

觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤

雪霸國家公園管理處委託辦理研究報告

中華民國 106 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)

觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤

受委託者：中國文化大學 生命科學系

中國文化大學 森林暨自然保育系

中國文化大學 地理學系

研究主持人：巫奇勳 助理教授

協同主持人：謝佳宏 助理教授

洪念民 副教授

研究人員：李昱、鐘意淳、范智凱

雪霸國家公園管理處委託辦理研究報告

中華民國 106 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)

目次

目次	III#
誌謝	IV#
表次	V#
圖次	VI#
摘要	VIII#
第一章、緒論	10#
第二章、材料與方法	15#
第三章、結果與討論	23#
第四章、結論與建議	64#
第五章、參考文獻	67#
附錄	73#

誌謝

本研究的完成要感謝以下參與人員，主要參與野外調查與室內實驗執行的李昱、劉鎮、范智凱、鐘意淳、蔡昕芸、吳郡易與彭姿穎。此外，也要感謝以下人員支援野外調查，包括薛永志、陳智榮、呂嘉偉、宋欣穎、陳柏璋、譚天常與邱筱雯。最後要特別感謝已故的臺灣師範大學生命科學系的賴俊祥博士提供拉拉山族群的組織做為遺傳分析之用。

表次

表 3-1. 觀霧山椒魚捕獲記錄	27
表 3-2. 觀霧地區山椒魚的捕獲率比較	30
表 3-3. 山椒魚水平移動距離與垂直移動距離	56
表 3-4. 本研究使用之山椒魚樣本數量與採樣地	59
表 3-5 本研究使用 12 組微衛星基因座	60
表 3-6 各族群之數量、等位基因數(N_A)、特有等位基因數(N_P)、異型合子觀測值(H_o)、異型合子期望值(H_e)、近親交配指數(F_{IS})和哈溫平衡檢測(HWE)	60
表 3-7 觀霧山椒魚(<i>Hynobius fuca</i>)族群間微衛星基因座遺傳距離 (Genetic distance, D_{AS}) 與遺傳分化指數 (Fixation index, F_{ST}) (粗體字) ...	60
附錄 審議資料	74

圖次

圖 2-1. 觀霧長期監測的樣區	15
圖 2-2. 使用 RECCO R9 野外追蹤裝置嘗試追蹤觀霧山椒魚區	20
圖 3-1. 觀霧地區山椒魚下頷圖譜	35
圖 3-2. 棲蘭山地區山椒魚下頷圖譜	35
圖 3-3. 觀霧地區山椒魚的月數量變化	36
圖 3-4. 觀霧山椒魚的吻肛長與所利用的遮蔽物面積相關圖	36
圖 3-5. 觀霧山椒魚的體重與所利用的遮蔽物面積相關圖	37
圖 3-6. 各調查點遮蔽物底下所調查到的其他動物與利用比率	37
圖 3-7. 巨木群步道遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	40
圖 3-8. 大鹿林道西線遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	41
圖 3-9. 試驗棲地遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	42
圖 3-10. 大鹿林道東線遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	43
圖 3-11. 臻山步道遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	43
圖 3-12. 棲蘭山地區遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化	44
圖 3-13. 所有樣區遮蔽物底下同時期的均溫比較	45
圖 3-14. 觀霧(巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑)、棲蘭與北插天山的環境氣溫變化	46
圖 3-15. 觀霧(巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑)、棲蘭與北插天山的環境濕度變化	47
圖 3-16. 調查到的觀霧山椒魚數量與每次調查日前一週的平均日氣溫相關圖	48
圖 3-17. 調查到的觀霧山椒魚數量與每次調查日前一週的平均日降雨量相關圖	49
圖 3-18. 巨木群步道與大鹿林道西線調查前一週平均微棲地溫度與調查隻數相關圖	50
圖 3-19. 巨木群步道與大鹿林道西線調查前一週平均濕度與調查隻數相關圖	51
圖 3-20. 觀霧與棲蘭山族群的在不同溫度馴化後的溫度耐受度比較	53

圖 3-21. 觀霧與棲蘭山族群的在不同溫度馴化後的選溫比較	54
圖 3-22. 所有重複捕捉個體的經緯度分布	56
圖 3-23. 重複捕捉個體的經緯度分布(巨木群步道)	57
圖 3-24. 重複捕捉個體活動範圍推估	57
圖 3-25. 觀霧山椒魚應用鄰域加入法重建之系統發生樹	61
圖 3-26. 貝氏歸群法分析觀霧山椒魚族群遺傳結構，圖示為 K 值 2-7，最佳 K 值為 2	62
圖 3-27. 貝氏歸群法分析觀霧山椒魚族群遺傳結構，圖示為 K 值 2-3，最佳 K 值為 2	63

摘要

本計畫延續在過去監測的樣點內監測觀霧山椒魚的族群時空分布，並將應用微衛星體 DNA (microsatellite DNA) 做為分子標記分析族群遺傳資料以評估族群間的基因交流程度與遷徙能力推估。此外，也將透過個體追蹤方法瞭解觀霧山椒魚的微棲地利用與活動模式、研究溫度偏好以及推估氣候變遷對其分布的影響。我們使用封閉族群捉放再捕捉模式去估算觀霧地區巨木群步道的觀霧山椒魚的族群量。結果顯示推估的族群量是 82 隻，而族群密度是每公頃 16 隻(以有發現個體所推估的分布面積 50836 平方公尺來看)。透過重複捕捉個體資料，也顯示個體對棲地的高依戀性與低移動性。觀霧地區與棲蘭山地區的觀霧山椒魚的選溫偏好不受馴化溫度所影響，顯示觀霧山椒魚面對氣候暖化時，可能無法即時反應棲地溫度環境的改變去調整溫度偏好以適應新的環境，如此我們會預期暖化會對族群產生一定的衝擊。應用微衛星(microsatellite)基因座於觀霧山椒魚族群遺傳分析。貝氏歸群分析顯示觀霧山椒魚分為 3 大群：觀霧群、北橫群與棲蘭山群。觀霧地區 4 族群地理距離近，族群間無遺傳分化，彼此組成關聯族群，而族群間基因交流助於維持遺傳多樣性。巨木群步道族群有近親交配現象，顯示棲地依戀性高，可能造成遺傳多樣性喪失，不利於適應演化。

關鍵字: 溫度偏好、馴化能力、族群遺傳、微衛星體 DNA、氣候暖化

Abstract

The main aims of this project are to keep monitoring a temporal and spatial distribution of *Hynobius fucus* and to use microsatellite DNA markers for estimating gene flow and migration rate among their populations. Additionally, we will investigate microhabitat selection and patterns of individual movement by tracking methods, to study preferred temperature, and to predict impacts of climate change on the distribution of *H. fucus*. Results of this project will be helpful to assess strategies for conservation of *H. fucus*, which is considered as a vulnerable species affected by a warming climate. We estimated population size of *H. fucus* in Guanwu with a closed population capture-recapture model. The estimated population size is 82 and the density is 16 salamanders/ha (50836 m²). A limited mark-recapture data showed that *H. fucus* moved little and exhibited strong site-fidelity. Results showed that acclimation temperature did not influence the selected temperature of *H. fucus* of Guanwu and Chilan, suggesting they may not adjust preferred temperature in response to temperature variation of habitat for adaptation to new environment. Therefore, we predict they would be impacted by climate change. Microsatellite loci were used for population genetic analysis of *Hynobius fucus*. *Bayesian clustering* analysis revealed three genetic groups of *H. fucus*: GW, NCIH, and K. Genetic divergence was not observed among four populations of GW. The four populations of GW could make up a metapopulation and maintain the genetic diversity. Inbreeding was observed in the SB population of GW, it supports the site-fidelity hypothesis and may result in the loss of genetic diversity.

Keyword: *Hynobius fucus*, thermal selection, acclimation capacity, population genetics, microsatellite DNA, and climate warming

第一章、緒論

一、研究緣起與目的

全球氣候暖化影響物種的分布與生存繁衍。目前的研究普遍認為亞熱帶或熱帶物種會比溫帶物種面臨更大的暖化危機(Deutsch et al. 2008; Tewksbury et al. 2008)，而棲息於高海拔的物種，特別是外溫動物，被認為首當其衝。生活在低緯度高海拔的山椒魚被認為是最適合用來評估氣候暖化對生態系影響的指標生物(呂與賴 2010)。台灣的山椒魚是分布在世界緯度最低的區域，即台灣是世界山椒魚科動物分布的最南界，對於這類偏好低溫條件的溫帶生物而言，預期牠們未來將是受暖化威脅影響最大的物種類群之一。要評估氣候暖化對山椒魚的影響，整合野外棲地溫度變化資料、溫度生理學與族群遺傳學的資料分析有其必要性，將有助於更深入的評估(巫與謝 2015)。

從地理分布與族群表現的遺傳分化來看，顯示觀霧山椒魚是適合探討氣候暖化影響的理想模式生物。觀霧山椒魚是台灣海拔分布範圍最廣的山椒魚(Lai and Lue 2008)，目前主要分布皆在雪山山脈的西北側，北插天山為目前已知海拔分布的最低點(海拔 1310 公尺)，而觀霧屬於已知海拔分布的最高地點地區(海拔 2230 公尺)(呂與賴 2010)。全球暖化影響，使得生存在低緯度高海拔的山椒魚受到極大威脅，氣溫的上升可能讓偏好低溫的山椒魚的散播能力受到限制，造成族群間的隔離。先前應用粒線體基因進行觀霧山椒魚族群遺傳分析，結果顯示觀霧地區遺傳多樣性偏低，樣點間無顯著遺傳分化，評估全球暖化發生時，遺傳結構單純，可能影響對環境的適應性改變，導致滅絕的可能。北橫沿線為觀霧以外，族群數量最多的地區(呂與賴 2010)，遺傳多樣性分析顯是北插天山拉拉山族群與觀霧三地族群間具遺傳分化現象，顯示基因交流受限(巫與謝 2015)。遺傳多樣性的

維持對於觀霧山椒魚的環境適應與保育策略將扮演重要的角色。有效族群大小變動分析，指出過去最近一次最大冰期時觀霧山椒魚呈現族群擴張現象，冰河退去進入間冰期時顯示族群衰退現象，目前觀霧山椒魚分佈地區可能為目前處於間冰期的避難所。巫與謝(2015)從標記再捕捉的結果推測觀霧山椒魚的棲地依戀性高，可能顯示其遷移能力低。然而，由於個體再捕獲率低且族群數量依季節有明顯變化，也可能表示觀霧山椒魚遷移能力並不弱，但目前仍無法克服技術上的問題去追蹤其活動與遷徙範圍。低度遷移性物種通常具有近親交配現象，而高度遷移性物種通常呈現隨機交配，本年度計畫將應用微衛星(microsatellite)基因座，計算近親交配指數與族群遺傳結構分析推測其遷移能力。本研究提供觀霧山椒魚族群遺傳結構資訊，預期成果將可更完整評估觀霧山椒魚保育地位，並有助於擬定維持遺傳多樣性的保育策略。

欲探討環境變動(特別是氣候暖化)對物種族群動態的影響，長期且持續的監測資料收集有其必要性與重要性。因此，本計畫仍將延續委辦單位過去所監測樣點的觀霧山椒魚族群監測與時空分布調查，以及微棲地溫度資料的收集，也將嘗試擴大調查範圍以增進對山椒魚繁殖習性與環境條件的瞭解；此外，也繼續評估個體野外追蹤的可行性，期能瞭解其日夜與季節性的活動模式、活動距離與範圍，並結合室內溫度偏好資料，以瞭解微棲地選擇與環境因子(特別是溫度)之間的關係。

二、研究目標

- (一) 監測觀霧山椒魚族群及族群量空間分布監測。
- (二) 辦理觀霧山椒魚活動範圍追蹤。
- (三) 觀霧山椒魚近親交配及遺傳資訊測定。
- (四) 可瞭解觀霧山椒魚生活習性並評估族群數量。

三、主題背景及有關研究之探討

微棲地維持相對穩定的低溫，可能是吸引觀霧山椒魚利用的主要因素之一（巫與謝 2015）。觀霧山椒魚的高溫耐受度(Critical Temperature Maximum: CTMax)約 30°C，會表現一定的溫度馴化能力，從不同樣點觀霧山椒魚的暖化耐受度表現不同來看，顯示不同棲地個體未來面臨氣候暖化威脅不同，凸顯維護山椒魚棲地的重要性(巫與謝 2015)。然而，雖然目前我們已經對觀霧山椒魚的微棲地的基本條件(毛 2009；呂與賴 2010；歐等 2014)，特別是溫度條件與變化(巫與謝 2015)，以及溫度生理表現有基礎的瞭解，但對於其活動模式、活動距離與範圍，以及微棲地選擇與溫度偏好之間的關係所知仍十分有限。呂與賴(2010)曾依據北插天山觀霧山椒魚的重複捕捉資料，估計其活動範圍約 2.5 至 55.8 m²，但沒有實際使用追蹤技術去實際瞭解其活動模式與範圍。從有尾類的微棲地利用習性來看，其微棲地利用常受到濕度所限制，因此牠們利用的微棲地可能都屬於溫度異質性較低的環境(即較不能提供多樣溫度選擇條件的微棲地)，這使得牠們常被認為不善於以行為方式選溫(Camp et al. 2013)，倘若如此，在氣候暖化下，牠們將無法因應環境溫度條件改變去適當調整自己的溫度偏好，而限制牠們的棲地利用與分布，進而影響族群的延續。

透過溫度偏好的瞭解，也有助於瞭解有尾類的生活習性與反應的生態意義。例如，斑泥鰍(*Necturus maculosus*)，夜間的喜好溫度最高，顯示其高度的夜行性(Hutchison and Spriestersbach 1986)。紅背無肺鰍(*Plethodon c. cinereus*)的選溫有季節性不同，可能與延遲生長或度冬等因素有關(Feder and Pough 1975)。外溫動物的溫度調節策略可能會反應棲地溫度條件而調整(Piasečná et al. 2015)。溫度偏好可能受溫度馴化而不同，即溫度馴化能力(acclimatory capacity)可能不同。溫度馴化能力低的物種被認為在未來受到氣候暖化的影響可能比較大(Stillman 2003; Calosi et al. 2008)，因為較缺乏氣候暖化時的溫度生理調整能力。溫度馴化能力會影響動物的溫度偏

好，甚至高低溫馴化所產生的影響不同。例如，Stauffer et al.(1983)的研究顯示，高溫產生的馴化效應對共域蝾螈的溫度偏好影響較大，而低溫馴化對蝾螈溫度偏好的影響較小。棲地溫度條件不同除了會影響兩棲類的溫度偏好，也可能影響其選溫能力(Wu and Kam, 2005)。例如，生活在溫泉的日本蝌蚪會有較強的選溫能力，可能與溫泉的水溫變化較冷水環境劇烈，蝌蚪在這樣的環境下須要有精確的選溫能力以因應溫泉的高溫變化，或者是因為相較於溫泉提供的溫度梯度環境，冷水域水溫變化幅度小，較缺乏選溫的條件所致 (Wu and Kam, 2005)。因此，棲地的溫度條件將可能關係到山椒魚的溫度偏好與溫度適應能力。由於溫度會影響兩棲類直接的生存，也會影響其溫度馴化能力，因此，選擇有理想溫度的微棲地對蝾螈很重要。溫度、食物分布與掠食者都會影響蝾螈的微棲地選擇，但影響蝾螈棲地選擇的主要因子會因日夜而不同(Holomuzki 1986)。微棲地的溫濕度條件可能會透過影響落葉層的無脊椎動物的數量而影響有尾類的分布，進而可能影響整個生態系(Walton 2013)。

觀霧山椒魚為臺灣產五種山椒魚中海拔分布最低的物種，主要分布於雪山山脈西北側的巴陵、北插天山、南插天山、鴛鴦湖、棲蘭山、明池、霞喀羅古道及觀霧等地區 (毛 2009；呂和賴 2010)，而北插天山所捕獲個體數量最多並評估為最適合長期監測的地點(呂，2008)。粒線體cyt-b基因序列所重建親緣關係樹，顯示觀霧山椒魚可分為兩個主要支系，分別為觀霧支系與北橫支系(Lai and Lu 2008)。臺灣產山椒魚群遺傳研究方面，目前僅數量最多的阿里山山椒魚曾被研究，中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈族群間存在顯著遺傳分化，表示山脈的隔離限制了基因交流(賴 2008)。前期研究已針對雪霸國家公園內觀霧地區的觀霧山椒魚族群應用粒線體基因進行族群遺傳分析，顯示遺傳多樣性偏低，全球暖化氣候變遷時可能限制其適應能力。觀霧族群與拉拉山族群和北插天山族群等三地間具遺傳分化現象，顯示山脈的隔離亦限制了觀霧山椒魚的基因交流。

山椒魚遺傳多樣性分析方面，國內外大多都是利用粒線體基因來分析，然而粒線體為母系遺傳，單性遺傳分析可能產生偏差，雙性遺傳資訊可以提供較多資訊。近年微衛星(microsatellite) DNA已應用於山椒魚遺傳多樣性分析，日本北海道的蝦夷山椒魚(*Hynobius retardatus*) (Matsunami et al. 2015, 2016)應用微衛星基因座分析種化後的族群遺傳結構，顯示族群間基因交流程度低，各族群的有效族群大小具差異性，顯示微衛星基因座分析助於瞭解族群遺傳結構與族群變動。

本研究將針對觀霧山椒魚進行族群遺傳結構探討，前人研究顯示山椒魚的遷移能力低，棲地依戀性高(毛 2009)，但根據2016年觀霧地區觀霧山椒魚調查，總共捕獲26隻個體，其中僅有4隻為螢光標示過的個體，再補獲率約15%。個體再捕獲率低且族群數量依季節有明顯變化，推測觀霧山椒魚遷移能力並不弱，但目前仍無法成功有效的追蹤其遷移範圍。因此，本研究應用微衛星基因座，檢測族群遺傳結構與計算其近親交配指數，藉此推測其遷移能力。近親交配指數低顯示遷移能力佳，近親交配指數高則表示棲地依戀性高。遺傳多樣性分析資訊，有助於評估觀霧山椒魚保育地位與保育策略擬定參考。

第二章、材料與方法

一、研究地區

本研究的主要研究地點位於觀霧遊憩區及周邊地區，包括觀霧山椒魚試驗棲地及其周邊、大鹿林道東線及西線、巨木群步道、榛山步道等地區(圖 2-1)。此外，也納入北插天山族群(低海拔族群)與棲蘭山族群(主要是 100 與 160 林道)的族群遺傳分析與溫度偏好資料的收集，以比較不同海拔族群個體的溫度偏好、選溫能力以及比較不同地區族群之遺傳多樣性，瞭解棲地切割與地理分化對族群遺傳多樣性可能的影響。此外，遺傳分析也納入拉拉山的樣本進行分析，樣本由賴俊祥博士生前所提供。



圖2-1. 觀霧長期監測的樣區。

二、研究方法

A. 族群監測

1. 調查方法

自 2017 年 1 月開始進行調查。族群調查與監測方式將採固定範圍法 (area-constrained survey)，此法為國內山椒魚調查所建議採用(呂與賴 2010, 2012)。觀霧地區的監測頻度每個月一次，其他地區則視採集需求調整頻

度。調查時採多人進行。調查時，沿著樣區，徒手翻開石頭或倒木(並記錄翻閱數)，檢視是否有山椒魚，記錄調查開始與結束時間，並記錄當時的氣溫與天候。此外，在翻尋的過程中，若在遮蔽物底下有發現其他動物(主要是脊椎動物、高山澤蟹與蟻窩等資料)也會一併做記錄。翻到山椒魚時，會在發現處旁插入標牌並編號，同時紀錄微棲息地的相關資料，包括遮蔽物類型(石頭或木頭)以及記錄上面是否長有苔蘚或其他植物；此外，也在遮蔽物上面擺放比例尺，拍攝照片，之後使用 image J 軟體 (<http://imagej.nih.gov/ij/>) 計算遮蔽物的投影面積，以分析山椒魚體型與遮蔽物投影面積大小的相關性。會將捕獲的山椒魚進行體重測量，並將個體擺放至方格紙上拍照記錄；由於觀霧山椒魚的下頷斑紋可做為個體辨識(歐辰雄 et al. 2014)，因此也特別針對下頷進行拍照。頭長、頭寬、體長以及尾長的測量是使用 image J 軟體進行照片上的測量。

2. 族群量與密度估算

從以往的調查資料顯示，巨木群步道有最穩定的山椒魚調查記錄與重複捕捉資料，因此我們選擇巨木群步道的族群進行山椒魚族群量與密度估算。為了降低月份之間捕捉率的差異，我們以一年的捕捉資料為單位，針對 2015 年至 2017 年間標記與再捕捉的個體，利用 MARK 程式，以 Closed population capture-recapture model 進行初步的族群量計算。而族群活動面積的估算，則是利用 ArcGIS 將巨木群步道調查到的山椒魚點位以最小凸多邊形法估算面積，將我們所調查的範圍視為是被調查的山椒魚族群活動面積。

B. 動物採集與微環境測量

不定期自各樣區採集山椒魚以做為之後的溫度耐受度測量使用。採集時會同時記錄當時的氣溫。動物採集後均置於塑膠罐內，並擺放沾濕的海綿或落葉，然後擺入內有冰磚的冰桶內，目的是為了維持運送過程中的

低溫條件以及避免溫度有太大的波動。動物帶回實驗室後，會飼養在加蓋的塑膠箱內，箱底鋪上沾濕的白色紙巾，並擺入有自然光周期(12 小時光亮與 12 小時黑暗)的動物生長箱內，飼養溫度維持在 15°C(為原棲地的平均氣溫，數據參考自歐等 2014)。飼養期間會提供水、充足的食物(以蚯蚓為主)以及鋪上苔蘚的石塊提供躲藏。所有採集飼養的動物最後都會帶回原發現環境釋放。

一旦發現山椒魚，會在其躲藏環境底下擺放溫度自動記錄器(HOBO data logger)，以記錄這些被山椒魚所利用環境的溫度時間變化，溫度計設定每 4 小時記錄一次。之後會計算月均溫、月平均高溫以及月平均低溫，月平均高溫是每天記錄到的最高溫平均值，月平均低溫則是每天記錄到的最低溫平均值。此外，也在觀霧地區(巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑)、棲蘭山以及北插天山架設自動溫濕度記錄器，記錄氣溫(°C)與相對濕度變化(%)。為了瞭解觀霧地區每次調查到的數量與氣溫濕度之間是否有關連，也利用 2016 年 3 月至 12 月共 9 次的調查資料，使用皮爾遜積差相關分析(Pearson product-moment correlation)分析每次調查前一周的平均日氣溫或雨量，與調查到的數量之間的相關性，氣象資料來自中央氣象局觀霧測站(測站編號 C0E86)(24.49673 N, 121.06954 E)。此外，也分析巨木群步道與大鹿林道西線調查前一週微棲地平均溫度或平均相對濕度，與調查隻數之間的相關性(n=12, 資料取自 2016 年 12 月至 2017 年 11 月)。

C. 高溫耐受度、溫度偏好與溫度馴化能力

1. 高溫耐受度測量

溫度耐受度是以 CTM (Critical Thermal Maximum)作為指標，所謂臨界溫度是指動物失去平衡、緊急逃開等正常反應時的臨界溫度值，這種判定方法被廣泛使用(Hutchison 1961; Wu and Kam 2005)，其測量方式對動物的

傷害也最小。

本實驗是以恆溫循環水槽作為升溫裝置，在水槽內放置一個玻璃缸，然後在玻璃缸內置入塑膠水族箱，水族箱底部擺放過濾綿，過濾綿可墊高山椒魚以利其頭部探出水面；加水後的水位為 2 cm，並以裝有氣泡石的幫浦進行打氣，這樣可使水溫上升較為均質，也可避免動物因高溫缺氧而造成實驗判斷上的誤差。透過測量山椒魚失去正常反應(將個體翻面後，無法立即翻正)時的水溫來代表其溫度耐受度。本實驗裝置的水溫上升速率是平均每分鐘 0.4°C，比過去研究有尾類溫度耐受度所採用的溫度上升速率慢(0.5~1°C) (Hutchison 1961; Howard and Wallace 1983)，水溫改變速率緩慢可以減少動物體溫與水溫間的延遲效應(Hoppe 1978; Howard and Wallace 1983)。

每回合實驗使用 1 隻山椒魚，實驗前一天不進行餵食，測量前，會先以電子天秤秤重(濕重)。實驗的起始或下降溫度設定為飼養的溫度，在升溫前，會讓動物在預設環境中先適應 30 分鐘，之後才開始加熱(從馴化的溫度開始升溫)，待動物達到 CTMax 定義的反應時(通常對山椒魚進行翻面時，牠們會迅速翻正，但達到臨界高溫時，會失去這樣的反應)，將動物迅速撈到起始的水溫中，讓其自然甦醒。

從不同地點採集山椒魚回實驗室，會有兩組馴化溫度處理，一組馴化在 15°C，另一組馴化在 20°C。山椒魚轉至 20°C 馴化前，會以每一天升溫 1°C 的方式(以避免升溫速度太快而對山椒魚產生壓力)，從 15°C 開始進行升溫至 20°C。馴化至少一周後，個別測量兩組動物的高溫耐受度。

2. 溫度偏好與溫度馴化能力

使用長方形的梯度箱(150cm×20cm×20cm)，在兩端架設恆溫循環水槽，透過恆溫水槽的水流循環，在水流經銅圈時，會將溫度傳導到水槽兩

端而達到升溫降溫的效果，以產生溫度梯度，讓山椒魚進行選溫。水道會以塑膠板隔間，共分成 11 個區段，每個區段正中央並加裝一個小型氣泡石，以幫浦進行打氣，如此的設計可以避免箱內水溫有垂直分層現象(Wu and Kam 2005)。實驗進行時，先在水槽中加水，水位為 3.5 公分，底下以過濾棉墊高以利山椒魚在水中能仰頭，整個裝置在啟動 1.5 小時至 2 小時之後，會形成 8°C 至 22°C 範圍的梯溫，每個區段間的溫差介於 1~2°C。

會將個體馴化在 15°C 與 20°C，馴化方式同溫度耐受度馴化能力實驗，比較馴化溫度對山椒魚選溫的影響。實驗在早上 8:00 至下午 18:00 之間進行。每次實驗時，隨機將 1 隻山椒魚自梯溫箱的熱端、中端或冷端擺放，之後每隔 15 分鐘記錄一次山椒魚出現的位置與水溫(量個體體側的水溫)，連續監測 135 分鐘。前段的 75 分鐘當作是適應期，只採用最後 60 分鐘的數據求平均值做比較。游到水槽兩個末端的個體不納入數據分析，因為這表示牠們可能有更進一步(更低或更高)的選溫需求。

3. 統計分析

為了比較不同馴化溫度後的 CTMax 或溫度偏好是否有差異，分析前會先進行資料的常態與同質性檢定，若資料符合常態分佈與同質性，會使用變方分析(ANOVA)比較處理間的差異，反之，將以 Welch's t-test 分析比較。

D. 個體活動範圍推估

為推估山椒魚的活動範圍以及水平與垂直的移動距離，本研究利用歷年(歐等 2014; 巫與謝 2015)與本年度重複捕捉到個體資料進行分析，於地理資訊系統(Geography information system, GIS)繪製其活動範圍。使用開源軟體 Quantum GIS 2.12 版分析數位地理資訊，底圖來源源自 Google earth 2016 年衛星圖資。若個體被重複捕捉至少兩次，計算重複捕捉樣點間的水

平距離。若有個體被重複捕捉少三次，可利用最小凸多邊形法(minimum convex polygon)分析觀霧山椒魚個體活動範圍，可得知其大略活動範圍與活動範圍面積。

本研究欲使用 RECCO R9 小型動物個體野外追蹤裝置追蹤紀錄山椒魚的活動模式(圖 2-2)，此方法目前已有成功應用在追蹤小型兩棲類動物(Borzee et al. 2016)。追蹤研究的目的是希望透過野外個體的追蹤，瞭解個體微棲地選擇與其條件(微棲地類型、底質溫度或濕度)、活動模式(日夜、季節)、移動距離、繁殖遷移以及活動範圍推估。測試時，以紗布包裹追蹤裝置，利用醫用三秒膠(エキバン A 10g, EKIVAN 株氏會社，日本)將線圈固定在個體尾巴上。考量山椒魚的負重能力，預設山椒魚身上所背負的線圈重量約 0.2g 至 0.3g 之間，追蹤線圈長約 4cm，整組線圈系統小於動物體重的 5% (張 2002)。將山椒魚釋放回原棲地位置後，使用追蹤器對山椒魚進行追蹤。透過地理資訊系統(Geography information system, GIS)將野外記錄的點位繪製其活動範圍與評估移動距離。以最小凸多邊形法(minimum convex polygon)與核空間法(kernel method)程序計算其 MCP 活動範圍面積，95%核密度活動範圍面積與 50%核密度活動範圍面積。



圖 2-2. 使用 RECCO R9 個體野外追蹤裝置嘗試追蹤觀霧山椒魚。

E. 族群遺傳資料分析

1. DNA 粹取

做完溫度耐受實驗後的山椒魚個體，會先以 MS-222 (0.5 g/L) 進行麻醉 (Green 2001)，從尾部剪取 0.2~0.5 公分的組織，進行 DNA 粹取。本研究使用 ALS 組織 DNA 萃取試劑套組 (ALS Tissue Genomic DNA Extraction Kit, Kaohsiung, Taiwan) 萃取 DNA。根據操作手冊步驟完成 DNA 粹取，保存於 -20°C 冷凍櫃待用。

2. 微衛星基因座開發

觀霧山椒魚活體取一小段尾巴，應用液態氮將之磨碎，使用傳統 Trizol 法粹取 RNA，經電泳分析核糖體 RNA 確認品質與濃度後，保存於 -80°C，送至生技公司進行次世代定序，獲得轉錄體序列。微衛星基因座 (microsatellite) 開發則根據 5' 與 3' 非轉錄區 (untranslated region)，以 2 個核苷酸重複的微衛星基因座等位基因多型性較高，挑選包括 AT、AC、AG、TC、TG 和 CG 等 6 個類型，利用 MISA (Microsatellite identification tool) 軟體搜尋微衛星基因座序列並利用 primer3 設計引子組 (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>)。

3. 微衛星 DNA 實驗方法

微衛星基因座引子組，應用螢光引子利用 PCR 來增幅微衛星 DNA，分別是 Tail A (FAM) 藍色螢光、Tail B (VIC) 綠色螢光、Tail C (NED) 黃色螢光、Tail D (PET) 紅色螢光 (Blacket *et al.*, 2012)。PCR 之反應條件為：(1) 預熱 (prewarming) 94°C 3 分鐘；(2) 變性 (denaturing) 94°C 30 秒；(3) 黏合 (annealing) 58°C 30 秒；(4) 延伸 (extension) 72°C 30 秒；(5) 重複步驟 (2) 至 (4) 共 35 個循環；(6) 最終延長 (final extension) 72°C 30 分鐘，使反應更完全。PCR 產物經電泳分析後，利用 ABI3100 定序儀器進行 Genotyping，等位基因資訊判讀的方式利用 GENESCAN 3.1.2 軟體進行。

4. 微衛星 DNA 資料分析

遺傳變異度利用異型合子的比例來表示族群遺傳變異度，直接觀測異型合子比例為觀測值(observed heterozygosity, H_o)，而期望值(expected heterozygosity, H_e)則採用 Nei (1978) 的無偏估值計算。哈溫平衡檢測(Hardy–Weinberg equilibrium, HWE)，族群是否處於哈溫平衡的狀態，用以表示在沒有天擇壓力、突變或遷移時，族群內個體是否逢機交配，且對偶基因頻率和基因型頻率可以代代維持穩定 (Guo and Thompson, 1992)，用 X^2 或 Fisher's exact test 檢測。若檢定結果族群偏離哈溫定律，則進一步利用 score test 檢定族群內是否有異型合子偏高或不足的現象，再進一步探討原因。前述分析利用 GENEPOP web v.4.6 軟體分析 (Raymond and Rousset, 1995)。族群分化指數 (Fixation index, F_{ST})，自然狀態下，族群間交流情況會因許多環境因素而有不同，因此族群間遺傳組成亦會有差異，而族群分化指數可用來代表族群間分化程度。近親交配指數(Inbreeding coefficient values, F_{IS})， F_{IS} 值代表一個族群的近親交配程度，數值愈大代表近親交配，數值越小或接近 0 代表逢機交配。前述利用 FSTAT v.2.9.3.2 軟體分析(Goudet, 1995)。遺傳距離亦可代表族群間分化程度，在此採用 Nei's D ，利用 2 族群間對偶基因的頻率來估算遺傳相似度 I ，並由遺傳相似度轉換成遺傳距離 D ，而系統發生樹重建根據遺傳距離，使用鄰域加入法(Neighbor-joining) 來重建，並運算 100 bootstrap，利用 POPULATIONS v.1.2.30 軟體製作 (Olivier Langella, CNRS UPR9034, France) (<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>)。族群歸群分析，以貝氏歸群分析(Bayesian clustering analysis)，假設族群符合哈溫平衡，基因座間為連鎖平衡，計算基因座中基因型出現在某族群中的機率值，以此方法估算出個體出現於某族群的機率，並探討個體可能的來源族群，藉此分析族群傳結構，利用 STRUCTURE v.2.3.4 軟體分析 (Pritchard et al., 2000)。模擬族群數，K 值設定為 1-7，啟始馬可夫鏈(Markov chain Monte Carlo, MCMC) 設定為 300,000 跑完後移除，並以最終數值為先驗值再繼續跑 500,000

MCMC。前述過程進行 5 次獨立運算，Log-likelihood 數值應用於計算 ΔK 確認最佳族群數 (Evanno et al., 2005)。

第三章、結果與討論

一、山椒魚普查和固定樣區調查

本年度調查(也將去年 12 月調查資料納入)至今，總共在觀霧地區翻閱 31155 個遮蔽物(石頭與木頭)，共記錄到 58 隻次觀霧山椒魚(捕獲率約 18 隻/10000 翻閱數)，其中新記錄個體有 46 隻，剩下 2 隻個體(巨木群步道)由於遺漏下頷照片，因此缺乏個體身分資料(表 3-1、表 3-2)。目前的平均捕獲率較去年度調查高(捕獲率約 12 隻/10000 翻閱數，巫與謝 2016)，平均捕獲率較高可能與本年度開始調查的時間較早，時間點為山椒魚較常出沒的季節有關。調查到的個體中有 10 隻為再捕獲個體(扣除追蹤實驗期間野放又再捕捉的個體)，其中 3 隻為本年度的重複捕捉個體(f1706、f 與 f1729)，有 2 隻為去年所捕捉過的個體(編號分別是 f1601 與 f1609)(巫與謝 2016)，1 隻為前年捕捉的個體(f1506) (巫與謝 2015)，而剩下 2 隻個體分別為歐等在 2013 與 2014 所捕捉過的個體(f1306 與 f1401)。

北插天山僅調查到 1 隻個體(遮蔽物翻閱數:4828 個，捕獲率約 2 隻/10000 翻閱數)；棲蘭山調查到 10 隻個體(遮蔽物翻閱數:1554 個，捕獲率約 64 隻/10000 翻閱數)，其中 1 隻為重複捕捉個體(fk1601)。三個地區(觀霧、棲蘭山與北插天山)共調查到的個體為 68 隻次，除了逃逸個體外，所有個體都建立下頷斑紋圖譜(圖 3-1、圖 3-2)。

在觀霧地區的調查中，在巨木群步道、大鹿林道西線與山椒魚試驗棲地等三個樣區發現觀霧山椒魚，與過去兩年一樣，此區每個月都有調查到個體。從數量分布來看，仍以巨木群步道所調查到的數量最多(41 隻次，31 隻新個體)，大鹿林道西線次之(15 隻次，均為新個體)，試驗棲地

最少(2 隻次，無新個體)。此外，本年度由於巨木群林道已正式開放，所以也在過林道 2.5K 處的巨木群地區進行調查，但沒有發現任何個體。比較三個區域的捕獲率(表 3-2)，巨木群步道捕獲率為 0.0025 隻/翻閱數(約 25 隻/10000 翻閱數)，大鹿林道西線捕獲率 0.0013(約 13 隻/10000 翻閱數)，試驗棲地捕獲率為 0.0006(約 6 隻/10000 翻閱數)。與往年調查比較，巨木群步道仍為本區最穩定能發現山椒魚的地區(呂與賴 2010；歐等 2014；巫與謝 2015、2016)。從月變化來看，調查到的隻次與捕獲率變化趨勢相符，四月份調查到的數量最多，五月與八月紀錄最少(圖 3-3)，與往年調查結果相似(歐等 2014；巫與謝 2015、2016)。然而，今年六月與七月所調查到的數量卻比往年同時期多，甚至七月份所記錄到的數量還是全年度最高(圖 3-3)，類似的情況也發生在 2014 年的調查(歐等 2014)。巨木地區除 2 月、5 月與 8 月沒有發現個體，其餘月份都有紀錄；而大鹿林道西線在 12 月、4 月以及八到十月之間沒有發現個體；試驗棲地僅在二月與八月有發現個體。

觀霧地區捕捉到的最大的個體吻肛長為 72.6 mm (體重 6.03 g)，是試驗棲地所發現的個體(f1401)，最小的個體(f1703)吻肛長 23.97 mm (體重 0.49 g)在大鹿林道西線發現(表 3-1)。個體的平均吻肛長為 49.6 ± 10.3 mm (N=51)，平均體重為 3.4 ± 1.7 g (N=51)，與過去兩年所調查的個體資料(吻肛長： 50.0 ± 0.8 mm；體重： 3.3 ± 1.1 g，巫與謝 2016；吻肛長： 50.2 ± 9.9 mm；體重： 3.3 ± 1.5 g，巫與謝 2015)，以及歐等(2014)累積三年的資料(吻肛長： 52.0 ± 10.8 mm；體重： 3.4 ± 1.6 g)相近。觀霧的個體有 5 隻是亞成體(f1624、f1703、f1718、f1727 與 f1740)(以體長超過 30 mm 的個體做為成體判定標準，呂與賴 2010)，成體捕獲機率較高的情況與先前研究相符(歐等 2014；巫與謝 2015、2016)。棲蘭山個體的平均吻肛長為 47.1 ± 10.5 mm (N=10)，平均體重為 2.9 ± 1.1 g (N=10)，其中有 1 隻是亞成體。若扣除亞成體，棲蘭山族群個體(平均體長 51.1 ± 4.9 mm，平均體重為 3.1 ± 0.7 g，N=9)的體型較觀霧族群的個體(平均體長為 51.8 ± 8.1 mm，平均體重為 3.7 ± 1.5 g，N=51)小。北插天山有發現一隻個體，但個體逃逸。

所有個體都在石塊下被翻閱到，與先前的研究結果相符(呂與賴 2010；歐等 2014；巫與謝 2015、2016)；這些遮蔽物附著苔蘚的比例與分布的地點有關，巨木群步道 97%的石塊有苔蘚，但大鹿林道西線只有 50%的石塊上有苔蘚。此外，棲蘭山族群石塊上有苔蘚的比例也很高(89%)。這些遮蔽物上頭適合生長這些植物，通常也反映這些環境濕度與位置穩定性較高(呂與賴 2010)。此外，我們也使用過去兩年的資料(N=29)分析山椒魚體型(吻肛長與體重)與遮蔽物大小之間的關係，結果顯示吻肛長與石頭投影面積呈現負相關($r = -0.26$)，結果不顯著($p=0.187$) (圖 3-4)，而體重與石頭投影面積也呈現類似結果($r = -0.27$ ， $p=1.066$) (圖 3-5)。

本年度觀霧地區重覆捕捉個體總共有 9 隻(表 3-1)，重複捕捉的個體第一次被捕捉的時間為非本年度的有 5 隻(f1306、f1401、f1506、f1601 與 f1609)，其餘 4 隻為本年度所捕捉，以下僅就非本年度重複捕捉的個體做討論。在試驗棲地所發現的兩隻個體，過去均有 3 次以上的捕捉紀錄，其中 f1306 最早的捕捉紀錄是 2013 年 2 月，相較於最近一次的捕捉紀錄(2014 年 8 月 15 日)，體全長略增加，且體重(6.78g)增加較先前重(5.6g, 歐等 2014)。f1401 過去曾有三次捕捉紀錄(最早的捕捉紀錄是 2014 年 1 月)；相較於最近一次的捕捉紀錄(2016 年 4 月 2 日)，體全長差異不大，但體重(6.03g)較先前記錄(5.47g)重。其餘 3 隻再捕獲個體均在巨木群步道發現，個體 f1506 距離上一次被捕捉時間(2015 年 5 月 14 日)已相隔約兩年，體全長(86.8mm)與體重(3.27g)均較先前的體全長(75mm)與體重(2.87g)增加。個體 f1601 上一次被捕捉時間是 2016 年 3 月 5 日，體長(86.2mm)較去年(82.8mm)增加，但體重(2.8g)較先前(3.23g)減少。個體 f1609 上一次被捕捉時間是 2016 年 5 月 14 日，體長(98.3mm)與體重(5.77g)均較去年的體長(87.6mm)與體重(4.1g)增加。棲蘭山地區重覆捕捉個體為去年唯一捕獲的個體(fk1601)，體長與去年差異不大，但體重(3.8g)較去年(4.15g)輕。

調查過程中，會利用遮蔽物底下環境的主要脊椎動物，包括兩棲類 3 科 3 種(盤古蟾蜍、梭德氏赤蛙與莫氏樹蛙)；爬行動物 4 科 5 種(短肢攀蜥、麗紋石龍子、臺灣蜓蜥、標蛇、菊池氏龜殼花)，紀錄到的爬行動物在

先前觀霧地區的研究調查中都有發現(歐等 2014; 巫與謝 2015、2016)。以地點分布來看(圖 3-6)，大鹿林道西線記錄到的脊椎動物最多種(6 種)且數量也最多。標蛇是在大鹿林道西線發現，過去也在巨木群步道、試驗棲地與大鹿林道東線紀錄過，是目前調查樣區內所知分布最廣的蛇類。此外，菊池氏龜殼花(*Trimeresurus gracilis*)是近三年首見紀錄;短肢攀蜥的紀錄是其所產的卵。在無脊椎動物方面，我們主要針對淡水蟹(高山澤蟹 *Geothelphusa monticola*)與蟻窩做記錄，這兩類動物的出現比率一般也反映環境的溫濕度條件。高山澤蟹偏好濕度較高的環境，紀錄顯示主要出沒在巨木群步道，而其他樣區紀錄較少，與往年結果相符(巫與謝 2015、2016)。蟻窩在所有樣區都有分布，一般出現在濕度較低的環境，以大鹿林道西線所記錄到的比例(以遮蔽物為單位)較高，而巨木群步道被螞蟻利用的比率最低(圖 3-6)，與往年結果相符(巫與謝 2015、2016)。遮蔽物底下的動物可能是觀霧山椒魚掠食者(如蛇類)或競爭者，然而，本年度有紀錄山椒魚同時與高山澤蟹(2 筆資料，均在巨木群步道)、梭德氏蛙與蟻窩(各 1 筆資料，均在大鹿林道西線)同時在一個遮蔽物底下出現的情況。

二、族群量與密度估算

利用 ArcGIS 估算出來的巨木地區山椒魚族群面積為 50836 平方公尺。我們將 2015 年至 2017 年每年標放與再捕捉個體，將巨木地區的觀霧山椒魚視為封閉族群進行計算。封閉族群的假設是在調查取樣的時間範圍內，族群沒有出生、死亡、遷入與遷出等因子造成影響，換言之族群在每次調查之間的豐富度均是相等的。因為缺乏觀霧山椒魚的族群動態資料，我們使用‘Full Likelihood p and c’ model (Otis et al. 1978)，預設每隻山椒魚的捕捉機率(p)與再捕捉機率(c)在年度之間均不會因為調查而改變。估算出的族群數量為 82 隻(95%信賴區間上界：82.000000；下界：82.000009)。由於我們都是翻閱遮蔽物做調查，所以反應出來的是最保守(依據遮蔽物底下的個體所估算)的山椒魚的密度，為 0.0016 隻/平方公尺(16 隻/公頃)。

表 3-1. 觀霧山椒魚捕獲記錄。

個體編號	地點	海拔 (M)	日期	體重 (g)	肋溝數	四肢趾式	吻肛長 (mm)	頭長 (mm)	頭寬 (mm)	尾長 (mm)	備註
f1623	巨木群步道	1998	2016.12.24	3.72	11	4-4-4-4	53.78	12.75	9.13	29.35	
f1624	巨木群步道	2109	2016.12.24	0.73	11	4-4-4-4	29.43	6.8	5.77	19.04	
f1625	巨木群步道	2089	2016.12.24	5.03	11	4-4-4-4	61.95	14.3	10.3	41.51	
f1701	巨木群步道	1975	2017.01.18	2.98	11	4-4-3-3	49.9	11.64	8.2	27.87	
f1702	大鹿西線	2101	2017.01.19	1.49	11	4-4-4-4	36.49	9.87	7.2	24.01	
f1703	大鹿西線	2118	2017.01.19	0.49	10	4-4-4-4	23.97	6.34	4.515	13.72	
f1704	大鹿西線	2058	2017.01.19	5.12	11	4-4-4-4	57.72	13.5	10.18	33.53	
f1705	大鹿西線	2077	2017.02.25	4.66	11	4-4-4-4	58.66	13.86	9.34	40.58	
f1706	巨木群步道	2090	2017.03.18	4.44	11	4-4-4-4	57.04	13.4	8.42	34.72	
f1707	大鹿西線	2078	2017.03.18	4.26	11	4-4-4-4	52.89	12.52	8.65	32.92	
f1708	大鹿西線	2071	2017.03.18	4.62	11	4-4-4-4	56.84	14.28	9.63	37.4	
f1709	大鹿西線	2047	2017.03.18	4.62	12	4-4-4-4	58.09	13.28	9.6	32.48	
fk1701	棲蘭 160	1967	2017.03.22	3.1	11	4-4-4-4	50.61	13.18	8.93	31.66	
fk1702	棲蘭 160	1982	2017.03.22	0.36	12	4-4-4-4	22.8	6.27	4.6	16.07	
fk1703	棲蘭 160	2000	2017.03.22	2.92	11	4-4-4-4	52.26	12.82	9.38	36.06	
fk1704	棲蘭 160	1969	2017.03.22	2.53	12	4-4-4-4	46.75	11.82	8.27	32.37	
fk1705	棲蘭 160	1960	2017.03.22	3.73	11	4-4-4-4	59.95	14.2	9.39	39.4	
fk1706	棲蘭 100	1881	2017.03.22	3.27	11	4-4-4-4	45.49	11	8.71	31.76	
fk1707	棲蘭 100	1883	2017.03.22	3.85	11	4-4-4-4	50.77	12.6	8.97	37.02	

fk1708	棲蘭 100	1856	2017.03.23	1.83	11	4-4-4-4	36.47	9.76	7.18	24.62
fk1709	棲蘭 100	1901	2017.03.23	3.25	11	4-4-4-4	54.63	13.52	8.51	30.5
f1710	巨木群步道	2109	2017.04.15	4.95	10	4-4-4-4	57.34	12.17	9.76	27.27
f1711	巨木群步道	2111	2017.04.15	2.35	11	4-4-4-4	48.5	10.91	7.35	22.3
f1712	巨木群步道	2072	2017.04.15	2.6	11	4-4-4-4	49.17	11.71	7.96	25.05
f1713	巨木群步道	2073	2017.04.15	2.99	10	4-4-4-4	52.96	12.49	9.08	26.59
f1714	巨木群步道	2078	2017.04.15	5.79	11	4-4-4-4	63.34	13.45	9.48	30.33
f1715	巨木群步道	2095	2017.04.15	5.32	12	4-4-4-4	60.49	12.73	9.92	31.41
f1716	大鹿西線	2101	2017.05.20	4.46	12	4-4-4-4	59.56	13.61	9.89	32.55
f1717	巨木群步道	2074	2017.06.29	4.42	11	4-4-4-4	56.4	12	9.3	35.6
f1718	巨木群步道	2077	2017.06.29	0.87	11	4-3-4-4	29.8	7.9	6	20.3
f1719	巨木群步道	2107	2017.06.29	1.31	10	3-3-4-4	34.5	8	6.3	20.4
f1720	巨木群步道	2103	2017.06.29	5.07	11	4-4-4-4	55.7	12.3	10.1	35.1
f1721	大鹿西線	1970	2017.06.29	4.15	11	4-4-4-4	48.6	11.1	8.7	27.1
f1722	大鹿西線	2019	2017.07.27	3.47	11	4-4-4-4	53.8	12.3	9.3	32.3
f1723	大鹿西線	2066	2017.07.27	1.14	11	4-4-4-4	36.8	9.9	6.3	21.4
f1724	大鹿西線	2067	2017.07.27	5.09	11	4-4-4-4	54.1	12.5	9.4	33.7
f1725	大鹿西線	2067	2017.07.27	5.81	11	4-4-4-4	52.4	12.6	10.1	37.6
f1726	巨木群步道	2121	2017.07.28	3.61	12	4-4-4-4	48.2	11.1	8.1	48.3
f1727	巨木群步道	2119	2017.07.28	0.79	11	4-4-4-4	30.9	7.6	5.6	17.7
f1728	巨木群步道	2086	2017.07.28	1.76	11	4-4-4-4	42.4	10.9	6.9	23.9
f1729	巨木群步道	2126	2017.09.04	3.58	11	4-4-4-4	54.1	13.1	8.1	33.7

f1730	巨木群歩道	2112	2017.09.04	2.16	12	4-4-4-4	43.4	10.4	7.4	25.7	
f1731	巨木群歩道	2116	2017.09.05	4.57	12	4-4-4-4	55	12.2	9.7	35.5	
f1732	巨木群歩道	2105	2017.09.05	1.26	12	4-4-4-4	37.4	9.5	6.2	20.7	
f1733	巨木群歩道	2118	2017.09.06	1.85	12	4-4-4-4	41	11.2	6.4	22.8	
f1734	巨木群歩道	2107	2017.09.07	4.61	12	4-4-4-4	53.5	12.3	9.3	34.2	
f1735	巨木群歩道	2080	2017.09.08	3.53	11	4-4-4-4	52	12.2	8.4	30.7	
f1736	巨木群歩道	2118	2017.09.09	1.67	11	4-4-4-4	40.8	9.7	6.9	23.3	
f1737	巨木群歩道	2189	2017.10.14	1.56	10	4-4-4-4	41.2	10	7.2	25.4	
f1738	巨木群歩道	2196	2017.10.14	1.88	11	4-4-4-4	44.4	10.5	6.8	22.4	
f1739	巨木群歩道	2092	2017.11.18	2.14	11	4-4-4-4	44.1	11.5	7.1	2.49	
f1740	巨木群歩道	2088	2017.11.18	0.8	10	4-4-4-4	31.8	8.4	5.8	18.1	
f1741	巨木群歩道	2085	2017.11.18	2.05	11	4-4-4-4	43.6	9.6	7.0	23.0	
f1742	大鹿西線	2075	2017.11.18	3.8	11	4-4-4-4	53.6	12.5	8.4	31.7	
f1743	大鹿西線	2067	2017.11.18	3.56	11	4-4-4-4	57.4	13.9	9.3	34.4	
f1601	巨木群歩道	2065	2017.01.18	2.8	11	4-4-4-4	51.43	12.36	9	34.74	重複捕捉 1 次 (2016/3/5)
f1401	試験林	2110	2017.02.25	6.03	13	4-4-4-4	72.57	15.18	11.1	32.86	重複捕捉 3 次 (2014/1/23、 2014/7/25、2016/4/2)
f1609	巨木群歩道	1982	2017.03.18	5.77	12	4-4-4-4	63.55	13.4	8.42	34.72	重複捕捉 1 次 (2016/5/14)
fk1601	棲蘭 160	1967	2017.03.22	3.8	11	4-4-4-4	51.43	12.36	9	34.74	重複捕捉 1 次




											(2016/6/7)
f1506	巨木群步道	2110	2017.04.15	3.27	11	4-4-4-4	54.67	12.02	8.71	32.11	重複捕捉 1 次 (2015/4/3)
f1706	巨木群步道	2110	2017.06.29	3.9	11	4-4-4-4	57.1	12.2	8.9	31.4	重複捕捉 1 次 (2017/3/18)
f1306	試驗林	2119	2017.08.27	6.78	11	4-4-3-4	60.7	13.2	9.6	35.8	重複捕捉 5 次 (2013/2/27、 2013/3/6、2014/6/9、 2014/7/25、 2014/8/15)
f1710	巨木群步道	2125	2017.09.05	4.72	10	4-4-4-4	53.3	14.6	7.9	28.6	重複捕捉 1 次 (2017/4/15)
f1726	巨木群步道	2117	2017.09.06								2017/9/05 野放個 體，重複捕捉 1 次(2017/7/28)
f1729	巨木群步道	2118	2017.09.06	3.60	11	4-4-4-4	55.2	11.8	8.2	32.8	重複捕捉 1 次 (2017/9/4)
A170416-1	巨木群步道	2062	2017.04.16								個體逃逸
H170527-1	北插天山	1312	2017.05.27								個體逃逸
A170728-1	巨木群步道	2134	2017.07.28	4.49							未拍下領照紀錄
A170728-4	巨木群步道	2093	2017.07.28	3.53							未拍下領照紀錄


表 3-2. 觀霧地區山椒魚的捕獲率比較。

	12 月	1 月	2 月	3 月	4 月	5 月
巨木群步道						
隻數	3	2	0	2	8	0
翻閱數	569	1327	785	1022	1017	1272
捕獲率	0.005272	0.001507	0	0.0019573	0.007866	0
大鹿西線						
隻數	0	3	1	3	0	1
翻閱數	715	1293	539	1851	1138	601
捕獲率	0	0.00232	0.001855	0.001621	0	0.001664
試驗林						
隻數	0	0	1	0	0	0
翻閱數	267	164	188	189	249	391
捕獲率	0	0	0.005319	0	0	0

表 3-2(續). 觀霧地區山椒魚的捕獲率比較。

	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月
巨木群步道						
隻數	5	5	0	11	2	3
翻閱數	1147	1160	1271	5239	370	1429
捕獲率	0.004359	0.00431	0	0.0021	0.005405	0.002099
大鹿西線						
隻數	1	4	0	0	0	2
翻閱數	437	1053	875	1070	794	906
捕獲率	0.002288	0.003799	0	0	0	0.002208
試驗林						
隻數	0	0	1	0	0	0
翻閱數	165	302	259	214	459	428
捕獲率	0	0	0.003861	0	0	0

觀霧地區				
				
f1623	f1624	f1625	f1701	f1702
				
f1703	f1704	f1705	f1706	f1707
				
f1708	f1709	f1710	f1711	f1712
				
f1713	f1714	f1715	f1716	f1717
				
f1718	f1719	f1720	f1721	f1722

				
f1723	f1724	f1725	f1726	f1727
				
f1728	f1729	f1730	f1731	f1732
				
f1733	f1734	f1735	f1736	f1737
				
f1738	f1739	f1740	f1741	f1742
				
f1743				









重複捕捉個體				
				
f1601 2017/01/18	f1401 2017/02/25	f1609 2017/03/18	f1506 2017/04/15	f1706 2017/06/29
				
f1306 2017/08/27	f1710 2017/09/05	f1726 2017/09/06		

圖 3-1. 觀霧地區山椒魚下頷圖譜 (照片為李昱與范智凱所拍攝)








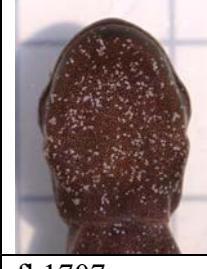


棲蘭				
				
fk1701	fk1702	fk1703	fk1601	fk1704
				
fk1705	fk1706	fk1707	fk1708	fk1709

圖 3-2. 棲蘭山地區山椒魚下頷圖譜 (照片為李昱所拍攝)

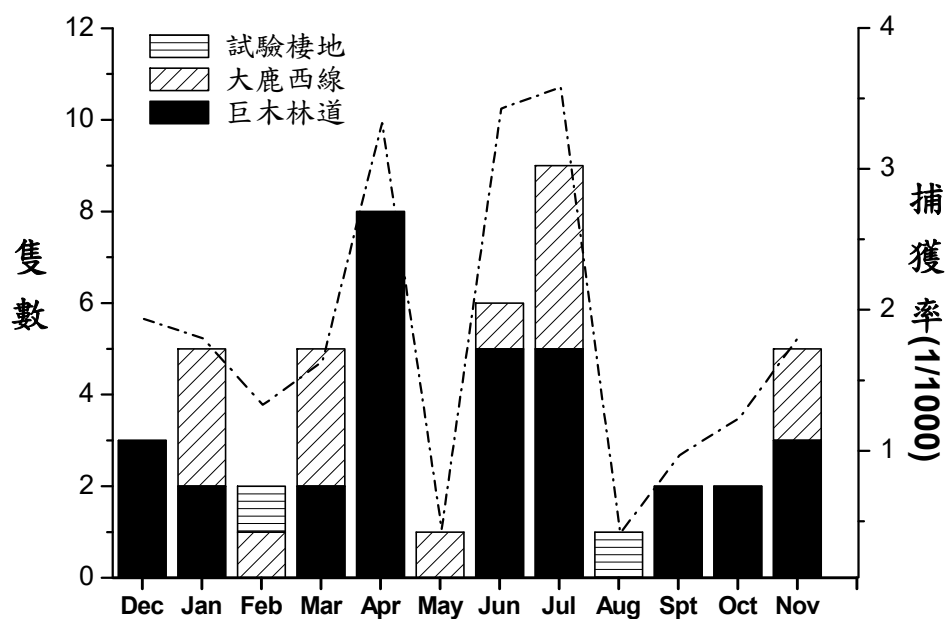


圖 3-3. 觀霧地區山椒魚的月數量變化(9/4 日之後追蹤時的調查個體不列入)。

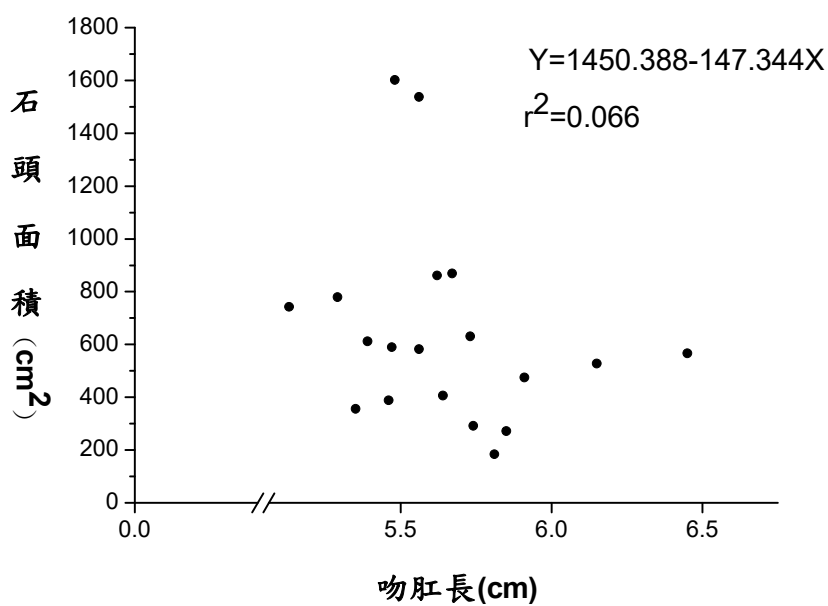


圖 3-4. 觀霧山椒魚的吻肛長與所利用的遮蔽物面積相關圖。

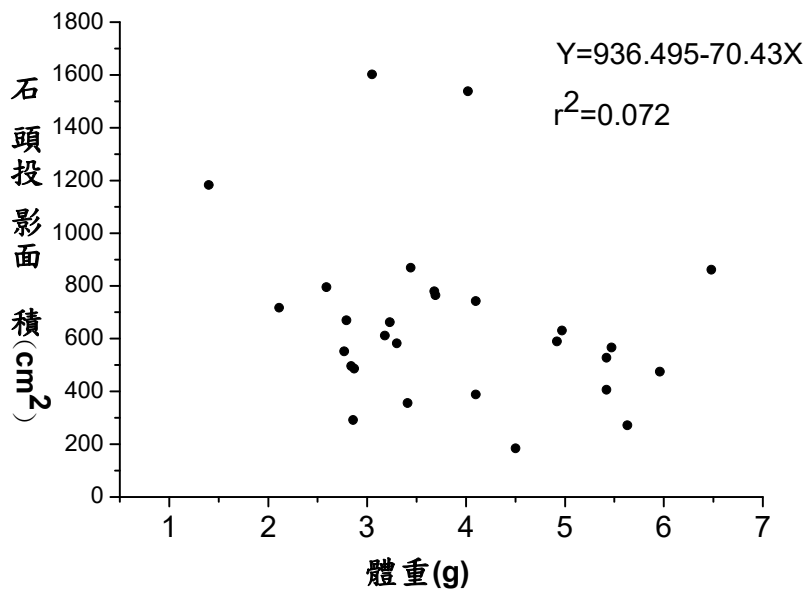


圖 3-5. 觀霧山椒魚的體重與所利用的遮蔽物面積相關圖。

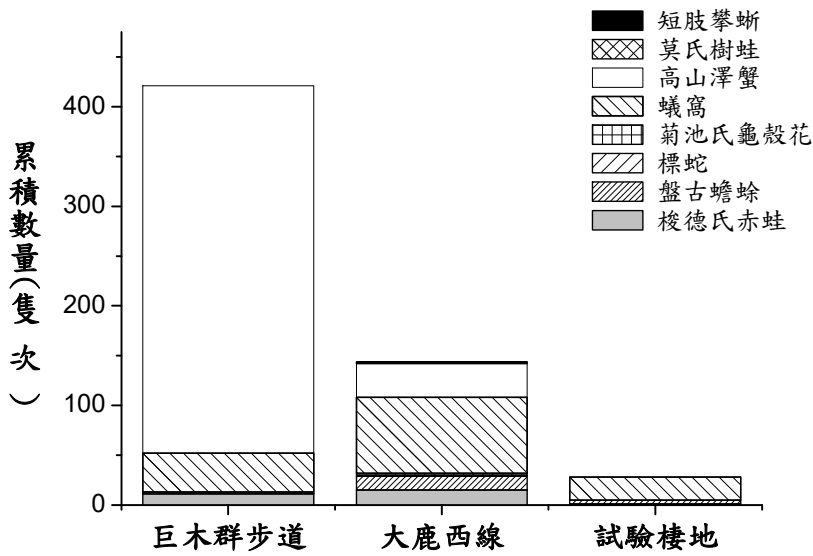


圖 3-6. 各調查點遮蔽物底下所調查到的其他動物與利用率。

三、山椒魚微棲地的溫度監測

本年度就先前擺放的自動溫度記錄器，持續收集野外的微棲地溫度以及氣溫濕度資料。在觀霧地區目前總共擺放 17 個溫度自動記錄器於各樣區下的遮蔽物，其中巨木群步道擺放 3 個，大鹿林道西線與試驗棲地分別是 4 個，大鹿林道東線與榛山步道則各擺放 1 個。觀霧地區以外的地點，分別在北插天山放置 3 個(後來遺失 2 個)以及棲蘭山放置 5 個溫度計(其中 3 個在 106 林道，1 個在 100 林道，遺失 1 個)。此外，在觀霧地區的巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑，以及北插天山與棲蘭山共設置 5 個氣溫與濕度自動記錄器。本年度首度有棲蘭山樣區的微棲地溫度與氣溫濕度計資料(由於去年棲蘭山地區道路封閉，所以無法進入樣區回收資料)。北插天山所擺放的微棲地溫度計由於遺失或故障，所以無法收集到完整的溫度資料。

整年度(2016 年 11 月至 2017 年 11 月)觀霧地區所有樣點遮蔽物底下溫度都維持在 16°C 以下，十一月至三月間的溫度大致維持在 12°C 以下，四月氣溫開始明顯上升，一直到九月溫度才開始下降(圖 3-7~圖 3-11)，與去年度相較，變化趨勢大抵相似，但十一月均溫較去年偏高(巫與謝 2016)。雖然今年七、八月發現的個體比過去兩年同時期多，但溫度沒有特別異常變化。巨木群步道的遮蔽物下的月高低溫差通常介於 1~2°C (圖 3-7)。大鹿林道西線屬於靠近路邊的遮蔽物(如曾發現 f1509 個體的所在地)的高低溫差較大，至少達到 2°C，最高達 6°C(圖 3-8)；溫差比較低的遮蔽物是位在森林底層，記錄期間的月高低溫差最高不超過 1°C(圖 3-8)。試驗棲地微棲地均溫變化趨勢與巨木群步道、大鹿林道西線與榛山步道溫度變化趨勢接近(圖 3-7~圖 3-9、圖 3-11)。近年沒發現過山椒魚個體的大鹿林道東線雖然遮蔽物底下均溫終年也維持在 16°C 以下，但在山椒魚一年中記錄比較頻繁的季節內(十一月至四月)，相較於其他測點同時期的溫度，卻表現較大的溫差變化(3~5°C)，是否因此影響山椒魚的棲地偏好，值得進一步探討(圖 3-10)。

本年度首度有棲蘭山的微棲地溫度資料(圖 3-12)做對照，結果顯示平均海拔與觀霧接近的棲蘭山月均溫通常較觀霧地區(16°C)的均溫略高(圖 3-7~圖 3-11)，但整體而言，變化趨勢與觀霧地區的巨木群步道微棲地溫度條件最相似(圖 3-7、3-12)。終年微棲地溫差小，六月至十月的溫度偏高，其中兩個測點在六月至八月期間均溫會達到 17

°C。毛(2009)指出棲蘭山的觀霧山椒魚的出沒有明顯的季節性，進入六月後，出沒的個體開始減少，七月至十月間沒有個體活動紀錄，與氣溫升高有關。因此，從棲蘭山的微棲地溫度資料來看，一般六月至十月的均溫會高於 16°C(觀霧地區的終年溫度上限)，可能因此減少了山椒魚的活動。綜合以上資料，當比較所有地區測站的年均溫時，可發現微棲地均溫約在 12°C至 14°C之間，觀霧巨木群步道與棲蘭山地區年均溫最低且相似，大鹿林道東線的年均溫最高(圖 3-13)。

最後，比較不同地區整年野外的月氣溫與相對濕度變化。在氣溫方面，五個測站的季節變化趨勢相似，但低海拔的北插天山明顯氣溫較其他地區高(圖 3-14)。然而，北插天山與其他地區溫度差異的幅度有季節性不同，在十二月至三月期間，北插天山月均溫約 10°C，而其他地區月均溫約 8°C，地區間氣溫差異約 2°C，但五月至九月期間，北插天山月均溫介於 16°C至 20°C之間，但其他地區月均溫介於 12°C至 16°C之間，地區間氣溫差異約達 4°C(圖 3-14)。從不同月份的高低溫差表現來看，可發現巨木群步道、大鹿林道西線、棲蘭山與北插天山月溫度變化幅度較小，但蜜月小徑變化幅度較大，特別是十二月至三月期間表現更明顯(圖 3-14)。在相對濕度方面，五個測站終年月均濕度都很高，除了今年 10 月份的觀霧地區三個測站表現比較乾燥外(濕度低於 90%)，一般都超過 90%，觀霧地區的巨木群步道、棲蘭山與北插天山終年月均濕度甚至都超過 95%(圖 3-15)。從不同月份的高低濕度差表現來看，可發現巨木群步道、棲蘭山與北插天山月高低濕度變化幅度較小，大鹿林道西線只有十一月至三月期間的變化幅度較大，然而，蜜月小徑終年月高低濕度變化幅度都很大(至少約 10%)，特別是十一月至一月期間表現更明顯(濕度變化約 30%)(圖 3-15)。

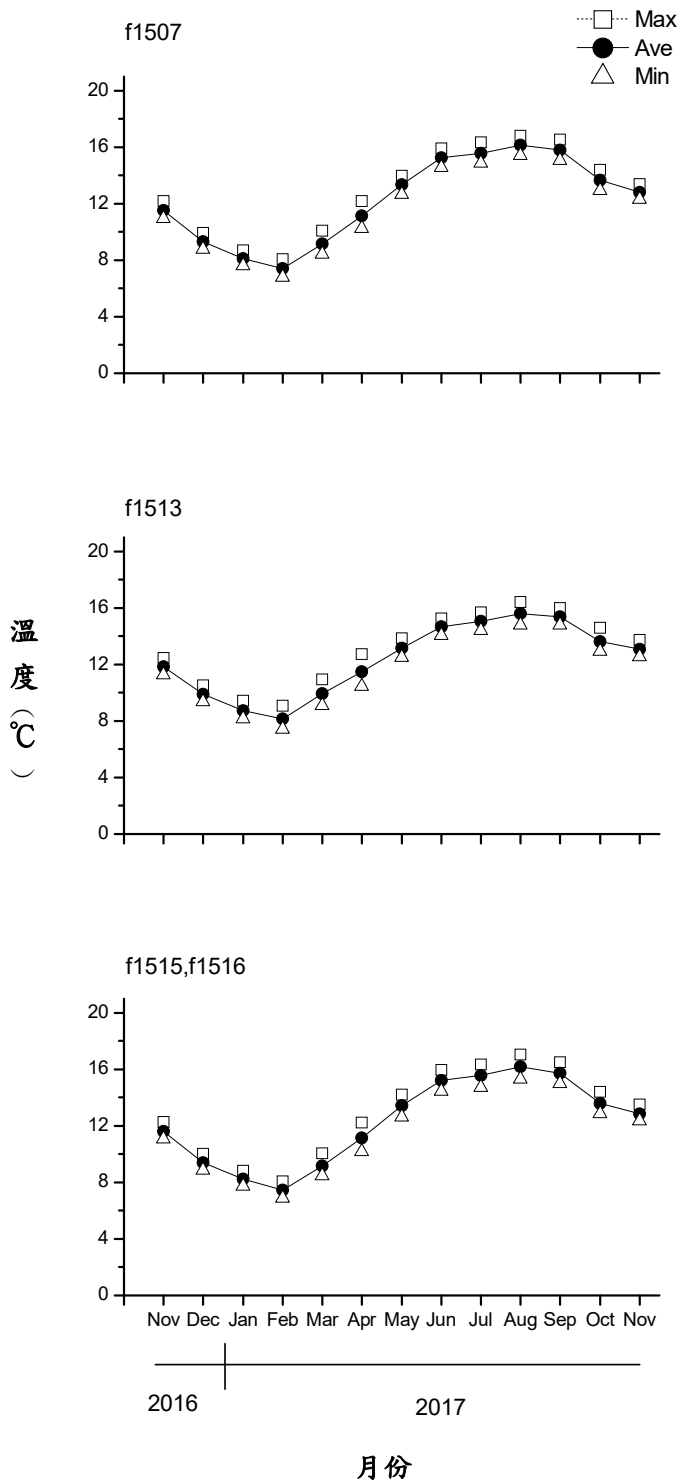


圖 3-7. 巨木群步道遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化。每個圖左上方的編號為遮蔽物所屬的山椒魚編號，其中 f1515、f1516 曾同時棲息在同一顆石頭。

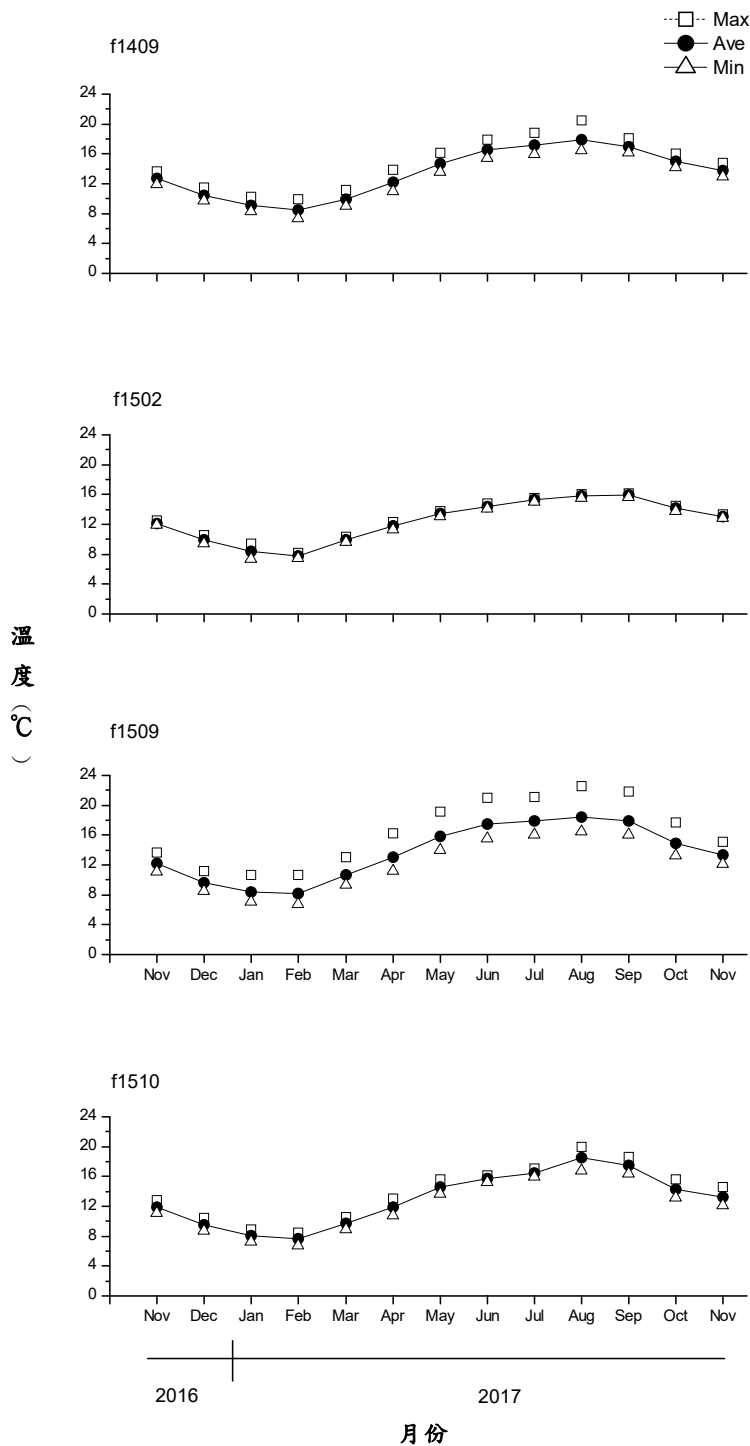


圖 3-8. 大鹿林道西線遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化。每個圖左上的編號為遮蔽物所屬的山椒魚編號。除 f1502 溫度計是放置於森林底層，其餘溫度計皆位於大鹿林道西線路旁。

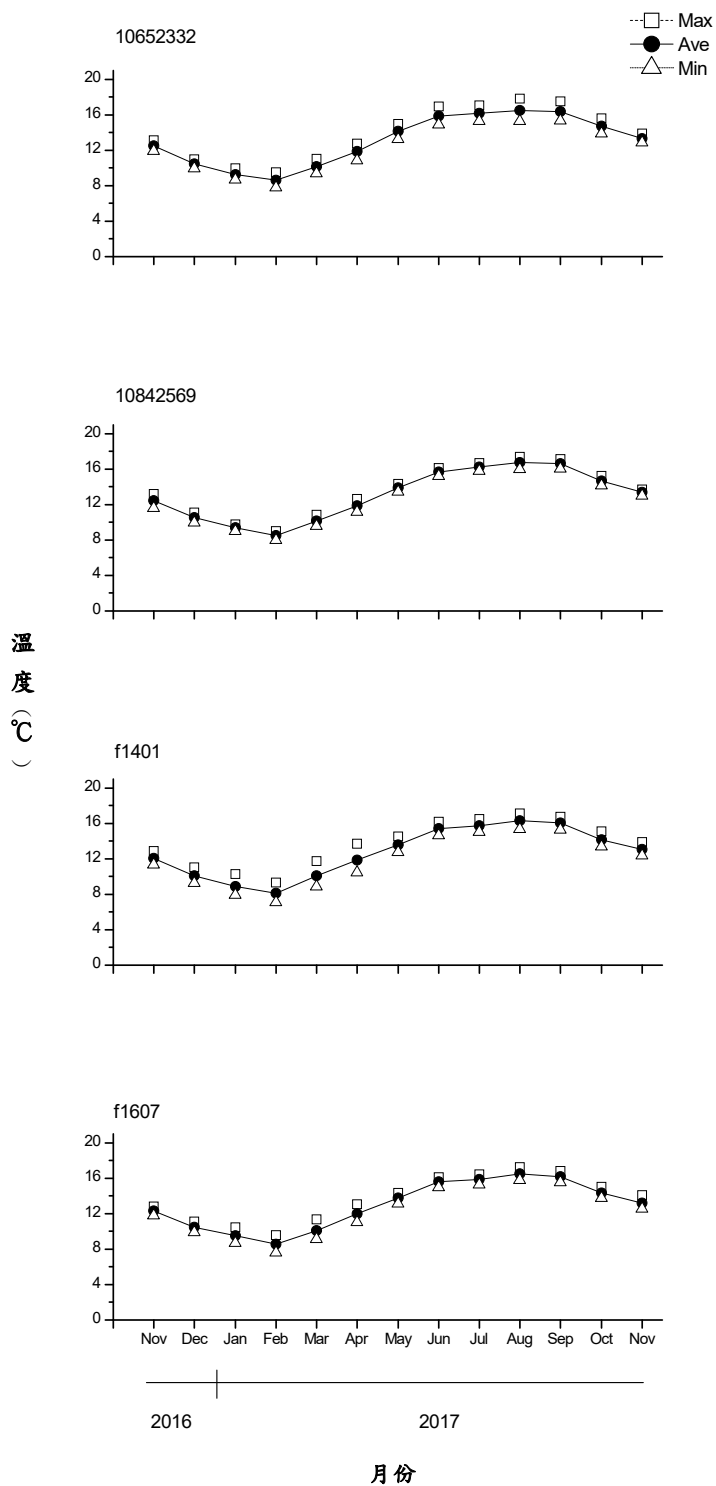


圖 3-9. 試驗棲地遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化。每個圖左上的編號為遮蔽物編號(f1401 與 f1607 為發現的個體編號)

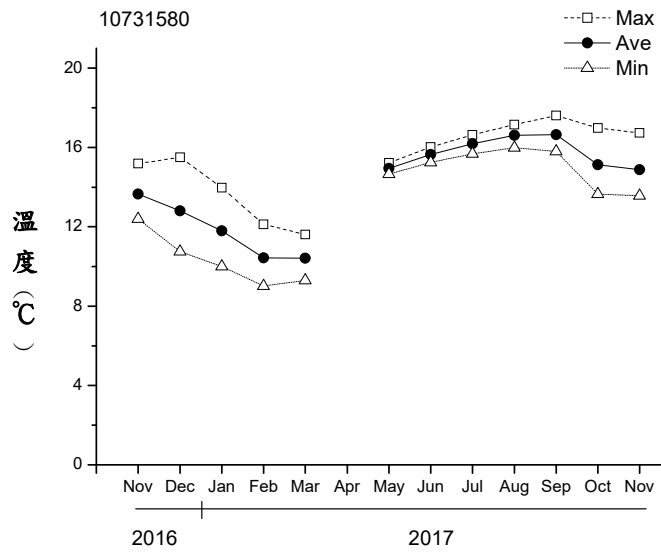


圖 3-10. 大鹿林道東線遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化，圖左上上的編號為溫度計編號。4/4 至 5/21 溫度計異常，資料缺失。

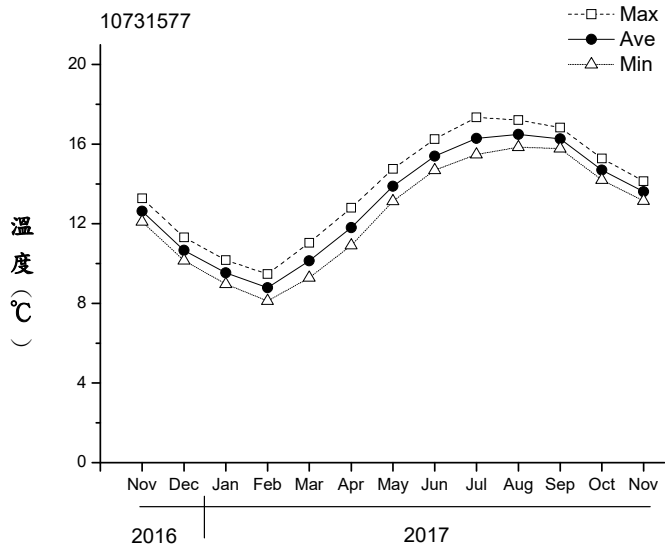


圖 3-11. 榛山林道遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化，圖左上上的編號為溫度計編號。

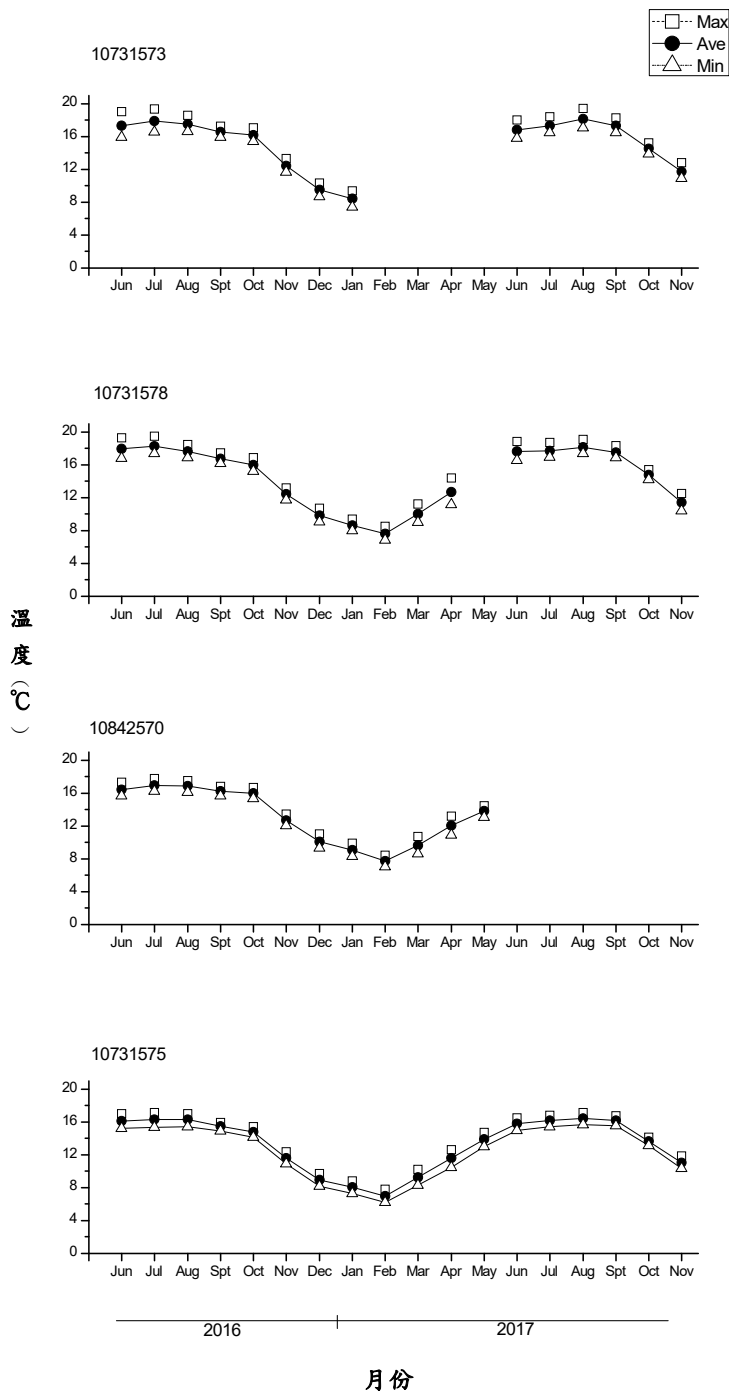


圖 3-12. 棲蘭山地區遮蔽物下「月平均最高溫」、「月均溫」與「月平均最低溫」變化。每個圖左上的編號為遮蔽物下的溫度計編碼。編號 10731573 溫度計放置在 100 線林道，其餘均放置在 160 線林道。編號 10842570 溫度計的遮蔽物在放置後仍有記錄到山椒魚利用。

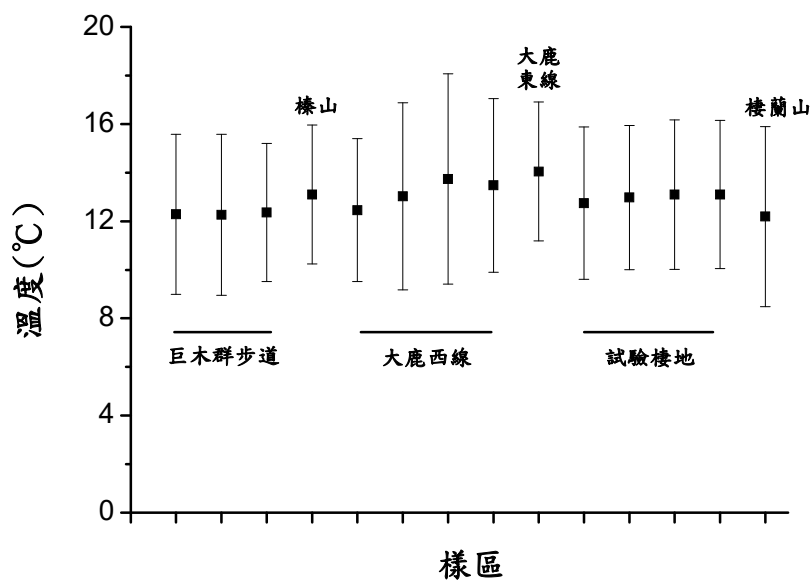


圖 3-13. 所有樣區遮蔽物底下同時期的均溫比較(2016/11/06~2017/11/18)(總共 14 個溫度自動記錄器)。所有值以平均值±標準差(SD)表示。

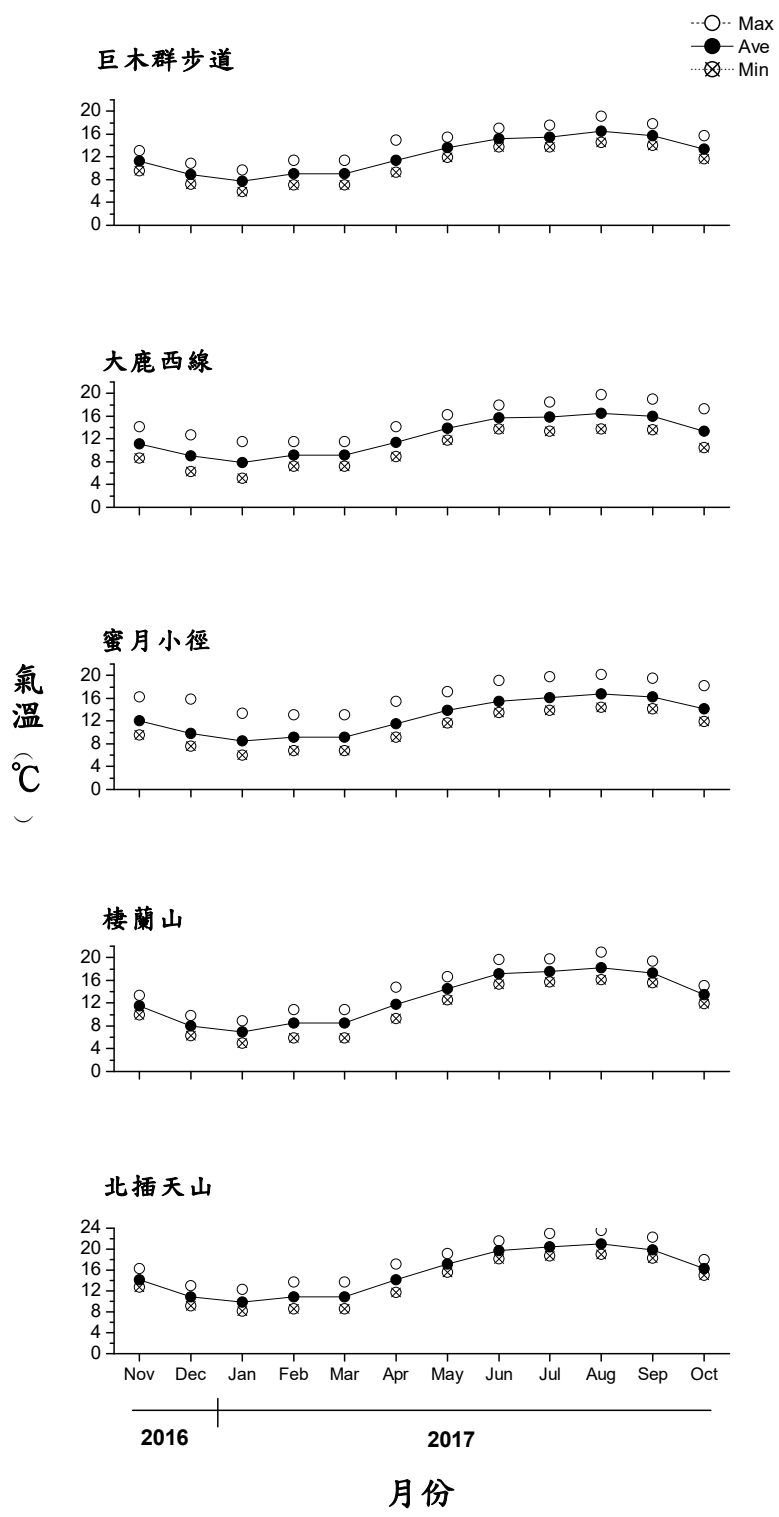


圖 3-14. 觀霧(巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑)、棲蘭與北插天山的環境氣溫變化。巨木群步道與蜜月小徑為每半小時紀錄一筆資料，其餘均為每小時紀錄一筆資料(2016/11/06~2017/10/31)。

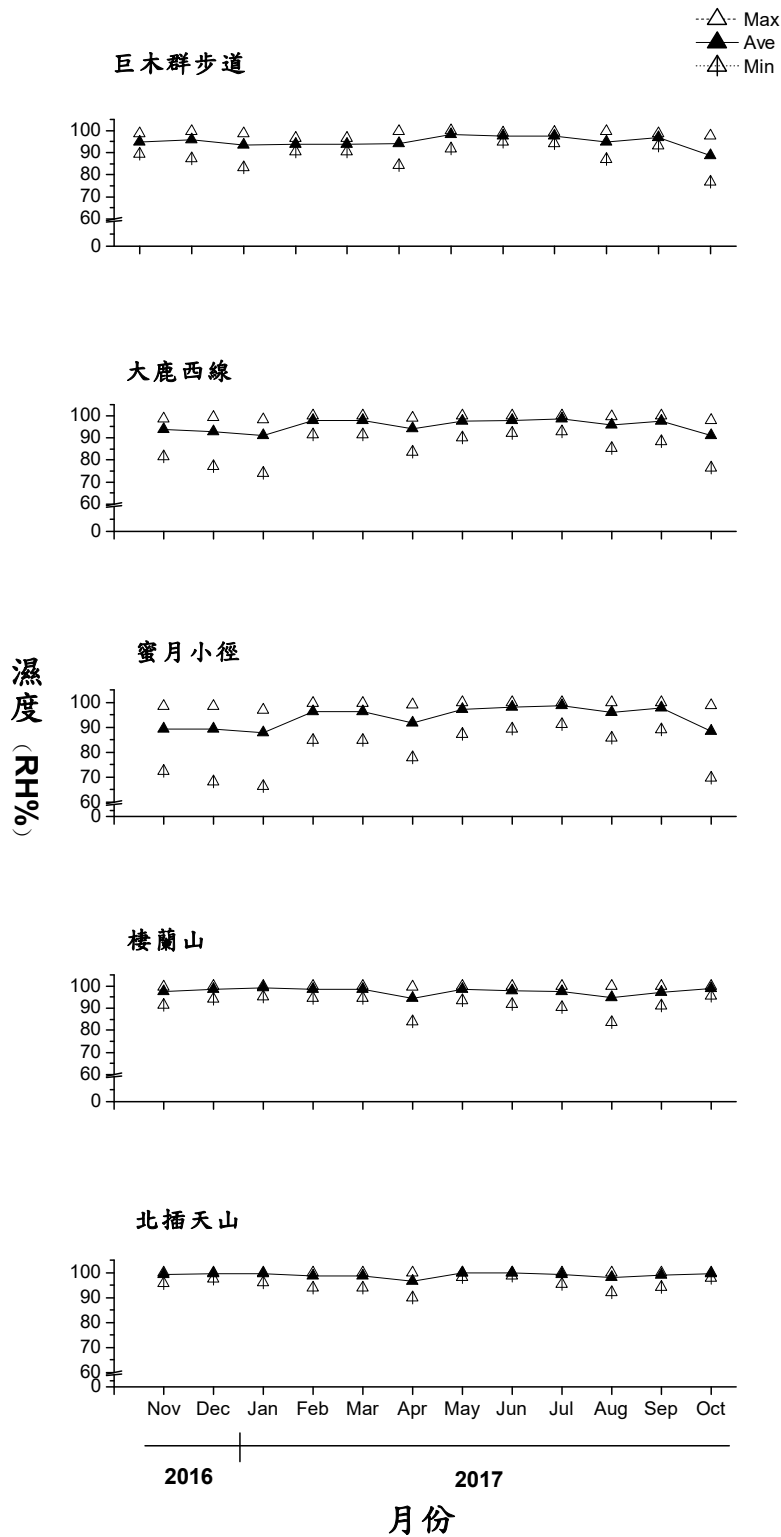


圖 3-15. 觀霧(巨木群步道、大鹿林道西線與蜜月小徑)、棲蘭與北插天山的環境濕度變化。巨木群步道與蜜月小徑為每半小時紀錄一筆資料，其餘均為每小時紀錄一筆資料(2016/11/06~2017/10/31)。

分析觀霧地區每次調查到的數量與每次調查前一周的氣溫與雨量之間的相關性，結果發現調查到的數量與前一周的氣溫變化呈現顯著高度負相關性($r=-0.82$, $n=9$, $P=0.007$) (圖 3-16)；而調查到的數量與前一周的雨量變化呈現低度負相關性($r=-0.41$, $n=9$, $P=0.273$) (圖 3-17)。以上結果顯示觀霧山椒魚的調查到的機率與近期的氣溫變化關係較大，溫度越低，預期能調查到的數量越多，但調查到的數量與降雨量之間呈現低度相關。若分析觀霧地區(巨木群步道與大鹿林道西線)每次調查到的數量與每次調查前一周的微棲地溫度與區域相對濕度之間的相關性，結果發現調查到的數量與前一周的微棲地溫度呈現不顯著相關(圖 3-18)，此外，調查到的數量與前一周的區域相對濕度也呈現不顯著相關(圖 3-19)

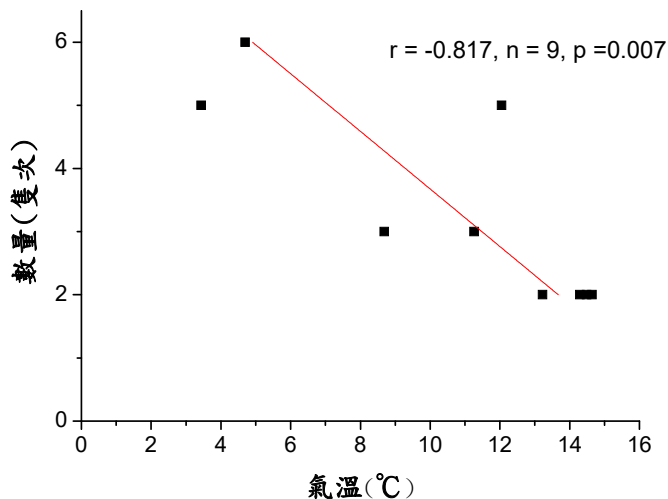


圖 3-16. 調查到的觀霧山椒魚數量與每次調查日前一一周的平均日氣溫相關圖。數據來自 2016 年 3 月至 12 月共 9 次的調查資料。

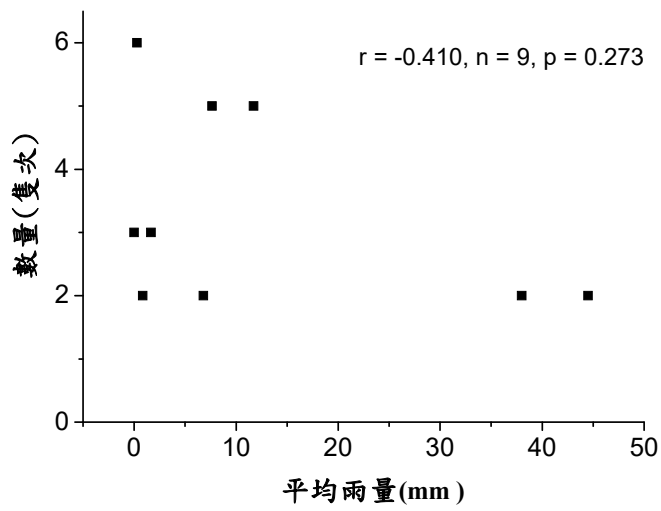


圖 3-17. 調查到的觀霧山椒魚數量與每次調查日前一週的平均日降雨量相關圖。數據來自 2016 年 3 月至 12 月共 9 次的調查資料。

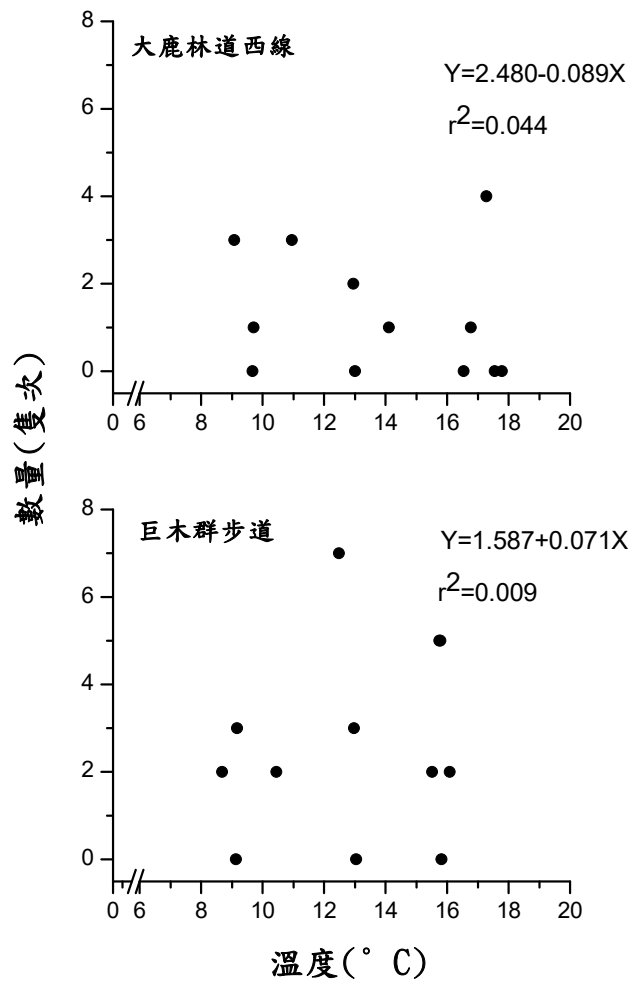


圖 3-18. 巨木群步道與大鹿林道西線調查前一週平均微棲地溫度與調查隻數相關圖(n=12, 資料取自 2016 年 12 月至 2017 年 11 月)。

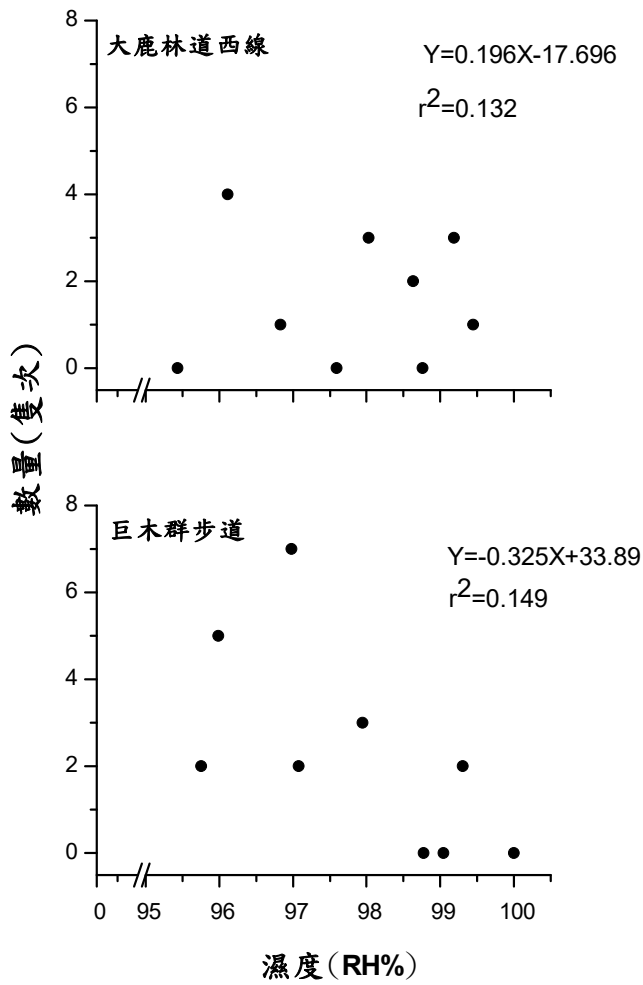


圖 3-19. 巨木群步道與大鹿林道西線調查前一週平均濕度與調查隻數相關圖(n=12, 資料取自 2016 年 12 月至 2017 年 11 月)。

四、溫度耐受度、溫度偏好與溫度馴化能力

由於採集到足夠樣本，本年度有較完整的棲蘭山個體的溫度耐受度與選溫資料，可以與觀霧族群的結果做比較。比較不同族群在不同溫度馴化後的溫度耐受度，結果顯示觀霧地區的族群在 15°C 馴化後的溫度耐受度(32±0.3°C)與 20°C 馴化後的溫度耐受度(32.9±0.5°C)之間有顯著差異(ANOVA, $F_{1,14}=20.717$, $P<0.001$) (圖 3-20)；但棲蘭山族群在不同溫度馴化後的溫度耐受度(分別是 15°C:31.7±0.5°C與 20°C:32.5±1.3°C)則沒有顯著差異(Welch's t-test, $t = 2.864$, $p = 0.131$) (圖 3-21)。一般而言，兩棲類的溫度耐受度會受馴化溫度影響，高溫馴化下的個體溫度耐受度會表現比低溫馴化下的個體高(Hutchison and Dupre 1992; Wu and Kam 2005)。然而，提高馴化溫度並沒有提高棲蘭山族群的溫度耐受度，顯示其缺乏溫度馴化能力，這表示未來氣候暖化時，環境的升溫將對棲蘭山的族群潛在影響很大，由於其缺乏溫度生理的調整能力。

比較觀霧地區與棲蘭山族群的溫度選擇，結果顯示觀霧地區在 15°C 馴化的個體，平均選溫為 12±4.3°C，20°C 馴化下平均選溫為 14.4±5.2°C，結果沒有顯著差異(ANOVA, $F_{1,29}=1.779$, $P=0.193$)。棲蘭山族群在 15°C 的馴化溫度下平均選溫為 14.2±2.5°C，20°C 馴化下平均選溫為 15±4.1°C，結果也沒有顯著差異(ANOVA, $F_{1,13}=0.530$, $P=0.479$)。這些結果顯示馴化溫度不影響觀霧山椒魚的選溫偏好，與先前的結果類似(巫與謝 2016)。一般來說，溫度馴化會影響兩棲類的溫度偏好，甚至高低溫馴化所產生的影響不同(Stauffer et al. 1983)。然而，有尾類的微棲地利用常受到濕度所限制，因此牠們利用的微棲地可能都屬於溫度異質性較低的環境，這使得牠們常被認為不善於以行為方式選溫(Camp et al. 2013)。從前面的微棲地溫度資料，我們瞭解到觀霧地區與棲蘭山地區的山椒魚微棲地溫差不大(圖 3-7、3-8、3-12)，顯示野外環境溫度變化的異質性低，長期在這樣的環境條件生存下，可能使得觀霧山椒魚的溫度偏好因此不易受到馴化溫度所影響。提高馴化溫度並沒有提高觀霧山椒魚的溫度偏好，顯示其缺乏溫度生理的調整能力，表示未來氣候暖化時，環境的升溫將對觀霧山椒魚的潛在影響很大。

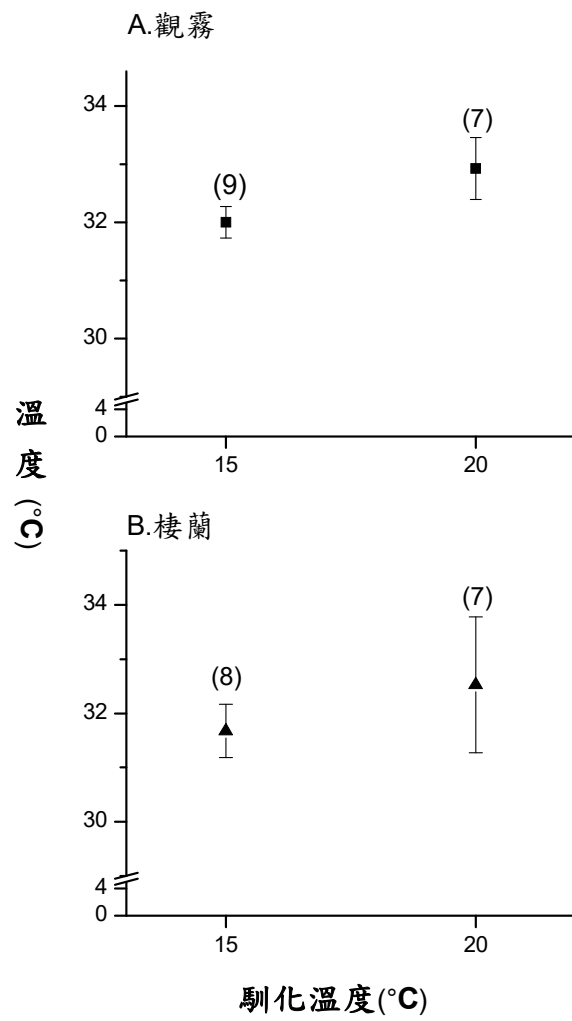


圖 3-20. 觀霧與棲蘭山族群的在不同溫度馴化後的溫度耐受度比較。圖內括號內的數字表示樣本數。

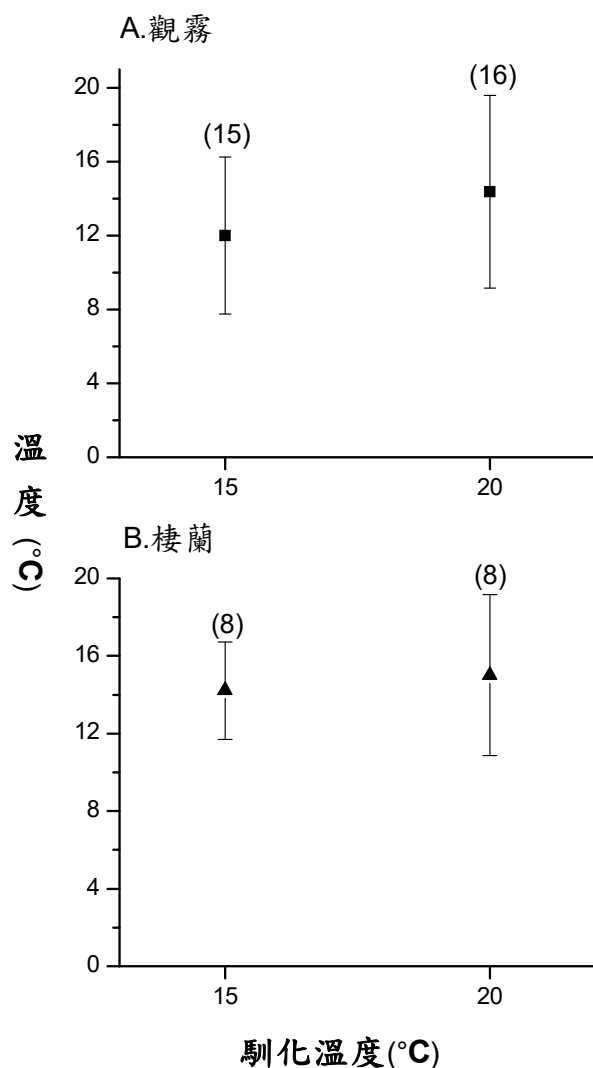


圖 3-21. 觀霧與棲蘭山族群的在不同溫度馴化後的選溫比較。圖內括號內的數字表示樣本數。

五、個體活動範圍與移動距離推估，以及追蹤方法測試

在嘗試將追蹤器固定於觀霧山椒魚之前，使用水族市場購買的 5 隻蝶螈進行追蹤器附著測試。早期測試時，使用身體軀幹或尾巴纏綁棉線圈的方式均無法有效將追蹤器固定在蝶螈身上，往往在麻醉結束後 30 分鐘至 2 小時之間背心即會脫落。後來我們改使用醫用三秒膠(用在人體皮膚傷口縫合使用，使用數天後會自動脫落)將棉線團固定在個體尾巴上。在測試與調整之後，是受蝶螈在實驗室內最長的成功固定時間為 5

日。我們於 9/4 日至 9/9 日實地至觀霧巨木群步道進行山椒魚的追蹤測試。考量到追蹤器的固定與長時間附著於山椒魚身上可能會對其造成影響，每隻山椒魚只會進行一次的追蹤器固定與追蹤測試。在室內進行的山椒魚追蹤器固定測試顯示有效固定時間可達 3 日(9/1~9/3)，然而實際在野外操作的時候，追蹤器均無法在山椒魚身上固定超過一日，推測野外環境條件(如石頭或落葉層)的碰觸摩擦是導致追蹤器脫落的原因。嘗試追蹤的個體包括 A170728-1(9/5)、f1726(9/6)、f1735(9/8)，由於隔日追蹤器即脫落，最終無法進行有效的追蹤。

我們仍以今年所調查到的重複捕捉個體(n=8)的經緯度分布資料，去推估活動範圍(圖 3-22、圖 3-23)與最大垂直與水平距離(表 3-3)，其中只有兩隻個體可推估活動範圍。f1306 的活動範圍最廣，估計達 155 m²，而 f1401 的活動範圍為 21 m²(圖 3-24)，其中 f1306 所推估的活動範圍較呂與賴(2010)依據北插天山族群所估計的範圍大(約 2.5 至 55.8 m²)。從垂直距離來看，移動距離界於 4 至 66 m，多數個體垂直距離低於 50 m(表 3-3)；而從最大水平距離來看，移動距離差距很大，界於 0 至 246.4m，多數個體最大水平距離低於 50 m，但 f1601 與 f1706 的最大水平距離分別可達 241.2 與 246.4 公尺，顯示觀霧山椒魚仍會進行較長距離的移動(巫與謝 2016)。然而，從歷年與目前觀霧地區重複捕捉的最高海拔與水平移動來看，無論個體前後次發現的時間距離有多久，這些個體通常都出現在原始發現的同一塊樣區。九月的連續調查結果中，f1729 為 9/4 新紀錄的個體，而於 9/6 在不同顆石頭下再次記錄到。兩日的移動距離實際量測的結果為 1.1m。此外，本年度也紀錄巨木群步道的個體(f1737)以及去年棲蘭山發現的個體(fk1601)重複利用同個棲地。綜合以上結果顯示與過去調查的結果推估相符(毛 2009；巫與謝 2016)，顯示觀霧山椒魚對棲地的高依戀性與低移動性。

表 3-3. 山椒魚水平移動距離與垂直移動距離。”---”表示缺乏資料。

山椒魚編號	最大水平移動距離 (m)	最大垂直移動距離(m)	間格時間(日)
f1601	241.17	52	319
f1609	1.3	---	308
f1506	12.37	37	743
f1706	246.38	21	103
f1710	7.28(實測 3.28)	16	153
f1729	28.6(實測 1.12)	4	2
f1306	47	---	512
f1401	14	66	329

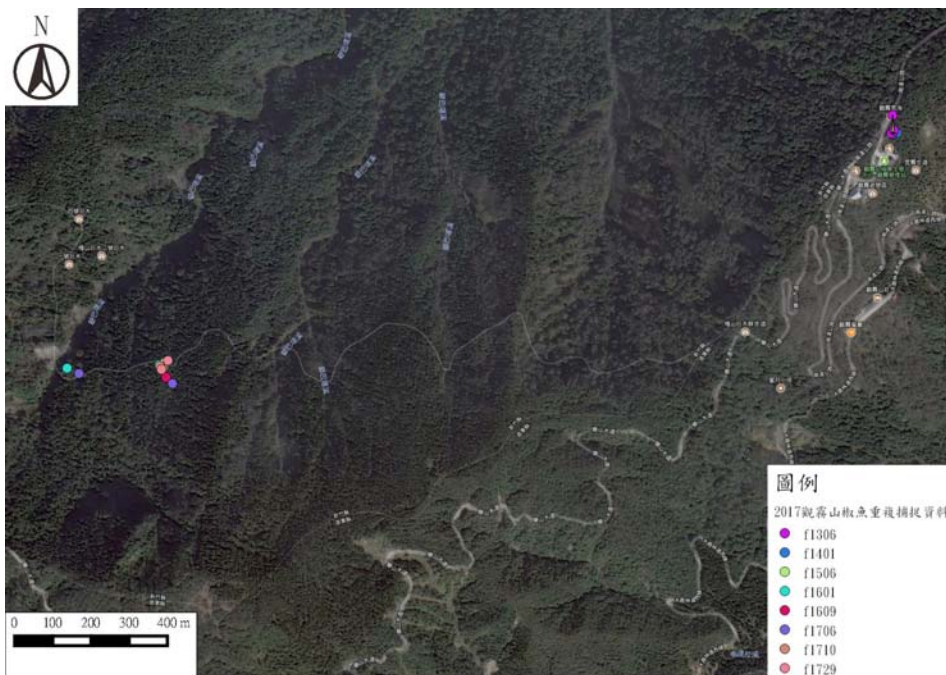


圖 3-22. 所有重複捕捉個體的經緯度分布。圖例不同顏色的圓圈表示不同個體。



圖 3-23. 重複捕捉個體的經緯度分布(巨木群步道)。圖例不同顏色的圓圈表示不同個體。



圖 3-24. 重複捕捉個體活動範圍推估。圖例不同顏色的圓圈表示不同個體。

六、族群遺傳資料分析

本研究使用 89 個體進行族群遺傳分析(表 3-4)，觀霧山椒魚 DNA 樣本採集自觀霧(GW)的巨木群步道(SB)，大鹿林道西線(SW)，蜜月小徑(SH)，試驗棲地(EH)；北橫(NCIH)的拉拉山(LLS)與北插天山(NCTM)；棲蘭山(K)等地。北海道的蝦夷山椒魚(*Hynobius retardatus*)研究中所找到的 12 個基因座引子組(Matssunami et al. 2015)，測試結果並不適用，無法應用於觀霧山椒魚研究。因此，本研究根據次世代定序得到的轉錄體序列，自行設計微衛星基因座，篩選出 12 組具有多形性且無偏離哈溫平衡(HWE)的微衛星基因座(表 3-5)。微衛星基因座經增幅，PCR 產物經 genotyping 獲得等位基因資訊後進行基礎分析(表 3-6)。N_A 等位基因數以巨木群步道(SB)和拉拉山(LLS)最高為 35，試驗棲地(EH)最低為 4。N_P 特有等位基因數以巨木群步道(SB)最多為 7，蜜月小徑(SH) 最低為 0。異型合子的觀測值 H_o 與期望值 H_e 接近，並無顯著偏離的現象。F_{IS} 近親交配指數顯示蜜月小徑(SH)、巨木群步道(SB)和拉拉山(LLS)具有近親交配現象，其他四族群則無近親交配現象。哈溫平衡檢測顯示巨木群步道(SB)與棲蘭山(K)族群有偏離現象。巨木群步道(SB) 族群等位基因數與特有等位基因數為所有族群中最多，近親交配現象導致偏離哈溫平衡，。

微衛星基因座系統發生分析(圖 3-25)，顯示觀霧山椒魚可分為 3 支系，觀霧群(GW)、北橫群(NCIH)與棲蘭山群(K)，支系間具有明顯的地理隔離。微衛星與粒線體系統發生樹結果一致(巫和謝，2016)，觀霧山椒魚分為 3 支系，觀霧群、北橫群與棲蘭山群。遺傳距離分析，顯示觀霧 4 族群間遺傳距離極低，介於 0.01-0.1，而觀霧任一族群與其他 3 族群間遺傳距離大介於 0.29-0.68(表 3-7)。北插天山與拉拉山族群遺傳距離 0.12，棲蘭山與其他六族群遺傳距離介於 0.37-0.68。遺傳距離分析支持系統發生分析結果，顯示觀霧山椒魚可分為 3 支系，觀霧群、北橫群與棲蘭山群。遺傳分化指數，顯示巨木群步道與蜜月小徑族群無遺傳分化現象，而大鹿林道西線與蜜月小徑無遺傳分化現象，其餘族群間具顯著遺傳分化(表 3-7)。

貝氏歸群分析族群遺傳結構，根據 ΔK 指出 K=2 為最佳，觀霧山椒魚可分為 2 遺傳群(genetic group)，觀霧 4 族群為一遺傳群，其他三族群為一遺傳群(圖 3-26)。然而，K=3-7 皆顯示觀霧山椒魚可分成 3 遺傳群，觀霧群、北橫群與棲蘭山群，且觀霧四族群從 K=2-7 皆為同一群。因此，將北插天山、拉拉山與棲蘭山等三族群重新進行貝氏

歸群分析，根據 ΔK 指出 $K=2$ 為最佳，可分為北橫群與棲蘭山群(圖 3-27)。貝氏歸群分析與系統發生樹結果一致，可將觀霧山椒魚分成 3 群，觀霧群、北橫群與棲蘭山群。

微衛星基因座資料，顯示觀霧山椒魚分為 3 群，觀霧群、北橫群與棲蘭山群，系統發生分析與遺傳距離資料支持北橫群可在分成 2 亞群，北插天山與拉拉山族群。觀霧 4 族群間無明顯遺傳分化，且族群間遺傳距離低僅支持為 1 群。北海道的蝦夷山椒魚應用微衛星(microsatellite) DNA 於遺傳多樣性分析，顯示各族群間基因交流程度低，地理分化明顯(Matsunami *et al.*, 2015, 2016)。觀霧山椒魚結果亦顯示相同現象，3 群間地理隔離顯著，而遺傳分化亦顯著。因此，推論 *Hynobius* 屬山椒魚無法長距離遷移，族群間因大尺度地理隔離產生分化現象。北橫群可在分成 2 亞群，北插天山與拉拉山族群，但貝氏歸群分析歸為同一群，推測這 2 族群近期由同一共同祖先分化而成，並已產生遺傳分化。觀霧 4 族群無論系統發生、遺傳距離和貝氏歸群分析皆支持為同一群，無明顯遺傳分化現象。

族群遺傳分析結果顯示觀霧地區巨木群步道族群偏離哈溫且有近親交配現象，推測觀霧山椒魚在此地有棲地依戀性。遺傳分化指數顯示，巨木群步道與蜜月小徑族群無遺傳分化，大鹿林道西線與蜜月小徑族群無遺傳分化，但巨木群步道與大鹿林道西線有遺傳分化，3 族群小尺度地理距離近，巨木群步道與大鹿林道西線族群可能透過蜜月小徑族群造成 3 族群間基因交流現象。貝氏歸群分析結果支持小尺度地理距離近的觀霧地區 4 族群為同一遺傳群。

表 3-4. 本研究使用之山椒魚樣本數量與採樣地

地點	數量
巨木群步道(SB)	47
大鹿林道西線(SW)	12
蜜月小徑(SH)	5
試驗林棲地(EH)	4
北插天山(NCTM)	6
拉拉山(LLS)	8
棲蘭山(K)	7

表 3-5. 本研究使用 12 組微衛星基因座

Locus	Repeat motif	Size range(bp)
Hf018	(AG)6	103-105
Hf098	(GA)6	305-321
Hf136	(CT)11	210-228
Hf154	(AT)6	311-333
Hf205	(TC)8	202-218
Hf234	(CT)7	306-312
Hf262	(TA)10	98-116
Hf271	(AT)12	209-211
Hf282	(GT)8	300-308
Hf294	(AT)6	97-105
Hf306	(TA)6	306-314
Hf311	(CA)9	301-305

表 3-6. 觀霧山椒魚各族群之數量、等位基因數(N_A)、特有等位基因數(N_P)、異型合子觀測值(H_o)、異型合子期望值(H_e)、近親交配指數(F_{IS})和哈溫平衡檢測(HWE)

Population	SB	SW	SH	EH	NCTM	LLS	K
n	47	12	5	4	6	8	7
N_A	35	29	22	24	32	35	20
N_P	7	2	0	1	3	4	2
H_o	0.26	0.33	0.20	0.25	0.40	0.31	0.15
H_e	0.31	0.32	0.27	0.32	0.44	0.43	0.19
F_{IS}	0.16**	-0.01	0.29*	0.24	0.11	0.28**	0.21
HWE	**	-	-	-	-	-	*

拉拉山(LLS)，北插天山(NCTM)、蜜月小徑(SH)、試驗棲地(EH)、巨木群步道(SB)、大鹿林道西線(SW)、K(棲蘭山)；* $p < 0.05$ ；** $p < 0.01$

表 3-7. 觀霧山椒魚(*Hynobius fuca*)族群間微衛星基因座遺傳距離 (Genetic distance, D_{AS}) 與遺傳分化指數 (Fixation index, F_{ST}) (粗體字)

	SB	SW	SH	EH	NCTM	LLS	K
SB	-	0.02	<0.01	0.04	0.59	0.37	0.61
SW	0.04**	-	0.01	0.08	0.51	0.29	0.62
SH	0.01	0.02	-	0.10	0.55	0.31	0.58
EH	0.09*	0.13**	0.21*	-	0.61	0.47	0.68
NCTM	0.54**	0.46**	0.49**	0.49**	-	0.12	0.44
LLS	0.43**	0.33**	0.35**	0.43**	0.14**	-	0.37
K	0.61**	0.62**	0.66**	0.68**	0.49**	0.44**	-

K(棲蘭山)、拉拉山(LLS)，北插天山(NCTM)、蜜月小徑(SH)、試驗棲地(EH)、巨木群步道(SB)、大鹿林道西線(SW)；* $p < 0.05$ ；** $p < 0.01$

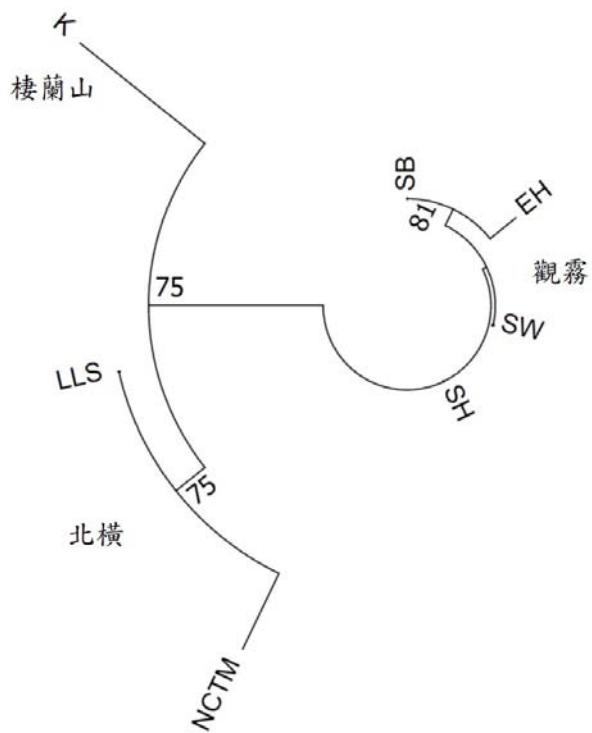


圖 3-25. 觀霧山椒魚應用鄰域加入法重建之系統發生樹，分析族群包含 K(棲蘭山)、拉拉山 (LLS)、北插天山(NCTM)、蜜月小徑(SH)、試驗棲地(EH)、巨木群步道(SB)和大鹿林道西線(SW)。觀霧山椒魚可分為三大地理支系：棲蘭山群、觀霧群和北橫群，支系間具有明顯的地理隔離。

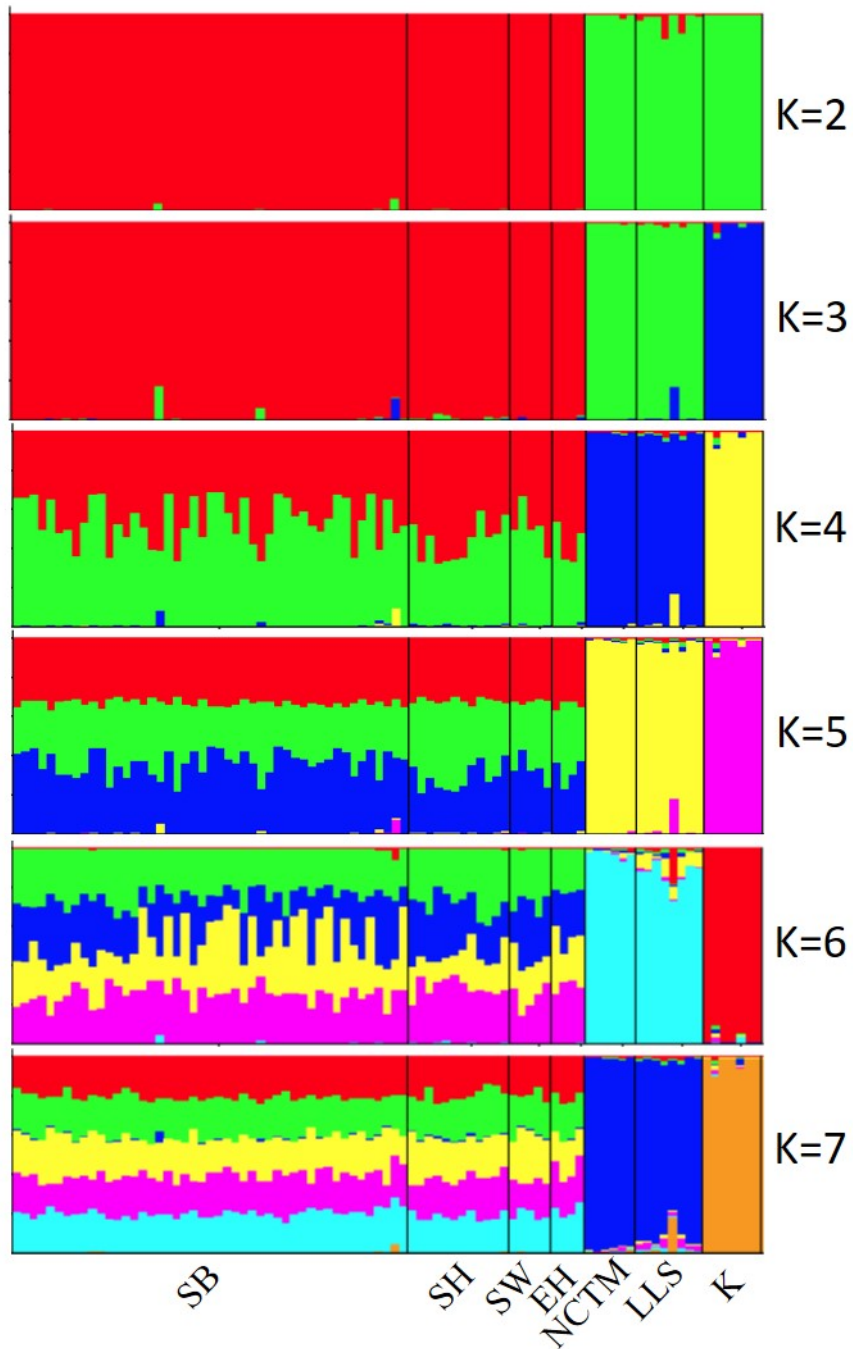


圖 3-26. 貝氏歸群法分析觀霧山椒魚族群遺傳結構，圖示為 K 值 2-7，最佳 K 值為 2。分析族群包括棲蘭山(K)、拉拉山(LLS)，北插天山(NCTM)、蜜月小徑(SH)、試驗棲地(EH)、巨木群步道(SB)和大鹿林道西線(SW)等族群。

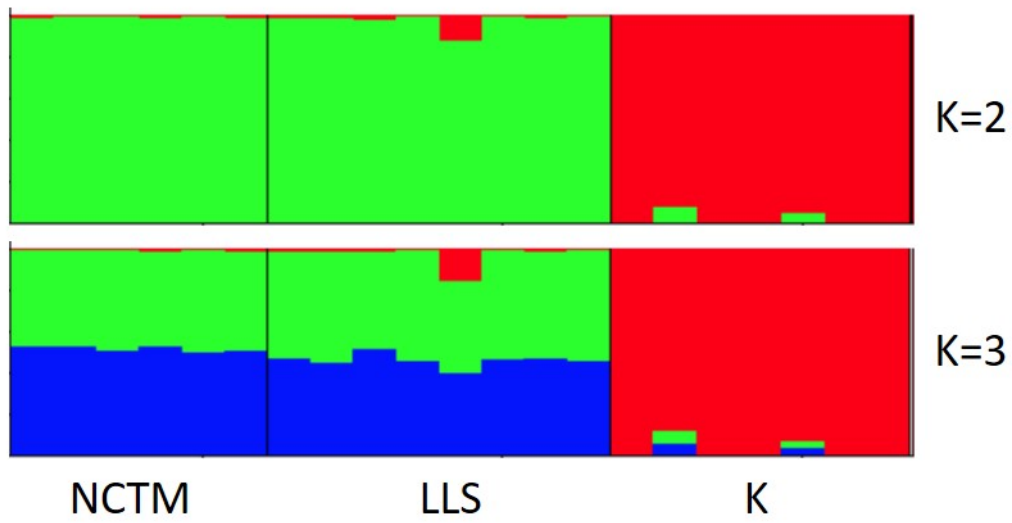


圖 3-27. 貝氏歸群法分析觀霧山椒魚族群遺傳結構，圖示為 K 值 2-3，最佳 K 值為 2。分析族群包括棲蘭山(K)、拉拉山(LLS)和北插天山(NCTM)等族群。

第四章、結論與建議

從過去六年來的監測資料來看，顯示觀霧地區的氣候與微棲地條件沒有明顯異常變化，且觀霧山椒魚族群穩定，終年都有個體出沒，呈現季節性變化。巨木群林道為目前所知觀霧地區觀霧山椒魚族群密度最高的地方，是觀霧地區族群分布的熱點。依據捉放資料所估出來的巨木群步道主要監測範圍的族群數量是 82 隻，族群密度是 0.0016 隻/平方公尺(16 隻/公頃)，然而，由於我們調查僅透過翻閱遮蔽物，所以反應出來資料是最保守的估計，也就是說，實際的族群量與密度應該會明顯超出這個數字。9/4 日至 9/9 日在巨木群林道進行山椒魚的追蹤測試期間，透過在固定範圍內每天的石頭翻閱，我們仍會不斷發現新的且是過去未被記錄過的個體(n=8)，這顯示石頭以外的環境也是山椒魚會選擇躲藏的微棲地，以及被低估的潛在族群量。

本年度山椒魚移動距離與活動範圍的結果仍呼應先前研究，顯示個體對棲地的高依戀性與低移動性。透過微衛星基因座資料分析，顯示觀霧山椒魚分為 3 群，觀霧群、北橫群與棲蘭山群，大尺度地理隔離限制了 3 遺傳群間的基因交流，造成遺傳分化。觀霧地區 4 族群屬於小尺度地理族群可視為同一遺傳群，族群間無顯著遺傳分化，透過中間族群的雙向基因交流，達成各族群間基因交流現象。因此，觀霧地區 4 族群各為亞族群(subpopulation)，彼此組成關聯族群(metapopulation)，各亞族群間基因交流助於維持遺傳多樣性。然而，巨木群步道族群的近親交配現象，提供其棲地依戀性高的另一個佐證，這樣的情況可能造成遺傳多樣性喪失，不利與適應演化。

透過今年有整年度且完整的不同地區溫濕度資料的比較，更具體證明有完整的林相遮蔽，有利於維持微棲地環境的濕度以及相對且穩定的低溫，是影響觀霧山椒魚分布與活動的重要因素。由於觀霧山椒魚微棲地環境的月內高低溫度變化幅度不大，顯示其屬於溫度異質性較低的環境，這可能會影響牠們反應溫度改變時的生理調節能力(溫度馴化能力)。透過族群間的溫度耐受度與選溫研究，顯示觀霧族群的溫度耐受度受馴化溫度影響，但棲蘭山的族群不受馴化影響，顯示族群表現不同的溫度敏感度，然而，兩個族群在溫度偏好上都不受到馴化溫度的影響，這也顯示觀霧山椒魚面對氣候暖化時，在選溫偏好上可能缺乏生理調整能力，可能無法即時反應棲地溫度環境的改變去調整溫度偏好以適應新的環境，如此我們會預期暖化會對族群產生一定的衝

擊。所以維護現有山椒魚棲地很重要，因為能維持低溫潮濕的棲息地會比較有利於緩和氣候暖化的威脅。

以下就本研究的結果，就立即可行建議及長期性建議，分別提出以下說明：

一、立即可行的建議

主辦機關：雪霸國家公園

協辦機關：中國文化大學生命科學系

建議事項：

過去六年來(除了 2015 年)，試驗棲地每年至少都有記錄兩隻觀霧山椒魚的個體以及現有較長期微棲地的溫度資料結果來看，顯示此區目前營造的微環境條件能滿足觀霧山椒魚的基本生存，從這些個體被重複翻閱捕捉的次數來看(甚至達六次)，顯示這些個體對此棲地有依戀性，因此有比較高的機會被找到。由於此區為人工營造，未來建議可適度開放此區作為山椒魚解說、志工調查訓練或環境教育的場域，進一步提升觀霧山椒魚生態中心的環境解說教育功能。

二、長期性的建議

主辦機關：雪霸國家公園管理處

協辦機關：中國文化大學生命科學系

建議事項：

雖然目前的監測結果認為觀霧山椒魚族群量與環境條件穩定，但觀霧山椒魚仍有近親交配，這樣的情況可能造成遺傳多樣性喪失，不利與適應演化，此外，從溫度耐受與溫度偏好的溫度馴化能力表現也顯示氣候暖化可能對觀霧山椒魚未來產生衝擊。目前所知的觀霧山椒魚主要分布範圍都在國家公園或自然保留區或保護區內，理論上不易

受到大規模開發的干擾，然而，在未來主管單位保育經費預算的許可下，仍建議未來對其族群與環境條件做中短期或更長期的監測。此外，也建議未來可評估規劃觀霧地區可供山椒魚族群遷移的生態廊道之可行性，透過關聯族群間遷移交流，維持遺傳多樣性，助於適應演化，達到生態保育與復育之目的。

第五章、參考文獻

- Borzee, A., Kim, J. Y., Da Cunha, M. A. M., Lee, D., Sin, E., Oh, S., ... & Jang, Y. (2016). Temporal and spatial differentiation in microhabitat use: Implications for reproductive isolation and ecological niche specification. *Integrative zoology*, 11: 375-387.
- Calosi, P., D. T. Bilton, and J. I. Spicer. 2008. Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. *Biology Letters* 4:99-102.
- Camp, C. D., J. A. Wooten, J. B. Jensen, and D. F. Bartek. 2013. Role of temperature in determining relative abundance in cave twilight zones by two species of lungless salamander (family Plethodontidae). *Canadian Journal of Zoology*, 92: 119-127.
- Chen, T. C., Y. C. Kam, and Y. S. Lin. 2001. Thermal physiology and reproductive phenology of *Buergeria japonica* (Rhacophoridae) breeding in a stream and a geothermal hot spring in Taiwan. *Zoological Science* 18:591-596.
- Cupp, J., P. V. 1980. Thermal tolerance of five salientian amphibians during development and metamorphosis. *Herpetologica* 36:234-244.
- Delson, J. and W. G. Whitford. 1973. Stages in desert and montane populations of *Ambystoma tigrinum*. *Herpetologica* 29:352-355.
- Deutsch, C. A., J. J. Tewksbury, R. B. Huey, K. S. Sheldon, C. K. Ghalambor, D. C. Haak, and P. R. Martin. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:6668-6672.
- Duarte, H., M. Tejedo, M. Katzenberger, F. Marangoni, D. Baldo, J. F. Beltrán, D. A. Martí, A. Richter-Boix, and A. Gonzalez-Voyer. 2011. Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Global Change Biology* 18:412-421.
- Drummond, A.J., M. A. Suchard, D. Xie, and A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.
- Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of

- individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- Floyd, R. B. 1985. Effects of photoperiod and starvation on the temperature tolerance of larvae of Giant toad, *Bufo marinus*. *Copeia* **1985**:625-631.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 2.9.3.2): A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Green, D. E. 2001. Anesthesia of amphibians in the field. USGS Standard Operating Procedure. ARMI SOP.
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Holomuzki, J. R. 1986. Predator avoidance and diel patterns of microhabitat use by larval tiger salamanders. *Ecology* **67**:737-748.
- Hoppe, D. M. 1978. Thermal tolerance in tadpoles of the chorus frog *Pseudacris triseriata*. *Herpetologica* **34**:318-321.
- Howard, J. H. and R. L. Wallace. 1983. Critical thermal maxima in populations of *Ambystoma macrodactylum* from different elevations. *Journal of Herpetology* **17**:402-404.
- Huelsenbeck, J. P., and F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hutchison, V. H. 1961. Critical thermal maxima in salamanders. *Physiological Zoology*:92-125.
- Hutchison, V. H. and R. K. Dupre. 1992. Thermoregulation. Pages 206-249 in M. E. Feder and W. W. Burggren, editors. *Environmental Physiology of the Amphibians*. The University of Chicago Press Chicago and London.
- Kirtman, B., S.B. Power, J.A. Adedoyin, G.J. Boer, R. Bojariu, I. Camilloni, F.J. Doblas-Reyes, A.M. Fiore, M. Kimoto, G.A. Meehl, M. Prather, A. Sarr, C. Schär, R. Sutton, G.J. van Oldenborgh, G. Vecchi and H.J. Wang, 2013: Near-term Climate Change: Projections and Predictability. In: *Climate Change 2013: The Physical*

- Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 953–1028, doi:10.1017/CBO9781107415324.023.
- Keen, W. H. and E. E. Schroeder. 1975. Temperature selection and tolerance in three species of *Ambystoma* larvae. *Copeia* **1975**:523-530.
- Lai, J.-S. and K.-Y. Lue. 2008. Two new *Hynobius* (Caudata: Hynobiidae) salamanders from Taiwan. *Herpetologica* **64**:63-80.
- Lai, J.-S. and K.-Y. Lue. 2013. Microhabitat Preference of the Alishan Salamander (*Hynobius arisanensis*). *Current Herpetology* **32**:125-134.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, and R. Lopez. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* **23**:2947-2948.
- Lee, P.-F., K.-Y. Lue, and S.-H. Wu. 2006. Predictive distribution of hynobiid salamanders in Taiwan. *Zoological Studies* **45**:244-254.
- Li J., Fu C., and G. Lei. 2011. Biogeographical Consequences of Cenozoic Tectonic Events within East Asian Margins: A Case Study of *Hynobius* Biogeography. *PLoS ONE* **6**(6): e21506. doi:10.1371/journal.pone.0021506.
- Librado, P., and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**: 1451-1452.
- Licht, P. and A. G. Brown. 1967. Behavioral thermoregulation and its role in the ecology of the red-bellied newt, *Taricha rivularis*. *Ecology* **48**:598-611.
- Lue, K. and K. Chuang. 1992. The discovery of metamorphosed juveniles of formosan salamander (*Hynobius formosanus*) in Yu-Shan national park. *Bulletin Institute Zoology, Academia Sinica* **31**:312-316.
- Manis, M. L. and D. L. Claussen. 1986. Environmental and genetic influences on the thermal physiology of *Rana sylvatica*. *J. them. Bio.* **11**:31-36.

- Masatoshi, M., T. Igawa, M. Nozawa, H. Michimae, T. Miura and K. Nishimura. 2015. Development and characterization of 12 microsatellite markers for the Hokkaido salamander (*Hynobius retardatus*). *Current Herpetology* 34: 177-181
- 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: e0156815. doi:10.1371/journal.pone.0156815.
- Moritz, C., C. J. Schneider, and D. B. Wake. 1992. Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Systematic Biology* 41:273-291.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* 89: 583-590.
- Noland, R. and G. R. Ultsch. 1981. The roles of temperature and dissolved oxygen in microhabitat selection by tadpoles of a frog (*Rana pipens*) and a toad (*Bufo terrestris*). *Copeia* 1981:645-652.
- Otis, D. L., Burnham, K. P., White, G. C., & Anderson, D. R. 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildlife monographs*, 62: 3-135.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond M., and Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Rome, L. C., E. D. Stevens, and H. B. John-Alder. 1992. Environmental Physiology of the Amphibians. Pages 183-205 in M. E. Feder and W. W. Burggren, editors. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Seto, T. and T. Utsunomiya. 1987. Chromosome analysis of *Hynobius arisanensis* Maki, a salamander endemic to Taiwan. *Herpetologica*:117-119.
- Sinervo, B., F. Mendez-De-La-Cruz, D. B. Miles, B. Heulin, E. Bastiaans, M. Villagrán-Santa Cruz, R. Lara-Resendiz, N. Martínez-Méndez, M. L. Calderón-Espinosa, and R. N. Meza-Lázaro. 2010. Erosion of lizard diversity by

- climate change and altered thermal niches. *Science* **328**:894-899.
- Stauffer, J. R. J., J. E. Gates, and W. L. Goodfellow. 1983. Preferred temperature of two sympatric *Ambystoma* larvae: a proximate factor in niche segregation? *Copeia* **1983**:1001-1005.
- Stillman, J. H. 2003. Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science* **301**:65-65.
- Tsukada, M. 1966. Late Pleistocene vegetation and climate in Taiwan (Formosa). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **55**: 543-584.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, and S. Kumar. 2013 MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 2725-2729.
- Templeton, A. R., and C. F. Sing. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics* **134**: 659-669.
- Tewksbury, J. J., R. B. Huey, and C. A. Deutsch. 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science* **320**:1296.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills, and P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* **4**: 535-538.
- Walton, B. M. 2013. Top-down regulation of litter invertebrates by a terrestrial salamander. *Herpetologica* **69**:127-146.
- Weisrock, D.W., J.R. Macey, I.H. Ugurtas, A. Larson, and T. J. Papenfuss. 2001. Molecular phylogenetics and historical biogeography among salamandrids of the “true” salamander clade: rapid branching of numerous highly divergent lineages in *Mertensiella luschani* associated with the rise of Anatolia. *Molecular Phylogenetic Evolution* **18**: 434-448.
- Wu, C. S. and Y. C. Kam. 2005. Thermal tolerance and thermoregulation by Taiwanese rhacophorid tadpoles (*Buergeria japonica*) living in geothermal hot springs and

- streams. *Herpetologica* **61**:35-46.
- Yeh, K., K. Chuang, K. Lue, and S. Chen. 1988. The study of antipredator behavior of formosan salamander (*Hynobius formosanus*). *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica* **27**:37-48.
- 毛俊傑. 2009. 棲蘭山 100 線林道觀霧山椒魚之分布與環境. Page 31. 行政院退除役官兵輔導委員會榮民森林保育事業管理處.
- 林博雄. 2010. 觀霧地區雲霧環境之監測與模式建立. 雪霸國家公園管理處委託辦理計畫成果報告.
- 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.
- 呂光洋、賴俊祥. 2012. 阿里山山椒魚監測及監測模式標準作業程序制定. 國立臺灣師範大學.
- 李文傑、呂光洋. 1996. 台灣地區蛇類食性的初探. *師大生物學報* **31**:119-124.
- 巫奇勳、謝佳宏. 2015. 觀霧山椒魚溫度生理耐受性測量及族群遺傳多樣性分析. 雪霸國家公園管理處委託辦理計畫成果報告.
- 侯文祥、陳君翔. 2007. 台灣阿里山山椒魚活動力與水邊棲地狀態之關係研究. *臺灣水利* **55**:82-91.
- 陳世煌、呂光洋. 1986. 臺灣產山椒魚之研究 (二) 阿里山地區山椒魚之族群生態研究. *師大生物學報* **21**:47-72.
- 葉明欽、呂光洋、賴俊祥. 1994. 阿里山及玉山國家公園台灣山椒魚族群生態之研究. *師大生物學報* **29**:79-87.
- 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.
- 蔡尚惠、洪美珠. 2010. 觀霧山椒魚棲地改善後之族群監測. 林務局新竹林區管理處委託報告。
- 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. *Bio Formosa* **42**:105-117.

附錄

期中審查會議紀錄

期末審查會議紀錄

保育類野生動物利用核准公文

雪霸國家公園動物採集核准公文

進入北插天山自然保留區核准公文

進入棲蘭山核准公文

**「觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤」
期中報告會議紀錄**

壹、會議時間：106年6月28日（星期三）上午10時整

貳、會議地點：本處第1會議室

參、主席：鍾處長銘山（鄭副處長瑞昌代） 記錄：傅國銘

肆、出(列)席單位及人員：詳如簽到簿

伍、討論事項

委員	委員提問	中國文化大學回覆
吳聲海 委員	<p>(一)可嘗試討論觀霧山椒魚在哪个生活史階段對溫度敏感，另外是否成體和幼體會有不同耐溫能力？</p> <p>(二)請加強拉拉山、北插天山族群耐溫能力之相關性分析？</p> <p>(三)請補充描述北橫拉拉山、北插天山個體的來源。</p> <p>(四)建議未來將粒線體分析結果和微衛星基因結果並列。</p> <p>(五)本年度預定使用</p>	<p>(一)觀霧山椒魚在哪个生活史階段對溫度敏感的問題，亞成體捕捉到的個體數很少，也擔心因個體小帶回飼養有食餌問題，所以也沒進行幼體實驗，不過確實幼體耐溫能力推測比較差。</p> <p>(二)拉拉山、北插天山族群和其耐溫能力之相關性如何，後續採集樣本增加後會嘗試進行相關試驗分析。</p> <p>(三)北橫拉拉山個體組織的來源為賴俊祥博士提供的樣本，會在修正報告書中註記。</p> <p>(四)粒線體分析結果和微衛星基因座結果並列</p>

	<p>的追蹤裝置，請在報告書中補充說明。</p>	<p>部分會遵照辦理，另會補充報告說明預定使用的追蹤裝置，目前考量手術用的黏膠進行追蹤器固定。</p>
<p>本處同仁</p>	<p>(一)圖 3-4 中遮蔽物底下所調查到的其他動物與利用比率中，可否說明其與觀霧山椒魚的關係？</p> <p>(二) P23 頁表 3-1 中大鹿林道西線 5 月份捕獲率 1 為錯誤資料，請修正；針對山椒魚活動範圍追蹤，可將以往吳聲海老師調查資料進行比對，或許在線團法未解決前可獲得一些成果；表 3-1、3-2 建議重新整理清楚，請註記重複捕捉日期，才知道被</p>	<p>(一)本研究遮蔽物底下所調查到的其他動物與山椒魚的關係，部分是食物鏈的一環，如標蛇會吃山椒魚、蛙類與蜥蜴可能是空間上的競爭使用，另某些則是較無關係僅存活同一空間。</p> <p>(二)表 3-1 中會增加一欄位捕捉次數，再換算補獲率，大鹿林道西線 5 月份錯誤處會修正；至於山椒魚活動範圍追蹤，105 年有將以往吳聲海老師調查 GPS 資料進行比對來推算移動距離，今年會想辦法解決背包</p>

	<p>重複捕捉過幾次。</p> <p>(三)今年捕獲的隻數請修正為 33 隻;今年遺傳樣本為 42 個體,去年有 135 筆樣本,是否有何不同目的?</p> <p>(四)是否可利用山椒魚族群遺傳分析資料來推估歷史有效族群量?</p> <p>(五)觀霧山椒魚可以活幾歲?從外觀是否可辨認出公或母個體?如果有突破性的研究成果建議可發新聞稿。</p>	<p>線團或其他追蹤裝置的固定問題,例如,嘗試利用手術黏膠來固定。</p> <p>(三)表 3-1、3-2 依照建議重新整理清楚,並標記重複捕捉日期;今年捕獲隻數修正為 33 隻;今年進行遺傳分析 42 個樣本,乃因應試驗設計從不同地區篩選出來的山椒魚代表性樣本,主要想測試北海道山椒魚研究找到的 12 個引子,但測試結果並不適用。</p> <p>(四)利用山椒魚族群遺傳分析資料是否推估歷史有效族群量,去年有進行相關分析,可參考去年報告書。原則在冰河期族群數量上升,反之,溫度上升時族群數量是下降的。</p>
--	--	---

		<p>(五)呂光洋老師調查阿里山山椒魚有紀錄活 10 幾歲的個體，除非直接採趾頭骨來算年齡，不然目前僅能以重複捕捉來推算；外觀看不出來公母個體，要看泄殖腔。</p> <p>(六)其餘建議事項遵照修改補充。</p>
--	--	--

陸、結論

- 一、本次審查會議原則通過，請受託單位依各與會人員之建議修正，並將修正意見列表回覆本處。
- 二、請依合約規定辦理撥付第 2 期款相關事宜。

柒、散會：上午 11 時 30 分

**「觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤」
期末報告審查會議紀錄**

壹、會議時間：106 年 12 月 8 日（星期五）下午 2 時 30 分

貳、會議地點：本處第 1 會議室

參、主席：鍾處長銘山

記錄：陳家鴻

肆、出(列)席單位及人員：詳如簽到簿

伍、討論事項

委員	委員提問	中國文化大學回覆
吳委員聲海	<p>(一)建議將報告中所使用的分析軟體設定參數列出，方便日後以同樣方法之使用者做比較。另外，可與之前多年的調查資料做比較，是否有年度間之改變？長期累積之資料很有用。</p> <p>(二)微衛星基因目前使用的是兩個(dimer)鹼基重複的序列，是否有 3 或以上的檢測？使用 dimer 是否會有不確定因素影響結果？</p> <p>(三)近親交配指數的分析是否會受樣本數或使用的基因數影</p>	<p>(一) 相關軟體設定參數會進行補充，並比較之前的調查資料再做討論。</p> <p>(二)就觀霧地區的族群，之前由粒線體 DNA 資料知道其遺傳多樣性極低，可視為同一族群，目前以兩個鹼基重複的序列做出來的多型性會是最高，但實際上得到的結果差異仍偏低，假如用更多的鹼基序列來做可能差異更小。在樣本數上，巨木步道的樣本數有 47 隻，結果絕對可信，結果顯示確實有近親交配並偏離哈溫平衡（非隨機交配），其他地區的數值確實會受樣本數多少的影響。</p>

響？是否可做分子變方分析 (AMOVA)？

(四) 溫度選擇實驗結果，缺乏調整溫度的偏好是否有其他可能？是否這些溫度範圍仍是其能接受範圍內？北插天山的族群是否對溫度偏好有更大的彈性？

(五) 棲蘭山溫度變化的範圍與觀霧比較，目前看到觀霧溫差小的地方也是發現個體較多的地方，而其他較少發現之處(溫差大)是否局部地區仍有族群較高的地點，只是因採集不便而影響結果？

(六) 使用封閉型族群的方式來估算族群可能不適合，可以嘗試使用開放型的估算方法，估算結果之信賴區間也應把最高與最低值放入，再做說

(三) 因為就目前分析之資料可看出已分為3群(觀霧、北橫與棲蘭山)，因為其他數據已支持這個結果，若用 AMOVA 分析，結果也一定是顯著的，所以沒有使用 AMOVA。

(四) 選溫馴化的溫度為參考之前的研究團隊資料，山椒魚出現的高峰環境溫度為 15 度，而調查地點中溫度會到達 20 度的為北插天山地區，因此選擇這兩個溫度範圍應屬合理。而結果顯示其溫度偏好並不會改變，表示未來氣溫變高後他們並不會改變溫度偏好，因此未來若氣候暖化對牠們的影響將很大。

(五) 北插天山的選溫資料因為樣本數太少而無法進行實驗，而棲蘭山與北插天山的微棲地溫差其實都不大(報告書中圖 3-12 因印刷問題易造成誤解)，就各地所得到的溫差資料均是小的，所以應不會有因調查地點不同而造成捕

	<p>明。</p>	<p>獲數的差異。</p> <p>(六) 估算開放式的族群需考慮遷入、遷出與死亡，數據不一定準確。會再試試開放式族群估算方式。</p>
<p>本處同仁</p>	<p>(一) 觀霧管理站：</p> <p>1. 報告書中的地名要統一，如巨木步道、巨木林道...。</p> <p>2. 透過重複捕捉來知道移動距離，是否有考量到重複捕捉的間隔時間？移動距離與間隔時間之間有無關係？</p> <p>3. 推估巨木步道區有 82 隻，在解說上要以如何的說法讓遊客瞭解？</p> <p>(二) 企劃經理課：</p> <p>針對長期氣候變遷（溫度或雨量的變化等）來看，是否有特別追蹤或記錄單一極端天候事件對族群造成的影響？</p> <p>(三) 保育研究課：</p>	<p>(一) 報告書中地名會再檢視並統一用字。</p> <p>(二) 重複捕捉的描述上會再檢視補充或修正。</p> <p>(三) 間隔時間與移動距離的問題會再做整理，釐清相關性。</p> <p>(四) 族群密度估算時，重複捕捉數實是有限，採用的是最保守估計，應是低估的數值，對遊客解說時可說在 1 公頃的範圍內，石頭下大概會有幾隻。</p> <p>(五) 關於極端天候事件造成的影響，因為 3 年內並無遇到類似事件，目前無法回答。去年的研究報告推估有效族群變動，觀霧目前是屬於避難所，如果天候變冷，對山椒魚無影響，假使</p>

	<p>1. 巨木步道區推估出來的族群數有 82 隻明顯有錯，就之前的實際調查，已超過 100 隻，本研究似乎嚴重低估，再請老師檢視此估算方法是否合適？</p> <p>2. 針對重複捕捉的個體可否就其體長、體重等測值做成完整表格，即每一個體在歷次重複捕捉時各形質的紀錄表格。</p> <p>3. 在移動距離計算部分，水平與垂直的數據是依據重複捕捉多次的個體而得，但間隔時間與移動的最大距離之間以及面積是如何計算出來的？</p> <p>(四) 陳秘書俊山： 如觀霧站所提，關於單位面積的個體數上面的表示，可否以推估潛在的或適合的棲地面積來做解釋，對於向遊客解說</p>	<p>是暖化，絕對會有影響。</p> <p>(六) 活動範圍是以重複捕捉 3 次以上個體來進行最小凸多邊形法估算。</p>
--	--	---

	<p>上比較容易理解。</p> <p>(五) 主席：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 請受託單位把執行調查之相關紀錄詳細整理。 2. 再捕獲在分析上是非常重要的資料，其中有兩筆超過 2 百公尺移動距離的紀錄，是否有其他因素造成此極大差異？ 3. 可以調查範圍來描述山椒魚的數量供解說上使用。解說前應先把背景條件再詳細描述，偏重事實的陳述，比如：在適合生存的棲地中，推估可能的狀況...。 	
--	--	--

陸、結論

一、本次審查會議原則通過，請受託單位依各與會人員之建議修正，並將修正意見列表回覆本處。

二、依合約規定繳交相關資料辦理驗收結案並撥付第 3 期款相關事宜。

柒、散會：下午 4 時 30 分

檔 號：

保存年限：

行政院農業委員會 函

地址：10014臺北市中正區南海路37號

承辦人：謝書綺

電話：(02)23515441分機662

電子郵件：m6030@forest.gov.tw

受文者：中國文化大學

發文日期：中華民國106年3月31日

發文字號：農授林務字第1061700676號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：如說明二(1700676A00_ATTCH25.pdf)

主旨：本會同意貴校巫奇勳助理教授等5人申請利用保育類野生動物—觀霧山椒魚55隻，供學術研究，詳如說明，請查照。

說明：

- 一、依據本會林務局案陳雪霸國家公園管理處106年3月16日營雪保字第1060000870號函暨貴校106年3月27日電郵補正資料辦理。
- 二、同意貴校相關人員自即日起至106年12月31日止，於宜蘭縣、新北市、桃園市、苗栗縣與新竹縣轄插天山自然保留區、棲蘭野生動物重要棲息環境、棲蘭山100線、130線與160線林道、觀霧國家森林遊樂區、雪霸國家公園觀霧遊憩區，捕捉觀霧山椒魚進行形質測量、剪尾部組織，部分個體飼養於貴校，以分析族群變異與溫度偏好實驗，調查方法及人員詳附件「同意利用保育類野生動物事項」與「執行人員名冊」各1份。
- 三、本案倘涉原住民族利益，請踐行原住民族基本法第21條之規定。



四、貴校相關人員於申請期間利用旨揭物種進行學術研究時，請依下列事項辦理：

- (一) 本案依據野生動物保育法第18條第1項第2款及其施行細則第21條之規定許可，如行為涉及其他法條或法規時(例：動物保護法)，請依相關規定辦理。利用期間涉及瀕臨絕種野生動物飼養、因病或不明原因死亡時，應依野生動物保育法規定辦理。
- (二) 利用期間如涉及瀕臨絕種及珍貴稀有野生動物因病或不明原因死亡時，應依野生動物保育法第38條規定辦理。
- (三) 請於進行研究時，攜帶本同意函(或相關核准函)影本及身分證明文件，並於採集及試驗1星期前以電話通知相關主管機關，俾視業務狀況派員瞭解及查驗執行利用情形。
- (四) 為建檔保存臺灣野生動物遺傳物質之需，如有採集遺傳物質時，請配合將研究賸餘之遺傳物質副份存放至本會補助成立之「臺灣野生動物遺傳物質冷凍儲存庫」(網址：<http://cryobank.sinica.edu.tw>)。
- (五) 請於本核准同意利用案截止日期後3個月內，將研究利用成果填寫「利用保育類野生動物成果報告書」及其結案報告函送本會備查，並依「林務局生態分布調查研究計畫-資料繳交與使用作業說明」規範，利用詮釋資料編輯軟體(Morpho)建立本案之詮釋資料，連同空間分布資料上傳至林務局生態調查資料庫(<http://metacat.forestry.gov.tw>)。
- (六) 本研究成果發表時，請於研究報告中註明本案核准日期

及文號，並函送本會存參。

(七)實驗動物之使用應以尊重、悲憫與感恩的態度，並配合國際通用的3R原則—取代、減量、精緻化(Replacement、Reduction、Refinement)，在飼養照顧和實驗過程中，儘量減少其所遭受的痛苦。

(八)相關表格及報告書請至本會林務局自然保育網(網址：<http://conservation.forest.gov.tw>) /下載專區/申請書表/下載。

正本：中國文化大學

副本：內政部警政署保安警察第七總隊(含附件)、國軍退除役官兵輔導委員會榮民森林保育事業管理處(含附件)、雪霸國家公園管理處(含附件)、臺北市政府(含附件)、新北市政府(含附件)、桃園市政府(含附件)、新竹縣政府(含附件)、苗栗縣政府(含附件)、宜蘭縣政府(含附件)、本會動植物防疫檢疫局(含附件)、本會林務局(含附件)、本會林務局羅東林區管理處(含附件)、本會林務局新竹林區管理處(含附件)、台灣生物資源資料庫中心(含附件)

2017-03-31
14:58:22
章

裝

子公
換章

訂

線
05

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

電話：037-996100# 702

傳真：037-996703

電子郵件：pei ju@spnp.gov.tw



受文者：中國文化大學

發文日期：中華民國106年4月7日

發文字號：營雪保字第1060001097號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：採集許可證、採集證人員名冊、學術研究標本採集證核發要點、點位資料Excel
範例檔(1060001097-0-0.pdf、1060001097-0-1.pdf、1060001097-0-2.pdf、1060
001097-0-3.xlsx)

主旨：檢送貴校為執行「觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤」


案學術研究標本採集許可書及人員名冊各1式1份（5人）

，復請查照。

說明：

- 一、依據行政院農業委員會106年3月31日農授林務字第106170
0676號，兼復貴校同年1月11日校理字第1060000206號函
辦理。
- 二、本案採集時間自核准日起至106年12月31日止，本園區自
然資源有限，敬請考量減少不必要之採集。每次調查採集
時請採集與調查人員先至本處觀霧管理站登記並領取研究
背心，俾便進行必要之配合聯繫。
- 三、採集與調查人員如發現違法盜獵盜伐情事請與本處保育課
（電話037-996100）或就近與本處觀霧管理站（037-2763
00）連繫。
- 四、自99年度起向本處申請標本採集證者，於計畫結束前，須



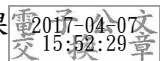


將各項調查原始資料登錄上傳至營建署建置之國家公園生物多樣性地理資訊系統(<http://npgis.cpami.gov.tw/CPA97-1/login.cfm>)。

五、檢附本處「學術研究標本採集證核發要點」及「點位資料填寫範例」各1份，請採集與調查人員確實遵守相關規定，並於結案後1個月內將成果報告及調查地點GPS定位資料（電子檔）傳送至本處學術研究暨採集證線上送件系統（<http://gcds.spnp.gov.tw/user/>）。

正本：中國文化大學

副本：行政院農業委員會林務局新竹林區管理處、內政部警政署保安警察第七總隊第五大隊、本處觀霧管理站、保育研究課



裝

訂

線

檔 號：

保存年限：

行政院農業委員會林務局新竹林區管理處 函

地址：30046新竹市中山路2號

承辦人：湯偉志

電話：03-5224163-232

傳真：03-5244350

電子信箱：pp770521@forest.gov.tw

受文者：中國文化大學

發文日期：中華民國106年3月7日

發文字號：竹育字第1062102495號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：如說明五(2102495A00_ATTCH1.pdf)

主旨：為貴校執行雪霸國家公園管理處「觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤」計畫，申請進入本處轄插天山自然保留區、觀霧國家森林遊樂區巨木步道及大鹿林道進行觀霧山椒魚案，同意所請，請查照。

說明：

- 一、復貴校106年3月3日校理字第1060000743號函。
- 二、旨案涉插天山自然保留區部分，核符「申請進入自然保留區許可辦法」第2條第1項第2款，研究機構或大專院校為學術研究之需要，爰同意貴校巫奇勳助理教授等4人進入插天山自然保留區進行觀霧山椒魚調查，核准進入期間為核准日起至106年12月31日止，並請於研究計畫結束後三個月內將研究結果(或報告)三份送本處備查。
- 三、貴中心調查人員進入自然保留區時，應隨身攜帶許可文件及身分證明證照，隨時接受查驗，並請務必注意安全，避免意外發生，禁止「申請進入自然保留區許可辦法」第8條第1項所列各款行為。
- 四、調查物種涉保育類野生動物「觀霧山椒魚」，依據野生動



物保育法第18條，需報經中央主管機關(行政院農業委員會)許可後，使得進行調查；調查期間如涉及其他法規時，請依規辦理。

五、檢附調查人員名冊1份。

正本：中國文化大學

副本：行政院農業委員會林務局(含附件)、內政部警政署保安警察第七總隊第五大隊(含附件)、本處育樂課(含附件)、本處大溪工作站(含附件)、本處烏來工作站(含附件)

2017-03-08
11:52:41
文
章

裝



訂

線



檔 號：

保存年限：

國軍退除役官兵輔導委員會榮民森林保育事業管理處

函

地址：26058宜蘭縣宜蘭市林森路100號

聯絡人：蔡國書

電話：03-9375134

傳真：03-9381003

Email：kuoshu@msl.fcea.gov.tw



受文者：中國文化大學

發文日期：中華民國106年2月21日

發文字號：森企字第1060000634號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：如說明三(二)(三)(1060000634_Attach1.DOC、1060000634_Attach2.DOC)

主旨：貴校巫奇勳助理教授研究團隊等5人為執行雪霸國家公園管理處委託「觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤」計畫案申請於106年3月1日至至12月31日止進入棲蘭山林區100線、130線、160線林道進行山椒魚調查與採集乙案，請依說明事項配合辦理，請查照。

說明：

- 一、復貴校106年2月16日校理字第1060000551號函。
- 二、有關申請進入本處100線、130線、160線林道進行山椒魚調查乙事原則同意，但有關採集山椒魚乙節，請待主管機關許可後，並將許可文件複印乙份交由本處方能同意於本處轄區採集。
- 三、有關進入林區須注意事項，說明如次：
 - (一)100線林道屬森林乙種道路，17公里以後路段(含160線林道)限行駛9人座以下車輛，碎石級配道路高低落差大，山區多霧、常有落石，請依速限小心駕駛並請先行向1



裝

訂

線

00線守衛站(電話：03-9894103)電洽確認林道可通行後始得進入。

(二)進入棲蘭山林區請攜帶本函、識別證或身份證明等文件，交由100線守衛站核對，並填妥切結書(空白切結書如附件一)交該站收執後放行。

(三)100線林道15K山屋借宿乙節，每人每宿收取清潔維護費新台幣壹佰元整，並請依據案附棲蘭山100線林道15K山屋申請住宿作業須知規定辦理(如附件二)。

四、研究調查區域屬棲蘭野生動物重要棲息環境，請遵守野生動物保育法及相關法令規定。

五、請於年度計畫執行完成後3個月內，將調查坐標資訊及研究成果(或電子檔)提供本處參考。

正本：中國文化大學

副本：本處企劃組、棲蘭山工作區、100線守衛站(以上均含來文及人員名冊)

2017-02-22
14:30:44
電子公文
章