

蘇花海岸的地理分隔效應：以兩棲爬行動物為例

陳盈蓉, 陳薇云, 林思民
國立台灣師範大學生命科學系



前言

蘇花海岸地形劃分的地理隔離效應

物種多樣性 (species diversity) 的形成來自地球歷史上一系列的種化 (speciation) 事件。因此，種化的研究工作，在生物多樣性探索領域中扮演著舉足輕重的地位。地理隔離造成的異域種化 (allopatric speciation) 是傳統種化模型中最大為接受的理論基礎，而島嶼地區的物種多樣性與特有性，受到隔離效應的影響最為顯著。蘇花海岸地形特殊的地形地貌，是檢視隔離對種化效應的絕佳場所。在台灣特有生物的形成過程中可扮演著極為重要的角色。蘇花海岸沿線地帶，山脈陡峭峻峻，直深入海，在台灣的生物地理上同時扮演著「東西」與「南北」兼具的分化屏障。

親緣地理學與族群遺傳分化

所謂親緣地理學 (phylogeography) 是一門從1990年代開始興起的新興學門，強調利用分子生物學的方式，結合族群遺傳學、地理分布與歷史因素，共同探討生物現今的分布模式與族群遺傳結構，尋找親緣地理學上各層級的一致性 (concordance) 是生物地理學家努力目標。而根據國內目前累積的研究結果，在顯示蘇花海岸地區在物種的遺傳分化上扮演的一致性角色，其中又以兩棲爬行動物尤為顯著。

研究主題

蘇花海岸地區特殊的地形地貌與特殊的地理位置，正好提供了演化生物學家一個絕佳的機會，來測試隔離效應對物種遺傳演化的影響。在如此小的尺度之內發生如此劇烈的物種與遺傳差異，即使以全球至全球的觀點來看，亦屬難能可貴的研究題材。與其他陸地脊椎動物相較之下，兩棲爬行動物的移動能力較差，指證距離的也較有限。因此成為測試隔離分化效應的絕佳題材。雖然有越來越多的證據支持這些地區對物種或遺傳上的分化所造成的影響，然而大多數的討論均以全島為探討尺度，鮮少針對蘇花海岸，尤其是清水斷崖與立霧溪這般劇烈的地形屏障，進行小尺度的探討。因此，本計畫結合了野外調查與分子生物技術，對本地區出現的各種兩棲爬行動物進行分布上的調查，並詳細探究這些山脈和溪谷對這些物種所造成的遺傳分化。

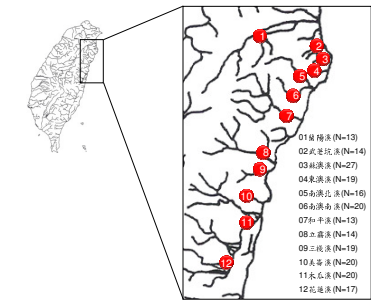


圖1. 沿著蘇花海岸線規劃的12個褐樹蛙採樣點，與採集數量。

材料與方法

物種調查與分析

於兩棲爬行動物活躍的春季與夏季進行各個樣區的物種調查，日間採用目視與徒手捕捉，而夜間則使用目視與聲音辨識法調查各樣區的物種與相對數量。數據使用 PRIMER v5.1 程式做統計分析，計算不同樣區的多樣性指數分析，再以 Bray-Curtis 相似度量數出矩阵用於計算 Multidimensional scaling plots (MDS) 及 Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic averages (UPGMA)，比較河谷之間的兩棲爬行動物相。

樣本採集與分子實驗

蘇花海岸地區採集的褐樹蛙包含了12個樣區 (圖1)，總共212隻個體。個體捕捉之後，利用剪趾標記進行個體的標識。標記之後的個體立即於原地釋放，而腳趾則存放於95%的酒精中保存。利用標準的 Phenol / Chloroform 方法萃取 crude DNA，經過酒精純化與乾燥之後溶於一倍的 TE buffer (Tris-EDTA, pH 8.0) 之中，存放於-20°C 冰箱。利用 PCR (polymerase chain reaction) 增幅紅綠體細胞色素基因 (cytochrome b) 約1100bp 片段進行分析，使用於褐樹蛙的引子 (primer) 序列如下：

BueF1: 5'-TTCTGCCAGGRTTTCACCTAGACC-3'

BueR2: 5'-GTCYARITTTGATGAGTTRITTTTC-3'

PCR 的反應在94°C 下進行變性 (denature) 30秒，55°C 下進行結合 (annealing) 40秒，72°C 下進行延伸 (extension) 80秒，並重複此三週期之步驟35至40個循環，取得的DNA直接送入自動定序儀 (auto sequencer) 進行定序。所有的序列均經過雙方向的重複定序，並與其他近緣物種的相同片段，以確認其正確性。

族群遺傳分析

使用 Sequencer 4.1 進行 DNA 的排序與輸出，並利用 DnaSP 5.1 與 MEGA 4.1 進行編輯，使用 MEGA 4.1 重疊基因型之間的演化樹，以了解各基因型之間的演化關係。最後以族群為單位，利用 DnaSP 計算兩族群之間的平均遺傳變異 (Kxy)、平均遺傳距離 (Dxy)、族群分化指數 (Fst) 與有效遷移族群量 (Nm) 等等族群遺傳參數，整個族群的遺傳變異頻度曲線 (frequency spectrum) 亦使用 DnaSP 計算與描繪。

表1: 各樣點之間的物種差異指數。

| 宜蘭地區 | 蘇澳流域 | 東澳流域 | 南澳流域 | 南澳南溪 | 和平溪 | 立霧溪流域 | 三棧溪流域 | 花蓮地區 | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0.2000 | 0.4000 | 0.4000 | 0.4000 | 0.4000 | 0.4500 | 0.4737 | 0.5283 | 0.6500 | 0.9500 |
| 0.2000 | 0.2000 | 0.2000 | 0.2500 | 0.2500 | 0.2632 | 0.2632 | 0.3158 | 0.4211 | 0.7500 |
| 0.0000 | 0.0500 | 0.0500 | 0.1000 | 0.1053 | 0.1053 | 0.1579 | 0.2632 | 0.3000 | 0.6000 |
| 0.0476 | 0.0476 | 0.0500 | 0.1000 | 0.1053 | 0.1053 | 0.1579 | 0.2632 | 0.3000 | 0.5714 |
| 0.0000 | 0.0000 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.5238 |
| 0.0000 | 0.0000 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.5238 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.5000 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.4737 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.4737 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.4211 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.3158 |
| 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.0500 | 0.3000 |

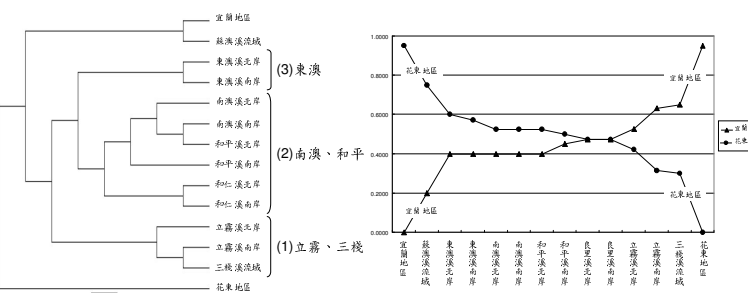


圖2: 蘇花海岸沿線各樣點物種組成的UPGMA樹。

圖3: 蘇花海岸沿線各樣點物種組成隨緯度改變的情形。

結果

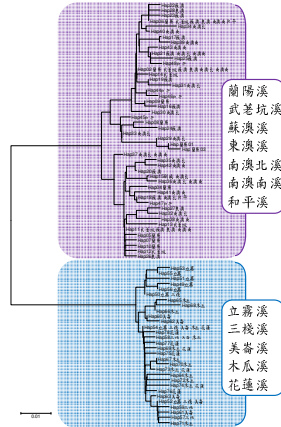


表2: 各採樣點的遺傳多樣性數值。

| 採樣點 | 遺傳分類 | N | N _{sp} | H | Pi |
|------|------|-----|-----------------|--------|--------|
| 蘭陽溪 | 北部群 | 13 | 10 | 0.9231 | 0.0049 |
| 武荖坑溪 | 北部群 | 14 | 7 | 0.8242 | 0.0034 |
| 蘇澳溪 | 北部群 | 27 | 13 | 0.8860 | 0.0031 |
| 東澳溪 | 北部群 | 19 | 6 | 0.6550 | 0.0033 |
| 南澳北溪 | 北部群 | 16 | 14 | 0.9833 | 0.0057 |
| 南澳南溪 | 北部群 | 20 | 12 | 0.9105 | 0.0042 |
| 和平溪 | 北部群 | 13 | 7 | 0.7949 | 0.0043 |
| 立霧溪 | 東部群 | 14 | 8 | 0.9011 | 0.0019 |
| 三棧溪 | 東部群 | 19 | 8 | 0.7953 | 0.0012 |
| 美崙溪 | 東部群 | 20 | 7 | 0.6895 | 0.0013 |
| 木瓜溪 | 東部群 | 20 | 13 | 0.9526 | 0.0023 |
| 花蓮溪 | 東部群 | 17 | 7 | 0.8971 | 0.0013 |
| 合計 | | 212 | 80 | 0.9545 | 0.0118 |

圖4. 蘇花海岸沿線80個基因單型的親緣關係樹。

兩棲爬行動物分布調查

調查結果確實顯示蘇花海岸沿線為兩棲爬行動物重要的分布界限。根據目前的統計，大約有十七種兩棲爬行動物在花蓮縣和宜蘭縣之間出現分布上的改變。利用各流域物種組成可轉換成一兩棲爬行動物在各樣區之間的差異度指數 (表1)，利用此距離矩阵建構流域之間的UPGMA樹，結果如圖2。詳細探究各樣區之間的相似程度，顯示蘇花海岸本身即可再粗略切割成三大支：(1)東澳地區；(2)南澳、和平、和仁；與(3)立霧溪與三棧溪流域，依從北到南的方向來看，蘇澳地區的物種組成最接近宜蘭，而後隨著緯度逐漸下降，每個樣區的物種組成與宜蘭的差距越來越大，而與花蓮的差距越來越小 (圖3)。根據UPGMA樹的分支順序，顯示最大的物種分布障礙出現在(1)和仁與立霧溪之間，也就是清水斷崖一帶；以及(2)南澳與南澳之間，也就是烏石鼻海岸地區。這樣的結果基本上與褐樹蛙族群遺傳研究的結果是相吻合的。

褐樹蛙的族群遺傳與親緣地理學研究

定序之後進行後續分析的區域為紅綠體 cytochrome b 的1090 bp 序列，其中包含了88個變異位點。總共獲得80個基因單型 (haplotype)，所有的基因型可以區分成明顯的北部與東部兩群 (圖4)，兩群之間的平均遺傳距離 (p-distance=0.0213) 遠遠大於群內的變異 (0.0044與0.0019)，這在演化上完全沒有中間個體出現，而在地理分布上，北部群包含了和平溪以北七條流域的122隻個體，東部群包含了立霧溪以南五條流域的90隻個體 (表2)，在分布上完全沒有重疊。

利用 DnaSP 計算兩族群之間的遺傳分化指數 (F_{st})，顯示在同一區域、不同流域之間的 F_{st} 值，遠低於小區域之間的 F_{st} 值 (表3)。在和平溪以北的所有流域之間， F_{st} 值介於 0.0141 (武荖坑溪 vs. 蘇澳溪) 與 0.2133 (蘇澳溪 vs. 和平溪) 之間，屬於低度至中度的遺傳分化。在立霧溪以南的所有流域之間， F_{st} 值介於 0.0011 (三棧溪 vs. 美崙溪) 至 0.3179 (立霧溪 vs. 美崙溪)。大多數為中度的遺傳分化，但是當兩個區域之間的河川進行配對， F_{st} 值就上升到 0.8-0.9 之間，顯著高於群內的遺傳變異 (圖5)。這樣的結果顯示立霧溪與和平溪之間的地形地貌，確實造成褐樹蛙非常明顯的遺傳分化。

表3: 各採樣點的遺傳分化指數 (F_{st}) 值。

| | 蘭陽溪 | 武荖坑溪 | 蘇澳溪 | 東澳溪 | 南澳北溪 | 南澳南溪 | 和平溪 | 立霧溪 | 三棧溪 | 美崙溪 | 木瓜溪 | 花蓮溪 |
|------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 蘭陽溪 | | 0.0227 | 0.0776 | 0.0940 | 0.0133 | 0.0223 | 0.0547 | 0.8354 | 0.8555 | 0.8493 | 0.8280 | 0.8483 |
| 武荖坑溪 | | | 0.0141 | 0.0090 | 0.0245 | 0.0445 | 0.1370 | 0.8694 | 0.8884 | 0.8821 | 0.8594 | 0.8812 |
| 蘇澳溪 | | | | 0.0311 | 0.0978 | 0.1141 | 0.2133 | 0.8789 | 0.8967 | 0.8904 | 0.8679 | 0.8896 |
| 東澳溪 | | | | | 0.0827 | 0.1203 | 0.2082 | 0.8717 | 0.8906 | 0.8841 | 0.8611 | 0.8834 |
| 南澳北溪 | | | | | | 0.0250 | 0.0196 | 0.8170 | 0.8367 | 0.8302 | 0.8095 | 0.8292 |
| 南澳南溪 | | | | | | | 0.0671 | 0.8548 | 0.8740 | 0.8680 | 0.8463 | 0.8670 |
| 和平溪 | | | | | | | | 0.8478 | 0.8696 | 0.8625 | 0.8405 | 0.8615 |
| 立霧溪 | | | | | | | | | 0.3148 | 0.3179 | 0.2291 | 0.2650 |
| 三棧溪 | | | | | | | | | | 0.0011 | 0.2342 | 0.3060 |
| 美崙溪 | | | | | | | | | | | 0.1769 | 0.2517 |
| 木瓜溪 | | | | | | | | | | | | 0.0649 |
| 花蓮溪 | | | | | | | | | | | | |

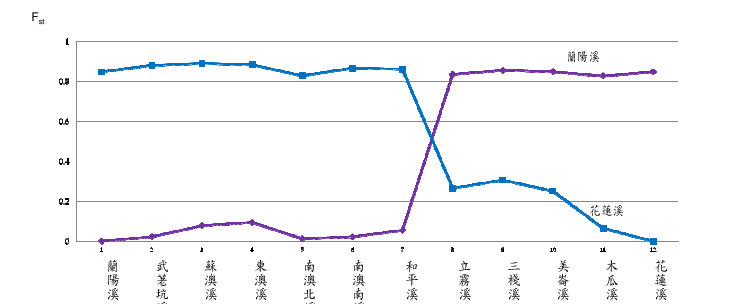


圖5. 無論是宜蘭地區或是花蓮地區的族群，在跨越和平溪與立霧溪的障礙之後，都發生 F_{st} 急遽上升的現象，顯示清水斷崖地區是造成褐樹蛙遺傳分化的最主要地理障礙。

討論

感謝研究室成員協助褐樹蛙的採集，本研究由太魯閣國家公園管理處經費支下進行。

結論

1. 宜蘭地區與花蓮地區的兩棲爬行動物相存在明顯的差異。
2. 褐樹蛙在和平溪以北與立霧溪以南之間存在明顯的族群遺傳差異。
3. 同區之內的遺傳交流頻繁，但是異區之間的遺傳交流極為貧乏。
4. 清水斷崖和烏石鼻為造成物種與遺傳阻隔最主要的地理障礙。