

太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期

內政部營建署太魯閣國家公園管理處委託辦理

中華民國一百年十二月

本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見

太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期

執行單位：中華民國國家公園學會

研究主持人：翁慶豐

研究助理：李國璋

內政部營建署太魯閣國家公園管理處委託辦理

中華民國一百年十二月

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	I
表次	III
圖次	V
摘要	VII
英文摘要	XI
第一章 緒論	1
第二章 研究方法	7
第一節 研究物種選擇、採集地點之建立及採集方法	7
第二節 基因條碼之建立與CO 1、12S 及16S核苷酸序列 之放大和選殖及親緣關係與基因多樣性分析	10
第三節 二維蛋白質電泳分析	15
第三章 研究結果	19
第一節 盤古蟾蜍與梭德氏赤蛙地理分布調查結果	21
第二節 兩棲爬蟲類生命條碼 (Barcode) 及遺傳物質分析	25
第三節 兩棲類功能性基因	43
第四節 兩棲類生物地理探討	44
第四章 結論與建議	45
附錄一 上傳NCBI基因條碼序列	49
附錄二 上傳NCBI之12S ribosomal RNA gene基因序列	65
附錄三 上傳NCBI之16S ribosomal RNA gene基因序列	81
附錄四 調查工作照片	97
附錄五 專有名詞	107
附錄六 期中會議記錄	109
附錄七 期末會議記錄	113
參考書目	117

表次

表 2-1	中橫沿線不同海拔採集地點·····	09
表 3-1	兩棲類已定序基因條碼·····	37
表 3-2	爬蟲類已定序基因條碼·····	38

圖次

圖 2-1	中橫沿線採集地點	05
圖 2-2	中華大蟾蜍 (<i>Bufo gargarizans</i>) 粒線體之部分結構及盤古蟾蜍 控制區引子對(15971F、16582R)相對位置	12
圖 3-1	不同海拔氣象站收集之月均溫變化	19
圖 3-2	聯合國跨政府氣候變遷小組(IPCC)提出之研究預測 (2000)	20
圖 3-3	盤古蟾蜍不同月份與海拔高度調查出現之頻率	22
圖 3-4	盤古蟾蜍不同月份與海拔高度調查出現之雌雄比例	23
圖 3-5	不同海拔梭德氏赤蛙調查出現之頻率	24
圖 3-6	園區內兩棲類以生命條碼分析之親緣關係樹	39
圖 3-7	以最大簡約法法分析盤古蟾蜍控制區基因單型之親緣關係樹	42
圖 3-8	盤古蟾蜍皮膚蛋白質2維電泳分析結果	44

摘要

太魯閣國家公園因地勢高低差異極大，多變的環境產生複雜的植被動物相，適合作為生物地理學之研究。本研究利用粒線體 DNA 序列實驗平台，已完成太魯閣國家公園園區內之兩棲爬蟲類粒線體 DNA 基因共 16 種，包括如山椒魚，呂氏攀蜥及中國樹蟾等稀有之物種，完成之 CO1 基因部份序列可做為**基因條碼**（DNA Barcode），以建立國家公園管理處建立**基因多樣性**之基礎資料，供後續保育研究之應用。由盤古蟾蜍數量分布及出現頻率資料，與過去文獻報告比較分析，結果發現**海拔**高度對盤古蟾蜍分布及繁殖季節會造成影響，再進一步按海拔落差分別計算分析盤古蟾蜍雌雄比例，可發現分布於低海拔的盤古蟾蜍雌蛙比例最高出現在 9 月，符合一般對其之繁殖季開始之月份，而中高海拔之雌蛙出現之高峰，隨海拔提高而提前到 5 至 7 月。梭德氏赤蛙在高低海拔間亦有類似之現象，高海拔的族群主要出現在春秋兩季，而低海海拔族群則在溫度較低的冬季才會少量出現，兩例皆可說明**海拔**高度影響兩棲類之分布及繁殖季節。本計劃並利用分子生物技術，分析比較盤古蟾蜍之親緣關係，發現**盤古蟾蜍**族群可依高低海拔分出兩個類群，此現象可能隨著海拔環境溫度的變化及適合不同季節繁殖溫度所導致。另由梭德氏赤蛙出現頻率、數量分布及親緣關係之分析，不同海拔亦有類似之演化選汰及隔離之作用，其系群間逐漸

產生遺傳變異。全球暖化與氣候變遷，近年已經開始造成極端氣候及對生態保護工作之壓力。由於變溫動物與兩棲類對環境條件的變化較敏感，對兩棲類生理生態之研究愈深入了解及監測，則愈能以其作為模式動物探討暖化與氣候變遷對生態可能造成之影響，提早研議出適合之保育政策藉此因應之。

關鍵字：基因多樣性、基因條碼、盤古蟾蜍、梭德氏赤蛙、海拔

立即可行之建議

1. 藉物種 DNA barcode 資料之建立與上傳到國際基因條碼資料庫與資料公開，將太魯閣國家公園從事基因多樣性研究，提昇並推廣世界太魯閣國家公園在國際間之能見度。
2. 持續推動太魯閣國家公園敏感性生物如兩棲類之族群分布及生態分析研究，進一步作為環境生態多樣性監測之用。
3. 利用兩棲類分布之特性，以兩棲類指標物種，監測全球氣候變遷對太魯閣國家公園生態之環境影響。
4. 建立太魯閣園區物種資料庫、包括基因條碼序列資料、粒線體基因序列資料，以供相關基因多樣性與生態多樣性研究及物種鑑定參考。

中長期性建議

- 1、持續針對不同海拔高度調查，長期監測兩棲類族群的消長及

分布。

2、對盤古蟾蜍進行長期監測及研究，深入探討全球氣候變化造成之環境條件改變對生態系之影響。以了解自然生態可能之改變趨勢，作為維持、保育園區內的生物棲地與生物多樣性之保育政策擬定之參考。

Abstract

Due to great differences in the elevation, varied ecology system, environment, Taroko National Park is a region suitable to study the **biogeography**. In this study, we set up the platforms to analyse the DNA Barcode and the phylogeny inferred from the mitochondrial DNA sequence of the amphibians and reptiles in Taroko National Park. The DNA Barcode have been completed for 16 species, including ***Bufo bankorensis***, ***Rana sauteri*** etc. Furthermore, we have utilized the mitochondrial DNA sequence to establish the genetic diversity of the basic information for follow-up research applications. The distribution and the captured frequency of *Bufo bankorensis*, indicates the breeding season of *Bufo bankorensis*, *Rana sauteri* should be affected by the **altitude**. According to the proportion of male and female *B. bankorensis* distributed in the low, female toads are mostly active in September, which is the general starting month of the breeding season, while the high altitude population of toads are in May to July earlier to the low altitude population. *R. sauteri* has the similar phenomenon, high-altitude populations occurred mainly in spring and autumn, while the low-altitude populations active in the temperature is lower in winter, two cases illustrate the altitude effect the distribution and the breeding season of amphibians. We have used molecular biology techniques, analysis and comparison of genetic relationship toad found toad population to follow the separation of two groups of high and low altitudes, this phenomenon may change with the altitude and ambient temperature for different seasons breeding temperatures caused. The other frogs from the *sauteri* frequency, quantity and distribution of genetic relationship analysis, the evolution of different altitudes similar elimination and isolation of the role of selection, the system has the effect of genetic variation among populations. Global warming and climate change, causing the extreme weather in recent years has begun

and the pressure of ecological protection. As cold-blood animal and amphibians to environmental conditions change more sensitive to the physiological ecology of amphibians, more in-depth understanding of research and monitoring, the more able as a model animal of its warming and climate change may cause the ecological effects of early research suitable for the proposed response to the conservation policy.

The CO1 gene sequence decoding is performed as an experimental platform for the DNA barcode and establish more complete database of Taroko National Park, sharing unique DNA barcode information on internet.

Keywords: **biogeography, DNA barcode, *Bufo bankorensis*, *Rana sauteri*, altitude**

第一章 緒論

第一節 研究緣起

太魯閣國家公園地勢高低差為國內所有國家公園之最，海拔高度從最低的閣口到南湖大山落差超過3700公尺，而地勢高低極大的變化，帶來多變而複雜的植被動物相，包含低中海拔闊葉林、混生林、高海拔針葉林、高山草原及苔原，有分布侷限於高山的山椒魚，也有僅出現在低海拔山區的日本樹蛙，多變的環境產生特殊而多樣的生態系，為生物地理學的研究提供良好的天然環境。生態體系的演化和地理的關係是非常密切的，地理限制生物的遷徙，環境具有決定生物的能力。這種研究生物與地理環境的關聯性，生物分佈的差別類型，及就時間與空間討論生物彼此間及與其環境關係間的變化，即為生物地理學(Biogeography)的研究範疇(呂光洋, 2007)。

目前國家公園動物保育研究多以物種名錄建立、族群分布與變遷、棲息地評估等作為經營管理之依據。過去的研究報告，重點多放在生態多樣性、物種多樣性的相關調查(吳海音, 2003)。近年由於相關單位的重視，物種基因多樣性的研究亦開始逐漸增加。過去十年間，由於分子生物學技術的突破和普及，國內研究生物的擴散及分布模式的生物親緣地理學蓬勃發展，獲得許多珍貴的資料，然而過去的

研究多僅確立中央山脈等山系，及較大的溪流所造成的地理隔離，對物種的生物地理具有重要的地位及作用，卻少有學者利用臺灣在極短的地理尺度內，卻有極大的海拔落差的特點，研究海拔差異對物種演化的影響。2009年開始，本研究室接受太魯閣國家公園管理處之委託，進行園區內兩棲爬蟲類基因條碼建立及基因多樣性之調查分析，結果發現分佈海拔較為廣泛的兩棲類，如梭德氏赤蛙及盤古蟾蜍經長時間的演化後，雖然是在太魯閣國家公園內同域分佈，理論上基因交流不會受到阻隔，但由於動物族群生存在不同海拔、溫度，逐漸因環境條件的差異，而產生遺傳基因差異之系群。

物種生活在不同的區域，常因為地理上或是生態上的區隔造成許多不同的族群，族群之間的基因遺傳因為交流的機會降低而具有一定程度的差異，即使在同一族群內個體之間的變異仍然存在，此即為基因多樣性，研究此基因多樣性可判斷其物種間的親緣關係。遺傳的多樣性代表著物種適應環境的潛力，自然狀態下基因的多樣性來自基因的突變及生殖過程中基因的交換重組，適合的基因在大自然的選擇之下被穩定的保存下來。由於瀕臨滅絕的物種其遺傳多樣性通常很貧乏，所以在進行保育工作方面，如何的保持、甚至增加物種的遺傳多樣性，以增加物種對環境變異的適應能力，就顯得非常的重要。

基因多樣性是研究生物多樣性最基本的項目之一，其中物種的演

化與適應、族群基因庫的變異程度，基因變異在族群內的個體間和族群之間流動情形，是否出現新種等等，這些都和保育及維持物種、族群和生態系的存續息息相關。為瞭解園區內兩棲類基因之多樣性，本試驗利用粒線體DNA基因條碼進行族群之分析與探討。

大多數細胞中都有上百個以上的粒線體，但只有一組粒線體DNA (mitochondrial DNA, 簡稱mtDNA) 位於細胞基質 (mitochondria matrix) 中。mtDNA可自行複製，為母系遺傳，經由卵細胞遺傳給子代，父系之粒線體並不會經由精子遺傳給子代。粒線體 DNA 結構為封閉的環狀雙股DNA，序列具高度同源性且大小相近，約有 16000 個鹼基對(bp)。D-loop (Displacement loop, D-loop) 為mtDNA複製 (replication) 及轉錄 (transcription) 時，主要的調控區域 (regulatory region)。由於D-loop並沒有轉譯出具有功能的蛋白質，容易發生插入 (insertion) 及缺失 (deletion)，突變速度會較其它具有功能之基因來得快速，近年來，有許多對動物D-loop進行不同品系或種間基因多樣性、親緣關係、演化關係之探討。近年來，有許多物種對D-loop基因進行不同品系間基因多樣性、親緣關係、演化關係之探討，如牛 (Jia et al., 2007)、綿羊 (Pedrosa, 2005) 及大陸山羊 (Liu et al., 2006)。有一些物種，如中國樹蟾、非洲爪蟾等的mtDNA序列已全部被定序出來，包含13個protein-coding基因、2個rRNA (12S及16S)、22個tRNA

基因和一段控制區D-loop。 mtDNA易受細胞內自由基的影響而發生突變，造成mtDNA具有演化快速，種間差異大，族群內穩定性高，母系遺傳等特性，藉由mtDNA之基因變化資料，可以探討動物不同種或族群間之歧異度、親緣關係及物種演化上的關聯性。基因多樣性的價值建立在同一物種的基因變異度。維持某物種的基因多樣性，則該物種對環境有較強的調適度，與其他物種的競爭性及互惠性上有較好的適應能力，因而有助於該物種的生存、繁殖與演化。

如今全球環境變遷急劇，全球暖化與氣候變遷的探討，一躍成近年最為熱門之環境保護議題。了解地球環境溫度的上升，對生態系所造成的影響，為自然保育工作的當務之急。由過去的研究成果我們發現，動物族群在太魯閣國家公園內同域分佈，但因環境條件不同而產生遺傳基因有所差異之系群，此一現象代表不同環境條件如溫度、溼度等，對於生活在園區內的兩棲類，的確是具有自然選汰的作用。針對此種現象繼續進一步研究，探討兩棲類對環境條件發生變化時，一些重要的功能性基因，如抗凍、抗氧化及與水份調節有關之基因等，及其作用之原理與機制，這樣的研究結果能幫助我們更了解地球暖化可能對生物造成何種的影響，利用兩棲類對環境條件變化十分敏感的特性，長期以兩棲類監測目標，可瞭解生態環境受人為、氣候因子影響，並且針對特定物種探究其生存環境壓力、生理反應及基因多

樣性是否足以因應等，擬訂合宜之保育計畫以確保生態系之永續經營，在保育策略的擬定能更有所本。

研究目的

由過去研究成果，我們發現動物族群在太魯閣國家公園內同域分佈，但因環境條件不同而產生遺傳基因有所差異之系群，此一現象代表不同環境條件如溫度、溼度等，對於生活在園區內的兩棲類的確是具有自然選汰的作用。研究探討兩棲類在環境條件發生改變時，一些重要的功能性基因，如抗凍、抗氧化及與水份調節有關之基因等，相對產生之反應及其作用之原理與機制，以進一步了解地球暖化可能對生物造成何種的影響；同時利用兩棲類對環境條件變化十分敏感的特性，長期以兩棲類監測目標，針對特定物種探究其因應生存環境壓力、生理反應及基因多樣性，以瞭解生態環境受人為氣候因子影響。

本研究內容包括：

1. 文獻蒐集與回顧
2. 指標物種形質與生物地理關連性之研究。
3. 生物地理對兩棲類生存壓力與生理現象影響之探討。
4. 指標物種及珍稀物種基因多樣性之分析探討。
5. 全球暖化影響兩棲類生物地理及物種雌性化問題之研究。
6. 相關保育計畫之研擬。

第二章 研究方法

第一節 研究物種選擇、採集地點之建立及採集方法：

本計畫擇定之研究物種考量因素包括：物種族群海拔分佈之廣度以期發現不同族群是否有基因差異者、保育類或珍稀物種且允許優先採樣者、具有其它基因條碼研究可供比對者、可供國家公園管理處建立基因多樣性指標之物種、管理處其它研究計畫所需基因資料者、並考量人力物力所能達成之數量。初步擇定之兩棲類與爬蟲類物種如下。

(一)、兩棲類

1. 日本樹蛙 (0~1500 公尺)
2. 褐樹蛙 (0~1500 公尺)
3. 斯文豪氏赤蛙 (0~2500 公尺)
4. 梭德氏赤蛙 (0~3000 公尺)
5. 中國樹蟾 (0~1000 公尺)
6. 小雨蛙 (0~1500 公尺)
7. 盤古蟾蜍 (0~3000 公尺)
8. 台灣山椒魚 (2100~3000 公尺)
9. 楚南氏山椒魚 (2600~3100 公尺)

(二)、爬蟲類

1. 呂氏攀蜥 (1000~2000 公尺)
2. 斯文豪氏攀蜥 (0~1500 公尺)
3. 台灣草蜥 (0~1000 公尺)
4. 青竹絲 (0~1500 公尺)
5. 龜殼花 (0~1000 公尺)
6. 菊池氏龜殼花 (1500~2500 公尺)
7. 紅竹蛇 (0~1000 公尺)
8. 雪山草蜥 (1500~3000 公尺)
9. 中國石龍子 (0~1500 公尺)
10. 麗紋石龍子 (0~2500 公尺)
11. 青蛇 (0~1000 公尺)

將中橫沿線區分為低中高海拔做為採集地點，設計如圖 2-1 及表 2-1：低海拔區（海拔 0~1000 公尺）：砂卡噹、布洛灣、天祥、西寶、洛韶。中海拔區（海拔 1000~2000 公尺）：台八線 148 K、新白楊、台八線 133 K、台八線 131 K、台八線 119 K。高海拔區（海拔 ≥ 2000 公尺）：關原、大禹嶺、820 林道、合歡山、小風口。以海岸山脈（1000 公尺以下）做為對照組，採集地皆以 GPS 系統定位其經

緯度與實際之海拔高度。單一採集地(同一海拔)以採集同一物種五公
五母為目標數量，除判斷並紀錄公母外，一併量測其體重、體長之值。

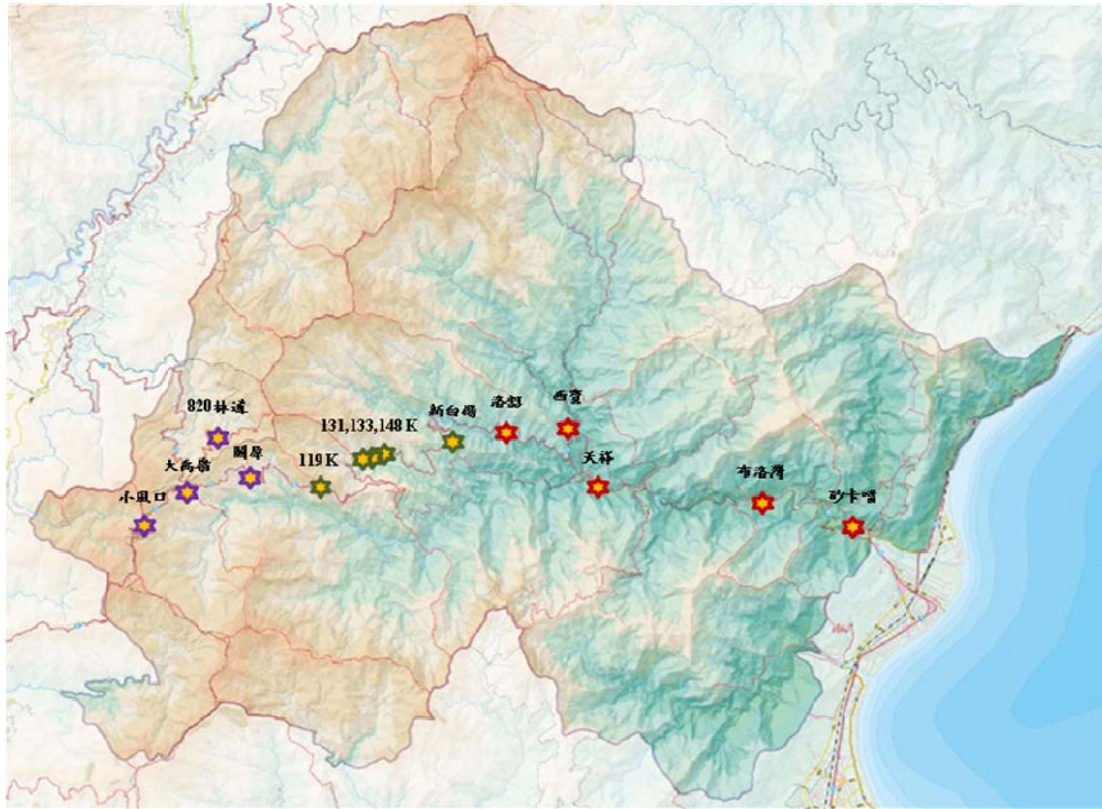


圖 2-1 中橫沿線採集地點。

表 2-1 中橫沿線不同海拔採集地點

海拔分佈(公尺)	採集地點(實際海拔)	經緯度
0	砂卡嘴橋下、步道 (<100 公尺)	24°09' 42.69" 北; 121° 36' 48.48" 東
500	布洛灣 (370 公尺)	24°10' 06.92" 北; 121° 34' 25.39" 東
	天祥 (650 公尺)	24°12' 39.52" 北; 121° 29' 10.86" 東
1000	西寶國小後方水塘 (915 公尺)	24°12' 25.26" 北; 121° 28' 52.01" 東
	洛韶 (1100 公尺)	24°12' 28.84" 北; 121° 27' 02.86" 東
1500	台 8 線 148k (1380 公尺)	24°12' 21.64" 北; 121° 25' 21.69" 東
	新白楊 (1643 公尺)	24°11' 52.25" 北; 121° 25' 57.13" 東
2000	台 8 線 133k (2000 公尺)	24°11' 35.57" 北; 121° 23' 02.84" 東
	台 8 線 131k (1970 公尺)	24°11' 21.88" 北; 121° 22' 53.06" 東
	台 8 線 119k (2166 公尺)	24°11' 16.50" 北; 121° 20' 36.95" 東
2500	關原加油站 (2374 公尺)	24°11' 08.21" 北; 121° 20' 33.14" 東
	大禹嶺 (2365 公尺)	24°10' 49.94" 北; 121° 18' 46.34" 東
3000	特生中心後溪床下 (3000 公尺)	24°09' 43.25" 北; 121° 17' 11.42" 東
	合歡山區 (3200 公尺)	24°08' 38.33" 北; 121° 16' 48.87" 東

第二節 基因條碼之建立與 CO 1、12S 及 16S 核苷酸序列之放大和

選殖及親緣關係與基因多樣性分析：

2.1 節 基因之放大與選殖

- (1) DNA 純化套組 QuickExtract™ DNA Extraction Solution (Epicentre, USA)
- (2) 轉型系統 pGEM®-T Vector Systems (Promega, USA)
- (3) ECOS® competent cell (Yeastern Biotech, Taiwan)
- (4) Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Genaid, Taiwan)

DNA純化

DNA 萃取選用Epicentre公司開發的實驗用試劑組QuickExtract™ DNA Extraction Solution進行樣本萃取，其操作流程參考其使用手冊，配合實際操作經驗略做修正。操作步驟為：（1）剪下少量（少於0.1 公克）蛙大腿之肌肉若樣本保存於高濃度酒精的組織樣本，則在取出後，先浸漬於二次去離子水中10分鐘，將酒精完全溶出去除並軟化組織樣本。利用市售套組QuickExtract™抽取之後，在經由Wizard® DNA purification system純化，（2）將去酒精洗淨的組織樣本置放於1.5 mL 的微量離心管（eppendorf）中，加入200 μ L 試劑組中extraction solution，將組織樣本先以小剪刀剪成碎塊，再利用小型均質器將組織樣本研磨均質。研磨的過程必須在低溫下（冰

盆中) 進行。(3) 均質後移至65°C的水浴槽中水浴15分鐘。水浴時要搖晃樣品兩次，以免產生沈澱導致反應不完全。(d) 搖晃混合後在98°C水浴2 分鐘，再移至冰上。(e) 以3000rpm轉速離心2分鐘。取出上清液並移到新的1.5ml 的微量離心管中，即為genomic DNA。genomic DNA 可長期保存於-20°C 中或直接進行PCR 增幅。

2.2節 引子設計

C01萬用引子對 (Smith, 2008) :

VF1-d : 5' - TTCTCAACCAACCACAARGAYATYGG -3'

VR1-d : 5' - TAGACTTCTGGGTGGCCRAARAAYCA -3'

12S 萬用引子對 (翁慶豐, 2009) :

12s-F : 5' - CTTAAAACCCAAAGGACTTG -3'

12s-R : 5' - GCTGCACCTTGACCTGACG -3'

16S 萬用引子對 (翁慶豐, 2009) :

16s-F : 5' - TATAAGACGAGAAGACCC -3'

16s-R : 5' - ACCCTGATCCAACATCGAG -3'

本研究針對盤古蟾蜍之分布特性，由低海拔至高海拔分別依高度選定樣點採獲集盤古蟾蜍。由於控制區演化速率較一般核染色體快、且不涉及功能性基因表達的關係，本實驗室參考其近緣種—中華大蟾蜍

(*Bufo gargarizans*) 之粒線體 DNA 序列 (圖 3-2)，在控制區後半段設計出一對引子，此對引子可擴增盤古蟾蜍控制區後半

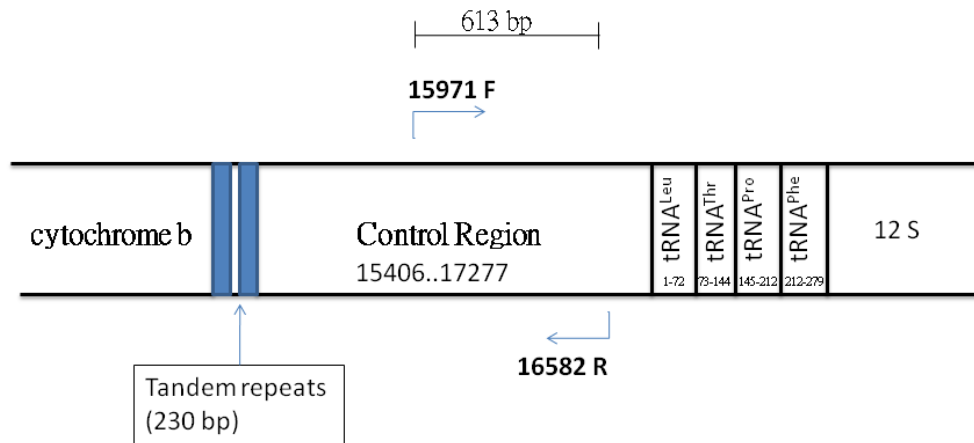


圖 2-2 盤古蟾蜍控制區引子相對位置及中華大蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) 之粒線體結構。

段的序列約 613 bp，定序得到之結果再以人工校正並去除引子之部分，修正後其長度為 583 bp。

引子序列如下：

Bu-con-15971F : GAG CCT TCC CTT GGT TTA AGA GTA

Bu-con-16582R : CCA GGT TAA GGT CTT TAA GGT ACC AG

2.3 節 CO 1、cyt B、12S 及 16S rRNA 之放大和選殖

萃取純化所得之樣本 genomic DNA，利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chains reaction，簡稱 PCR) 技術進行增幅 (amplification)，以使特定片段大量複製增幅，提供選殖(clone)

或定序反應足夠的反應濃度。12s及16s基因之放大利用各組引子對，進行反應總體積為25 μ L PCR反應。0.5 μ L DNA模板，0.5 μ L of 10 mM dNTP，0.5 μ L 之F端和R端引子，0.5 μ L *Taq* DNA polymerase，2.5 μ L of 10X PCR buffer，其餘以去離子水補齊至25 μ L。條件為 initial heating 94 $^{\circ}$ C，5 min，35循環之94 $^{\circ}$ C，30 sec；45 $^{\circ}$ C，30 sec；72 $^{\circ}$ C，30 sec；及final extension 72 $^{\circ}$ C，10 min。CO 1 基因之放大，利用引子對VF1-d/VR1-d，PCR反應總體積同為25 μ L。VF1/VR1-d條件為initial heating 94 $^{\circ}$ C，5 min，35循環之94 $^{\circ}$ C，45 sec；45 $^{\circ}$ C，45 sec；72 $^{\circ}$ C，50 sec；及final extension 72 $^{\circ}$ C，10 min。

放大之 PCR 產物以 Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit 純化後接合至 pGEM[®]-T Vector Systems，最終轉形至 ECOS[®] competent cell，塗抹在含有 50 ng/mL Ampicilin，IPTG 和 X-Gal 之平板上進行 12-16 小時 37 $^{\circ}$ C 之藍白篩選，或直接純化後送往商業公司定序。

所得之各樣本 DNA 序列後均以人工修整後，搜尋 NCBI 資料庫 (*Genebank*) 中已發表之珍稀及指標物種的序列，從中比對，以確定所得 DNA 序列之正確性。

2.4節 親緣關係與基因多樣性分析

針對基因判定親源分成由粒線體 DNA：CO 1、D loop、12S 及 16S、或由功能性基因：catalase、glutathione peroxidases、heat shock protein、及 thyroid hormone receptor 等基因設計出該物種專一的引子，利用鏈聚合酶反應 (PCR)、基因定序等技術建立物種間親緣關係並分析其基因多樣性。定序所得之序列，以 BioEdit 軟體 (Version 7.0.1) (Hall 1999) 進行排列比對 (alignment)。本研究採取二途徑，一是分析待鑑定對象與參考序列的親緣關係；二是比較待鑑定對象與參考序列的遺傳距離。本研究以鄰聚 (neighbor-joining) 法 (Saitou and Nei 1987) 來建構物種的親緣關係，以 Kimura's 2 parameter model (K2P) (Kimura 1980) 為分子取代 (substitution) 模式，並利用 bootstrap 法 (Felsenstein 1985) 重複 1,000 次運算來求親緣關係之可信度。遺傳距離亦是以 K2P 為模式校正計算。鄰聚法、bootstrap 法及遺傳距離的計算皆是用軟體 MEGA 4.02 (Kumar *et al.* 2004) 來執行。作為比對參考的其他粒線體細胞色素 *b* 基因序列，則從 *GeneBank* 下載，包含的序列、物種與其擷取碼 (accession number)。

第三節 二維蛋白質電泳分析

盤古蟾蜍皮膚蛋白質萃取液製備:

依高低海拔採集盤古蟾蜍，取皮膚 30 ug，加入 lysis buffer(7 M Urea，2 M Thiourea，2 % (v/v) CHAPS，65 mM DTT) 1ml，用剪刀切碎，均質機磨碎皮膚，靜置在冰上 20 分鐘，之後用超音波震盪 3 分鐘，用離心機 (BITUGE) 離心 (13000r.p.m，轉 2 個小時)，在 4 °C 取上清液，之後用 2D-clean up kit(GE Healthcare)進行蛋白質沉澱，乾燥後以復水緩衝液(Rehydration buffer，7 M Urea，2 M Thiourea，2 % (v/v) CHAPS，65 mM DTT，0.5 % (v/v) IPG buffer 和少量 bromophenol blue)溶解。

蛋白質定量:

以 BSA 溶液製作標準曲線($R^2 > 0.95$)，將萃取所得之蛋白質樣本稀釋 100 倍後，利用 Bradford Reagent 以免疫酵素分析儀 (ELISA reader) 測定 OD_{595} ，定量待測蛋白質的濃度。

蛋白質等電點聚焦電泳法 (isoelectric focusing, IEF):

使用 IPG phor Isoelectric Focusing System 進行 IEF。於 Rehydration buffer(7 M Urea，2 M Thiourea，2 % (v/v) CHAPS，65 mM DTT，0.5 % (v/v) IPG buffer pH4-7 和少量 bromophenol blue)

中將原本乾燥的 18 公分 pH4-7 梯度的 IPG strip 進行復水 16 小時。之後取出置於 Ettan IPGphor Cup Loading Manifold 中，將樣品放入 cup 中，接著加一層覆蓋油(mineral oil)以減少反應過程中，水的蒸發及尿素結晶，最後放入 IPGphor Isoelectric Focusing System(Amersham Pharmacia Biotech)的平台上進行第一維的 IEF 電泳。IEF 條件為在 20°C 下，分別以 50V，250V，500V，1000V，5000V 與 10000V 聚膠蛋白質，共 12 Volt-hour。

膠條平衡 (Equilibration)：

將跑完 IEF 的 IPG 電泳膠條以 6 ml dithiothreitol 平衡緩衝液(6 M urea, 30 % (v/v) glycerol, 2 % (w/v) SDS, 2 % (w/v) dithiothreitol 在室溫下浸泡 30 分鐘，再以 6 ml iodoacetamide 平衡緩衝液(6 M urea, 30 % (v/v) glycerol, 2 % (w/v) SDS, 4 % (w/v) iodoacetamide) 在室溫下浸泡 30 分鐘，反應完後以 ddH₂O 清洗膠條備用。

4.2.9 SDS-聚丙烯膠電泳 (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis)

將平衡好的膠條橫放在 12 % polyacrylamide gel 上，最後以 0.5 % agarose 溶液封住，蛋白質電泳使用雙膠的電泳系統(Bio-Rad)，先使用電流值定 30mA 進行電泳分析，電泳時間約 14 小時，此時染劑到達膠底電泳結束後。將膠片以 fix solution (乙醇：醋酸：水=50：

10 : 40 (v/v/v)) 浸泡 30 分鐘再進行染色。

銀離子染色

SDS-PAGE 膠片浸入 inculcate solution(乙醇:水=10:10 (v/v)) 浸泡 15 分鐘,之後以水洗 5 次,每次 5 分鐘,然後將膠片浸入 sensitize solution (100mg Sodium Thiosulfate 5-Hydrate, crystal)浸泡 2 分鐘,以水漂洗 2 次,每次 1 分鐘,然後將膠片移入 silver solution (2.5 % (v/v) AgNO₃ solution, 37 % (v/v) Formaldehyde solution) 浸泡 40 分鐘,以水洗兩次,每次 1 分鐘,最後將膠片移至 developing solution (0.03 % (v/v) Na₂CO₃, 37 % (v/v) Formaldehyde solution), 浸泡至膠片上的蛋白質點呈現清晰且完整出現為止,放入 stop solution (0.02%(v/v) EDTA solution)以終止反應,銀染後的膠片使用高解析度的掃描器 (EPSON) 掃描,之後再用肉眼取樣。

第三章 研究結果

2009 年起本研究室接受太魯閣國家公園管理處之委託，進行園區內兩棲爬蟲類基因條碼建立及基因多樣性之調查分析。由過去的結果發現，分佈海拔較為廣泛的兩棲類，如盤古蟾蜍經長時間的演化後，雖然是在太魯閣國家公園內同域分佈，理論上基因交流不會受到阻隔，可能由於動物族群生活於不同海拔，逐漸因溫度及環境條件的差異影響，而產生遺傳基因多樣化之系群。由於近年太魯閣國家公園亦開始逐步的建立氣象觀測的建置，目前我們利用氣象站所收集的資料（圖 3-1）及調查時所紀錄之資料進所做的分析中顯

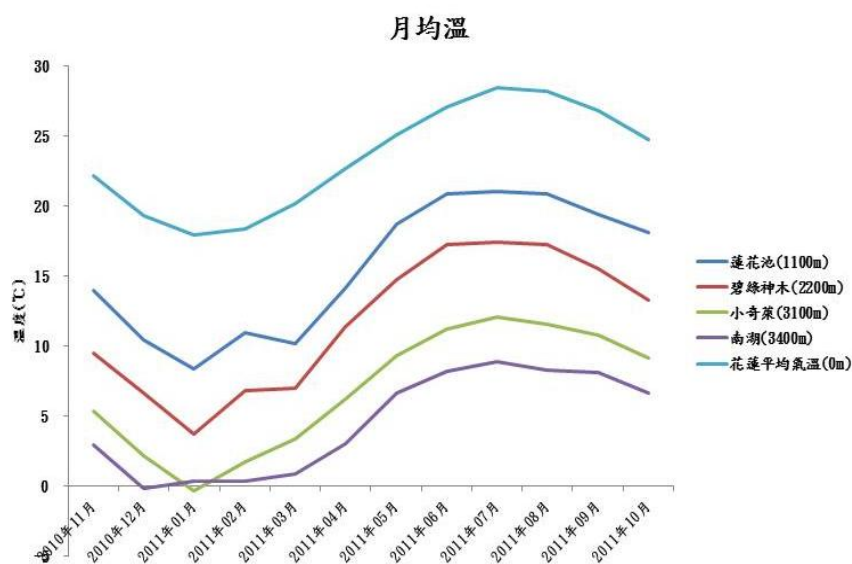


圖 3-1 不同海拔氣象站收集之月均溫變化。

示，最低溫月份出現在 1 月、最高溫出現在 7 月，在山區每 1000 公尺海拔大約差 5°C 。根據聯合國跨政府氣候變遷小組 (IPCC) 提出之研究預測 (圖 3-2)，以目前的氣候暖化趨勢，氣溫在未來有可能升高近 5°C ，對長期適應生活在 2000 公尺以上涼溫帶的生物將是一大考驗。

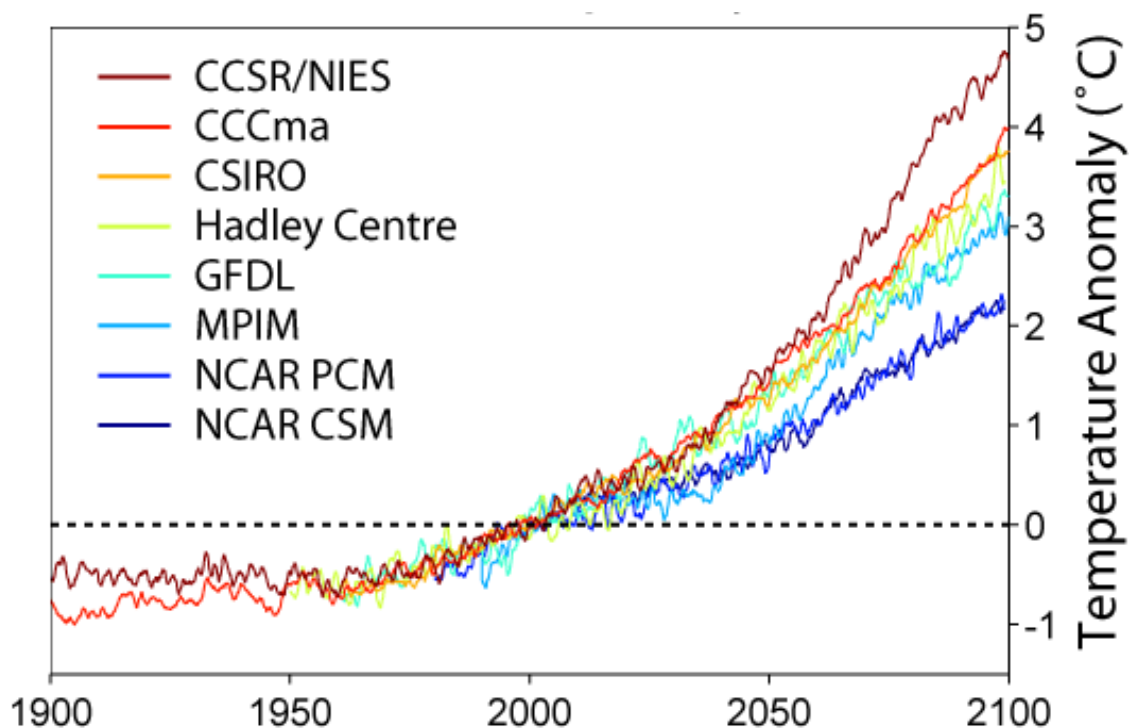


圖 3-2 聯合國跨政府氣候變遷小組(IPCC)提出之研究預測(2000)。

生態系的基因多樣性建基於系統內多樣的物種，而複雜多變的環境條件則造成同一生態系內物種的基因多樣性。物種分類建立、族群分布與變遷、棲息地評估等可作為經營管理與保育措施之依據。在生態多樣性、物種多樣性的相關調查方面，由於近年相關單位的重視，物種基因多樣性的研究

亦開始逐漸增加。本研究室自 2009 年開始接受太魯閣國家公園之委託調查園區內兩棲爬蟲類多樣性，逐漸累積豐富之相關資料，以下針對兩棲類地理分布相對豐富且具有代表性之物種分析其多樣性及生物地理研究結果。

第一節 盤古蟾蜍與梭德氏赤蛙地理分布調查結果

兩棲類在太魯閣國家公園的相當豐富，國家公園成立後進行過多次詳細生物多樣性研究調查，綜合在呂光洋(1983, 1989)、林曜松(1991, 2005)、楊懿如(2005)及翁慶豐(2009, 2010)對太魯閣國家公園內之動物資源進行調查研究結果中，太魯閣國家公園全區之兩棲類物種計有 6 科 15 種，廣泛的從低海拔一直延伸分布到高達 3000 餘公尺的合歡山區。

本計畫進行太魯閣國家公園兩棲類的研究調查工作，考量調查人力及兩棲類的分布環境，針對太魯閣國家公園地區，依不同海拔高度設置調查樣區，進行兩棲爬蟲類動物之採集工作。低海拔區（海拔0～1000公尺）：砂卡噹、布洛灣、天祥、西寶、洛韶。中海拔區（海拔1000～2000公尺）：台八線 148 K、新白楊、台八線 133 K、台八線 131 K、台八線 119 K。高海拔區（海拔 $\geq$ 2000公尺）：關原、大禹嶺、820 林道。目前在調查樣區中紀錄到數量較為豐富之無尾目

兩棲類共9 種，考量分布泛圍、特性及數量之代表性，將盤古蟾蜍調查記錄結果按調查月份與海拔高度的不同加以整理(圖 3-3)。由圖中可知，不同海拔高度的盤古蟾蜍出現最高峰的月份會有所不同，低海拔最多時為 3月，中高海拔為5月。此現象約若符合各海拔花季之時間，可能是由於花季帶來豐富之食餌（昆蟲）有關。

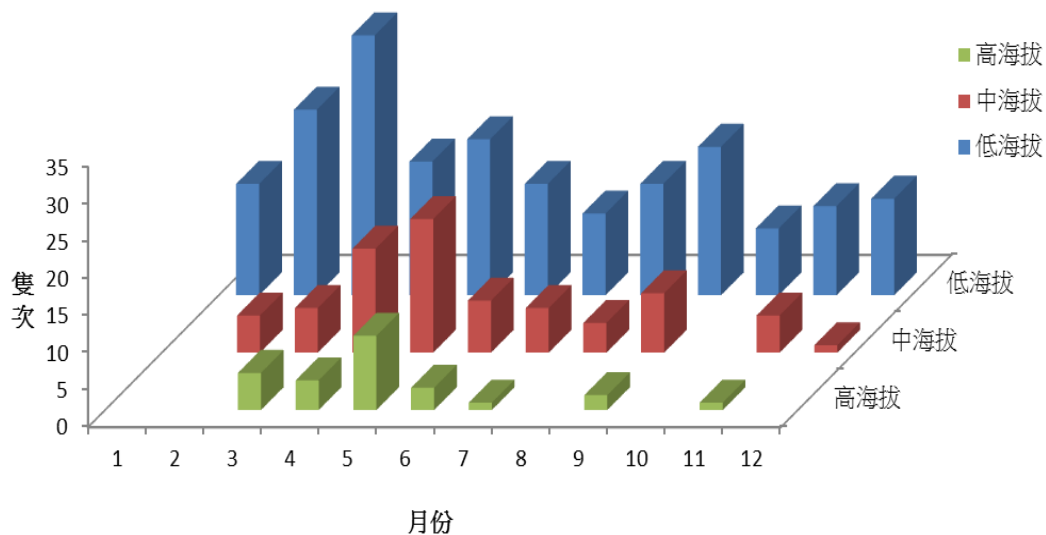


圖 3-3 盤古蟾蜍不同月份與海拔高度調查出現之頻率。

由於在太魯閣國家公園內海拔落差非常大，過去即有研究指出同種生物在不同海拔的環境條件下，繁殖季節會隨之改變，進一步將分析所獲盤古蟾蜍數量中之雌雄比，按海拔落差分別計算其比例，結果如圖3-4，由圖中可看出，分布於低海拔的盤古蟾蜍雌性出現比例

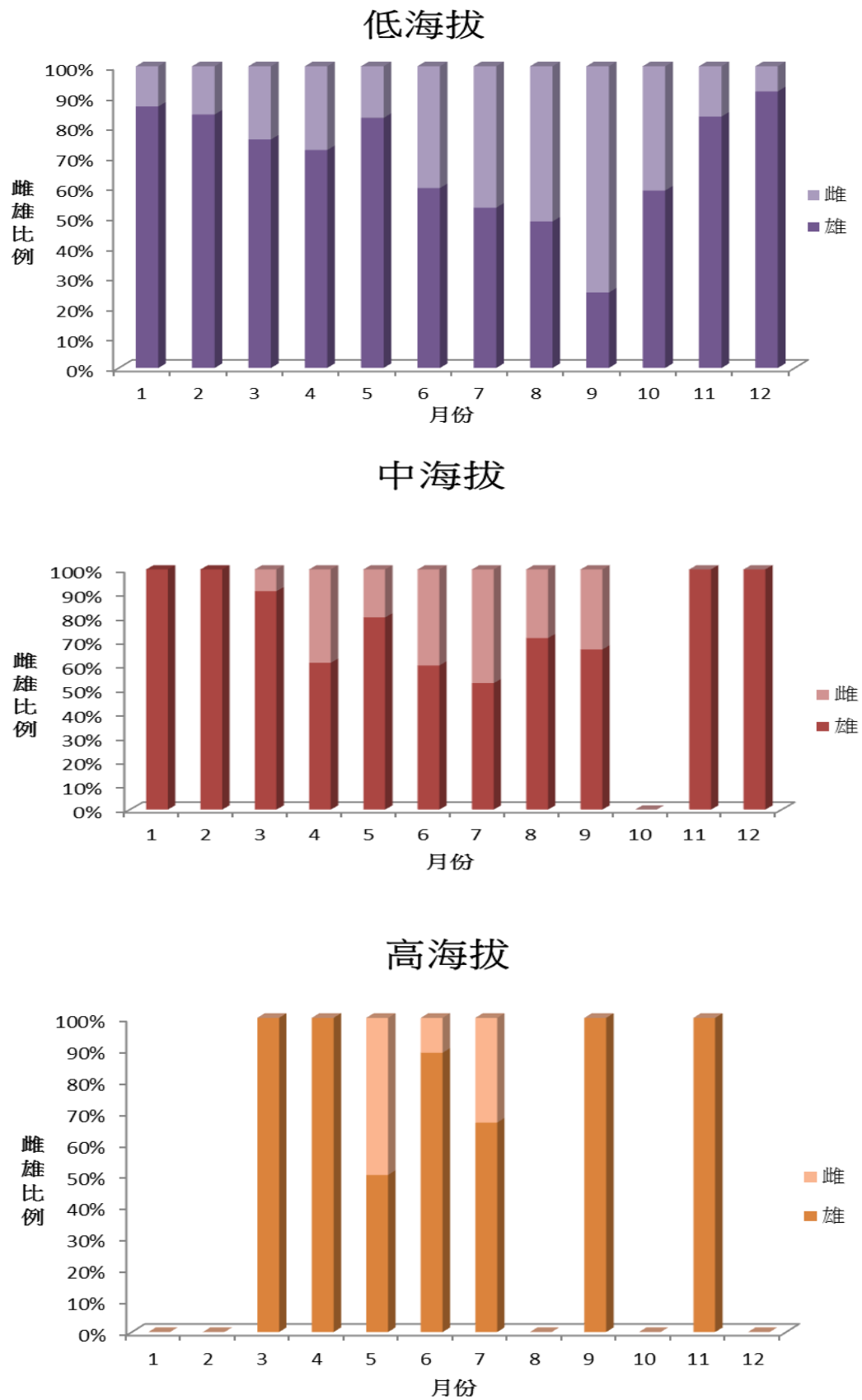


圖 3-4 盤古蟾蜍不同月份與海拔高度調查出現之雌雄比例。

最高峰落在9月份，依一般調查均指出盤古蟾蜍之繁殖季亦為9月份開始，再比較中高海拔之雌雄比例，中海拔雌蛙比例最多之月份為7月，高海拔雌蛙比例最多之月份為5月，再與整個族群活動頻度之結果(圖3-3)一起比較，盤古蟾蜍活動及繁殖之行為均會受到海拔高度之影響，高低海拔之族群可能由於兩者適宜之溫度落於不同季節，再加上盤古蟾蜍較弱之移動能力，於是因此產生生殖隔離之效果，而逐漸產生高低海拔兩種系群。

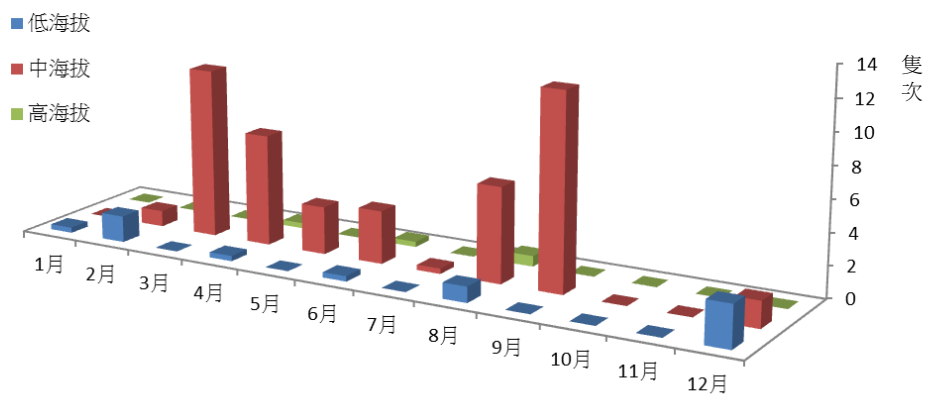


圖 3-5 不同海拔梭德氏赤蛙調查出現之頻率。

梭德氏赤蛙在高低海拔間亦有這種現象，高海拔的族群主要出現在春秋兩季，而低海海拔族群則在溫度較低的冬季才會少量出現(圖3-5)，然而此一現象究竟是整個梭德氏赤蛙分布在原本的棲息處、待適合的季節方現身繁殖地點，亦或是活動力強梭德氏赤蛙依季節在溫度適宜其活動的海拔間遷移，目前的資料仍不足以分析，有待更進一步的調查研究方能解答。

第二節 兩棲爬蟲類生命條碼 (Barcode) 及遺傳物質分析

2.1 節 CO 1、12S、16S 及 Cyt b 定序完成之物種及其序列：

2.1.1 CO 1 定序完成之物種及其序列

麗紋石龍子

學名：*Eumeces elegans*

TGCTTGAGCAGGTATAGTGGGCACCGCCCTTAGCTTATTAATTCGGGCCGAA
CTAAGTCAGCCCGGAAGCCTACTGGGCGACGATCAAATTTACAATGTAATC
GTCACCGCACATGCATTCGTAATGATCTTTTTTCATAGTGATGCCGGTCATAAT
CGGAGGCTTTGGAAACTGATTAGTTCCCCTGATAATCGGAGCCCCTGATATA
GCGTTCCCTCGGATAAACAAACATAAGTTTCTGACTTCTTCCCCCATCATTCC
TCCTGCTTCTTGCACTCTTCCGGTGTAGAAGCTGGCGCCGGCACC GG GTGAA
CTGTATACCCCCACTAGCTGGAACTTAGCCCATGCAGGAGCTTCAGTCG
ACCTTACTATTTTTTCACTCCACCTTGCTGGGGTATCCTCAATCCTTGGCGCT
ATCAACTTCATCACAACCTGCATTAACATAAAACCCCAACTATGACACAGT
ACCAGACACCCCTGTTTGTATGATCCGTATTAATTACAGCAGTGCTCCTACT
TCTGTCCCTGCCGGTTCTTGCTGCTGGTATCACAATGCTACTGACGGATCGA
AATTTGAATACCTCATTCTTTGATCCTGCTGGAGGGG-AGATCCgGTGCTATA
TCAGCACCTCTTT

中國石龍子

學名：*Eumeces chinensis*

CACCCTTTACTTAATTTTTGGGGcCTGGGCAGGCATGGTCGGCACCGCTTTA
AGTTTATTAATTCGGGCTGAGTTAAGTCAGCCTGGCGCCCTTTTAGGCGATG
ATCAAATTTATAATGTGATTGTAACAGCCCATGCCTTCGTAATAATCTTCTTT
ATAGTCATACCTGTTATAATCGGCGGATTTGGAAATTGGTTAGTACCATTAAT
AATTGGTGCCCCAGACATAGCATTCCCACGAATAAATAACATAAGTTTTTTGG
CTACTCCCGCCCTCATTCTTTTTACTTTTAGCCTCTTCTGGTGTAGAAGCTG
GAGCTGGGACTGGTTGAACTGTTTATCCTCCACTAGCCGGAACCTTAGCCC
ATGCTGGGGCCTCCGTTGATCTAACAATCTTTTCACTACATCTTGCTGGGGT
TTCTTCTATTCTAGGTGCTATCAACTTTATTACAACCTTGCAATTAATAAAAC
CCCCAGCTATAACCCAATATCAAACCCCTTTATTCGTGTGATCGGTTTTTAATT
ACAGCTGTCCTACTTCTTTTATCTCTCCCTGTTCTAGCCGCCGGTATTACAAT
ACTACTAACAGATCGTAATTTAAACACATCATTTTTTTGACCCTGCAGGTGGG
GgAGATCCAATCCTGtATCAACACTTATTC

2.1.2 12S 定序完成之物種及其序列

楚南氏山椒魚

學名：*Hynobius sonani*

CTACGTGTTACGACTTTCCTCTTCTTTATTTTTAAAAAAATTATATATAAGTT
ATTTTTCTGAGGAGGGTGACGGGCGGTGTGTGCGCGCTCTAGGGCCTATTT
AAAAAGAACACTCTGTTTTCTTTTACTGCTAAATCCACCTTTAAATTGTTT
TTCATAAAATTTTTCGTATTTTCTAATTTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCC
ACTCAATTCGCTACACCTTGACCTGACGTTTTTATGTTTATCATTATGCCTAC
TATTTTTCATTTAAATGGTGAGCTGACGACGGCGGTATATAAGCGGTATTGG
CAATGAGTGGTGAGGTTTAGCGGGGGGTATCAATTATAGAACAGGCTCCTC
TAGGGGGGTATAAAGCACCGCCAAGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATGGCTCG
TAGTACTCAGGCGGGTAGGTTCCAAAGTTTAAGGCTAAGCATAGTAGGGTA
TCTAATCCTAGTTTGTTTCTTAGCTTTCGTGGATTCAAGTAATTTGTTTGTTA
GAATATCTTTCGTTTTTGATTTTTCATTTAACAAATACGTACGACAGTCGAGT
TAATTTTTACTTCTATTAGTCTAAATATAATTTAATCACGCTTTGGGCCGTTTT
TATTAATTTGAGTTTCTCGTATAACCGCGGTGGCTGGCACGAAATTTACCAA
CTCTTAAAATTTTTACTGATTCAAGCTTATTGACGCTTATTTTTCAATGTTTAT
TACTGCTGAATTCCTGTGGAGGTGTGGCTTGGCAAGATGTTATGGGCGTTAT
TAGGCCTGATATCTGCTCCTTATCTACTAATGGGTAAAGAAGGGCATTtCACG
GGGGTGCTGAGACTTGCATGTATAAATATAATTTTAATTAATAATAAGCC

盤古蟾蜍

學名：*Bufo bankorensis*

AAATTTTCATTTMCTAAACCCAGGACCCGAACACCAGTCAATAATGAATGA
TATGTGTACGTTTCATAGGCGGGGGGACACTTTTGCGGGAAGTTGGGGGTAA
TCCCTGTTCCCTCGGCCATAGTCCGCGCTTTTAGGCGGGTTCTGTGGATCGAT
ACGGTGTGGGTGTTCCCTTAAGTCGTCCTAATTGTAACCTCGTAATCGCGTT
CGAACTGAGTCAATTTTCATATCTCTCGGCCGATTAGACCACGGTCGGCGGC
GCCAATGTGGTGCACCGAGTTTAACTGGGGGAGGCCGCATTTTCGCACTAAT
TTCAAAAGTGGATGATCTCAATTTGATTTTGATTCGACACTGTGCGGACAAT
AGTTCTTTGGGTTTTTGCTTTCAATGAGATTGTGTTGGTTGAACTTGAGTGC
TGTCGACCCTTTGTTTGACCCTAATCTATGGGGTGATACGGGTTCGGCATTG
AAAATGAATGTAACCTAGCGGTCCCTTGATGCTCGATTCGAATTTTGGGTTT
CCTGAACTGCCATGGGGTATAGGGGGATCTCCTCGGACAGGATATTAGCTAT
TAGGTGCAATTTGGAGTGGTAAAAATCAATGAGTCGGACATATGGAGGCAG
CAGTCGAATGGTGCACCTCGCGGTAAATCACTCGAATTACATATAAGTGGTTG

TGCAGTCCAGTTCCACGTCGTTTACTTTACCTTTCTCTACCCGATGTGAAAG
ATTTAATCTTCTTTGCTTTTTGATAGATACTTTGGATCAATCTTCCGCCTAAAT
CGTCATTTTTCCTTAGTCGTGCAGGTAAAATTGGGCCGTGACCCACACAT
GTGTGGCGGGCAGTGGGAGAAGTTTCGATAGTCGGATCAGGGATTGTTTGA
TTTCGTGCTGTCTTCTCCGTTACAGCATTGTGC

呂氏攀蜥

學名：*Japalura luei*

GAGAATAATTAGGTTTTTGGCTGTAGGTTCCGAGKCGTGAGGCACTTTGTG
TGGCCATAGTCCCGAAAGGGATTCTGTGKGTTCGAAGCKGTGTAGGTGTGCC
TCAACATCGTCATTGGTTGTAACCCGGTACTCGTGTGCGAGCTGGTCTGAT
GCCTTCTATCCCGGCCGTTTAAATACACGGTCGGCGGCCCAATGTGACTTC
TGGGTTTTATTGTGGTGGCCGTTTTTACCGATTTTAAATGGTTGGTGATTCTT
ACTTGATTTTAAATTGTGCACTTTGTTATTGGTTGTCTGTCCGTTTTTAGAATG
TATGTGCCATAAACTGGGTATTTTCAACCCCGTGTTTGATCCTAATCTATGG
GATGATACGGGTTGACGTTTGGTTGGGTGGTTCGTTTCATGTTTCGTGTCGAAA
TTTGAATTCCTGGACCGCCATGAGATGTAGTCGGATCTCCCCGGACAGAC
TATTAGCTGTTGGGCGCTTTTGGGCTGGGTAAGATCGGGTGATTCAGATATA
TGGTGGCAGGGGTCGTGTAAAATGTTTTTACGTGCGATTTCTCGGGGCGTG
ATTGTGCAGTCCAGTTCACATCGTGTACTTAACCTGTTCTAACCGGTGTCA
TGGGATGATTGTTGGATGGATGTTACTTTGTGGATCCTATGGTTGCCTAAATC
GTCATTCTCTCAGTTAACTTGTGGAGGGACTTCGGTTGATAGTGTGCGGAA
CTCATGCGTGTGTGGCGGGCAGTAGRGGAGATTGCTTATACAC

莫氏樹蛙

學名：*Rhacophorus moltrechti*

CGGAATAATAGTTAATATAGATCTGAATGTGTACGTTTCAGAGTCGTTAGGGC
ACTTTTGCGGGAAAGGGATAACCCAATTCCTCGACCATAATCCGTGTCTTAA
GAACGGGTGTTGTGGATCAATGTGGTGTGGATGTTTCCGTAAAGTCGTCCT
ATTTTAAACAAATAATCGCATTTCGAACCTGGTCAATATCTTTTCTCTCGGCCG
GTTGGGCCACGGTCGGCGGCCGCGATGTGGCAACCCGAGTTTAACTATAAT
CAGCCGCAATTCGCACTAATTTCTTTTATTTTAAATCTCAATTTAGATCTGAAT
CAGCACTTTTTCGAACAGAAAATCTTTAGGTATTTGCTTTCAATGAGATTATA
AGGAGAACTTGTGTGCTGTCAATCCCTTGTTTGACCCTAATCTATGGGGTAA
TACGGATTGGCATTTTAAATTGGGTGTGGATATTTGCGGTCCCATGATGCTC
GGATCGAATTTTGGGTTTCCTGAACTGCCATAGGGTGGGTGATCTCCTCGG
ACAAGATATTAGCTACTAGGTGCTATATGGTTTGGTAAAGAGCGGTAAGTCG
GACATATGGAGGCAGCGTTCGAATGGCATACTTGCGTGTAGTCATCCGGTTT

CCTGAAATTGCAGTGTTGCAGTCCAGTTCCACGTCGATTACTTTACCTTCGT
TACCCGATGTTAAAGATTAAATCTTGTGTGCTTTATGATGTACTTTGTATCAG
TACTTCCTCCTAAATCGTCATTCACCCTTTATCTCTCGGGGTGATTTGTACCG
GGACCCTACACATGTTTGGCGGGCAGTGGGAGAAGTTATCAAGATTATATC
ATATATTGTGTAATTATGCGGTATCTTCTCCGTTACAGCATTGTGCTC

中國樹蟾

學名：*Hyla chinensis*

GGGGAAATTAGTTGACAATAAATTGCCTATGTACGTTCAAAGGCGTGGGGA
CACTCTTGCGGGAATTGAAAGACTAACTTTGTTCCCTCGACCATAGTCCGTG
TTGGTAATCGGGTTTTGTGGATCGGTACGGTGTAGGTGTTCCCTGAAGTCGT
CATTAAATTGTAACATCATTCGCGGTTCGAACTGAGTCAATTTCAATTTTCTCG
GCCGTTTATACCACGGTCGGCGGGCGCCAATGTGGTGCTCCGAGTTTAACTA
ATAGAAGCCGCATTTTCGCACTAATTTCAATGAATTATTAATATCAACATAAAA
TTGATTTCGACACTGTGCGAACAAGGACTCTTCGGGTATTTGCTTTCAATGAT
ATAGAAATAGTTGAACTTAGGTGCTGTGACCCCGTGTTTGACCCTAATCTA
TGGGGTGATACGGGTCGGCATTGGAATTAATGTGGGCATAGCGGTCCCT
TGATGCTCGATTTCGAATTTTGGGTTTCCCTGAACTGCCATGGGGTGATAGGTGG
ATCTCCTCGGACAGGATATTAGCTATTAGGGGCGAATTGGAGTGGTAAAAAT
CGGTATAGTCGGACATATGGAGGCAGCAGTCGAATGGGGCACTCGCGATAG
ATCACTCGAGTTACAGAAATGTAGTTATGCAGTCCAGTTCCACGTCATTTAC
TTTACCTTTCTCTACCCGATGTGAAAGATTGGATCTTGTATGCTTTCTGATAG
ATACTTTGGGATCAGTCTTCCGCCTAAATCATCATTTTCTCTGATATCTCGA
GAAAAATTGAACCGTGACCCACACATGTGTGGCGGGCAGTGGGAGAAGT
TTCGGGTTTATATCATAATTGAGTATGGTCGTTGGGTCTTCTCCGT

梭德氏赤蛙

學名：*Rana sauteri*

CGTCAGAGTCGTGTGGGCACTCTTGCGGGAAAGTTGGAAGAGGTCCGTTT
CCTCGACCATAGTCCGTGTCTGGGAACGGGTGTTGTGGATCAGAGTGGTGT
GGGTATTCCCATGAGTCGTCCTAATTGAAACGCATATTCGCTGTGCAACTG
AGTCAGTCCCTTTTAATCMMGGCCGATTGTGCMACGGTCGGCGGGCGCCGA
ATGTGGCACCCGAGTTCAACTATGAGTGGCCGCAATTCGCACCAATTTACAG
AGTATTTTAATCCCAATTTAATTGTGAATCACCAAATAACGAACTACAATTCT
TTATGTGTTTGCTTTCAATGGGATTTAAATGGAACCTTGGGTGCTGTGATCC
TTCTGTTTGACCCTAATCTATGGGGTGATACGGATTGGCATTGTGAATTA
TGTAAGAAGTGGCGGTCCCTTAATGCTCGTTACGAATTTTGGGTTTCCCTAAC
TGCCACAGGGTGGGGCGATCTCCTCGGACAAGATATTAGCTACTAGGGGCG

AAGTGGATTGGTAGGGAGCGGGTAGTCAGACATATGGAGGCAGCTTTCGAA
 TGGTACACTTGC GGCGTCATTTCGAATTACTAAGTGGTAGTCGTGCAGTCC
 AGTTCCACGTCGAATTCCTTACCTTTCATTACCCGATGTAAAGATTGAATC
 TTGTTTGCTTTCTGATACACTTTGGGATCAGTACTTCCACCTAAATCATCATT
 TTTCTTTCATCTCACAAGAAAAATTGGGCCGAGACCCTGCGCATGTGTGGC
 GGGCAGTGGGAGAAGCTACCATGGAGTAGACAGGGATGGGWTGCGATGTA
 AAATCTTCTCC

麗紋石龍子

學名：*Plestiodon elegans*

GTGAGAATGCCCTTTCCCTTATACCCAAACGGAGCTGGTATCAGGAACAC
 ACGCCTGTCCACCACAACACTTGTACACCCACCCCGCGGGTCCACAG
 CGATGATTTTTTTAAGATATAAAACAAAATCTTGACTTAGCTATGATTAGGGCG
 GGCGGTAAATTCGTGCCCGCCACCGCTGTTATACGAAATACCCAAAACAA
 CCGCCCCCGGCGTAAAGGGTGACTAGAGACAGTTAGACTTTTTTGAAAAA
 ATTGCCCGCGCGTAAAACGCCCTGCAAATTGGAAACCCAAAATAAAATGC
 CATTAAACTAGAAACCACTAAACCTCGGAAAAGCTAATAAGCTTACTGGGA
 TTAGATTCCCCAATATGCTCAACCTAAATCTAATGTTGTGTAAACGGAAATT
 TCCCCGCCAGAGAACTACCAATGAAAACTTAAACTCCAAGGACTTGGG
 AGTGCTCCGTTCAACCTAGAGGAGCCTGTCTTCAATCGATAATCCCTGTTCT
 ATCCTACCACCTCTTGCCC

中國石龍子

學名：*Eumeces chinensis*

TAGAGTTAAAGTTTTTGGGTCCTAGGCTTGCCGTTGTTTTTTACCAAATTA
 TACATGCAAGCCTCCACATACCAGTGAGAATGCCCATACACCCTTAAACAG
 AGAACCGGAGCAGATATCAGGATTCAACCCCTTAGCCAAAGACGTCTTGCT
 TACGCCACACCCACACGGGTTTTTCAGCAGTAATTAACATTAAAAATGAGCG
 AAAGCTCGATCTAGTTATGGTAAATACGGTCGGTAAATTCGTGCCAGCCAC
 CGCGGTTATACGAAAGATTAAAAACAACGACCCTCGGCGTAAAGCGTGACT
 AAGAGTAATACAACCTTAGGGGGGTACAAGTGCTAAGTTGTAAAATACTATT
 GCACCTAGAACAACAACCTCTGCCTCTAAACTCTCCAACCTCACGAAAGCTA
 AGAAACAAACTGGGATTAGATACCCCACTATGCTTAGCCCTAAACAGAGAT
 CTTATTAATACAATATTTTCCGCCAGAGAACTACAAGCGAAAAGCTAGAAA
 CTCCAAGGACTTGGCGGTGCTTCAAATCAACCTAGAGGAGCCTGTCCTATA
 ATCGATACCCCCCGTTCAACCTTACCACCTTTAGCCAGTCAGCCTATATACC
 GCCGTCGTCAGCCTACCTTATGAAAGAAATAAAGTAAGCAAAACAGTTAAC
 AACTAGTAAGTCAGGTCAAGGTGTAGCACATGAGGTGGCAGAGATGGGCT

ACATTTTCCTAACGAACATACGTACAACATGTTGAAAAACCTGTTTAAAGG
TGGATTTAGCAGTAAAATAAACAAGAAAAATTATCTTAAACCCGCTCTGAA
GCGCGCACACACCGCCCGTCACCCTCATCACACGAACCTATTATAAAACAT
ATAATGAACCCTATTTAGATGAGGCAAGTCGTAACACGTAGCGGTTT

斯文豪氏赤蛙

學名：*Rana s winhoana*

TTGGTAGAACTCGTGTTATCCCCGGAAGACGTTGAYSGGHGGTGWGTACKS
YTCCCAGASCCGGGTWAAAAAKAASTCTcTMTTTTcTTTTTACTAMTAAWTC
CRCCTTcGTGGTCATGGTTTCDCAATAACCTTTTCGTTtGTTCT-AAATTAGAAAT
TGTAKCCAATTACTTCCCGTCCCTTAAGCTGCACCTTGACCTGACGTATTGA
MGAATTGGGGTCATTGAGCCTACTGTAAACATTCACACGGTAGGCTTTCGA
CGGAGGTATACAGACTGATGAGCAAGGGGTGGTGGGGTATAGCGGGGATC
ATCGATTAAAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGgTGGGACACSGTCAAATCSTT
TGGGTTTTAAGSGTAGCTSGTAGTTCCCTGGCGCTTATAGGTGTGAGTTAAT
TGTKTACGGCTGGGCATAGTAGGGTATCTAATCCTAGTTTGTCCCCAGSTG
TCGTGTATTCAAGKGGGGGGGTTAAGGTARCTTTCGTTTGTGTTCTTCTTAA
TAACGAGSTTTAAACTACTGAGTATTAATTTGACSTTAATCTAAATATACTTT
AATCACGCTTAACGSCGATAACSTTCARCTTGGGCCCTTGGTGTAGCCGCG
GCGGCTGGCACCAGGTGGCCGGCCCTCTTTTCTCTAACTGAGTCAAGCTA
TCGCTCATGCTCAAGATTTATCACTGCTGATGACCATTGGGGGTGTGGTGAG
ACTAGGCGTTGTGGACTAAAGGTTGTGTCTGATGCCGGCTCCTTTGTCTAG
CGAAGGTTAAAAGGGCGTCCTCACTGGTGTGCTGAGACTTGCATGTGTAA
GTTGAGAAATAGTTGAGGGTAAGCCCAGGACCCAATCCTTTTA

2.1.3 16S 定序完成之物種及其序列

雪山草蜥

學名：*Takydromous hsueshanesis*

GTTTACCCTGATCCCACATCGAGGTCGTAAACCCCCTTGTCGATaTGGACTC
TTGaAGGGGATGGCGCTGTTATCCCTGGGGTAACTTGTTTCTTTAATCAGAA
AGTGGTTCTGGGTCTAAAACACTTAATTTGATGTGTTTATCTTGTAAGTAGG
TTATGTTTTGGAGGTTTTTTTTGTACTCCGAAGTCGCCCCAACTAAAAACCGC
TAGGCATTTtGTtGTTtAGGTCTTTAAGCTCCACAGGGTCTCTTC

龜殼花

學名：*Trimeresurus mucrosquamatus*

TTTATAAGACGAGGAGACCCTGTGAAGCTTAAACTAACTATTAAACCACA
TAATAGCTACTTTCGGTTGGGGCGACCTTGGAATAAAAAAAGAAGTTCCAAC

ACCATGACATTCTCATACCAATCAGGCCCCACTAGCCTACAAAAGACCCAG
CAAAGCTGACAAACGAACCAAGTTACTCCAGGGATAACAGCGCAATCTtCT
tCAAGAGCCCATATCAAAAAGAAGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGG
AA

赤尾鮨

學名：*Trimeresurus stejnegeri stejnegeri*

TTACCCTGATCCACATCGAGGTCGTAAACCTTCTTTtGAtATGGGCTCTTaAA
GAAGATAGCGCTGTTATCCCTGGAGTAACTTATTTCAATTATCAGCTGTGCT
GGGTCTAGTATTGGCTTGTTTGCCTTATTTTATGAATAGTCATATGTTGGAAG
TTCTTTTTTATTCCAAGGTCGCCCCAACCGAAAGTAATCATTATtAGATTtAAT
GGGTTTGTTAAAGCTTCACAGGGTCTCTTC

呂氏攀蜥

學名：*Japalura luei*

CATGGAGCTTTAAACCCAACGTACACCCCTGTTATAAGACGAGAAGACCCT
GTGAAACTTTAAATGTCCATCAAGCAAGCCATGATCAAGACATTTTTTGTT
GGGGCAACCAAAGAGAAACACAAATCTCTACAACCCGTCACGCGGCAAAC
AGGCCAAATGACACCAACTTAAGACCCAGCATCGCTGACTAAGGAACCAA
GCTACTCCAGGGATAACAGCGCCACATTCTTAAAGAGTCCATATCAGCAAG
AATACTTACGAC

斯文豪氏赤蛙

學名：*Rana swinhoana*

TTTATAAGACGAAAGACCCCATGGAGCTTTAAACCCAACGTAcACCCCTGA
CCCACACACCAGCTTAACCCTGGGGATTTGTACGTCGGTTTTAGGCTGGGG
GGGCCACGGAGTAAAATTAAACCTCCATAACAAATGGGCTAATACCTTATC
CACGATTTACTAATCTAAGAACCACAAAATTGATGTTAATGACCCGATAATT
CGATCAATGAACCAAGTTACCCTGGGGATAACAGCGCAATCTACTtCAAGA
GTCCATATCGACAAGTGGGTTTACGACCTCGATGTTGGCATCAGGGAAACC

中國樹蟾

學名：*Hyla chinensis*

CACATTTACTTCGGCTTTCTGATTATTAGTTTTAGGTTGGGGTGACCGCGGA
GCAAAAAATAACCTCCACATTGAATGGGGAACCTCCCTGAGACACGAGCT
ACAACCTCTACACACCAATAAATTGACATCAATTGACCCAATACATTGATCAA
CGAACCAAGTTACCCTAGGGATAACAGCGCAATCCGCTTCAAGAGCTCCTA
TCGACAGGCGGGTTTACGAC

日本樹蛙

學名：*Buergeria japonica*

CATGGAGCTTCAAACCTTCAGCAaCTTTTAACTTACAAATCCTAATATCTTAA
AAGCTATGCCTACCGGTTTTGGGTTGGGGTGACCGCGGAGAAAAAATTAAC
CTCCATGACGAACAGAACTAAATCTTTATCTAAGAGCTACTACTCTAAGAAT
CAGTAAACTGACGTAAAATGACCCGATTATCGATCAACGAACCAAGTTACC
CTGGGGATAACAGCGCAATCCACTTtGAGAGCTCATATCG-ACAAGTGGGTT
TACGAC

梭德氏赤蛙

學名：*Rana sauteri*

ATTAAACACAAGAGAACTGCGTATTAGTTTTAGGTTGGGGGGACCACGGAG
TATAACTTAACCTCCACAACAAATGGGCTAACACCCTAATCCACGAGACAC
AACTCTAAGAATTACTAAAATAATGCTTATGACCCGATATTCGATCAATGAA
CCAAGTTACCCTGGGGATAACAGCGCAATCTACTTCAAGAGCCCATATCGA
CAAGTAGGTTTACGAC

莫氏樹蛙

學名：*Rhacophorus moltrechti*

AGCCATGCATTCTAATTTTAGGTTGGGGTGACCGCGGAGTAAAAATTAACC
TCCACGACGAAAAGAACTAAATCTTTATCCAAGAGTTACAACCTCTAAGAAT
TAGAACACTAACGACAATGACCCGATAATCGATCAACGGACCAAGTTACCC
TGGGGATAACAGCGCAATCTACTTCGAGAGCTCATATCGACAAGTAGGCTT
ACGAC

長腳赤蛙(陽明山)

學名：*Rana longicrus*

CATTAGACATAAGAAATCTGCACACTAGTTTTAGGTTGGGGGGACCACGGA
GTACAATTTAACCTCCATAACAAATGGGCTAATTACCCTTATCCACGAGACA
CACCTCTAAGAATTACTAAACTAATGCTTATGACCCGATATTCGATCAATGA
ACCAAGTTACCCTGGGGATAACAGCGCAATCTACTTCAAGAGCTCATATCG
ACAAGTAGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGGT

楚南氏山椒魚

學名：*Hynobius sonani*

TATGGAGCTTTAAACATATAATCAACTGCATAATAAAAATCCGAAAGATTAA
ATATTAAATAAAACAGTATGATCAAAATTTTAGGTTGGGGCGACCACGGAG

AAAAGTATAACCTCCGAGATGAAGAGAATATCTTAATTTAAGAACTACAGTT
CTAAGAAATAAAATATTTAACATAATTGATCCAATATATTGATCAACGAACCA
AGTTACCCTAGGGATAACAGCGCAATCCTCTCCAAGAGTCCCTATCGACGA
GTGGGTTTACGAC

盤古蟾蜍

學名：*Bufo bankorensis*

AATTTCCGAATTTAAACTCCCTGGACAGTGTGACTGCGAGTTTTTGGTTGG
GGTGACCACGGAGCATAATATAACCTCCATGCTGAAAGAATCTTTCTAAGCT
AAGAACTACAAATCCAAGCATCAATAAATTGACATCCATTGACCCAATATAC
TTGAACAACGAACCAAGTTACCCTAGGGATAACAGCGCAATCCACTTCAAA
AGCTCCTATCGACAAGTGGGTTTACGAC

褐樹蛙

學名：*Buergeria robusta*

CATGGAGCTTCAAACCTCAAGGCAACTCCCAGTATACAAACCCTCATATTC
AAGAGTACTGCGTAACAGTTTTAGGTTGGGGTGACCGCGGAGCATAAACA
AACCTCCACGACGTATAGAATAAACCTTTATCTAAGAGCTACTTCTCTAAG
AATCAGTAAACTGACGTAAAATGACCCGATATCCGATCATCGAACCAAGTT
ACCCTGGGGATAACAGCGCAATCCACTtCAAGAGCCCATATCGACAAGCGG
GTTTACGAC

2.1.4 Cyt b 定序完成之物種及其序列

梭德氏赤蛙

學名：*Rana sauteri*

GATTAGGGATCAGAgAAAAGATTTTGGCGATGGGGCGGAACATAAGAGAG
CGAAGTTTAGAGGTGTGAATTAAGGGCATTAAGAAGAGAACTAAGATTGA
GAAGAGAAGGGCTAAAACTCCCCCAGTTTGTGTTGGGGATTGACCGGAGAA
TAGCGTAGGCCAAATAAGAAATACCACTCTGGCTTAATGTGTGGGGGTGTAA
CTAGCGGGTTAGCTGGTGTGAAGTTGTCAGGGTCTCCTAGTAGATTGGGGG
AGAAGGTTGATAAGGCTGCAAGAGCTCCCAGTAGGATCACGAAGCCAAAG
AGGTCTTTATAAGAGAAGTAGGGGTGGAATGAGACTTTGTCTAAGTTAGAG
TTTAGCCCTGTGGGGTTGGATGATCCTGTCTGATGAAGAAACAGGAGGTGA
ATAACGCTGGCGGCAGCGATGATAAATGGGAGAATGAAGTGAAACGTGAA
GAACCGGGTGAGAGTTGCGTTGTCTACTGAGAAGCCCCCTCAGATCCATTG
GACGAGGTTGGAGCCAATGTAGGGGGCGGCTGAGAGGAGGTTAGTAATTA
CTGTAGCGCCTCAGAAGGATATTTGTCCTCATGGCAATACATAGCCTACGAA

GGCTGTGGCTATCACTAGGAAGAGGAGGATAACCCCGATGTTTCAGGTTTC
TTTGTAGAGGTAGGAGCCATAATAAAGACCTCGTCCGATGTGGAAGTAGAT
GCAGATGAAGAAGAACGATGCCCCGTTGGCATGGAGGTTGCGAAGGAGTC
AGCCATTATTAACATCACGGCAGATATGGGCGATAGATGAAAATGCCAGAG
AAGTGTCAGCTGTATAGTGTATCGCTAGGAATAGGCCGGTGGCGATTGTAC
AACTAAGCATAACCGAGTAGTGACCCAAAGTTTCTCTGTGAA

斯文豪氏赤蛙

學名：*Rana swinhoana*

TAGCAATTAGTGTTTCAGAAGGATATTTTTGCGATTGGGCGGAAAGTAAGAG
ATCGCAGCTTTGAGGTGTGGGTGAGGGGTATTAGGAGCAGGACTATAATCG
AGAGTAGGAGAGCTAGCACCCCGCCGAGTTTATTTGGGATGGAGCGGAGG
ATAGCGTAGGCCGAAGAGGAAGTACCACTCTGGTTTAATGTGGGGCGGGGT
GACTATAGGATTGGCGGGTGTAAAGTTGTCCGGGTCCCCAAGAAGGTTTGG
GGAGAATACGGATAGAGTTGCGAGGGCGCCGAGTAGGGCGATAAAGCCGA
GAAGGTCTTTATAGGAAAAGTAGGGGTGAAATGTAACTTTATCCAGGTCGG
AGTTTAGGCCTGTTGGGTGGAGGAGCCTGTTTGGTGGAGAAAGAGAAGG
TGAATTATACTTGCGGCGGCAGTAATAAACGGCAGGATGAAGTGGAACGTA
AAAAATCGGGTGAGGGTGGCGTTGTCTACTGAAAATCCCCCCAAATCCAT
TGGACTAGATTATCACCGATATACGGGATAGCTGAGAGGAGGTTAGTAATTA
CGGTGGCGCCTCAGAAGGATATTTGGCCTCACGGCAGGACGTAGCCGACG
AAAGCGGTGGCTATTACCAGCAAGAGCAGTATTACCCCCACGTTTCATGTC
TCTGTAAATAGATAAGAGCCGTAGTAGAGGCCTCGTCCAATGTGAAGGTAA
ATGCAGATAAAAAATATAGATGCGCCATTGGCGTGAATGTTACGGAGGAGT
CAACCATTATTAACGTCTCGGCAGATGTGGGAAATGGAGGAGAAGGCGATG
GAAGTGTCGGCTACGTAGTGTATGGCCAATAGCAGTCCAGTTATGATTTGGG
CtAATTAAGCACACTCCCAGGAGAGAGCCAAAGTTTCATCATGTG

長腳赤蛙(陽明山)

學名：*Rana longicrus*

TTTGGCTCACTACTAGGAATCTGCCTAATCGCCCAAATCGCCACCGGGCTAT
TCCTGGCCATACACTACACAGCTGATACTTCTATAGCATTCTCATCCATCGCC
CACATCTGCCGCGATGTCAACAACGGCTGGCTCCTTCGTAACCTCCACGCC
AACGGCGCCTCATTCTTCTTCATCTGCATCTACTTCCACATCGGCCGAGGCC
TCTATTACGGCTCATACCTTTACAAAGAAACATGAAACATCGGCGTAGTACT
GTTGTTCCCTGGTAATAGCCACAGCCTTTGTGGGCTACGTCCTACCGTGAGG
CCAAATATCTTTTTGAGGCGCCACAGTAATCACTAATCTCCTCTCAGCTGCC
CCCTACATCGGCTCCGACTTAGTCCAATGGATCTGAGGAGGCTTCTCAGTA

GACAACGCAACCCTTACTCGATTCTTCACATTCCATTTCATTCTCCCATTCAT
TATTGCTGCTATAAGCATAATCCACCTCTTATTCCTTCACCAAACAGGGTCCT
CAAACCCACAGGGCTTAACTCCAACCTAGACAAAGTCTCCTTCCACCCCT
ACTTCTCGTACAAGGACCTCTTCGGCTTTGTGATCCTCCTAGGCACCCCTCAC
AACTCTATCAAC

中國石龍子

學名：*Plestiodon chinensis*

TTTCGGCTCACTTCTGGGTAATGCCTAATCGTGCAAGTACTCACAGGTTTAT
TTCTGGCCATGCACTATACAGCAGATAATTCCTCCGCTTTCTCATCTATCGCA
CACATCTGTGCGGATGTTCAATACGGTTGACTTATCCGAAATATTCATGCAA
ATGGCGCCTCCATATTCTTTATCTGCCTTTACCTTCACATCGGACGAGGCCTT
TATTACGGCTCCTACATATATAAAGAGACATGAAATATCGGCGTAGTCCTCCT
ACTTCTTGTAATAGCAACCGCCTTCGTTGGTTACGTATTACCCTGAGGTCAG
ATATCATTTTGAGGGGCAACTGTCATTACAAATCTCCTATCAGCTGTACCCTA
CGTTGGAACAAACTTAGTAGAGTGAATCTGAGGTGGGTTTTCCGTAGACAA
CGCAACACTAACTCGATTTTTTACATTTCACTTCCTTCTCCCATTTATAATTAT
AGGCGCCTCAATACTTCATCTACTCTTCCTCCACGAAACCGGATCAAATAAC
CCGACAGGGTTAACCTCAAATACAGACAAAGTACCATTTACCCCTTACTAC
TCATTCAAAGATCTATTAGGTGCTACCTTATTTATTCTTATCCTTATAACCCTA
GCCCTACTTTATCCAAATCTTCTGGGAGACCCAGAAAACCTTTACCCCTGCA
AACCCATTAGTAACCCACCCACACATCCAACCAGAATGGTACTTCCTATTG
CATATGCCATTCTACGATCGATCCCAAACAAACTGGGCGGCGTCCTAGCACT
CTTATTTTCAATTCTAATTCTAATACTTATTCCACTACTCCATACCTCGAAGCA
ACGAGGCAATGCCTTCCGCCACCATCACAAGCCTTATTCTGAGCCCTTATC
TCCAATATTATTATTTTA

麗紋石龍子

學名：*Plestiodon elegans*

TTTCGGCTCACTCCTAGGCGTGTGCCTTATTGTTCAAGTAATAACAGGCCTAT
TCCTAGCCATACACTATACAGCAGACATTTCTCTGCCTTCTCATCCATTGCC
CACATCTGTGAGACGTACAATACGGCTGACTCATCCGAAACCTACACGCC
AACGGAGCATCCATATTTTTTCATTTGCATCTACCTTCACATCGGACGAGGCC
TTTATTACGGCTCGTACATATACAAGGAAACCTGAAACATCGGAGTTGTCCT
ACTACTCCTTGTAATAGCAACAGCATTTCGTGGGATACGTTCTTCCATGAGGA
CAAATATCCTTCTGAGGCGCAACCGTAATTACAAACCTACTATCAGCAATTC
CCTACATCGGCACAAGCCTGGTAGAGTGAATCTGGGGCGGGTTCTCCGTAG
ACAACGCAACTCTCACCCGATTCTTCACATTCCACTTTCTACTCCCCTTCGC

TATCATGGGGGCCTCAATAATCCACCTAATATTCCTCCATGAAACAGGATCA
AATAACCCAACTGGACTAAGCTCAAACACAGATAAAATCCCATTTCACCCC
TATTACACGTACAAAGACCTCCTGGGACTCATCATCATGCTGCTCTTCCTCC
TAACCCTCGCCCTGTTCGCACCCAACCTCCTGGGAGACCCGGAGAAGCTTTA
CCCCAGCAAACCCTCTAGTAACCCCCACCACACATCAAGCCAGAGTGGTATT
TCTTATTCGCATACGCCATCCTCCGCTCCATTCCAAATAAACTTGGTGGCGT
CTTRGCCCTCTTGTTCTCAATCCTAGTGCTACTAACAATCCCACCTTCTACATA
CGTCTAAACAACGAAGCAACACCTTCCGTCCAATCTCACAACCTTATATTCTG
AACACTAATCTCAAACATCATCATTCTC

生命條碼回顧及整理

自本實驗室開始執行兩棲爬蟲類之基因多樣性及基因條碼建立計劃以來，目前已從太魯閣園區內兩棲類 5 科 15 種中，定序可作為建立基因條碼之用的部分兩棲類共計出 9 種（表 1），爬蟲類已完成 7 種（表 2）；表中一併整理出目前 NCBI 資料庫有關園區內兩棲爬蟲類 Barcode DNA 序列之擷取碼(accession number)，並將太魯閣園區內兩棲類以生命條碼分析之親緣關係樹（圖 3.6）。

表 3-1 兩棲類已定序基因條碼

兩棲類	NCBI (太魯閣園區樣本)	12s	16s	Cox1	CO 1	Cyt b
臺灣山椒魚 <i>Hynobius formosanus</i>	DQ333816.1					
楚南氏山椒魚 <i>Hynobius sonani</i>	V	JN117717	JN098485	s		
盤古蟾蜍 <i>Bufo bankorensis</i>	HQ650552	JN117718	JN098486		HQ650558	
黑眶蟾蜍 <i>Bufo melanostictus</i>	AY458592.1					
中國樹蟾 <i>Hyla chinensis</i>	HQ650556	JN117721	JN098480		HQ650552	p
小雨蛙 <i>Microhyla ornata</i>	NA					
斯文豪氏赤蛙 <i>Rana swinhoana</i>	HQ650553	P	P		HQ650557	●
梭德氏赤蛙 <i>Rana sauteri</i>	V	JN117722	JN098483		s	●
澤蛙 <i>Rana limnocharis</i>	NA					
拉都希氏赤蛙 <i>Rana latouchii</i>	NA					
日本樹蛙 <i>Buergeria japonica</i>	HQ650554	◎	JN098481		HQ650553	
褐樹蛙 <i>Buergeria robusta</i>	GU244379	◎	JN098487		GU244379	
艾氏樹蛙 <i>Chirixalus eiffingeri</i>	NA					
莫氏樹蛙 <i>Rhacophorus moltrechti</i>	HQ650555	JN117720	JN098484		HQ650556	
白領樹蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	AY458598.1					
長腳赤蛙(陽明山)			●		s	●

P(已有 PCR 產物)、S(已定序)、●(上傳中)、◎(stop codon)

表 3-2 爬蟲類已定序基因條碼

爬蟲類	NCBI (太魯閣園區樣本)	12s	16s	Cox1	CO 1	Cyt b
赤尾鮎 <i>Trimeresurus stejnegeri stejnegeri</i>	NC_012146.1		●		s	
龜殼花 <i>Trimeresurus mucrosquamatus</i>	V		●		s	
青蛇 <i>Cyclophiops major</i>	HQ650558 #				HQ650555	
雪山草蜥 <i>Takydromous hsueshanensis</i>	V		◎	s		p
呂氏攀蜥 <i>Japalura luei</i>	HQ650557 #	JN117719	JN098482		HQ650554	
斯文豪氏攀蜥 <i>Japalura swinhonis</i>						
台灣草蜥 <i>Takydromus formosanus</i>						
菊池氏龜殼花 <i>Trimeresurus gracilis</i>	V				s	
紅竹蛇 <i>Elaphe porphyracea nigrofasciata</i>						
中國石龍子 <i>Eumeces chinensis</i>		JN117724			●	●
麗紋石龍子 <i>Eumeces elegans</i>	V	JN117723			●	●
南湖山椒魚 <i>Hynobius glacialis</i>		●	●			
台灣百步蛇 <i>Deinagkistrodon</i>			●			
台灣眼鏡蛇 <i>Naia Naia</i>			●			
台灣蜓蜥 <i>Sphenomorphus taiwanensis</i>		●	●			●
P(已有 PCR 產物)、S(已定序)、 ●(上傳中)、◎(stop codon)						

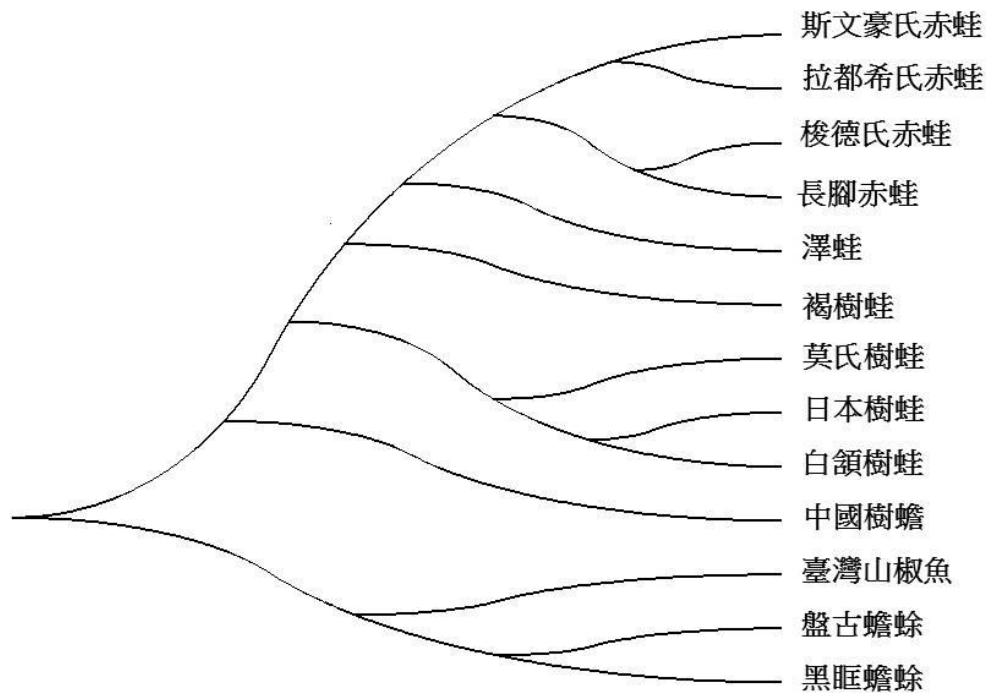


圖 3-6 園區內兩棲類以生命條碼分析之親緣關係樹。

2.2 盤古蟾蜍粒線體 DNA 序列分析

盤古蟾蜍在太魯閣國家公園區之分布，根據呂光洋(1983, 1989)等學者研究報告，為海拔高度分布最為廣泛的兩棲類；盤古蟾蜍是相當適合探討兩棲類分布與海拔高度之關連性之物種標的。

粒線體 DNA 在族群遺傳的研究上，因可提供良好的解析力 (Moritz *et al.*, 1987)，亦可運用在估算族群遺傳結構，及檢視同一物種之不同族群是否存在遺傳分化(Slatkin, 1985)等用途。選擇適當的基因作為分析比較的材料，是族群判定研究最重要的事前準備工作。先前的研究顯示，分析比較所有以定序的動物粒線體

DNA，發現粒線體基因組各區段的保守性不同。一般來說，蛋白質基因、tRNA 基因與 rRNA 基因比較保守，其基因的鹼基替代率最低，結構與功能也較為穩定與相似。相較而言，控制區（control region），或稱為 D-loop，是非功能性的基因，因此不受到選汰（selection）壓力的影響，在 D-loop 片段的演化速率大約是一般核染色體的 5~10 倍(Birky et al., 1983; Brown *et al.*, 1979; Dawid & Blacker 1972)，故其保守度最低，變異度最高。粒線體 DNA 中各種基因長度的穩定性依次為：tRNA 基因與蛋白質基因區域> rRNA 基因>控制區。由先前研究得知，cytochrome b gene 由於其長度較長、保守度高，廣泛地被應用在於「科」以上的分類階層(Avise *et al.*, 1994; Baker *et al.*, 1995)。鑑於相同之理由，12S-rRNA 也被應用於生物科間、屬間的類緣關係上(Waterman *et al.*, 1992; Douzery and Catzeflis 1995; Hannic *et al.*, 1995)。而控制區 D-loop 區域，由於穩定性較低與演化速率較快，通常被應用於種間、族群分析等親緣關係遠近的研究(Sang *et al.*, 1994)。

本研究利用盤古蟾蜍之分布特性，由低海拔至高海拔分別依高度選定樣點，採集盤古蟾蜍樣本。本計劃在太魯閣國家公園及海岸山脈共計 14 個樣點，從目前採集到之樣本中 D-loop 定序完成結果，可分出 23 個基因單型(haplotype)。使用 MEGA4.02，以最大簡約

法(maximum parsimony methods，簡稱 MP)、進行 bootstrap1000 次建構出親緣關係樹(圖 3.7)。由圖 3.7 的結果可知，在太魯閣地區的盤古蟾蜍可清楚的分為兩個系群，進一步比對採樣資料，AA 群廣泛地分布在各海拔間且無界限，AL 群只出現於大約 2000 公尺以下之山區。繼續採集其它地區低海拔之樣本可進一步探討在太魯閣園區所發現之分群現象，是否在台灣全島均有此一特殊之演化結果。

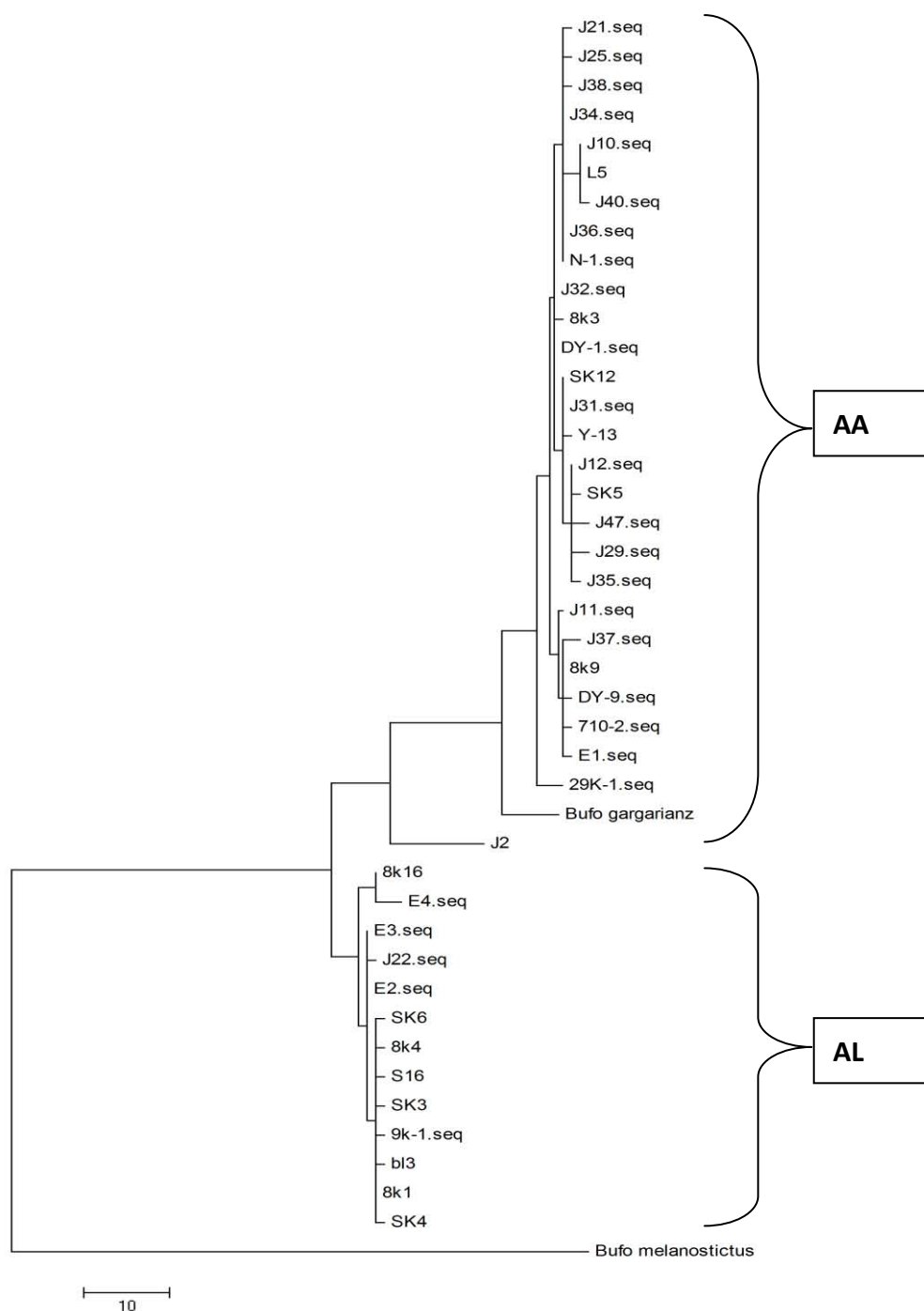


圖 3-7 以最大簡約法分析盤古蟾蜍控制區基因單型之親緣關係樹。AA 群：廣泛分布海拔；AL 群：分布海拔低於 2000 公尺。SK：砂卡礑；BL：布洛灣；S：西寶；L：洛韶；8K：台 8 線 148K；Y：新白楊；3K：台 8 線 133K；29K：台 8 線 129K；9K：台 8 線 119K；DY：大禹嶺；LO：蓮花池；710：710 林道；N：南湖登山口；*Bufo gargarizans*: from NCBI；*Bufo melanostictus*:from NCBI。

第三節 兩棲類功能性基因

盤古蟾蜍 catalase、glutathione peroxidases、heat shock protein、及

thyroid hormone receptor 定序

盤古蟾蜍 Catalase

CACGATGATCTGCAGTGCTCTGATGTCAAGTGAAGAATTCAATGAAGCGC
GGGTAAACGGCGGGAGTAACTATGACTCTCTTAAGGTAGCCAAATGCCTC
GTCATCTAATTAGTGACGCGCATGAATGGATGAACGAGATTCCCAGTGTCC
CTACCTACTATCTAGCGAACCCCCAGACCCACATGAAGAAGAAT

盤古蟾蜍 glutathione peroxidases

GGAAGGACTCTTTGAGCAGAGTGGACATTGAGGTTTCTTGGCAGACGCT
GGAGTATTATGCTGGACTTGCCGGTAGCATGGCTGGTAAGACCATTTCTGAT
GTATATCCTCACACAGCTCCTGCTCACCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCA
AAAAATTTTTTTGAAAAATTTCCCTGGGCCCCCGGGGGGAGGGGG

盤古蟾蜍 heat shock protein

CACCGGCACGACAGATCACCATTACAAACGACAAAGGCCGACTGAGCAA
AGAGGAGATAGAGAAGATGGTGCAAGATGCTGAGAAATACAAAGCGGAT
GATGATGCCCAGAGAGAGAAAATTACTGCCAAAACTCCCTGGAGTCCTA
TGCCTTCAACATAAAGAGCATGGTGGAAGATGAGAACATGAAGGGGAAG
CTCAGTGTTTTAGATCAGAGGGTCTTCCCCGACAAGTGTCAGGAGACCTT
TGTCTGGTTGGATGATGACCTTGTTCTGAGTGCGATAGGTCCTGCCTCAGC
CGATGGATCAAGG

盤古蟾蜍 thyroid hormone receptor

TGATGGCATCTGAGACCACACCGAGTCCTCCATTTTTTCAGCTGTCCTCTTG
TGACTGCCATCTCCCCATTCAGTGTTAATGTTTCACTCTCTGGGTCATATCT
CACTGCGGCTCGGAGTGACATTATCTCCATGCAGCAGCCCTTGAGGAGGA
TGATCTGGTCTTCACATGGCAGCTCGCAAAACATAGGTAATTTTTTTGGCAA
AATCCACCACTCTTGTAATTGCTGGGGTGATTATTTTTGTAACTGGCTGA
AGGCTTCTAAGTCGACCTTTCCACCCTCTGGAGCATTAACCTATAGGAGCCT
GCCCAATATCTTCTGGCAGAAATTTTCTTTTCTGTTTCCAGTGACTTCCCT
GTGCGTTAGTGGCCACATGAGCTTCAGTGACCACCTGTATGAGCTCCCAC
TCTTCTGCCGTTGGTTCAGGCTTCTGCACCAGTGATTTTTGCAGTTCATCC
TTGCGCCTCTTTTCTCTGTTTTCTTCTATGAGCTTTCTTTTGTCCAAACGTT
TGCCGTCATCCAAAACCAGATCTGTTGCCATGCCAACGGCAATGCACTTT
TTGAAGCGACATTCTTGGCACTGGTTCCA

第四節 兩棲類生物地理探討

盤古蟾蜍皮膚蛋白質 2 維電泳分析結果：

將盤古蟾蜍依高低海拔分組，以蛋白質 2 維電泳技術分析其背部皮膚上基因表現之差異 (圖 3-8)。比較之後發現有 9 個基因在不同海拔間表現量不同，均為盤古蟾蜍背部皮膚在高海拔區域表現量比在低海拔區域表現量較高之蛋白質。盤古蟾蜍適應不同海拔之能力是否與這些基因表現差異有關，則有待進一步研究這些蛋白質為何基因以設計實驗探討才能了解。

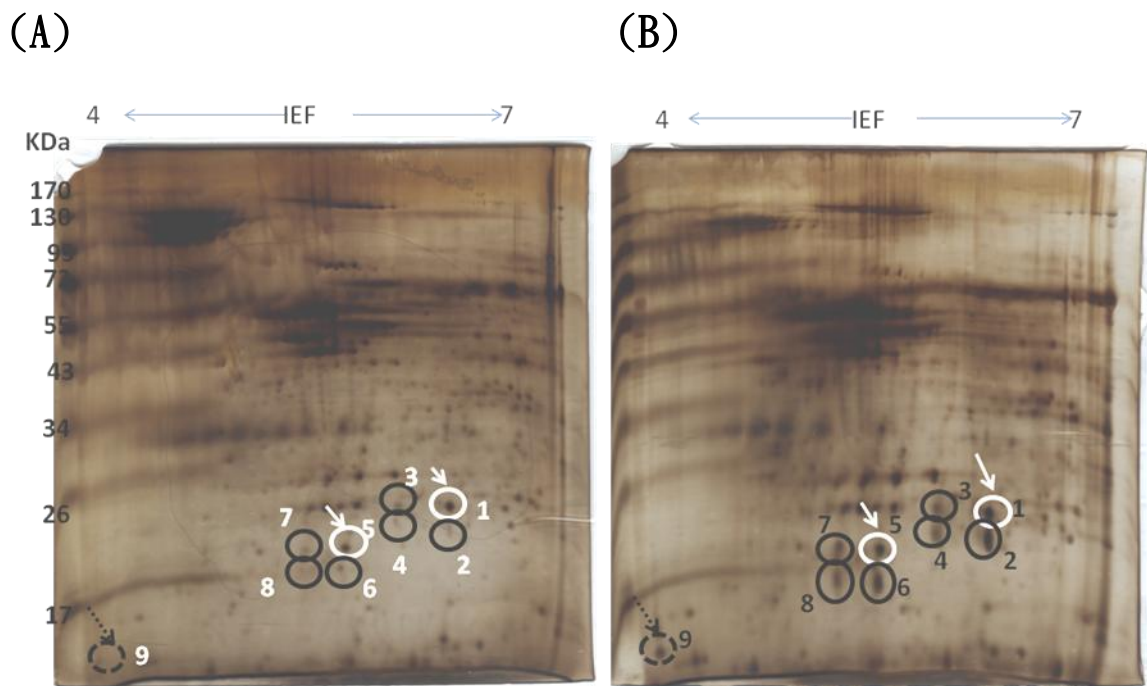


圖 3-8 盤古蟾蜍皮膚蛋白質 2 維電泳分析結果。(A)低海拔組盤古蟾蜍背部皮膚。(B)高海拔組盤古蟾蜍背部皮膚。

第四章 結論與建議

本計劃研究之結果，與過去文獻報告比較分析，發現對於太魯閣國家公園園區內之兩棲類而言，2000公尺為一具有生態族群分布差異之分布高度線。無論從數量分布及出現頻率的研究資料的比對（表圖3-3、3-4），海拔高度對動物分布及繁殖季節會造成相當大的影響，再進一步將分析所採集盤古蟾蜍數量中之雌雄比例，按海拔高度分別計算其雌雄比例，發現高低海拔之族群可能由於兩者適合繁殖之溫度落於不同季節；再加上兩棲類移動能力較弱之特性，因此產生生殖隔離之效果，而逐漸產生高低海拔兩種系群。本計劃已利用分子生物技術，分析比較盤古蟾蜍之粒線體DNA序列，在資料上得知盤古蟾蜍可跨過2000公尺海拔，依其親緣關係之分析結果（圖3-7），發現的分析中提出，盤古蟾蜍族群可依高低海拔分出兩個類群，此現象可能是由於隨著海拔環境溫度變化以及適合繁殖之溫度落於不同季節所導致的演化結果。另從梭德氏赤蛙出現頻率、數量分布及親緣關係之分析（圖3-5），對於梭德氏赤蛙而言，不同海拔亦有類似之演化選汰及隔離之作用，其系群間亦因此逐漸產生遺傳變異。

全球暖化與氣候變遷，近年已經開始造成極端氣候及對生態保護工作之壓力。由於變溫動物與兩棲類對環境條件的變化較敏感，對兩棲類生理生態之研究愈深入了解及監測，則愈能以其作為模式動物探

討暖化與氣候變遷對生態可能造成之影響，提早研議出適合之保育政策藉此因應之。本研究所建立之粒線體DNA序列實驗平台，已完成太魯閣國家公園園區內之兩棲爬蟲類共16種，包括如山椒魚，呂氏攀蜥及中國樹蟾等稀有之物種，完成可做為基因條碼序列之CO1基因部份序列解碼，並陸續由網路上傳至NCBI Barcodes database，未來將繼續運用於其他物種之調查，建立更為完整之資料庫，以供後續保育研究之應用。

立即可行之建議

1. 藉物種DNA barcode資料之建立與上傳到國際基因條碼資料庫與資料公開，將太魯閣國家公園從事基因多樣性研究，提昇並推廣世界太魯閣國家公園在國際間之能見度。
2. 持續推動太魯閣國家公園敏感性生物如兩棲類之族群分布及生態分析研究，進一步作為環境生態多樣性監測之用。
3. 利用兩棲類分布之特性，以兩棲類指標物種，監測全球氣候變遷對太魯閣國家公園生態之環境影響。
4. 建立太魯閣園區物種資料庫、包括基因條碼序列資料、粒線體基因序列資料，以供相關基因多樣性與生態多樣性研究及物種鑑定參考。

中長期性建議

- 1、持續針對不同海拔高度調查，長期監測兩棲類族群的消長及分布。
- 2、對盤古蟾蜍進行長期監測及研究，深入探討全球氣候變化造成之環境條件改變對生態系之影響。以了解自然生態可能之改變趨勢，作為維持、保育園區內的生物棲地與生物多樣性之保育政策擬定之參考。

附錄一、 上傳 NCBI 基因條碼序列

盤古蟾蜍:

Bufo bankorensis cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650558.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650558 658 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011
 DEFINITION Bufo bankorensis cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial
 cds; mitochondrial.
 ACCESSION HQ650558
 VERSION HQ650558.1 GI:323403844
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Bufo bankorensis
 ORGANISM [Bufo bankorensis](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Bufonidae;
 Bufo; Bufo.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 658)
 AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the
 Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2
 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..658
 /organism="Bufo bankorensis"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /db_xref="taxon:[86345](#)"
 /PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase
 subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name:

```
rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq:
tagacttctgggtggccraaraayca"
gene <1..>658
      /gene="COI"
CDS <1..>658
      /gene="COI"
      /codon_start=2
      /transl_table=2
      /product="cytochrome oxidase subunit I"
      /protein_id="ADX62148.1"
      /db_xref="GI:323403845"
      /translation="TLYLIFGAWAGMVGTA SLLIRAELS QPGSLLGDDQIYNVIVTA
HAFVMIFFMVMPILIGGFGNWL VPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLASAGV
EAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGPSVDLTIFSLHLAGVSSILGA INFITTTLNMKPPSM
TQYQTPLFVWSVLITAVLLLLSLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFFDPAGGGDPILYQHL
F"
```

ORIGIN

```
1  taccctatat cttatTTTTg gggcctgagc agggatagta ggaactgccc ttagcctcct
61  tatccgagct gagctgagtc aaccgggctc cctcttgggc gatgatcaga tttataatgt
121 cattgttacc gcccacgcct tcgtcataat tttctttatg gtcatgcccc tcctaatecg
181 aggccttcggg aactgacttg tccccctgat aattggggcc cctgacatag ccttcccccg
241 aatgaacaac ataagctttt gattactccc cccatcattt ctactcctct tggcatccgc
301 cggagtcgaa gcaggagcag gaaccggctg aactgtatac cccccctgg ctgggaacct
361 tgcacacgca ggcccatcag tcgacttaac catTTTTtcc ctccaccttg cgggtgtatc
421 atctatccta ggcgcaatta atttattac aacaaccctt aacatgaage caccatcaat
481 gactcaatac caaacaccct tatttgtgtg atccgtcttg attactgctg ttttactcct
541 actctccctg ccagtcctcg ctgcaggaat cactatactc ctactgacc gaaacctaaa
601 cacaacattc ttgaccctg ctggcggagg cgaccccatc ctctatcaac acctcttt
```

中國樹蟾：

Hyla chinensis cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650552.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650552 658 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011

DEFINITION Hyla chinensis cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION HQ650552

VERSION HQ650552.1 GI:323403832

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Hyla chinensis (Chinese tree toad)

ORGANISM [Hyla chinensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Hylidae; Hylinae; Hylini; Hyla.

REFERENCE 1 (bases 1 to 658)

AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..658
 /organism="Hyla chinensis"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /db_xref="taxon:[167933](#)"
 /PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name: rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq: tagacttctgggtggccraaraayca"
[gene](#) <1..>658
 /gene="COI"

CDS <1..>658
/gene="COI"
/codon_start=2
/transl_table=[2](#)
/product="cytochrome oxidase subunit I"
/protein_id="[ADX62142.1](#)"
/db_xref="GI:323403833"
/translation="TLYLVFGAWAGMVGTA~~LS~~LLIRAELSQPGSLLGDDQIYNVIVTA
HAFVMIFFMVMPILIGGFGNWL~~V~~PLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLASAGV
EAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGPSVDLTIFSLHLAGVSSILGAINFIT~~IL~~NMKPPSM
TQYQTPLFVWSVLITAVLLLLSLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFDPAGGGDPVLYQHL
F"

ORIGIN

```
1  tactctatac ttggtatttg gggcttgggc tggcatagta ggcacagccc tcagcctcct
61  aattcgagca gaattaagcc agcctggctc ctttctaggt gacgatcaaa tctataatgt
121 catcgtcacg gctcagcct tcgtcataat tttctttatg gttataccaa tccttattgg
181 gggatttggg aactgactag tccccctaat aattggcgca cctgatatag ctttcccacg
241 aataaacaat ataagcttct gacttcttcc accatctttt cttcttctct tagcctcagc
301 aggtgttgag gcaggagcag gaaccggatg aactgtctat ccacccttg ccggaaatct
361 agcccatgcc ggcccatccg tagacttaac cattttttca ttacatctgg cagggtgtctc
421 ttcaatttta ggagctatta attttattac cacaattctt aacatgaaac ccccatcaat
481 aacacaatac caaacccgcg tatttgtttg atctgttcta atcactgctg tacttctact
541 tctttctctc cccgtgctag cagcgggtat taccatacta ctcacggacc gaaacctcaa
601 caccacattt ttcgaccggg caggaggagg ggaccccgta ctataccaac acttattc
```

斯文豪氏赤蛙：

Rana swinhoana cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650557.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650557 658 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011

DEFINITION Rana swinhoana cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION HQ650557

VERSION HQ650557.1 GI:323403842

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Rana swinhoana (brown-backed odorous frog)

ORGANISM [Rana swinhoana](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Ranidae; Raninae; Rana.

REFERENCE 1 (bases 1 to 658)

AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..658

/organism="Rana swinhoana"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[310664](#)"

/PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase

subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name:

rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq:

tagacttctgggtggccraaraayca"

[gene](#) <1..>658

CDS

```
/gene="COI"  
<1..>658  
/gene="COI"  
/codon_start=2  
/transl_table=2  
/product="cytochrome oxidase subunit I"  
/protein_id="ADX62147.1"  
/db_xref="GI:323403843"  
/translation="TLYLIFGAWAGMIGTALSLLIRAELSQPGTLLGDDQIYNVIVTA  
HAFVMIFFMVMPVLIGGFGNWLVPMLIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLASSMV  
EAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGPSVDLAIFSLHLAGISSILGAINFITTIINMKPPAI  
AQYQTPLFVWSVLITAILLLSLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFDPAGGGDPVLYQHL  
F"
```

ORIGIN

```
1 gactctatac ctaatctttg gcgcctgagc cgggataatc ggaacagcct taagcctgct  
61 aattcgagcg gagctcagcc aaccaggaac cctgctcggc gacgacaaa tctataatgt  
121 aatcgtaacc gccacgcat ttgtaataat cttctttatg gttatgcctg ttttgatcgg  
181 aggccttcggc aactgactag tcccgttaat aatcggggct cctgacatag ccttcccacg  
241 aataaataat ataagcttct gactgcttcc accctccttc ttcctcctat tagcatcttc  
301 tatggtagaa gccggggctg gcacaggctg aactgtctat cccccctgg cagggaacct  
361 ggctcatgcc ggcccatccg tagacctagc tatcttctcc ctccacctag ccggaatttc  
421 atctatcctc ggggctatta accttattac aacaattatt aatataaage cccagccat  
481 cgccaatac caaactcccc tctttgtctg atccgtttta atcaccgcca ttcttctact  
541 actttctctt cctgttttag ccgccggaat cagatactt ctaactgac gaaaccttaa  
601 taccaccttt ttgaccag caggaggcgg agaccgggc ctgtatcaac acctgttc
```

日本樹蛙：

Buergeria japonica cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650553.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650553 658 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011

DEFINITION Buergeria japonica cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION HQ650553

VERSION HQ650553.1 GI:323403834

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Buergeria japonica (Japanese Buerger's frog)

ORGANISM [Buergeria japonica](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae; Buergeriinae; Buergeria.

REFERENCE 1 (bases 1 to 658)

AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..658

/organism="Buergeria japonica"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[58513](#)"

/PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name: rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq: tagacttctgggtggccraaraayca"

[gene](#) <1..>658

CDS

```
/gene="COI"  
<1..>658  
/gene="COI"  
/codon_start=2  
/transl_table=2  
/product="cytochrome oxidase subunit I"  
/protein_id="ADX62143.1"  
/db_xref="GI:323403835"  
/translation="TLYLIFGAWAGMIGTALSLLIRAELAQPGSLLGDDQIYNVIVTA  
HAFVMIFFMVMPILIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLASSTV  
EAGVGTGWTVPPLAGNLAHAGPSVDLAIFSLHLAGVSSILGAINFITTLNMPSSST  
TQYQTPLFVWSVLITAVLLLLSLPVLAAAGITMLLTDRNLNTTFDPAGGGDPVLYQHL  
F"
```

ORIGIN

```
1  taccttatac ttaatttttg gtgcgtgggc aggtataatt ggaactgccc ttagcctttt  
61  aattcgagct gaattagctc aacctggatc actgctcggt gacgacaaa ttataatgt  
121 aattgttacc gccacgctt ttgttataat tttctttata gttataccaa ttttaattgg  
181 tggattcggg aactgactta ttctctaat aattggtgcc ccagacatgg ccttcctctg  
241 aataaataat ataagcttct gacttcttcc accctcattt cttcttttac tagcctcttc  
301 tactgtagaa gcgggtgtag gaaccggttg aacagtttac ccccattag caggtaatct  
361 tgctcatgca ggcccatcag tagacttagc tattttttct ttacatttag ctggtgtatc  
421 atcaatttta ggggccatca actttattac tacaatttta aatataaaac cgtcatcaac  
481 tacacaatat caaacccecc tgtttgtttg atctgttcta attaccgctg ttcttcttct  
541 tctatctctt cctgttttag ctgcaggaat taccatactt ttaacagacc gtaatttaaa  
601 tactacattc ttgaccctg ctggaggagg agatccagtt ctttaccaac accttttt
```

褐樹蛙：

Buergeria robusta cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: GU244379.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS GU244379 658 bp DNA linear VRT 01-JUL-2010

DEFINITION Buergeria robusta cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION GU244379

VERSION GU244379.1 GI:283487918

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Buergeria robusta (robust Buerger's frog)

ORGANISM [Buergeria robusta](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae; Buergeriinae; Buergeria.

REFERENCE 1 (bases 1 to 658)

AUTHORS Yu,T.-L., Chen,L.-H., Li,K.-W. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (16-NOV-2009) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec. 2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..658

/organism="Buergeria robusta"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[39612](#)"

/country="Taiwan: Taroko National Park"

/PCR_primers="fwd_name: VF1, fwd_seq:

ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name: VR1, rev_seq:

tagacttctgggtggccraaraayca"

[gene](#) <1..>658

CDS

```

/gene="COI"
<1..>658
/gene="COI"
/codon_start=2
/transl_table=2
/product="cytochrome oxidase subunit I"
/protein_id="ADB24654.1"
/db_xref="GI:283487919"
/translation="TLYLIFGAWAGMIGTALSLLIRAELAQPGSLLGDDQIYNVIVTA
HAFVMIFFMVMPILIGGFGNWLVPMLIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLASSTV
EAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGPSVDLAIFSLHLAGISSILGAINFITTTILNMKPAST
TQYQTPLFVWSVLITAVLLLLSLPVLAAAGITMLLTDRNLNTTFFDPAGGGDPVLYQHL
F"

```

ORIGIN

```

1  caccttatat ttaatttttg gcgcatgggc cggaataatc ggcaccgcac ttagtcttct
61  aattcgggct gaactcgctc agcccgggtc cctcctggga gacgacaaa ttataatgt
121 aattgtcact gcccatgcct ttgttataat tttctttatg gtcatgccta tcctaatecg
181 cggtttcgga aactggtttg tccccctaataatcggtg cctgatatag cttttcccg
241 cataaacaac ataagtttct ggctactacc tccctcattt cttctactac tagcttctc
301 tacagttgaa gcaggagctg gcacagggtg gactgtttac cccccctag caggaaatct
361 tgctcacgcc ggaccctctg tagacttagc tattttttcc cttcaccttg cagggatctc
421 ctcgattcta ggggctaica acttcattac aactattctg aacataaage ctgcctcaac
481 gacacaatac caaacacccc tctttgtgtg gtctgtgcta attacagcag tattactact
541 tctgtccctt ccagtcttag ctgcggggat tacaatgctt ctcacagacc gcaacttaaa
601 caccaccttt ttgaccag caggcggagg tgaccagta ttataccaac acctattt

```

莫氏樹蛙：

**Rhacophorus moltrechti cytochrome oxidase subunit I (COI)
gene, partial cds; mitochondrial**

GenBank: HQ650556.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650556 657 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011
 DEFINITION Rhacophorus moltrechti cytochrome oxidase subunit I (COI) gene,
 partial cds; mitochondrial.
 ACCESSION HQ650556
 VERSION HQ650556.1 GI:323403840
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Rhacophorus moltrechti (Nantou flying frog)
 ORGANISM [Rhacophorus moltrechti](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae;
 Rhacophorinae; Rhacophorus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 657)
 AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the
 Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2
 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..657
 /organism="Rhacophorus moltrechti"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /db_xref="taxon:[28437](#)"
 /PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase
 subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name:
 rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq:
 tagacttctgggtggccraaraayca"

```

gene      <1..>657
          /gene="COI"

CDS       <1..>657
          /gene="COI"
          /codon_start=2
          /transl_table=2
          /product="cytochrome oxidase subunit I"
          /protein_id="ADX62146.1"
          /db_xref="GI:323403841"
          /translation="TLYLIFGAWAGMIGTSLSLIRAEFAQPGTLLGDDQIYNVIVTA
HAFVMIFFMVMPILIGGFGNWLVPMLIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLASSMV
EAGVGTGWTVPPLAGNIAHAGPSVDLAIFSLHLAGVSSILGAINFITTFNMKPVSM
TQYQTPLFIWSVLVTAVLLLLSLPVLAAGITMLLTDRNLNTFFDPAGAETLYYINIIY
"

```

ORIGIN

```

1  taccctatac ttaatTTTTg gtgcctgagc cggaataatc ggaacatctc tcagcttact
61  tattcgagcc gaacttgctc aaccggcgac cttctcggc gacgacaaa tttataatgt
121 aattgtcacc gcccatgctt ttgtaataat ttttttatg gtaatgcccc ttctcattgg
181 agggtttggc aactgattgg tgccattaat aattggagca ccagatatag ctttcccacg
241 aataaataat ataagctttt gattactccc cccttcattt tttctcttt tagcatcttc
301 aatagtagaa gcgggggtag ggaccggatg aacagtctac ccacccttag ctggcaatat
361 tgctcacgct ggaccatctg ttgatctagc tttttttct ttacatcttg ctgggtgtgc
421 ttctattcta ggagctatta acttcatcac aacaatTTTT aatataaaac cagtatctat
481 aacacaatat caaacccctt ttttatctg gtctgttctc gtaacagctg ttttattact
541 tctttccctt ccagtattag ctgcaggaat tactatattg ctaaccgacg gaaacctaaa
601 tactaccttc ttgatccag cagggcgga gacctgtac tatatcaaca tctattt

```

青蛇:

Cyclophiops major cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650555.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650555 658 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011

DEFINITION Cyclophiops major cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION HQ650555

VERSION HQ650555.1 GI:323403838

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Cyclophiops major

ORGANISM [Cyclophiops major](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Lepidosauria; Squamata; Scleroglossa; Serpentes; Colubroidea; Colubridae; Colubrinae; Cyclophiops.

REFERENCE 1 (bases 1 to 658)

AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..658

/organism="Cyclophiops major"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[192173](#)"

/PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name: rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq: tagacttctgggtggccraaraayca"

[gene](#) <1..>658

CDS

```

/gene="COI"
<1..>658
/gene="COI"
/codon_start=2
/transl_table=2
/product="cytochrome oxidase subunit I"
/protein_id="ADX62145.1"
/db_xref="GI:323403839"
/translation="TLYLLFGAWSGLIGACLSILRMELTQPGSLLGSDQIFNVLVTA
HAFIMIFFMVMPIMIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPALLLLSSSYV
EAGAGTGWTVYPPLSGNLVHSGPSVDLAIFSLHLGASSILGAINFITTCINMKPKAM
PMFNIPLFVWSVLITAIMLLLALPVLAAAITMLLTDRNLNTSFFDPCGGGDPVLFQHL
F"

```

ORIGIN

```

1 aaccctatac ctactattcg gcgcatgac tggectaatt ggggcctgcc taagcattct
61 tatacgaata gaactaacc aaccagggtc gctactaggc agcgaccaa tctttaatgt
121 tctagtaaca gcccatgctt tcatcataat tttctttata gtaataccca ttataatcgg
181 gggctttgga aactgactaa tccccttaat aatcggagca cggacatag ctttcccccg
241 cataaataat atgagttttt gactacttcc accagcacta ctctccttc tatcttcate
301 ttatgtagaa gccggtgccg gtacaggatg aacagtatac cccccctat caggaaatct
361 agtacactca ggcccatcag tagacctagc aatcttctcc ctacacctag caggcgcttc
421 ctccatcctg ggagcaatta acttcattac aacatgtatc aacataaaac ctaaagctat
481 accaatattc aatatccac tttcgtttg atcagtactt atcactgcca ttatactact
541 actggccttg ccagtactag cagcggcaat caccatacta ctaacagatc gaaacctcaa
601 cacttctttc ttgaccctt gcggaggagg ggacctgta ctgttccaac acctgttc

```

呂氏攀蜥:

Japalura luei cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: HQ650554.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS HQ650554 657 bp DNA linear VRT 19-FEB-2011

DEFINITION Japalura luei cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.

ACCESSION HQ650554

VERSION HQ650554.1 GI:323403836

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Japalura luei

ORGANISM [Japalura luei](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Lepidosauria; Squamata; Iguania; Acrodonta; Agamidae; Draconinae; Japalura.

REFERENCE 1 (bases 1 to 657)

AUTHORS Li,K.-W., Yu,T.-L., Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (24-NOV-2010) The Department of Life Science and the Institute of Biotechnology, National Dong Hwa University, 1, Sec.2 Do Hsueh Rd., Shou-Feng, Hualien 974, Taiwan

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..657

/organism="Japalura luei"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[942188](#)"

/PCR_primers="fwd_name: fwd_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, fwd_seq: ttctcaaccaaccacaargayatygg, rev_name: rev_primer_Cytochrome Oxidase subunit 1, rev_seq:

tagacttctgggtggccraaraayca"

[gene](#) <1..>657

CDS

```

/gene="COI"
<1..>657
/gene="COI"
/codon_start=2
/transl_table=2
/product="cytochrome oxidase subunit I"
/protein_id="ADX62144.1"
/db_xref="GI:323403837"
/translation="TMYFLFGTAAGLTGSLVSLVVRTQLIQPGQTIGGDSLYNVFITF
HALVMIFFMVMPIMIGGFGNWLIPMLGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLLSSGF
EAGVGTGWTIYPPLSNNTAHCGPSMDLAIFSLHLAGASSIMAAINFITTCINMSPNLT
SPYNWPLFVWSVFFTAILLLSLPVLAIAITMLLTDRNLNTSFLSPQGAETPSYFNTC
S"

```

ORIGIN

```

1 caccatgtac ttcctattcg ggactgcagc tggcctcact gggtcactgg ttagccttct
61 tgtccgtaca caactaatc agcctggaca aaccatcgga ggggactccc tgtacaatgt
121 ctttatcaca ttcatgccc tcgttataat tttctttata gtcataccaa tcatgatcgg
181 cggattcgga aactggctga ttccacttat actcggagcc ccagacatag cattcccgcg
241 aataaacaac ataagcttct gacttctacc gccatcattt cttcttttac ttttatectc
301 tgggttcgaa gccggggctg gcaccggatg aactatttat ccgccactat caaacaacac
361 tgcccactgc gggccgtcca tagatctggc catcttttct ctacacttag cagggtgcctc
421 ctcaattatg gccgcatca actttattac tacttgattt aacataagcc caaatctcac
481 ctaccatac aactggcctt tatttgtctg atccgtgttc ttcaccgcca tccttctgct
541 actgtcactt cctgtgttag ctgcagcaat caccatgctt cttacagacc gaaatctcaa

```

附錄二、 上傳 NCBI 之 12S ribosomal RNA gene 基因序列

楚南氏山椒魚

Hynobius sonani 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117717.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117717 889 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Hynobius sonani 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117717

VERSION JN117717.1 GI:336359696

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Hynobius sonani (Taichu salamander)

ORGANISM [Hynobius sonani](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Caudata; Cryptobranchioidea; Hynobiidae;
Hynobius.

REFERENCE 1 (bases 1 to 889)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..889
/organism="Hynobius sonani"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[324341](#)"
/tissue_type="muscle"

```
/country="Taiwan"  
/collection_date="20-May-2010"  
/collected_by="Kuo-Wei Li"  
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrcttaccdtgttacga"  
<1..>889  
/product="12S ribosomal RNA"
```

[rRNA](#)

ORIGIN

```
1 ggcttattat taattaaaat tatatttata catgcaagtc tcagcacccc cgtgaaatgc  
61 ccttctttac ccattagtag ataaggagca gataacagc ctaataacgc ccataacatc  
121 ttgccaagcc acacctccac aggaattcag cagtaataaa cattgaaaaa taagcgtcaa  
181 taagcttgaa tcagtaaaaa ttttaagagt tggtaaattt cgtgccagcc accgcggtta  
241 tacgagaaac tcaaattaat aaaaacggcc caaagcgtga ttaaattata ttagactaa  
301 tagaagtaaa aattaactcg actgtcgtac gtatttgta aatgaaaaat caaaaacgaa  
361 agatattcta acaacaaat tacttgaatc cacgaaagct aagaaacaaa ctaggattag  
421 ataccctact atgcttagcc ttaaactttg gaacctaccc gcctgagtac tacgagccat  
481 agcttaaaac tcaaaggact tggcgggtgt ttataccccc ctagaggagc ctgttctata  
541 attgataccc cccgctaaac ctcaccactc attgccaata ccgcttatat accgccgtcg  
601 tcagctcacc atttaaatga aaaatagtag gcataatgat aaacataaaa acgtcaggtc  
661 aaggtgtagc gaattgagtg gaaagaaatg ggctacattt tctaaattag aaaatacgaa  
721 aaattttatg aaaaacaatt taaagggtga tttagcagta aaaagaaaac agagtgttct  
781 ttttaaatag gccctagagc gcgcacacac cgcccgtcac cctcctcaga aaaataactt  
841 atatataatt ttttttaaaa ataaagaaga ggaaagtcgt aacacgtag
```

盤古蟾蜍:

Bufo bankorensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117718.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117718 911 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Bufo bankorensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117718

VERSION JN117718.1 GI:336359697

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Bufo bankorensis

ORGANISM [Bufo bankorensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Bufonidae;
Bufo; Bufo.

REFERENCE 1 (bases 1 to 911)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..911
/organism="Bufo bankorensis"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[86345](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgttacga"  
  
rRNA  
<1..>911  
/product="12S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 aaattttcat ttctaaacc caggaccgga acaccagtca ataatgaatg atatgtgtac  
61 gttcataggc ggggggacac ttttgcggga agttgggggt aatccctgtt cctcggccat  
121 agtccgcgct tttaggcggg tttgttggat cgatacgggtg tgggtgttcc ctttaagtcgt  
181 cactaattgt aactcgtaat cgcgttcgaa ctgagtcaat ttcatactc tcggccgatt  
241 agaccacggt cggcggcgcc aatgtgggtc accgagttta actgggggag gccgcatttc  
301 gcactaattt caaaagtgga tgatctcaat ttgattttga ttcgacactg tgcggacaat  
361 agttcttttg gtttttgctt tcaatgagat tgtgttggtt gaacttgagt gctgtcgacc  
421 ctttgtttga ccctaacta tggggtgata cgggtcggca ttgaaaatg aatgtaactt  
481 agcggtcctt tgatgctcga ttcgaatttt gggtttcctg aactgccatg gggatatagg  
541 ggatctcctc ggacaggata ttagctatta ggtgcaattt ggagtggtaa aaatcaatga  
601 gtcggacata tggaggcagc agtcgaatgg tgcactcgcg gttaatcact cgaattacat  
661 ataagtgggt gtgcagtcca gttccacgtc gtttacttta cttttctcta cccgatgtga  
721 aagatttaat cttctttgct ttttgataga tactttggat caatcttccg cctaaatcgt  
781 catttttcct tagtcgtgca ggtaaaattg ggccgtgacc ccacacatgt gtggcgggca  
841 gtgggagaag tttcgatagt cggatcaggg attgtttgat ttcgtgctgt cttctccgtt  
901 cagcattgtg c
```

中國樹蟾：

Hyla chinensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117721.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117721 875 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Hyla chinensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117721

VERSION JN117721.1 GI:336359700

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Hyla chinensis (Chinese tree toad)

ORGANISM [Hyla chinensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Hylidae;
Hylinae; Hylini; Hyla.

REFERENCE 1 (bases 1 to 875)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..875
/organism="Hyla chinensis"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[167933](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-l, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgttacga"  
rRNA  
<1..>875  
/product="12S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1  ggggaaatta gttgacaata aattgcctat gtacgttcaa aggcgtgggg acactcttgc  
61  gggaattgaa agactaactt tgttcctcga ccatagtccg tgttggtaat cgggttttgt  
121 ggatcggtag ggtgtaggtg ttccttgaag tcgtcattaa ttgtaactca tattcgcggt  
181 cgaactgagt caatttcatt ttctcggcc gtttatacca cggtcggcgg cgccaatgtg  
241 gtgctccgag ttaactaat agaagccgca ttctgcacta atttcaatga attattaata  
301 tcaacataaa attgattcga cactgtgcga acaaggactc ttcgggtatt tgctttcaat  
361 gatataaaaa tagttgaact taggtgctgt cgaccccggt tttgacccta atctatgggg  
421 tgatacgggt cggcatttgg aaattaatgt gggcatagcg gtcccttgat gctcgattcg  
481 aattttgggt ttcctgaact gccatggggg gtaggtggat ctctcggac aggatattag  
541 ctattagggg cgaattggag tggtaaaaat cggtatagtc ggacatatgg aggcagcagt  
601 cgaatggggc actcgcgata gactactcga gttacagaaa ttagttatg cagtccagtt  
661 ccacgtcatt tactttacct ttctctacc gatgtgaaag attggatctt gtatgcttgc  
721 tgatagatac ttgggatca gtcttcgcc taaatcatca tttttctctg atatctcgag  
781 aaaaattgaa ccgtgacccc acacatgtgt ggcgggcagt gggagaagtt tcgggtttat  
841 atcataattg agtatgggtc ttgggtcttc tccgt
```

梭德氏赤蛙：

Rana sauteri 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117722.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117722 834 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Rana sauteri 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117722

VERSION JN117722.1 GI:336359701

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Rana sauteri (Taiwan groove-toed frog)

ORGANISM [Rana sauteri](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Ranidae;
Raninae; Rana; Rana.

REFERENCE 1 (bases 1 to 834)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..834
/organism="Rana sauteri"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[325554](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgttacga"  
<1..>834  
/product="12S ribosomal RNA"
```

[rRNA](#)

ORIGIN

```
1  cgtcagagtc  gtgtgggcac  tcttgcggga  aagttggaag  aggtccgttt  cctcgaccat  
61  agtccgtgtc  tgggaacggg  tgttgtggat  cagagtgggtg  tgggtattcc  catgagtcgt  
121  cactaattga  aacgcatatt  cgctgtcgaa  ctgagtcagt  cccttttaat  cmmggccgat  
181  tgtgcmacgg  tcggcggcgc  cgaatgtggc  acccgagttc  aactatgagt  ggccgcaatt  
241  cgcaccaatt  tcagagtatt  ttaatcccaa  tttaatgtg  aatcaccaaa  atacgaacta  
301  caattcttta  tgtgtttgct  ttcaatggga  tttaaatgga  acttgggtgc  tgtcgatcct  
361  tctgtttgac  cctaattctat  ggggtgatac  ggattggcat  ttgttaatta  aatgtagaag  
421  tggcgggtccc  ttaatgctcg  ttacgaattt  tgggtttcct  aaactgccac  aggggtggggc  
481  gatctcctcg  gacaagatat  tagctactag  gggcgaagtg  gattggtagg  gagcgggtag  
541  tcagacatat  ggaggcagct  ttcgaatggt  acacttgcgg  gcgtcattcg  aattactaag  
601  tggtagtcgt  gcagtccagt  tccacgtcga  attccttacc  tttcattacc  cgatgttaaa  
661  gattgaatct  tgtttgcttt  ctgatacact  ttgggatcag  tacttccacc  taaatcatca  
721  tttttctttc  atctcacaag  aaaaattggg  ccgagaccct  gcgcatgtgt  ggcgggcagt  
781  gggagaagct  accatggagt  agacagggat  gggwtgcgat  gtaaaatctt  ctcc
```

莫氏樹蛙：

Rhacophorus moltrechti 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117720.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117720 880 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Rhacophorus moltrechti 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117720

VERSION JN117720.1 GI:336359699

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Rhacophorus moltrechti (Nantou flying frog)

ORGANISM [Rhacophorus moltrechti](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae;
Rhacophorinae; Rhacophorus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 880)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..880

/organism="Rhacophorus moltrechti"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[28437](#)"

/tissue_type="muscle"

/country="Taiwan"

/collection_date="20-May-2010"

/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgttacga"  
rRNA  
<1..>880  
/product="12S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 cggaataata gttaatatag atctgaatgt gtacgttcag agtcgttagg gcacttttgc  
61 gggaaaggga taaccaatt cctcgacat aatccgtgtc ttaagaacgg gtgttgtgga  
121 tcaatgtggt gtggatgtt ccgtaagtgc tcaatatttt taacaataa tcgcattcga  
181 acttgggtcaa tatcttttct ctcggccggt tgggccacgg tcggcggcgc cgatgtggca  
241 acccgagttt aactataatc agccgcaatt cgcactaatt tcttttattt taatctcaat  
301 ttagatctga atcagcactt ttcgaacaga aaatcttttag gtatttgctt tcaatgagat  
361 tataaggaga acttgtgtgc tgcgaatccc ttgtttgacc ctaatctatg gggtaatacg  
421 gattggcatt ttaaattggg tgtggatatt tgcgggccca tgatgctcgg atcgaatttt  
481 gggtttcctg aactgccata ggggtgggttg atctcctcgg acaagatatt agctactagg  
541 tgctatatgg ttggtaaag agcggtaagt cggacatatg gaggcagcgt tcgaatggca  
601 tacttgctgt tagtcatccg gtttcctgaa attgcagtgt tgcagtcag ttccacgtcg  
661 attactttac cttcgttacc cgatgttaaa gatttaattc tgtgtgcttt atgatgtact  
721 ttgtatcagt acttcctcct aaatcgatc tacccttta tctctcgggg tgatttgtac  
781 cgggacccta cacatgtttg gcgggcagtg ggagaagtta tcaagattat atcatatatt  
841 gtgtaattat gcggtatctt ctccgttcag cattgtgctc
```

呂氏攀蜥:

Japalura luei 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117719.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117719 769 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Japalura luei 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117719

VERSION JN117719.1 GI:336359698

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Japalura luei

ORGANISM [Japalura luei](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Lepidosauria; Squamata; Iguania; Acrodonta; Agamidae; Draconinae;
Japalura.

REFERENCE 1 (bases 1 to 769)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..769
/organism="Japalura luei"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[942188](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgtttacga"  
<l..>769  
/product="12S ribosomal RNA"
```

[rRNA](#)

ORIGIN

```
1  gagaataatt aggttttttg ctgtaggttc ggagkcgtag ggcactttgt gtggccatag  
61  tcccgaaagg gattctgtkg ttcgaagckg tgtagggtgtg cctcaacatc gtcattgggt  
121 gtaacccggg actcgtgtgc gagctgggtc gatgccttct atcccgcccg tttaaataca  
181 cggtcggcgg cgccaatgtg acttctgggt tttattgtgg tggccgtttt taccgatttt  
241 taatgggttg tgattcttac ttgattttaa ttgtgcactt tgttattggt tgtctgtcgg  
301 tttttagaat gtagtgcca taaaactggg tattttcaac cccgtgtttg atcctaactc  
361 atgggatgat acgggttgac gtttgggttg gtggttcggt catgttcgtg tcgaaatttg  
421 aatttcctgg accgcatga gatgtagtcg gatctccccg gacagactat tagctgttgg  
481 gcgcttttgg gctgggtaag atcgggtgat tcagatatat ggtggcaggg gtcgtgtaaa  
541 atgtttttta cgtcgatttc tcggggcgtg attgtgcagt ccagttccac atcgtgtact  
601 taacctgttc taaccggtgt catgggatga ttgttggatg gatgttactt tgtggatcct  
661 atggttgcct aaatcgatc tctctcagtt aacttgtgga gggacttcgg ttgatagtgt  
721 cgggaactca tgcgtgtgtg gcgggcagta grggagattg cttatacac
```

中國石龍子:

Plestiodon chinensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117724.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117724 916 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Plestiodon chinensis 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117724

VERSION JN117724.1 GI:336359703

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Plestiodon chinensis

ORGANISM [Plestiodon chinensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Lepidosauria; Squamata; Scleroglossa; Scincomorpha; Scincoidea;
Scincidae; Plestiodon.

REFERENCE 1 (bases 1 to 916)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..916
/organism="Plestiodon chinensis"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[463516](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttaccdtgttacga"  
  
rRNA  
<1..>916  
/product="12S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 tagagttaaa gtttttgggt cctaggcttg ccgttgtttt ttacaaaaat tatacatgca  
61 agcctccaca taccagttag atgcccata cacccttaaa cagagaaccg gagcagatat  
121 caggattcaa ccccttagcc aaagacgtct tgcttacgcc acaccacac gggttttcag  
181 cagtaattaa cattaaaaat gagcgaaagc tcgatctagt tatggtaaat acggtcggta  
241 aatttcgtgc cagccaccgc ggttatacga aagattaaaa acaacgaccc tcggcgtaaa  
301 gcgtgactaa gagtaataca acttaggggg gtacaagtgc taagttgtaa aatactattg  
361 cacctagaac aacaactctg cctctaaact ctccaacctc acgaaagcta agaaacaaac  
421 tgggattaga taccacctta tgcttagccc taaacagaga tcttattaat acaatatatt  
481 ccgccagaga actacaagcg aaaagctaga aactccaagg acttggcggg gcttcaaata  
541 aacctagagg agcctgtcct ataatacgata cccccgttc aaccttacca cctttagcca  
601 gtcagcctat ataccgccgt cgtcagccta cttatgaaa gaaataaagt aagcaaaaaca  
661 gttacaact agtaagtcag gtcaaggtgt agcacatgag gtggcagaga tgggctacat  
721 tttcctaacg aacatacgta caacatgttg aaaaacctgt ttaaaggtgg atttagcagt  
781 aaaataaaca agaaaaatta tcttaaaccc gctctgaagc gcgcacacac cgcccgtcac  
841 cctcatcaca cgaacctatt ataaaacata taatgaacct tatttagatg aggcaagtcg  
901 taacacgtag cggttt
```

麗紋石龍子:

Plestiodon elegans 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN117723.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN117723 531 bp DNA linear VRT 22-JUN-2011

DEFINITION Plestiodon elegans 12S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN117723

VERSION JN117723.1 GI:336359702

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Plestiodon elegans

ORGANISM [Plestiodon elegans](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Lepidosauria; Squamata; Scleroglossa; Scincomorpha; Scincoidea;
Scincidae; Plestiodon.

REFERENCE 1 (bases 1 to 531)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.
and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (10-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..531
/organism="Plestiodon elegans"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[463522](#)"
/tissue_type="muscle"
/country="Taiwan"
/collection_date="20-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"

```
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 12sj-1, fwd_seq:  
aaagrtttggtcctrrscctt, rev_name: 12sk-h, rev_seq:  
tccrgtayrccttacctgtttacga"  
  
rRNA  
<l..>531  
/product="12S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1  gtgagaatgc cttttccct tatacccaaa cggagctggt atcaggaaca cacgcctgtc  
61  caccacaact acttgctaca cccaccccc gcgggtccac agcgatgatt tttttaagat  
121 ataaacaaaa tcttgactta gctatgatta gggcgggcgg ttaatttcgt gcccgccacc  
181 gctgttatac gaaataacca aaacaaccgc ccccgcgta aagggtgact agagacagtt  
241 agactttttg gaaaaaattg ccccgccgta aaacggccct gcaaattgga aacccaaaat  
301 aaaatgcat taaactagaa accactaaac ctcgaaaag ctaataagct tactgggatt  
361 agattcccca atatgctcaa cctaaatcta atgttgta aacggaaatt tccccgccag  
421 agaactacca atgaaaaact taaaactcca aggacttggg agtgctccgt tcaacctaga  
481 ggagcctgtc ttcaatgat aatccctgtt ctatcctacc acctcttgcc c
```

附錄三、 上傳 NCBI 之 16S ribosomal RNA gene 基因序列

楚南氏山椒魚：

Hynobius sonani 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098485.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098485 272 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Hynobius sonani 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098485

VERSION JN098485.1 GI:340548673

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Hynobius sonani (Taichu salamander)

ORGANISM [Hynobius sonani](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Caudata; Cryptobranchioidea; Hynobiidae;
Hynobius.

REFERENCE 1 (bases 1 to 272)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..272
/organism="Hynobius sonani"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[324341](#)"
/tissue_type="muscle"

```
/collection_date="05-May-2010"  
/collected_by="Kuo-Wei Li"  
/identified_by="Kuo-Wei Li"  
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:  
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:  
accctgatccaacatcgag"  
rRNA <1..>272  
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1  tatggagctt taaacatata atcaactgca taataaaaat ccgaaagatt aaatattaaa  
61  taaaacagta tgatcaaaaat tttaggttgg ggcgaccacg gagaaaagta taacctccga  
121  gatgaagaga atatcttaat ttaagaacta cagttctaag aaataaaata ttaacataa  
181  ttgatccaat atattgatca acgaaccaag ttaccctagg gataacagcg caatcctctc  
241  caagagtccc tatcgacgag tgggttttacg ac
```

盤古蟾蜍:

Bufo bankorensis 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098486.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098486 234 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Bufo bankorensis 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098486

VERSION JN098486.1 GI:340548674

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Bufo bankorensis

ORGANISM [Bufo bankorensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Bufonidae;
Bufo; Bufo.

REFERENCE 1 (bases 1 to 234)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..234
/organism="Bufo bankorensis"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[86345](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>234
/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 aatttccgaa tttaaactcc ctggacagtg tgactgcgag tttttggttg gggtgaccac
61 ggagcataat ataacctcca tgctgaaaga atctttctaa gctaagaact acaaatccaa
121 gcatcaataa attgacatcc attgacccaa tatacttgaa caacgaacca agttacccta
181 gggataacag cgcaatccac ttcaaaagct cctatcgaca agtgggttta cgac
```

中國樹蟾：

Hyla chinensis 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098480.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098480 225 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Hyla chinensis 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098480

VERSION JN098480.1 GI:340548668

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Hyla chinensis (Chinese tree toad)

ORGANISM [Hyla chinensis](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Hyloidea; Hylidae;
Hylinae; Hylini; Hyla.

REFERENCE 1 (bases 1 to 225)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..225
/organism="Hyla chinensis"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[167933](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)

```
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>225
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 cacatttact tcggctttct gattattagt tttaggttgg ggtgaccgcg gagcaaaaaa
61 taacctccac attgaatggg gaactcccct gagacacgag ctacaactct acacaccaat
121 aaattgacat caattgaccc aatacattga tcaacgaacc aagttaccct agggataaca
181 gcgcaatccg cttcaagagc tcctatcgac aggcggggttt acgac
```

梭德氏赤蛙：

Rana sauteri 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098483.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098483 221 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Rana sauteri 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098483

VERSION JN098483.1 GI:340548671

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Rana sauteri (Taiwan groove-toed frog)

ORGANISM [Rana sauteri](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Ranidae;
Raninae; Rana; Rana.

REFERENCE 1 (bases 1 to 221)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..221
/organism="Rana sauteri"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[325554](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)

```
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>221
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 attaaacaca agagaactgc gtattagttt taggttgggg ggaccacgga gtataactta
61 acctccacaa caaatgggct aacaccctaa tccacgagac acaactctaa gaattactaa
121 aataatgctt atgacccgat attcgatcaa tgaaccaagt taccctgggg ataacagcgc
181 aatctacttc aagagcccat atcgacaagt aggtttacga c
```

日本樹蛙：

Buergeria japonica 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098481.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098481 264 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Buergeria japonica 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098481

VERSION JN098481.1 GI:340548669

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Buergeria japonica (Japanese Buerger's frog)

ORGANISM [Buergeria japonica](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae;
Buergeriinae; Buergeria.

REFERENCE 1 (bases 1 to 264)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..264
/organism="Buergeria japonica"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[58513](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)

```
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>264
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 catggagctt caaaccttca gcaactttta acttacaaat cctaatatct taaaagctat
61 gcctaccggt tttgggttgg ggtgaccgcg gagaaaaaat taacctccat gacgaacaga
121 actaaatctt tatctaagag ctactactct aagaatcagt aaactgacgt aaaatgaccc
181 gattatcgat caacgaacca agttaccctg gggataacag cgcaatccac ttgagagct
241 catatcgaca agtgggttta cgac
```

褐樹蛙：

Buergeria robusta 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098487.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098487 264 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Buergeria robusta 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098487

VERSION JN098487.1 GI:340548675

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Buergeria robusta (robust Buerger's frog)

ORGANISM [Buergeria robusta](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae;
Buergeriinae; Buergeria.

REFERENCE 1 (bases 1 to 264)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..264
/organism="Buergeria robusta"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[39612](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)

```
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>264
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 catggagctt caaactcaag gcaactccca gtatacaaac cctcatatit caagagtact
61 gcgtaacagt tttaggttgg ggtgaccgcg gagcataaac aaacctccac gacgtataga
121 actaaacctt tatctaagag ctacttctct aagaatcagt aaactgacgt aaaatgaccc
181 gatatccgat catcgaacca agttaccctg gggataacag cgcaatccac ttcaagagcc
241 catatcgaca agcgggttta cgac
```

莫氏樹蛙：

Rhacophorus moltrechti 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098484.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098484 209 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Rhacophorus moltrechti 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098484

VERSION JN098484.1 GI:340548672

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Rhacophorus moltrechti (Nantou flying frog)

ORGANISM [Rhacophorus moltrechti](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Amphibia; Batrachia; Anura; Neobatrachia; Ranoidea; Rhacophoridae;
Rhacophorinae; Rhacophorus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 209)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..209

/organism="Rhacophorus moltrechti"

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:[28437](#)"

/tissue_type="muscle"

/collection_date="05-May-2010"

/collected_by="Kuo-Wei Li"

/identified_by="Kuo-Wei Li"

[rRNA](#)

```
/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>209
/product="16S ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
1 agccatgcat tctaatttta ggttggggtg accgcggagt aaaaattaac ctccacgacg
61 aaaagaacta aatctttatc caagagttac aactctaaga attagaacac taacgacaat
121 gacccgataa tcgatcaacg gaccaagtta ccctggggat aacagcgcaa tctacttcga
181 gagtcatat cgacaagtag gcttacgac
```

呂氏攀蜥:

Japalura luei 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: JN098482.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS JN098482 265 bp DNA linear VRT 25-JUL-2011

DEFINITION Japalura luei 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JN098482

VERSION JN098482.1 GI:340548670

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Japalura luei

ORGANISM [Japalura luei](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Lepidosauria; Squamata; Iguania; Acrodonta; Agamidae; Draconinae;
Japalura.

REFERENCE 1 (bases 1 to 265)

AUTHORS Li,K.-W., Chen,L.-H., Sheu,P.-Y., Tang,Z.-J., Weng,S.-H., Yu,T.-L.,
Taroko,N.P. and Weng,C.-F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (08-JUN-2011) Department of Life Science and the
Institute of Biotechnology, Taiwan National Dong Hwa University,
No. 1, Sec. 2, Da Hsueh Rd., Shoufeng, Hualien, Taiwan 97401,
R.O.C.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..265
/organism="Japalura luei"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:[942188](#)"
/tissue_type="muscle"
/collection_date="05-May-2010"
/collected_by="Kuo-Wei Li"
/identified_by="Kuo-Wei Li"

```

/PCR_primers="fwd_name: 16s-f, fwd_seq:
tataagacgagaagaccc, rev_name: 16s-r, rev_seq:
accctgatccaacatcgag"
<1..>265
/product="16S ribosomal RNA"

```

ORIGIN

```

1 catggagctt taaacccaac gtacaccct gttataagac gagaagaccc tgtgaaactt
61 taaatgtcca tcaagcaagc catgatcaag acatttttgg ttggggcaac caaagagaaa
121 cacaaatctc tacaaccgt cagcgggcaa acaggccaaa tgacaccaac ttaagacca
181 gcatcgctga ctaaggaacc aagctactcc agggataaca gcgccacatt cttaaagagt
241 ccataatcgc aagaatactt acgac

```

附錄四、調查工作照片



布洛灣樣點



布洛灣採集



天祥採集



天祥樣區-1



天祥樣區-2



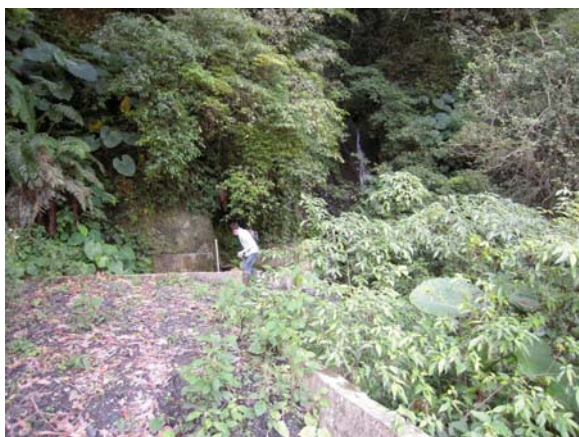
天祥採集



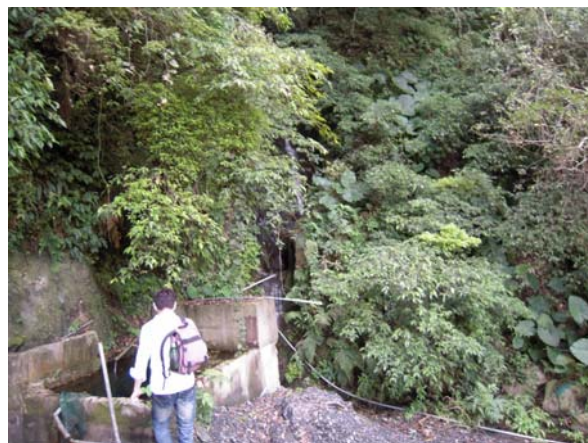
天祥樣區-2



西寶採集



西寶採集



西寶採集



西寶-莫氏樹蛙



洛韶採集



洛韶採集



洛韶樣點



洛韶-盤古蟾蜍蝌蚪



台八線 148k 採集



台八線 148k 採集



台八線 148k 採集



台八線 148k 採集



台八線 148k 調查



台八線 148k 調查



新白楊採集



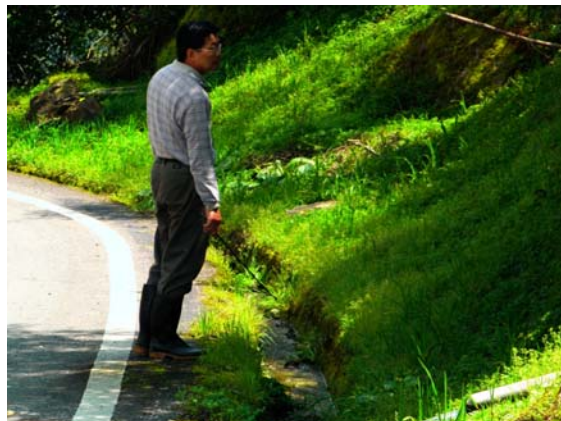
新白楊採集



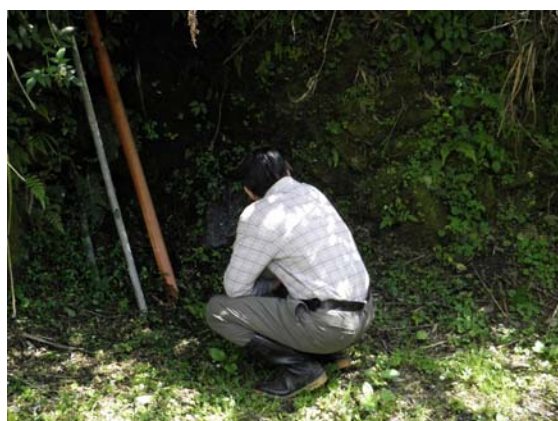
新白楊-盤古蟾蜍



新白楊採集



新白楊採集



新白楊採集



慈恩採集



慈恩採集



慈恩採集



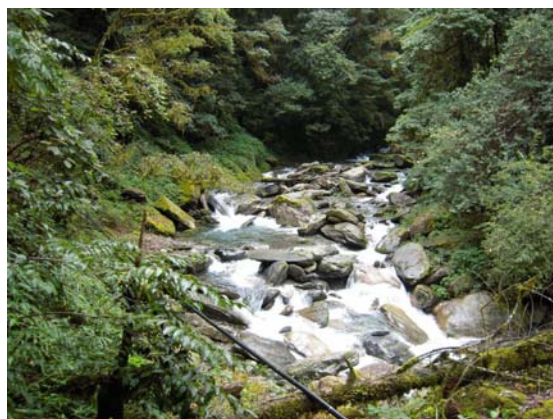
慈恩採集



台八線 133k 樣點



台八線 133k 樣點



台八線 131k 樣點



台八線 133k 樣點



台八線 133k 樣點



台八線 133k 樣點



台八線 131k 樣點



台八線 131k 採集



台八線 131k 採集



台八線 119k 樣點入口



台八線 119k 採集



台八線 119k 採集



台八線 115k 採集



台八線 115k 採集



台八線 115k 採集



台八線 115k 梭德氏赤蛙



大禹嶺採集



關原加油站樣點



大禹嶺採集



大禹嶺樣點



大禹嶺採集

附錄五、專有名詞

基因條碼：動物分類利用CO-I基因，植物分類利用葉綠體基因為國際公認的生物基因條碼。

聚合酵素連鎖反應(Polymerase chain reaction):是一種體外快速擴增特定基因或DNA序列的方法。它可以非常省時地從少量的DNA複製出特定的DNA片段。PCR主要分成三個主要步驟：變性、黏合、延展。首先利用高溫(95℃)先將DNA變性(denature)成單股DNA，再以所要複製基因片段其兩端所設計出的引子對(primers)與單股DNA進行黏合(annealing)，經由DNA聚合合成另一股互補DNA。經由多次循環，特定DNA可以 2^n 的幾何倍數複製，而達到特定基因放大的效果。

基因多樣性：同一種的生物生活在不同的區域，常因為地理上或是生態上的區隔造成許多不同的族群，族群之間的基因遺傳因為交流的機會降低而具有一定程度的差異，即使在同一族群內個體之間的變異仍然存在。自然狀態下基因的多樣性來自基因的突變及生殖過程中基因的交換重組，好的基因在大自然的選擇之下被穩定的保存下來。一個物種或是個體所帶有的基因好比一個基因倉庫，每一個倉庫儲藏的物品均不會完全相同，任何一個倉庫消失意味者某些東西的消失。

物種多樣性：美麗的世界繽紛的生命，物種多樣性所呈現的面貌豐富了我們生存的環境，隨者研究者觀察的角度不同，物種的多樣性常以不同的方法去表示，生態學家多以種類繁富度及種類豐度來表示。所謂的種類繁富度，簡單的說就是定面積內生物種類數。除了生態學家急切的想了解物種的分布及其豐度之外，分類學家在觀察過無數的物種及個體之後，對物種的多樣性更能深切的了解，分類學家眼中的多樣性又多從系統發生及分類群之間的類緣關係著，從演化的角度去探討多樣性形成的原因及其未來的去向。

生態系多樣性：多樣化的生態環境呈現不同的風貌，並提供各種不同動植物之個別需要。生態系中生產者、消費者、分解者，有能量的流動、養分的循環，生態系是個概念，沒有一定的疆界和規模，撒哈拉沙漠是一個生態系，一條溪流也可以是一個生態系。棲息環境變了，有些生物也許可做小距離的遷移，但絕沒有辦法從一個生態系搬家到另一個生態系，因此我們可以做到最好的事，就是保障整個生態系，並維持其多樣性，破壞了的生態系，其中的物種、基因也會跟著消失。

SNP：單核苷酸多態性 (Single-nucleotide polymorphism, SNP)，DNA序列因為單一核苷酸(A、T、C或G)發生變異，而使得基因體序列亦隨之改變。例如某段DNA序列由ACGGCTAA 改變為 ATGGCTAA，若是這裡的C在整個族群的發生率大於1%時，也就是100人中至少有一例，便是所謂的SNP。

生殖隔離：於生殖方面的原因，親緣關係相近的族群之間不能互相交配，或不易交配成功的隔離機制，造成新的品種的產生，可分為兩個階段：交配前隔離機制(premating isolation mechanism)及交配後隔離機制(postmating isolation mechanism)。

異域種化：兩個族群因地理上完全隔離(可能為板塊的移動，或陸地隆起、冰河事件等)且族群和族群之間無法交流，進而形成種化的現象。

AFLP技術：是一項新的分子標記技術，是基於PCR技術擴增基因組DNA限制性片段，基因組DNA先用限制性內切酶切割，然後將雙鏈接頭連接到DNA片段的末端，接頭序列和相鄰的限制性位點序列，作為引物結合位點。

RAPD技術：它是類型 PCR 反應，但被放大脫氧核糖核酸的段是任意的。科學家執行的RAPD創造幾任意，短的底漆(8-12核苷酸)，然後繼續進行PCR使用genomic脫氧核糖核酸一塊大模板，希望片段將放大。通過解決發生的樣式，半獨特的外形可以從RAPD反應被搜集。

RFLP技術：DNA分析技術。當以核酸限制酵素(restriction endonuclease)切割二不同生物個體的DNA時，若切割碎片大小不同，則經電泳後在膠片上會出現不同形式的排列。

粒線體基因組：全長序列16,640 bp，包括12S rRNA、16S rRNA、22個tRNA、13個蛋白質基因及D環區。13個蛋白質基因包括ND1、ND2、COI、COII、ATPase8、ATPase6、COIII、ND3、ND4L、ND4、ND5、ND6及Cytb。

CO-I基因：細胞色素氧化酶基因(cytochrome c oxidase subunit 1)。

附錄六、期中會議記錄

太魯閣國家公園管理處

「太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期」期中簡報簽到簿

時 間：100 年 7 月 14 日(星期四)下午 2 點 00 分	
地 點：本處會議室	
主持人：曾處長偉宏 紀錄：高欣	
報告人：翁慶豐教授 翁慶豐	
出席	簽 到 處
張副處長登文	張登文
林秘書忠杉	林忠杉
企劃經理課	費士派
環境維護課	何文成
解說教育課	劉容秀
保育研究課	陳俊山 鄭江津 蔡佩芳
遊憩服務課	黃建達
合歡山管理站	
天祥管理站	
布洛灣管理站	陳孟江
蘇花管理站	孫啟理
	李國清 徐培源 汪思承 潘清 林鳳春

『太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期』

期中簡報會議紀錄

一、時間：100年7月14日下午2時30分

二、地點：本處大會議室

三、主持人：曾處長偉宏

記錄：高 欣

四、與會人員：張副處長登文、林秘書忠杉、聶世詔、孫麗珠、劉容秀、何文晟、陳俊山、黃烘達、陳孟江、蔡佩芳、江淑敏、黃東暉。

五、主辦課室報告：依合約第二條規定應於100年7月25日前提出期中報告書，本案中華民國國家公園學會於100年6月7日送達，符合合約規定，並出席本處排定今日之期中審查會議。

六、討論（略）：

七、結論：

（一）有關100年度各委託（研究）辦理計畫簡報電子檔，會後保存於本處公用區U:\業務資料區\（04-簡報區）\保育課\100期中簡報 資料夾中，提供本處各業務課室經營管理參考運用。

（二）有關本研究遺傳物質萃取與分析方法為分子生物學與遺傳學之先進知識與技術，希望受託團隊能在撰寫報告時，在方法論上能用較簡易前顯易懂之描述，以利管理處未來解說教育與

課長 陳俊山

宣導之運用。相關資料後續上網公告後，亦可提供有興趣之

國人與高中學子能較容易理解與學習運用。

(三) 本案期中簡報原則通過，請依合約規定辦理第二期款款項請領程序。

八、報告。

附錄七、期末會議記錄

「太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期」案

期末審查會議出席人員簽名冊

主辦單位：保育研究課

時間	100 年 12 月 9 日下午 1 時 30 分	地點	本處會議室
主持人	曾處長偉宏	紀錄	高欣
出席人員			
機關 (單位)	簽名 (請以正楷書寫，以利辨識)		
1	國立東華大學	翁慶豐	
2			
3	太魯閣國家公園 副處長		
4	秘書		
5	企劃經理課	張善玲	
6	環境維護課		
7	遊憩服務課		
8	解說教育課	蘇孝真	
9	蘇花管理站		
10	布洛灣管理站		
11	天祥管理站		
12	合歡山管理站		
13	保育研究課	陳俊山 高欣 江淑敏	
14		李國璋、陳怡仁	
15		夏秉揚	

『太魯閣國家公園珍稀物種遺傳物質分析第三期』

期末簡報會議紀錄

一、時間：100年12月09日上午13時30分

二、地點：本處大會議室

三、主持人：曾處長偉宏 記錄：高 欣

四、與會人員：（如簽到簿）

五、主辦課室報告：依合約第二條規定應於100年11月25日前提出期中報告書，本案國立東華大學於100年11月24日送達，符合合約規定，並出席本處排定今日之期末審查會議。

六、討論（略）：

七、結論：

（一）有關本案相關結果案例參考文獻資料請補充，以豐富本案之成果佐證資料，另有關遺傳學專有名詞之解釋說明建議列入附件供參考。

（二）本案屬遺傳學及生物技術等生物多樣性相關之研究，請老師針對簡報檔之說明及成果部分簡要潤飾後，提供相關檔案供本處納入保育業務介紹之內容。

（二）成果報告書請依據內政部委託研究計劃作業規定格式檢核表修

正後，經承辦人確認後再行印製。

- (四) 本案期末簡報內容符合本處需求，審核通過，請受託單位依合約規定辦理後續結案相關事宜，並提送登錄內政部研考資訊系統所需報告電子檔。

參考書目

- 向高世、李鵬翔、楊懿如。2009。《臺灣兩棲爬行類圖鑑》。貓頭鷹出版：家庭傳媒城邦分公司發行。
- 呂光洋。1983。太魯閣國家公園動物生態資源調查。內政部營建署太魯閣國家公園管理處七十二年度研究報告。
- 呂光洋、張巍薩、林政彥。1989。太魯閣國家公園大合歡山地區山椒魚調查。自然生態保育協會。
- 杜銘章。2004。蛇類大驚奇。台北：遠流。
- 吳海音。2003。太魯閣國家公園保育研究計畫的檢討與展望。
- 林曜松、陳擎霞、盧堅富、梁輝石。1991。太魯閣國家公園動物相與海拔高度、植被之關係研究。內政部營建署太魯閣國家公園管理處八十年度研究報告。
- 林曜松。2005。太魯閣國家公園中低海拔地區動物資源動態調查研究及資料庫建立。內政部營建署太魯閣國家公園管理處九十四年度研究報告。
- 翁慶豐。2009。太魯閣國家公園珍稀及指標物種研究與復育計畫第一期兩棲爬蟲類基因條碼建立及多樣性分析。內政部營建署太魯閣國家公園管理處。
- 張慶年鴻。2007。台灣兩種赤蛙的親緣地理結構比較，國立中興大學生命科學系博士學位論文
- 楊懿如。2005。太魯閣國家公園兩棲類及水棲昆蟲調查監測計畫。內政部營建署太魯閣國家公園管理處。
- 楊懿如。2006。太魯閣國家公園兩棲類調查監測計畫。內政部營建署太魯閣國家公園管理處。
- Awise, J.C., 1994, *Molecular Markers, Natural History and Evolution*, Chapman and Hall, New York, NY. 511 pp.
- Baker, C.S., A. Perry, G.K. Chambers and P.J. Smith., 1995. Population variation in the mitochondrial cytochrome b gene of the orange roughy *Holbrookeichthys atlanticus* and the hoki *Macruronus novaezelandiae*. *Mar. Biol.*, **122**: 503-509
- Birky C.W. Jr, Maruyama T., Fuerst P., 1983, An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts, and some results. *Genetics*, **103**, 513-527.
- Boulenger, G. A., 1909, A list of the freshwater fishes, batrachians, and reptiles obtained by Mr. J. Stanley Gardiner's expedition to the Indian Ocean. *Trans. Linn. Soc. Lond.* **12**: 291-300.
- Brede G., 2001, Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the Common Toad, *Bufo bufo*. *Molecular Ecology Notes* **1** : 308-310.
- Brown W. M., M. George JR., & A. C. WILSON, 1979, Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**: 1967-1971.
- Dawid, I. B. & Blacker, A. W., 1972, Maternal and cytoplasmic inheritance of

- mitochondrial DNA in *Xenopus* Dev. Biol. 29, 152-161.
- Douzery, E., Catzeflis, F.M., 1995, Molecular Evolution of the Mitochondrial 12S rRNA in Ungulata (Mammalia), Journal of molecular evolution
- Felsenstein J., 1985, Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Hall T. A., 1999, BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.
- Hannic, C., V. Laudet, V. Barriel and F.M. Catzeflis. 1995. Evolutionary relationships of acomys and other murids (*Rodentia*, *Mammalia*) based on complete 12S ribosomal-RNA mitochondrial genes sequences. *Israel J. of Zool.*, **41**(2): 131-146.
- Jia S., H. Chen, G. Zhang, Z. Wang, C. Lei, R. Yao and X. Han (2007). Genetic Variation of Mitochondrial D-loop Region and Evolution Analysis in Some Chinese Cattle Breeds. Journal of Genetics and Genomics. 34(6): 510-518.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16: 111-120.
- Kumar, S., Tamura, K., and Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics 5: 150-163.
- Lai SJ, YC Kam, YS Lin. 2003. Elevational variation in reproductive and life history traits of Sauter's frog *Rana sauteri* Boulenger, 1909 in Taiwan. Zool. Stud. 42: 193-202.
- Liu R. Y., G. S. Yang and C. Z. Lei. (2006). The Genetic Diversity of mtDNA D-loop and the Origin of Chinese Goats. Acta Genetica Sinica 33 (5): 420-428.
- Moritz, C., and W.M. Brown. 1987. Tandem duplications in animal mitochondrial DNAs : variation in incidence and gene content among lizards. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**: 7183-7187.
- Pedrosa S., M. Uzun, J. J. Arranz, B. G., F. S. Primitivo and Y. Bayo'n. (2005). Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. Proc. R. Soc. B. 272: 2211-2217.
- Saitou, N., and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* **4** : 406-425.
- Sang, T.K., H.Y. Chang, C.T. Chen and C.F. Hui. 1994. Population structure of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Mol. Biol. Evol.* **11**(2): 250-260.
- Slatkin M. 1985, Gene flow in natural populations. Ann. Rev. Ecol. Syst. 16:393-430.
- Smith M. Alex, Poyarkov JR Nikolai A., Hebert Paul D. N. 2008. CO1 DNA

barcoding amphibians: take the chance, meet the challenge. *Molecular ecology resources* 8:235-246.

Waterman, M.S., M. Eggert, E. Lander. 1992 Parametric sequence comparisons. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**: 6090-6093.