蛙壺菌 18S、5.8S 與 28S 核糖體 RNA 基因的 DNA 序列，再利用引子對 Bd1a 與 Bd2a 進行第二次 PCR，以第一次 PCR 的產物為模板，增幅蛙壺菌 5.8S 核糖體 DNA 基因序列 (約 300 bps)。蠓蠟壺菌使用 PCR 方式檢測，純化出的陽性對照組質體在 25 uL 反應體積，含有 1000 副本數以上的陽性對照組質體可被 PCR 反應偵測，在接合溫度 (annealing temperature) 55°C 反應條件下可增幅出目標片段，長度約 160 bps (圖 5-3)。

2. 皮膚拭子 DNA 提取、蛙壺菌與蠓蠟壺菌檢測

本計劃自 142 份山椒魚皮膚拭子樣本提取 DNA，PCR 檢測蠓蠟壺菌 (檢測極限 1000 副本) 及蛙壺菌 (巢式 PCR 檢測極限 10 副本) 的核糖體 DNA 片段，分析的樣本並無增幅出目標片段 (表 5-1)，顯示目前蛙壺菌症或蠓蠟壺菌症並未在臺灣的山椒魚族群中流行。

表 5-1、蛙壺菌及蠓蠓壺菌 PCR 檢測結果

物種 (N)	地點	N	<i>Bd</i>		<i>Bsal</i>	
			+	-	+	-
觀霧山椒魚 (29)						
	逐鹿山	1	0	1	0	1
	樂山林道	1	0	1	0	1
	巨木步道	20	0	20	0	20
	大鹿林道西線	7	0	7	0	7
臺灣山椒魚 (36)						
	九九山莊	2	0	2	0	2
	境界登山口	4	0	4	0	4
	博可爾草原	2	0	2	0	2
	大南山西鞍	2	0	2	0	2
	大鹿林道東線	6	0	6	0	6
	匹匹達水源	2	0	2	0	2
	820 林道	12	0	12	0	12
	松泉崗	2	0	2	0	2
	230 林道	2	0	2	0	2
	720 林道	1	0	1	0	1
	721 林道	1	0	1	0	1
楚南氏山椒魚 (15)						
	820 林道	13	0	13	0	13
	武嶺	1	0	1	0	1
	能高越嶺古道	1	0	1	0	1
南湖山椒魚 (32)						
	南湖下圈谷	1	0	1	0	1
	南湖山屋	15	0	15	0	15
	南湖溪源頭	4	0	4	0	4
	審馬陣山屋	1	0	1	0	1
	820 林道	5	0	5	0	5
	白姑大山	3	0	3	0	3
	南湖南峰	3	0	3	0	3
阿里山山椒魚 (30)						
	玉山林道	15	0	15	0	15
	神木林道	15	0	15	0	15
			0%	100%	0%	100%

N：樣本數。+：陽性，檢測極限 1000 副本（蠓蠓壺菌）、10 副本（蛙壺菌，巢式 PCR）下增幅出目標片段；-：陰性，無增幅出目標片段。（本研究資料）

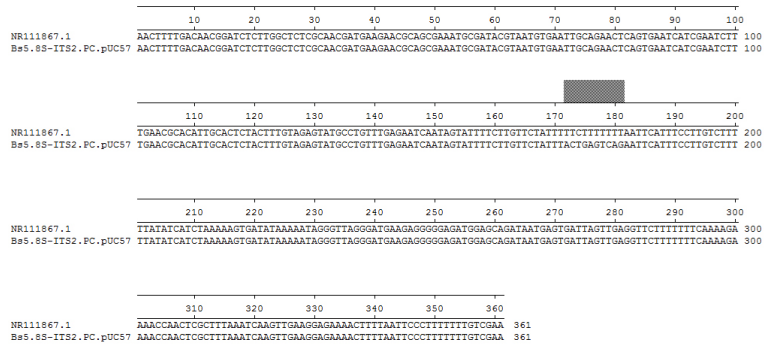
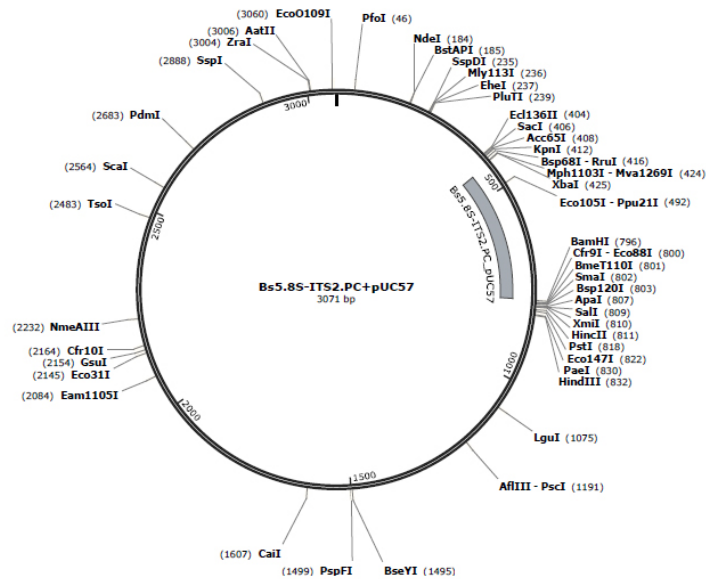


圖 5-1、NCBI 資料庫之蠓蠟壺菌 ITS 區域序列與陽性對照組序列差異
灰色方塊處為置換的人工序列 (5' - ACTGAGTCAG - 3')。(本研究資料)



Sequencing primer :
M13F-77 GATGTGCTGCAAGGCGATTA

圖 5-2、蠓蠟壺菌 PCR 反應陽性對照組質體圖譜
(本研究資料)

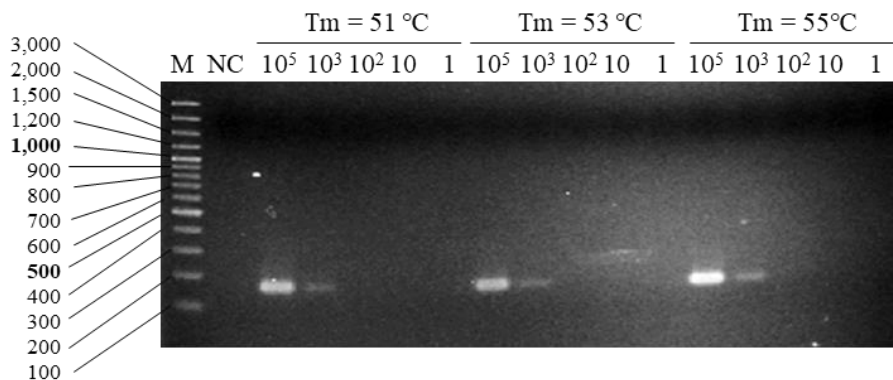


圖 5-3、蠓蠟壺菌 PCR 陽性對照組反應條件測試

NC：負控制組，M: GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (100 ng)，T_m：接合溫度。1 - 10⁵ 表反應管內的蠓蠟壺菌 PCR 陽性對照組副本數。(本研究資料)

六、域內人工圈養及山椒魚生活史研究

臺灣的山椒魚棲地大都位於高山溪流源頭，繁殖季（產蛋期）約於 12 月至翌年 3-4 月，且需要 2.5-3 個月孵化，孵化後又須經歷 2.5-3 個月孵化身體變態後才會離開水體，開始陸棲生活，要有系統性的調查與收集資料並不容易。本研究在 2020 年至 2022 年，我們已在合歡山調查到臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚的繁殖棲地，且於 2020 年完成牠們在水域產卵、孵化、變態與上岸的觀察。其中臺灣山椒魚於 2020 年、2021 年與 2022 年都在相同的繁殖地產卵；楚南氏山椒魚於 2020 年與 2021 年也在相同地點產卵，但 2022 年則沒有在同一地點觀察到產卵。2020 年合歡山楚南氏山椒魚（5 叢）與臺灣山椒魚（6 叢）產蛋時間為 3 月底。2021 年合歡山楚南氏山椒魚（5 叢）與臺灣山椒魚（6 叢）產蛋時間亦為 3 月中旬與與臺灣山椒魚（6 叢）產蛋時間為 3 月。2022 年合歡山臺灣山椒魚（7 叢），產蛋時間估計為 1 月，每叢排卵受精時間有些不同。每年的觀察顯示，臺灣的山椒魚有固定繁殖地（產卵地點）的習性，因此繁殖地棲地保育顯得更為重要。

1. 人工圈養箱設置

為研究阿里山山椒魚與觀霧山椒魚的生活史，同時進行生殖行為觀察，團隊在 2021 年 2 月於雪霸國家公園觀霧管理站及玉山國家公園塔塔加管理站兩處分別設置兩個可互通的人工圈養箱。為控制箱體溫度與光照避免圈養環境溫度過高，人工圈養箱為兩個箱體一組，其一為生活箱，另一個則設計為繁殖箱。生活箱與繁殖箱間以塑膠管相連，分別以兩個冷氣壓縮機控制溫度，生活箱控制在最高 16°C；繁殖箱控制在最高 14°C。兩箱體各自設置過濾器維持箱體內水質（圖 6-1）。每個養殖箱個架設兩臺定時紅外線相機，為了所收集的影像資料可以互相比對，因此設定條件，相機機型皆一致。目前以每五分鐘截取一張照片與錄影 30 秒鐘（圖 6-2）。為了更契合棲地條件，今年 6 月將兩處圈養缸內供山椒魚躲藏的四方形小陶罐修改成 20 X 20 平方公分與 30 X 30 平方公分的陶片的遮覆物（如圖 6-2）。2021 年 10 月，觀霧

魚缸共圈養 9 隻個體，經 micro-MRI 造影顯示有 4 隻母的個體；塔塔加魚缸共圈養 12 隻，確定有 8 公 4 母。

當遮蔽物修改成 20 X 20 平方公分與 30 X 30 平方公分的陶片的覆蓋物，每次觀察到無論是阿里山山椒魚或是觀霧山椒魚都會利用這些遮蔽物躲藏，但同時他們也會躲常在缸內天然的石片下或苔癬等遮蔽物下。

2. 圈養環境下的山椒魚活動周期觀察

以自動相機觀察山椒魚的活動模式，觀霧山椒魚魚缸總共拍攝 17,351 張照片，33 張拍攝到山椒魚。資料顯示觀霧山椒魚於晚上 19:00 後開始活動，約凌晨 3 點停止活動，晚上 21 點到 23 點為活動高峰。阿里山山椒魚魚缸總共拍攝 10,245 張照片，共 984 張拍到山椒魚。資料顯示阿里山山椒魚於 17 點後開始活動，約次日清晨 6 點停止活動，18 點到 24 點為活動高峰。本研究確定這兩種山椒魚應屬夜行性活動模式的動物（圖 6-3）。

3. 圈養環境下的山椒魚生殖行為觀察

阿里山山椒魚

在圈養箱進行生殖行為觀察，2021 年 10 月 4 日發現塔塔加繁殖缸有一隻阿里山山椒魚個體（公）下到水裡活動，且於 10 月 16 日觀察到這隻山椒魚個體的腮腺與臉頰腺明顯肥厚，另外，也觀察到泄殖腔明顯腫脹。直至 2022 年 5 月底，在繁殖箱至少 1 隻山椒魚長期待在水體裡。2022 年 3 至 5 月的觀察，陶板下山椒魚會兩兩聚集。

阿里山山椒魚的卵串孵化觀察

2022 年 7 月，透過圈養箱內紅外線照相機發現一隻雌性個體腹部充滿卵。2022 年 8 月 31 日觀察時還未發現產卵，但於 9 月 7 日觀察時發現已產下一串卵囊，親代在旁邊護卵。9 月 9 日觀察時發現兩串卵囊，一串 9 顆卵，另一串 10 顆卵，但卵囊分開在不同地方，多隻親代在卵囊

旁邊護卵。於產卵後第 14 天，觀察到卵發育到囊胚形成期，確定有受精，總共有 19 顆卵，每顆卵發育時間不一致。受精卵第 17 天，發育到尾芽形成期。受精卵第 35 天，發育到前肢芽期。受精卵第 45 天，發育到前肢芽期。當發育到 48 天時，最前端水生幼體突然身體一半衝出內卵囊與外卵囊，頭部在卵囊外，身體腹部卵囊外內。受精卵第 49 天，這隻幼體在受親魚協助擠壓，成功衝出卵囊孵化。產卵後第 60 天，發育到趾形成期。產卵後第 66 天，後肢四趾形成。產卵後第 80 天，可清楚看見後肢第五趾形成。

觀霧山椒魚

在觀霧山椒魚的觀察方面，10 月 30 日也觀察到觀霧繁殖缸一隻觀霧山椒魚也下到水裡，12 月 4 日持續觀察這隻觀霧山椒魚泄殖腔有腫大情形（圖 6-4）。日本的山椒魚 *Hynobius kimurae* 也有類似行為，繁殖公母個體約在 11 月會下到繁殖地水裡，山椒魚下到水裡的行為，可促進生殖器官的發育（Takegawa and Hasumi, 2017）。

2021 年 12 月 27 在觀霧山椒魚在管理站的生長箱水裡產下兩叢卵，較大叢粘附在石頭上，兩串共 22 顆卵（2 顆沒有受精）；較小叢粘附在磚塊上，兩串 10 顆卵。

觀霧山椒魚的卵串孵化觀察

觀察 2021 年 12 月 27 於圈養箱發現的觀霧山椒魚卵串，圈養觀霧山椒魚觀察到的胚胎發育分期如下：第 16 天卵黃栓期，第 23 天神經摺合期，第 30 天尾芽期，第 36 天鰓形成期，第 44 天肢芽形成期，第 51 天尾鰭形成（肢芽形成期），第 58 天眼睛變黑（肢芽形成期），第 76 天大叢卵孵化，第 79 天小叢卵孵化，第 86 天趾分化期，第 79 天至 135 天為變態期，包括鰓退化與尾鰭退化，轉換為肺呼吸（圖 6-5）。

護卵行為

比較域內圈養兩種山椒魚的護卵行為，阿里山山椒魚的護卵行為較

觀霧山椒魚積極。雖然觀霧山椒魚於產卵到幼魚變態完離開水體才離開產卵水域，但觀霧山椒魚生性害羞，受到緊迫時會短暫離開卵囊。但阿里山山椒魚即使受到緊迫，如以內視鏡靠近卵囊觀察時，親代會攻擊內視鏡。除此之外，也記錄到當其他雄山椒魚接近卵串時，護卵親代會追咬攻擊其他雄性個體。但雌性個體接近卵串，親代則會接受雌性個體，不會攻擊。

4. 山椒魚的生活史

由呂光洋老師與賴俊祥老師在 2010 年進行的 VIE-tag 標放個體記錄，阿里山山椒魚壽命可以長達 12 年以上。由我們的野外調查與圈養記錄顯示，進行生殖的臺灣的山椒魚個體約在 10 月-11 月會移動到繁殖地，有些個體會進到水裡，等待繁殖。觀霧山椒魚約在 12 月底至 2 月間產卵，臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚約在 1 月至 3 月產卵。臺灣的山椒魚都會在有流動的緩溪流裡產卵，每次每個個體下兩串卵。產卵至孵化時間約 2 個半月至 3 個月；變態時間約 2 個月至 3 個月，期間幾乎不用進食（圖 6-7）。

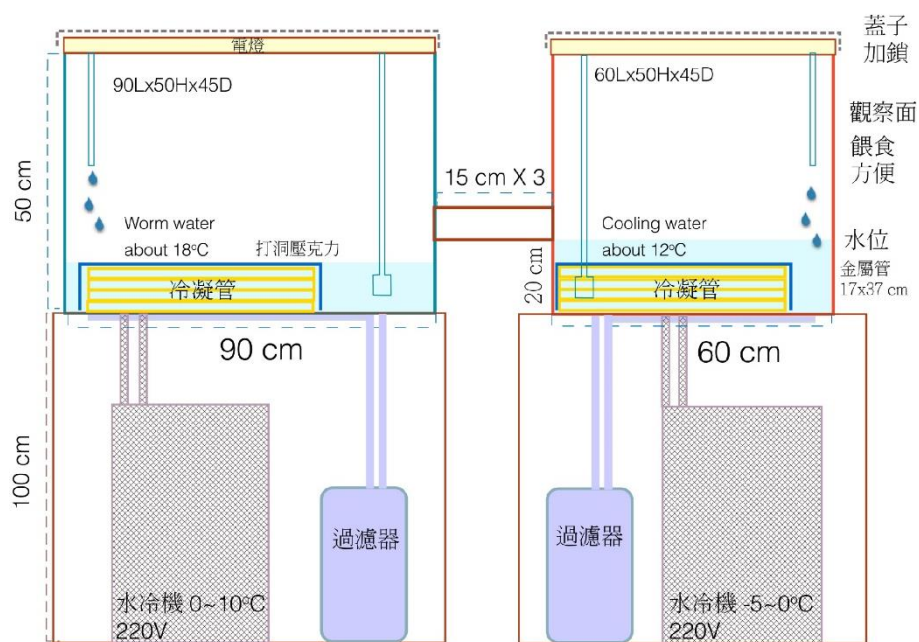


圖 6-1、山椒魚人工圈養箱設計圖

(本研究資料)

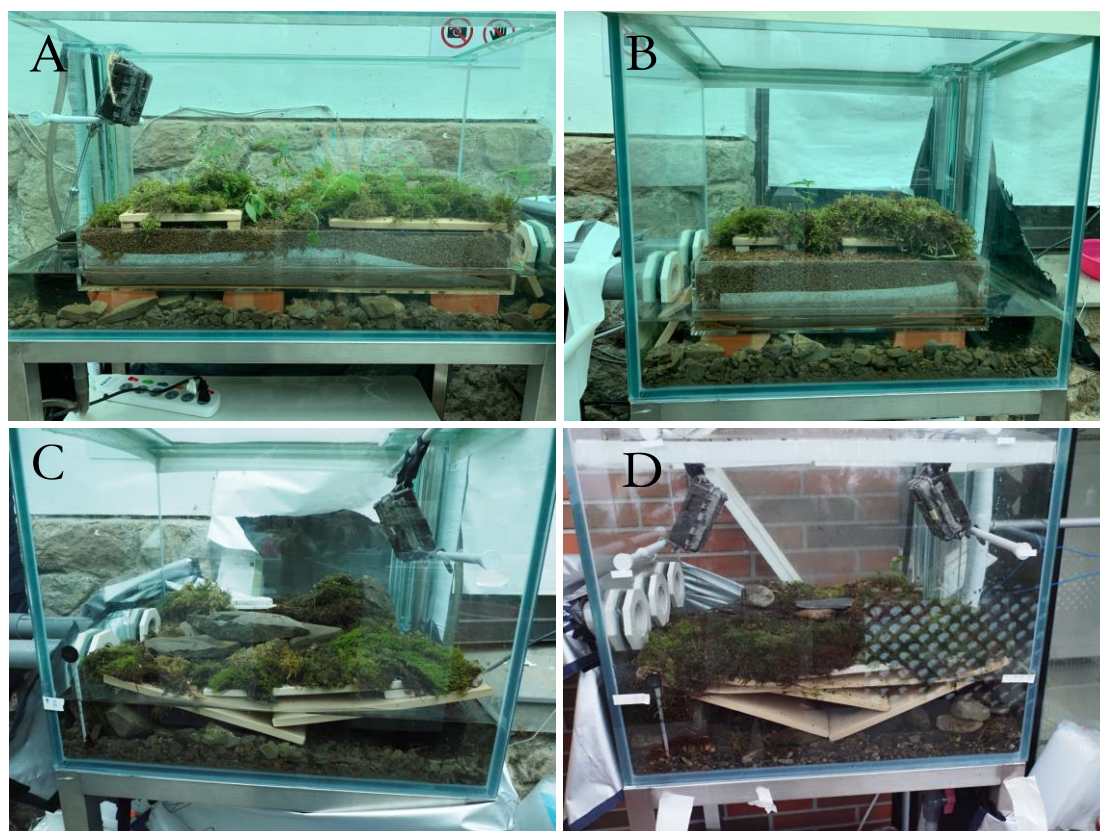


圖 6-2、棲地圈養環境與設施

2021 年 5 月生長缸與繁殖缸依據棲地偏好研究，缸內修改為 20 公分與 30 公分長寬的正方形陶板為遮蔽物。(A) 塔塔加阿里山山椒魚生長箱，(B) 塔塔加阿里山山椒魚繁殖箱，(C) 10 月後塔塔加阿里山山椒魚繁殖箱，(D) 觀霧山椒魚繁殖箱以 30 公分長寬陶板修改為適合繁殖的環境。
(本研究資料)

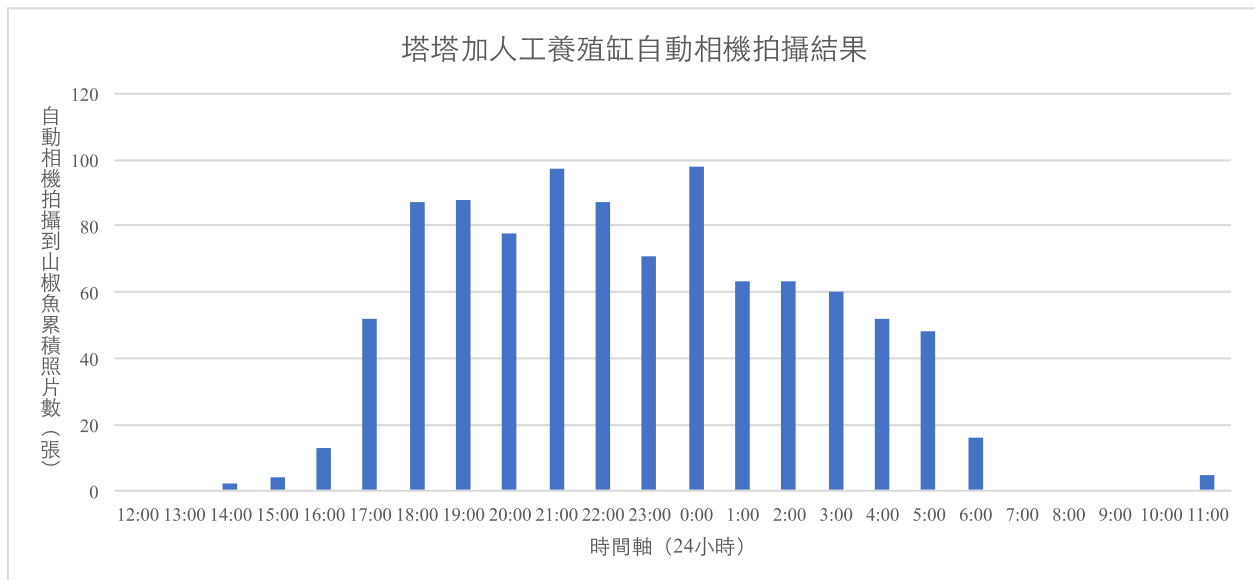
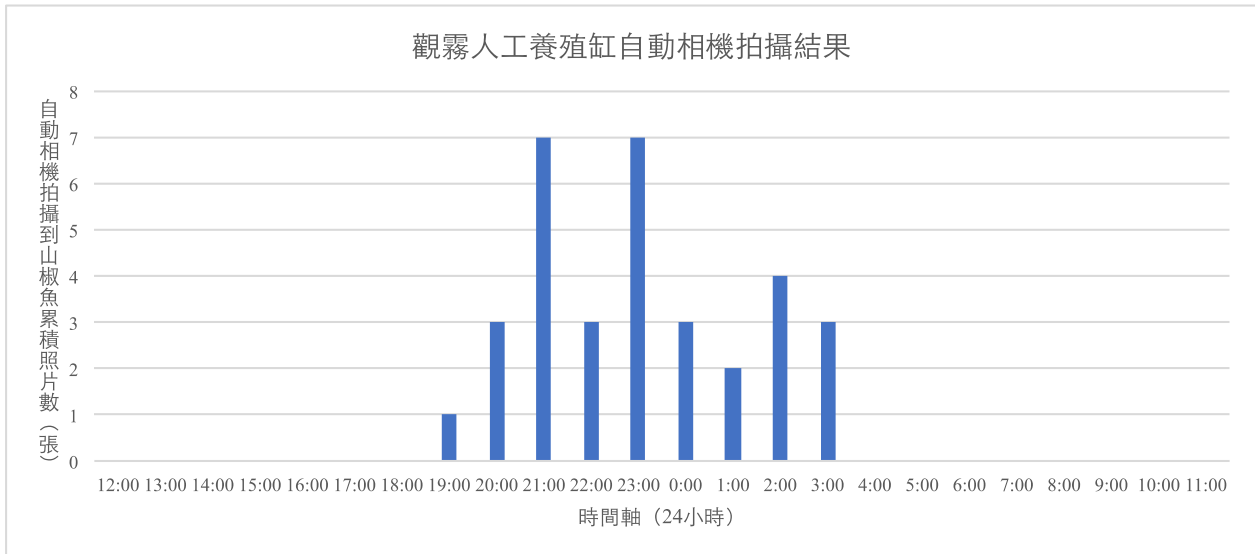


圖 6-3、棲地圈養山椒魚之活動模式
(本研究資料)



圖 6-4、圈養箱中山椒魚活動模式與繁殖行為觀察

(A) 2021 年 10 月 04 日發現塔塔加繁殖缸有一隻阿里山山椒魚個體(雄性)下到水裡，(B) 10 月 16 日可見繁殖缸水中山椒魚個體腮腺與臉頰腺明顯膨大，(C) 泄殖腔也明顯腫脹，(D) 在觀霧山椒魚方面，10 月 30 日 也發現觀霧繁殖缸一隻觀霧山椒魚也下到水裡，12 月 04 日觀察到泄殖腔也有腫大情形。(本研究資料)

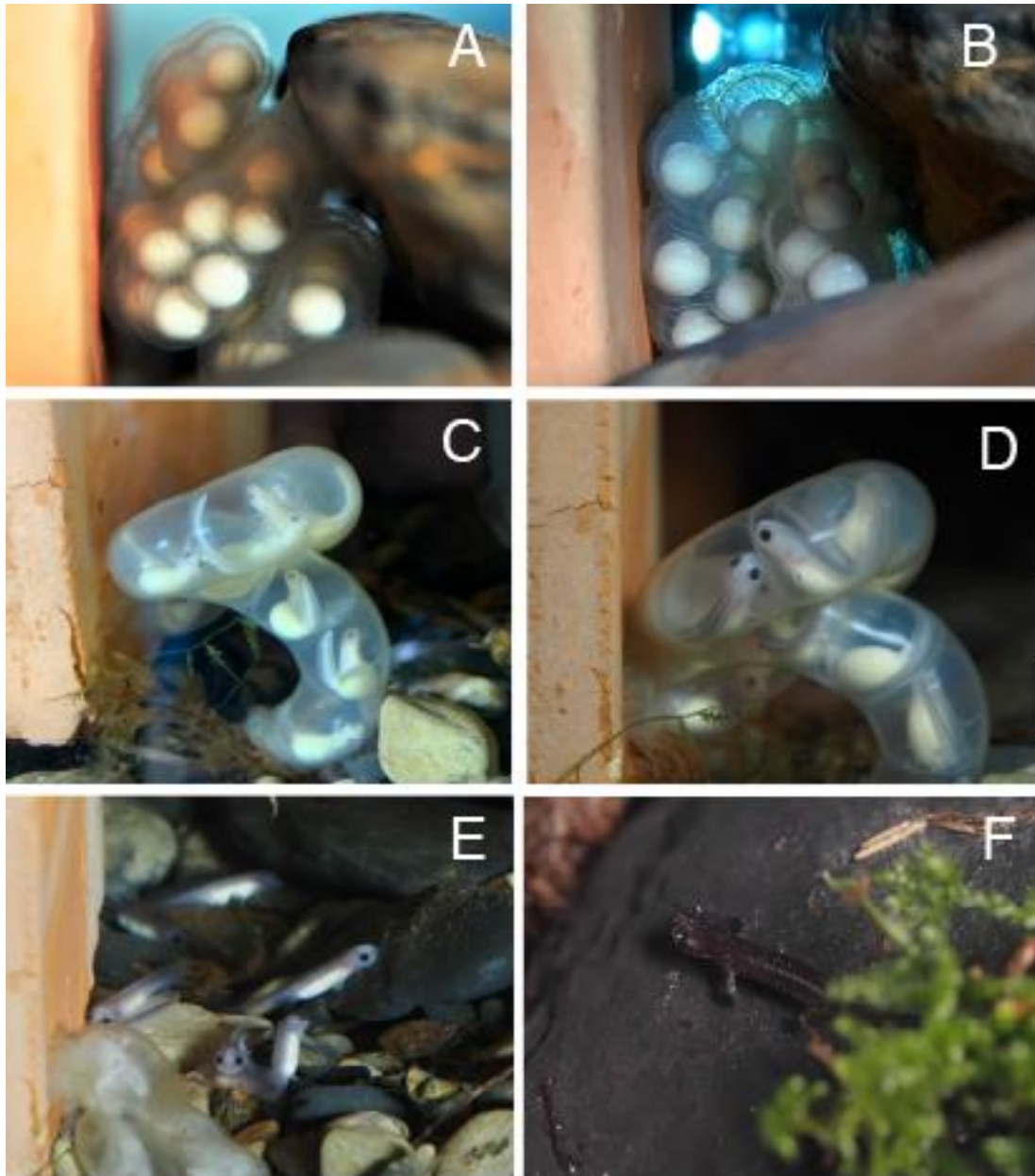


圖 6-5、棲地圈養觀霧山椒魚幼態時期生活史。

(A) 於 2021 年 12 月 27 日產下受精卵；(B) 第 23 天神經摺合期；(C) 第 23 天尾芽胚期；
(D) 第 72 天肢芽期；(E) 第 77-80 天孵化、第 86 天趾分化期與變態期；(F) 第 142 天完成
變態期，上岸開始陸棲生活。(本研究資料)

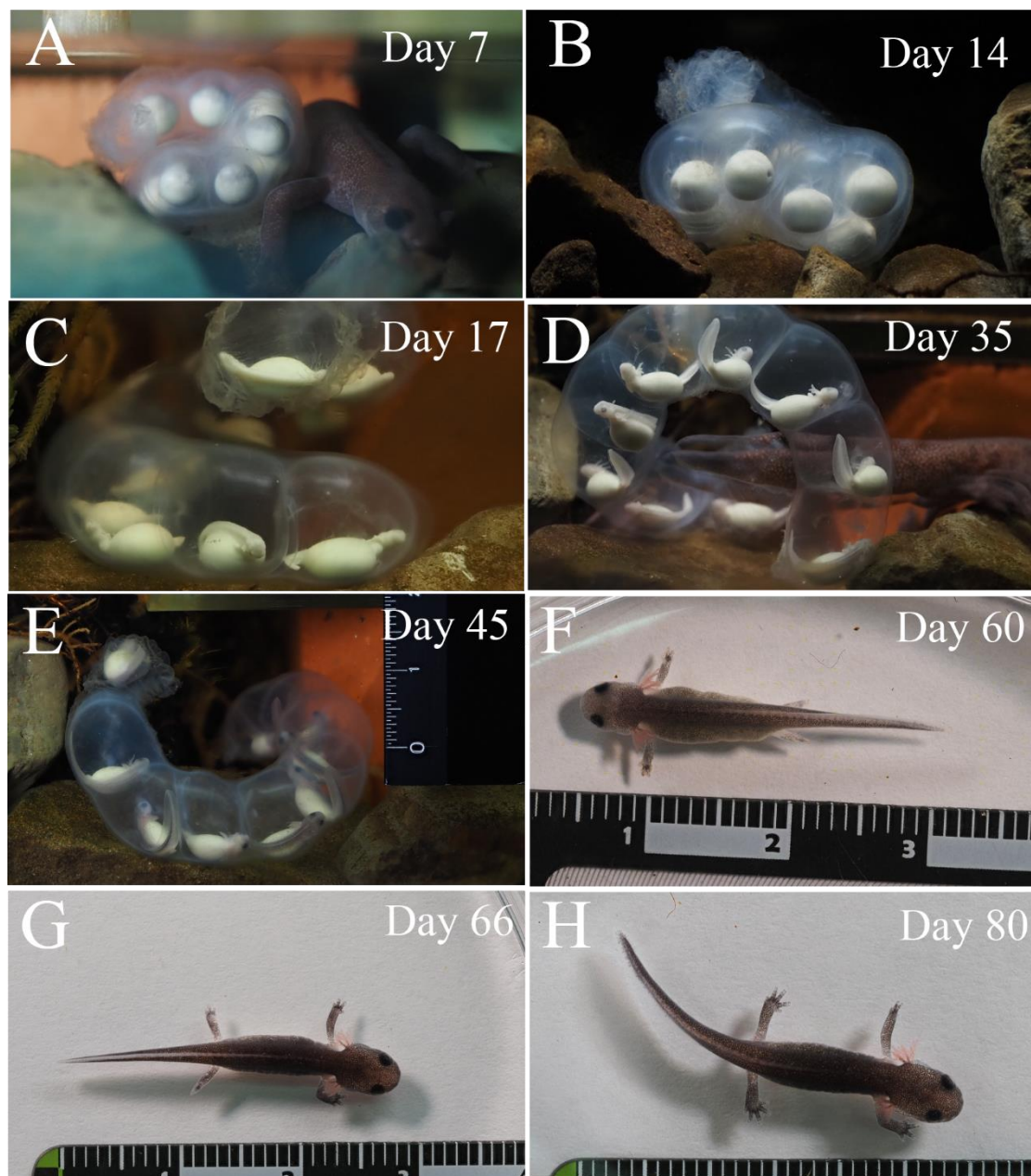


圖 6-6、在玉山國家公園塔塔加圈養之阿里山山椒魚卵孵化過程。

(A) 產卵體外受精後第 7 天，發育到胞胚形成期。(B) 受精卵第 14 天，發育到囊胚形成期。
(C) 受精卵第 17 天，發育到尾芽形成期。(D) 受精卵第 35 天，發育到前肢芽期。(E) 受精卵
第 45 天，發育到前肢芽期。發育到 49 天，最前端水生幼體受親魚協助，成功孵化。(F) 受精卵
第 60 天，發育到趾形成期。(G) 受精卵第 66 天，後肢四趾形成。(H) 受精卵第 80 天，可清楚
看見後肢第五趾形成。(本研究資料)



圖 6-7、2022 年 3 月在合歡山調察到臺灣山椒魚在繁殖地產下 7 叢卵串。
由胚胎發育狀況，推測最早產卵時間約在 2022 年 1 月初。(本研究資料)

七、在三個國家公園山椒魚研究熱點進行野外山椒魚孵化時期生存威脅評估

1. 楚南氏山椒魚胚胎/蝌蚪的發育分期

本研究於 2020 年進行了合歡山區楚南氏及臺灣山椒魚胚胎發育與生殖生態研究。於 3 月 24 日首次在武嶺地區的石塊下發現楚南氏山椒魚卵串 5 對，共計 107 顆剛發育至胞胚中期的卵，另有 2 隻雄性及 2 隻雌性成體在卵串旁。我們推測 3 月 16 日為最有可能的胚胎受精日，並將該日定義為發育的第 0 天，藉此做為後續胚胎發育分期表（Stage Table）的起始時間點。本研究之楚南氏山椒魚胚胎在受精後第 93 天左右孵化，從卵到蝌蚪變態完成共 169 天。本研究整理野外楚南氏山椒魚胚胎/蝌蚪的發育過程如表 7-1。

2. 臺灣山椒魚胚胎/蝌蚪的發育分期

2020 於 3 月 24 日前往小風口樣區進行臺灣山椒魚生殖調查時，在一顆石塊下發現 1 隻雌性及 2 隻雄性成體聚集，雌性成體體型相當肥胖，泄殖孔外翻，由腹面可看見卵粒；隔周 3 月 31 日再次前往時，我們就記錄到了產卵的現象，再且前後兩周照片中個體花紋的比對，可知留在卵旁的個體為前一周聚集在同一石下的雄性成體。此次臺灣山椒魚產出卵串 1 對，共計 33 顆卵，首次發現時，卵剛發育至卵裂後期，且有 1 隻雄性成體在卵串旁。至於最有可能的受精時間，我們依天候推測 2020 年 3 月 25 日為臺灣山椒魚卵的受精日，視為胚胎發育的第 0 天，藉此做為後續胚胎發育分期表的起始時間點。本研究之臺灣山椒魚胚胎在受精後第 84 天左右孵化，從卵到蝌蚪變態完成共 181 天。本研究整理野外臺灣山椒魚胚胎/蝌蚪的發育過程如表 7-1。

3. 楚南氏與臺灣山椒魚生殖棲所的環境因子

除觀察胚胎/蝌蚪的野外發育狀況，我們也探討外界環境因子，如生殖棲所的樹冠鬱閉度、溫度與雨量，對山椒魚胚胎發育的影響或威脅。

樹冠鬱閉度

武嶺地區楚南氏山椒魚生殖地點海拔為 3100 公尺，巨棲環境為箭竹林。楚南氏山椒魚產卵微棲所則位於此開闊地中兩條小溪澗交會的石塊下，該交會處溪寬約 4 公尺，上方空曠無任何植被遮蓋。

小風口地區臺灣山椒魚生殖地點海拔為 2940 公尺，巨棲環境由箭竹林與臺灣冷杉林鑲嵌而成，底層植被多草本植物與苔蘚，其中一處小溪澗以約 30 度角從林中穿越流出，溪澗寬約 50 公分。臺灣山椒魚產卵的微棲所則位於此溪澗上方約 10 公分高的石塊下，石下底質為石塊、細碎岩片、泥沙與腐植質所組成，上方植被於春季前較為稀疏。

溫度

合歡山武嶺與小風口地區的海拔差異不大，山椒魚胚胎/蝌蚪發育期間的氣溫範圍介於攝氏-5 到 20 度之間。本研究於 4 月中旬白天前往調查時，當時氣溫為 0 度，生殖棲所周遭靜水域的淺灘雖有結冰，但石塊下的胚胎仍有緩慢的水流，微棲地並未結冰。4 到 6 月期間，氣溫逐漸升高，此兩種山椒魚胚胎則在 6 月中旬孵化；7 到 9 月氣溫達最高。

雨量

山椒魚胚胎/蝌蚪發育期間，2022 年 5 月 22 日雨量（合歡山 24 小時累積雨量）最大達 253 毫米（依中央氣象局雨量分級定義為豪大雨等級），其次為 5 月 28 日及 21 日，分別為 134 及 95 毫米（依中央氣象局雨量分級定義為大雨等級）。在 4 月底到 6 月初的梅雨季期間，武嶺地區的楚南氏山椒魚胚胎在經過連續數日的雨水沖刷後，6 月 2 日發現有兩黏著點較低的卵串，被沖到下游約 3 公尺處的溪澗中，推測應為 5 月 28 日的大雨所致，後來雖將卵串復位，不過 6 月 9 日度前往調查時，可能因調查前日的雨量較大（69 毫米），已再度流失。楚南氏山椒魚蝌蚪孵化後，野外調查最多一次觀察到 40 隻蝌蚪。小風口地區臺灣山椒魚微棲所也是位於溪澗旁，但整體上的地勢較陡（30 度），溪水也較集中（50 公分寬），不過因為周遭植被較密，石塊、岩

片也多，下雨後的水量變化並不大。再加上有卵串的石塊離溪澗約有 10 公分高，即使梅雨季節的大雨，水量也不會對胚胎/蝌蚪造成物理性的衝擊。臺灣山椒魚胚胎孵化後，最多一次觀察到 20 隻蝌蚪。

4. 山椒魚生殖微棲所中的水棲昆蟲與絲狀真菌

水棲昆蟲

為了解楚南氏山椒魚胚胎/蝌蚪的潛在天敵，本研究進行了楚南氏山椒魚產卵石塊下微棲所的昆蟲相調查，共發現 5 目 6 科的水棲昆蟲，分別為鞘翅目的龍蝨科 (Dytiscidae) 成蟲、禿翅目的短尾石蠅科 (Nemouridae) 稚蟲、蜉蝣目的姬雙尾蜉科 (Ameletidae) / 短絲蜉科 (Siphonuridae) 稚蟲與褐蜉科 (Leptophlebiidae) 稚蟲、毛翅目的沼石蛾科 (Limnephilidae) 稚蟲，以及雙翅目的搖蚊科 (Chironomidae) 稚蟲。由文獻資料以及天敵生物的取食蛙類蝌蚪的初步試驗，我們推測石蠹蛾的稚蟲以及龍蝨的成蟲，可能是楚南氏山椒魚胚胎/蝌蚪的潛在天敵。

為了解臺灣山椒魚胚胎/蝌蚪的潛在天敵，本研究也進行了臺灣山椒魚產卵石塊下微棲所的昆蟲相調查，共發現 2 目 5 科的水棲昆蟲，分別為鞘翅目的龍蝨科 (Dytiscidae) 成蟲，以及雙翅目搖蚊科 (Chironomidae)、細蚊科 (Dixidae)、蚋科 (Thaumaleidae)、大蚊科 (Tipulidae) 的稚蟲。由文獻資料，我們推測蝨科的成蟲與大蚊稚蟲，較可能為臺灣山椒魚胚胎/蝌蚪的潛在天敵。

絲狀真菌

本研究於 2020 年 5 月 5 日 (發育第 50 天) 首次發現楚南氏山椒魚胚胎有一顆胚胎呈現白霧狀，以內視鏡深入水中觀察，可見胚胎的膠質外膜外有支鏈絲狀結構的絲狀真菌；到了 5 月 12 日及 18 日分別累計記錄到 4 顆及 5 顆胚胎受到感染。受到感染的胚胎會停止發育，外層膠質不再透明，且逐漸萎縮硬化。臺灣山椒魚的胚胎則是在 5 月 18 日 (第 54 天) 首次發現有兩顆胚胎呈現白霧狀，胚胎的膠質外膜外也有支鏈絲狀結構的絲狀真菌。受到感染的胚胎停止發育，外層膠質不再透明，且逐漸萎縮硬化。

5. 固定產卵地點

本年度（2022）年在合歡山進行山椒魚繁殖地調查發現，連續三年臺灣山椒魚與連續兩年楚南氏山椒魚會在同一地點產卵。2021年3月26日我們又在台8線小風口附近同個地點發現臺灣山椒魚卵串；同日，我們也在武嶺營區同個地點發現楚南氏山椒魚A卵串（武嶺大石卵串）；2021年5月18日，觀察發現台8線小風口附近臺灣山椒魚卵串部分已孵化；同日，在武嶺營區除了觀察武嶺營區楚南氏山椒魚A卵串（武嶺大石卵串）外，又在附近地點發現楚南氏山椒魚B卵串（新發現的卵串）。2022年3月24日我們發現台8線同個地點臺灣山椒魚7個卵串，但無發現楚南氏山椒魚在以前的繁殖地產卵。綜合過去資料，我們認為山椒魚會選擇在適當的棲地，固定地點產卵，因此繁殖地的棲地保育是臺灣的山椒魚保育重要項目（圖7-3）。

6. 繁殖地土壤生態系

由觀察圈養觀霧山椒魚的生殖、孵化、變態、水棲與陸棲生活形態的轉換發現，在變態時期山椒魚幼體幾乎可以不進食，剛上岸的山椒魚幼體體長（頭至尾）約2.5公分至3公分，嘴巴非常小。剛上岸的幼體應該只捕獵如線蟲、跳蟲、蝸蟬等小型獵物或在土壤表層生活的無脊椎動物幼體或至稚蟲才能順利存活。因此，推測臺灣的山椒魚繁殖地必須有豐富多樣的土壤生態性才有辦法維持完整的生活史。

表 7-1、臺灣產山椒魚胚胎發育過程

發育 天數	胚胎發育過程觀察	
	楚南氏山椒魚	臺灣山椒魚
6	-	桑實胚後期；胚胎頂部呈半透明。
8	發育到胞胚中期；卵粒晶瑩剔透。	-
15	卵黃栓期	-
21	-	小卵黃栓期；囊胚孔背唇擴展成半圓形。
30	神經褶期及神經褶合著期。	-
35	-	尾芽伸長期或尾鰭原基出現期。
41	-	前肢肢丘期或前肢肢芽期；身體微扭動。
50	尾鰭原基出現期或前肢肢丘期。	-
54	-	前肢肢芽期；尾部伸直；腹部可見血管； 鰓絲再分岔；可見鰓循環。
63	前肢肢芽期	-
69	-	指分化期。
90	-	指分化期及趾分化期。
93	指分化期及趾分化期；胚胎孵化；蝌蚪全 長 22.3mm。	-
104	-	指分化期及趾分化期。
113	指分化期及趾分化期；手指外形輪廓分化 完成。	-
125	-	指分化期及趾分化期；蝌蚪全長 24.5mm。
139	-	趾分化期。
148	完成幼生期或前變態期；蝌蚪全長 30.5mm。	-
153	-	趾分化期；蝌蚪全長 24.7mm。
160	-	完成幼生期或前變態期；；蝌蚪全長 24.7mm。蝌蚪活動力變強，易離水爬行。
169	變態完了期。	-
174	-	變態完了期；尾鰭、肢鰭幾乎消失；蝌蚪 全長 23.9mm(因尾尖皺縮導致長度縮減)。
181	-	變態完了期(IK 72)；外鰓、尾鰭、肢鰭完 全消失。



圖 7-1、楚南氏山椒魚卵發育過程

3月24日在武嶺發現楚南氏山椒魚卵串，推測3月16日為胚胎受精日。(A)4月8日部分的卵表面呈現皺摺，發育至胞胚初期。(B)4月13日部分的卵發育至神經板期。(C)4月29日山椒魚發育至尾芽胚期。(D)5月25日胚發育至肢芽期。(E)6月17日胚已孵化成幼體。(F)8月21日，幼體離開水體。(本研究資料)

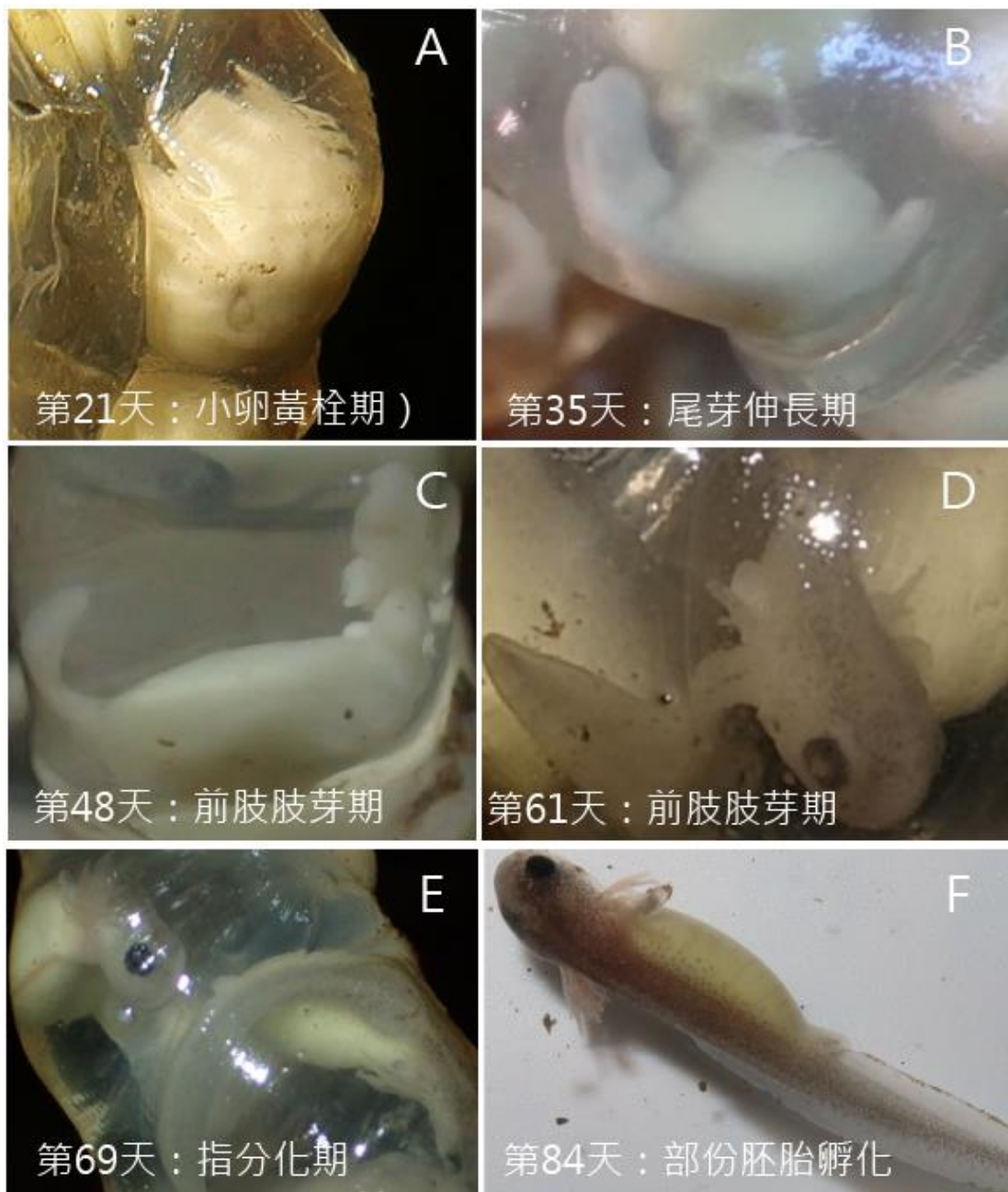


圖 7-2、臺灣山椒魚卵發育過程

推側 3 月 25 日為此臺灣山椒魚卵受精日。(A) 4 月 13 日部分的卵表面呈現皺摺，發育至胞胚初期。(B) 4 月 29 日山椒魚發育至尾牙胚期。(C) 5 月 12 日山椒魚發育至鰓形成期。

(D) 5 月 25 日胚發育至肢芽期，前腳明顯可以看見。(E) 6 月 02 日發育至指分化期。(F) 6 月 17 日，部分胚已成功孵化成幼體。(本研究資料)



圖 7-3、2020 年與 2021 年合歡山產卵地點

2020 年與 2021 年合歡山調查發現臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚會在同一地點產卵。(A)2021 年 3 月 26 日台 8 線小風口附近臺灣山椒魚卵串。(B) 2021 年 3 月 26 日武嶺營區楚南氏山椒魚 A 卵串 (武嶺大石卵串)。(C) 2021 年 5 月 18 日台 8 線 37.5K 臺灣山椒魚卵串。(D) 2021 年 5 月 18 日武嶺營區楚南氏山椒魚 B 卵串 (新發現的卵串)。(本研究資料)

八、建構臺灣五種山椒魚親緣地理關係

1. 遺傳樣本採集與粒線體細胞色素 *b* 核苷酸序列單套型分析

計畫期間採集的遺傳樣本涵蓋 61 個樣區。雪霸國家公園包含 13 個樣區：230 林道、720 林道、九九山莊、大南山、大鹿林道（含東西支線）、大雪山匹匹達營地、巴紗拉雲山屋、巨木步道、品田山、素密達斷崖、新達山屋、境界山東南鞍、樂山林道等。太魯閣國家公園 9 樣區：730 林道、820 林道、小風口、中央尖溪、松泉岡、武嶺、南湖下圈谷及南湖山屋、遠多志山、審馬陣山屋。玉山國家公園共收集 24 樣區：八通關草原、大水窟、大關山、太平溪源、巴奈伊克、玉山林道、玉山南峰、玉山圓峰、向陽山屋、拉庫音溪山屋、南營地、神木林道、荖濃溪營地、馬布谷、馬利加南山、馬路巴拉讓山、埡口林道、鹿林小徑及鹿林山莊、塔比拉、塔芬谷山屋、塔關山、嘆息灣、輓輓谷、南面山。另包含 15 個園區外的樣區：太平山、塔班山、大鬼湖、北大武山、北插天山、台 14 甲線、更孟山、逐鹿山、棲蘭山、雙龍林道、霧鹿林道、西巒大山、羅山林道南線、明池、石山工作站。

2. 親緣關係分析

結合本計畫及過去所獲得的序列共 187 種單套型，以 Maximum Likelihood 法建構臺灣產山椒魚粒線體 cytochrome *b* 親緣關係樹（圖 8-1）。樹型支持臺灣的山椒魚為單系群，以 GMYC species delimitation，單閾值方法可劃分為 5 個主要的類群（clade）：觀霧山椒魚（HF）、臺灣山椒魚（HT）、南湖山椒魚（HG）、楚南氏山椒魚（HS）、阿里山山椒魚（HA）。除南湖類群與阿里山 + 楚南氏類群的分支為中低程度支持（Bootstrap value = 69%），其餘 3 個為高支持度的分支。各類群內可再區分出數個次類群（subclade），分別對應的地理分布範圍見圖 8-1。遺傳類群的地理分布與山脈、水系的關係分述如下：

(1) 觀霧山椒魚

觀霧山椒魚分出 4 個次類群。棲蘭山的次類群 (F-IV) 最先與其他類群分支出來。另外 3 個次類群則分布北橫地區北插天山、逐鹿山及明池一帶 (F-I)，中央山脈太平山 (F-II)，以及雪霸國家公園北部觀霧地區的單套型 (F-III)。

觀霧山椒魚的遺傳分群，大致呈現屬於同一河川流域的族群在 *cytb* 核苷酸序列上越相似：整個北橫地區屬於淡水河流域者，皆屬於 F-I 次類群；頭前溪上游爺巴勘溪的巨木步道族群與頭前溪支流麥巴來溪的羅山林道的族群，兩者皆編派至 F-III 的觀霧次類群；以及蘭陽河流域的梵梵溪 (明池) 與天狗溪 (太平山)，兩族群雖位於不同的山脈 (明池於雪山山脈，太平山於中央山脈北端)，仍被編派至 F-I+F-II 的分支中。唯一的例外是棲蘭群 (F-IV)，該次類群分布的範圍於雪山山脈東側邊緣蘭陽溪上游 (埤南溪南側) 與淡水河上游 (泰崗溪) 的交界地帶，卻是獨立的一個演化分支，而非編派至 F-I (淡水河) 或 F-II (蘭陽溪) 次類群中。

(2) 臺灣山椒魚

臺灣山椒魚的分布跨越五大山脈中的兩座：雪山山脈及中央山脈。分析結果支持臺灣山椒魚有兩個界線明顯的大群，第一大群分布在雪山山脈，包含大安溪 (馬達拉溪、大雪溪、南坑溪、雪山坑溪) 與大甲溪 (志樂溪) 流域；第二大群同時包含中央山脈及雪山山脈的單套型，涵蓋的流域分布較廣，囊括淡水河、大甲溪、烏溪及濁水溪。結合地理位置，兩大類群約以雪山西稜與雪劍線為界，向西為第一大群，向東為第二大群。

第一大群分出 3 個次類群：(HT-I) 境界山九九山莊、大鹿林道東線；(HT-II) 雪山西稜大雪山匹匹達營地；(HT-III) 中雪山—鞍馬山 (230

林道)。其中大雪山的單套型與境界山的遺傳距離較接近，中雪山的單套型則單獨分派成一個次類群。

第二大類群可再細分 4 個次類群：(HT-IV) 大甲溪上游志樂溪、淡水河上游塔克金溪及薩克金溪，自雪山山脈馬洋山沿雪劍線東側至大霸尖山一帶；(HT-V) 北一段南湖溪、北二段 730 林道耳無溪；(HT-VI) 雪山山脈羅葉尾山、中央山脈南湖大山南湖溪及審馬陣山；(HT-VII) 大甲溪支流合歡溪 820 林道、立霧溪源頭屏風山、濁水溪上游塔羅灣溪雲海及能高越嶺，加上烏溪流域瑞岩溪西側支流的白姑大山一帶。

可以觀察到，地理位置分布在雪山山脈的山椒魚 (HT-I 至 HT-IV、HT-VI) 中，屬於大甲溪流域志樂溪上游的 HT-IV 次類群並沒有和雪山山脈其他樣區被編派在同一類群，而是和中央山脈大甲溪流域的山椒魚為同一大群。分布橫跨雪山山脈及中央山脈的 HT-VI 類群，仍都屬於大甲溪流域，可見臺灣山椒魚在雪山山脈的遺傳分群可能與雪山山脈東西側分屬不同水系有關，在中央山脈的分群可能為大甲溪不同支流的族群各自演化的結果。

(3) 南湖山椒魚

南湖山椒魚在其模式產地南湖溪南湖圈谷的族群，與中央尖溪的另一族群同屬於類群 HG-III，與其遺傳關係較接近的畢祿林道的族群則屬於類群 HG-II，此兩類群分別屬於大甲溪的兩條支流。而南湖山椒魚的第三個類群 HG-I，分布於烏溪和大甲溪源頭的白姑山彙，與南湖、中央尖溪的類群有較遠的遺傳距離 ($p\text{-distance} > 0.02$)。顯示南湖山椒魚同樣在不同水系間有明顯的遺傳分群。

(4) 楚南氏山椒魚

楚南氏山椒魚在中央山脈分成 3 個遺傳類群：(HS-I) 太魯閣地區，包含合歡山、武嶺 (大甲溪支流合歡溪)、奇萊東稜 (立霧溪支流塔次

基里溪、花蓮溪支流巴托蘭溪)、烏溪上游瑞岩溪東側支流，南至天池山莊(濁水溪上游塔羅灣溪)、奇萊裡山東側(花蓮溪支流木瓜溪)的族群，為單套型最豐富的一個類群；(HS-II)能高山南鞍、臺灣池、白石池(濁水溪)及屯鹿池(花蓮溪支流萬里橋溪)一帶；(HS-III)屯鹿池(濁水溪支流萬大南溪)、安東軍山以南、干卓萬、卓社大山至六順山一帶。此3個類群約以能高埡口為界，分為埡口以北的HS-I(烏溪+濁水溪+大甲溪+立霧溪+花蓮溪)，埡口以南的HS-II、HS-III類群(濁水溪+花蓮溪)。綜上述所見，近合歡群峰的楚南氏山椒魚在不同水系(大甲溪、烏溪)間的遺傳分化不如在花蓮溪與濁水溪的不同支流明顯。主要出現遺傳差異的水系是以南北向為主。

而HS-III類群，團隊於2019年執行其他機關之委託研究案曾調查過此類群的山椒魚，其顏色、斑紋等外觀形態較接近阿里山山椒魚(圖8-2)。目前僅在濁水溪支流萬大溪、萬大南溪、卡社溪及丹大溪一帶(干卓萬、丹大至六順山)調查到。

(5) 阿里山山椒魚

阿里山山椒魚分布範圍廣及中央山脈南段、玉山山脈及阿里山山脈的中高海拔地區，包含的水系也相當多，有向西流入台灣海峽的曾文溪、濁水溪及高屏河流域，向東注入太平洋的河川則有秀姑巒溪、卑南溪與太麻里河流域。

其單套型可區分出5個次類群：(HA-I)屬於中央山脈最南端的北大武山類群，最先和其他類群區分出；(HA-II)類群僅分布於玉山山脈北段支脈，包含雙龍林道及治茆山等地；(HA-III)類群北起南二段線北端的大水窟山及塔芬谷山屋、玉山山脈南面山、中央山脈新康橫段線的向陽、關山、塔關山一帶，南可至霧鹿林道、石山工作站、大鬼湖，該類群涵蓋高屏溪、卑南溪及秀姑巒河流域，呈現沿中央山脈南北走向

的分布，亦是阿里山山椒魚中分布範圍最廣的類群。(HA-IV)類群為中央山脈東側南三段馬博拉斯橫斷的範圍，從馬布谷、嘆息灣、馬路巴拉讓西峰至太平溪源營地濁水溪與秀姑巒溪源頭交界一帶；(HA-V)也是一個包含較多單套型的類群，包含西巒大山東側及玉山群峰、阿里山山脈、中央山脈馬博拉斯橫斷向東至塔比拉，以及南二段線轆轤谷。呈現東西向的分布範圍，橫跨多座山脈，與 HA-III 類群的地理界線大致在大水窟山西北側。

結合水系分布，向西河川的單套型在阿里山山椒魚的 5 個遺傳類群中皆有分布，其中又以高屏溪流域的單套型在 4 個主要的類群皆有分布，濁水溪流域在 HA-II 及 HA-IV 類群，曾文溪則僅在 HA-V 類群中；而向東流入太平洋的河川侷限 HA-I、HA-III 及 HA-IV 類群，其中太麻里溪僅在 HA-I，卑南溪僅在 HA-III 類群。雖然有部分河川(太麻里溪、卑南溪、曾文溪)的單套型侷限在特定的類群中，但阿里山山椒魚在中央山脈的遺傳分化與河系的關聯仍不如其他 4 種山椒魚來得明顯。

3. 分子遺傳變異分析

以分子變方分析檢測水系間遺傳分化(表 8-1)，結果顯示五種山椒魚在水系間 (among groups) 的遺傳分化指數 $\Phi_{ST} = 0.24622 - 0.92416$ ， $p\text{-value} < 0.001$ ，具有明顯的遺傳結構及遺傳分化。遺傳變異的貢獻來源 (percentage variation)，南湖山椒魚的遺傳變異極大部分來自不同水系間的變異 (92.42%)，楚南氏山椒魚與阿里山山椒魚在水系內的遺傳變異占較大比例 (68.14%、75.38%)，觀霧山椒魚及臺灣山椒魚在水系間與水系內兩種階層的遺傳變異貢獻程度接近 (Among populations variation = 59.15%，48.62%。Within populations variation = 40.85%，51.38%)。南湖山椒魚在不同水系間的遺傳結構最明顯 ($\Phi_{ST} = 0.92416$)。楚南氏山椒魚及阿里山山椒魚在水系間的遺傳分化程度較其他三者低

的可能原因為這兩種山椒魚的族群多分布在中央山脈、玉山山脈的高海拔區域，此區域同時也是濁水溪、與高屏溪等多條水系的上游河川（如玉山至八通關一帶的阿里山山椒魚），以及東西部水系的分水嶺（如能高安東軍區域的楚南氏山椒魚，北大武山、南橫地區、馬博橫斷的阿里山山椒魚）。相較於在雪山山脈東西側有明顯分化的觀霧山椒魚和臺灣山椒魚，楚南氏山椒魚和阿里山山椒魚能較輕易透過源頭支流到達另一條水系的範圍。

4. 距離隔離模式檢驗

由 Mantel test 分析距離隔離效應 (IBD) 顯示 5 種山椒魚種內個體間的遺傳距離 (pairwise distances) 與直線地理距離有顯著相關 (圖 8-3)，Mantel test p -value < 0.05 ，相關係數 $R = 0.6451 - 0.9165$ 。顯示長距離亦為影響山椒魚遺傳差異的其中一個因素。

除了阿里山山椒魚，其他 4 種山椒魚的散布圖，資料點傾向聚集成多個簇 (cluster)。例如觀霧山椒魚 (圖 8-3 A) 資料點地理距離的幅度約 60 km，遺傳距離約 0.05，共分成橫向分布的 3 簇 (圖 8-3 A 左下、中間、左上)，此 3 簇內的地理距離幅度約為 20、40、20 km，但遺傳距離的幅度只有約 0.01 (0.00 - 0.01、0.02 - 0.03、0.04 - 0.05)，推測分析所顯示的距離隔離模式，親緣關係樹上各個次類群間的地理分布與遺傳距離的差異占了主要的原因。

表 8-1、臺灣產山椒魚不同水系間的分子變方分析。

Species	N	Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	Fixation Indices (Φ_{ST})	<i>p</i> -value
<i>H. fuca</i>	46	Among population	3	295.115	8.80776 Va	59.15	0.59155 ***	< 0.001
		Within populations	42	255.429	6.08163 Vb	40.85		
		Total	45	550.543	14.88939			
<i>H. formosanus</i>	205	Among population	5	555.565	5.14804 Va	48.62	0.48622 ***	< 0.001
		Within populations	199	1082.533	5.43986 Vb	51.38		
		Total	204	1638.098	10.58791			
<i>H. glacialis</i>	57	Among population	1	252.510	18.24962 Va	92.42	0.92416 ***	< 0.001
		Within populations	55	82.367	1.49759 Vb	7.58		
		Total	56	334.877	19.74720			
<i>H. sonani</i>	109	Among population	3	200.814	2.55788 Va	31.86	0.31860 ***	< 0.001
		Within populations	105	574.407	5.47054 Vb	68.14		
		Total	108	775.220	8.02842			
<i>H. arisanensis</i>	149	Among population	5	224.414	1.95511 Va	24.62	0.24622 ***	< 0.001
		Within populations	143	855.921	5.98546 Vb	75.38		
		Total	148	1080.336	7.94057			

*** *p*-value < 0.001。(本研究資料)

地理分布

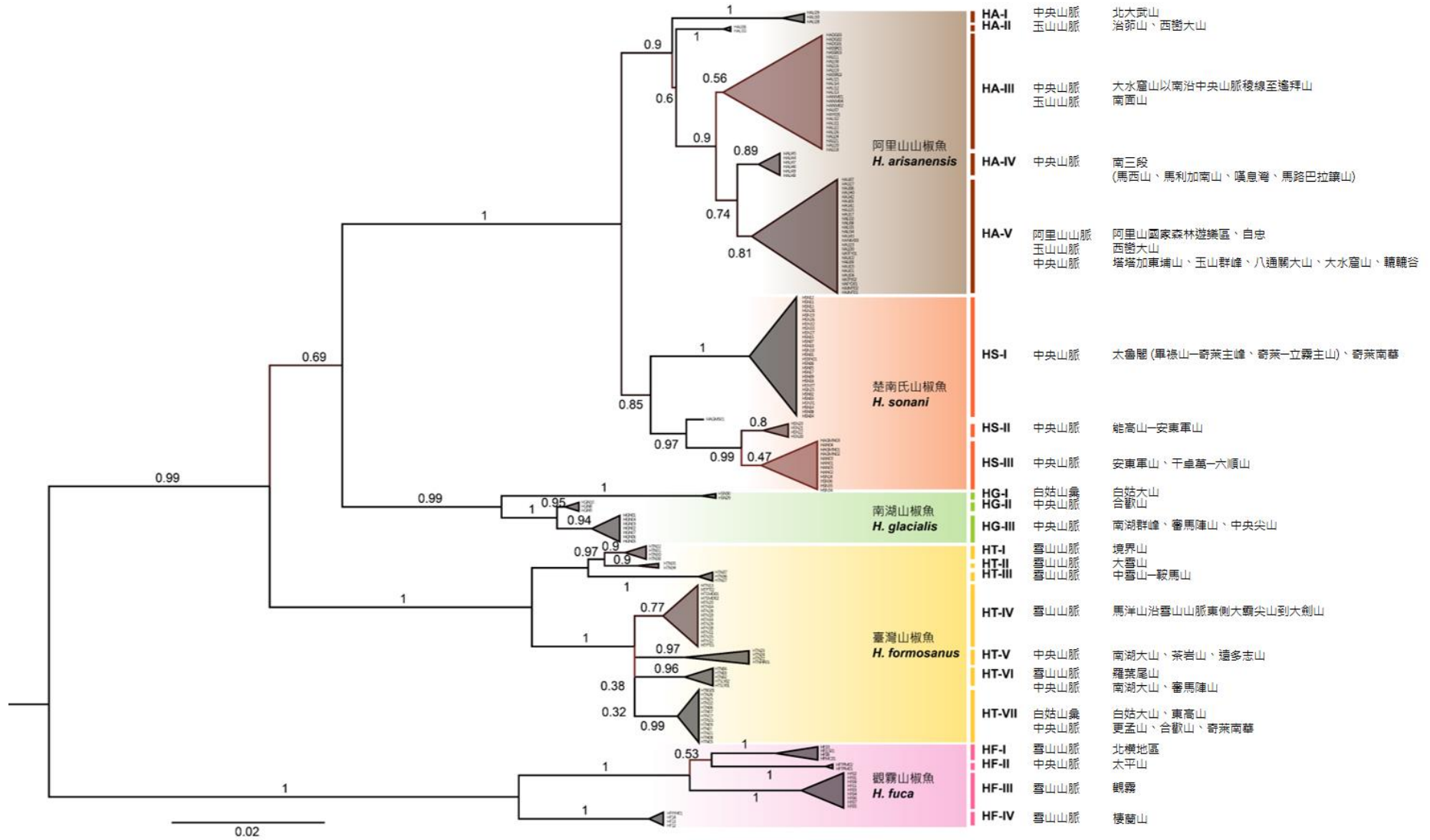


圖 8-1、臺灣產山椒魚粒線體細胞色素 b 基因核苷酸全長序列親緣關係樹

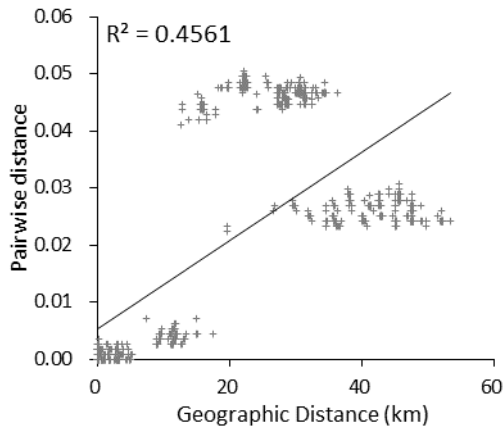
演化分析軟體 MEGA X 基於 Maximum likelihood 法推演之演化樹。Bootstrap value 小於 70 的分枝為支持度低的分枝。(本研究資料)



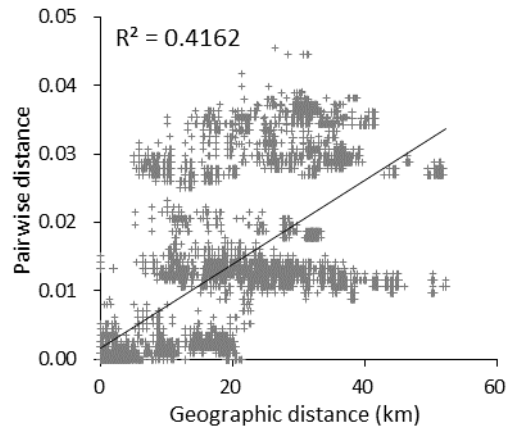
圖 8-2、丹大至六順山一帶調查到之山椒魚

此地調查到之山椒魚外觀形態接近阿里山山椒魚，基於 *cytb* 的 DNA 序列的親緣關係分析將其分派至楚南氏山椒魚的 S-III 分支群（本研究資料）。

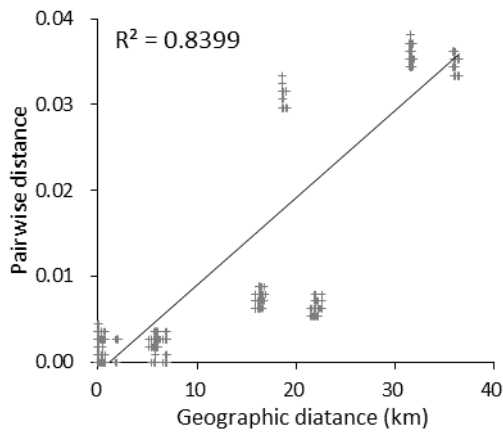
(A) *H. fuca*



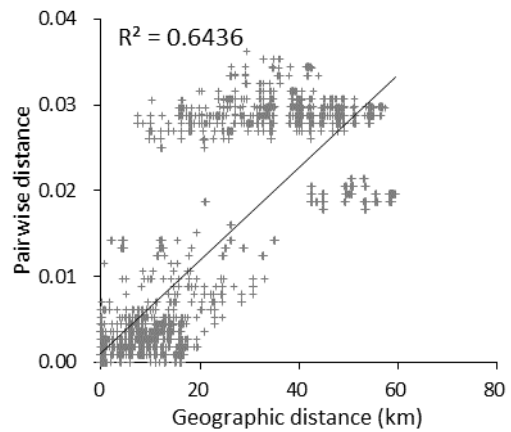
(B) *H. formosanu*



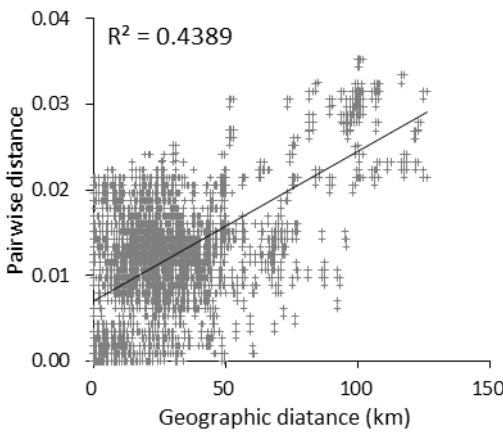
(C) *H. glacialis*



(D) *H. sonani*



(E) *H. arisanensis*



	N	R	p
<i>H. fuca</i>	46	0.6753	0.0001
<i>H. formosanu</i>	201	0.6451	0.0001
<i>H. glacialis</i>	57	0.9164	0.0001
<i>H. sonani</i>	109	0.8023	0.0001
<i>H. arisanensis</i>	149	0.6625	0.0001

圖 8-3、以 Mantel test 分析距離效應之散布圖

每個灰色十字表示個體對的地理距離 (km) 和遺傳距離 (pairwise distances)。(A) 觀霧山椒魚，(B) 臺灣山椒魚，(C) 南湖山椒魚，(D) 楚南氏山椒魚，(E) 阿里山山椒魚。N 表示樣本數，R 表示 Mantel test 的相關係數 (correlation coefficient)， R^2 表示決定係數 (coefficient of determination)。(本研究資料)

九、表現標記微衛星標記 (EST-SSR) 的建立與親緣鑑定

1. 以轉錄體 (transcriptome) 序列設計臺灣產山椒魚表現序列微衛星標記

為進一步進行山椒魚的個體鑒別，驗證不同種山椒魚之間是否有基因交流，對臺灣山椒魚、觀霧山椒魚、楚南氏山椒魚、南湖山椒魚與阿里山山椒魚進行轉錄體建構與基因組定序。

(1) RNA 抽取品質檢定、次世代定序與組裝

組織來自新鮮臺灣山椒魚、觀霧山椒魚、楚南氏山椒魚、南湖山椒魚與阿里山山椒魚尾部肌肉組織，以 RNeasy® Lipid Tissue Mini kit (Qiagen, USA) 提取總 RNA (total RNA)，交由廠商進行品質判定。判定指標包含 28S : 18S 比值、總 RNA 量和 RQI (RNA quality indicator) 值。RQI 值用於評估 RNA 降解程度，程度介於 1 至 10 分間，RQI 值越高，代表 RNA 的降解程度較少，完整度越高。本研究分析的臺灣山椒魚、觀霧山椒魚、楚南氏山椒魚、南湖山椒魚與阿里山山椒魚，RNA 樣本 28S : 18S 比值分別為 1.34、1.36、1.36、0.89 與 0.88，總 RNA 量分別為 30,240 ng、18,032 ng、23,352 ng、19.14 ng 與 8,120 ng，RQI 值臺灣山椒魚、觀霧山椒魚與楚南氏山椒魚皆為 9.7，南湖山椒魚為 7.4，阿里山山椒魚為 7.9，皆通過品質判定。隨後，反轉錄合成 cDNA 進行次世代定序 (Next generation sequencing)，將 DNA 序列打成短片段序列，以承接序列 (adaptor) 與短片段序列相接，定序出之結果稱為單次定序片段 (read)。再經過 QT (quality trimming) 步驟，修剪單次定序片段 5' 端的 12 鹼基對長度 (bp)，排除錯誤率 (error probability) 大於 0.05 的單次定序片段，將剩餘長度大於 35 核苷酸的定序片段 (Clean read) 納入後續分析。完成 QT 的單次定序片段經 Trinity 軟體以 De-Bruijn graphs 策略根據單次定序片段彼此間重疊序列進行序列組裝獲得轉錄本 (transcript, unigene)。

(2) 表現序列微衛星搜尋與微衛星標記引子設計

完成組裝的轉錄體序列以軟體 MicroSatellite (MISA) 搜尋微衛星序列，以單元 (unit) 的核苷酸長度 (unit size) 及重複次數 (number of repeats) 為條件，排除族群中具有多型性的可能性較低的微衛星序列，排除條件如下：單核苷酸重複小於 10 次；雙核苷酸重複小於 6 次；三、四、五及六核苷酸重複小於 5 次者。隨後，以軟體 MicroSatellite (MISA) 搜

尋臺灣產山椒魚轉錄體的微衛星序列，挑選出重複次數大於等於 9 次，三、四、五核苷酸為重複單元的微衛星序列設計 PCR 引子 30 對；另外以軟體 MicroSAteLLite (MISA) 與 CD-HIT 共同篩選出臺灣產山椒魚轉錄組中相似度大於 90% 的 contigs，參數設定為三、四、五與六個重複序列核苷酸設計 PCR 引子。經兩種策略篩選出候選的微衛星序列後，使用 Primer 3 (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) 挑選及預測可行的微衛星引子，設定之篩選條件：引子長度 18-20 個核苷酸、引子熔點溫度 (Primer Melting Temperature) 50 – 70°C、GC 含量比例為 20 – 80 %。並以梯溫 PCR 測試引子具專一性之最佳黏合 (annealing) 溫度。

(3) 表現序列微衛星引子之多形性測試

為測試引子對的多型性，挑選來自不同樣區的 8 隻臺灣山椒魚 (中央尖溪支流、香菇寮、820 林道、境界山、230 林道、更孟山北方、大鹿林道、更孟山南方、博可爾草原、730 林道)、8 隻楚南氏山椒魚 (奇萊黑水塘、成功堡、天池、820 林道、能高南南鞍、武嶺、屯鹿池 (萬里橋溪源)、奇萊裡山東側)、8 隻觀霧山椒魚 (大鹿林道、巨木林道、大鹿林道、北插天山、棲蘭山)、8 隻阿里山山椒魚 (阿里山森林遊樂區、向陽、大水窟、南營地、塔比拉山、馬利加南山)、8 隻南湖山椒魚 (白姑大山、南湖圈谷、中央尖溪支流、審馬陣) 檢測引子之多形性。所設計的引子對，15 組經 PCR 反應可成功擴增目標長度片段並在洋菜瓊脂膠體電泳分析下表現多型性 (圖 9-1)，並標定為螢光微衛星引子 (表 9-1)。

2. 臺灣產山椒魚表現序列微衛星標記多型性訊息含量分析與分派檢定

為檢測臺灣產山椒魚各基因座上之標記是否具有多型性，將五種山椒魚進行基因多型性分析。針對已進行毛細管電泳之微衛星螢光標記，以軟體 Cervus version 3.0.7 計算預期雜合度、多型性訊息含量 (Polymorphic Information Content, PIC) 以及哈溫平衡檢定 (Hardy-Weinberg equilibrium, HW)，結果如表 9-2。微衛星基因座資訊含量 (PIC) 值大於 0.5 視為高等資訊含量 (highly informative)，介於 0.25 與 0.5 之間為中等資訊含量 (reasonably informative)，低於 0.25 者視為低等資訊含量 (slightly informative)。結果顯示，在檢測的 76 隻個體中，表現序列微衛星標記 H54、H2667、H3455、T13、T41、T45、T01、H346、H1305、

H1664、H2222 與 H2784 具有高等資訊含量，而 H3108、H405 與 H3478 則具有中等資訊含量。在對偶基因數上，T01 具有最高的對偶基因組合，H405 則僅有 3 種對偶基因組合。哈溫平衡檢定，為描述一個基因座在隨機配對、族群未有移入移出的情況下，以預期基因座之基因型頻率與對偶基因頻率，藉以評定微衛星標記之基因座是否偏離哈溫平衡。因微衛星標記檢測上，採用不同棲地之五種台灣產山椒魚樣本，故檢測結果上大多呈現偏離。

3. 以表現序列微衛星標記分析臺灣產山椒魚的遺傳結構

為了解台灣產山椒魚於種間遺傳結構之差異性，取具有中等至高等資訊含量之螢光標記，挑選來自不同樣區的 20 隻臺灣山椒魚、20 隻楚南氏山椒魚、8 隻觀霧山椒魚、20 隻阿里山山椒魚與 8 隻南湖山椒魚進行分派檢定(表 9-3)。考量到觀霧山椒魚與南湖山椒魚分布棲地較少(觀霧山椒魚與南湖山椒魚皆 4 處)，為避免樣區間樣本數差異太大，故僅納入 8 隻個體進行分析。

樣本經聚合酶連鎖反應增幅微衛星序列後，交由國家基因體醫學中心 STRP 進行鑑定，結果以 PeakScannerTWSoftware version 1.0 (Applied Biosystems, U. S. A.) 判讀樣本序列長度，而後以 structure 2.3.4 軟體依微衛星標記於毛細管電泳後之基因型分析結果，經隨機分派至相似族群，來獲取最佳之分群可能。基因型鑑定 Length of Burnin Period 設定為 10,000，馬可夫鏈法(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)設定為 50,000，預設分群數為 $K=1$ 至 $K=10$ ，每群重複運算 10 次。而後，分析結果會以 Structure Harvest 進行分析，以 delta K 觀察最佳的族群分群數。

在分派檢定結果上，最佳分群數顯示為 4 群，且當分群數提升為 5 群時，微衛星標記的 15 個基因座可清楚區分出五種台灣產山椒魚。如圖 9-2 所示，不同顏色分別代表觀霧山椒魚(草綠色)、臺灣山椒魚(湖水綠色)、南湖山椒魚(粉色)、楚南氏山椒魚(藍色)與阿里山山椒魚(橘色)。當分群數為 5 群時，觀霧山椒魚分布於雪霸國家公園內之個體遺傳組成相似，而分布於國家公園外的個體，遺傳組成則較混亂，值得進一步進行探討；臺灣山椒魚，不同棲息地之個體遺傳組成相似，呈現湖水綠色，少數分佈於志樂溪一帶的個體，在分派檢定中依據 15 組表現序列

微衛星基因座分派所得之基因型組成 (q-value)，有近 40% 接近觀霧山椒魚；於南湖山椒魚中，各棲地的遺傳組成近乎相似，呈現粉色，分布於三錐山之個體，則被認為較接近楚南氏山椒魚 (藍色)；楚南氏山椒魚，於各棲地間皆具有相似的遺傳組成，唯有 820 林道部分個體與臺灣山椒魚的遺傳組成相似，考慮到 820 林道同時具有三種山椒魚分佈，不排除具有種間基因滲入的可能性；阿里山山椒魚，北界治卵山，南界北大武山，各採樣地個體之遺傳組成大多為相似的橘色，唯有分布於治卵山之山椒魚遺傳組成與其他採樣地不同，且其基因型組成 (q-value) 有近 90% 以上被認定為楚南氏山椒魚，是否此族群受地理隔離而進一步分化，又或是曾受楚南氏山椒魚於基因滲入，仍值得進一步探討。綜合以上，根據分派檢定之結果，此 15 組表現序列微衛星標誌可作為區分五種台灣產山椒魚的有效遺傳標記。

表 9-1、臺灣產山椒魚螢光標記引子對

引子對	重複單元		引子序列 (5' → 3')	產物長度 (bp)	TA (°C) ¹	Fluorescent dye ²	多型性 ³
T01	TCT	F	AGGTGGCTGTGATAGGCAAG	233	59	VIC	Y
		R	TCAAGGTCGTGAACGGTGTA				
T13	ATAC	F	ACACTCCGGCAATACACACC	296	57	VIC	Y
		R	TCGTGCACTGACTGAACAGG				
T41	ATT	F	AAGACAGCGCTATATAAGACTTGC	250	61	VIC	Y
		R	AGTCTGGCATCAACGTCTCC				
T45	TCT	F	CCCCAAATCTGATATTATTATTGGTAA	232	59	VIC	Y
		R	GAGCAGTAGTGGCCTGGAAC				
H54	GTG	F	GGCAGGTGGCAACAAAGG	245	61	VIC	Y
		R	CGTCACTCTCATTGGCTTCC				
H346	AGG	F	TGAAAAGGAAGCCAGTGAGG	198	59	6-FAM	Y
		R	CTCTCATCGTCGTCGCTACC				
H405	GTG	F	GTGCCACAACTTGGAAACC	181	57	PET	Y
		R	TTATTAAGCGGGCCAAACAC				
H1305	GAG	F	TACAACATTCTGACCAGGAG	287	57	VIC	Y
		R	CGGCTTCTCATCACCTGAG				
H1664	TGGA	F	TTGCAGTTGCATGCTTTAGTG	232	59	VIC	Y
		R	CCGTCTGGTCTTCATTAGCAG				
H2222	GAT	F	CTGCCACAGCACTTAGATTACC	228	59	6-FAM	Y
		R	TGACAACATCGTATCGGAAGG				
H2667	TCAA	F	TCTTATGGTCCTGGGATTGC	199	59	6-FAM	Y
		R	TGCACTGATAGAGATGGATGC				
H2784	CACT	F	GGAGCAAATAAACAGCACACC	151	57	PET	Y
		R	AACAGACGTGGGATACATAGG				
H3108	GTG	F	CCCTCCCCCTCATATTTCC	210	59	6-FAM	Y
		R	GAGCTACTTGGCATCACTTGC				
H3455	GTTGA	F	CCGGTTCTCCTGTTAGTTGC	202	61	6-FAM	Y
		R	GACCGCGCTATACAAAGTCC				
H3478	GCA	F	ACCGTCTCAGCAGCTAAACC	226	57	6-FAM	Y
		R	TTTGTGCTCCTCTGAATGG				

¹ TA：經梯溫 PCR 測試後最佳黏合溫度。² Fluorescent dye：為正向引子所標記之螢光標記種類。³ Y：經毛細管電泳後，具有專一性與多型性之特徵波形。(本研究資料)

表 9-2、臺灣產山椒魚微衛星標記多型性資訊分析

引子對	臺灣產山椒魚					
	k	N	H _O	H _E	PIC	HW
H54	6	76	0.324	0.614	0.577	***
H2667	8	76	0.467	0.748	0.712	***
H3108	6	76	0.311	0.552	0.482	***
H3455	8	76	0.513	0.734	0.691	***
T13	19	76	0.526	0.893	0.878	***
T41	9	76	0.253	0.732	0.683	***
T45	11	76	0.467	0.754	0.726	***
T01	22	76	0.538	0.938	0.925	***
H346	6	76	0.371	0.801	0.764	***
H405	3	76	0.148	0.426	0.341	***
H1305	11	76	0.289	0.699	0.669	***
H1664	5	76	0.324	0.589	0.531	***
H2222	11	76	0.560	0.834	0.808	***
H2784	6	76	0.276	0.594	0.531	***
H3478	10	76	0.333	0.500	0.476	NS

k：對偶基因數。

N：成功獲得對偶基因型之個體數。

H_O：觀測雜合度。

H_E：預期雜合度。

PIC：多型性資訊含量。

HW：哈溫平衡檢定，NS 為未偏離哈溫平衡，***為顯著偏離哈溫平衡 ($p < 0.05$)。

(本研究資料)

表 9-3、族群分派檢定樣本來源資訊

分群編號	外表型種類	採集地編號	樣本來源
Group 1	<i>H. fuca</i>	1	巨木步道
		2	大鹿林道
		3	北插天山
		4	棲蘭山
Group 2	<i>H. formosanus</i>	5	中央尖溪
		6	大雪山
		7	塔羅灣溪
		8	更孟山南方
		9	志樂溪
		10	境界山
		11	中央尖溪支流
		12	更孟山北方
		13	大鹿林道
		14	730 林道
		15	230 林道
		16	820 林道
Group 3	<i>Hynobius glacialis</i>	17	三錐山
		18	中央尖溪支流
		19	中央尖溪
		20	南湖圈谷
		21	審馬陣
Group 4	<i>H. sonani</i>	22	820 林道
		23	
		24	武嶺
		25	成功堡
		26	白石池
		27	武嶺
		28	立霧溪源頭
		29	奇萊南華
		30	能高越嶺
		31	天池
		32	屯鹿池
		33	臺灣池
		34	小風口
		Group 5	<i>H. arisanensis</i>
36	荖濃溪		
37	八通關		
38	巴奈伊克		
39	玉山圓峰		
40	玉山南峰		
41	南營地		
42	拉庫音溪		
43	轆轤谷		
44	塔塔加		
45	阿里山森林遊樂區		
46	特富野		
47	塔芬谷		
48	向陽		
49	大水窟山		
50	北大武山		

(本研究資料)

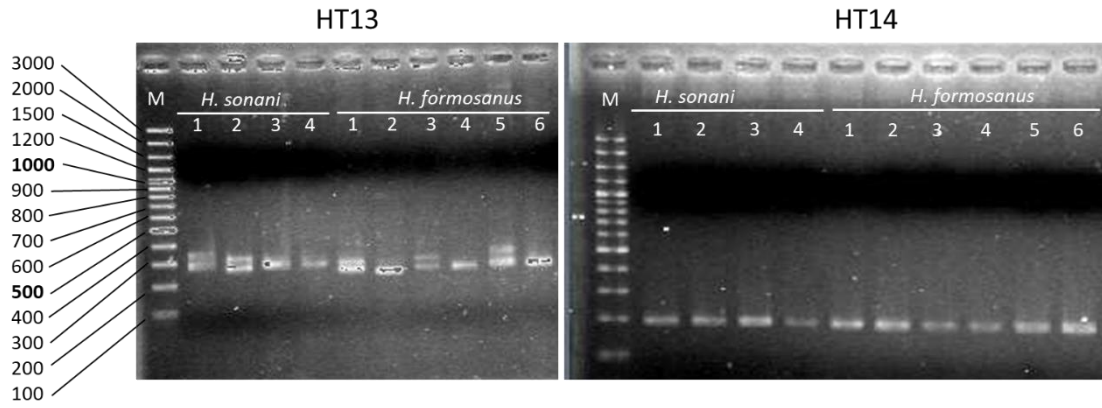


圖 9-1、微衛星標記 PCR 反應與種間多型性測試

M：GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (100 ng)；*H. sonani* 1-4：測試的楚南氏山椒魚 DNA 1-4 號，*H. formosanus* 1-6：測試的臺灣山椒魚 DNA 1-6 號。HT13、HT14：測試的引子對。(本研究資料)

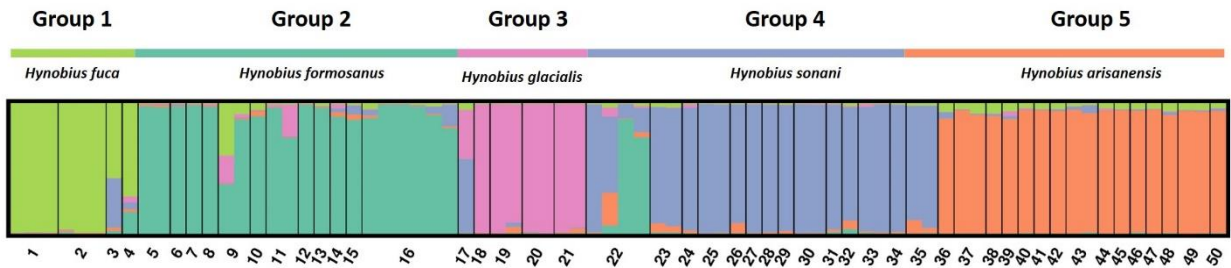


圖 9-2、以微衛星標記進行山椒魚種間分派檢定

以 15 組具有中等至高等資訊含量之微衛星標誌，針對 8 隻觀霧山椒魚（草綠色）、20 隻台灣山椒魚（湖水綠色）、8 隻南湖山椒魚（粉色）、20 隻楚南氏山椒魚（藍色）與 20 隻阿里山山椒魚（橘色）進行分派檢定。當分群數為 5 群時，可清楚區分不同種的山椒魚。(本研究資料)

十、臺灣原生山椒魚之生態解說網頁

本計劃結合計劃執行期間與過去收集之資料，完成山椒魚生態解說網站架構(附件十四)，項目包括山椒魚的起源，臺灣原生山椒魚的分類、分布地圖、棲地環境、食性、生活史與山椒魚面臨的生存威脅。

第四章 結論與建議

- 一、 本計劃完成全臺 4 座主要山脈及支脈山彙，包含雪霸國家公園、太魯閣國家公園及玉山國家公園園區內及周圍山系的山椒魚分布調查，更新全臺山椒魚的分布範圍及海拔區間。於三座國家公園內的族群監測樣區建立三年螢光埋植彈性標記的標放資料，提供未來長期監測當地山椒魚族群及個體的長期辨識方法。並且，由再捕捉記錄也確認野生阿里山山椒魚的自然壽命超過 10 年，臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚的自然壽命可達 4-5 年以上。
- 二、 五種山椒魚在族群監測樣區的海拔、緯度等都有所不同，但微棲地環境皆以有蘚苔生長的石頭作為主要覆蓋物。底質則以不含草根或石塊的單純腐質土為主，除了在畢祿林道，微棲地底質種類在不同物種間的分布不同，畢祿林道的南湖山椒魚以帶碎石的腐質土為主要利用的底質。
- 三、 由胃內容物分析山椒魚的食性，臺灣產山椒魚皆以昆蟲綱為最主要的獵物種類，鞘翅目獵物為主，雙翅目居第二。在昆蟲綱之外，觀霧山椒魚的主要獵物還有軟甲綱及倍足綱，臺灣山椒魚為軟甲綱及蛛形綱；南湖山椒魚為蛛形綱、唇足綱即軟甲綱獵物；楚南氏山椒魚以倍足綱、唇足綱與蛛形綱為次要獵物；阿里山山椒魚以蛛形綱及唇族綱為次要獵物。由畢祿林道不同季節的山椒魚胃內容物組成可得知，畢祿林道的山椒魚以鞘翅目、雙翅目，與軟甲目為主要獵物，胃內容物的組成有季節變化。昆蟲綱獵物在春季與夏季的種類豐富度不同，在夏季消費較多菊虎科幼蟲及隱翅蟲的成蟲，大都屬夜行性的土棲型無脊椎動物。
- 四、 在生物醫學影像方面，本計劃成功建立了使用 mMRI 以非侵入性的方式鑑定山椒魚性別的方法，取得五種山椒魚雄性及雌性生殖腺的影像資料，確認阿里山山椒魚與南湖山椒魚和小鯢科其他物種同樣，會隨時間改變生殖腺的形態。我們也建立以 mCT 取得山椒魚骨骼醫學影像的流程，描述臺灣五種山椒魚的硬骨差異，其中四種山椒魚在頭骨骨骼間的開孔程度存

在些許差異，其餘的骨骼形態在種內的變異相當常見，僅依靠骨骼進行臺灣產山椒魚的物種鑑別有其困難。

- 五、以 PCR 檢測山椒魚皮膚拭子樣本提取 DNA 中蠚蟻壺菌及蛙壺菌的核糖體 DNA 片段，結果顯示目前蛙壺菌症或蠚蟻壺菌症並未在臺灣的山椒魚族群中流行。
- 六、對山椒魚生活史的研究，本計劃以直接觀察結合工業內視鏡方法完成記錄野外楚南氏山椒魚及臺灣山椒魚卵的孵化過程。孵化過程中，生殖微棲所的水棲昆蟲如石蠶蛾的稚蟲、大蚊稚蟲以及龍蟲的成蟲可能為山椒魚胚胎、蝌蚪幼體的潛在天敵。另外，本計劃也建立觀霧山椒魚及阿里山山椒魚人工圈養環境，以自動相機觀察山椒魚的活動模式確定這兩種山椒魚應屬夜行性。於繁殖箱內記錄到觀霧山椒魚及阿里山山椒魚卵的孵化過程、觀霧山椒魚由卵孵化自變態為陸棲形態的過程。
- 七、臺灣的山椒魚各個種內可進一步區分出數個遺傳類群，分布於特定的地理範圍內。五種山椒魚在水系間具有明顯的遺傳結構及遺傳分化。個體間的遺傳距離與直線地理距離有顯著相關，顯示長距離亦為影響山椒魚遺傳差異的其中一個因素。而楚南氏山椒魚及阿里山山椒魚在水系間的遺傳分化程度較其他三者低，可能為各種山椒魚對不同海拔適應的差異結果。
- 八、本計劃完成臺灣 5 種山椒魚的轉錄體定序，開發 15 組表現標記微衛星標記於分派檢定下可成功區分臺灣的 5 種山椒魚進行親緣鑑定。
- 九、完成山椒魚生態解說網站架構，項目包括山椒魚的起源，臺灣原生山椒魚的分類、分布地圖、棲地環境、食性、生活史與山椒魚面臨的生存威脅。

建議

- 一、劃定永久調查樣區或樣線與建立標準調查流程及資料分析方法。建議在太魯閣國家公園 820 林道 (0-8 公里)、南湖園谷；雪霸國家公園巨木步道、榛山步道與大雪山 230 林道 (0-5 公里)；玉山國家公園：玉山林道與神木林道等

地點設立永久調查樣區或樣線。標準調查流程及資料分析方法由研究團隊提供。

二、本研究結果呈現，棲地地表無脊椎動物相的多樣性、豐富度與山椒魚的棲地品質有關。建議未來可增加研究棲地地表無脊椎動物相的調查分析方法，同時在山椒魚數量較稀少且敏感的樣區進行棲地地表無脊椎動物相的監測調查。來評估山椒魚的棲地品質變化。

三、本研究在觀霧工作站與塔塔加管理站進行域內棲地圈養繁殖計畫，皆成功的繁殖下一代。顯示，所餵飼的多樣食物與環境控制可支持山椒魚進行生育繁殖。為了能進一步的推廣山椒魚保育技術，建議可與臺北市立動物園進行域外異地圈養繁殖計畫。

四、建議可於臺北市立動物園、臺中自然博物館、臺灣博物館、觀霧山椒魚生態中心、塔塔加遊客中心、合歡山小風口等地方舉行山椒魚特展。

五、臺灣的山椒魚研究歷經百年，目前國際間團隊依舊相互合作。建議尋找合適媒體影像製作團隊，製作科普解說素材。

致謝

感謝財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心 (NLAC) 提供儀器及技術協助 (micro-CT)。感謝國立臺灣大學貴重儀器中心的儀器設備 (MOST 110-2731-M-002-001 NMR002000) 提供研究上的協助。感謝國家基因體醫學研究中心 (National Center for Genome Medicine) 生技類核心設施平台維運計畫 (National Core Facility Program for Biotechnology) 提供儀器及技術協助 (3730 DNA analyzer PCR Product STRP 鑑定)

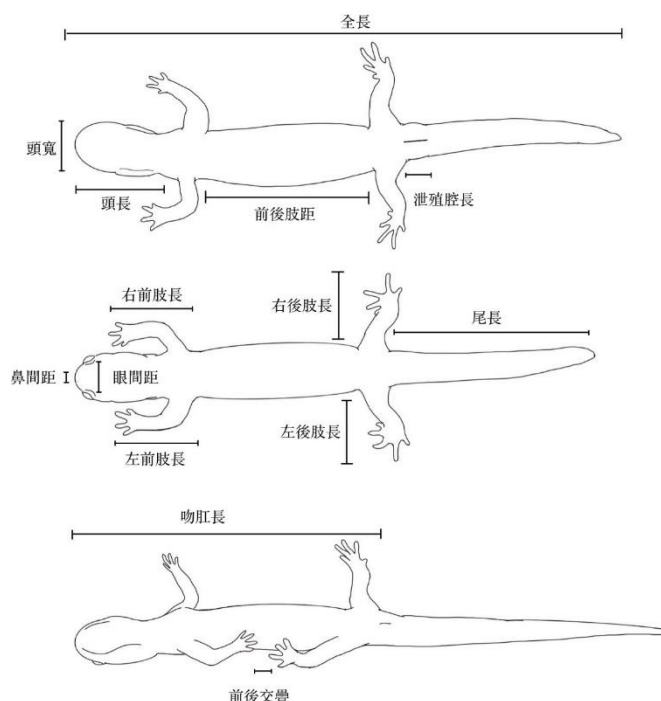
附件一、研究方法細節

1. 山椒魚分布調查記錄表、測量形值說明圖

山椒魚分布調查記錄表

調查日期： / / 調查天候： 調查時間： 調查人數： 人

地點		GPS 座標		海拔	林相			罩蓋度		
溪流水量 <input type="checkbox"/> 整年有水 <input type="checkbox"/> 乾季缺水 <input type="checkbox"/> 整年乾涸				山椒魚種類	現地	麻前	麻後	氣溫	土溫	肛溫
覆蓋物 <input type="checkbox"/> 石 <input type="checkbox"/> 木										
覆蓋植物 <input type="checkbox"/> 苔蘚 <input type="checkbox"/> 草本植物 <input type="checkbox"/> 無				底質 <input type="checkbox"/> 土 <input type="checkbox"/> 碎石 <input type="checkbox"/> 腐質土 <input type="checkbox"/> 草根土 <input type="checkbox"/> 水 <input type="checkbox"/> 木						
吻肛長		尾長		頭長	頭寬	泄殖腔長		體重		色標
眼間距	鼻間距	前後肢距	肋間溝數	前後交疊	左前肢長		左後肢長		樣本狀態	
尋獲者				距活水 m		性別		心跳/食性		
個體特徵				編號與備註				不含泄殖腔吻肛長		



測量形值說明圖（圖片引用自朱，2022）。

2. 山椒魚食性分析方法

(1) 排遺調查法

野外族群調查時，除了將找到的山椒魚個體進行形質測量外，也順便蒐集其排遺。為得到不同個體的排遺資料，我們將山椒魚分別靜置於不同的採集袋中，等待隔日其排出排遺後，再將其放回原棲所。隨後將所收集到的排遺烘乾，以利將來的排遺食性分析。其檢視方式參考林春富等(2009)的方法，分析前先將排遺浸泡在 75% 的酒精中，再以解剖顯微鏡檢視及鑑定排遺碎片殘骸特徵(例如：螯肢、觸肢器、步足、尾毛、鱗片與翅等)。每個排遺均檢查其碎片所屬生物之綱、目、科別，並計算其獵物隻次。此外對於其它排遺碎片(如葉片或細碎的頁岩等)，則粗估其體積佔該排遺之總體積百分比。

(2) 洗胃法

將捕獲的山椒魚，先以 MS-222(0.5 g/L)麻醉，在進行基本測量後，以軟管置入山椒魚個體隻食道處刺激，然後將胃含物沖出(Legler & Sullivan 1979)，洗出之胃內容物以網目篩選，保存於 70% 的酒精中，在顯微鏡下辨認到物種的綱或目，並拍照、測量。隨後將山椒魚浸在清水中，待麻醉劑退去，次日再釋放回原捕捉地點。

3. 山椒魚醫學影像造影及性別鑑定方法

(1) 山椒魚微電腦斷層掃描 (micro-CT)：

參考 Hess et al. (2016) 所發表的文獻。山椒魚個體採集三個國家公園的熱點。採集後利用 4°C 冰盒將山椒魚自棲地移至研究室低溫冰箱飼養，冰箱控制在 16°C 以下，並給予光照調控晝夜循環。掃描當日，動物以低溫保存運輸，送至「國家實驗動物中心」(路程約 30 分鐘)，以 MS-222(0.8 mg/1L 水溶液)將山椒魚麻醉後，浸於麻醉維持液(0.4 mg/1L MS-222 水溶液)保持體表濕潤，維持鼻孔朝上高出水面，放到小動物電腦斷層掃描儀 (micro-computed tomography, SKYSCAN 1076 micro-CT) 進行骨骼造影。3D 影像重建則利用軟體 CTVOX (BRUKER) 進行重建。影像建檔後，將山椒魚送回原棲地釋放。

(2) 山椒魚微核磁共振造影 (micro-MRI)：

方法依據 Sanches et al.(2017)。山椒魚採集、運輸及麻醉步驟如 micro-

CT 所述。進行 micro-MRI 時，將山椒魚麻醉後，浸於麻醉維持液（0.4 mg/1L MS-222 水溶液）保持體表濕潤，維持鼻孔朝上高出水面，放到 BRUKER BIOSPEC 70/30 MRI 影像儀造影。micro-MRI 3D 影像重建則利用軟體進行重建。影像建檔後，將山椒魚送回原棲地釋放。

(3) 泄殖腔內視鏡：

以泄殖腔內視鏡低侵入性方式與超音波觀察外生殖器分辨公母之可行性。於泄殖腔開口伸入 1mm、硬式、0 度內視鏡，經過肛道後進入尿殖室最後到達糞道，由糞道起，從內而外開始觀察，包括陰蒂、陰莖及輸精管、輸卵管之開口，並記錄其外觀特徵。超音波則以腹腔以 12Hz 扇型超音波進行掃描，觀察濾泡及睪丸之外觀。

4. 山椒魚蛙壺菌與蝶螈壺菌感染監測方法

(1) 皮膚拭子樣本收集：

採集太魯閣國家公園、玉山國家公園及雪霸國家公園內山椒魚族群。以尖頭棉棒（Fine-tip swabs）擦取山椒魚腹部、四肢內側及後肢趾尖部位的皮膚，放入 100% 酒精以 -20°C 低溫保存。採集的 SWAB 參考 Goka et al. (2009 年) 發表資訊，以 NP-40 Lysis buffer (NP-40/Proteinase k/NaCl/EDTA/Tris-HCl) 自野生山椒魚採集之表皮拭子 (SWAB) 萃取 DNA，保存於 1X TB buffer。

(2) 蛙壺菌 5.8S 核糖體基因序列檢測：

我們利用巢式 PCR 反應 (nested PCR assay)，進行蛙壺菌 18S、5.8S 與 28S ribosomal RNA 基因的 PCR 擴增 (Goka et al., 2009; Zhu et al., 2014)。根據發表在 NCBI 資料庫之蛙壺菌菌株 JECL197 之全基因組基因序列，設計位在 18S 核糖體的順向引子 Bd18SF1 (5'-TTTGTACACACCGCCCGTCGC-3') 與位在 28S 核糖體反向引子 Bd28SR1 (5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGG-3')，作為巢式 PCR 反應的外圍引子 (outer pair)。而後進行 PCR 將蛙壺菌的 28S、5.8S 與 18S 核糖體的 DNA 基因序列擴增出來。利用在 ITS1 與 ITS2 序列上的第二次 PCR 擴增引子 (second pair of primers) Bd1a (5'-CAGTGTGCCATATGTCA CG-3') 與 Bd2a (5'-CA TGGTTCATATCTGTCCAG- 3') 進行蛙壺菌的 5.8S 核糖體 DNA 的擴增。經 PCR 將蛙壺菌的 5.8S 核糖體的 DNA 基因序列擴增出來與否判斷感染與否。若有蛙壺菌感染，結果可在瓊脂膠體 (agarose) 電泳檢測到 PCR 的產物。

(3) 蠓蟻壺菌 5.8S 核糖體基因序列檢測：

透過聚合酶鏈鎖反應自上述萃取純化出的 DNA 增幅蠓蟻壺菌基因 ITS1-5.8S rRNA-ITS2 區域核苷酸序列。使用的引子對包括：順向引子 STerF (5'-TGCTCCA TCTCCCCCTCTTCA-3') 及反向引子 STerR (5'-TGAACGCACATTGCACTCTAC-3')。PCR 反應總體積為 20 μ L。反應溶液如下：10 ng DNA、1 μ M 順向引子 STerF、1 μ M 反向引子 STerR、1.5 mM MgCl₂、1 \times Taq buffer、dNTP(0.2mM each)、0.8 units Taq polymerase。PCR 增幅反應條件如下：95 $^{\circ}$ C 作用 1 分鐘；循環反應 95 $^{\circ}$ C 作用 30 秒，55 $^{\circ}$ C 作用 30 秒，68 $^{\circ}$ C 作用 30 秒，持續 30 個循環；68 $^{\circ}$ C 作用 10 分鐘後結束增幅反應。於 1.8 % 瓊脂膠體下分析 PCR 產物。帶有蠓蟻壺菌 5.8S rRNA 的 DNA 可被增幅出長度約為 160 bps 的 DNA 片段產物 (Martel et al., 2013 ; Blooi et al., 2016)。

5. 人工圈養環境設置

人工圈養環境設置養殖箱(水族箱)，分為兩部分，其中一部分為飼養箱，另一部分為繁殖箱。飼養箱與繁殖箱間以不透光塑膠管連接。

(1) 飼養箱：

使用 2~3 尺缸，上覆紗網避免圈養個體逃脫，底鋪 3~10cm 不等之砂礫，佈置適於躲藏之石塊、苔蘚、朽木等材料，以模擬陸地棲息環境；砂礫較淺一側為經常有水環境，水深 5cm，使用原棲息地附近溪水，以幫浦營造流水環境，並設置過濾幫浦、風扇等等，保持水質乾淨與適當濕度。初步規劃一個飼養箱養殖 4 隻山椒魚。

(2) 繁殖箱 a：

使用 2 尺缸，底鋪 3-5 cm 砂礫，設置相疊之石塊、石片等有利產卵環境；水深 5cm，使用原棲息地附近溪水；設置幫浦、外覆不透光黑布以模擬地下伏流狀態。圈養之山椒魚食餌以國家公園域內之小型無脊椎動物為主。

(3) 繁殖箱 b：

含上蓋的玻璃水族缸內 (20 cm X 20 cm X 20 cm)。以採集地的砂作或市售的粗粒徑沸石底砂作為底材，使用的底砂厚度為 5 cm，引入原棲地水體飼養。以扁平石片(紅磚)傾斜放置，作為卵囊黏附的基質，距離底部預留 0-5 公分的空隙供雌山椒魚貼附卵串，並使用沉水式幫浦與過濾器製

造弱水流模擬野外繁殖環境並維持水質。繁殖箱的水溫維持溫在攝氏 10 度為基準。缸內山椒魚的活動，使用高畫質攝影機進行行為紀錄。

表、人工圈養環境設置

	飼養箱	繁殖箱 a	繁殖箱 b
尺寸	2~3 尺缸	2 尺缸	20 x 20 x 20 cm ³
上蓋	紗網	紗網	紗網
水缸底部			
底材種類	砂礫	砂礫	棲地河砂、粗粒 徑沸石底砂
底材厚度	3 – 10 cm	3 – 5 cm	5 cm
卵串附材	-	石塊、石片	紅磚
水深	5 cm	5 cm	
水體	原棲地附近溪水	原棲地附近溪水	
水溫	0-10°C	0-5°C	10 °C
水流營造	-	沉水幫浦	沉水幫浦、過濾器
陸地造景			
底材種類	赤玉土	赤玉土	赤玉土
環境	石塊、苔蘚	石塊、苔蘚	石塊、苔蘚

6. 山椒魚生活史觀察

(1) 研究樣點與野外調查

研究區域位於合歡山區，海拔高度約 3,000 公尺。楚南氏山椒魚的研究樣點位於合歡溪最上游武嶺營區附近；臺灣山椒魚的研究樣點鄰近小風口地區，塔次基里溪源頭附近的一處溪澗，周遭植被為臺灣冷杉與玉山箭竹所共同鑲嵌而成。

本研究於 2020 年 3 月起，每周前往研究區域觀察是否有山椒魚的生殖行為。發現有黏著卵串的石塊，則會配合使用內視鏡深入石縫下觀察，以減少翻動的干擾。

(2) 胚胎/蝌蚪的紀錄

當發現山椒魚卵串時，除了測量卵串的基本形質外，也以照相輔助記錄胚胎發育的狀況。胚胎發育分期的文獻主要參考 Iwasawa and Kera (1980) 對爪鯢屬無肺螈胚胎的分期標準，製作成以周為單位的野外楚南氏山椒魚胚胎及臺灣山椒魚發育表，並新增對兩物種特徵的描述。

(3) 氣象資料

本研究之合歡山雨量及氣溫觀測值，主要來自中央氣象局之氣象測站資料。雨量觀測值引用自離兩研究樣點距離最近的合歡山測站

(Hehuan Mountain, C0H9C0) 資料。氣溫觀測值引用自小奇萊測站 (Xiaoqilai, C0I530) 資料, 該站海拔高度為 3014 公尺, 與兩研究樣點海拔相近。

(4) 資料分析

為了解胚胎/蝌蚪的野外發育狀況, 藉由每周的觀察建立野外山椒魚從卵發育到變態完成的發育分期表, 及對本種特徵的描述。同時也探討外界環境因子, 如生殖棲所的樹冠鬱閉度、溫度與雨量等, 以及生物因子如天敵生物、絲狀真菌類對山椒魚胚胎發育的影響或威脅。

7. 臺灣產山椒魚親緣地理關係分析方法:

(1) 基因組 DNA 萃取

取 10-20 毫克組織切碎後以 500 μ L Nuclei Lysis Solution、120 μ L 0.5M EDTA (pH 8.0) (Sigma-Aldrich, USA)、17.5 μ L Proteinase K (20mg/ml) (Sigma-Aldrich, USA) 混和液於 55-60°C 作用 12-14 小時。再加入 3 μ L RNase A (4 mg/ml), 37°C 水浴作用 20 分鐘, 加入 200 μ L Protein Precipitation Solution, 震盪混勻後於冰上靜置 15 分鐘, 以 14,000 rpm, 4°C 下離心 10 分鐘。收集上清液以 Isopropanol 析出 DNA, 70% 酒精清洗析出的 DNA 沉澱後晾乾, 以 DNA Rehydration solution 回溶, 全波長光譜分析儀 (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, Thermo Scientific™, USA) 檢測 DNA 濃度。

(2) 聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 擴增細胞色素 b 全長序列

擴增山椒魚粒線體細胞色素 b (cytochrome b, CYTB) 全長序列, 參考 NCBI 發表之臺灣山椒魚粒線體全長序列 (NC008084.1) 於 ND6 區域設計順向引子 HT cytb L 14014 (5'-ACAAACAGCCGCCAACACTA A-3'), tRNA-Thr 至 tRNA-Pro 區域設計反向引子 HT cytb H 15444 (5'-GAGAGGCCTGGAAGAAATGGA-3'), 擴增產物長度約 1,400~1,500 bp。PCR 反應條件依 Advantage® 2 Polymerase Mix (Takara Bio, Japan) 說明書建議, 以 25 μ L 反應體積, 10mM Tris-HCl (pH 8.5)、50 mM KCl、2mM MgCl₂、0.2 μ M dNTP、0.4 μ M 引子、DNA 模板以及 1/50 反應體積的 50X Advantage 2 Polymerase Mix 進行 PCR 反應。溫度作用條件: 94°C 反應 4 分鐘, 接續 94°C 反應 45 秒, 61°C 反應 45 秒, 68°C 反應 1 分 40 秒, 重複共 32 循環, 最後以 68°C 反應 10 分鐘後結束 PCR 作用。在 1.2% 瓊脂膠體/0.5X TBE 下分析反應產物。

(3) 粒線體細胞色素 b 全長序列分析

反應完成的 PCR 產物利用 GenepHlow™ Gel/PCR Kit (Geneaid, Taiwan) 依照產品說明書建議步驟進行純化，以 3730xl DNA 定序儀 (Applied Biosystems™, USA) 進行 DNA 序列定序。獲得的 DNA 序列經 EditSeq 軟體 (DNASTAR Inc.) 編輯，合併重疊的序列獲得粒線體細胞色素 b 全長序列。編輯完成的序列使用軟體 MegAlign 7.1.0 軟體 (DNASTAR Inc.) 利用 Clustal V method 進行排序、比對，尋找核苷酸替代位點判定單套型。

(4) 親緣關係樹繪製與親緣地理分析

所獲得的山椒魚粒線體 cytochrome b 全長序列 (1,141 bp)，結合過去所獲得的山椒魚序列作為參考序列，另以 NCBI 網站公布之日本的飛驒山椒魚 (*Hynobius kimurae*) 做為外群，以演化分析軟體 MEGA 10.0.5 (molecular evolution genetics analysis)，選擇 General Time Reversible 核苷酸替代模型，建構 Maximum Likelihood 法親緣關係樹。同時進行 1000 次靴帶式 (Bootstrap) 重複計算樹圖上各分支可信度 (Bootstrap value)。利用 Arlequin v3.5.1.2 軟體進行分子遺傳變異分析 (Analysis of molecular variance, AMOVA)，以估算所設定的地理區域間的遺傳變異程度 (variation among populations)，檢測族群間或地理區間是否具有遺傳結構。

距離隔離模式檢驗藉由 Mantel test 分析遺傳距離與地理距離之間的相關性，來探討地理區域之間的遺傳分化是否受到地理距離影響，即距離隔離效應 (isolation by distance, IBD) 的存在。利用 IBDWS (isolation by distance web service) 進行距離隔離效應的分析。

8. 山椒魚表現標記微衛星標記建立與親緣鑑定實驗方法：

(1) cDNA 基因庫的建構，反轉錄酶聚合鏈鎖反應：

組織來自新鮮臺灣的山椒魚尾巴，以 TRIzol 抽取 total RNA，後以 chloroform 純化，以酒精沈澱。以 Magnetic Oligo (dT) Beads 純化 poly-A mRNA。利用反轉錄酶 (reverse transcriptase) 與 random hexamer 引子將 poly-A mRNA 反轉成第一股 (first strand) cDNA。接著，cDNA 互補股則利用 DNA 聚合酶與 RNaseH 來完成雙股 cDNA 合成。此雙股 cDNA 進一步以 T4 DNA polymerase、Klenow fragment、與 T4 polynucleotide kinase 修補末端 (end-repair)，後以 Klenow 3'至 5' exo-polymerase 在末端產生單個 Adenosine(A)。最後 T4 DNA ligase 將 adapter 或 index adapter 連接至 cDNA。利用瓊脂膠體，將已有 adapter 共價結合 (ligated) 片段

分離，收集與分離 200-300 核苷酸 cDNA 片段。最後，利用 PCR 去增幅 (enrich) 前述有 adapter 共價結合的 cDNA 片段，後利用 Agilent 2000 Bioanalyzer、ABI StepOnePlus Real Time PCR System 確認增幅結果。確認後以 Illumina HiSeq2000 DNA 序列分析平臺分析 cDNA 序列進行 cDNA 序列資料過濾、分析與序列重組。cDNA 序列兩端分析 90-bp 後，以 SOAPdenovo assembly program 辨識序列片段重疊群 (contig)。再利用 paired-end sequencing strategy 辨識相同的 contig 產物與計算每個 cDNA 間兩兩 contig 間的距離。若序列間有無法讀到的序列 (gap)，則利用 paired-end read 將 scaffold gap 補齊。補齊後計算 unigene 數量。所有 unigene 的註解 (gene annotation)：序列相似性則利用 BLASTx algorithm specifying (E value 設定少於 10^{-5}) 與 ESTScan 軟體取蒐尋 National Center for Biotechnology Information (NCBI)、nonredundant protein (Nr) database 與 Swiss-Prot protein database 等資料庫。同時確定有多少 unigene 是非重覆的。WEGO 軟體則用來進行所有 unigene 的功能性分類。訊息路徑之分派檢定 (assignment) 則利用 KEGG 資料庫。

(2) EST-SSR 蒐尋與引子設計

Unigene 上可能的 SSR 標記則利用 MISA (MicroSatellite identification tool) 與 CD-HIT 兩種軟體進行篩選。先以 CD-HIT 篩選出臺灣現生五種山椒魚轉錄組中相似度大於 90% 的 contigs，再以 MISA tool 設定參數為 2、3、4、5 與 6 個重複序列核苷酸；另外，也以 MISA tool 針對臺灣山椒魚轉錄組序列，篩選於不同 contigs 上重複次數大於 9 次之 3、4、5 與 6 個重複序列核苷酸，兩篩選方式之單核苷酸重複序列則均與以不理會。

引子設計利用 BatchPrimer3 軟體進行設計。設計之參數設定為引子大小 18 至 27-bp、Tm 值 (melting temperature) 50 至 70°C、GC 含量介於 20 到 80 之間、單條引子自行互補程度 (Max Self Complementarity) 設定為 6、順向與反向引子上 GC-鉗 (GC-Clamp) 數目設定為 2 至 3、引子序列中重複序列 (Maximum polynucleotide repeat) 設定為 3。設計後之引子透過梯溫 PCR (temperature gradient PCR) 測試最適合之黏合溫度 (annealing temperature)，找出引子增幅目標序列專一性最佳之溫度。

(3) 檢測 EST-SSR 的多型性：

以五種山椒魚各約 8 隻進行微衛星基因座 PCR 擴增，使用 Blend Taq Plus system (TOYOBO, Japan) 配置總反應體積 10 μ l 於 96 孔盤，包含 1 μ l 10X PCR buffer for Blend Taq、1 μ l 2 mM each dNTP Mix、0.2 μ

1 10 μ M 正向引子與 0.2 μ l 10 μ M 反向引子、1 μ l 模板 DNA (濃度 50 ng/ μ l)、0.1 μ l Blend Taq Plus (2.5U/ μ l) 和 6.5 μ l 去離子水。溫度作用條件：94°C 反應 5 分鐘，接續 94°C 反應 30 秒，依據不同微衛星標記之最適黏合溫度反應 30 秒，72°C 反應 30 秒，重複共 35 循環，最後以 72°C 反應 10 分鐘後結束 PCR 作用。在 1.8% 洋菜瓊脂膠體/0.5X TBE 下分析反應產物，而後挑選具有微衛星特徵重複片段之基因座，由 Applied Biosystems 公司合成 5' 端標定螢光團之正向引子，進行引子螢光染劑 (Fluorescent dye) 標記，使用之螢光團包含 VIC、PET、6-FAM 三種。

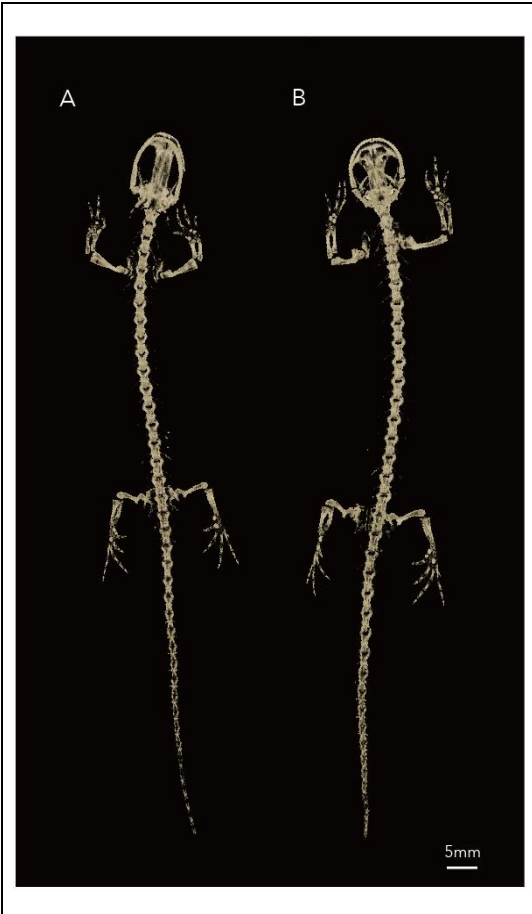
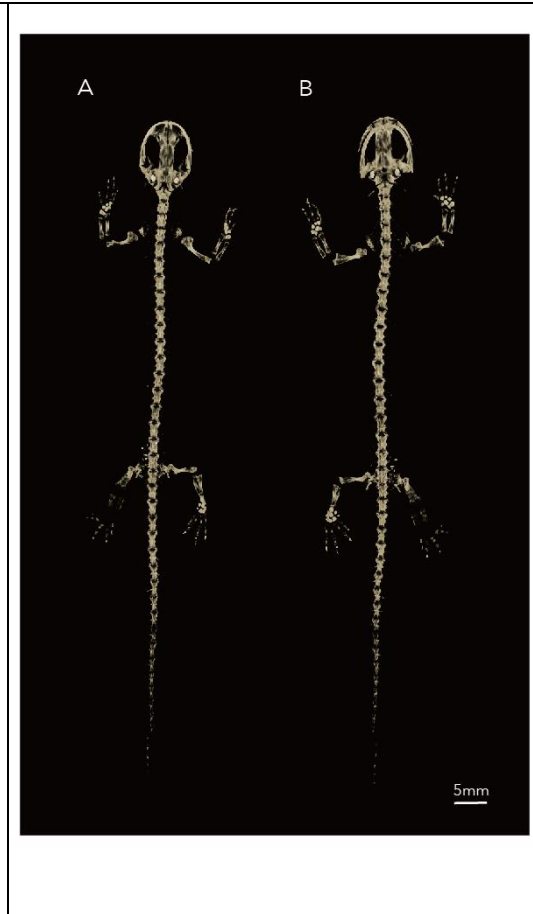

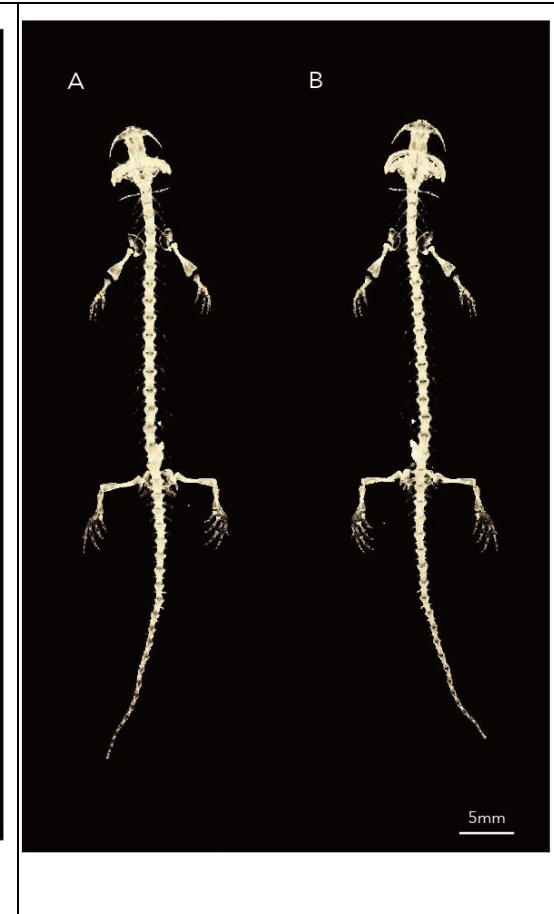
經篩選獲得之正向螢光引子，將以相同 PCR 條件進行目標片段擴增，取 2 μ l 各組微衛星螢光標記引子所增幅之 PCR 產物，委由中央研究院國家基因體醫學研究中心 (NCGM STRP) 進行毛細管電泳 (Capillary Genetic Analyzer) 分析，測定微衛星片段增幅之長度，以標準品 GeneScanTW 500 LIZ Size Standard (Thermo, U.S.A.) 與 Hi-di Formamide (Applied Biosystems, U.S.A.) 作為對偶基因長度校正之標準液，利用 3730 DNA 分析儀 (Applied Biosystems, U.S.A.) 標定增幅序列長度。

每種山椒魚取 8 隻個體進行微衛星基因座 DNA 序列分析，以確定是否為真的微衛星基因座。將國家基因體醫學研究中心之分析結果以 Peak Scanner™ Software version 1.0 (Applied Biosystems, U.S.A.) 判讀樣本之序列長度，以人工掃視波形結果，再以軟體讀值並校正。因每個引子對增幅出之 PCR 產物會有不同的特徵波形，可依觀察不同波形結果找出相似的波形特徵，並以此建立微衛星基因座之標準波形以減少人工判讀之誤差，若出現三個以上明顯波形的基因座則予以淘汰。

(4) 分析微衛星基因座的鑒別能力與分派檢定：

分析微衛星基因座的對偶基因數、有效對偶基因、資訊含量多型性分析 (polymorphism information content, PIC) 與哈溫平衡測試，決定篩選哪幾個微衛星基因座作為未來分析的遺傳標記。方法如下：利用 CERVUS Version 3.0.7 軟體分析基因型頻率、多型性指數 (polymorphism information content, PIC) 及雜合度，其中多型性指數可代表該族群遺傳多型性之程度，並計算有效對偶基因 (effective number of alleles) 與族群哈溫平衡 (Hardy Weinberg equilibrium) 檢定。分派檢定則藉由 structure 2.3.4 軟體進行，比較五種山椒魚不同族群在遺傳上的相似度，以協助釐清不同山椒魚間的親緣地理關係。

附件二 山椒魚全身骨骼

			
<p>楚南氏山椒魚全身骨骼 (A) dorsal view, (B) ventral view</p>	<p>南湖山椒魚全身骨骼 (A) dorsal view, (B) ventral view</p>	<p>臺灣山椒魚全身骨骼 (A) dorsal view, (B) ventral view</p>	<p>阿里山山椒魚全身骨骼 (A) dorsal view, (B) ventral view</p>

附件三、解剖學名詞縮寫與全名

縮寫	全名	中文譯名	縮寫	全名	中文譯名
act	acetabulum	髖臼	mx	maxilla	上頷骨
adf	anterodorsal fenestra	前額窗	na	nasal	鼻骨
amf	anteromedial fenestra	-	obf	obturator foramen	閉鎖孔
an	angular	隅骨	obs	orbitosphenoid	眶蝶骨
ar	articular	關節骨	op-ex	opisthotic-exoccipital	後耳骨-外枕骨
				complex	聯合
at	atlas	寰椎骨	pa	parietal	頂骨
bb	basibranchial	基鰓骨	pcor	procoracoid	前烏喙骨
bc	basale commune	-	ph	prehallux	前拇趾
c	centrale	中央腕骨	pm	premaxilla	前上頷骨
cb	ceratobranchial	角鰓節	po	postminimus	後小指
ch	ceratohyal	角舌骨	pra	prearticular	前關節骨
cor	coracoid	烏喙骨	prf	prefrontal	前額骨
corn	cornua	舌骨	pro	prootic	前耳骨
crd	crista dorsalis	背側嵴	ps	parasphenoid	副蝶骨
crv	crista ventralis	腹側嵴	pt	pterygoid	翼骨
dc	distal carpal	遠端腕骨	pub	pubis	恥骨
den	dentary	齒骨	qu	quadrate	方骨
dt	distal tarsal	遠端跗骨	ra	radius	橈骨
etr	external trochanter	外轉節	rad	radiale	橈側腕骨
fe	femur	股骨	rl	radial loop	橈骨箕
fi	fibula	腓骨	sca	scapulocoracoid	膊喙骨
fib	fibulare	腓側跗骨	scof	supracoracoid foramen	烏喙上孔
fr	frontal	額骨	sm	septomaxilla	隔頷骨
fr	femoral trochanter	股轉節	sq	squamosal	鱗骨
glf	glenoid fossa	肩臼	st	stapes	鐙骨
hb	hypobranchial	下鰓骨	stf	stapedial foramen	
hu	humerus	肱骨	ti	tibia	脛骨
i	intermedium	中間跗骨	tib	tibiale	脛側跗骨
icf	internal carotid foramen	內頸動脈孔	ul	ulna	尺骨
il	ilium	腸骨	uln	ulnare	尺側腕骨
isc	ischium	坐骨	vo	vomer	鋤骨
lac	lacrima	淚骨	yps	ypsiloid	Y 軟骨
lacf	lacrima foramen	淚孔			

附件四、第一次審查會議紀錄

雪霸國家公園管理處 函

機關地址：36443苗栗縣大湖鄉富興村水尾坪100號

聯絡人：于淑芬

電話：037-996100 700

傳真：037-996706

電子郵件：yu@spnp.gov.tw

裝

受文者：國立臺灣大學

發文日期：中華民國109年8月11日

發文字號：營雪保字第1091001328號

訂

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：第一次審查會議紀錄

主旨：檢送109年8月6日辦理之「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結

構與生物學調查委辦計畫第一次審查會議」會議紀錄1份，請查照。

說明：

線

一、依據本處109年7月17日營雪保字第1090002700號函續辦。

二、請臺灣大學依照有關決議事項修正，並將第2期款領據函送本處，俾

憑辦理撥款事宜。

正本：國立臺灣師範大學生命科學系呂光洋教授、行政院農業委員會家畜衛生試驗所涂堅組長、國立臺灣大學、玉山國家公園管理處、太魯閣國家公園管理處、本處各課室、觀霧管理站、武陵管理站、雪見管理站

副本：國立臺灣大學動物科學技術學系朱有田教授

109/08/11
15:40:52

校級公文 109/08/11

第1頁，共1頁



收文號: 1090068195

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」

第一次審查會議紀錄

壹、會議時間：109年8月6日(四)下午2時30分

貳、會議地點：本處第一會議室

參、主席：林副處長文和

紀錄：于淑芬

肆、出(列)席單位及人員：詳如簽到單

伍、討論事項

外聘委員：

(一)呂光洋委員：

1. 本案工作項目不變，建議三年之目標分別稍作調整如下：

第一年：(重點聚焦)

- (1)三個國家公園種類介紹及分別調查之結果
- (2)各國家公園內山椒魚棲地之分析、食性分析
- (3)調查所得之個體進行族群結構之分析
- (4)山椒魚族群分析
- (5)蛙壺菌等之感染分析

第二年：(重點聚焦)

- (1)各國家公園內山椒魚族群遺傳結構之分析(population genetic)
- (2)從遺傳結構看小族群之遺傳結構差異及地理距離關係
- (3)檢視有無雜交之問題
- (4)檢討五種山椒魚和臺灣山脈及水系之關係
- (5)依分子信息推論山椒魚之演化過程
- (6)生活史之觀察及生殖信息之確認
- (7)再捕捉個體成長之推論

第三年：(重點聚焦)

- (1)性別之鑑定
- (2)五種山椒魚骨骼之比較
- (3)生理資料之整理及分析
- (4)五種山椒魚胚之發育過程圖像分析
- (5)總整合
- (6)保育建議、熱點、面臨之壓力及對策

(二)涂堅委員：

- 1.可否以分子生物學之方法鑑定食性分析中之胃沖出物?因為以顯微鏡觀察可能會碰到胃內含物消化過度無法辨識之困難。
- 2.依本報告，山椒魚的壽命為 10 年，國外有類似報告嗎?除了軟性螢光標記再捕捉之外，是否有其他種方法來評估壽命?
- 3.再捕捉個體形質變化部分，根據表 2-1 的數值，雪霸國家公園底質以單一底質腐植土為主，佔 71.4%，如何估算出來?
- 4.2019 年報告指出大氣溫度及溼度非山椒魚棲地的偏好因子，其中提到土壤底下的洞穴也是重要選擇因子，是否在表 2-1 中也將洞穴列為資訊之一，另外昆蟲分佈是否也是山椒魚選擇棲地的因子之一?
- 5.山椒魚食性分析表 3-1 僅列出採樣數目，是否也列出胃內容物鑑定昆蟲結果，另與環境中昆蟲分佈是否一致?
- 6.目前僅能用三種特徵來檢驗阿里山山椒魚腰帶雌雄二型性，但若無顯著差異，可否使用 geometric morphometrics 方式分析?
- 7.不同種類之山椒魚孵化時間是否不同?卵黃囊多久會消失?
- 8.南湖山椒魚第三次類群 SVI 與大甲溪的次類群有顯著差異，有無科學證據解釋不同河川流域會造成此現象?
- 9.楚南氏山椒魚群 S II 中發現另一群山椒魚顏色及條紋較接近阿里山山椒魚，到底是種間雜交或是新亞種，是否有科學方法可釐清此問題?
- 10.P85 轉錄體的建立後，是否進一步分析其中各表達之基因功能?
- 11.再捕捉個體形質變化部分，其中尾長會變短但無觀察到外傷，研究推測應為量測誤差，但是否也有可能為自然現象，亦即隨繁殖季節而變短(如體重之變化)?

受託單位回應

- 1.有關本案三年計畫架構及聚焦調整部分，未來將依委員意見重新整理調整。
- 2.蛙壺菌之檢測成果部分，未來將會有各種山椒魚感染數量、發病數量等詳細分析資料。
- 3.有關以再捕捉率來計算山椒魚數量部分，若有超過 1/10 再捕捉率則數量估算準確度將會提昇許多。
- 4.山椒魚食性鑑定是可以利用分子生物學之方法鑑定，惟費用驚人(一個樣本超過 10 萬)，本計畫無法負擔，而本計畫之鑑定係由節肢動物分類專家來協助，故鑑定成果具有可信度。
- 5.年齡之鑑別除打標外，另有將髌骨切片看年輪之方式，惟山椒魚為保育類，需要犧牲一定數量方能有較客觀之結果；本團隊在圓峰找到以往 2009 年呂老師打標的阿里山山椒魚，其年齡可以確認超過 10 年，而在日本的案例，圈養之山椒魚年齡可至 20 年。目前尚未發展分子生物學之方法確認山椒魚年齡之技術。
- 6.體長再次量測變小目前推測有可能是測量誤差，或看錯尺標，甚或原本其體長就會忽大忽小，須再確認。
- 7.棲地質地計算方式為以發現山椒魚總量與其在不同棲地發現山椒魚數量來做百分比計算。
- 8.山椒魚通常棲息於石下或存在 5-20cm 土層，因土內有很多孔隙，尤其樹根下之孔隙更大，為常發現山椒魚之區域；2009 年以大氣溫濕度與山椒魚棲地做分析並未有顯著性，土溫及溼度變化也許不若大氣變化大，是以目前本團隊已將測定土溫及土內濕度儀器置於土內，希望能藉由土溫濕度之分析找出有無山椒魚存在棲地之相關性。
- 9.食性於地表昆蟲是否有相關性乙節，目前已觀察出在 4-6 月繁殖季時昆蟲量有較多趨勢，而山椒魚亦在 4-9 月發現較多，將會分析胃內含物並參考文獻來做昆蟲與食性相關性分析。
- 10.分辨山椒魚雌雄不易，以 MRI 雖可清楚分辨但費用昂貴，目前嘗試利用 CP 造影以角度不同來判別雌雄，但需許多 Model 來驗證，另 CP 費用亦不便宜。
- 11.野外卵串尋找不易，平均一年才一串，所以在野外要知道各種山椒魚孵化時間及卵黃囊消失時間有困難性，故希望能用人工養殖之方式來解決。

- 12.因山椒魚活動範圍小且生殖需要水，因此不同河川應會造成生殖隔離，造成不同分化，而不同河系造成之分化可以用統計 model 來分析，惟各個 model 均有其限制性。
- 13.有關各基因表達功能部分，目前先找出微衛星並證實在不同族群有遺傳多樣性，方能探討其功能性。

友處委員：

(一)玉山國家公園管理處郭課長淳茶

- 1.P44 建議補充相關文獻有關兩棲類體型在不同海拔高之差異假說或在演化上的功能資料並在成果中補充論述。
- 2.不同山椒魚之卵串數是否有差異？其繁殖策略是否一致？
- 3.是否可增加阿里山山椒魚 3000M(高海拔)與其他中海拔(2200M)在生理形態及遺傳上的差異比較，以利瞭解其不同海拔適應情形，並累積未來解說教育之基礎資料。

(二)玉山國家公園管理處李毓芬技士

- 1.P32 人工圈養之山椒魚食餌將以國家公園區域內之小型無脊椎動物為主，是否需申請採集證？
- 2.報告書內容有註明引用文獻，惟於報告書後之參考文獻中未列出：
 - (1)P13 Riddle et al,2001(無 2001 年資料但有 2000 年)
 - (2)P20 Ihara and Fujitni 2005
 - (3)P23 呂光洋等 1992
 - (4)P25 楊遠波及徐國士 2004
 - (5)P29 Hess et al,2006
- 3.P21 內容中述及林明杰(2007)進行阿里山山椒魚食性以節肢動物為主，其次為鞘翅目、等足目等，經查文獻，其食性係以節肢動物為主，比較食物組成以鞘翅目、等足目...為主，惟鞘翅目等均為節肢動物，請再確認。
- 4.玉山國家公園範圍內各種微棲地均有阿里山山椒魚利用，是否其各有不同適應及利用方法？與海拔等環境因子是否有關(例如雪季)，不同微棲地是否影響其繁殖、生活等？

(三)太魯閣國家公園陳敬儒技士

- 1.生活史及棲地偏好的研究成果是可以幫助國家公園做經營管理，未來應用於山屋選址或步道改線等，例如山椒魚的產卵地點選擇、覓食環境及交配等棲地偏好是否有差異等。
- 2.未來本處將於鋸山、屏風山、奇萊東稜新建山屋，且奇萊嶺線山屋、南湖山屋、中央尖山屋會進行修建，此些工程會對環境及山椒魚造成何種影響，有賴受託單位提供建言。
- 3.本處本年度在奇萊東稜進行山屋選址作業時有發現水源枯竭的情形，且北鞍營地及乾水池營地的活水源都必須再下切 100-200 米才能找到，是否會對山椒魚的生活造成影響？
- 4.計畫目標中白姑大山非太魯閣國家公園範圍內。

受託單位回應

1. 目前發現楚南氏及阿里山山椒魚可在七彩湖地區自然交配，有可能為雜交種或新種，本研究雖希望能利用骨骼來區別分種，但除了觀霧山椒魚明顯不同外，其他種差異並不大，所以用型態分種並不容易，故型態不同與生態功能是否有關，將再進一步探討；至於不同海拔高度之山椒魚是否有差異，則需要微衛星研究完成方能瞭解是否有差異。
2. 不同山椒魚卵串是否不一樣，另是否與繁殖策略有無關係乙節，因為在野外發現的卵串很少，所以無法回答這問題。
3. 養殖山椒魚所需之節肢動物等，會再申請採集證，若食物量不夠則會利用實驗室無菌之果蠅幼蟲來取代。
4. 因目前山椒魚生活史與棲地偏好等相關資料尚不足以下結論，俟資料累積夠多再提供予管理處做為山屋選址參考。
5. 有關山屋改建等工程影響部分，因位置較偏遠監測比較困難，另新建山屋部分 1 年僅能配合 1 次，團隊目前預定 9 月 7-15 日將至南湖山屋調查，太管處人員是否可一併上山以釐清山屋設計及興建等之影響。
6. 今年雨量是否有比較少或愈來愈少，將再收集氣象資料。
7. 白姑大山雖非國家公園範圍，但要整體評估臺灣山椒魚分佈及遺傳結構釐清等關係，則要將有山椒魚之區域全納進去比較能客觀清楚。

處內委員：

(一)陳振達主任：

1. 希望藉由研究團隊深入研究山椒魚及圈養之技術，於未來能協助應用於本處觀霧山椒魚復育棲地，以解決本棲地山椒魚無法繁殖之現況。

(二)保育課：

1. 報告書中之調查結果未顯示雪山西稜線之成果，另點位資料亦須給各管處。
2. 對照三年前之再捕捉個體，發現肛吻長及體重於本年度大部分為減少，可能原因為何？是否跟外在環境有關？
3. 圖 7-2 為臺灣山椒魚，圖說誤植為 3 月 24 日武嶺發現楚南氏山椒魚，另圖 1-10 不清楚，且部分樣點被尺標擋住。

(三)林副處長文和：

1. 分佈棲地之變化是否與氣候變遷有關，請加以判斷分析。
2. 國家公園區範圍內外之山椒魚是否能估算數量？
3. 預定設於三國家公園之養殖箱是否各養一種類？

受託單位回應：

1. 山椒魚之生活史原先是希望都能做出來，目前楚南氏及臺灣山椒魚之生活史比較有把握，但觀霧山椒魚量太少，卵串難找，所以希望能以養殖方式來瞭解，目前規劃為各管理處每箱只養殖一種，太管處為南湖山椒魚，玉山處為阿里山山椒魚，雪霸則為觀霧山椒魚。
2. 觀霧復育棲地建構時可能無考慮生殖問題，例如水須流動、須有讓卵串附着之物質以及食物等，長期之調查以及巢箱之設置研究或可解決許多復育棲地山椒魚無法繁殖之問題。
3. 雪山西稜資料之分析，將於第二次審查時補充。
4. 相關點位資料於計畫結束時，將會交給各國家公園管理處。
5. 山椒魚棲地分佈狀況是否與氣候變遷有關，目前無法瞭解山椒魚之分布上下限，所以無法探討氣候變遷對其分佈之影響，也許需要很大時間尺度，目

前無法探討。

6. 本研究為能與賴俊祥之研究作比較，吻肛長於量測時將洩殖腔一併量測，但因為洩殖腔於生殖時可能變大，所以日本之研究是把其剔除；至於吻肛長是否與環境有關需再進一步探討。
7. 因為再捕獲率很低，所以山椒魚數量計算準確度不佳，在 820 林道數量多再捕獲率高，相對數量估算比較準，但雪霸園區山椒魚很少，再捕獲率很低，所以計算數量有其困難度。

陸、結論

本次報告原則同意通過審查，並請依審查委員及與會人員所提供之意見在合約範圍內納參或修正，並將修正意見及回覆情形之對照表回覆本處，再依據契約辦理後續相關事宜。

柒、散會：下午 4 時 50 分

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」

委託辦理案第一次審查會議簽到表

壹、會議時間：109年8月6日(星期四)下午2時30分

貳、會議地點：本處第一會議室

參、主席：林副處長文和  紀錄：于淑芬

肆、出(列)席單位及人員：

出 席 單 位	職 稱	姓 名
呂 光 洋 (審 查 委 員)	教授	
涂 堅 (審 查 委 員)	組長	
臺 灣 大 學		

單 位	職 稱	姓 名
玉山國家公園 管 理 處	課長	鄧淳榮
	技士	李毓芬
太魯閣國家公園 管 理 處	技士	陳敬儒
秘 書	秘 書	陳俊山
企劃經理課	課員	郭以均
環境維護課		
解說教育課		
遊憩服務課	技士	張敏珍
保育研究課	課員	鄧以芬
武陵管理站		
觀霧管理站	主任	張以均
雪見管理站		

附件五、第一次審查會議意見處理情形

外聘委員：

(一) 呂光洋委員

意見	處理情形或參閱頁數
<p>本案工作項目不變，建議三年之目標分別稍作調整如下</p> <p>第一年：(重點聚焦)</p> <p>(1) 三個國家公園種類介紹及分別調查之結果</p> <p>(2) 各國家公園內山椒魚棲地之分析</p> <p>(3) 調查所得之個體進行族群結構之分析</p> <p>(4) 獲得山椒魚族群分佈資訊</p> <p>(5) 蛙壺菌等之感染分析</p> <p>第二年：(重點聚焦)</p> <p>(1) 各國家公園內山椒魚族群遺傳結構之分析(population genetic)</p> <p>(2) 從遺傳結構看小族群之遺傳結構差異及地理親緣關係分析</p> <p>(3) 食性分析</p> <p>(4) 檢討五種山椒魚和臺灣山脈及水系之關係</p> <p>(5) 依分子遺傳信息推論山椒魚之演化過程</p> <p>(6) 生活史之觀察及生殖信息之確認</p> <p>(7) 再捕捉個體成長之推論</p> <p>第三年：(重點聚焦)</p> <p>(1) 性別之鑑定</p> <p>(2) 五種山椒魚骨骼之比較</p> <p>(3) 生理資料整理及分析</p> <p>(4) 檢視有無雜交之問題</p> <p>(5) 兩種山椒魚胚之發育過程圖像分析</p> <p>(6) 總整合</p> <p>(7) 保育建議、熱點、面臨之壓力及對策</p>	<p>蛙壺菌之檢測成果部分，計畫執行第二年與第三年將彙整各種山椒魚檢驗數量、判讀為陰性或陽性個體數量、採集地等詳細分析資料。</p> <p>有關本案三年計畫架構及研究重點聚焦部分，未來將依委員意見重新整理調整。</p>

(二) 涂堅委員

意見	處理情形或參閱頁數
1.可否以分子生物學之方法鑑定食性分析中之胃沖出物?因為以顯微鏡觀察可能會碰到胃內含物消化過度無法辨識之困難。	山椒魚食性鑑定是可以利用分子生物學之方法鑑定，惟費用驚人(一個食性樣本之全基因組分析超過 10 萬)。本計畫無法負擔此龐大經費。本計畫之鑑定係由昆蟲、節肢動物分類專家來協助，故鑑定成果具有可信度。
2.依本報告，山椒魚的壽命為 10 年，國外有類似報告嗎?除了軟性螢光標記再捕捉之外，是否有其他種方法來評估壽命?	年齡之鑑別除打標外，另有將肢骨(如腸骨與股骨)切片依年輪數目之方式判讀。惟山椒魚為保育類，需要犧牲才能獲得上述資料，且需累積一定數量方能獲得較客觀之結果;本團隊在圓峰找到以往 2009 年呂老師團隊打標的阿里山山椒魚，其年齡可以確認超過 10 年。而在日本的研究案例，圈養之山椒魚年齡可至 20 年。目前尚未發展分子生物學之方法確認山椒魚年齡之技術。
3.再捕捉個體形質變化部分，根據表 2-1 的數值，雪霸國家公園底質以單一底質腐植土為主，佔 71.4%，如何估算出來?	是依據所調查到的山椒魚數量為分母，以不同底質種類微分子，再乘以 100 所計算出來的。有關以再捕捉率來計算山椒魚數量部分，若有超過 1/10 再捕捉率則數量估算準確度將會提昇許多。
4. 2019 年報告指出大氣溫度及溼度非山椒魚棲地的偏好因子，其中提到土壤底下的洞穴也是重要選擇因子，是否在表 2-1 中也將洞穴列為資訊之一，另外昆蟲分佈是否也是山椒魚選擇棲地的因子之一?	山椒魚通常棲息於石下或存在 5-20 cm 土層，因土內有很多孔隙，尤其樹根下之孔隙更大，為常發現山椒魚之區域;2009 年以大氣溫濕度與山椒魚棲地做分析，並未發現大氣溫濕度與山椒魚發現熱點與非熱點有顯著性相關。而土壤下溫及溼度變化也許不若大氣變化大，是以目前本團隊已將測定土溫及土內濕度儀器置於土內，希望能藉由土溫濕度之分析找出有無山椒魚存在棲地之相關性。
5.山椒魚食性分析表 3-1 僅列出採樣數目，是否也列出胃內容物鑑定昆蟲	食性於地表昆蟲是否有相關性乙節，目前已觀察出在 4-6 月繁殖季時昆

<p>結果，另與環境中昆蟲分佈是否一致?</p>	<p>蟲量有較多趨勢，而山椒魚亦在 4-9 月發現較多，將會分析胃內含物並參考文獻來做昆蟲與食性相關性分析。</p>
<p>6. 目前僅能用三種特徵來檢驗阿里山山椒魚腰帶雌雄二型性，但若無顯著差異，可否使用 geometric morphometrics 方式分析?</p>	<p>分辨山椒魚雌雄不易，以 MRI 雖可清楚分辨但費用昂貴。目前團隊嘗試利用 CT 造影，以坐骨的角度不同（雌性的角度會較大）來判別雌雄。我們的預備實驗顯示台灣產山椒魚雌雄坐骨的角度差異未達顯著，需測試其他不同統計 Model 來驗證，另 CT 費用亦不便宜。</p>
<p>7.不同種類之山椒魚孵化時間是否不同?卵黃囊多久會消失?</p>	<p>野外卵串尋找不易，平均一年才找到一串。在野外要研究各種山椒魚孵化時間及卵黃囊消失時間有困難性，故希望能用人工養殖之方式來解決。</p>
<p>8. 南湖山椒魚第三次類群 SVI 與大甲溪的次類群有顯著差異，有無科學證據解釋不同河川流域會造成此現象?</p>	<p>因山椒魚活動範圍小且生殖需要水，因此不同河川應會造成生殖隔離，造成不同分化，而不同河系造成之分化可以用統計 model 來分析，惟各個 model 均有其限制性。</p>
<p>9. 楚南氏山椒魚群 SII 中發現另一群山椒魚顏色及條紋較接近阿里山山椒魚，到底是種間雜交或是新亞種，是否有科學方法可釐清此問題?</p>	<p>目前可能的做法可納入更多粒線體或核基因座的資料。未來若成功篩選出可鑑別不同種山椒魚的 EST-SSR 微衛星標記，可用於檢驗此群山椒魚是否為雜交族群。</p>
<p>10. P85 轉錄體的建立後，是否進一步分析其中各表達之基因功能</p>	<p>轉錄體分析後，各 mRNA unigene 序列會有功能性註解。有關各含有 EST-SSR 基因表達功能部分，目前先找出 EST-SSR 微衛星標記，並證實在不同族群有遺傳多樣性，未來再探討其功能性。</p>
<p>11.再捕捉個體形質變化部分，其中尾長會變短但無觀察到外傷，研究推測應為量測誤差，但是否也有可能為自然現象，亦即隨繁殖季節而變短(如體重之變化)?</p>	<p>體長再次量測變小目前推測有可能是測量誤差，或看錯尺標。至於是否原本其體長就會忽大忽小（如吃了較大型的生物），須再確認。</p>

友處委員：

(一) 玉山國家公園管理處郭課長淳茶

意見	處理情形或參閱頁數
1.P44 建議補充相關文獻有關兩棲類體型在不同海拔高之差異假說或在演化上的功能資料並在成果中補充論述。	本研究雖希望能利用骨骼形態來區別台灣五種山椒魚，目前結果顯示除了觀霧山椒魚明顯不同外，其他種差異並不大。雖然阿里山山椒魚分佈海拔差異甚大(1800m~3600m)，但我們跟去現今研究結果，推測低海拔阿里山山椒魚與高海拔阿里山山椒魚的骨骼型態應無法區分。但，我們推測高低海拔阿里山山椒魚的遺傳演化會有不同，因此，未來我們會再進一步探討不同海拔高度之山椒魚是否有遺傳差異(亦即需要微衛星標記分析，方能瞭解是否有遺傳差異)。期末報告將會補上相關文獻。
2.不同山椒魚之卵串數是否有差異?其繁殖策略是否一致?	不同山椒魚卵串是否不一樣，另是否與繁殖策略有無關係乙節，因為在野外發現的卵串很少，所以這問題尚無明確答案。
3.是否可增加阿里山山椒魚3000M(高海拔)與其他中海拔(2200M)在生理形態及遺傳上的差異比較，以利瞭解其不同海拔適應情形，並累積未來解說教育之基礎資料。	目前粒線體細胞色素b遺傳分析，顯示玉山(高海拔)和阿里山(中海拔)的阿里山山椒魚有遺傳分化。未來在形態上可比較兩者吻肛長、頭寬及眼間距等型態的差異；生理值則可比較呼吸、心跳、體溫。

(二) 玉山國家公園管理處李毓芬技士

意見	處理情形或參閱頁數
1.P32 人工圈養之山椒魚食餌將以國家公園區域內之小型無脊椎動物為主，是否需申請採集證?	養殖山椒魚所需之節肢動物等，會再申請採集證，若食物量不夠則會利用實驗室無菌之果蠅或蛾的幼蟲、鼠婦等小型節肢動物取代。
2.報告書內容有註明引用文獻，惟於報告書後之參考文獻中未列出:	參考文獻的部分，會再依委員審查意見做適當補充及引用。

<p>(1) P13 Riddle et al,2001(無 2001 年資料但有 2000 年)</p> <p>(2) P20 Ihara and Fujitni 2005</p> <p>(3) P23 呂光洋等 1992</p> <p>(4) P25 楊遠波及徐國士 2004</p> <p>(5) P29 Hess et al,2006</p>	
<p>3.P21 內容中述及林明杰(2007)進行阿里山山椒魚食性以節肢動物為主，其次為鞘翅目、等足目等，經查文獻，其食性係以節肢動物為主，比較食物組成以鞘翅目、等足目....為主，惟鞘翅目等均為節肢動物，請再確認。</p>	<p>將再依委員審查意見進行文獻確認，適當修正期中報告。</p>
<p>4.玉山國家公園範圍內各種微棲地均有阿里山山椒魚利用，是否其各有不同適應及利用方法?與海拔等環境因子是否有關(例如雪季)，不同微棲地是否影響其繁殖、生活等?</p>	<p>野外山椒魚平時躲於土壤、石縫中及落葉枯木等遮蔽物下，生活史習性亦尚未完全了解，目前預計以觀察人工圈養個體，提供其不同種類遮蔽物研究山椒魚對微棲地的偏好，於圈養環境下如有必要可結合攝影器材，有助於得知、紀錄山椒魚如何利用微棲地。</p>

(三) 太魯閣國家公園陳敬儒技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1.生活史及棲地偏好的研究成果是可以幫助國家公園做經營管理，未來應用於山屋選址或步道改線等，例如山椒魚的產卵地點選擇、覓食環境及交配等棲地偏好是否有差異等。</p>	<p>因目前山椒魚生活史與棲地偏好等相關資料尚不以下結論，俟資料累積夠多再提供予管理處做為山屋選址參考。</p>
<p>2.未來本處將於鋸山、屏風山、奇萊東稜新建山屋，且奇萊嶺線山屋、南湖山屋、中央尖山屋會進行修建，此些工程會對環境及山椒魚造成何種影響，有賴受託單位提供建言。</p>	<p>有關山屋改建等工程影響部分，因位置較偏遠監測比較困難，另新建山屋部分 1 年僅能配合 1 次，團隊目前預定 9 月 7-15 日將至南湖山屋調查，太管處人員是否可一併上山以釐清山屋設計及興建等之影響。</p>
<p>3.本處本年度在奇萊東稜進行山屋選址作業時有發現水源枯竭的情形，且北鞍營地及乾水池營地的活水源都必須再下切 100-200 米才能找到，是否</p>	<p>今年雨量是否有比較少或愈來愈少，將再收集氣象資料。但因過去奇萊東稜的山椒魚數量之調查頻度低，無法推測短期氣候動盪是否影響山椒魚的</p>

會對山椒魚的生活造成影響?	生活或數量。
4.計畫目標中白姑大山非太魯閣國家公園範圍內。	白姑大山雖非國家公園範圍,但要整體評估臺灣山椒魚分佈及遺傳結構釐清等關係,則要將有山椒魚之區域全納進去比較,結果才能更客觀清楚。

處內委員:

(一) 陳振達主任:

意見	處理情形或參閱頁數
1.希望藉由研究團隊深入研究山椒魚及圈養之技術,於未來能協助應用於本處觀霧山椒魚復育棲地,以解決本棲地山椒魚無法繁殖之現況。	1.山椒魚之生活史原先是希望都能做出來,目前楚南氏及臺灣山椒魚之生活史比較有把握,但觀霧山椒魚量太少,卵串難找,所以希望能以養殖方式來瞭解,目前規劃為各管理處每箱只養殖一種:太管處為南湖山椒魚,玉山處為阿里山山椒魚,雪霸則為觀霧山椒魚。 2.當初觀霧復育棲地建構時可能無考慮生殖問題,例如水須流動、須有讓卵串附著之物質(如石塊)以及食物等。未來,人工圈養箱之設置研究或可提供許多復育棲地山椒魚無法繁殖之因素。

(二) 保育課:

意見	處理情形或參閱頁數
1.報告書中之調查結果未顯示雪山西稜線之成果,另點位資料亦須給各管處。	雪山西稜資料之分析,將於第二次審查時補充。
2.對照三年前之再捕捉個體,發現肛吻長及體重於本年度大部分為減少,可能原因為何?是否跟外在環境有關?	本研究為能與賴俊祥老師之研究作比較,吻肛長於量測時將洩殖腔一併量測,但因為洩殖腔於生殖時可能變大,所以日本山椒魚之研究是把其剔除;至

	於吻肛長是否與環境有關需再進一步探討。
3.圖7-2 為臺灣山椒魚，圖說誤植為3月24日武嶺發現楚南氏山椒魚，另圖1-10 不清楚，且部分樣點被尺標擋住。	相關點位資料於計畫結束時，將會交給各國家公園管理處。

(三) 林副處長文和：

意見	處理情形或參閱頁數
分佈棲地之變化是否與氣候變遷有關，請加以判斷分析。	山椒魚棲地分佈狀況是否與氣候變遷有關，目前無法瞭解山椒魚之海拔分布上下限，所以無法探討氣候變遷對其分佈之影響。氣候變遷影響山椒魚的研究，需要很大時間尺度，目前無法探討。
國家公園園區範圍內外之山椒魚是否能估算數量？	因為再捕獲率很低，所以山椒魚數量計算準確度不佳，在 820 林道數量多再捕獲率高，相對數量估算比較準，但雪霸園區山椒魚很少，再捕獲率很低，所以計算數量有其困難度。
預定設於三國家公園之養殖箱是否各養一種類？	雪霸國家公園預定先測試觀霧山椒魚，玉山國家公園預定測試阿里山山椒魚，太魯閣國家公園預計先測試南湖山椒魚。

附件六、第二次審查會議紀錄

電子公文

109/12/24



1090132797

檔 號：
保存年限：

雪霸國家公園管理處 函

地址：36443 苗栗縣大湖鄉富興村水尾坪100號

聯絡人：董子瑄
電話：037-996100 701
傳真：037-996706
電子郵件：tung@spnp.gov.tw

受文者：國立臺灣大學朱有田教授

發文日期：中華民國109年12月24日
發文字號：營雪保字第1091002238號
速別：速件
密等及解密條件或保密期限：
附件：如主旨

主旨：檢送本處109年12月17日「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」計畫第2次報告審查會議紀錄1份，請查照。

說明：

- 一、依據本處109年12月3日營雪保字第1091002017號開會通知單續辦。
- 二、請受託單位依會議紀錄結論事項辦理，並依契約第5條掣據函送過處辦理第3期撥款事宜。

正本：國立臺灣大學、玉山國家公園管理處、太魯閣國家公園管理處、國立臺灣師範大學呂光洋教授、行政院農業委員會家畜衛生試驗所涂堅組長、處長室、副處長室、秘書、解說教育課、保育研究課、觀霧管理站

副本：國立臺灣大學朱有田教授

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」第2次報告審查會議會議紀錄

壹、時間：109年12月17日(星期四)上午10時40分

貳、地點：雪霸國家公園管理處第一會議室

參、主持人：楊處長模麟

紀錄：董于瑄

肆、出席單位人員：詳如簽到單

伍、主席致詞：(略)

陸、業務單位報告事項：

- 一、本案係委託國立臺灣大學團隊執行之委託案，依據契約第七條履約期限之規定，廠商應於109年12月10日前提出第二次報告成果，出席本處舉行之審查會議，並完成相關工作。
- 二、受託廠商送抵時間為109年12月9日，符合契約規定之履約工作進度及工作項目。

柒、受託單位簡報：(略)

捌、審查意見(依發言順序)：

一、外聘委員

(一) 呂光洋委員：

1. 本計畫執行的項目非常的多樣，已超過一般受委單位執行的量，由計畫的報告顯示受託單位非常認真執行，應已超過受託單位預期的 CP 值。
2. 因工作的項目很多，報告中對執行調查、分析方法及利用器材都非常詳細敘述，建議未來的報告，可將方法及利用器材分別以附錄的方式呈現，使研究成果的展現更為精緻。
3. 分子分析的數據，可解決什麼問題，建議用科普的語言來敘

述。

4. 培養箱溫度是否維持整年恆定，可考慮類似野外環境因子變化。

(二) 涂堅委員：

1. p.52 微棲地分析中，3 種山椒魚在 3 種棲地無種間差異，是否有其他參數未來可用來比較？
2. p.56 山椒魚的食性分析中以胃沖洗液內容型態分析，但礙於有些只有內臟無法鑑定，是否採用分子鑑定 DNA barcoding 方法來作補助鑑定。
3. p.98 已知兩種山椒魚微衛星分析結果，可否說明明年如何利用以上資料及骨骼型態來進行雌雄性別鑑定，或是有其他可行方法。

受託單位回應：

1. 本計畫執行以來感謝許多團隊、學生、儀器廠商參與及協助。
2. 材料方法與利用器材將在下次的報告中調整，較細項的會研議改於附錄呈現。
3. 調查方法、目的與預期結果未來將列表呈現，也會嘗試用圖示或科普語言展示本研究的方法與成果。
4. 由巨觀至微觀的架構目前團隊仍在努力建構中，期計畫結案時能夠將整個計畫架構完整呈現；目前正與林春富老師合作，預計將骨骼分析的初步成果在國家公園學報分享。
5. 原本預計先將山椒魚自野外環境攜回，以儀器確定性別後再釋人工圈養環境，期待能順利生殖。但今年的經驗是，圈養於人工環境發現有生殖腺縮小的狀況。在自然環境，若於非繁殖季節，生殖腺縮小乃屬自然現象。但目前尚無法確定，圈養環境的生殖腺縮小是否屬週期性改變或其他因素造成；因此目前位於棲地的繁養殖箱設計成與大氣連通，只有在溫度高於 16°C 以上冷卻壓縮機才會啟動控溫。另因觀霧、阿里山及南湖山椒魚生活史資料尚未充足，期待前兩年先補足生活史資料，未來再探究不同的山椒魚對溫度或其他參數的偏好。
6. 雪霸與玉山國家公園管理處諸多同仁在今年計畫執行期間

皆提供許多協助。

7. 雖然 820 林道的三種山椒魚對於底質與覆蓋物等利用偏好相似。除探討上述問題外，目前還在分析 820 林道三種山椒魚的生理參數(例如心跳、麻醉速度、呼吸頻率等)是否有差異，也還在分析其食性與棲地土壤內昆蟲相是否有異同。
8. 胃容物沖出物以 DNA 方式鑑定需耗費許多人力與經費，現階段研究能量暫以其獵物型態分析為主。但此建議仍會與特生中心林春富老師討論，是否可以以 DNA 分析獵物物種。
9. 目前，無法用 DNA 進行山椒魚的雌雄判定。而 EST SSR 標記只能做個體鑑別與雜交分析，骨骼型態也無法準確的辨別雌雄，只能作為分類學依據。目前請台大蔡政修老師協助骨骼判別，但因困難度高而進展有限。

二、各管理處同仁：

(一) 玉山國家公園管理處李毓苓技士

1. P.40 軟性螢光標放敘述神木林道熱點標放 19 隻阿里山山椒魚，對照表 1-1 南二段似也有進行 vie-tag 標放，是否也於該頁中以文字敘述之。
2. 圈養的部分：
 - (1) 是否會先判定性別後，分別於圈養箱中養殖？而公母數量各幾隻？
 - (2) p.30「圈養個體有發情的個體，將...監測生殖器官的發育」，操作儀器監測時，是否將圈養個體移往實驗室？此舉是否影響生殖？
3. 因山椒魚地棲性很強，想請問玉山圓峰再發現 10 年前曾捕捉過的阿里山山椒魚以及神木林道重複捕捉之個體，與之前發現之距離或大略位置有多遠？如有相關資料可提供做為管處未來經營管理之參考。
4. 以下建議修改處：
 - (1) p.30 利用野生動物通過申請書應已完成，可以列出確定數量。
 - (2) p.49 圖 1-11 玉山國家公園範圍框界建請更新為第三次通盤檢討圖層。
 - (3) p.61「利用醫學影像技術分析臺灣五種山椒魚...」章節中、

英文名詞及相關圖示如可標明，可更明確了解其差異。

(二) 太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

- 1.p.59 目前從食性調查中，似乎楚南氏山椒魚取食上沒有偏好(會動的都吃)，而且取食來源主要受棲地屬性影響很大，此推論是否正確？
- 2.生活史中成年期在地層下的活動，在繁殖箱中如何呈現？有考慮試掘樣區嗎？
- 3.蛙弧菌檢測之前曾在太管處進行試驗，似乎沒有檢測出陽性反應，請問蛙弧菌的散布會產生變異嗎？

(三) 董于瑄技士：

- 1.p.39 三座高山型國家公園調查紀錄寫法(如：隻次或筆數)建議予以統一。
- 2.p.61 利用醫學影像技術分析山椒魚骨骼影像與生殖系統章節中，建議以表格方式輔助呈現各種山椒魚已執行何種醫學影像技術分析。
- 3.p.62-63 山椒魚骨骼型態分析已完成四種還是五種山椒魚全身骨骼電腦斷層影像？文字內容、圖 4-9 及標題似乎並未一致。
- 4.p.71-73 圖 4-2、4-3、4-4 照片缺漏比例尺，請予以修正。
- 5.p.76-78 圖 4-9 至圖 4-12 建議於圖說加註骨骼縮寫代號說明，並建議附件二解剖學名詞縮寫與全名處加註中文譯名。
- 6.p.84 建議補充說明生活箱與繁殖箱設置差異與細節，應有利於未來各國家公園繁養殖環境維護。
- 7.p.84 請補充說明明年度山椒魚繁養殖的進度規劃與注意事項。
- 8.報告書中各式圖表請加註資料來源(如：本研究資料)。

(四) 于淑芬課長：

- 1.p.42 表 1-1 列出每次採樣的隻數，但雪霸山椒魚分布的熱點巨木步道每次調查採集只有發現 4 隻，東線卻可發現 8 隻，過往調查可在巨木步道發現許多個體，為何今年的數量稀少，是否與遊客量或其他因素有關？

(五) 謝銘銓技正：

1. 本案山椒魚之人工圈養，與其在原生環境的行為及習性差異，是否有預定的因應做法，以降低二者之相異程度？例如：食物供給與取得。
2. p.42 表 1-1 山椒魚族群分布與生態調查，表內調查操作的方式不一，其考量因素為何？例如：3 月大鹿林道東支線採取族群調查與微棲地記錄，5 月巨木步道除前述兩項外，又新增四項操作方式。

(六) 林文和副處長：

1. 五種山椒魚在生活史、食性或棲地是否有所差異，未來是否可在報告書歸納分類描述。
2. 雪霸國家公園範圍有兩種山椒魚分布，除觀霧山椒魚外，是否建議未來也可朝向臺灣山椒魚的研究或棲地維護方向規劃與執行。

(七) 楊模麟處長：

1. 山椒魚移動距離範圍為何？觀霧地區許多地點皆有水源，但山椒魚並無廣泛分布於該區域，是否與其移動範圍有關。
2. 有關九九山莊改建案，其附近水源地的山椒魚是否會受改建影響？

受託單位回應：

1. 報告書不足之處(比例尺、專有名詞解釋、圖表說明等)及未來繁殖規畫將於下次報告書中修正與補充。
2. 表 1-1 採樣數量部分，研究團隊將再檢視原始調查數據，今年度在巨木步道的確並未調查到許多山椒魚個體，目前還無法確定與今年的氣候因子有關或其他因素。因臺灣五種山椒魚中最難以記錄發現的即是觀霧山椒魚，另東支線是新的調查樣線，也是新發現山椒魚分布樣點，因此無法與過往的調查結果比較。
3. 九九山莊水源地的山椒魚為臺灣山椒魚，其遺傳類型與雲山西稜後段族群相近，根據特生中心林春富研究員過往調查中，曾於高山民宿的水管中發現山椒魚棲息，因此建議改建時引水管線可以加裝阻隔設施，避免山椒魚進入產卵。

4. 目前觀察到要產卵前，公山椒魚腮腺與母山椒魚的泄殖腔有腫大現象，有一些外觀特徵可以辨別，但據特生中心林春富老師的觀察此特徵不具絕對正確性。
5. 近年在向陽山屋改建期間，研究團隊在邊坡的蛇籠內發現 100 多隻山椒魚，其在地表深度 100 公分也能發現其蹤跡，但大多集中在深度 15 公分處，過去塔塔加與觀霧地區昆蟲相調查結果大部分土壤表層昆蟲也集中分布在深度 15 公分處，目前研究山椒魚的活動範圍約 10 平方公尺。從過去的研究結果顯示山椒魚的再捕捉率相當低，且活動範圍小，因此認為其活動有垂直分布的現象，只有體弱的才會在地表活動。此推論是否正確仍有待驗證，因此繁殖箱內有深度設計並且預留內視鏡觀察通道，未來可瞭解山椒魚在地表下的活動或分布模式。
6. 取得最新版國家公園圖層後，會更新報告書內的相關圖片。
7. 早期認為光照和溫度影響山椒魚被調查到的數量。但之前若干研究都指出山椒魚被調查到的數量應該與這兩個因子無關，而生活史、食性和地棲性昆蟲豐富度的關係即為本團隊另一個想要探討的議題，但受限於人力，未來將於阿里山森林遊樂區進行先期試驗，若有所成效再延伸至塔塔加或觀霧。
8. 蛙弧菌與鰻鰻壺菌皆為法定傳染疾病，目前皆尚未發現，若有偵測到表示野外傳染狀況嚴重，因此若有發現將依規定立即通報。
9. 本團隊只要發現山椒魚都會進行螢光標記，但因山椒魚再捕捉率低，期待還能如今年在玉山圓峰般，發現過去呂老師與賴老師所標記的個體，即可進一步瞭解山椒魚壽命。
10. 山椒魚的活動範圍需依賴縝密的現地調查，且因高山 GPS 誤差可達 6 至 10 公尺。因此現階段無法依據 GPS 點位來研究山椒魚的移動距離或活動範圍。
11. 目前在熱點地區採取較為詳細的調查，其他樣線則先著重在是否有山椒魚分布，因此在不同樣線調查方法具有些微差異。
12. 目前尚無法確定台灣五種山椒魚在生活史、食性或棲地的差異處，期待經過三年的調查後能夠有相關成果展現。

13. 台灣山椒魚目前有兩種假設，一種是在台灣慢慢分化出來，一種是在亞洲大陸各自分化後再沿著南北水系上游，臺灣山椒魚是研究台灣的山椒魚演化基因流向的指標物種，未來將探討雲山以西、以東為何具有明顯差異。

玖、會議結論：

- 一、本案第2次報告符合預定進度及工作內容原則通過審查。
- 二、請受託單位依審查委員及與會代表所提供之建議納參或修正，盡速提交修正意見及回覆情形之對照表並將對照表納入第三次報告書。

拾、散會：同日下午 12 時 35 分

附件七、第二次審查會議意見處理情形

外聘委員：

(三) 呂光洋委員

意見	處理情形或參閱頁數
1. 本計畫執行的項目非常的多樣，已超過一般受委單位執行，由計畫的報告顯示受託單位非常認真執行，應已超過受託單位預期的 CP 值。	本計畫執行以來感謝許多團隊、學生、儀器廠商、國家公園管理處諸多同仁參與今年計畫，執行期間皆提供許多協助。
2. 因工作的項目很多，報告中對執行調查、分析方法及利用器材都非常詳細敘述，建議未來的報告，可將方法及利用器材分別以附錄的方式呈現，使研究成果的展現更為精緻。	材料方法與利用器材將在下次的報告中調整，較細瑣的會研議改於附錄呈現。
3. 分子分析的數據，可解決什麼問題，建議用科普的語言來敘述。	調查方法、目的與預期結果未來將列表呈現，也會嘗試用圖示或科普語言展示本研究的方法與成果。由巨觀至微觀的架構目前團隊仍在努力建構中，期計畫結案時能夠將整個計畫架構完整呈現；目前正與林春富老師合作預計將骨骼分析的初步成果在國家公園學報分享。
4. 培養箱溫度是否維持整年恆定，可考慮類似野外環境因子變化。	目前位於棲地的繁養殖箱設計成與大氣連通，只有在溫度高於 16°C 以上冷卻壓縮機才會啟動控溫。另因觀霧、阿里山及南湖山椒魚生活史資料尚未充足，期待前兩年先補足生活史資料，未來再探究不同的山椒魚對溫度或其他參數的偏好。

(四) 涂堅委員

意見	處理情形或參閱頁數
1. p.52 微棲地分析中，3 種山椒魚在 3 種棲地無種間差異，是否有其他參數未來可用來比較？	雖然 820 林道的三種山椒魚對於底質與覆蓋物等利用偏好相似。除探討上述問題外，目前還在分析 820 林道三種山椒魚的生理參數(例如心跳、麻醉速度、呼吸頻率等)是否有差異，也還在分析其食性與棲地土壤內昆蟲相是否有異同。

<p>2. p.56 山椒魚的食性分析中以胃沖洗液內容型態分析，但礙於有些只有內臟無法鑑定，是否採用分子鑑定 DNA barcoding 方法來作補助鑑定。</p>	<p>胃容物沖出物以 DNA 方式鑑定需耗費許多人物力與經費，現階段研究能量暫以其獵物型態分析為主。但此建議仍會與特生中心林春富老師討論是否可以 DNA 分析獵物物種。</p>
<p>3. p.98 已知兩種山椒魚微衛星分析結果，可否說明明年如何利用以上資料及骨骼型態來進行雌雄性別鑑定，或是有其他可行方法。</p>	<p>目前，無法用 DNA 進行山椒魚的雌雄判定。而 EST SSR 標記只能做個體鑑別與雜交分析，骨骼型態也無法準確的辨別雌雄，只能作為分類學依據。目前請台大蔡政修老師協助骨骼判別，但因困難度高而進展有限。</p>

各管理處同仁：

(四) 玉山國家公園管理處李毓芬技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. P.40軟性螢光標放敘述神木林道熱點標放19隻阿里山山椒魚，對照表1-1南二段似也有進行vie-tag標放，是否也於該頁中以文字敘述。</p>	<p>報告書不足之處(比例尺、專有名詞解釋、圖表說明等)及未來繁養殖規劃將於下次報告書中修正與補充。</p>
<p>2. 圈養的部分： (1)是否會先判定性別後，分別於圈養箱中養殖公母數量各幾隻？ (2) p.30「圈養個體有發情的個體，將…監測生殖器官的發育」，操作儀器監測時是否將圈養個體移往實驗室？若此是否影響生殖？</p>	<p>目前觀察到要產卵前，公山椒魚腮腺與母山椒魚的泄殖腔有腫大現象，有一些外觀特徵可以辨別，但據特生中心林春富老師的觀察此特徵不具絕對正確性。原本預計先將山椒魚自野外環境攜回，以儀器確定性別後再釋人工圈養環境，期待能順利生殖。但今年的經驗是，圈養於人工環境發現有生殖腺縮小的狀況。在自然環境，若於非繁殖季節，生殖腺縮小乃屬自現象。但目前尚無法確定，圈養環境的生殖腺縮小是否屬週期性改變或其他因素造成</p>

<p>3. 因山椒魚地棲性很強，想請問玉山圓峰再發現10年前的阿里山山椒魚距離或大略位置多遠？神木林道重複捕捉之山椒魚距離或大略位置多遠，如有相關資料可提供做為管處未來經營管理之參考。</p>	<p>山椒魚的活動範圍需依賴縝密的現地調查，且因高山 GPS 誤差可達 6 至 10 公尺。因此現階段無法依據 GPS 點位來研究山椒魚的移動距離或活動範圍。</p>
<p>4. 以下建議修改處：</p> <p>(1) p.30利用野生動物通過申請書應已完成，可以列出確定數量。</p> <p>(2) p.49圖1-11玉山國家公園範圍框界建請更新為第三次通盤檢討圖層。</p> <p>(3) p.61「利用醫學影像技術分析臺灣五種山椒魚…」章節中、英文名詞及相關圖示如可標明，可更明確了解其差異。</p>	<p>利用野生動物申請已通過核定數量、英文名詞圖示等不足之處將於下次報告書中修正與補充。取得最新版的國家公園圖層後，會更新報告書內的相關圖片。</p>

(五) 太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.59 目前從食性調查中，似乎楚南氏山椒魚取食上沒有偏好(會動的都吃)，而且取食來源主要受棲地屬性影響很大，此推論是否正確？</p>	<p>目前收集的食性樣本尚未全部完成分析，山椒魚物種之間、月份間的食性差異還需累積更多資料，或甚至搭配土壤昆蟲相的分析才能下進一步的推論。</p>
<p>2. 生活史中成年期在地層下的活動，在繁殖箱中如何呈現？有考慮試掘樣區嗎？</p>	<p>近年在向陽山屋改建期間，研究團隊在邊坡的蛇籠內發現100多隻山椒魚，其在地表深度100公分也能發現其蹤跡，但大多集中在深度15公分處，過去塔塔加與觀霧地區昆蟲相調</p>

	<p>查結果大部分土壤表層昆蟲也集中分布在深度15公分處。從過去的研究結果顯示山椒魚的再捕捉率相當低，且活動範圍小，因此認為其活動有垂直分布的現象，只有體弱的才會在地表活動。此推論是否正確仍有待驗證，因此繁殖箱內有深度設計並且預留內視鏡觀察通道，未來可瞭解山椒魚在地表下的活動或分布模式。</p>
<p>3. 蛙弧菌檢測之前曾在太管處進行試驗，似乎沒有檢測出陽性反應，請問蛙弧菌的散布會產生變異嗎？</p>	<p>蛙弧菌與蠓蠟壺菌皆為法定傳染疾病，目前皆尚未在臺灣的山椒魚族群發現，若有偵測到表示野外傳染狀況嚴重，因此若有發現將依規定立即通報。</p>

(六) 董于瑄技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.39 三座高山型國家公園調查紀錄寫法(如：隻次或筆數)建議予以統一。</p>	<p>將於下次報告書中統一調查紀錄寫法或以圖表呈現。</p>
<p>2. p.61 利用醫學影像技術分析山椒魚骨骼影像與生殖系統章節中，建議以表格方式輔助呈現各種山椒魚已執行何種醫學影像技術分析。</p>	<p>將於下次期中報告以表格呈現山椒魚骨骼影像與生殖系統執行進度。</p>
<p>3. p.62-63 山椒魚骨骼型態分析已完成四種還是五種山椒魚全身骨骼電腦斷層影像？文字內容、圖 4-9 及標題似乎並未一致。</p>	<p>目前完成 5 種山椒魚全身骨骼電腦斷層造影，但樣本數仍較少且未知樣本的性別，尚無法做進一步分析。</p>
<p>4. p.71-73 圖 4-2、4-3、4-4 照片缺漏比例尺，請予以修正。</p>	<p>報告書不足之處(比例尺、專有名詞解釋、圖表說明等)及未來繁養殖規劃將於下次報告書中修正與補充。</p>
<p>5. p.76-78 圖 4-9 至圖 4-12 建議於圖說加註骨骼縮寫代號說明，並建議附件二解剖學名詞縮寫與全名處加註中文譯名。</p>	
<p>6. p.84 建議補充說明生活箱與繁殖箱設置差異與細節，應有利於未來</p>	

各國家公園繁養殖環境維護。	
7. p.84 請補充說明明年度山椒魚繁養殖的進度規劃與注意事項。	
8. 報告書中各式圖表請加註資料來源(如：本研究資料)。	

(七) 于課長淑芬：

意見	處理情形或參閱頁數
p.42 表 1-1 列出每次採樣的隻數，但雪霸山椒魚分布的熱點巨木步道每次調查採集只有發現 4 隻，東線卻可發現 8 隻，過往調查可在巨木步道發現許多個體，為何今年的數量稀少，是否與遊客量或其他因素有關？	今年度在巨木步道的確並未調查到許多山椒魚個體，目前還無法確定與今年的氣候因子有關或其他因素。因臺灣五種山椒魚中最難以記錄發現的即是觀霧山椒魚。另東支線是新的調查樣線，也是新發現山椒魚分布樣點，因此無法與過往的調查結果比較。

(八) 謝銘銓技正：

意見	處理情形或參閱頁數
1. 本案山椒魚之人工圈養，與其在原生環境的行為及習性差異，是否有預定的因應做法，以降低二者之相異程度？例如：食物供給與取得。	目前尚無法確定臺灣五種山椒魚在生活史、食性或棲地的差異處，期待經過三年的調查後能夠有相關成果展現。人工圈養的山椒魚預計以鼠婦為主的餌料，因其可人工繁殖、容易取得且於山椒魚原棲地也有分布。視採食狀況考慮增加蛾類幼蟲或蚯蚓豐富種類。
2. p.42 表 1-1 山椒魚族群分布與生態調查，表內調查操作的方式不一，其考量因素為何？例如：3 月大鹿林道東支線採取族群調查與微棲地記錄，5 月巨木步道除前述兩項外，又新增四項操作方式。	目前在熱點地區採取較為詳細的調查，其他樣線則先著重在是否有山椒魚分布，因此在不同樣線調查方法具有些微差異。

(九) 林副處長文和：

意見	處理情形或參閱頁數
1. 五種山椒魚在生活史、食性或棲地是否有所差異，未來是否可在報告	目前尚無法確定臺灣五種山椒魚在生活史、食性或棲地的差異處，期待經過

書歸納分類描述。	三年的調查後能夠有相關成果展現。
2. 雪霸國家公園範圍有兩種山椒魚分布，除觀霧山椒魚外，是否建議未來也可朝向臺灣山椒魚的研究或棲地維護方向規劃與執行。	依據目前粒線體遺傳結構的分析結果，雪霸國家公園內的臺灣山椒魚族群與中央山脈太魯閣國家公園境內的臺灣山椒魚屬於不同的遺傳分群，且有明顯的水系分群。未來微棲地或食性分析的結果若找出更多兩地臺灣山椒魚的相異處，雪霸國家公園的臺灣山椒魚可視為一個更具獨特性的地理族群。

(十) 楊處長模麟：

意見	處理情形或參閱頁數
1. 山椒魚移動距離範圍為何？觀霧地區許多地點皆有水源，但山椒魚並無廣泛分布於該區域，是否與其移動範圍有關。	目前研究山椒魚的活動範圍約 10 平方公尺。今年度在巨木步道的確並未調查到許多山椒魚個體，目前還無法確定與今年的氣候因子有關或其他因素。
2. 有關九九山莊改建案，其附近水源地的山椒魚是否會受改建影響？	九九山莊水源地的山椒魚為臺灣山椒魚，其遺傳類型與雪山西稜後段族群相近，根據特生中心林春富研究員過往調查中，曾於高山民宿的水管中發現山椒魚卵串，因此建議改建時引水管線可以加裝阻隔設施，避免山椒魚進入產卵。

附件八、第三次審查會議紀錄

電子公文

校級公文 110/08/05



1100055353

檔 號：
保存年限：

雪霸國家公園管理處 函

地址：36443 苗栗縣大湖鄉富興村水尾坪100號

聯絡人：潘振彰
聯絡電話：037-996100#701
電子郵件：lyonia@spnp.gov.tw
傳真：

受文者：國立臺灣大學

發文日期：中華民國110年8月5日
發文字號：營雪保字第1101004448號
速別：普通件
密等及解密條件或保密期限：
附件：如主旨

主旨：檢送本處110年7月20日「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」計畫第3次報告審查視訊會議紀錄1份，請查照。

說明：

- 一、依據本處110年6月23日營雪保字第1101003558號開會通知單續辦。
- 二、請受託單位依會議紀錄結論事項辦理，並依契約書第5條挈據函送過處辦理第4期款撥款事宜。

正本：國立臺灣大學、玉山國家公園管理處、太魯閣國家公園管理處、國立臺灣師範大學生命科學專業學院呂光洋教授、行政院農業委員會家畜衛生試驗所涂堅組長、本處處長室(不含附件)、副處處長室(不含附件)、秘書(不含附件)、企劃經理課(不含附件)、解說教育課(不含附件)、遊憩服務課(不含附件)、武陵管理站(不含附件)、觀霧管理站(不含附件)、雪見管理站(不含附件)、保育研究課(不含附件)

副本：國立臺灣大學動物科學技術學系朱有田教授(含附件)

電子110/08/05
16:02:57
章

國立臺灣
公文系統騎縫

本校簡易辦文

校級公文



回函文號: 1100055353

檔號：0110/640601/003
保存年限：10年

聯絡人：朱有田
聯絡電話：(02) 33664165

收文日期：110年08月05日
收文文號：1100055353

來文摘要：檢送本處110年7月20日「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」計畫第3次報告審查視訊會議紀錄1份，請查照。

簽辦意見：文擬陳閱後送文書組存查。

處理方式：逕送存查。

公文流程：【線上簽核公文】動物科學技術學系→生物資源暨農學院(決行)→動物科學技術學系

承辦單位	會辦單位	決行單位
<p>承辦人</p> <p>動物科學技術系 教授 朱有田 110/08/06 09:07:10</p> <p>系主任</p> <p>動物科學技術系 主任 廖奕雯 110/08/09 09:17:55</p> <p>動物科學技術系 主任 吳信志(甲) 110/08/09 09:17:55</p>		<p>院長</p> <p>生物資源暨農學院 秘書長 李順仁 110/08/09 16:27:28</p> <p>生物資源暨農學院 院長 盧虎生(甲)</p> <p>決行</p>

國立
交通
大學

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」
第 3 次報告審查視訊會議紀錄

壹、開會日期：110 年 7 月 20 日(星期二)上午 10 時

貳、開會地點：線上視訊

參、主持人：張處長維銓

紀錄：潘振彰

肆、出席單位人員：詳如簽到單

伍、主席致詞(略)

陸、業務單位報告

- 一、本案係委託國立臺灣大學執行之委託辦理案，依據契約書第 7 條第 1 項第 2 款規定，廠商應於 110 年 6 月 30 日以前提出第 3 次報告，出席本處舉行之第 3 次報告審查會議，並完成相關工作。
- 二、受託廠商報告送抵時間為 110 年 6 月 17 日，符合契約規定之履約工作進度及工作項目。

柒、受託單位簡報(略)

捌、審查意見

一、涂堅委員：

- (一)p.50 提及阿里山、楚南氏及臺灣山椒魚胃內容物均發現皮蛻，其代表意義為何？其它山椒魚是否就不會吃皮蛻？另外，南湖山椒魚胃內容物植物碎片比例很高，是否代表該種會吃植物？
- (二)p.77 蛙壺菌與蠓蠟壺菌檢測，提到 14 份樣本擴增自蠓蠟壺菌或正控制組 DNA，採樣動物是否出現臨床症狀如皮膚有破皮或潰瘍現象，其結果如確定有感染，應依規定通報地方動物防疫機關處理。
- (三)p.97 臺灣山椒魚發現的 unigene 僅約 30%左右可被註解，觀霧山椒魚的 unigene 註解亦僅 3 成左右，未來如何註解出整個基因轉錄體？
- (四)p.98 臺灣產山椒魚表現標記微衛星標記引子設計，目前已發現有 5 組經 PCR 反應可成功擴增目標長度片段並表現多型性，其未來如何應用於本計畫？

二、呂光洋委員(書面意見)：

- (一)本計畫由 3 座高山型國家公園共同策劃提供經費，對園區內的 5 種特有的臺灣產山椒魚，進行分布、棲息地生態因子、各種之食性、內部骨骼構造、

生殖腺觀察、性別鑑定，生殖季胚胎發育、遺傳分子分析探討 5 種的之地理親緣關係、族群間基因交流、物種健康等多項目調查，非常難得。對日後臺灣野生動物保育建立典範。

- (二)高山野生動物的調查極為辛苦，受委託單位的調查人員在 2020 到 2021 年間共赴山區約 25 次，得到 458 隻次記錄(表 1-1)，分布地點詳盡。不知調查人員，可大略指出那些點受登山客或健行人的干擾較大？此資訊對日後保育工作將會有幫助。
- (三)p.32 提及體外寄生水蛭，以阿里山椒魚為主，那在太魯閣的 3 隻的寄主為何？
- (四)p.58, skull roof，不同種間差異(前額窗) 可用箭頭指出。
- (五)依 cyto b 核酸分子序列分析結果顯示，5 種山椒魚還可細分依分子資訊上差異的分群，其又與溪流水系有密切關係，p-88 可否簡化表列或圖示？未來討論儘可能和本島地質變遷史結合。這些分子分群的資料，對日後保育有幫助。
- (六)阿里山山椒魚北分群向東之新武呂溪群 p.91, 提及大水窟，它不是在中部的八通關古道，它會是向東溪流之源頭？
- (七)小蠟蛾幼蟲有厚幾丁質嗎？p.51 山椒魚需 28 天才消化完？
- (八)臺灣山椒魚生殖季約在冬季，表 4-1 的操作都在夏季，此會不會影響判定？
- (九)NCC 的官員 5 月期間，在玉山國家公園引起的森林火災，受波及的範圍，不知本計畫的研究助理可否指出在何處？對他們調查的樣線或樣區有沒有影響？玉管處和嘉義林管處 2 單位有無共同討論如何處理？
- (十)表 4-5 可否加 size SVL 的資料？圖 4.-2.3.4. size？
- (十一)如何選定熱線或熱點調查？
- (十二)EST-SSR 的分析尚無 data.? 日後請討論 allopatric and sympatric populations 或 species 間是否有 gene flow 或 hybrid 情形？
- (十三)目前 5 種山椒魚中以南湖山椒魚面臨生存最危險，下圈谷的唯一水源是模式標本出處，登山的山莊就靠近水源，大量的遊客排泄物也在附近，太管處請儘快想出對策！
- (十四)p.84 之圈養箱放置位置似乎不夠隱蔽，儘可能溫度、光照配合原棲息地因子的變化。偶爾也能提供原棲地的食物。

三、玉山國家公園管理處郭淳棻課長：

- (一)因兩棲類有部分生活史與水息息相關，本案 p.143 及 p.147 研究野外山椒魚產卵數量、形態與棲地資料的建立，是否有需要將環境溫度及水溫記

錄納入背景資訊，以供日後延伸探討環境溫度或暖化對其影響之研究？

(二)p.27 在進行 5 種山椒魚的性別判定、確定生殖系統影像資料與實際性別差異，並建立模式標本之試驗中的預備試驗利用莫氏樹蛙、面天樹蛙與艾氏樹蛙作為控制組之背景或考量因素為何？請協助說明。

(三)p.44 分析阿里山山椒魚 30 筆調查記錄，當地山椒魚微棲地水源狀況 46.9 % 為整年乾涸，阿里山山椒魚或其他山椒魚是可能在完全乾涸的溪流棲地進行生長及繁殖的意思嗎？

(四)5 種山椒魚在體型大小是否有顯著的差異？

(五)其他誤植處請更正：

請更正 p.32 內容及 p.52 表 3-1 以及 p.92 表 8-1；並將上述區域改列為「玉山轄區周邊」或以「其他鄰近區域」表示。玉山國家公園範圍尚無包括巒安堂、阿里山森林遊樂區、霧鹿林道、大關山、姊妹潭、特富野古道以及北大武等範圍。

四、太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士：

(一)本年初南湖山區因嚴重缺水，水線退縮超過海拔 200m 以上之落差，此現象對於山椒魚哪個年齡層造成較嚴重之影響？建議明年度仍持續在南湖山區調查，以比較缺水影響及提供未來氣候變遷下極端氣候在經營管理上之應變。

(二)目前北二段尚未發現南湖山椒魚，其南北端均有分布，是否有其它原因？

五、本處遊憩服務課謝銘銓課長：

(一)p.19 於 2019 年研究發現南湖山椒魚被麻醉後的體表體溫顯著不同於臺灣及楚南氏山椒魚，請問顯著不同是指體溫較高或低？

(二)檜山巨木群步道捕捉的觀霧山椒魚，與最近的活水距離平均為 27.2M，請問山椒魚的取水路徑可否予以觀測紀錄？又對該水源或路徑是否有保護或管理措施的建議？

(三)p.85 生存威脅評估內容，著重楚南氏及臺灣山椒魚的卵孵化觀察，是否可再補充生存威脅評估？

六、觀霧管理站彭文禮解說員：

(一)檜山巨木步道在過去吳聲海老師與巫奇勳老師均有調查，本研究調查近二年是否有重覆捕捉到過去標記之個體？

(二)勝文與祐竹近期之調查均有發現剛離水之幼體，表示附近應有卵串，後續調查請再多加留意。

七、觀霧管理站陳培均技士：

親緣關係樹分析共有 131 種單套型，請問有些單套型是否可能出現在不同物種間？或僅會出現在單一物種？

八、保育研究課于淑芬課長：

- (一)觀霧山椒魚胃內容物於表 3-2 僅有昆蟲綱及軟甲綱，請問分別為何種動物？101 年吳聲海老師在觀霧地區「觀霧山椒魚及其相關物種調查」報告中，有發現山椒魚區域之地棲無脊椎動物以及胃內容物等資料，可以參考比較。
- (二)在觀霧山椒魚的微棲地中，調查成果顯示底質以腐植土為主(40.5%)，其次為腐植土混碎石(20.3%)，但人工圈養環境之設置為何選擇「赤玉土」？

九、保育研究課潘振彰技正：

- (一)p.31 數字的撰寫應統一採阿拉伯數字，而非混用中文形式。如三種、一隻等，應為 3 種、1 隻。
- (二)p.31 不同國家公園的調查記錄表示方式不同，如雪霸、太魯閣以完成次數，玉山則以本年度次數，建議統一寫完成次數並註明本年度以利後續填報相關報表時之依據。
- (三)p.33 在玉山的捕捉紀錄應註明是 2020 年所完成。
- (四)p.88-91 建構山椒魚地理親緣關係的描述中，可否加入地圖標註不同次類群，藉以表示彼此間與山脈或水系之關聯。

十、受託單位國立臺灣大學朱有田老師回應：

回應涂堅委員部分：

- (一)報告書 p.50 發現皮蛻的意義，表示山椒魚會脫皮，至於為何會攝食，將再與林春富老師討論，並於下次報告補充說明。南湖山椒魚胃內容物有植物碎片，經觀看高速攝影結果發現，與其它兩棲爬蟲類相似，其獵食時同時將獵物連同旁邊的植物吃下，推測是誤食造成。
- (二)p.77 因正控制組受到污染所致，後續報告會修正。
- (三)p.97 有關微衛星標記，因小鮎屬的山椒魚的基因組尚無人完成序列組裝而無良好之對照組，本研究以基因註解方式比對其它現有之資料庫(相似種青蛙之基因)，相似 30% 左右尚屬合理之結果，表示兩者間在演化上有較大之差異性，未來如有其它相關研究進行合作或許可以提高註解率。
- (四)p.98 如觀霧站培均所提，不同物種應該不會有相同序列的粒腺體單套型，除非為雜交。過去在卡社溪調查中發現外表為阿里山山椒魚，但粒腺體

基因卻是楚南氏山椒魚，推測即有雜交的可能性。未來如有更多組微衛星標記，即可以較能確認是否為雜交之結果，並可作為物種鑑定上之輔助工具。

回應呂光洋委員部分

- (五)人為干擾較大的地區大多為臨近山椒魚棲地的山屋。如南湖山屋、成功山屋、向陽山屋。距離圓峰山屋約 100-200 公尺的水源地也是山椒魚的繁殖棲地。目前國家公園對這些區域的山椒魚分布皆有所掌握。
 - (六)p.32 所提及體外寄生水蛭，宿主為太魯閣國家公園 820 林道的南湖山椒魚。
 - (七)期末報告將會將 5 種山椒魚的分布與地圖水系結合，以圖示表示。另外，也會增加分子鐘，討論臺灣地質變遷歷史與山椒魚分化歷史間的關係。
 - (八)p.91, 所提及的大水窟，是位於八通關古道，也是山椒魚分布棲地。本計畫在該地點所調查到的山椒魚位於新武呂溪上游，是向東流向的溪流源頭。
 - (九)p.51 所提及山椒魚攝食的蠟蟲，分別於 5 月 25 日，6 月 4 日，6 月 12 日與 6 月 22 日各攝食 1 隻小蠟蟲，稍晚並於 6 月 22 日採集到排遺，因此排遺中出現的小蠟蟲應該是 6 月 22 日所攝食的蠟蟲，只消化約 1 天。
 - (十)本計畫預計收集不同季節的臺灣各種山椒魚 MRI 的影像，表 4-1 只列出目前所收集的 MRI 的影像，未來還會增列其他月份的資料。
 - (十一)表 4-5 的樣本來自賴俊祥老師所收集的標本，經酒精與福馬林長期浸泡，吻肛長 (SVL) 會縮小，故沒有列長度。圖 4-2、3、4 將會增加尺標。
 - (十二)目前已篩選出約 4,000 個在 5 種山椒魚皆有的 EST-SSR 分子標記，並從中獲得至少 6 個具有多樣性的 EST-SSR。
 - (十三)南湖圈谷的南湖山椒魚棲地分布範圍相對於其他山椒魚為小，下圈谷是南湖山椒魚棲地之一，已請太管處加強遊客宣導。
 - (十四)相關建議及報告書中的修正以及有關之分析結果，將會在 12 月的報告中呈現。
- 其它回應意見：
- (十五)2020 年與 2021 年皆有在野外山椒魚產卵地點設置 HOBO 溫度濕度儀收集微棲地環境資料。未來也會在期末報告中呈現資料，作為未來研究的基礎資料。
 - (十六)因為臺灣 5 種山椒魚皆屬一級與二級保育類動物，因此在 MRI 與 CT 造影過程中無法犧牲，必須經過麻醉，確保安全存活。兩棲類動物需保

持皮膚濕潤以維持氣體交換，而 MRI 與 CT 造影時間較長，為防止過程中皮膚過於乾燥，故需找出適合兩棲動物 MRI 與 CT 造影的步驟，故以非保育類的莫氏樹蛙、面天樹蛙與艾氏樹蛙作為控制組。也為探究不同物種是否有條件上的差異。

- (十七)p.44 所述阿里山山椒魚 30 筆微棲地水源狀況 46.9 % 為整年乾涸。這資料是正確的，因為山椒魚大部分生活是陸棲型，只靠微棲地的濕度維持自身濕度，因此大部分在野外棲地發現的山椒魚，大部分遠離水源。山椒魚只有在繁殖季節，才會接近水源。
- (十八)5 種山椒魚體型間會有差異，以前三分之一體型的平均吻肛長為例，觀霧山椒魚為 6.11 公分、臺灣山椒魚為 6.86 公分、楚南氏為 7.19 公分、南湖山椒魚為 7.37 公分、阿里山山椒魚為 6.89 公分。
- (十九) 因為無法在野外準確的依外觀形態來判斷山椒魚的年齡層。故目前無法評估今年的乾旱對特定年齡層的山椒魚影響，但乾旱一定會對於山椒魚的繁殖棲地造成影響。南湖山區去年調查時已缺水，數量均較過去少，缺水時對山椒魚較大的影響應為產卵時需要緩水流的環境，但不同年齡及缺水之影響必須有實驗設計才能有顯著性之結果。
- (二十)根據山椒魚現存分布判斷，北二段應該也會有南湖山椒魚，但北二段的調查環境因溪谷地形險惡難以到達，目前僅 1 次調查資料，後續將視情況儘量補足。
- (二十一)目前麻醉資料顯示南湖山椒魚的體表溫度與楚南氏不同，後續會探討體表溫度是否與山椒魚肛溫呈正相關，若是，則表示南湖山椒魚的體溫與楚南氏不同。
- (二十二)山椒魚只有繁殖季才會接近水源，但山椒魚的移動皆在夜間，且極不易觀察，故目前上未知檜山巨木步道山椒魚到水源的路徑。
- (二十三)有關重覆捕捉，本計畫執行至今(1 年 6 個月)只在大鹿林道東線有 1 隻再捕獲的記錄(編號：HFMDR200809-01，色標 BGOOB)。檜山巨木步道目前還沒有再捕獲的記錄。團隊會討論再捕獲率低的因素。
- (二十四)團隊會加強明年年初觀霧山椒魚卵串的搜尋強度，期待可以發現產卵點位，以利後續觀霧山椒魚生活史的研究。
- (二十五)粒線體基因組為單套(單套型)，臺灣的 5 種山椒魚屬不同的特有種山椒魚。p.98 所提，不同物種應該不會有相同序列的粒線體單套型，除非為雜交。過去在卡社溪調查中發現外表為阿里山山椒魚，但粒線體基因卻是屬楚南氏山椒魚，推測即有雜交的可能性。未來如有更多組微衛

星標記，即可以較能確認是否為雜交之結果，並可作為物種鑑定上之輔助工具。

(二十六)本計畫報告書表 3-2 中，觀霧山椒魚的胃內含物昆蟲綱為步行蟲，軟甲綱為鼠婦。目前為內含物資料尚未整理完畢。等資料較為完備，未來會跟吳聲海老師的調查資料進行比較與分析。

(二十七)原本人工圈養箱地底質是以不同顆粒粒徑的腐質土為底，最上層則鋪上泥炭土。但經過 2-3 個月後會腐敗發臭。與日本京都大學西川教授討論後依照日本的養殖模式，以不同粒徑的赤玉土為底質。赤玉土可以高壓滅菌，也較符合生物安全。

(二十八)期末報告將會彙整親緣關係樹資料與地圖點位資料，說明山椒魚分佈點位與山脈地景及水系間的關係。

玖、會議結論

一、本案第 3 次報告符合預定進度及工作內容原則通過審查。

二、請受託單位依審查委員及與會代表所提供之意見納參或修正，盡速提交修正意見及回覆情形之對照表並將對照表納入第 4 次報告書。

拾、散會：同日 11 時 55 分

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」

第 3 次報告審查視訊會議簽到單

壹、會議時間：110 年 7 月 20 日 (星期二) 上午 10 時

貳、會議地點：線上視訊

參、主席：張處長維銓

紀錄：潘振彰 技正

肆、出席單位及人員：

審 查 老 師	審 查 方 式
呂光洋教授	書面
涂堅研究員	視訊參加

受 託 單 位	視 訊 參 加 人 員
國立臺灣大學	朱有田老師 游佩儒
其 它 單 位	視 訊 參 加 人 員
玉山國家公園管理處	郭淳茶課長 李毓芬技士 林文傑技士
太魯閣國家公園管理處	陳敬儒技士

本處各單位

單 位	視 訊 參 加 人 員
副 處 長	林文和副處長
秘 書	陳俊山秘書
企 劃 經 理 課	楊國華課長
解 說 教 育 課	俞錚皞解說員
遊 憩 服 務 課	謝銘銓課長
保 育 研 究 課	于淑芬課長
武 陵 管 理 站	廖林彥主任
觀 霧 管 理 站	彭文禮解說員
雪 見 管 理 站	傅國銘技正

附件九、第三次審查會議意見處理情形

外聘委員：

(一) 涂堅委員

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.50 提及阿里山、楚南氏及臺灣山椒魚胃內容物均發現皮蛻，其代表意義為何？其它山椒魚是否就不會吃皮蛻？另外，南湖山椒魚胃內容物植物碎片比例很高，是否代表該種會吃植物？</p> <p>2. p.77 蛙壺菌與蠓蠟壺菌檢測，提到 14 份樣本擴增自蠓蠟壺菌或陽性對照組 DNA，採樣動物是否出現臨床症狀如皮膚有破皮或潰瘍現象，其結果如確定有感染，應依規定通報地方動物防疫機關處理。</p> <p>3. p.97 臺灣山椒魚發現的 unigene 僅約 30%左右可被註解，觀霧山椒魚的 unigene 註解亦僅 3 成左右，未來如何註解出整個基因轉錄體？</p> <p>4. p.98 臺灣產山椒魚表現標記微衛星標記引子設計，目前已發現有 5 組經 PCR 反應可成功擴增目標長度片段並表現多型性，其未來如何應用於本計畫？</p>	<p>1. 報告書 p.50 發現皮銳的意義，表示山椒魚會脫皮，至於為何會攝食，將再與林春富老師討論，並於下次報告補充說明。南湖山椒魚胃內容物有植物碎片，經觀看高速攝影結果發現，與其它兩棲爬蟲類相似，其獵食時同時將獵物連同旁邊的植物吃下，推測是誤食造成。</p> <p>2. p.77 因陽性對照組受到污染所致，後續報告會修正。</p> <p>3. p.97 有關微衛星標記，因小鮎屬的山椒魚的基因組尚無人完成序列組裝而無良好之對照組，本研究以基因註解方式比對其它現有之資料庫(相似種青蛙之基因)，相似 30%左右尚屬合理之結果，表示兩者間在演化上有較大之差異性，未來如有其它相關研究進行合作或許可以提高註解率。</p> <p>4. p.98 如觀霧站培均所提，不同物種應該不會有相同序列的粒腺體單套型，除非為雜交。過去在卡社溪調查中發現外表為阿里山山椒魚，但粒腺體基因卻是楚南氏山椒魚，推測即有雜交的可能性。未來如有更多組微衛星標記，即可以較能確認是否為雜交之結果，並可作為物種鑑定上之輔助工具。</p>

(二) 呂光洋委員

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.50 提及阿里山、楚南氏及臺灣山椒魚胃內容物均發現皮蛻，其代表意義為何？其它山椒魚是否就不會吃皮蛻？另外，南湖山椒魚胃內容物植物碎片比例很高本計劃由三座高山型國家公園共同策劃提供經費，對園區內的五種特有的臺灣產山椒魚，進行分布、棲息地生態因子、各種之食性、內部骨骼構造、生殖腺觀察、性別鑑定，生殖季胚胎發育、遺傳分子分析探討五種的之地理親緣關係、族群間基因交流、物種健康等多項目調查，非常難得。對日後臺灣野生動物保育建立典範。</p> <p>2. 高山野生動物的調查極為辛苦，受委託單位的調查人員在 2020 到 2021 年間共赴山區約 25 次，得到 458 隻次記錄(表 1-1)，分布地點詳盡。不知調查人員，可大略指出那些點受登山客或健行人的干擾較大？此資訊對日後保育工作將會有幫助。</p> <p>3. p.32 提及體外寄生水蛭，以阿里山椒魚為主，那在太魯閣的 3 隻的寄主為何？</p> <p>4. p.58, skull roof，不同種間差異(前額窗) 可用箭頭指出。</p> <p>5. 依 cyto b 核苷酸分子序列分析結果顯示，五種山椒魚還可細分依分子資訊上差異的分群，其又與溪流水系有密切關係，p-88 可否簡化表列或圖示？未來討論儘可能和本島地質變遷史結合。這些分子分群的資料，對日後保育有幫助。</p> <p>6. 阿里山山椒魚北分群向東之新武呂溪群 p.91, 提及大水窟，它不是在中部的八通關古道，它會是向東溪流之</p>	<p>1. 團隊會更加努力，符合委員期待。</p> <p>2. 人為干擾較大的地區大多為臨近山椒魚棲地的山屋。如南湖山屋、成功山屋、向陽山屋。距離圓峰山屋約 100-200 公尺的水源地也是山椒魚的繁殖棲地。目前國家公園對這些區域的山椒魚分佈皆有所掌握。</p> <p>3. p.32 所提及體外寄生水蛭，宿主為太魯閣國家公園 820 林道的南湖山椒魚，</p> <p>4. 會於今年 12 月的報告中，將 p.58, skull roof，不同種間差異(前額窗)，用箭頭指出。</p> <p>5. 期末報告將會將五種山椒魚的分佈與地圖水系結合，以圖示表示。另外，也會增加分子鐘，討論臺灣地質變遷歷史與山椒魚分化歷史間的關係。</p> <p>6. p.91, 所提及的大水窟，是位於八通關古道，也是山椒魚分佈棲地。本計畫在該地點所調查到的山椒魚位於新武呂溪上游，是向東流向的溪流源頭。</p> <p>7. p.51 所提及山椒魚攝食的蠟蟲，分別魚 5 月 25 日，6 月 4 日，6 月 12 日與 6 月 22 日各攝食一隻小蠟蟲，稍晚並於 6 月 22 日採集到排遺，因此排遺中出現的小蠟蟲應該是 6 月 22 日所攝食的蠟蟲，只消化約 1 天。</p> <p>8. 本計畫預計收集不同季節的臺灣各種山椒魚 MRI 的影像，表 4-1 只列出目前所收集的 MRI 的影像，未來還會增列其他月</p>

<p>源頭？</p> <p>7. 小蠟蛾幼蟲有厚幾丁質嗎？p.51 山椒魚需 28 天才消化完？</p> <p>8. 臺灣山椒魚生殖季約在冬季，表 4-1 的操作都在夏季，此會不會影響判定？</p> <p>9. NCC 的官員 5 月期間，在玉山國家公園引起的森林火災，受波及的範圍，不知本計劃的研究助理可否指出在何處？對他們調查的樣線或樣區有沒有影響？玉管處和嘉義林管處二單位有無共同討論如何處理？</p> <p>10. 表-4.5 可否加 size SVL 的資料？圖 4.-2.3.4. size？</p> <p>11. 如何選定熱線或熱點調查？</p> <p>12. EST-SSR 的分析尚無 data.? 日後請討論 allopatric and sympatric populations 或 species 間是否有 gene flow 或 hybrid 情形？</p> <p>13. 目前五種山椒魚中以南湖山椒魚面臨生存最危險，下圈谷的唯一水源是模式標本出處，登山的山莊就靠近水源，大量的遊客排泄物也在附近，太管處請儘快想出對策！</p> <p>14. p.84 之圈養箱放置位置似乎不夠隱蔽，儘可能溫度、光照配合原棲息地因子的變化。偶爾也能提供原棲地的食物。</p>	<p>份的資料。</p> <p>9. 今年 5 月期間，在玉山國家公園的森林火災範圍包括杜鵑營地，大水窟山附近。是否影響阿里山山椒魚，必須等到下次調查才能瞭解。未來會提供相關資訊給玉管處和嘉義林管處作為未來處理的參考。</p> <p>10. 因為表 4-5 的樣本來自賴俊祥老師所收集的標本，經酒精與福馬林長期浸泡，吻肛長 (SVL) 會縮小，故沒有列長度。圖 4-2、3、4 將會增加尺標。</p> <p>11. 為了找尋適合進行長期族群監測，因此在三個國家公園山椒魚找尋分佈的熱點。成為山椒魚分佈熱點的條件為交通便利與每季所調查到的山椒魚數量相對於其他樣線為高的樣區。</p> <p>12. 目前已篩選出約 4000 個在五種山椒魚皆有的 EST-SSR 分子標記，並從中獲得至少 6 個俱有多樣性的 EST-SSR。分析結果會在 12 月的報告中呈現。</p> <p>13. 南湖圈谷的南湖山椒魚棲地分佈範圍相對於其他山椒魚為小，下圈谷是南湖山椒魚棲地之一，已請太管處加強遊客宣導。</p> <p>14. 觀霧管理站的山椒魚圈養箱已設置上方棲空的遮罩，增加隱秘性並讓溫度、光照與濕度符合棲地條件。未來會採集棲地的節肢動物、軟體動物供山椒魚食用。</p>
---	---

友處委員：

(一) 玉山國家公園管理處郭課長淳棻

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. 因及兩棲類有部份生活史與水習習相關，本案 p.143 及 p.147 研究野外山椒魚產卵數量、形態與棲地資料的建立，是否有需要將環境溫度及水溫記錄納入背景資訊，以供日後延伸探討環境溫度或暖化對其影響之研究？</p> <p>2. p.27 在進行 5 種山椒魚的性別判定、確定生殖系統影像資料與實際性別差異，並建立模式標本之試驗中的預備試驗利用莫氏樹蛙、面天樹蛙與艾氏樹蛙作為控制組之背景或考量因素為何？請協助說明。</p> <p>3. p. 44 分析阿里山山椒魚 30 筆調查記錄，當地山椒魚微棲地水源狀況 46.9 % 為整年乾涸，確認一下，阿里山椒魚或其他山椒魚是可能在完全乾涸的溪流棲地進行生長及繁殖的意思嗎？</p> <p>4. 5 種山椒魚在體型大小是否有顯著的差異？</p> <p>5. 其他誤植處請更正： 請更正 p.32 內容及 p.52 表 3-1 以及 p.92 表 8-1；並將上述區域改列為「玉山轄區周邊」或以「其他鄰近區域」表示。玉山國家公園範圍尚無包括巒安堂、阿里山森林遊樂區、霧鹿林道、大關山、姊妹潭、特富野古道以及北大武等範圍。</p>	<p>1. 2020 年與 2021 年皆有在野外山椒魚產卵地點設置 HOBO 溫度濕度儀收集微棲地環境資料。未來也會在期末報告中呈現資料，作為未來研究的基礎資料。</p> <p>2. 因為臺灣五種山椒魚皆屬一級與二級保育類動物，因此在 MRI 與 CT 造影過程中無法犧牲，必須經過麻醉，確保安全存活。兩棲類動物需保持皮膚濕潤以維持氣體交換，而 MRI 與 CT 造影時間較長，為防止過程中皮膚過於乾燥，故需找出適合兩棲動物 MRI 與 CT 造影的步驟，故以非保育類的莫氏樹蛙、面天樹蛙與艾氏樹蛙作為控制組。也為探究不同物種是否有條件上的差異。</p> <p>3. p. 44 所述阿里山山椒魚 30 筆微棲地水源狀況 46.9 % 為整年乾涸。這資料是正確的，因為山椒魚大部分生活是陸棲型，只靠微棲地的濕度維持自身濕度，因此大部份在野外棲地發現的山椒魚，大部分遠離水源。山椒魚只有在繁殖季節，才會接近水源。</p> <p>4. 五種山椒魚體型間會有差異，以前 3 分之 1 體型的平均吻肛長為例，觀霧山椒魚為 6.11 公分、臺灣山椒魚為 6.86 公分、楚南氏為 7.19 公分、南湖山椒魚為 7.37 公分、阿里山山椒魚為 6.89 公分。</p> <p>5. 報告書誤植處已更正。</p>

(二) 太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. 本年初南湖山區因嚴重缺水，水線退縮超過海拔 200m 以上之落差，此現象對於山椒魚哪個年齡層造成較嚴重之影響？建議明年度仍持續在南湖山區調查，以比較缺水影響及提供未來氣候變遷下極端氣候在經營管理上之應變。</p> <p>2. 目前北二段尚未發現南湖山椒魚，其南北端均有分布，是否有其它原因？</p>	<p>1. 因為無法在野外準確的依外觀形態來判斷山椒魚的年齡層。故目前無法評估今年的乾旱對特定年齡層的山椒魚影響。但相信，乾旱一定會對於山椒魚的繁殖棲地造成影響。去年調查時已缺水，數量均較過去少，缺水時對山椒魚較大的影響應為產卵時需要緩水流的环境，但不同年齡及缺水之影響必須有實驗設計才能有顯著性之結果。另，本研究每年會對南湖山區進行至少一次的山椒魚分佈與數量調查</p> <p>2. 依據目前中央山脈南湖山椒魚的分佈最北界在南湖大山與中央尖山，南界在 820 林道。故判斷，北二段應該也會有南湖山椒魚的分佈。本計畫目前只進行一次北二段的調查，只發現台灣山椒魚。因為調查頻度低，故不能排除北二段有南湖山椒魚分佈的可能性。北二段的調查環境因溪谷地形險惡難以到達，目前僅 1 次調查資料，後續將視情況儘量補足。</p>

處內委員：

(一) 本處遊憩服務課謝銘銓課長：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.19 於 2019 年研究發現南湖山椒魚被麻醉後的體表體溫顯著不同</p>	<p>1. 前麻醉資料顯示南湖山椒魚的體表溫度與楚南氏不同。接下來，我</p>

意見	處理情形或參閱頁數
<p>於臺灣及楚南氏山椒魚，請問顯著不同是指體溫較高或低？</p> <p>2. 檜山巨木群步道捕捉的觀霧山椒魚，與最近的活水距離平均為27.2M，請問山椒魚的取水路徑可否予以觀測紀錄？又對該水源或路徑是否有保護或管理措施的建議？</p> <p>3. p.85 生存威脅評估內容，著重楚南氏及臺灣山椒魚的卵化觀察，是否可再補充生存威脅評估？</p>	<p>們會探討體表溫度是否與山椒魚肛溫呈正相關。若是，則表示南湖山椒魚的體溫與楚南氏不同。</p> <p>2. 山椒魚只有繁殖季才會接近水源，但山椒魚的移動皆在夜間，且極不易觀察，故目前上未知巨木步道山椒魚到水源的路徑。</p> <p>3. 期末報告會呈現生存威脅評估。</p>

(二) 觀霧管理站彭文禮解說員：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. 巨木步道在過去吳聲海老師與巫奇勳老師均有調查，本研究調查近二年是否有重覆捕捉到過去標記之個體？</p> <p>2. 勝文與祐竹近期之調查均有發現剛離水之幼體，表示附近應有卵串，後續調查請再多加留意。</p>	<p>1. 本計畫執行至今（1年6個月）只在大鹿林道東線有一隻再捕獲的記錄（編號：HFMDR200809-01，色標 BGOOB）。巨木步道目前還沒有再捕獲的記錄。團隊會討論再捕獲率低的因素。</p> <p>2. 團隊會加強明年年初觀霧山椒魚卵串的搜尋強度，期待可以發現產卵點位，以利後續觀霧山椒魚生活史的研究。</p>

(三) 觀霧管理站陳培均技士：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. 親緣關係樹分析共有 131 種單套型，請問有些單套型是否可能出現在不同物種間？或僅會出現在單一物種？</p>	<p>1. 粒線體基因組為單套（單套型），台灣的五種山椒魚屬不同的特有種山椒魚。p.98 如觀霧站培均副主任所提，不同物種應該不會有相同序列的粒線體單套型，除非為雜交。過去在卡社溪調查中發現外表為阿里山山椒魚，但粒線體基因卻是屬楚南氏山椒魚，推測即有雜交的可能性。未來如有更多組微衛星</p>

意見	處理情形或參閱頁數
	標記，即可以較能確認是否為雜交之結果，並可作為物種鑑定上之輔助工具。

(四) 保育研究課于淑芬課長：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. 觀霧山椒魚胃內容物於表 3-2 僅有昆蟲綱及軟甲綱，請問分別為何種動物？101 年吳聲海老師在觀霧地區觀霧山椒魚及其相關物種調查報告中，有發現山椒魚區域之地棲無脊椎物動以及胃內容物等資料，可以參考比較。</p> <p>2. 在觀霧山椒魚的微棲地中，調查成果顯示底質以腐植土為主 (40.5%)，其次為腐植土混碎石 (20.3%)，但人工圈養環境之設置為為何選擇“赤玉土”？</p>	<p>1. 本計畫報告書表 3-2 中，觀霧山椒魚的胃內含物昆蟲綱為步行蟲，軟甲綱為鼠婦。目前為內含物資料尚未整理完畢。等資料較為完備，未來會跟吳聲海老師的調查資料進行比較與分析。</p> <p>2. 原本人工圈養箱地底值是以不同顆粒粒徑的赤玉土為底，最上層則鋪上泥炭土。但經過 2-3 個月後會腐敗發臭。與日本京都大學西川教授討論後依照日本的養殖模式，以不同粒徑的赤玉土為底值。赤玉土可以高壓滅菌，也較符合生物安全。</p>

(五) 保育研究課潘振彰技正：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>1. p.31 數字的撰寫應統一採阿拉伯數字，而非混用中文形式。如三種、一隻等，應為 3 種、1 隻。</p> <p>2. p.31 不同國家公園的調查記錄表示方式不同，如雪霸、太魯閣以完成次數，玉山則以本年度次數，建議統一寫完成次數並註明本年度以利後續填報相關報表時之依據。</p> <p>3. p.33 在玉山的捕捉紀錄應註明是 2020 年所完成。</p> <p>4. p.88-91 建構山椒魚地理親緣關係的描述中，可否加入地圖標註不同次類群，藉以表示彼此間與山脈或水系之關聯。</p>	<p>1. 計畫報書中阿拉伯數字已依建議統一並修正。</p> <p>2. p.31 中不同國家公園的調查記錄表示方式不同，亦已統一以完成次數表示，並註明年度。</p> <p>3. p.33 報告書，在玉山的捕捉的紀錄已註明是 2020 年所完成的紀錄</p> <p>4. 期末報告將會彙整親緣關係樹資料與地圖點位資料，說明山椒魚分佈點位與山脈地景及水系間的關係。</p>

附件十、第四次審查會議紀錄

電子公文

110/12/23



110096582

檔 號：
保存年限：

雪霸國家公園管理處 函

地址：36443 苗栗縣大湖鄉富興村水尾坪100號

聯絡人：李佩如
聯絡電話：037-996100-#702
電子郵件：peiju@spnp.gov.tw
傳真：037-996706

受文者：國立臺灣大學動物科學技術學系朱有田教授

發文日期：中華民國110年12月23日
發文字號：營雪保字第1101007908號
速別：普通件
密等及解密條件或保密期限：
附件：如主旨

主旨：檢送本處「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」第4次報告審查會議紀錄1份，請查照。

說明：

- 一、依據本處110年11月11日營雪保字第1101006748號開會通知單續辦。
- 二、請會依照有關結論事項修正，並將意見回覆表及第5期款領據函送本處，俾憑辦理撥款事宜。

正本：玉山國家公園管理處、太魯閣國家公園管理處、國立臺灣師範大學呂光洋教授、國立臺灣大學、行政院農業委員會家畜衛生試驗所涂堅組長、本處處長室、副處長室、秘書、企劃經理課、遊憩服務課、解說教育課、武陵管理站、觀霧管理站、雪見管理站、保育研究課

副本：國立臺灣大學動物科學技術學系朱有田教授(含附件)

110/12/23
14:05:43

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」 第 4 次報告審查會議紀錄

壹、開會日期：110 年 12 月 16 日(星期四)下午 2 時

貳、開會地點：雪霸國家公園管理處第 1 會議室

參、主持人：張處長維銓

紀錄：李佩如

肆、出席單位人員：詳如簽到單

伍、主席致詞(略)

陸、業務單位報告

- 一、本案係委託國立臺灣大學執行之委託辦理案，依據契約書第 7 條第 1 項第 2 款規定，廠商應於 110 年 12 月 17 日以前提出第 4 次報告，出席本處舉行之第 4 次報告審查會議，並完成相關工作。
- 二、受託廠商報告送抵時間為 110 年 12 月 7 日，符合契約規定之履約工作進度及工作項目。

柒、受託單位簡報(略)

捌、審查意見

一、涂堅委員：

- (一)p.34 日本山蛭在胃內血液樣本分析有赤石山椒魚之粒線體 DNA，臺灣做過類似嘗試嗎？
- (二)p.35 山椒魚數量與降水量有關(最後一段)，但 2018-2019 年降水量都較低，山椒魚調查數量卻無明顯下降，仍是在每年 5、6 月降水高峰後出現最多。因此，除了降水量高低，是否還有其他因素影響山椒魚的出現。
- (三)p.90 蠟螞蟻菌檢測 14 份偽陽性，是否找出汙染原因，未來如何防範。
- (四)p.99 野外臺灣山椒魚卵的孵化觀察，描述依氣象資料推測產卵時間約在 3 月 27 日，所謂氣象資料是指溫度變化嗎？
- (五)p.102 親緣關係樹建構，最後一句話「南湖類群與阿里山加楚南氏類群的分支為中系程度支持(=77)」，請問可能的解釋為何？

二、呂光洋委員：

- (一)棲地生態因子之資料，除 820 林道三種之比較外，可否將五種山椒魚的生態因子資料整理，列出比較之圖，如圖 2-1，以便了解五種山椒魚對棲地偏

好有無差別。

- (二)胃內含物之分析，圖 3-2 不易看出所食對象之明確比例，建議重新繪製圖示呈現。胃中看到之線蟲 Nematod，有可能是山椒魚之寄生，請確認。
- (三)p.67 中之不同季節為春、夏及秋，建議標示各季節之月份，另缺乏冬季之資料。
- (四)「熱點」是否為調查之「重點區」?生態保育之「hot spot」不同定義。
- (五)p.83 生殖腺成熟之變化圖，有無照到頭骨變化之情形?請補充說明。
- (六)蛙壺菌中之「正控制組」和一般實驗設計中的「控制」及「實驗組」意義不同，建議於報告書中加註說明。
- (七)水蛭之種類，是否在其他溫血動物中也能看到?
- (八)專有名詞的引用，建議統一修正(如：地理親緣、親緣地理、遺傳親緣、遺傳分子分析、遺傳結構等等)。

三、玉山國家公園管理處李毓芬技士：

- (一)p.33、34 提及有再捕捉記錄，請問第一次捕捉地與再捕捉地理位置是否相近。
- (二)報告內容及研究題目相當豐碩，依據契約規定本次需提出網頁架構，建議補充至報告書中，以了解如何呈現研究成果。
- (三)p.35 提及合歡山 820 林道山椒魚發現頻率與微環境因子相關性分析，請問於玉山國家公園是否有發現微環境因子與發現頻率之關連，如阿里山山椒魚分布廣，在海拔上分布如何?

四、太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士：

- (一)針對 p.104 及 127 有關南湖山椒魚保育部分，有 2 點問題：
 - (1) 審馬陣山附近山椒魚的熱點地點，請提供相關位置，因此區域範圍除有山屋外也常有山友及遊客常活動。
 - (2) 南湖山屋目前有改建計畫，在山屋旁是否為山椒魚棲地，目前將規劃設置禁止露營的方式保育山椒魚，另請研究團隊提供相關保育策略。
- (二)針對種間雜交的微衛星試驗，其資料來源是近年調查之樣本嗎?早期賴老師的研究資料是否可以納入分析比較。
- (三)請問山椒魚在地底下生活是否有深度偏好(或是有觀察公母利用不同深度的情況)?如果有，飼養箱是否有考量增加分層的陶片。

五、本處雪見管理站潘振彰主任：

- (一)在利用 micro-MRI 記錄山椒魚隨時間變化中，因為是利用圈養的個體，

他們在性腺變化是否因季節溫度而改變，或是因時間週期，如後續仍有持續拍攝建議將溫度納入背景值分析。

六、觀霧管理站陳培均技士：

(一)依據老師調查成果發現目前山椒魚會利用固定的地點產卵，建議針對觀霧遊憩區範圍放大繪製山椒魚分布圖，有利管理單位進行土地利用時，能避開敏感地區。

七、保育研究課李佩如技士：

- (一)簡報中請補充前次(第3次)審查意見的回覆表。
- (二)p.17 圖一臺灣五種山椒魚的地理分布照片解析度不佳，請更正較清楚之圖片。
- (三)p.25「雪霸國家公園總面積達 76,850 公頃，……」，請依雪霸國家公園計畫第3次通盤檢討面積修正為 76,547.08 公頃。
- (四)p.35 觀察山椒魚調查數量與降水量的關係，文字數據之結果分析 2017 年至 2019 年，請補充 2020 年整體降水量與山椒魚量數之變化。
- (五)報告書內若干錯漏字，請予以修正。

八、于淑芬課長的部分，提問如下：

- (一)未來請提供詳細地點補捉數量予管理處。
- (二)山椒魚再捕獲率原本就不高,目前報告書顯示觀霧地區山椒魚重覆捕捉僅 2 筆,與前幾年調查相比有些差距,是何原因?是否顯示山椒魚數量變得更少?
- (三)調查大雪山地區動物團隊於 230 林道 1.1K 處亦有發現臺灣山椒魚

九、受託單位國立臺灣大學朱有田老師回應：

回應涂堅委員部分：

- (一)目前尚未找到有類似文獻探討臺灣蛭類的宿主種類。
- (二)依照 2016-2019 年於 820 林道的調查，山椒魚的調查數量在一年之中主要集中在降水量與氣溫皆較高的幾個月份。但若以年為尺度，年降雨量最多的年份，當年度的調查數量並不是最多，年降雨量最少的 2018 年，當年度山椒魚的調查量也非最低。團隊曾分析光照、氣溫與濕度的微環境因子與林道上山椒魚分布的相關性，但未發現顯著相關。因此僅能推測山椒魚在地表上活動情形與月降雨量及月溫可能有關。
- (三)偽陽性樣本推測可能為操作過程中陽性對照組的 DNA 污染微量移液器

導致，未來計畫將分析時的 Pipette Tips 改為 Filter tips 防止樣本噴濺污染微量移液器。

- (四)推測產卵時間使用的氣象資料包含氣溫及雨量，對照卵串發現日之前的降雨日和卵串發現當下的發育階段來推測產卵時間。
- (五)原先我們預期南湖類群與臺灣山椒魚類群的演化關係較接近，實際的分析結果將南湖與(阿里山+楚南氏)編派在一個大類群，表示將核苷酸替代模型及序列相似度納入考慮，模型的演算結果支持這三種山椒魚較有可能由同一共同祖先演化過來。當各類群發生再接觸，或分析的樣本中沒有包含實際演化歷史中所有可能的樣本.....等原因都有可能導致分支呈現中等支持度，至於本研究中南湖與(阿里山+楚南氏)類群呈現中等支持度的真正原因以目前結果尚無法得知。

回應呂光洋委員部分

- (一)因五種山椒魚的分布範圍不同，不同棲地可以利用的微棲地種類與比例也不一樣，比較的結果可能不單來自於不同物種對微棲地的偏好程度，而是包含當地可利用的棲地類型的影響。因此才會僅比較在同一條林道上，可視為相同棲地環境的 820 林道來做三種山椒魚的種間比較。
- (二)圖 3-2 會再修正圖的呈現方式與表結合，使食性比例的確切數字容易對照。目前食性樣本中確有一隻山椒魚中就發現 30 隻線蟲的情形，是否為內寄生蟲需再確認。
- (三)不同季節以春季：3-5 月，夏季：6-8 月，秋季：9-11 月為區分標註於表格底部備註。未來將各季節月份定義補充於報告本文或材料方法中。冬季（12-2 月）因山椒魚調查數量少未收集到可分析的食性樣本，故未呈現在圖表上。
- (四)本報告的「熱點」為「調查重點區」，與分布調查不同，為團隊每 2 個月會進行一次山椒魚調查的長期監測樣區，具備族群量較穩定、容易到達的特性，非生態保育的熱點，未來會將此熱點定義補充於材料方法，或於結果呈現中以「調查重點區」取代「熱點」一詞避免混淆。
- (五)生殖腺造影所使用的 micro-MRI 成像技術拍攝部分為軟組織，且受制於線圈可掃描的範圍大小因此沒有照到頭骨。硬骨的成像需使用另一種儀器 micro-CT，兩者皆需麻醉山椒魚，於實務上較難同時追蹤。若需長期追蹤個體的生殖腺變化與頭部型態的改變情形，可於進行 micro-MRI 時同時搭配量測山椒魚頭部形質與拍照記錄做為對照。
- (六)報告所指的「正控制組」原指針對 PCR 反應而言的正控制組，意思應為

「陽性對照組」。後續報告書中將改以「陽性對照組」稱之避免混淆。

(七)三顎四環蛭也會寄生人類的血液，但應以兩棲動物的血液為主食，以溫血動物為寄主的水蛭還包括山蛭屬及鼻蛭屬的幾種水蛭。本研究未調查山椒魚分布樣區溫血動物受水蛭寄生的情形。

(八)專有名詞於後續報告書中統一修正。

其它回應意見：

回應玉山國家公園管理處李毓芬技士

(一)再捕捉個體雖出現在同一樣線，但因 GPS 定位受天候等因素影響，誤差可達 20 公尺之遠，不建議由再捕捉地點推算山椒魚的移動距離。

(二)於後續報告書中補充網頁架構。

(三)820 林道山椒魚發現頻率高與頻率低的地點，與微環境因子的相關性分析結果顯示兩者間並無顯著相關，目前在玉山國家公園我們尚未發現有明顯的微環境因子。

回應太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

(一)審馬陣山發現山椒魚的位置為鄰近溪溝，離山屋尚有一段距離，判斷應非登山客會經常到達的地方。南湖山屋上游的水源及山屋旁的溪流沿岸可規劃禁止露營區域，不建議另外設置山椒魚的躲藏物，因可能吸引遊客誤認其為可利用於紮營的材料。

(二)微衛星使用的樣本為近年收集的樣本，早期賴老師所收集的樣本可提取的 DNA 量有限，濃度較低，雖可擴增粒線體 DNA 但總量可能不夠用於核基因的微衛星分析使用。

(三)目前山椒魚在地底下生活，未有對於土壤深度偏好的資訊。

回應本處雪見管理站潘振彰主任

(一)本研究觀察性腺變化的個體飼養在 12-16 度恆溫飼養箱內，環境溫度的變化不如山上劇烈。後續可能以環境溫度及光照接近原棲地的觀霧或塔塔加飼養箱內個體作為生殖週期追蹤的對象。

回應觀霧管理站陳培均技士

(一)將提供山椒魚分布點位與 Google Map 或 Google Earth 套疊圖給管理站。

回應保育研究課李佩如技士

(一)報告書附件審查意見回覆表將補充至簡報。

(二)圖片解析度、國家公園面積敘述與報告錯漏字等依建議於後續報告書中更正。

回應于淑芬課長

- (一) 詳細地點補捉數量另提供與管理處。
- (二) 影響再捕獲率的因素很多，族群數量、標記個體的數量、採集能夠到達的樣線範圍、山椒魚實際的活動範圍、個體的生存率.....等等因素皆可能影響。820 林道的再捕捉率於 2017 年開始標放後的第 2、3 年開始才有比較穩定的再捕捉率，巨木步道今年為標放的第 2 年，調查到以及可標放的山椒魚數量亦低於 820 林道，尚不清楚觀霧山椒魚再捕捉率低的確切原因。

玖、會議結論

- 一、本案第 4 次報告符合預定進度及工作內容原則通過審查。
- 二、請受託單位依審查委員及與會代表所提供之意見納參或修正，盡速提交修正意見及回覆情形之對照表並將對照表納入第 5 次報告書。

拾、散會：下午 4 時 10 分

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」

委託辦理案第四次審查會議簽到表

壹、會議時間：110年12月16日(星期四)下午2時

貳、會議地點：本處第一會議室

參、主席：張處長維銓 *張維銓*

紀錄：李佩如

肆、出席(列席)單位及人員：

出席單位	職稱	姓名
呂光洋 (審查委員)	教授	<i>呂光洋</i>
涂堅 (審查委員)	組長	<i>涂堅</i>
玉山國家公園管理處	<i>技士</i>	<i>李毓芬</i>
太魯閣國家公園管理處	<i>技士</i>	<i>陳敬偉</i>
國立臺灣大學	教授 助理	<i>朱有田</i> <i>林石</i> <i>蔡皓文</i> <i>游侑儒</i>

本處單位	職稱	姓名
副處長	副處長	請假
秘書	秘書	邱榕明
企劃經營課	技士	楊世航
解說教育課	課長	謝美廷
遊憩服務課	技正	張維仁
保育研究課	課長	于淑芬
武陵管理站	技士	林嘉芬
觀霧管理站	技士	陳培均
雪見管理站	主任	潘振勳

附件十一、第四次審查會議意見處理情形

外聘委員：

(五) 涂堅委員

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一) p.34 日本山蛭在胃內血液樣本分析有赤石山椒魚之粒線體 DNA，臺灣做過類似嘗試嗎？</p> <p>(二) p.35 山椒魚數量與降水量有關(最後一段)，但 2018-2019 年降水量都較低，山椒魚調查數量卻無明顯下降，仍是在每年 5、6 月降水高峰後出現最多。因此，除了降水量高低，是否還有其他因素影響山椒魚的出現。</p> <p>(三) p.90 蠓蟻壺菌檢測 14 份偽陽性，是否找出汙染原因，未來如何防範。</p> <p>(四) p.99 野外臺灣山椒魚卵的孵化觀察，描述依氣象資料推測產卵時間約在 3 月 27 日，所謂氣象資料是指溫度變化嗎？</p> <p>(五) p.102 親緣關係樹建構，最後一句話「南湖類群與阿里山加楚南氏類群的分支為中系程度支持(=77)」，請問可能的解釋為何？</p>	<p>(一) 目前尚未找到有類似文獻探討臺灣蛭類的宿主種類。</p> <p>(二) 依照 2016-2019 年於 820 林道的調查，山椒魚的調查數量在一年之中會集中在降水量與氣溫皆較高的幾個月份。但若以年為尺度，年降雨量最多的年份，當年度的調查數量並不是最多，年降雨量最少的 2018 年，當年度山椒魚的調查量也非最低。團隊曾分析光照、氣溫與濕度的微環境因子與林道上山椒魚分布的相關性，但未發現顯著相關。因此僅能推測山椒魚在地表上活動情形與月降雨量及月溫可能有關。</p> <p>(三) 偽陽性樣本推測可能為操作過程中陽性對照組的 DNA 汙染微量移液器導致，未來計畫將分析時的 Pipette Tips 改為 Filter tips 防止樣本噴濺汙染微量移液器。</p> <p>(四) 推測產卵時間使用的氣象資料包含氣溫及雨量，對照卵串發現日之前的降雨日和卵串發現當下的發育階段來推測產卵時間。</p> <p>(五) 原先我們預期南湖類群與臺灣山椒魚類群的演化關係較接近，實際的分析結果將南湖與(阿里山+楚南氏)編派在一個大類群，表示將核苷酸替代模型及序列相似度納入考慮，模型的演算結果支持這三種山椒魚較有可能由同一共同祖先演化過來。當各類群發生再接觸，或分析的樣本中沒有包含實際演化歷史中所有可能的樣本...等原因都有可能導致分支呈現中</p>

	<p>等支持度，至於本研究中南湖與(阿里山+楚南氏)類群呈現中等支持度的真正原因以目前結果尚無法得知。</p>
--	---

(二)、呂光洋委員

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一) 棲地生態因子之資料，除 820 林道三種之比較外，可否將五種山椒魚的生態因子資料整理，列出比較之圖，如圖 2-1，以便了解五種山椒魚對棲地偏好有無差別。</p> <p>(二) 胃內含物之分析，圖 3-2 不易看出所食對象之明確比例，建議重新繪製圖示呈現。胃中看到之線蟲 Nematod，有可能是山椒魚之寄生，請確認。</p> <p>(三) p.67 中之不同季節為春、夏及秋，建議標示各季節之月份，另缺乏冬季之資料。</p> <p>(四) 「熱點」是否為調查之「重點區」？生態保育之「hot spot」不同定義。</p> <p>(五) p.83 生殖腺成熟之變化圖，有無照到頭骨變化之情形？請補充說明。</p> <p>(六) 蛙壺菌中之「正控制組」和一般實驗設計中的「控制」及「實驗組」意義不同，建議於報告書中加註說明。</p> <p>(七) 水蛭之種類，是否在其他溫血動物中也能看到？</p> <p>(八) 專有名詞的引用，建議統一修正(如：地理親緣、親緣地理、遺傳親緣、遺傳分子分析、遺傳結構等等)。</p>	<p>(一) 因五種山椒魚的分布範圍不同，不同棲地可以利用的微棲地種類與比例也不一樣，比較的結果可能不單來自於不同物種對微棲地的偏好程度，而是包含當地可利用的棲地類型的影響。因此才會僅比較在同一條林道上，可視為相同棲地環境的 820 林道來做三種山椒魚的種間比較。</p> <p>(二) 圖 3-2 會再修正圖的呈現方式與表結合，使食性比例的確切數字容易對照。目前食性樣本中確有一隻山椒魚中就發現 30 隻線蟲的情形，是否為內寄生蟲需再確認。</p> <p>(三) 不同季節以春季：3-5 月，夏季：6-8 月，秋季：9-11 月為區分標註於表格底部備註。未來將各季節月份定義補充於報告本文或材料方法中。冬季(12-2 月)因山椒魚調查數量少未收集到可分析的食性樣本，故未呈現在圖表上。</p> <p>(四) 本報告的「熱點」為「調查重點區」，與分布調查不同，為團隊每 2 個月會進行一次山椒魚調查的長期監測樣區，具備族群量較穩定、容易到達的特性，非生態保育的熱點，未來會將此熱點定義補充於材料方法，或於結果呈現中以「調查重點區」取代「熱點」一詞避免混淆。</p> <p>(五) 生殖腺造影所使用的 micro-MRI 成像技術拍攝部分為軟組織，且受制於線圈可掃描的範圍大小因此沒有照到頭骨。硬骨的成像需使用另一種儀</p>

	<p>器 micro-CT，兩者皆需麻醉山椒於，於實務上較難同時追蹤。若需長期追蹤個體的生殖腺變化與頭部型態的改變情形，可於進行 micro-MRI 時同時搭配量測山椒魚頭部形值與拍照記錄做為對照。</p> <p>(六) 報告所指的「正控制組」原指針對 PCR 反應而言的正控制組，意思應為「陽性對照組」。後續報告書中將改以「陽性對照組」稱之避免混淆。</p> <p>(七) 三顎四環蛭也會寄生人類的血液，但應以兩棲動物的血液為主食，以溫血動物為寄主的水蛭還包括山蛭屬及鼻蛭屬的幾種水蛭。本研究未調查山椒魚分布樣區溫血動物受水蛭寄生的情形。</p> <p>(八) 專有名持於後續報告書中統一修正。</p>
--	--

友處委員：

(十一) 玉山國家公園管理處李毓芬技士：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一)p.33、34 提及有再捕捉記錄，請問第一次捕捉地與再捕捉地理位置是否相近。</p> <p>(二)報告內容及研究題目相當豐碩，依據契約規定本次需提出網頁架構，建議補充至報告書中，以了解如何呈現研究成果。</p> <p>(三)p.35 提及合歡山 820 林道山椒魚發現頻率與微環境因子相關性分析，請問於玉山國家公園是否有發現微環境因子與發現頻率之關連，如阿里山山椒魚分布廣，在海拔上分布如何？</p>	<p>(一) 再捕捉個體雖出現在同一樣線，但因 GPS 定位受天候等因素影響，誤差可達 20 公尺之遠，不建議由再捕捉地點推算山椒魚的移動距離。</p> <p>(二) 於後續報告書中補充網頁架構。</p> <p>(三) 820 林道山椒魚發現頻率高與頻率低的地點，與微環境因子的相關性分析結果顯示兩者間並無顯著相關，目前在玉山國家公園我們也尚未發現有明顯的微環境因子。</p>

(二) 太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一) 針對 p.104 及 127 有關南湖山椒魚保育部分，有 2 點問題：</p> <p>(1) 審馬陣山附近山椒魚的熱點地點，請提供相關位置，因此區域範圍除有山屋外也常有山友及遊客常活動。</p> <p>(2) 南湖山屋目前有改建計畫，在山屋旁是否為山椒魚棲地，目前將規劃設置禁止露營的方式保育山椒魚，另請研究團隊提供相關保育策略。</p> <p>(二) 針對種間雜交的微衛星試驗，其資料來源是近年調查之樣本嗎？早期賴老師的研究資料是否可以納入分析比較。</p> <p>(三) 請問山椒魚在地底下生活是否有深度偏好(或是有觀察公母利用不同深度的情況)?如果有，飼養箱是否有考量增加分層的陶片。</p>	<p>(一) 審馬陣山發現山椒魚的位置為鄰近溪溝，離山屋尚有一段距離，判斷應非登山客會經常到達的地方。南湖山屋上游的水源及山屋旁的溪流沿岸可規劃禁止露營區域，不建議另外設置山椒魚的躲藏物，因可能吸引遊客誤認其為可利用於紮營的器材。</p> <p>(二) 微衛星使用的樣本為近年收集的樣本，早期賴老師所收集的樣本可提取的 DNA 量有限，雖濃度較低，雖可擴增粒線體 DNA 但總量可能不夠用於核基因的微衛星分析使用。</p> <p>(三) 目前未有對於土壤深度偏好的資訊。</p>

處內委員：

(四) 雪見管理站潘振彰主任：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>在利用 micro-MRI 記錄山椒魚隨時間變化中，因為是利用圈養的個體，3 他們在性腺變化是否因季節溫度而改變，或是因時間週期，如後續仍有持續拍攝建議將溫度納入背景值分析。</p>	<p>本研究觀察性腺變化的個體接飼養在 12-16 度恆溫飼養箱內，環境溫度的變化不如山上劇烈。後續可能以環境溫度及光照接近原棲地的觀霧或塔塔加飼養箱內個體作為生殖週期追蹤的對象。</p>

(二) 觀霧管理站陳培均技士：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>依據老師調查成果發現目前山椒魚會利用固定的地點產卵，建議針對觀霧遊憩區範圍放大繪製山椒魚分布圖，有利管理單位進行土地利用時，能避開敏感地區。</p>	<p>將提供山椒魚分布點位與 Google Map 或 Google Earth 套疊圖給管理站。</p>

(三) 觀霧管理站陳培均技士：

意見	處理情形或參閱頁數
依據老師目前發現山椒魚會利用固定地點產卵，建議針對觀霧遊憩區範圍放大繪製山椒魚分布圖，有利管理單位進行土地利用時，能避開敏感地區。	將提供山椒魚分布點位與 Google Map 或 Google Earth 套疊圖給管理站。

(四) 保育研究課李佩如技士：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一) 簡報中請補充前次(第 3 次)審查意見的回覆表。</p> <p>(二) p.17 圖一臺灣五種山椒魚的地理分布照片解析度不佳，請更正較清楚之圖片。</p> <p>(三) p.25 「雪霸國家公園總面積達 76,850 公頃，……」，請依雪霸國家公園計畫第 3 次通盤檢討面積修正為 76,547.08 公頃。</p> <p>(四) p.35 觀察山椒魚調查數量與降水量的關係，文字數據之結果分析 2017 年至 2019 年，請補充 2020 年整體降水量與山椒魚量數之變化。</p> <p>(五) 報告書內若干錯漏字，請予以修正。</p>	<p>(一) 報告書附件審查意見回覆表將補充至簡報。</p> <p>(二) 圖片解析度、國家公於面積敘述與報告錯漏字等依建議於後續報告書中更正。</p>

(五) 于淑芬課長：

意見	處理情形或參閱頁數
<p>(一) 未來請提供詳細地點補捉數量予管理處。</p> <p>(二) 山椒魚再捕獲率原本就不高，目前報告書顯示觀霧地區山椒魚重覆捕捉僅 2 筆，與前幾年調查相比有些差距，是何原因？是否顯示山椒魚數量變得更少？</p> <p>(三) 調查大雪山地區動物團隊於 230 林道 1.1K 處亦有發現臺灣山椒魚</p>	<p>(一) 詳細地點補捉數量另提供與管理處</p> <p>(二) 影響再捕獲率的因素很多，族群數量、標記個體的數量、採集能夠到達的樣線範圍、山椒魚實際的活動範圍、個體的生存率... 等等因素皆可能影響。目前，820 林道的再捕捉率於 2017 年開始標放後的第 2、3 年開始才有比較穩定的再捕捉率，巨木步道今年為標放的第 2 年，調查到以及可標放的山椒魚數量亦低於 820 林道，尚不清</p>

	<p>楚觀霧山椒魚再捕捉率低的确切原因。</p> <p>(三) 本研究調查期間還未在 230 林道 1.1K 處發現臺灣山椒魚，此為一新的調查點位為 230 林道山椒魚分布的寶貴資料。</p>
--	--

附件十三、第五次審查會議意見處理情形

委員	委員審查意見	回覆
呂光洋 委員	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本報告所收集的資料相當多，涵蓋的層面相當廣泛。從臺灣山椒魚的分類、基礎生物學、生態、分布、生物地理、親緣關係、分子遺傳信息、野生動物之衛健、疾病及保育等等，已明顯超過原委託單位的要求項目。 2. 報告中指出由遺傳分子信息的分析結果，顯示這五種山椒魚的演化及分布受臺灣島的山脈及水系的影響甚深。在報告中雖然討論得相當詳細，然組織鬆散，不利閱讀，建議未來可用簡圖或整合的簡表呈現，有關向東水系的族群遺傳分化可多加討論。 3. 根據簡報，於太平山新增觀霧山椒魚的分布地點，是否已確認為觀霧山椒魚？另在明池分布地點為何？ 4. 合歡山區兩種山椒魚的繁殖時間比圈養的觀霧和阿里山山椒魚要晚，自孵化變態時間都較長，這應和海拔高度及環境因子之自然波動有關。日本的繁殖時間亦較早，它們是野外還是圈養狀態的資料？ 5. 根據報告，在野外及圈養環境皆可觀察到護幼行為，是否知道護幼的成年山椒魚性別？ 6. 遺傳標記資訊是否可看出遺傳多樣性？ 7. 圖 9-3 是否顯示目前臺灣 5 種山椒魚的雜交情形？ 8. 圖 4 系列照片為山椒魚生殖腺發育的追蹤照片，可否加上 SVL(吻肛長)資料，將有助於瞭解 SVL 長度(年齡)和生殖腺發育之關係。 9. 建議統一報告中使用的名詞，例如巨木步道跟檜山步道、地理親緣跟親緣地理等。 10. 表 1 系列為分布及生態調查照片，建議補充物種名。又圖 1-1 至圖 1-10 系列，建議將同種山椒魚的照片集中，以便比對，可呈現出牠們雖同種，但外表差異的生物多樣性特性。 11. 表 3-6 食性分析結果，有「內臟」的資料，如何確定屬於山椒魚？ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 謝謝老師的鼓勵!團隊會更努力。 2. 目前發現有分布於向東水系的山椒魚有觀霧、楚南氏與阿里山山椒魚，其完整族群遺傳結構將會在於期末報告書詳細討論。 3. 團隊 2021 年開始於太平山進行調查但皆無所獲，2022 年 6 月終於在太平山記錄到山椒魚分布，目前由形態及粒線體皆判定為觀霧山椒魚。明池分布地點在 110 林道上大約 1,300 公尺處發現，目前在鴛鴦湖僅有前人紀錄之調查資料。 4. 日本山椒魚繁殖資料野外與圈養皆有，會在期末報告描述。 5. 圈養環境中出現護幼行為的觀霧山椒魚根據標記是公的。合歡山野外觀察到的臺灣山椒魚公母皆有，但由外觀判斷公的較多一些。 6. 可以由經分析的遺傳標記資訊看出族群遺傳多樣性。目前分成很多小族群，若將小族群混合，則可發現遺傳多樣性高；若只看小組群，則核苷酸的多樣性低，因此未來保育策略應著重在保育演化的重要單位，例如雪山西稜的臺灣山椒魚、白姑大山的南湖山椒魚。 7. 無法顯示是否雜交，只能說有共同祖先，在成種過程中難免互相會有基因滲入，雖有某些對偶基因型式一樣，但整體來說遺傳距離還是與其他種不同。 8. 感謝老師的建議，團隊會再檢視是否有吻肛長資料。 9. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。 10. 期末報告時會依照建議以物種別呈現調查相片。 11. 表 3-6 內臟係指獵物之內臟，無法辨識來源的獵物種類。會予以修正。 12. 活動觀察採用 5 分鐘記錄 1 次，記錄時間由 5 秒至 15 秒，觀察到所有觀霧山椒魚皆快速爬

	<p>12. 觀霧山椒魚活動態式(pattern)顯示為夜行性，那麼在圈養箱中這段時間都在做什麼？</p>	<p>行，也曾記錄其短暫的捕食行為，推估與餵食有關，因放置食物後明顯活動頻度增加。</p>
<p>涂堅委員</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 建議朱老師第 5 次期中報告先針對第 5 次期中報告的工作項目先做出達成工作項目的摘要說明，以利委員審查第 5 次是否達評估指標。再將此次資料與前面 4 次報告資料彙整做整合性報告。 2. P.62 表 3-1 縱向數量總合為 48，但橫向數量總合為 46，其中阿里山森林遊樂區數量為 14，但阿里山山椒魚該欄數量為 12，是否有誤。 3. P.84 表 4-1 以微型核磁造影鑑別山椒魚的性別，發現有 8 隻觀霧山椒魚無法辨別性別，其可能原因及未來如何克服。 4. P.78 最後一段描述觀察到部分雄性個體，前年與當年精巢型態差異甚鉅現象，可能為溫度、光照或自然現象，請說明未來實驗設計如何控制光照及溫度，以解答上述原因(光照、溫度、營養、水流因素均請考慮)。 5. P.79-83 有關利用電腦斷層掃描建立山椒魚骨骼型態，用以分析鑑別山椒魚，但大部分骨骼型態受生長階段或個體差異影響，研究 4 年多老師認為未來哪些骨骼型態可做為種或族群尺度的分類。另外，如果需要麻醉、電腦斷層掃描、及運用軟體更精密測量才能達成區分，實際研究上的方便性如何。 6. P.104 圈養環境下山椒魚活動周期觀察，該段第 4 行尾「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點後開始活動...」，是否應為「阿里山山椒魚」才對。 7. P.127(3)基因註解，該段最後一句「站全部...」應為「佔全部」之誤。 8. P.129 最後一段結論微衛星螢光標記於分派核定，可明顯區分五種不同的山椒魚，是否意味爾後鑑別種類可用本法，不須依賴骨骼型態之區別。 9. 有關水中敵害絲狀真菌，請確認是受精卵死掉(中止)才感染或健康發育受精卵受感染才造成死亡(中止)，因卵囊本身外膜具有保護 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 期末報告時會依照建議列明各項工作項目的檢核表以利呈現執行成果。 2. 經確認表 3-2 阿里山森林遊樂區數量應為 12，誤植成 14，將於期末報告書面進行修正。 3. 觀霧山椒魚體型較其他山椒魚為小，且非繁殖季生殖腺發育小，即使使用微型 mMRI 也無法得到較清晰影像。克服方法為將微型 MRI 解析度調高(長時間影像細切)與儘量在繁殖季期間造影。 4. 學校的 mMRI 或 CT 等儀器皆須預約，因此之前曾有山椒魚採集後在實驗室飼養 1 至 2 個月後才能使用儀器進行實驗，因此目前無法確定相同季節在圈養環境中因食物、光照、溫度或緊迫等因素，而影響其生殖狀況，未來若要避免此狀況，將採用先預約相關儀器後再至野外進行樣本採集，下山後立即進行實驗，可降低人為飼養環境影響；另外有國外文獻提及山椒魚約兩年繁殖一次，所以非繁殖年的山椒魚生殖腺可能也不像繁殖年的明顯。 5. 骨骼鑑別部分，當初假設可利用 CT 照射骨骼進行種類區分，後與本校蔡政修老師討論，其認為若要以骨骼鑑種應在不同「科」的層級較為容易，目前臺灣 5 種山椒魚同屬不同種，要依靠骨骼區分有其難度；目前需經由麻醉、電腦斷層掃描等方式才能區分，其方便性確實較低，也曾嘗試野外強光照射、超音波等方式都有其困難度，若要進行圈養繁殖相關實驗，性別鑑定有其重要性，因此建立此 SOP 仍有其重要性。 6. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。 7. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。 8. 用染色體進行遺傳鑑別最為客觀，若以 15 個微衛星標記，代表只以 15 個基因座進行親屬關係或譜系關係研究，若以骨骼或形態上標誌，其屬於多基因遺傳性狀，其涉及的基因數較多，性狀表現反應多個基因作用的結果。所以單以

	<p>物質不會發黴(因果關係)，真菌為水中常在菌，並非病原菌。</p>	<p>15 個微衛星標記來看仍有偏差(bias)，當選擇的微衛星受到天擇或環境影響，非屬中性標記，則不適合進行演化分析，因此微衛星標記仍有其侷限，不過以目前的微衛星實驗結果確實可運用於鑑種，可利用微衛星標記及 cytochrome b 寫出臺灣 5 種山椒魚的物種遺傳鑑別程序。</p> <p>9. 本試驗受黴菌感染的卵，應該是沒有受精的受精卵。因為沒看到這兩顆卵有發育到初期發育圓孔期，所以因為沒發育，才會被黴菌感染。</p>
<p>玉山國家公園管理處 李毓芬 技士</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. P11-13 目標部分，「玉山」建議可改為「玉山及周邊地區」(P.25 即是如此)，因為有部分地區係非玉山國家公園園區範圍，如北大武、雙龍林道等。 2. 研究目前似尚無發現阿里山山椒魚繁殖情形，關於圈養箱山椒魚後續規劃如何，建請於期末報告中提出建議。另如去年與今年降雨量差異，在調查上是否有觀察到對山椒魚的影響或差異，特別是在 2-6 月繁殖季期間。 3. 內文 P.103 塔塔加管理站，誤植為塔塔加工作站，建請修改。 4. 部分錯誤或誤植處，建請修改： 5. P.20「但過去至今。」是否有漏句請再確認。 6. P.23「以及成體的骨骼....的比較(Vassilieva et. al.,2005)，2008 年在台...」是否有漏句請再確認。 7. P.24、P.30 空白頁建議可刪除。 8. P.103 笠年，應為翌年。 9. P.104 圈養環境下的山椒魚活動周期觀察，第 4 行「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點...」應為阿里山山椒魚，誤植為觀霧山椒魚。 10. P.105 第 1 行「兩從卵」是否為「兩叢卵」，第 4 行「觀察 2021 年 12 月 27 於圈養蝦...」應為「觀察 2021 年 12 月 27 日於圈養箱...」。 11. P.113「發育第第 50 天」應有重複字。 12. P.114 第 1 行「連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年...」應有重複字。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。 2. 阿里山山椒魚野外分布範圍與海拔落差最廣，且野外數量也最多，惟目前只在玉山圓峰發現其卵串，推估阿里山山椒魚可能產卵於地底伏流，目前的繁養殖箱也是朝此環境設置，但不確定繁養殖箱設置於管理站洗衣間且頻繁觀察是否對其造成干擾而影響繁殖。本研究團隊預計於今年 12 月再次前往玉山神木林道、玉山林道及阿里山森林遊樂區進行野外調查，期待能找到野外卵串並紀錄其環境狀態與相關參數，再檢視調整阿里山山椒魚的繁養殖缸。
<p>太魯閣國家公</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本案依契約該執行的各項工作，目前均有達成相關目標。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 中央尖山附近的環境主要為冷杉林及鐵杉林，海拔也比圈谷低，大約 2,500 至 2,900 公尺，森

<p>園管理處陳敬儒技士</p>	<p>2. 另外依照南湖山椒魚分布圖中，可以了解尚有一族群位在中央尖山附近，請問此附近的生態環境是否良好，是否有人為干擾，建議請再補充。</p> <p>3. 本園區內目前受脅等級最高的物種南湖山椒魚，從本次研究報告中可以了解南湖山椒魚不同型態(水棲及陸棲)生存的壓力及威脅，未來本處尚有後續 2 年期計畫持續進行監測及人為干擾的影響，以目前本報告之研究基礎，未來是否將針對不同型態進行不同監測及不同經營管理的建議。</p>	<p>林樹木高大鬱閉，林下光線較少，目前發現的地點皆不在步道上，須鑽進森林中，因此受人類干擾頻度較低，歷次調查皆可穩定發現蹤跡。</p> <p>2. 水棲狀態下營養來源主要為卵黃囊，快要上岸時可能才需要攝食，主要的威脅為其他無脊椎動物獵食及水質，若水質不好容易受真菌及黴菌感染；將於期末報告補充水棲及陸棲環境中生存的壓力及威脅。</p> <p>3. 未來會考慮不同型態棲地進行影響山椒魚生活史不同參數的監測。</p>
<p>本處解說教育課張美瓊課長</p>	<p>1. P.9 第二段：根據呂光陽老師團隊...，名字誤植，應為：呂光洋。</p> <p>2. P.23 第二段：在山椒魚的生活史中，尤其是對生殖生態學的了解，...文字誤植，應為：生殖生態學。</p> <p>3. P.58 (3)畢祿林道山三種椒魚的胃內容物...，係誤植，應為：畢祿林道三種山椒魚的胃內容物。</p> <p>4. P.111 第一段第三行：本研究於 2020 年進行了合歡山區楚南及臺灣山椒魚胚胎...，漏字(氏)，應為：合歡山區楚南氏及臺灣山椒魚...。</p> <p>5. P.113 第四段：本研究於 2020 年 5 月 5 日(發育第第 50 天...，多了一個「第」字...。</p> <p>6. P.114 第一段：本年度(20221)年在合歡山進行山椒魚繁殖地調查發現，連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年楚南氏山椒魚會在同一地點產卵。數字誤植，應為(2022)...。同一段落的最後文字，...連續兩連續三年...，語意不清，是二年還是三年，請檢視。</p>	<p>1. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。</p>
<p>本處保育研究課于淑芬課長</p>	<p>1. 報告中提及觀霧山椒魚發現會吃幼體，請教其他種類山椒魚或是國外文獻是否也有類似現象。</p>	<p>1. 小山椒魚孵化後兩周仍可於繁養殖缸見到許多小山椒魚活動，原本與特生中心林春富研究員認為親代有護幼等照顧小山椒魚的行為，應該不會獵食子代；且根據文獻，小鮎屬的山椒魚產卵可分為兩種，靜水域會產下較多卵粒，流水域則產下較少卵粒，而目前只有靜水域的種類曾被紀錄會獵食子代；但</p>

		<p>小山椒魚孵化 4 週後，開始觀察到親代挖洞的現象，且後續發現小山椒魚數量減少且親代的肚子飽滿，原本要透過 mMRI 確認其胃內容物，因來不及預約改採行催吐方式，催吐後發現疑似小山椒魚殘塊。</p>
<p>本處保育研究課董于瑄 技士</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. p.25 「雪霸國家公園總面積達 76,850 公頃，…」，請依雪霸國家公園計畫第 3 次通盤檢討面積修正為 76,547.08 公頃。 2. p.46 圖 1-13 雪霸國家公園山椒魚分布圖，圖中的圖說部分建請比照玉山及太魯閣採用中文方式呈現。 3. p.56 食性與排遺樣本數據只統計至 2021 年 9 月 26 日，請補充後續至本次期中報告期間收集的樣本數目，並說明尚未分析的樣本後續相關分析規劃或有其他因素而無法分析。 4. p.75 圖 3-2 臺灣產山椒魚胃內容物獵物數量組成，其中節肢動物門包含昆蟲綱、倍足綱...等，圖示是否研議改為「其他節肢動物(未能鑑定至綱)」等文字說明。 5. p.105 對於觀霧山椒魚產下兩叢卵的描述有誤，請再修正。 6. p.137 第四章結論與建議處，目前只有看到各項工作進度與初步成果，未見相關建議事項，務必於期末報告提出相關建議。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 相關文字錯漏、圖說部分將遵照辦理修正。 2. 去年跟今年特生中心林春富研究員團隊投入大量時間執行海蟾蜍移除及豎琴蛙研究，所以食性樣本分析進度較為緩慢，目前臺大昆蟲系蕭旭峰主任研究團隊也有 2 名碩博士生可進行高海拔昆蟲相研究，因此若特生中心時間上無法配合，或許今年將考慮轉請臺大團隊協助鑑定分析，會在期末報告補充完整的分析。 3. 將於期末報告補充本計畫相關建議事項。

附件十二、第五次審查會議紀錄

電子公文

校級公文 111/07/25



1110056490

檔 號：
保存年限：

雪霸國家公園管理處 函

地址：36443 苗栗縣大湖鄉富興村水尾坪100號
聯絡人：董子煌
聯絡電話：037-996100-#702
電子郵件：tung@spnp.gov.tw
傳真：037-996302

受文者：國立臺灣大學

發文日期：中華民國111年7月25日
發文字號：營雪保字第1111004550號
類別：普通件
密等及解密條件或保密期限：
附件：如主旨

主旨：檢送本處「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」第5次報告審查會議紀錄1份，請查照。

說明：

- 一、依據本處111年7月1日營雪保字第1110002248號開會通知單續辦。
- 二、請受託廠商依照會議結論事項修正，並將意見回復對照表及第6期款領據函送本處，俾憑辦理撥款事宜。

正本：國立臺灣大學、國立臺灣師範大學呂委員光洋、涂委員堅、玉山國家公園管理處、太魯閣國家公園管理處、本處處長室、副處長室、秘書、企劃經理課、遊憩服務課、解說教育課、觀霧管理站、保育研究課

副本：國立臺灣大學朱有田教授(含附件)

111/07/25
電 11:30:36

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」
第 5 次報告審查會議紀錄

壹、會議時間：111 年 7 月 14 日(星期四)上午 10 時

貳、會議地點：視訊會議

參、主席：張處長維銓

紀錄：董于瑄技士

肆、出(列)席單位及人員：詳如簽到單

伍、討論事項

一、外聘委員意見：

(一)呂光洋委員

1. 本報告所收集的資料相當多，涵蓋的層面相當廣泛。從臺灣山椒魚的分類、基礎生物學、生態、分布、生物地理、親緣關係、分子遺傳信息、野生動物之衛健、疾病及保育等等，已明顯超過原委託單位的要求項目。
2. 報告中指出由遺傳分子信息的分析結果，顯示這五種山椒魚的演化及分布受臺灣島的山脈及水系的影響甚深。在報告中雖然討論得相當詳細，然組織鬆散，不利閱讀，建議未來可用簡圖或整合的簡表呈現，有關向東水系的族群遺傳分化可多加討論。
3. 根據簡報，於太平山新增觀霧山椒魚的分布地點，是否已確認為觀霧山椒魚？另在明池分布地點為何？
4. 合歡山區兩種山椒魚的繁殖時間比圈養的觀霧和阿里山山椒魚要晚，自孵化變態時間都較長，這應和海拔高度及環境因子之自然波動有關。日本的繁殖時間亦較早，它們是野外還是圈養狀態的資料？
5. 根據報告，在野外及圈養環境皆可觀察到護幼行為，是否知道護幼的成年山椒魚性別？
6. 遺傳標記資訊是否可看出遺傳多樣性？

7. 圖 9-3 是否顯示目前臺灣 5 種山椒魚的雜交情形？
8. 圖 4 系列照片為山椒魚生殖腺發育的追蹤照片，可否加上 SVL(吻肛長)資料，將有助於瞭解 SVL 長度(年齡)和生殖腺發育之關係。
9. 建議統一報告中使用的名詞，例如巨木步道跟檜山步道、地理親緣跟親緣地理等。
10. 表 1 系列為分布及生態調查照片，建議補充物種名。又圖 1-1 至圖 1-10 系列，建議將同種山椒魚的照片集中，以便比對，可呈現出牠們雖同種，但外表差異的生物多樣性特性。
11. 表 3-6 食性分析結果，有「內臟」的資料，如何確定屬於山椒魚？
12. 觀霧山椒魚活動態式(pattern)顯示為夜行性，那麼在圈養箱中這段時間都在做什麼？

(二) 涂堅委員

1. 建議朱老師第 5 次期中報告先針對第 5 次期中報告的工作項目先做出達成工作項目的摘要說明，以利委員審查第 5 次是否達評估指標。再將此次資料與前面 4 次報告資料彙整做整合性報告。
2. P.62 表 3-1 縱向數量總合為 48，但橫向數量總合為 46，其中阿里山森林遊樂區數量為 14，但阿里山山椒魚該欄數量為 12，是否有誤。
3. P.84 表 4-1 以微型核磁造影鑑別山椒魚的性別，發現有 8 隻觀霧山椒魚無法辨別性別，其可能原因及未來如何克服。
4. P.78 最後一段描述觀察到部分雄性個體，前年與當年精巢型態差異甚鉅現象，可能為溫度、光照或自然現象，請說明未來實驗設計如何控制光照及溫度，以解答上述原因(光照、溫度、營養、水流因素均請考慮)。
5. P.79-83 有關利用電腦斷層掃描建立山椒魚骨骼型態，用以分析鑑別山椒魚，但大部分骨骼型態受生長階段或個體差異影響，研究 4 年多老師認為未來哪些骨骼型態可做為種或族群尺度的分類。另外，如果需要麻醉、電腦斷層掃描、及運用軟體更精密測量才能達成區分，實際研究上的方便性如何。

6. P.104 圈養環境下山椒魚活動周期觀察，該段第 4 行尾「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點後開始活動…」，是否應為「阿里山山椒魚」才對。
7. P.127 (3) 基因註解，該段最後一句「站全部…」應為「佔全部」之誤。
8. P.129 最後一段結論微衛星螢光標記於分派核定，可明顯區分五種不同的山椒魚，是否意味爾後鑑別種類可用本法，不須依賴骨骼型態之區別。
9. 有關水中敵害絲狀真菌，請確認是受精卵死掉(中止)才感染或健康發育受精卵受感染才造成死亡(中止)，因卵囊本身外膜具有保護物質不會發黴(因果關係)，真菌為水中常在菌，並非病原菌。

受託單位回應：

1. 去年開始於太平山進行調查，但皆無所獲，今年 6 月終於在太平山記錄到山椒魚分布，目前由形態及粒線體皆判定為觀霧山椒魚；明池分布地點是在 110 林道上大約 1,300 公尺處發現，目前在鴛鴦湖並未發現。
2. 自產卵後皆可觀察到護幼行為，成體山椒魚會出現在卵串的下方，當把內視鏡鏡頭伸入時，還會出現撥動阻止的行為，等到小山椒魚上岸後，親代山椒魚也跟著上岸；圈養環境中出現護幼行為的觀霧山椒魚根據標記是公的，合歡山野外觀察到的臺灣山椒魚公母皆有，但公的較多一些。
3. 可以由遺傳標記資訊看出遺傳多樣性，目前分成很多小組群，若將小組群混合，則可發現遺傳多樣性高；若只看小組群，則核苷酸的多樣性低，因此未來保育策略應著重在保育單位-演化的重要單位，例如雪山西稜的臺灣山椒魚、白姑大山的南湖山椒魚。
4. 無法顯示是否雜交，只能說有共同祖先，在成種過程中難免互相會有基因滲入，雖有某些對偶基因型式一樣，但整體來說遺傳距離還是與其他種不同。
5. 感謝老師的建議，團隊會再檢視是否有吻肛長資料。
6. 此筆記錄係因於圈養環境中發現成體山椒魚會吃小山椒魚，目前已

可進行個體鑑別，未來可進一步分析胃內容物中的皮蛻是自己的皮蛻還是小山椒魚的皮蛻。目前國內外文獻中，產卵數較少的山椒魚物種未見獵食幼體的紀錄，目前尚未確定是否與圈養環境相關；外國文獻中，產卵數較多的山椒魚有獵食同胞，有利個體生存的觀察紀錄。

7. 活動觀察採用 5 分鐘記錄 1 次，記錄時間由 5 秒至 15 秒，觀察到所有觀霧山椒魚皆快速爬行，也曾記錄其短暫的捕食行為，推估與餵食有關，因放置食物後明顯活動頻度增加，後續將進行溫度與活動頻度的相關分析。
8. 期末報告時會依照建議，列明各項工作項目的檢核表，以利呈現本案的執行成果。
9. 表 3-1 將再進行確認及數據補正。
10. 學校的 mMRI 或 CT 等儀器皆須預約，因此之前曾有山椒魚採集後在實驗室飼養 1 至 2 個月後才能使用儀器進行實驗，因此目前無法確定相同季節在圈養環境中因食物、光照、溫度或緊迫等因素，而影響其生殖狀況，未來若要避免此狀況，將採用先預約相關儀器後再至野外進行樣本採集，下山後立即進行實驗，可降低人為飼養環境影響；另外有國外文獻提及山椒魚約兩年繁殖一次，所以非繁殖年的山椒魚生殖腺可能也不像繁殖年的明顯。
11. 骨骼鑑別部分，當初假設可利用 CT 照射骨骼進行種類區分，後與本校蔡政修老師討論，其認為若要以骨骼鑑種應在不同「科」的層級較為容易，目前臺灣 5 種山椒魚同屬不同種，要依靠骨骼區分有其難度；目前需經由麻醉、電腦斷層掃描等方式才能區分，其方便性確實較低，也曾嘗試野外強光照射、超音波等方式都有其困難度，若要進行圈養繁殖相關實驗，性別鑑定有其重要性，因此建立此 SOP 仍有其重要性。
12. 誤植及錯字部分，將遵照辦理修正。
13. 用染色體進行遺傳鑑別最為客觀，若以 15 個微衛星標記，代表只以 15 個基因座進行親屬關係或譜系關係研究，若以骨骼或形態上標誌，

其屬於多效基因移轉，其涉及的基因較多，所以單以 15 個微衛星標記來看仍有偏差(bias)，當選擇的微衛星受到天擇或環境影響，非屬中性標記，則不適合進行演化分析，因此微衛星標記仍有其侷限，不過以目前的微衛星實驗結果確實可運用於鑑種，可利用微衛星標記及 cytochrome b 寫出臺灣 5 種山椒魚的物種遺傳鑑別程序。

二、友處同仁意見：

(一)玉山國家公園管理處李毓苓技士

1. P11-13 目標部分，「玉山」建議可改為「玉山及周邊地區」(P25 即是如此)，因為有部分地區係非玉山國家公園園區範圍，如北大武、雙龍林道等。
2. 研究目前似尚無發現阿里山山椒魚繁殖情形，關於圈養箱山椒魚後續規劃如何，建請於期末報告中提出建議。另如去年與今年降雨量差異，在調查上是否有觀察到對山椒魚的影響或差異，特別是在 2-6 月繁殖季期間。
3. 內文 P.103 塔塔加管理站，誤植為塔塔加工作站，建請修改。
4. 部分錯誤或誤植處，建請修改：
 - (1) P.20 「但過去至今，。」是否有漏句請再確認。
 - (2) P.23 「以及成體的骨骼...的比較(Vassilieva et. al.,2005)，2008 年在台…」是否有漏句請再確認。
 - (3) P.24、P.30 空白頁建議可刪除。
 - (4) P.103 笠年，應為翌年。
 - (5) P.104 圈養環境下的山椒魚活動周期觀察，第 4 行「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點…」應為阿里山山椒魚，誤植為觀霧山椒魚。
 - (6) P.105 第 1 行「兩從卵」是否為「兩叢卵」，第 4 行「觀察 2021 年 12 月 27 於圈養蝦…」應為「觀察 2021 年 12 月 27 日於圈養箱…」。
 - (7) P.113 「發育第第 50 天」應有重複字。
 - (8) P.114 第 1 行「連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年…」應有重複字。

(二)太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

1. 本案依契約該執行的各項工作，目前均有達成相關目標。
2. 另外依照南湖山椒魚分布圖中，可以了解尚有一族群位在中央尖山附近，請問此附近的生態環境是否良好，是否有人為干擾，建議請再補充。
3. 本園區內目前受脅等級最高的物種南湖山椒魚，從本次研究報告中可以了解南湖山椒魚不同型態(水棲及陸棲)生存的壓力及威脅，未來本處尚有後續 2 年期計畫持續進行監測及人為干擾的影響，以目前本報告之研究基礎，未來是否將針對不同型態進行不同監測及不同經營管理的建議。

三、本處同仁意見：

(一)張美瓊課長

1. P.9 第二段：根據呂光陽老師團隊…，名字誤植，應為：呂光洋。
2. P.23 第二段：在山椒魚的生活史中，尤其是對生殖生態學的了解，…文字誤植，應為：生殖生態學。
3. P.58 (3)畢祿林道山三種椒魚的胃內容物…，係誤植，應為：畢祿林道三種山椒魚的胃內容物。
4. P.111 第一段第三行：本研究於 2020 年進行了合歡山區楚南及臺灣山椒魚胚胎…，漏字(氏)，應為：合歡山區楚南氏及臺灣山椒魚…。
5. P.113 第四段：本研究於 2020 年 5 月 5 日 (發育第第 50 天…，多了一個「第」字…。
6. P.114 第一段：本年度(2021)年在合歡山進行山椒魚繁殖地調查發現，連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年楚南氏山椒魚會在同一地點產卵。數字誤植，應為(2022)…。同一段落的最後文字，…連續兩連續三年…，語意不清，是二年還是三年，請檢視。

(二)于淑芬課長

1. 報告中提及觀霧山椒魚發現會吃幼體，請教其他種類山椒魚或是國外文獻是否也有類似現象。

(三) 董于瑄技士

1. p.25 「雪霸國家公園總面積達 76,850 公頃，…」，請依雪霸國家公園計畫第 3 次通盤檢討面積修正為 76,547.08 公頃。
2. p.46 圖 1-13 雪霸國家公園山椒魚分布圖，圖中的圖說部分建請比照玉山及太魯閣採用中文方式呈現。
3. p.56 食性與排遺樣本數據只統計至 2021 年 9 月 26 日，請補充後續至本次期中報告期間收集的樣本數目，並說明尚未分析的樣本後續相關分析規劃或有其他因素而無法分析。
4. p.75 圖 3-2 臺灣產山椒魚胃內容物獵物數量組成，其中節肢動物門包含昆蟲綱、倍足綱…等，圖示是否研議改為「其他節肢動物(未能鑑定至綱)」等文字說明。
5. p.105 對於觀霧山椒魚產下兩叢卵的描述有誤，請再修正。
6. p.137 第四章結論與建議處，目前只有看到各項工作進度與初步成果，未見相關建議事項，務必於期末報告提出相關建議。

受託單位回應

1. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。
2. 阿里山山椒魚野外分布範圍與海拔落差最廣，且野外數量也最多，惟目前只在玉山圓峰發現其卵串，推估阿里山山椒魚可能產卵於地底伏流，目前的繁養殖箱也是朝此環境設置，但不確定繁養殖箱設置於管理站洗衣間且頻繁觀察是否對其造成干擾而影響繁殖。本研究團隊預計於今年 12 月再次前往玉山神木林道、玉山林道及阿里山森林遊樂區進行野外調查，期待能找到野外卵串並紀錄其環境狀態與相關參數，再檢視調整阿里山山椒魚的繁養殖缸。
3. 今年曾於大雨後進行觀霧或合歡山野外調查，但調查成果反而不佳，推估仍有其他因素影響山椒魚被察覺的比例，但以季節來說，春季(4-6 月)仍明顯比其他季節容易發現山椒魚。
4. 網站架設是另外請人負責，基本內容架構已完成，後續將請雪管處協助確認相關銜接技術(例如：營建署伺服器架設處等)。

5. 中央尖山附近的環境主要為冷杉林及鐵杉林，海拔也比園谷低，大約 2,500 至 2,900 公尺，森林樹木高大鬱閉，林下光線較少，目前發現的地點皆不在步道上，須鑽進森林中，因此受人類干擾頻度較低，歷次調查皆可穩定發現蹤跡。
6. 水棲狀態下營養來源主要為卵黃囊，快要上岸時可能才需要攝食(之前實驗室採用豐年蝦)，主要的威脅為其他無脊椎動物獵食及水質，若水質不好容易受真菌及黴菌感染；將於期末報告補充水棲及陸棲環境中生存的壓力及威脅。
7. 小山椒魚孵化後兩周仍可於繁養殖缸見到許多小山椒魚活動，原本與特生中心林春富研究員認為親代有護幼等照顧小山椒魚的行為，應該不會獵食子代；且根據文獻，小鮎屬的山椒魚產卵可分為兩種，靜水域會產下較多卵粒，流水域則產下較少卵粒，而目前只有靜水域的種類曾被紀錄會獵食子代；但小山椒魚孵化 4 週後，開始觀察到親代挖洞的現象，且後續發現小山椒魚數量減少且親代的肚子飽滿，原本要透過 mMRI 確認其胃內容物，因來不及預約改採行催吐方式，催吐後發現疑似小山椒魚殘塊。
8. 去年跟今年特生中心林春富研究員團隊投入大量時間執行海蟾蜍移除及豎琴蛙研究，所以食性樣本分析進度較為緩慢，目前臺大昆蟲系蕭旭峰主任研究團隊也有 2 名碩博士生可進行高海拔昆蟲相研究，因此若特生中心時間上無法配合，或許今年將考慮轉請臺大團隊協助鑑定分析，會在期末報告補充完整的分析。
9. 將於期末報告補充本計畫相關建議事項。

陸、結論

本次報告符合契約規範，原則同意通過審查。請依審查委員及與會人員所提供之意見修正及納入後續計畫參考，請將修正意見及回覆情形之對照表回覆本處，並依契約規定辦理後續相關事宜。

柒、散會：上午 11 時 55 分。

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學
調查」

第 5 次報告審查視訊會議簽到單

壹、會議時間：111 年 7 月 14 日（星期四）上午 10 時

貳、會議地點：線上視訊

參、主席：張處長維銓

紀錄：董于瑄 技士

肆、出席單位及人員：

審 查 老 師	審 查 方 式
呂光洋委員	視訊參加
涂堅委員	視訊參加

其 他 單 位	視 訊 參 加 人 員
玉山國家公園管理處	李毓芬技士
太魯閣國家公園管理處	陳敬儒技士

受 託 單 位	視 訊 參 加 人 員
國立臺灣大學	朱有田老師 鄭勝文 陳柔安 林祐竹 游佩儒

本處各單位

單 位	視 訊 參 加 人 員
副 處 長	陳俊山副處長
秘 書	邱滄明秘書
企 劃 經 理 課	楊國華課長
解 說 教 育 課	張美瓊課長
遊 憩 服 務 課	謝銘銓課長
保 育 研 究 課	于淑芬課長
觀 霧 管 理 站	陳家鴻技士

附件十三、第五次審查會議意見處理情形

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」

第 5 次報告審查會議委員意見回覆表

壹、開會日期：111 年 7 月 14 日(星期四)上午 10 時

貳、開會地點：視訊會議

參、主持人：張處長維銓

紀錄：董于瑄技士

肆、出席單位人員：詳如簽到單

伍、討論事項

委員	委員審查意見	回覆
呂光洋委員	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本報告所收集的資料相當多，涵蓋的層面相當廣泛。從臺灣山椒魚的分類、基礎生物學、生態、分布、生物地理、親緣關係、分子遺傳信息、野生動物之衛健、疾病及保育等等，已明顯超過原委託單位的要求項目。 2. 報告中指出由遺傳分子信息的分析結果，顯示這五種山椒魚的演化及分布受臺灣島的山脈及水系的影響甚深。在報告中雖然討論得相當詳細，然組織鬆散，不利閱讀，建議未來可用簡圖或整合的簡表呈現，有關向東水系的族群遺傳分化可多加討論。 3. 根據簡報，於太平山新增觀霧山椒魚的分布地點，是否已確認為觀霧山椒魚？另在明池分布地點為何？ 4. 合歡山區兩種山椒魚的繁殖時間比圈養的觀霧和阿里山山椒魚要晚，自孵化變態時間都較長，這應和海拔高度及環境因子之自然波動有關。日本的繁殖時間亦較早，它們是野外還是圈養狀態的資料？ 5. 根據報告，在野外及圈養環境皆可觀察 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 謝謝老師的鼓勵!團隊會更努力。 2. 目前發現有分布於向東水系的山椒魚有觀霧、楚南氏與阿里山山椒魚，其完整族群遺傳結構將會在於期末報告書詳細討論。 3. 團隊 2021 年開始於太平山進行調查但皆無所獲，2022 年 6 月終於在太平山記錄到山椒魚分布，目前由形態及粒線體皆判定為觀霧山椒魚。明池分布地點在 110 林道上大約 1,300 公尺處發現，目前在鴛鴦湖僅有前人紀錄之調查資料。 4. 日本山椒魚繁殖資料野外與圈養皆有，會在期末報告描述。 5. 圈養環境中出現護幼行為的觀霧山椒魚根據標記是公的。合歡山野外觀察到的臺灣山椒魚公母皆有，但由外觀判斷公的較多一些。 6. 可以由經分析的遺傳標記資訊看出族群遺傳多樣性。目前分成很多小族群，若將小族群混合，則可發現遺傳多樣性高；若只看小組群，則核苷酸的多樣性低，因此未來保育策略應著

	<p>到護幼行為，是否知道護幼的成年山椒魚性別？</p> <p>6. 遺傳標記資訊是否可看出遺傳多樣性？</p> <p>7. 圖 9-3 是否顯示目前臺灣 5 種山椒魚的雜交情形？</p> <p>8. 圖 4 系列照片為山椒魚生殖腺發育的追蹤照片，可否加上 SVL(吻肛長)資料，將有助於瞭解 SVL 長度(年齡)和生殖腺發育之關係。</p> <p>9. 建議統一報告中使用的名詞，例如巨木步道跟檜山步道、地理親緣跟親緣地理等。</p> <p>10. 表 1 系列為分布及生態調查照片，建議補充物種名。又圖 1-1 至圖 1-10 系列，建議將同種山椒魚的照片集中，以便比對，可呈現出牠們雖同種，但外表差異的生物多樣性特性。</p> <p>11. 表 3-6 食性分析結果，有「內臟」的資料，如何確定屬於山椒魚？</p> <p>12. 觀霧山椒魚活動態式(pattern)顯示為夜行性，那麼在圈養箱中這段時間都在做什麼？</p>	<p>重在保育演化的重要單位，例如雪山西稜的臺灣山椒魚、白姑大山的南湖山椒魚。</p> <p>7. 無法顯示是否雜交，只能說有共同祖先，在成種過程中難免互相會有基因滲入，雖有某些對偶基因型式一樣，但整體來說遺傳距離還是與其他種不同。</p> <p>8. 感謝老師的建議，團隊會再檢視是否有吻肛長資料。</p> <p>9. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。</p> <p>10. 期末報告時會依照建議以物種別呈現調查相片。</p> <p>11. 表 3-6 內臟係指獵物之內臟，無法辨識來源的獵物種類。會予以修正。</p> <p>12. 活動觀察採用 5 分鐘記錄 1 次，記錄時間由 5 秒至 15 秒，觀察到所有觀霧山椒魚皆快速爬行，也曾記錄其短暫的捕食行為，推估與餵食有關，因放置食物後明顯活動頻度增加。</p>
<p>涂堅委員</p>	<p>1. 建議朱老師第 5 次期中報告先針對第 5 次期中報告的工作項目先做出達成工作項目的摘要說明，以利委員審查第 5 次是否達評估指標。再將此次資料與前面 4 次報告資料彙整做整合性報告。</p> <p>2. P.62 表 3-1 縱向數量總合為 48，但橫向數量總合為 46，其中阿里山森林遊樂區數量為 14，但阿里山山椒魚該欄數量為 12，是否有誤。</p> <p>3. P.84 表 4-1 以微型核磁造影鑑別山椒魚的性別，發現有 8 隻觀霧山椒魚無法辨別性別，其可能原因及未來如何克服。</p> <p>4. P.78 最後一段描述觀察到部分雄性個</p>	<p>1. 期末報告時會依照建議列明各項工作項目的檢核表以利呈現執行成果。</p> <p>2. 經確認表 3-2 阿里山森林遊樂區數量應為 12，誤植成 14，將於期末報告書面進行修正。</p> <p>3. 觀霧山椒魚體型較其他山椒魚為小，且非繁殖季生殖腺發育小，即使使用微型 mMRI 也無法得到較清晰影像。克服方法為將微型 MRI 解析度調高(長時間影像細切)與儘量在繁殖季期間造影。</p> <p>4. 學校的 mMRI 或 CT 等儀器皆須預約，因此之前曾有山椒魚採集後在實驗室飼養 1 至 2 個月後才能使用儀器進行實驗，因此目前無法確定相同季節在圈養環境中因食物、光照、溫度或緊迫等</p>

<p>體，前年與當年精巢型態差異甚鉅現象，可能為溫度、光照或自然現象，請說明未來實驗設計如何控制光照及溫度，以解答上述原因(光照、溫度、營養、水流因素均請考慮)。</p> <p>5. P.79-83 有關利用電腦斷層掃描建立山椒魚骨骼型態，用以分析鑑別山椒魚，但大部分骨骼型態受生長階段或個體差異影響，研究 4 年多老師認為未來哪些骨骼型態可做為種或族群尺度的分類。另外，如果需要麻醉、電腦斷層掃描、及運用軟體更精密測量才能達成區分，實際研究上的方便性如何。</p> <p>6. P.104 圈養環境下山椒魚活動周期觀察，該段第 4 行尾「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點後開始活動...」，是否應為「阿里山山椒魚」才對。</p> <p>7. P.127 (3)基因註解，該段最後一句「站全部...」應為「佔全部」之誤。</p> <p>8. P.129 最後一段結論微衛星螢光標記於分派核定，可明顯區分五種不同的山椒魚，是否意味爾後鑑別種類可用本法，不須依賴骨骼型態之區別。</p> <p>9. 有關水中敵害絲狀真菌，請確認是受精卵死掉(中止)才感染或健康發育受精卵受感染才造成死亡(中止)，因卵囊本身外膜具有保護物質不會發黴(因果關係)，真菌為水中常在菌，並非病原菌。</p>	<p>因素，而影響其生殖狀況，未來若要避免此狀況，將採用先預約相關儀器後再至野外進行樣本採集，下山後立即進行實驗，可降低人為飼養環境影響；另外有國外文獻提及山椒魚約兩年繁殖一次，所以非繁殖年的山椒魚生殖腺可能也不像繁殖年的明顯。</p> <p>5. 骨骼鑑別部分，當初假設可利用 CT 照射骨骼進行種類區分，後與本校蔡政修老師討論，其認為若要以骨骼鑑種應在不同「科」的層級較為容易，目前臺灣 5 種山椒魚同屬不同種，要依靠骨骼區分有其難度；目前需經由麻醉、電腦斷層掃描等方式才能區分，其方便性確實較低，也曾嘗試野外強光照射、超音波等方式都有其困難度，若要進行圈養繁殖相關實驗，性別鑑定有其重要性，因此建立此 SOP 仍有其重要性。</p> <p>6. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。</p> <p>7. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。</p> <p>8. 用染色體進行遺傳鑑別最為客觀，若以 15 個微衛星標記，代表只以 15 個基因座進行親屬關係或譜系關係研究，若以骨骼或形態上標誌，其屬於多基因遺傳性狀，其涉及的基因數較多，性狀表現反應多個基因作用的結果。所以單以 15 個微衛星標記來看仍有偏差(bias)，當選擇的微衛星受到天擇或環境影響，非屬中性標記，則不適合進行演化分析，因此微衛星標記仍有其侷限，不過以目前的微衛星實驗結果確實可運用於鑑種，可利用微衛星標記及 cytochrome b 寫出臺灣 5 種山椒魚的物種遺傳鑑別程序。</p> <p>9. 本試驗受黴菌感染的卵，應該是沒有受精的受精卵。因為沒看到這兩顆卵有發育到初期發育圓孔期，所以因為沒發育，才會被黴菌感染。</p>
--	--

<p>玉山國家公園管理處李毓苓技士</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. P11-13 目標部分，「玉山」建議可改為「玉山及周邊地區」(P.25 即是如此)，因為有部分地區係非玉山國家公園園區範圍，如北大武、雙龍林道等。 2. 研究目前似尚無發現阿里山山椒魚繁殖情形，關於圈養箱山椒魚後續規劃如何，建請於期末報告中提出建議。另如去年與今年降雨量差異，在調查上是否有觀察到對山椒魚的影響或差異，特別是在 2-6 月繁殖季期間。 3. 內文 P.103 塔塔加管理站，誤植為塔塔加工作站，建請修改。 4. 部分錯誤或誤植處，建請修改： <ol style="list-style-type: none"> (1) P.20 「但過去至今，。」是否有漏句請再確認。 (2) P.23 「以及成體的骨骼....的比較 (Vassilieva et. al.,2005)，2008 年在台...」是否有漏句請再確認。 (3) P.24、P.30 空白頁建議可刪除。 (4) P.103 笠年，應為翌年。 (5) P.104 圈養環境下的山椒魚活動周期觀察，第 4 行「資料顯示觀霧山椒魚於 17 點...」應為阿里山山椒魚，誤植為觀霧山椒魚。 (6) P.105 第 1 行「兩從卵」是否為「兩叢卵」，第 4 行「觀察 2021 年 12 月 27 於圈養蝦...」應為「觀察 2021 年 12 月 27 日於圈養箱...」。 (7) P.113「發育第第 50 天」應有重複字。 (8) P.114 第 1 行「連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年...」應有重複字。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。 2. 阿里山山椒魚野外分布範圍與海拔落差最廣，且野外數量也最多，惟目前只在玉山圓峰發現其卵串，推估阿里山山椒魚可能產卵於地底伏流，目前的繁養殖箱也是朝向此環境設置，但不確定繁養殖箱設置於管理站洗衣間且頻繁觀察是否對其造成干擾而影響繁殖。本研究團隊預計於今年 12 月再次前往玉山神木林道、玉山林道及阿里山森林遊樂區進行野外調查，期待能找到野外卵串並紀錄其環境狀態與相關參數，再檢視調整阿里山山椒魚的繁養殖缸。
<p>太魯閣國家公園管理處陳敬儒技</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本案依契約該執行的各項工作，目前均有達成相關目標。 2. 另外依照南湖山椒魚分布圖中，可以了解尚有一族群位在中央尖山附近，請問此附近的生態環境是否良好，是否有人為干擾，建議請再補充。 3. 本園區內目前受脅等級最高的物種南 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 中央尖山附近的環境主要為冷杉林及鐵杉林，海拔也比圈谷低，大約 2,500 至 2,900 公尺，森林樹木高大鬱閉，林下光線較少，目前發現的地點皆不在步道上，須鑽進森林中，因此受人類干擾頻度較低，歷次調查皆可穩定發現蹤跡。 2. 水棲狀態下營養來源主要為卵黃囊，快

<p>士</p>	<p>湖山椒魚，從本次研究報告中可以了解南湖山椒魚不同型態(水棲及陸棲)生存的壓力及威脅，未來本處尚有後續 2 年期計畫持續進行監測及人為干擾的影響，以目前本報告之研究基礎，未來是否將針對不同型態進行不同監測及不同經營管理的建議。</p>	<p>要上岸時可能才需要攝食，主要的威脅為其他無脊椎動物獵食及水質，若水質不好容易受真菌及黴菌感染；將於期末報告補充水棲及陸棲環境中生存的壓力及威脅。</p> <p>3. 未來會考慮不同型態棲地進行影響山椒魚生活史不同參數的監測。</p>
<p>本處解說教育課張美瓊課長</p>	<p>1. P.9 第二段：根據呂光陽老師團隊...，名字誤植，應為：呂光洋。</p> <p>2. P.23 第二段：在山椒魚的生活史中，尤其是對生殖生態學的了解，...文字誤植，應為：生殖生態學。</p> <p>3. P.58 (3)畢祿林道山三種椒魚的胃內容物...，係誤植，應為：畢祿林道三種山椒魚的胃內容物。</p> <p>4. P.111 第一段第三行：本研究於 2020 年進行了合歡山區楚南及臺灣山椒魚胚胎...，漏字(氏)，應為：合歡山區楚南氏及臺灣山椒魚...。</p> <p>5. P.113 第四段：本研究於 2020 年 5 月 5 日(發育第第 50 天...，多了一個「第」字...。</p> <p>6. P.114 第一段：本年度(20221)年在合歡山進行山椒魚繁殖地調查發現，連續兩連續三年臺灣山椒魚與連續兩年楚南氏山椒魚會在同一地點產卵。數字誤植，應為(2022)...。同一段落的最後文字，...連續兩連續三年...，語意不清，是二年還是三年，請檢視。</p>	<p>1. 相關文字錯漏部分將遵照辦理修正。</p>
<p>本處保育研究課于淑芬課長</p>	<p>1. 報告中提及觀霧山椒魚發現會吃幼體，請教其他種類山椒魚或是國外文獻是否也有類似現象。</p>	<p>1. 小山椒魚孵化後兩周仍可於繁養殖缸見到許多小山椒魚活動，原本與特生中心林春富研究員認為親代有護幼等照顧小山椒魚的行為，應該不會獵食子代；且根據文獻，小鮡屬的山椒魚產卵可分為兩種，靜水域會產下較多卵粒，流水域則產下較少卵粒，而目前只有靜水域的種類曾被紀錄會獵食子代；但小山椒魚孵化 4 週後，開始</p>

		<p>觀察到親代挖洞的現象，且後續發現小山椒魚數量減少且親代的肚子飽滿，原本要透過 mMRI 確認其胃內容物，因來不及預約改採用催吐方式，催吐後發現疑似小山椒魚殘塊。</p>
<p>本處保育研究課董于瑄技士</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. p.25「雪霸國家公園總面積達 76,850 公頃，...」，請依雪霸國家公園計畫第 3 次通盤檢討面積修正為 76,547.08 公頃。 2. p.46 圖 1-13 雪霸國家公園山椒魚分布圖，圖中的圖說部分建請比照玉山及太魯閣採用中文方式呈現。 3. p.56 食性與排遺樣本數據只統計至 2021 年 9 月 26 日，請補充後續至本期中報告期間收集的樣本數目，並說明尚未分析的樣本後續相關分析規劃或有其他因素而無法分析。 4. p.75 圖 3-2 臺灣產山椒魚胃內容物獵物數量組成，其中節肢動物門包含昆蟲綱、倍足綱...等，圖示是否研議改為「其他節肢動物(未能鑑定至綱)」等文字說明。 5. p.105 對於觀霧山椒魚產下兩叢卵的描述有誤，請再修正。 6. p.137 第四章結論與建議處，目前只有看到各項工作進度與初步成果，未見相關建議事項，務必於期末報告提出相關建議。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 相關文字錯漏、圖說部分將遵照辦理修正。 2. 去年跟今年特生中心林春富研究員團隊投入大量時間執行海蟾蜍移除及豎琴蛙研究，所以食性樣本分析進度較為緩慢，目前臺大昆蟲系蕭旭峰主任研究團隊也有 2 名碩博士生可進行高海拔昆蟲相研究，因此若特生中心時間上無法配合，或許今年將考慮轉請臺大團隊協助鑑定分析，會在期末報告補充完整的分析。 3. 將於期末報告補充本計畫相關建議事項。

附件十四、山椒魚生態解說網站視覺化演示版本

山椒魚生態解說網站 視覺化演示版本

山椒魚？

我們常使用蠵螺 (salamander) 一詞來統稱有尾目兩生類動物。山椒魚也屬於有尾目兩生類動物，牠們是有尾目隱鯢綱亞目動物的總稱，該亞目絕大部分的物種都分布於東亞地區，行體外受精，是有尾目兩生類演化過程中最為原始的類群。

臺灣的山椒魚被分類於有尾目隱鯢綱亞目之下的小鯢科 (Hynobiidae) 小鯢屬 (Hynobius)。因此，臺灣的山椒魚也可稱作臺灣的小鯢。

根據化石與DNA 的證據，小鯢科起源於白堊紀，也就是恐龍時代，是兩生類中一個相當古老的類群。

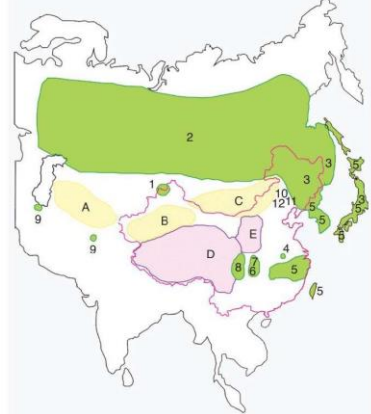


起源

山椒魚是從哪裡蹦出來的呢？

小鯢科約在1億1千萬年前起源於亞洲的北部，而小鯢屬最早起源於日本。臺灣的山椒魚與日本的山椒魚親緣關係最近，也就是說臺灣的山椒魚是最早從祖先群分歧出來的類群，推測臺灣的山椒魚祖先出現在始新世晚期或漸新世早期，由日本的山椒魚經由陸橋播遷到臺灣。

因此，臺灣的山椒魚在現今的小鯢屬裡亦屬較古老的種。



冰河子遺的子民

冰河時期海平面下降，臺灣與歐亞大陸間形成陸橋，臺灣的河流與大陸河流有機會在陸橋匯集，於是許多溫帶的兩生類動物與陸地動物藉由陸橋與河流來到臺灣。當冰河退去，氣溫升高，這些溫帶的動物開始北遷，有些動物則選擇在環境溫度較低的高山頂端遷徙，最終被侷限在高山的天空島嶼，前後部在漫長嚴苛的環境適應與選擇淘汰，發展出獨特多樣的種屬與族群，臺灣的山椒魚就是最具代表性的冰河子遺動物之一。

這些來自溫帶的蟾蜍，在臺灣獨特的高山環境存活，加上經歷多次冰期與間冰期的循環，孕育出五種獨特且外表迥異的山椒魚。至於帶的臺灣，住著來自溫帶的山椒魚，讓我們有機會透過研究，了解臺灣原生山椒魚的過去與現在。

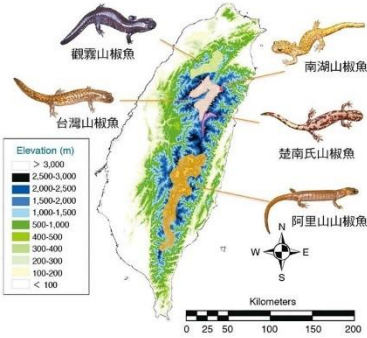


山椒魚的分布地圖

臺灣五種山椒魚的棲息地都在海拔1,300公尺至3,800公尺山區的溪流源頭。每種山椒魚海拔分布不同，棲地也呈現不連續的族群分布。

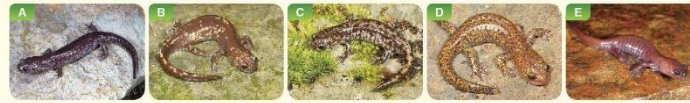
其中藉由楚南氏山椒魚的分布，證實臺灣的山椒魚可以由臺灣西部往東越過中央山脈後緣拓殖至向太平洋洋灘的遠端。間接印證山椒魚具有不俗的長距離移動能力。

臺灣五種山椒魚各自分布在整個臺灣山脈的高海拔山區，棲地幾乎不重疊。只有在合歡山地區、中央尖山、奇萊南華、主社溪至關門山等特定地區，發現區域與區域分布的情況。從牠們外觀與花色形態到產卵、棲地分布與海拔分布的差異，可以發現牠們在經歷過多次的氣候變遷、地景變化與漫長時間的隔離演化，各自發展出獨特的外表與對環境的適應性。



臺灣原生山椒魚

臺灣的山椒魚共有五種，且都屬於特有种：分別是觀霧山椒魚、臺灣山椒魚、南湖山椒魚、楚南氏山椒魚與阿里山山椒魚。牠們各有不同的外觀特徵與顏色。所有臺灣原生山椒魚的前肢都具有四趾，但後肢的趾頭就不一樣。觀霧山椒魚與臺灣山椒魚後肢有四趾，而南湖山椒魚、楚南氏山椒魚與阿里山山椒魚後肢有五趾。在其他外觀特徵，五種山椒魚更是形形色色：



台灣的五種山椒魚。A. 觀霧山椒魚；B. 台灣山椒魚；C. 楚南氏山椒魚；D. 南湖山椒魚；E. 阿里山山椒魚。
(圖片來源：賴俊祥、方翔)。

山椒魚與牠們的棲地

在巨棲地尺度的環境需求上，牠們棲地大多在溪流源頭與低溫且潮濕的針闊葉混生林。但少數族群，如合歡山、磐石山的楚南氏山椒魚族群、南湖山椒魚族群與玉山山椒魚族群的阿里山山椒魚族群，其棲地則在林木遮蔽度低的茂密殘留竹叢下。山椒魚棲地的共同特徵是，這些森林與溪流匯聚處下都有豐富淡水或森林滲透後的流水。

在微棲地上，臺灣的山椒魚會棲息在潮濕森林落葉層質層的地表縫隙或凹洞中，或步道兩旁富含高質層與孔隙的縫隙石堆中。有些山椒魚則會選擇躲藏在寬大且附有苔蘚的石塊或木頭等遮蔽物下方。



山椒魚與牠們的棲地

為何山椒魚會選擇躲藏在土壤深處或較大的遮蔽物下？又為何所躲藏的微棲地遮蔽物下的成員大多為腐植土或是含有碎石的腐植土？

因為地表腐植土可孕育豐富多樣的土壤性無脊椎動物，牠們（即節肢動物、環節動物）會在腐植表土營造許多凹洞或孔隙，腐植土上的碎石也會增加孔隙，提供山椒魚一個濕度穩定相對穩定的微環境，更提供一個可以躲避掠食者的空間。

這些土壤性的無脊椎動物至少有一部分的生活史都在表土，提供了在地表生活的山椒魚一個重要的食物來源，顯示山椒魚的棲地也必須是無脊椎生物多樣性豐富的环境。



山椒魚的食性

知道山椒魚吃什麼，可以推測牠們的棲地特性。因為牠們的食性變強，可以推測牠們棲地的土壤濕潤性，及適合這些無脊椎動物發育的環境會有些什麼。研究山椒魚食性什麼動物，更可了解山椒魚在森林生態系的角色與功能。

臺灣的臺灣山椒魚食性組成非常多樣，幼體與成體對的食性不同。五種山椒魚成體以昆蟲與昆蟲主要的獵物種類，其次是軟甲類、蛛形綱、節足綱與節足類。同一種山椒魚也會吃不同的棲地類型，季節與不同海拔分布，食性也有不同。所捕食的昆蟲種類與昆蟲，又以鞘翅目與節足目為主。雙翅目與節足目。節足目以跳蟲、有足、步行蟲與金龜等幼蟲與成蟲為主。其中跳蟲、有足、步行蟲等都具有食性昆蟲。雙翅目森林中昆蟲性昆蟲成類。另外山椒魚的獵物也包含在地表現行的軟甲類如潮蟲、鼠蟻；蛛形綱如蜘蛛、扁虱；節足綱如蜈蚣及節足類的馬陸。透過食性分析也發現成體山椒魚會吃昆蟲（如蜈蚣小的馬陸）、蠍子、蜘蛛（蜘蛛）、草食動物、以及牠們在土壤中的動物，如昆蟲幼蟲（昆蟲）、內口類昆蟲幼蟲（昆蟲）與昆蟲幼蟲等昆蟲小昆蟲昆蟲亦豐富於林下地來動物。



山椒魚的生存挑戰



介紹完臺灣原生山椒魚的習性，相信大家已了解：臺灣的山椒魚生存在類似溫帶氣候的中海拔溪流環境與森林生態。棲地土壤富含腐質且濕軟多孔隙；並非高亮度的生活史，棲地需要常濕的淡水或森林滲透後的湧水與多維且可富的土壤高維維動物類，包括大大小小的節足動物、軟體動物。因此，只要會干擾溪流上述的棲地條件，就會對山椒魚的成體生存造成威脅。

目前牠們所面臨的生存威脅包括：

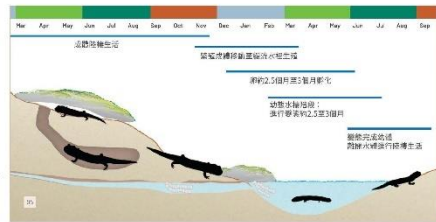
- 一、氣候變遷**
 雖然氣候變遷是趨於短期化的重要動力，但短期氣候增加，如暴風、乾旱、土石流等等都會造成棲地破壞，對於某些只存在極小棲地範圍的山椒魚，如南湖山椒魚，則容易造成生存威脅。
- 二、不恰當人為拓墾與設施設置，會造成敏感棲地的破壞**
 如建築設施利用舊橋樑的橋樑，不適水水勢變化的設置，過度清除沖毀破壞兩旁森林與落葉，棲地內缺乏合理現狀的浮游動物設置不適合的人工設施，都會造成山椒魚的生存威脅。
- 三、過度人為活動的干擾也讓山椒魚面臨極大的威脅**
 近山椒水房建設自然與破壞臺灣山林物種的護身方式。但新活動地點與山椒魚棲地重疊，過多遊客活動可能會破壞棲地表土，加上遊客遊客不當地清理、破壞與破壞，人為的污染，如清理、遊客遊客等，會造成山椒魚的生存威脅。
- 四、缺乏持續長久且完整的臺灣原生山椒魚基礎研究與監測資料**
 雖然不去干預山椒魚的棲地是山椒魚保育與保護山林的重要守則。但不當的保育措施也會對山椒魚的成體造成影響，甚或造成負面效果。若能系統性進行資料收集，包括基礎資料（調查）的歷史資料與最新、且確切的數據與生物調查，以及氣候變遷與棲地守守守。這些資料對於未來山椒魚的保育策略與發展、山林與濕地管理、宣導與科學教育等都有重要參考。
- 五、缺乏具有中海海拔研究能力的研究人才**
 山椒魚的基礎研究門檻非常高，除了需要具備學識與科學的知識，還需要具有中海海拔山椒魚的基礎研究能力，更何況山椒魚的調查與研究需要具備野外調查與資料分析的能力。除此之外，收集研究資料與監測資料，因為研究山椒魚的分子生物、生物醫學與族群遺傳分析等相關分析技術，因此要能完成這些研究的山椒魚科學家與專家與專家，更難能可貴。不同領域的專家與專家，少了這些專家與專家，山椒魚的生存威脅的研究人才，要收集到有關的研究資料，進行山椒魚的保育與研究不容易。

山椒魚的生活史



山椒魚幼體生活在水中、成體生活在陸地上。水棲生活與陸地生活的轉換、發育過程經歷的身體結構變化，與適應不同的水生與陸地環境壓力，讓我們驚歎山椒魚的生命竟然如此獨特、美麗且精彩。

山椒魚的生命不但精彩，且充滿智慧。臺灣的中海海拔溪流源頭在冬季初春水清較慢，有些甚至結冰，因此孵化期的受精卵可以在緩水流中靜靜的發育。另外，冬季初春的溪水溫度較低，溪水會激發山椒魚的冬眠，因此個個可以安全轉化。待轉化後，適逢春雨與夏季交鋒的梅雨季節，孵化後的小山椒魚可藉著雨水沖刷撥散到其他地方。平常連日的雨水會沖刷增加山椒魚的營養與食物，剛好是上岸的小山椒魚對於食物的需求，以適應新的陸地生活。



附件十五、期末報告審查會議紀錄

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」
期末報告審查會議紀錄

壹、會議時間：111 年 12 月 13 日(星期二)上午 10 時

貳、會議地點：視訊會議

參、主席：張處長維銓

紀錄：董于瑄技士

肆、出(列)席單位及人員：詳如簽到單

伍、討論事項

一、外聘委員意見：

(一)呂光洋委員

1. 受委託人執行本計畫的工作項目甚多繁雜，但都能順利完成。本計畫的工作範圍都在本島高山地區，調查工作相當困難，而執行人甚至將調查範圍擴及到國家公園範圍之外，收集到的資料相當難得珍貴，對未來國家公園的經營管理將有相當大的幫助。
2. 本計畫收集到的山椒魚棲地和分布的資料相當詳細，建議這些分布資料不要隨意公布，除研究學者和保育相關人員，經特殊申請許可外，其他無相關之人員都應不允許。
3. 研究發現目前這 5 種山椒魚都有族群分化之情形，歸咎於臺灣之特殊地形地貌，除水系外，山脈之稜線亦扮演隔離之角色。
4. 調查顯示南湖山椒魚似乎偏好碎石地，這和南湖園谷之冰河遺留下的碎石地質及缺少植被有關。
5. 蛙壺菌及蠟蠟弧菌檢測結果都是陰性，有文獻報告指出臺灣之山椒魚曾有蛙壺菌感染之案例，但沒有顯示個體健康之不良影響。
6. 胚胎發育過程有發現到絲狀真菌感染的情形，文獻上有無報導？日後可嘗試進行種的鑑定。
7. 在 820 林道發現的個體甚多，被重複捕捉 3 次或 3 次以上的個體不

少，未來可能的話，可進行個體活動範圍的估算及個體成長的測量。

8. 排遺之收集是否只限於設置於塑膠袋中，欲帶回工作站測量之個體是否有一併收集？

(二) 涂堅委員

1. 食性分析中，胃內獵物與該季節出現的獵物有關，還是對該獵物偏好有關。
2. 利用 mMRI 造影技術需要將山椒魚帶至山下實驗室，較為耗時，未來是否能發展在現場區分雌雄的技術。
3. 觀霧山椒魚性別的鑑定只有 65% 的成功率，報告書提及可能由於造影月份與繁殖季節相近造成，未來實務上是否能克服此狀況。
4. 報告提及絲狀真菌會感染幼體或卵囊，當時環境溫度是否有上升或下降，因魚類也會有真菌感染狀況，通常在冬季溫度下降時發生，因溫度較低造成魚類免疫力下降。
5. 全世界蛙壺菌源頭為韓國，早期臺灣蛙類標本有檢測到，但後來皆未再發現，民國 90 幾年台大獸醫系研究團隊又在進口角蛙發現，但本土牛蛙都未發現蛙壺菌，是否在臺灣蛙壺菌只能感染兩棲類無法再散佈蔓延。
6. 本案成果豐碩，建議各國家公園可設計專區進行山椒魚科普介紹。

受託單位回應：

1. 謝謝兩位委員給予計畫執行期間的指導，計畫成果中的所有資料(含 GPS 資料、VIE-tag 資料等)於結案後將移交給雪霸處，另有一份保存於特有生物研究保育中心林春富研究員處；若有其他單位申請分享，林春富研究員建議將 GPS 點位模糊化處理。
2. 南湖山椒魚的棲地偏好部分，目前認為山椒魚確實會偏好利用棲地上的遮蔽物質，例如阿里山森林遊樂區姊妹潭樣區，原本山葵田田埂放有許多石頭，這些石頭下方即為山椒魚躲藏地點，後續吳聲海教授執行調查計畫時，因山葵田已收回雜草叢生，故於樣區內佈放 200 塊柳杉木片(直徑約 40 公分以上)，近年本研究團隊於同樣區進

- 行調查，大多可在這些木片下方發現山椒魚，可見山椒魚會就棲地特性選擇利用棲地內適合躲藏的遮蔽物，如石塊或倒木。
3. 確實可能會有選採集樣點上的偏差，因為考量人力、經費與能力，本研究野外調查確實只能先針對溪流源頭附近的樣區進行調查。
 4. 本計畫在棲地內圈養環境設計有幾大特點，例如模擬地底伏流及控制最高溫度(16°C)，因此可順利觀察到山椒魚繁殖生活史。日本的經驗會設置斜陶板，但臺灣的山椒魚卻不使用此構造；另外山椒魚不須全暗環境仍可產卵，只要控制一定光照以下即可。
 5. 目前觀察結果，未受精的卵粒會長真菌。根據林春富研究員的經驗，山椒魚卵過了肢芽期即有免疫能力，就不易有真菌感染的情況；根據合歡山的臺灣山椒魚跟楚南氏山椒魚野外觀察，約有 40%會被真菌感染，60%會順利存活。
 6. 研究團隊採用自行設計的引子進行 PCR 檢測(非 Q-PCR 檢測)，敏感度可以偵測到 10 個複本 (copy) 以上的 DNA 模板。目前的野外山椒魚蛙壺菌檢測結果皆未檢出，林春富研究員提供給國外的樣本有些是標本，推測也有可能於標本存放過程遭受污染，所以才會檢測出蛙壺菌。
 7. 研究團隊將針對 820 林道捕捉超過 3 次的個體嘗試進行活動範圍的初估，不過因 GPS 點位本身即有誤差，未來若要降低此誤差，可嘗試標記發現點的石頭，再量測石頭間的距離，但 820 林道因有遊客，此方法亦可能受到遊客移動石頭的干擾。
 8. 野外棲地環境中要目擊排遺很困難，研究團隊採用的排遺收集法是於野外發現山椒魚後攜回至住宿地點，隔夜再釋回原棲地。經過一夜通常可以收集到排遺，惟此方法須林道與住宿地相近，若相隔太遠釋回難度較高；另因排遺中無脊椎動物多呈現碎屑形式，進行物種鑑定難度較高，期待國家公園可以有長期的計畫培養中高海拔無脊椎動物相關人力。
 9. 以往認為山椒魚只能分布在溪流旁，但根據本研究計畫發現有時發現山椒魚的地點距離河流 20-30 公尺，且未有水流經過，但這些地

- 點可能位於步道旁的積水處，因此山椒魚不一定會分布在河流旁，只要有積水處或是地底有伏流的棲地，濕度達到一定程度皆可能為山椒魚棲地。
10. 若要進行食性偏好分析，需要於棲地同時調查地表與土壤中無脊椎動物相多樣性及豐富度，再配合不同季節的山椒魚食性，才能進行偏好分析；因山椒魚胃內容物沖提法成功率約只有 30%，必須要有足夠的山椒魚數量才能有足夠的樣本進行分析，故具有執行上難度。
 11. 有關建立現場判定公母的方法有季節的限制，例如阿里山山椒魚在 7 月即可用紅外線看到腹部膨大，觀霧山椒魚也是在 9 月即觀察到類似現象，因此在山椒魚產卵前的季節有機會利用照蛋器等器具於現場判定；另隨著基因體技術的進步，某些兩棲類發現只有公的具有某些基因序列，或許未來也可利用此技術來鑑定公母。
 12. 觀霧山椒魚因體型較小，初步建議於 7 月至 11 月進行 mMRI 檢測成功率較高。
 13. 因野外發現卵串的機會不高，因此現階段較難進行試驗設計，會再與林春富研究員討論，嘗試回推檢視卵串遭受真菌感染時的氣溫是否有下降的現象。
 14. 蛙壺菌的源頭為韓國，目前尚無法確定蛙壺菌是否在臺灣只能感染兩棲類而無法散播出去，仍需有更多資料才有機會確定。
 15. 隨著山椒魚調查資料的收集（例如 mMRI 資料、CT 資料等），未來可將山椒魚的形態以數位模型化、圖像化及影像化，後續將精進觀霧山椒魚的影像紀錄品質。

二、友處同仁意見：

(一)玉山國家公園管理處李毓芬技士

1. 本計畫成果豐碩，非常謝謝老師及研究團隊，研究中有許多嶄新的發現，例如本處園區阿里山山椒魚曾發現 10 幾年前調查之山椒魚，證明阿里山山椒魚壽命可達 12 年以上，本處園區內為阿里山山椒魚分布，且於塔塔加管理站圈養之阿里山山椒魚為夜行性動物，目前

正於繁殖中，亦是一項新觀察記錄。

2. 建議中：「建立永久調查樣區或樣線之標準調查流程與資料分析方法由研究團隊提供。」是否將於成果報告中提供，因非本案規定工作項目，倘未於成果報告中提供，本處將於後續再跟研究團隊討論流程及建議永久樣區複查頻度及時段？
3. P.129 親緣關係樹可以推測其演化歷程，其中阿里山山椒魚於西巒大山 HA-II、HA-V 均有分布，想詢問其在演化中可能的代表意義。
4. 部分錯誤或誤植處，建請修改
 - (1)P.7 行政院農業委原會應為行政院農業委員會。
 - (2)P.8、P.143 塔塔加工作站應為塔塔加管理站。
 - (3)P.22 表一陳世煌 2010 年研究重複列表。
 - (4)P.48 圖 1-3 標題應為玉山國家公園及周邊區域山椒魚分布。

(二)太魯閣國家公園管理處陳敬儒技士

1. 本案工作項目均有符合契約規定。
2. 本案自太魯閣 107-108 年委辦計畫起，當時研究成果遇到的困難是判斷山椒魚的成熟度、性別及是否有種間雜交的問題，這些問題經過三年（109-111）的研究之後，都有一些部分的成果，因此想請教老師，有關成體及幼體間的生長趨勢，例如阿里山山椒魚有 10 年後再次採集到的經驗，其體長增加多少？而在最近飼養箱繁殖出來的幼體變態後轉陸棲型態後，是否有量測體長？
3. 另外種間雜交的問題，有關第 138 表及 139 頁圖示主要是論述以微衛星去探討山椒魚種間分群的檢定，其中圖 9-2 有討論到南湖山椒魚（17）及楚南氏山椒魚（22）有個體可能有種間雜交，因此看到表 9-3 內的南湖山椒魚個體，其中並沒有採集自 820 林道的個體，如果可以的話，是否考量加入 820 林道的南湖山椒魚樣本數據。
4. 有關永久樣區的設置，對管理處非常重要，希望相關的設置及監測方式可以提供給管理處。
5. 有關調查樣區中，目前僅顯示有調查到的山椒魚點位，但是希望受

託團隊可以提供北二段「有調查但未調查到山椒魚」的點位，因為北二段沒有山椒魚可能是後續可以補充進行調查的樣區。

三、本處同仁意見：

(一)楊國華課長

1. 本案有關「於本處官網架設山椒魚生態解說網頁」的部分，待本案報告書內容確定後，後續請保育課惠予提供本網頁需架設於本處官網何處及內容如何呈現等相關事項，本課協助辦理網頁建置，以利強化與推廣山椒魚保育之重要性。

(二)于淑芬課長

1. 同種山椒魚在不同區域，其胃內含物會一致嗎？
2. 是否可看出各山椒魚遺傳的多樣性？
3. 建議事項中有域外異地圈養繁殖計畫，是因為數量太少所以要繁殖？那野放存活率是否有加入考量？

(三)陳家鴻技士

1. P.9 摘要，雪霸國家公園部分倒數第 2 行，缺「公園」，太魯閣部分第 5 行缺「公園」。
2. P.10 第 1 行缺「公園」。
3. P.11 嘉平林道位於園區外(且與太管處園區距離差不多)，109 年(園區外的嘉平林道)與 110 年(園區外的北插天山至南插天山)的調查地點建議改為「雪霸及周邊地區」。
4. P.17 圖下方文字漏掉「綠色圈代表南湖山椒魚」。
5. P.24、25 檜山巨木林道應改為(檜山)巨木「步道」，報告書中的地點名稱建議一致(EX, 巨木步道或檜山巨木步道)。
6. P.29 雪見地區(聖稜線 O 型)，是否應為雪山地區(非雪見地區)。
7. P.143 觀霧山椒魚展示中心，應為觀霧山椒魚生態中心。
8. 護卵行為是由雌性進行還是雌雄輪流進行？
9. 瀕危物種的受威脅評估除了環境(氣候)變遷，未來是否針對其體內塑

膠微粒或環境賀爾蒙對其造成的影響做相關的檢測或評估?

(四)董于瑄技士

1. p.8雪霸國家公園檜山鋸木步道、臻山步道…應修正為檜山「巨」木步道、「榛」山步道。
2. p.38-39表 1-2 山椒魚形態測量值，建議以圖示方式補充吻肛長、尾長、鼻間距…等量測形態定義。
3. p.65排遺組成亦缺乏結合綱…，本句描述是否應為「綜合綱」。
4. p.105阿里山山椒魚卵串孵化觀察部分，都以「雌魚」、「小魚」等文字描述，建議予以調整，以避免誤會山椒魚為魚類。
5. p.106對於觀霧山椒魚產下兩叢卵的描述有誤，請再修正。
6. p.114報告提及「可能的受精時間，我們依天候推測 2020.03.25 為臺灣山椒魚卵的受精日」，如何以天候推測其受精日？
7. p.143建議事項中提及建議觀霧山椒魚展示中心舉行山椒魚特展，是否具體補充說明建議增加哪些展示內容？

受託單位回應

1. 可於今年提供監測標準流程，未來若由管理處同仁執行監測，會再簡化標準流程。
2. 阿里山山椒魚與楚南氏山椒魚在關門山到六順七彩湖間有雜交個體，可以推估是否於冰期往低海拔降遷有所接觸，目前已用微衛星標記進行分析，希望能夠推論過去的氣候變遷對山椒魚遺傳分化的影響。
3. 山椒魚年齡判定部分，過去賴俊祥老師曾利用阿里山山椒魚吻肛長及骨骼鑑齡法切片畫出標準曲線，因此可以透過吻肛長推估年齡。
4. 初步推估 820 林道可能也有雜交的現象，但仍需收集更多資料才能進一步分析確定。
5. 圈養個體從水體上岸時是最脆弱的時候，所以容易死亡，根據最近觀霧山椒魚圈養個體的紀錄，剛上岸時體長約為 2.5 公分，目前約為 2.8-2.9 公分，再結合林春富老師過去的資料，第一年通常體長變化不多。

6. 本計畫只有進行 1 次北二段的調查，只有發現 1 隻臺灣山椒魚，並未發現南湖山椒魚，可在會議後將調查路徑提供給太管處參考。
7. 網頁部分因涉及營建署只能接受較簡單的網頁呈現方式，不能設計動態或互動式網頁，而用於網頁的文字、圖片或影像皆已整理好。
8. 缺漏字部分將辦理修正，並依建議將嘉平林道、北插天山至南插天山的調查地點修改為「雪霸及周邊地區」。
9. 母山椒魚產卵後幾天會留在卵串附近，而後會離開改由公山椒魚照料，因山椒魚有集體產卵習慣，所以受精卵可能是同母異父，所以公山椒魚會爭奪護卵權，贏者才能進行護卵，對阿里山山椒魚的觀察，若是母山椒魚靠近護卵中的公山椒魚不會被攻擊。
10. 目前中高海拔地區若想經由動物排遺探討塑膠微粒，較易取得的應是水鹿的排遺，未來是否進行塑膠微粒研究應先思考經營管理需求與評估塑膠微粒污染的來源及是否有有效的因應方法。
11. 820 林道同時是楚南氏山椒魚、臺灣山椒魚及南湖山椒魚的棲地，此 3 種山椒魚的食性是一致的，阿里山山椒魚在神木林道及森林遊樂區 2 個不同海拔的棲地則食性不同，所以山椒魚會根據棲地內無脊椎動物相不同而稍有不同的食性。
12. 已有研究生論文探討山椒魚的遺傳多樣性，可以提供給管理處參考。
13. 臺灣民眾普遍對山椒魚不瞭解，主要原因是不容易看到山椒魚，即使山椒魚展示館也看不到活體，臺北市立動物園的職責包含瀕危動物的保育研究，目前正進行箭毒蛙、豎琴蛙的繁殖研究，且動物園有較充足的經費與照顧人力；臺灣的山椒魚以南湖山椒魚數量最為稀少，但可先由數量較多的阿里山山椒魚先嘗試，若動物園可異地繁殖成功，有助於山椒魚的保育及宣導。
14. 錯漏字部分會予以修正，並將附上型態測量圖示。
15. 天候推測受精日主要根據林春富研究員的經驗，氣溫下降或下雨後山椒魚就可能產卵及受精，所以當時第一次發現該卵串時尚未發育至神經脊階段，再根據天候回推可能的受精日期。
16. 觀霧山椒魚生態中心設計十分用心，但缺乏研究山椒魚重要性描述

與生態保育過程的啟發及其在森林生態系的功能；近年增加許多研究資料，建議更新相關資料(含畫質更佳的照片與影片)並增加互動式展覽。

陸、結論

經審查執行進度符合契約規範，本次報告原則同意通過審查；請依審查委員及與會人員所提供之意見補充與修正後納入成果報告書，並請依據契約規定期程提送成果報告書及光碟等相關資料，俾辦理驗收相關事宜。

柒、散會：12 時 10 分。

「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學
調查」

期末報告審查視訊會議簽到單

壹、會議時間：111 年 12 月 13 日 (星期二) 上午 10 時

貳、會議地點：線上視訊

參、主席：張處長維銓

紀錄：董于瑄 技士

肆、出席單位及人員：

審 查 老 師	審 查 方 式
呂光洋委員	視訊參加
涂堅委員	視訊參加

其 他 單 位	視 訊 參 加 人 員
玉山國家公園管理處	李毓芬技士 何紹瑋技士
太魯閣國家公園管理處	陳敬儒技士

受 託 單 位	視 訊 參 加 人 員
國立臺灣大學	朱有田老師

本處各單位

單 位	視 訊 參 加 人 員
副 處 長	陳俊山副處長
秘 書	邱滄明秘書
企 劃 經 理 課	楊國華課長
解 說 教 育 課	張美瓊課長
遊 憩 服 務 課	謝銘銓課長
保 育 研 究 課	于淑芬課長
雪 見 管 理 站	潘振彰技正兼主任
觀 霧 管 理 站	陳家鴻技士

附件十六、期末審查會議意見處理情形

一、 外聘委員意見：

委員	委員審查意見	回覆
呂光洋 委員	<ol style="list-style-type: none"> 1. 受委託人執行本計畫的工作項目甚多繁雜，但都能順利完成。本計畫的工作範圍都在本島高山地區，調查工作相當困難，而執行人甚至將調查範圍擴及到國家公園範圍之外，收集到的資料相當難得珍貴，對未來國家公園的經營管理將有相當大的幫助。 2. 本計畫收集到的山椒魚棲地和分布的資料相當詳細，建議這些分布資料不要隨意公布，除研究學者和保育相關人員，經特殊申請許可外，其他無相關之人員都應不允許。 3. 研究發現目前這 5 種山椒魚都有族群分化之情形，歸咎於臺灣之特殊地形地貌，除水系外，山脈之稜線亦扮演隔離之角色。 4. 調查顯示南湖山椒魚似乎偏好碎石地，這和南湖圈谷之冰河遺留下的碎石地質及缺少植被有關。 5. 蛙壺菌及蠓蟻弧菌檢測結果都是陰性，有文獻報告指出臺灣之山椒魚曾有蛙壺菌感染之案例，但沒有顯示個體健康之不良影響。 6. 胚胎發育過程有發現到絲狀真菌感染的情形，文獻上有無報導？日後可嘗試進行種的鑑定。 7. 在 820 林道發現的個體甚多，被重複捕捉 3 次或 3 次以上的個體不少，未來可能的話，可進行個體活動範圍的估算及個體成長的測量。 8. 排遺之收集是否只限於設置於塑膠袋中，欲帶回工作站測量 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 謝謝兩位委員給予計畫執行期間的指導，計畫成果中的所有資料(含 GPS 資料、VIE-tag 資料等)於結案後將移交給雪霸處，另有一份保存於特有生物研究保育中心林春富研究員處；若有其他單位申請分享，林春富研究員建議將 GPS 點位模糊化處理。 2. 南湖山椒魚的棲地偏好部分，目前認為山椒魚確實會偏好利用棲地上的遮蔽物質，例如阿里山森林遊樂區姊妹潭樣區，原本山葵田田埂放有許多石頭，這些石頭下方即為山椒魚躲藏地點，後續吳聲海教授執行調查計畫時，因山葵田已收回雜草叢生，故於樣區內佈放 200 塊柳杉木片(直徑約 40 公分以上)，近年本研究團隊於同樣區進行調查，大多可在這些木片下方發現山椒魚，可見山椒魚會就棲地特性選擇利用棲地內適合躲藏的遮蔽物，如石塊或倒木。 3. 研究團隊採用自行設計的引子進行 PCR 檢測(非 Q-PCR 檢測)，敏感度可以偵測到 10 個複本(copy)以上的 DNA 模板。目前的野外山椒魚蛙壺菌檢測結果皆未檢出，林春富研究員提供給國外的樣本有些是標本，推測也有可能於標本存放過程遭受汙染，所以才會檢測出蛙壺菌。 4. 目前觀察結果，未受精的卵粒會長真菌。根據林春富研究員的經驗，山椒魚卵過了肢芽期即有免疫能力，就不易有真菌感染的情況；根據合歡山的臺

委員	委員審查意見	回覆
	<p>之個體是否有一併收集？</p>	<p>灣山椒魚跟楚南氏山椒魚野外觀察，約有 40% 會被真菌感染，60% 會順利存活。</p> <p>5. 研究團隊將針對 820 林道捕捉超過 3 次的個體嘗試進行活動範圍的初估，不過因 GPS 點位本身即有誤差，未來若要降低此誤差，可嘗試標記發現點的石頭，再量測石頭間的距離，但 820 林道因有遊客，此方法亦可能受到遊客移動石頭的干擾。</p> <p>6. 野外棲地環境中要目擊排遺很困難，研究團隊採用的排遺收集法是於野外發現山椒魚後攜回至住宿地點，隔夜再釋回原棲地。經過一夜通常可以收集到排遺，惟此方法須林道與住宿地相近，若相隔太遠釋回難度較高；另因排遺中無脊椎動物多呈現碎屑形式，進行物種鑑定難度較高，期待國家公園可以有長期的計畫培養中高海拔無脊椎動物相關人力。</p>
<p>涂堅 委員</p>	<p>1. 食性分析中，胃內獵物與該季節出現的獵物有關，還是對該獵物偏好有關。</p> <p>2. 利用 mMRI 造影技術需要將山椒魚帶至山下實驗室，較為耗時，未來是否能發展在現場區分雌雄的技術。</p> <p>3. 觀霧山椒魚性別的鑑定只有 65% 的成功率，報告書提及可能由於造影月份與繁殖季節相近造成，未來實務上是否能克服此狀況。</p> <p>4. 報告提及絲狀真菌會感染幼體或卵囊，當時環境溫度是否有上升或下降，因魚類也會有真菌感染狀況，通常在冬季溫度下降時發生，因溫度較低造成魚類免疫力下降。</p> <p>5. 全世界蛙壺菌源頭為韓國，早期臺灣蛙類標本有檢測到，但</p>	<p>1. 若要進行食性偏好分析，需要於棲地同時調查地表與土壤中無脊椎動物相多樣性及豐富度，再配合不同季節的山椒魚食性，才能進行偏好分析；因山椒魚胃內容物沖提法成功率約只有 30%，必須要有足夠的山椒魚數量才能有足夠的樣本進行分析，故具有執行上難度。</p> <p>2. 建立現場判定公母的方法有季節的限制，例如阿里山山椒魚在 7 月即可用紅外線看到腹部膨大，觀霧山椒魚也是在 9 月即觀察到類似現象，因此在山椒魚產卵前的季節有機會利用照蛋器等器具於現場判定；另隨著基因體技術的進步，某些兩棲類發現只有公的具有某些基因序列，或許未來也可利用此技術來鑑定公母。</p>

委員	委員審查意見	回覆
	<p>後來皆未再發現，民國 90 幾年台大獸醫系研究團隊又在進口角蛙發現，但本土牛蛙都未發現蛙壺菌，是否在臺灣蛙壺菌只能感染兩棲類無法再散佈蔓延。</p> <p>6. 本案成果豐碩，建議各國家公園可設計專區進行山椒魚科普介紹。</p>	<p>3. 觀霧山椒魚因體型較小，初步建議於 7 月至 11 月進行 mMRI 檢測成功率較高。</p> <p>4. 因野外發現卵串的機會不高，因此現階段較難進行試驗設計，會再與林春富研究員討論，嘗試回推檢視卵串遭受真菌感染時的氣溫是否有下降的現象。</p> <p>5. 蛙壺菌的源頭為韓國，目前尚無法確定蛙壺菌是否在臺灣只能感染兩棲類而無法散播出去，仍需有更多資料才有機會確定。</p> <p>6. 隨著山椒魚調查資料的收集（如 mMRI、CT 資料等），未來可將山椒魚的形態以數位模型化、圖像化及影像化，後續將精進觀霧山椒魚的影像紀錄品質。</p>

二、 友處同仁意見：

委員	委員審查意見	回覆
玉山國家公園管理處李毓芬技士	<p>1. 本計畫成果豐碩，非常謝謝老師及研究團隊，研究中有許多嶄新的發現，例如本處園區阿里山山椒魚曾發現 10 幾年前調查之山椒魚，證明阿里山山椒魚壽命可達 12 年以上，本處園區內為阿里山山椒魚分布，且於塔塔加管理站圈養之阿里山山椒魚為夜行性動物，目前正於繁殖中，亦是一項新觀察記錄。</p> <p>2. 建議：「建立永久調查樣區或樣線之標準調查流程與資料分析方法由研究團隊提供。」是否將於成果報告中提供，因非本案規定工作項目，倘未於成果報告中提供，本處將於後續再跟研究團隊討論流程及建議永久樣區複查頻度及時段？</p> <p>3. P.129 親緣關係樹可以推測其演化歷程，其中阿里山山椒魚於西</p>	<p>1. 可於今年提供監測標準流程，未來若由管理處同仁執行監測，會再簡化標準流程。</p> <p>2. 阿里山山椒魚與楚南氏山椒魚在關門山到六順七彩湖間有雜交個體，可以推估是否於冰期往低海拔降遷有所接觸，目前已用微衛星標記進行分析，希望能夠推論過去的氣候變遷對山椒魚遺傳分化的影響。</p> <p>3. 缺漏字部分將辦理修正。</p>

	<p>巒大山 HA-II、HA-V 均有分布，想詢問其在演化中可能的代表意義。</p> <p>4. 部分錯誤或誤植處，建請修改</p> <p>(1)P.7 行政院農業委原會應為行政院農業委員會。</p> <p>(2)P.8、P.143 塔塔加工作站應為塔塔加管理站。</p> <p>(3)P.22 表一陳世煌 2010 年研究重複列表。</p> <p>(4)P.48 圖 1-3 標題應為玉山國家公園及周邊區域山椒魚分布。</p>	
<p>太魯閣 國家公園 管理處 陳敬儒 技士</p>	<p>1. 本案工作項目均有符合契約規定。</p> <p>2. 本案自太魯閣 107-108 年委辦計畫起，當時研究成果遇到的困難是判斷山椒魚的成熟度、性別及是否有種間雜交的問題，這些問題經過三年(109-111)的研究之後，都有一些部分的成果，因此想請教老師，有關成體及幼體間的生長趨勢，例如阿里山山椒魚有 10 年後再次採集到的經驗，其體長增加多少？而在最近飼養箱繁殖出來的幼體變態後轉陸棲型態後，是否有量測體長？</p> <p>3. 另外種間雜交的問題，有關第 138 表及 139 頁圖示主要是論述以微衛星去探討山椒魚種間分群的檢定，其中圖 9-2 有討論到南湖山椒魚(17)及楚南氏山椒魚(22)有個體可能有種間雜交，因此看到表 9-3 內的南湖山椒魚個體，其中並沒有採集自 820 林道的個體，如果可以的話，是否考量加入 820 林道的南湖山椒魚樣本數據。</p> <p>4. 有關永久樣區的設置，對管理處非常重要，希望相關的設置及監測方式可以提供給管理處。</p> <p>5. 有關調查樣區中，目前僅顯示有調查到的山椒魚點位，但是希望受託團隊可以提供北二段「有調查但未調查到山椒魚」的點位，因為北二段沒有山椒魚可能是後續可以補充進行調查的樣區。</p>	<p>1. 山椒魚年齡判定部分，過去賴俊祥老師曾利用阿里山山椒魚吻肛長及骨骼鑑齡法切片畫出標準曲線，因此可以透過吻肛長推估年齡。</p> <p>2. 圈養個體從水體上岸時是最脆弱的時候，所以容易死亡，根據最近觀霧山椒魚圈養個體的紀錄，剛上岸時體長約為 2.5 公分，目前約為 2.8-2.9 公分，再結合林春富老師過去的資料，第一年通常體長變化不多。</p> <p>3. 初步推估 820 林道可能也有雜交的現象，但仍需收集更多資料才能進一步分析確定。</p> <p>4. 可於今年提供監測標準流程，未來若由管理處同仁執行監測，會再簡化標準流程。</p> <p>5. 本計畫只有進行 1 次北二段的調查，只有發現 1 隻臺灣山椒魚，並未發現南湖山椒魚，可在會議後將調查路徑提供給太管處參考。</p>

三、 本處同仁意見：

委員	委員審查意見	回覆
楊國華 課長	1. 本案有關「於本處官網架設山椒魚生態解說網頁」的部分，待本案報告書內容確定後，後續請保育課惠予提供本網頁需架設於本處官網何處及內容如何呈現等相關事項，本課協助辦理網頁建置，以利強化與推廣山椒魚保育之重要性。	1. 網頁部分因涉及營建署只能接受較簡單的網頁呈現方式，不能設計動態或互動式網頁，而用於網頁的文字、圖片或影像皆已整理好。
于淑芬 課長	1. 同種山椒魚在不同區域，其胃內含物會一致嗎？ 2. 是否可看出各山椒魚遺傳的多樣性？ 3. 建議事項中有域外異地圈養繁殖計畫，是因為數量太少所以要繁殖？那野放存活率是否有加入考量？	1. 820 林道同時是楚南氏山椒魚、臺灣山椒魚及南湖山椒魚的棲地，此 3 種山椒魚的食性是一致的，阿里山山椒魚在神木林道及森林遊樂區 2 個不同海拔的棲地則食性不同，所以山椒魚會根據棲地內無脊椎動物相不同而稍有不同的食性。 2. 已有研究生論文探討山椒魚的遺傳多樣性，可以提供給管理處參考。 3. 臺灣民眾普遍對山椒魚不瞭解，主要原因是不容易看到山椒魚，即使山椒魚展示館也看不到活體，臺北市立動物園的職責包含瀕危動物的保育研究，目前正進行箭毒蛙、豎琴蛙的繁殖研究，且動物園有較充足的經費與照顧人力；臺灣的山椒魚以南湖山椒魚數量最為稀少，但可先由數量較多的阿里山山椒魚先嘗試，若動物園可異地繁殖成功，有助於山椒魚的保育及宣導。
陳家鴻 技士	1. P.9 摘要，雪霸國家公園部分倒數第 2 行，缺「公園」，太魯閣部分第 5 行缺「公園」。 2. P.10 第 1 行缺「公園」。 3. P.11 嘉平林道位於園區外(且與太管處園區距離差不多)，109 年(園區外的嘉平林道)與 110 年(園區外的北插天山至南插天山)的調查地點建議改為「雪霸及周邊地區」。 4. P.17 圖下方文字漏掉「綠色圈代表南湖山椒魚」。	1. 缺漏字部分將辦理修正。 2. 母山椒魚產卵後幾天會留在卵串附近，而後會離開改由公山椒魚照料，因山椒魚有集體產卵習慣，所以受精卵可能是同母異父，所以公山椒魚會爭奪護卵權，贏者才能進行護卵，對阿里山山椒魚的觀察，若是母山椒魚靠近護卵中的公山椒魚不會被攻擊。 3. 目前中高海拔地區若想經由動物排遺探討塑膠微粒，較易取得的

	<p>5. P.24、25 檜山巨木林道應改為(檜山)巨木「步道」，報告書中的地點名稱建議一致(EX, 巨木步道或巨木步道)。</p> <p>6. P.29 雪見地區(聖稜線 O 型)，是否應為雪山地區(非雪見地區)。</p> <p>7. P.143 觀霧山椒魚展示中心，應為觀霧山椒魚生態中心。</p> <p>8. 護卵行為是由雌性進行還是雌雄輪流進行?</p> <p>9. 瀕危物種的受威脅評估除了環境(氣候)變遷，未來是否針對其體內塑膠微粒或環境賀爾蒙對其造成的影響做相關的檢測或評估?</p>	<p>應是水鹿的排遺，未來是否進行塑膠微粒研究應先思考經營管理需求與評估塑膠微粒污染的來源及是否有有效的因應方法。</p>
<p>董于瑄 技士</p>	<p>1. p.8 雪霸國家公園檜山鋸木步道、臻山步道…應修正為檜山「巨」木步道、「臻」山步道。</p> <p>2. p.38-39 表 1-2 山椒魚形態測量值，建議以圖示方式補充吻肛長、尾長、鼻間距…等量測形態定義。</p> <p>3. p.65 排遺組成亦缺乏結合綱…，本句描述是否應為「綜合綱」。</p> <p>4. p.105 阿里山山椒魚卵串孵化觀察部分，都以「雌魚」、「小魚」等文字描述，建議予以調整，以避免誤會山椒魚為魚類。</p> <p>5. p.106 對於觀霧山椒魚產下兩叢卵的描述有誤，請再修正。</p> <p>6. p.114 報告提及「可能的受精時間，我們依天候推測 2020.03.25 為臺灣山椒魚卵的受精日」，如何以天候推測其受精日?</p> <p>7. p.143 建議事項中提及建議觀霧山椒魚展示中心舉行山椒魚特展，是否具體補充說明建議增加哪些展示內容?</p>	<p>1. 缺漏字部分將辦理修正。</p> <p>2. 結合綱又名綜合綱，皆指分類單元 Symphyla。</p> <p>3. 天候推測受精日主要根據林春富研究員的經驗，氣溫下降或下雨後山椒魚就可能產卵及受精，所以當時第一次發現該卵串時尚未發育至神經脊階段，再根據天候回推可能的受精日期。</p> <p>4. 觀霧山椒魚生態中心設計十分用心，但缺乏研究山椒魚重要性描述與生態保育過程的啟發及其在森林生態系的功能；近年增加許多研究資料，建議更新相關資料(含畫質更佳的照片與影片)並增加互動式展覽。</p>

參考文獻

- 朱有田。2019。太魯閣國家公園山椒魚棲地調查與族群遺傳結構研究(107-108)。太魯閣國家公園委託研究報告書。
- 朱有田。2022。阿里山地區阿里山山椒魚族群分布、食性調查及保育遺傳學研究計畫。行政院農業委員會林務局嘉義林區管理處保育研究系列 109CRC14 號。
- 呂光洋、賴俊祥。2010。觀霧山椒魚(*Hynobius fuca*)之分布及棲息地的調查。國立臺灣師範大學。
- 李心予、賴俊祥、蔡孟勳、朱有田。2016。太魯閣國家公園保育類物種監測調查計畫，太魯閣國家公園委託報告。
- 杜銘章、呂光洋。1982。十一種臺灣產兩棲類食性之研究(包括山椒魚科之臺灣山椒魚)。省立博物館科學年刊 25:225-234。
- 林明杰。2007。阿里山地區阿里山山椒魚食性與棲地利用之研究，國立嘉義大學生物資源學系研究所碩士論文。
- 林春富、葉大詮、吳和瑾。2009。以排遺分析探討楚南氏山椒魚的食性。特有生物研究 11(1): 21-25。
- 袁守立。2003。以粒線體細胞色素 b 區域序列探討臺灣地區短尾鮑族群的地理親緣變異。私立東海大學生物學系碩士論文。
- 張立宜。2011。臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚棲地及食性資源利用區隔之比較研究。國立師範大學碩士學位論文。
- 郭瓊華。2002。臺灣蜓蜥族群遺傳結構之研究，第 79 頁。國立臺灣師範大學生物學系碩士論文。
- 陳世煌、呂光洋。1984。台灣產山椒魚之生物學研究。國立臺灣師範大學受碩士論文。
- 陳世煌、呂光洋。1987。台灣產山椒魚之研究(一)—研究歷史、分布和形態學之初步研究。野生動物保育研討會專集(一)國家公園和自然保留區之野生動物，林曜松編，頁 79-104。
- 陳世煌、鍾珞璿、張奕儂、楊典諺。2010。觀霧巨木步道地區山椒魚棲地地表活動無脊椎動物多樣性調查，行政院農業委員會林務局。
- 陳世煌。2010。觀霧巨木步道地區山椒魚棲地地表活動無脊椎動物多樣性調查。行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列 99-02-8-03。
- 陳惠琦。1994。梭德氏蛙粒線體 DNA 序列與族群變異之初探。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文。

- 葉文珊。1997。莫氏樹蛙族群地理親緣關係之研究，第 96 頁。國立臺灣大學動物研究所碩士論文。
- 劉國強。1994。粒線體核酸分析斯文豪氏攀析之生物地理與親緣關係，第 62 頁。國立中山大學生命科學研究所碩士論文。
- 歐辰雄、邵廣昭、吳聲海、陸聲山、邱清安。2014。觀霧地區觀霧山椒魚及其相關物種調查。雪霸國家公園管理處委託辦理計畫成果報告。
- 賴俊祥、呂光洋。2007。阿里山地區阿里山山椒魚的分布與族群監測。BioFormosa 42 (2) : 105-117。
- 賴俊祥。2008。臺灣產山椒魚的分類與阿里山山椒魚族群生態與族群遺傳研究，國立臺灣師範大學生命科學系博士論文。
- 繁玉萍。2001。臺灣島形成過程對臺灣淡水魚族群遺傳結構影響之研究，第 53 頁。國立清華大學生命科學系碩士論文。
- Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402. doi: 10.1093/nar/25.17.3389
- Arntzen, J. W., W. Beukema, F. Galis, and A. Ivanović. 2015. Vertebral number is highly evolvable in salamanders and newts (family Salamandridae) and variably associated with climatic parameters. *Contributions to Zoology* 84(2): 85-113.
- Bakkegard, K. A., & Guyer, C. 2004. Sexual size dimorphism in the red hills salamander, *Phaeognathus hubrichti* (Caudata: Plethodontidae: Desmognathinae). *J. Herpetol.* 38(1):8-15.
- Bell, R. C., and K. R. Zamudio. 2012. Sexual dichromatism in frogs: natural selection, sexual selection and unexpected diversity. *Proc Biol Sci.* 279(1748):4687-4693.
- Bradley, P. W., M. D. Brawner, T. R. Raffel, J. R. Rohr, D. H. Olson, and A. R. Blaustein. 2017. Shifts in temperature influence how *Batrachochytrium dendrobatidis* infects amphibian larvae. bioRxiv 165985. doi: 10.1101/165985.
- Brandon, R. A. 1965. Morphological variation and ecology of the salamander *Phaeognathus hubrichti*. *Copeia*, 67-71.
- Catenazzi, A. 2016. Ecological implications of metabolic compensation at low temperatures in salamanders. *PeerJ.* 4:e2072. doi: 10.7717/peerj.2072.
- Chai N. 2015. Endoscopy in Amphibians. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* 18(3):479-491. doi: 10.1016/j.cvex.2015.04.006.

- Colleoni, E., M. Denoël, E. Padoa-Schioppa, S. Scali, and G. Ficetola. 2014. Rensch's rule and sexual dimorphism in salamanders: patterns and potential processes. *J. Zool.* 293(3):143-151.
- Duellman, W. E., L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw Hill. p.289-365
- Frost, Darrel R. 2020. *Amphibian Species of the world: an online reference*. Version 6.0 (Accessed Jan. 16, 2020.). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, U. S. A. doi.org/10.5531/db.vz.0001.
- Fukuta F., R. Iwaki, S. Murase, N. Katou, and H. Miyake. 2019. Observation of spawning behavior in *Hynobius kimurae*. *Bulletin of the Herpetological Society of Japan*. 2019(1):28-31.
- Hasumi, M., H. Iwasawa, and Y. Nagahama. 1990. Seasonal Dynamics of Reproductive Organs in Male Salamanders of the Species *Hynobius nigrescens*. *Copeia*. 1990:367. doi:10.2307/1446342
- Hasumi, M. 1994. Reproductive behavior of the salamander *Hynobius nigrescens*: monopoly of egg sacs during scramble competition. *Journal of Herpetology*. 28(2): 264-267.
- Ihara, S. 1998. The food habits of *Hynobius tokyoensis* in broad-leaved forest floor. *Edaphologia* 60: 1-9. (In Japanese)
- Jang-Liaw, N. H., T. H. Lee, and W. H. Chou. 2008. Phylogeography of *Sylvirana latouchii* (Anura, Ranidae) in Taiwan. *Zoolog. Sci.* 25(1): 68-79.
- Takegawa, M., K. Iizuka and S. Kuzumi. 1989. Morphology of egg sacs and larvae just after hatching in *Hynobius sonani* and *H. formosanus* from Taiwan, with analysis of skeletal muscle protein compositions. *Current Herpetology in East Asia* p.147-155.
- Kukita, S., M. Gouda, S. Ikeda, S. Ishibashi, T. Furuya, and K. Nakamura. 2015. Effects of Photoperiod and Temperature on Growth and Development in Clouded Salamander (*Hynobius nebulosus*) Larvae. *Zoolog. Sci.* 32(3): 266-271. doi: 10.2108/zs140220.
- Lai, J. S., and K. Y. Lue. 2008. Two new hynobius (Urodela: Hynobiidae) salamanders from Taiwan. *Herpetologica* 64(1): 63-80.
- Lai, Y. T., and J. H. Chen. 2010. *Leech Fauna of Taiwan*. National Taiwan University Press, Taipei, Taiwan

- Lin, H. D., K. C. Hsu, K. T. Shao, Y. C. Chang, J. P. Wang, C. J. Lin, and T. Y. Chiang. 2008. Population structure and phylogeography of *Aphyocypris kikuchii* (Oshima) based on mitochondrial DNA variation. *J. Fish. Biol.* 72(8):2011-2025. doi:10.1111/j.1095-8649.2008.01836.x.
- Lin, H. D., Y. R. Chen, and S. M. Lin. 2012. Strict consistency between genetic and topographic landscapes of the brown tree frog (*Buergeria robusta*) in Taiwan. *Mol. Phylogenet. Evol.* 62(1):251-62. doi: 10.1016/j.ympev.2011.09.022
- Lue, K. Y. and K. S. Chuang. 1992. The discovery of metamorphosed juveniles of formosan salamander (*Hynobius formosanus*) in Yu-Shan national park. *Bull. Inst. Zool., Academia Sinica*, 31(4) : 312-316.
- Lunghi, E., G. F. Ficetola, M. Mulargia, R. Cogoni, M. Veith, C. Corti, and R. Manenti. 2018. *Batracobdella* leeches, environmental features and *Hydromantes* salamanders. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.* 7:48 – 53. doi:10.1016/j.ijppaw.2018.01.003.
- Martel A, S. A. Spitzen-van der, M. Blooi, W. Bert, R. Ducatelle, M. C. Fisher, A. Woeltjes, W. Bosman, K. Chiers, F. Bossuyt, and F. Pasmans. 2013. *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(38):15325-9. doi: 10.1073/pnas.1307356110.
- Martinez-Solano, I., E. L. Jockusch, and D. B. Wake. 2007. Extreme population subdivision throughout a continuous range: phylogeography of *Batrachoseps attenuatus* (Caudata: Plethodontidae) in western North America. *Mol. Ecol.* 16(20): 4335-4355. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03527.x.
- Matsui, K., K. Mochida and M. Nakamura. 2003. Food habit of the Juvenile of the Japanese newt *Cynops pyrrhogaster*. *Zoological science* 20(7): 855-859.
- Matsunami, M., T. Igawa, H. Michimae, T. Miura, and K. Nishimura. 2016. Population structure and evolution after speciation of the Hokkaido Salamander (*Hynobius retardatus*). *PLoS One* 11(6): e0156815.
- Morishima, K., T. Nakano, and M. Aizawa. 2020. Sika deer presence affects the host – parasite interface of a Japanese land leech. *Ecol Evol.* 10:6030 – 6038. doi:10.1002/ece3.6344.

- Morueta-Holme, N., K. Engemann, P. Sandoval-Acuña, J. D. Jonas, R. M. Segnitz, and J. C. Svenning. 2015. Reply to Feeley and Rehm: land-use intensification increases risk of species losses from climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 10;112(45): E6085. doi: 10.1073/pnas.1518956112.
- Oshida, T., J. K. Lee, L. K. Lin, and Y. J. Chen. 2006. Phylogeography of Pallas's squirrel in Taiwan: geographical isolation in an arboreal small mammal. *J. Mammal* 87:247-254. doi: 10.1644/05-MAMM-A-123R1.1.
- Pereira, R. J., I. Martínez-Solano, and D. Buckley. 2016. Hybridization during altitudinal range shifts: nuclear introgression leads to extensive cyto-nuclear discordance in the fire salamander. *Mol. Ecol.* 25: 1551-1565.
- Peterman, W., and R. Semlitsch. 2013. Fine-scale habitat associations of a terrestrial salamander: the role of environmental gradients and implications for population dynamics. *PLoS One* 8(5): e62184. doi: 10.1371/journal.pone.0062184.
- Pogoda, P., and A. Kupfer. 2018. Flesh and bone: An integrative approach towards sexual size dimorphism of a terrestrial salamander (genus *Salamandrina*). *J. Morphol.* 279(10):1468-1479.
- Pogoda, P., and A. Kupfer. 2020. Sexual shape dimorphism in the cranium and pelvic girdle of Northern spectacled salamanders, *Salamandrina perspicillata*, investigated via 3D geometric morphometrics. *Salamandra (Frankf.)*. 56(2):113-122.
- Riddle, B., D. Hafner, L. Alexander, and J. R. Jaeger. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert Biota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97(26):14438-43. doi: 10.1073/pnas.250413397.
- Sanches P. G., R. C. Op 't Veld, W. de Graaf, G. J. Strijkers, H. Grüll. 2017. Novel axolotl cardiac function analysis method using magnetic resonance imaging. *PLoS One*. 2017 Aug 24;12(8):e0183446. doi: 10.1371/journal.pone.0183446.
- Sato, I. 1943. A monograph of tailed batrachians of Japan. *Nippon Shuppan-sha, Osaka, Japan.* 24: 119-500.
- Schneider, C. J., M. Cunningham, and C. Moritz. 1998. Comparative phylogeography and the history of endemic vertebrates in the wet tropics rainforests of Australia. *Mol. Ecol.* 7: 487-498.
- Slatkin, M. 1984. Ecological causes of sexual dimorphism. *Evol.* 38(3):622-630.

- Stewart, K. A., J. D. Austin, K. R. Zamudio, and S. C. Loughheed. 2016. Contact zone dynamics during early stages of speciation in a chorus frog (*Pseudacris crucifer*). *Heredity* (Edinb.). 116(2): 239-247. doi: 10.1038/hdy.2015.96.
- Toda, M., M. Matsui, M. Nishida, and H. Ota. 1998. Genetic divergence among southeast and east asian populations of *Rana limnocharis* (Amphibia: Anura), with special reference to sympatric cryptic species in Java. *Zool. Sci.* 15(4):607-13. doi: 10.2108/0289-0003(1998)15.
- Vassilieva, A. B., J. S. Lai, S. F. Yang, Y. H. Chang, and N. A. Poyarkov Jr. 2015. Development of the bony skeleton in the Taiwan salamander, *Hynobius formosanus* Maki, 1922 (Caudata: Hynobiidae): heterochronies and reductions. *Vertebr. Zool.* 65: 117-130.
- Xiong, J., B. Zhang, Q. Liu, T. Pan, and J. Gou. 2019. Sexual dimorphism in the Chinese endemic species *Pachyhynobius shangchengensis* Fei, Qu and Wu, 1983 (Urodela: Hynobiidae). *PeerJ*. 7:e6408. doi: 10.7717/peerj.6408.
- Xiong, J., X. Liu, L. Qing, and X. Zeng. 2014. Comparison of vomerine tooth rows in juvenile and adult *Hynobius guabangshanensis*. *Vertebr. Zool.* 64(2):215-220.
- YARTSEV, V. V., and V. N. KURANOVA. 2015. Seasonal Dynamics of Male and Female Reproductive Systems in the Siberian Salamander, *Salamandrella keyserlingii* (Caudata, Hynobiidae). *Asian Herpetological Research*. 6. 169-183. 10.16373/j.cnki.ahr.140033.
- Zelditch, M. L., J. Ye, J. S. Mitchell, and L. S. Donald. 2017. Rare ecomorphological convergence on a complex adaptive landscape: Body size and diet mediate evolution of jaw shape in squirrels (Sciuridae). *Evol.* 71(3):633-649. doi: 10.1111/evo.13168.
- Zhang, P., Y. Q. Chen, H. Zhou, Y. F. Liu, X. L. Wang, T. J. Papenfuss, D. B. Wake, and L. H. Qu. 2006. Phylogeny, evolution, and biogeography of Asiatic Salamanders (Hynobiidae), *PNAS* 103(19):7360-7365
- Zhang, X., J. Xiong, Y. Lv, L. Zhang, and Y. Sun. 2014. Sexual size and shape dimorphism in the Wushan salamander, *Liua shihi* (Liu, 1950) (Urodela: Hynobiidae). *ITAL J ZOOL.* 81(3):368-373.
- Zhu, W., C. Bai, S. Wang, C. Soto-Azat, X. Li, X. Liu, and Y. Li. 2014. Retrospective survey of museum specimens reveals historically widespread presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in China. *Ecohealth*. 11(2):241-250.