

雪霸國家公園管理處委託☐研究☒辦理計畫

觀霧山椒魚族群監測及活動範圍追蹤

企劃書

委託單位：雪霸國家公園管理處

執行單位：中國文化大學

計畫主持人：生命科學系 巫奇勳 助理教授

協同主持人：森林暨自然保育學系 謝佳宏 助理教授

地理學系 洪念民 副教授

執行期間：民國 106 年 1 月 1 日至 106 年 12 月 31 日

目錄

目錄.....	1
中文摘要.....	2
Abstract.....	3
計畫緣由與預期目標	4
主題背景及有關研究之探討	5
方法及過程.....	8
進度及預期完成之工作項目	13
計畫預期對相關施政之助益	13
經費之配置.....	15
參考文獻.....	16
研究人員.....	19

中文摘要

全球暖化潛在地影響物種的分布，對於熱帶及亞熱帶地區的物種衝擊更為嚴重，如生活在低緯度高海拔的山椒魚。欲瞭解全球暖化對山椒魚的可能衝擊，整合微棲地溫度資料、個體活動模式、溫度生理學與族群遺傳學的資料分析有其必要性，將有助於更深入的評估氣候暖化對牠們的潛在影響。本計畫將延續在過去監測的樣點內監測觀霧山椒魚的族群時空分布，並將應用微衛星體 DNA (microsatellite DNA) 做為分子標記分析族群遺傳資料以評估族群間的基因交流程度與遷徙能力推估。此外，也將透過個體追蹤方法瞭解觀霧山椒魚的微棲地利用與活動模式、研究溫度偏好以及預測其潛在分布與推估氣候變遷對其分布的影響。預期本計畫成果將有助於評估氣候變遷對於敏感物種—觀霧山椒魚的保育策略，相關基礎資料的建立亦可用於觀霧山椒魚生態中心的解說教育之用。

Abstract

Global warming potentially influences species distribution, especially for tropical and subtropical species, such as *Hynobius* salamanders living on high mountains at low latitudes. Integrating data of microhabitat temperature, patterns of individual movement, thermal physiology, and population genetics of *Hynobius* salamanders is necessary if we want to predict the potential effects of global warming on them. The main aims of this project are to keep monitoring a temporal and spatial distribution of *Hynobius fuca* and to use microsatellite DNA markers for estimating gene flow and migration rate among their populations. Additionally, we will investigate microhabitat selection and patterns of individual movement by tracking methods, to study preferred temperature, and to predict potential geography distribution and impacts of climate change on the distribution of *H. fuca*. Results of this project will be helpful to assess strategies for conservation of *H. fuca*, which is considered as a vulnerable species affected by a warming climate. The database contributed by this project will also be used for interpretation and education in the Guanwu salamander center.

一、計畫緣由與預期目標

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

從地理分布與族群表現的遺傳分化來看，顯示觀霧山椒魚是適合探討氣候暖化影響的理想模式生物。觀霧山椒魚是台灣海拔分布範圍最廣的山椒魚(Lai and Lue 2008)，目前主要分布皆在雪山山脈的西北側，北插天山為目前已知海拔分布的最低點(海拔 1310 公尺)，而觀霧屬於已知海拔分布的最高地點地區(海拔 2230 公尺)(呂與賴 2010)。全球暖化影響，使得生存在低緯度高海拔的山椒魚受到極大威脅，氣溫的上升可能讓偏好低溫的山椒魚的散播能力受到限制，造成族群間的隔離。先前應用粒線體基因進行觀霧山椒魚族群遺傳分析，結果顯示觀霧地區遺傳多樣性偏低，樣點間無顯著遺傳分化，評估全球暖化發生時，遺傳結構單純，可能影響對環境的適應性改變，導致滅絕的可能。北橫沿線為觀霧以外，族群數量最多的地區(呂與賴 2010)，遺傳多樣性分析顯是北插天山拉拉山族群與觀霧三地族群間具遺傳分化現象，顯示基因交流受限(巫與謝 2015)。遺傳多樣性的維持對於觀霧山椒魚的環境適應與保育策略將扮演重要的角色。有效族群大小變動分析，指出過去最近一次最大冰期時觀霧山椒魚呈現族群擴張現象，冰河退去進入間冰期時顯示族群衰退現象，目前觀霧山椒魚分佈地區可能為目前處於間冰期的避難所。巫與謝(2015)從標記再捕捉的結果推測

觀霧山椒魚的棲地依戀性高，可能顯示其遷移能力低。然而，由於個體再捕獲率低且族群數量依季節有明顯變化，也可能表示觀霧山椒魚遷移能力並不弱，但目前仍無法克服技術上的問題去追蹤其活動與遷徙範圍。低度遷移性物種通常具有近親交配現象，而高度遷移性物種通常呈現隨機交配，本年度計畫將應用微衛星(microsatellite)基因座，計算近親交配指數與族群遺傳結構分析推測其遷移能力。本研究提供觀霧山椒魚族群遺傳結構資訊，預期成果將可更完整評估觀霧山椒魚保育地位，並有助於擬定維持遺傳多樣性的保育策略。

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

總結以上所述，本計畫的預期目標將包括：

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

二、主題背景及有關研究之探討

微棲地維持相對穩定的低溫，可能是吸引觀霧山椒魚利用的主要因素之一（巫與謝 2015）。觀霧山椒魚的高溫耐受度(Critical Temperature

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

透過溫度偏好的瞭解，也有助於瞭解有尾類的生活習性與反應的生態意義。例如，斑泥鰍(*Necturus maculosus*)，夜間的喜好溫度最高，顯示其高度的夜行性(Hutchison and Spriestersbach 1986)。紅背無肺鰍(*Plethodon c. cinereus*)的選溫有季節性不同，可能與延遲生長或度冬等因素有關(Feder and Pough 1975)。外溫動物的溫度調節策略可能會反應棲地溫度條件而調整(Piasečná et al. 2015)。溫度偏好可能受溫度馴化而不同，即溫度馴化能力(acclimatory capacity)可能不同。溫度馴化能力低的物種被認為在未來受到氣候暖化的影響可能比較大(Stillman 2003; Calosi et al. 2008)，因為較缺乏氣候暖化時的溫度生理調整能力。溫度馴化能力會影響動物的溫度偏好，甚至高低溫馴化所產生的影響不同。例如，Stauffer et al.(1983)的研究顯示，高溫產生的馴化效應對共域蝾螈的溫度偏好影響較大，而低溫馴化對蝾螈溫度偏好的影響較小。棲地溫度條件不同除了會影響兩棲類的溫度偏好，也可能影響其選溫能力(Wu and Kam, 2005)。例如，生活在溫泉的日本蝌蚪會有較強的選溫能力，可能與溫泉的水溫變化較冷水環境劇烈，蝌蚪在

這樣的環境下須要有精確的選溫能力以因應溫泉的高溫變化，或者是因為相較於溫泉提供的溫度梯度環境，冷水域水溫變化幅度小，較缺乏選溫的條件所致 (Wu and Kam, 2005)。因此，棲地的溫度條件將可能關係到山椒魚的溫度偏好與溫度適應能力。由於溫度會影響兩棲類直接的生存，也會影響其溫度馴化能力，因此，選擇有理想溫度的微棲地對蝾螈很重要。溫度、食物分布與掠食者都會影響蝾螈的微棲地選擇，但影響蝾螈棲地選擇的主要因子會因日夜而不同(Holomuzki 1986)。微棲地的溫濕度條件可能會透過影響落葉層的無脊椎動物的數量而影響有尾類的分布，進而可能影響整個生態系(Walton 2013)。

臺灣產山椒魚群遺傳研究方面，目前僅數量最多的阿里山山椒魚曾被研究，中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈族群間存在顯著遺傳分化，表示山脈的隔離限制了基因交流(賴 2008)。從粒線體*cyt-b*基因序列所重建親緣關係樹來看，顯示海拔分布範圍廣的觀霧山椒魚可分為兩個主要支系，分別為觀霧支系與北橫支系(Lai and Lu 2008)。此外，應用粒線體基因進行族群遺傳分析，顯示觀霧山椒魚遺傳多樣性偏低，暗示全球暖化氣候變遷時可能限制其適應能力。觀霧族群與拉拉山族群和北插天山族群等三地間具遺傳分化現象，顯示山脈的隔離亦限制了觀霧山椒魚的基因交流(巫與謝 2015)。目前國內外山椒魚遺傳多樣性分析研究方面，大多都是利用粒線體基因來分析，然而粒線體為母系遺傳，單性遺傳分析可能產生偏差，若能透過雙性遺傳資訊比較能提供較多資訊。近年微衛星(microsatellite) DNA已應用於山椒魚遺傳多樣性分析，日本北海道的蝦夷山椒魚(*Hynobius retardatus*) (Matsunami *et al.*, 2015, 2016)應用微衛星基因座分析種化後的族群遺傳結構，顯示族群間基因交流程度低，各族群的有效族群大小具差異性，顯示微衛星基因座分析助於瞭解族群遺傳結構與族群變動。本年度計畫將應用微衛星基因座，計算近親交配指數與族群遺傳結構分析推測其遷移能力，研究成果助於遺傳多樣性之維持與保育策略之擬定。

三、方法與過程

研究地區

本研究的主要研究地點位於觀霧遊憩區及周邊地區，包括觀霧山椒魚試驗棲地及其周邊、大鹿林道東線及西線、巨木群步道、榛山步道等地區(圖 1)。此外，也將納入北橫族群(低海拔族群)、拉拉山與棲蘭山族群的遺傳多樣性與溫度偏好資料的收集，以比較不同海拔族群個體的溫度偏好、選溫能力以及比較不同地區族群之遺傳多樣性，瞭解棲地切割與地理分化對族群遺傳多樣性可能的影響。



圖1. 研究地區

A. 族群調查方法與監測

族群調查與監測方式將採固定範圍法(area-constrained survey)，此法為國內山椒魚調查所建議採用(呂與賴 2010, 2012)。監測頻度至少兩個月一次，這樣的調查頻度被認為可減少對動物的過度干擾(呂與賴，2012)。調查時採多人進行。調查時，沿著樣區，徒手翻開石頭或倒木(並記錄翻閱數)，檢視是否有山椒魚，記錄調查開始與結束時間，並記錄當時的氣溫與天候，以及經緯度座標。此外，在翻尋的過程中，若在遮蔽物底下有發現其他脊椎動物也會一併做記錄。翻到山椒魚時，會在發現處旁插入標牌並

編號，同時紀錄微棲息地的相關資料，包括遮蔽物類型(石頭或木頭)、遮蔽物大小(測量長寬高)以及記錄上面是否長有苔蘚或其他植物。會將捕獲的山椒魚進行體重測量，並將個體擺放至方格紙上拍照記錄；由於觀霧山椒魚的下頷斑紋可做為個體辨識(歐等 2014)，因此也特別針對下頷進行拍照。頭長、頭寬、體長以及尾長的測量是使用 image J 軟體(<http://imagej.nih.gov/ij/>)進行照片上的測量。最後會將動物釋放回原地並將環境復原，釋放前會在個體的尾巴進行螢光標記(四碼)。

B. 動物採集與微環境測量

不定期自各樣區採集山椒魚以做為之後的溫度耐受度測量使用。採集時會同時記錄當時的氣溫。動物採集後均置於塑膠罐內，並擺放沾濕的海綿或落葉，然後擺入內有冰磚的冰桶內，目的是為了維持運送過程中的低溫條件以及避免溫度有太大的波動。動物帶回實驗室後，會飼養在加蓋的塑膠箱內，並擺入有自然光周期(12 小時光亮與 12 小時黑暗)的動物生長箱內，飼養溫度維持在 15°C(為原棲地的平均氣溫，數據參考自歐等 2014)。飼養期間會提供水、充足的食物(以蚯蚓為主)與石塊提供躲藏。所有採集飼養的動物最後都會帶回原發現環境釋放。

一旦發現山椒魚，會在其躲藏環境底下擺放溫度自動記錄器(HOBO data logger)，以記錄這些被山椒魚所利用環境的溫度時間變化，溫度計設定每 4 小時記錄一次。之後會從記錄中選取期間的最高溫，做為暖化耐受度推估。

C. 個體追蹤方式

野外個體的追蹤，主要的收集資料包括山椒魚微棲地選擇與其條件(微棲地類型、底質溫度或濕度)、活動模式(日夜、季節)、移動距離、繁殖遷移以及活動範圍推估。追蹤小型兩棲類動物有多種方式，考量器材成本與

追蹤效率，本研究將測試線團追蹤法(thread bobbin tracking)追蹤山椒魚活動模式的可行性，其中線團追蹤法在國內已被應用在追蹤森林活動的兩棲類動物，研究其微棲地利用與活動距離(張 2002)。

線團追蹤法是將線團利用可控制長度的鬆緊帶固定在山椒魚背上。線團利用白色或黃色釣魚線製成繭狀，利用束線帶線團固定於底板上，整組線團系統固定在山椒魚身上。考量山椒魚的負重能力，預設山椒魚身上所背負的線團重量約 0.2g 至 0.3g 之間，線長約 20m，整組線團系統小於動物體重的 5% (張 2002)。線團以束線帶繞過胸部，如背包式穿戴方法固定於山椒魚背上。接下來將另一端的線頭綁在參考點的固定物(如樹枝、大型石頭)上，並以 GPS 紀錄參考點的座標，裝置完成後，利用螢光標記做為個體辨識之用，再將山椒魚放回原棲地，並量測山椒魚施放地點與參考點的距離，以及量測與北方夾角的角度，並在起始地點插上標記竿，並於標記竿上註明編號。

調查於調查進行日的早上 8:00 與晚上 20:00 時進行追蹤，追蹤到山椒魚定位點後插上標記竿，並註明標記竿編號。再以上一個紀錄點為基準，量測其距離與直線路徑與北方的夾角並記錄。若線團長度不足，將替換新的線團，並更換參考點，量測新參考點的距離以及與北方的夾角，並用 GPS 重新定位參考點。線團更換完畢後，於捕捉點釋放。

野外調查記錄之點位，於電腦利用地理資訊系統(Geography information system, GIS)繪製其活動範圍。以最小凸多邊形法(minimum convex polygon)與核空間法(kernel method)程序計算其 MCP 活動範圍面積，95%核密度活動範圍面積與 50%核密度活動範圍面積。

D. 室內溫度偏好實驗

使用梯度箱，透過一端升溫，一端降溫的方式來產生溫度梯度。儀器

是以一個長方形水族箱(150cm×20cm×20cm)為主體，溫度是由兩個恆溫循環水槽所提供，一端設定為加熱端，另一端設定為冷卻端，透過恆溫水槽的水流循環，在水流經銅圈時，會將溫度傳導到水槽兩端而達到升溫降溫的效果(Wu and Kam 2005)。水道會以珍珠板隔間，共分成 11 個區段，每個區段正中央並加裝一個小型氣泡石，以幫浦進行打氣，如此的設計可以避免箱內水溫有垂直分層現象(Hutchison and Dupre 1992; Stauffer et al. 1983)。實驗進行時，先在水槽中加水，水位為 3.5 公分，底下鋪鵝卵石，整個裝置在啟動 1 小時至 1.5 小時後，會形成 9°C 至 23°C 範圍的梯溫。

山椒魚於採集後三天內進行選溫實驗。此外，會將個體分成兩組，一組馴化在 15°C，另一組馴化在 20°C，比較馴化溫度對山椒魚選溫的影響。實驗預計在早上 8:00 至下午 18:00 之間進行，實驗前 24 小時不進行餵食。每次實驗時，隨機將 1 隻山椒魚自梯溫箱的熱端、中端或冷端擺放，之後每隔 15 分鐘記錄一次山椒魚出現的位置與水溫(量山椒魚附近的水溫)，連續監測 3.5 小時。前段的 2.5 小時當作是適應期，只採用最後 1 小時的數據求平均值做比較。游到水槽兩個末端的蝌蚪不納入數據分析，因為這表示牠們可能有更進一步(更低或更高)的選溫需求。

E. 族群遺傳資料分析

1. DNA 粹取

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

2. 微衛星 DNA 實驗方法

根據 Matssunami *et al.* (2015) 所設計出之微衛星基因座引子組，經測試後選擇適當之引子組，製作螢光引子利用 PCR 來增幅微衛星 DNA。PCR 之反應條件為：(1) 預熱 (prewarming) 94°C 3 分鐘；(2) 變性 (denaturing) 94°C 30 秒；(3) 黏合 (annealing) 58°C 30 秒；(4) 延伸

(extension) 72°C 30 秒；(5) 重複步驟 (2) 至 (4) 共 35 個循環；(6) 最終延長 (final extension) 72°C 30 分鐘，使反應更完全。PCR 產物經電泳分析後，利用 ABI3100 定序儀器進行 Genotyping，等位基因資訊判讀的方式利用 GENESCAN 3.1.2 軟體進行。

3. 微衛星 DNA 資料分析

遺傳變異度利用異型合子的比例來表示族群遺傳變異度，直接觀測異型合子比例為觀測值(observed heterozygosity, H_o)，而期望值(expected heterozygosity, H_E)則採用 Nei (1978) 的無偏估值計算。哈溫平衡檢測(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)，族群是否處於哈溫平衡的狀態，用以表示在沒有天擇壓力、突變或遷移時，族群內個體是否隨機交配，且對偶基因頻率和基因型頻率可以代代維持穩定 (Guo and Thompson, 1992)，用 X^2 或 Fisher's exact test 檢測。若檢定結果族群偏離哈溫定律，則進一步利用 score test 檢定族群內是否有異型合子偏高或不足的現象，再進一步探討原因。前述分析利用 GENEPOP web v.4.2 軟體分析 (Raymond and Rousset, 1995)。無效對偶基因(null alleles)檢測，若族群內觀測異型合子比例低於期望異型合子比例，表示族群內有異型合子不足的現象，假設此現象都是由於無效對偶基因的存在造成，利用 MICRO-CHECKER v.2.2.0 軟體分析 (Van Oosterhout et al., 2004)。族群分化指數，自然狀態下，族群間交流情況會因許多環境因素而有不同，因此族群間遺傳組成亦會有差異，而族群分化指數可用來代表族群間分化程度。本研究將利用 F statistics 無偏估值中的 F_{ST} 為族群分化指數 (Weir and Cockerham, 1984)。近親交配指數(Inbreeding coefficient values, F_{IS})， F_{IS} 值代表一個族群的近親交配程度，數值愈大代表近親交配，數值越小或接近 0 代表隨機交配。前述利用 FSTAT v.2.9.3.2 軟體分析(Goudet, 1995)。遺傳距離亦可代表族群間分化程度，在此採用 Nei's D ，利用 2 族群間對偶基因的頻率來估算遺傳相似度 I ，並由遺傳相似度轉換成遺傳距離 D ，而親緣關係樹重建根據遺傳距離，使用鄰域加入法 (Neighbor-joining) 來重建，利用 POPULATIONS v.1.2.30 軟體製作 (Olivier Langella, CNRS UPR9034, France) (<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>)。族群歸群分析，以貝氏分

析法進行歸群分析(Bayesian clusters)，假設族群符合哈溫平衡，基因座間為連鎖平衡，計算基因座中基因型出現在某族群中的機率值，以此方法估算出個體出現於某族群的機率，並探討個體可能的來源族群，藉此分析族群傳結構，利用 STRUCTURE v.2.6 軟體分析 (Pritchard et al., 2000)。

四、進度及預期完成之工作項目

預期進度甘梯圖												
月次 工作項目	第 1 月	第 2 月	第 3 月	第 4 月	第 5 月	第 6 月	第 7 月	第 8 月	第 9 月	第 10 月	第 11 月	第 12 月
族群分布調查與監測												
個體追蹤												
溫度偏好實驗												
近親交配及遺傳資訊測定												
累計進度	0%	10%	20%	30%	40%	45%	55%	65%	75%	85%	95%	100%

五、計畫預期對相關施政之助益

- (一) 藉由監測觀霧山椒魚在臺灣的空間分布去評估其族群可能可限制因子。
- (二) 瞭解觀霧山椒魚選擇微棲地的溫度與濕度條件，及潛在分布範圍。
- (三) 試圖瞭解氣候震盪對觀霧山椒魚有效族群變動的影響。
- (四) 提供生理或生態的基礎研究資料，作為訂定觀霧山椒魚保育策略之參考。

本計畫將整合觀霧山椒魚野外族群與微棲地條件監測資料、溫度生理、並結合地理資訊系統(GIS)去做族群分布推估，以及族群遺傳資料去綜合性

評估氣候暖化對觀霧山椒魚族群動態的影響。另外也將繼續嘗試有尾類在森林追蹤的可行性，若採用的方法可行，預期將有助於瞭解觀霧山椒魚的日夜與季節性的活動模式、活動距離與範圍，以及微棲地選擇與環境因子(特別是溫度)之間的關係。透過室內的選溫實驗將是直接瞭解山椒魚溫度偏好的方式，結合野外微棲地溫度資料後，將有助於評估其目前的棲地需求現況。觀霧山椒魚近親交配指數與基因交流程度的計算，可推估遷移能力的強弱。藉由 DNA 資訊分析觀霧山椒魚的族群遺傳結構與有效族群大小變動歷史，作為未來對此物種保育策略的參考，相關基礎資料的建立亦可用於觀霧山椒魚生態中心的解說教育之用。

六、經費之配置

單位：新臺幣/仟元

項 目	金 額	說 明	備 註
一、研究人員費	276	計畫主持人費: 11,000 元/月×12 (月)=13,2000 第一協同主持人費: 9,000 元/月×12 (月)=10,8000 第二協同主持人費: 3,000 元/月×12 (月)=3,6000	
二、報告印刷費	10	報告印製費 (200 頁以下)	
三、資料蒐集費	2	購置參考書籍與期刊或影印必要資料、資料檢索費用 (含各大圖書館影印卡購買)	
四、差旅費	110	野外調查餐飲、交通費用與過路通行費	
五、設備使用及維護費租金等	6	設備使用、儀器校正與維修費用	
六、其他費用	398	耗材費:實驗裝置用銅管與儀器配線、動物追蹤與標記材料、標竿、羅盤(或指南針)、DNA 粹取試劑套組、基因定序、組織採樣用品、DNA 聚合酶、塑膠耗材、實驗化學藥品、打氣機、動物飼養箱、抗生素(塗抹動物傷口用)、解剖器材、塑膠帆布、野外溫濕度記錄器、溫度計、紗網、塑膠封口袋、手套、電池、撈網、鋁箔秤盤、抹布、撈網、採集箱、冰桶與保冷劑、各式標本瓶、彈簧秤、游標尺、量尺、動物飼料與營養補充劑、五金材料、延長線、計時器、各式容器、儀器記錄紙、碳粉匣、墨水匣、頭燈、急救藥品、飼養箱燈管、野外實驗露宿用品、消毒清潔用品、電腦周邊耗材、汽油費、租車費、樣品宅配費、高速公路通行費 臨時工資: 1000 元/日× 70(人次)=70,000	
七、雜支	8	各式文具、紙張、郵電費、研討會報名費與海報印製支出、計畫執行人員的差旅保險支出	
八、行政管理費	90	行政管理費 10% 計算。健保補充保費。	
總計	900		

※上述表列經費得依實際支用情況進行調整。

七、參考文獻

- Calosi, P., D. T. Bilton, and J. I. Spicer. 2008. Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. *Biol. Lett.* 4:99-102.
- Camp, C. D., J. A. Wooten, J. B. Jensen, and D. F. Bartek. 2013. Role of temperature in determining relative abundance in cave twilight zones by two species of lungless salamander (family Plethodontidae). *Can. J. Zool.* 92:119-127.
- Deutsch, C. A., J. J. Tewksbury, R. B. Huey, K. S. Sheldon, C. K. Ghalambor, D. C. Haak, and P. R. Martin. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *PNAS* 105:6668-6672.
- Feder, M. E. and F. H. Pough. 1975. Temperature selection by the red-backed salamander, *Plethodon c. cinereus* (Green)(Caudata: Plethodontidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 50A:98.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 2.9.3.2): A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Green, D. E. 2001. Anesthesia of amphibians in the field. USGS Standard Operating Procedure. ARMI SOP.
- Holomuzki, J. R. 1986. Predator avoidance and diel patterns of microhabitat use by larval tiger salamanders. *Ecology* 67:737-748.
- Hutchison, V. H. and R. K. Dupre. 1992. Thermoregulation. Pages 206-249 in M. E. Feder and W. W. Burggren, editors. *Environmental Physiology of the Amphibians*. The University of Chicago Press Chicago and London.
- Hutchison, V. H. and K. K. Spriestersbach. 1986. Diel and seasonal cycles of activity and behavioral thermoregulation in the salamander *Necturus*

- maculosus. *Copeia* 1986:612-618.
- Lai, J.-S. and K.-Y. Lue. 2008. Two new *Hynobius* (Caudata: Hynobiidae) salamanders from Taiwan. *Herpetologica* 64:63-80.
- Masatoshi, M., T. Igawa, M. Nozawa, H. Michimae, T. Miura and K. Nishimura. 2015. Development and characterization of 12 microsatellite markers for the Hokkaido salamander (*Hynobius retardatus*). *Current Herpetology* 34: 177-181
- Matsunami, M., T. Igawa, H. Michimae, T. Miura, and K. Nishimura. 2016. Population structure and evolution after speciation of the Hokkaido salamander (*Hynobius retardatus*). *PLoS ONE* 11: e0156815. doi:10.1371/journal.pone.0156815.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* 89: 583-590.
- Piasečná, K., A. Pončová, M. Tejedo, and L. Gvoždík. 2015. Thermoregulatory strategies in an aquatic ectotherm from thermally-constrained habitats: An evaluation of current approaches. *J. Therm. Biol.* 52:97-107.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond M., and Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Stauffer, J. R. J., J. E. Gates, and W. L. Goodfellow. 1983. Preferred temperature of two sympatric *Ambystoma* larvae: a proximate factor in niche segregation? *Copeia* 1983:1001-1005.
- Stillman, J. H. 2003. Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science* 301:65-65.
- Tewksbury, J. J., R. B. Huey, and C. A. Deutsch. 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science* 320:1296.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills, and P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4: 535-538.

- Walton, B. M. 2013. Top-down regulation of litter invertebrates by a terrestrial salamander. *Herpetologica* 69:127-146.
- Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wu, C. S. and Y. C. Kam. 2005. Thermal tolerance and thermoregulation by Taiwanese rhacophorid tadpoles (*Buergeria japonica*) living in geothermal hot springs and streams. *Herpetologica* 61:35-46.
- 毛俊傑。2009。棲蘭山 100 線林道觀霧山椒魚之分布與環境。行政院退除役官兵輔導委員會榮民森林保育事業管理處。
- 呂光洋、賴俊祥。2010。觀霧山椒魚(*Hynobius fuca*)之分布及棲息地的調查。國立臺灣師範大學。
- 呂光洋、賴俊祥。2012。阿里山山椒魚監測及監測模式標準作業程序制定。國立台灣師範大學。
- 巫奇勳、謝佳宏。2015。觀霧山椒魚溫度生理耐受性測量及族群遺傳多樣性分析。雪霸國家公園管理處委辦研究報告。
- 張原謀。2002。南仁山地區拉都希氏赤蛙的能量收支。國立成功大學生物學研究所碩士論文。
- 歐辰雄、邵廣昭、吳聲海、陸聲山、邱清安。2014。觀霧地區觀霧山椒魚及相關物種調查。雪霸國家公園管理處委託辦理計畫成果報告。

八、研究人員

(一) 計畫主持人

姓 名	巫奇勳	性別	男	出生年月日	65 年 9 月 15 日	身份證字號	K121690933	職稱	助理教授
地 址	111 台北市士林區華岡路 55 號 中國文化大學生命科學系 大義館 533-1						電話	02-2861-0511-26221	
學 歷	2009 東海大學生命科學研究所博士 2002 國立彰化師範大學 生物學系碩士 1999 中國文化大學 生物學系 學士				經 歷	<u>2012 8/1 至今</u> 文化大學 生命科學系 專任助理教授 文化大學 森林暨自然資源保育學系 兼任助理教授 <u>2011 1/1－ 2012/ 7/31</u> 東海大學 生命科學系博士後研究員 <u>2011 3/10－6/7</u> 西班牙國家高等科學研究委員會(Biological Station of Doñana , CSIC, Sevilla, Spain)博士後訪問學者(Host: Ivan Gomez-Mestre and Carmen Di´az-Paniagua) <u>2009 9/1－11/30</u> 東海大學 生命科學系博士後研究員			
相 關	期刊論文(已發表或已被接受者)								

研究 著 述	<p>2016 Chang, Y. M., <u>C. S. Wu</u>, Y. S. Huang, and S. M. Sung and W. Hwang. Occurrence and reproduction of anurans in brackish water in a coastal windbreak forests in Taiwan. <i>Herpetology Notes</i>, 9:291-295.</p> <p>2014 <u>Wu, C. S.</u>, W. K. Yang, T. H. Lee, I. Gomez-Mestre, and Y. C. Kam. Salinity acclimation enhances salinity tolerance in tadpoles living in brackish water through increased Na⁺, K⁺-ATPase expression. <i>Journal of Experimental Zoology</i>, 321A: 57-64 (<i>SCI</i>, 43/151= 28%, in <i>Zoology</i>, 2012)</p> <p>2012 <u>Wu, C. S.</u>, I. Gomez-Mestre, and Y. C. Kam. Irreversibility of a bad start: early exposure to osmotic stress limits growth and adaptive developmental plasticity. <i>Oecologia</i>, 169:15-22. (<i>SCI</i>, IF: 3.517, 30/129 = 23%, in <i>Ecology</i>, 2010)</p> <p>2012 Hsu, W. T., <u>C. S. Wu</u>, J. C. Lai, Y. K. Chiao, C. H. Hsu, and Y. C. Kam. Salinity acclimation impacts survival, growth, and metamorphosis of the crab-eating frog tadpoles (<i>Fejervarya cancrivora</i>). <i>Herpetologica</i>, 68:41-21. (<i>SCI</i>, IF: 1.667, 33/145 = 23%, in <i>Zoology</i>, 2010)</p> <p>2009 <u>巫奇勳</u>、關永才。半淡鹹水域蝌蚪的鹽度適應與滲透調節。生物科學，51(2): 25-36。</p> <p>2009 <u>Wu, C. S.</u> and C. Y. Kam. Effects of salinity on survival, growth, development, and metamorphosis of <i>Fejervarya limnocharis</i> tadpoles living in brackish water. <i>Zoological Science</i>, 26: 476-482. (<i>SCI</i>, IF: 1.087, 61/145 = 42%, in <i>Zoology</i>, 2010)</p> <p>2006 <u>巫奇勳</u>、關永才。杉木蛙從台灣兩棲類名錄中被除名的經過。自然保育季刊，55: 39-40。</p> <p>2005 <u>Wu, C. S.</u> and C. Y. Kam. Thermal tolerance and thermoregulation by Taiwanese Rhacophorid tadpoles (<i>Buergeria japonica</i>) living in geothermal hot springs and streams. <i>Herpetologica</i>, 61(1): 35-46. (<i>SCI</i>, IF: 1.667, 33/145 = 23%, in <i>Zoology</i>, 2010)</p> <p>2005 <u>巫奇勳</u>。綠島兩棲爬行動物的現況與危機。自然保育季刊，50: 41-46。</p> <p>研討會論文 (Conference Paper)</p> <p>2016 陳玟靜、蔣禕琦、<u>巫奇勳</u>。胚胎時期經歷的溫度是否會影響長腳赤蛙蝌蚪的生活史特徵？第四屆台灣兩棲爬行動物研討會。東海大學，台中。</p>
--------------	---

- 2016 鄭郁潔、鄭全斌、巫奇勳、關永才。鹽度環境對蝌蚪高溫耐受度的影響。第四屆台灣兩棲爬行動物研討會。東海大學，台中。
- 2016 Cheng, C. B., M.F. Chuang, C.S. Wu, Y. C.Kam. A study of warming tolerance and thermal acclimation capacity of tadpoles in Taiwan: implications on the effects of climate warming on Taiwanese anurans. The 8th World Congress of Herpetology, China.
- 2016 Wu, C. S., P. J. Sung, and J. R. Chang. Effects of the experience of egg clutches infested by fly larvae on life history traits of tadpoles in subtropical Taiwan. Conservation Asia 2016, joint meeting, Society for Conservation Biology Asia Action and ATBC Asia-Pacific chapter, National University of Singapore. Singapore.
- 2016 Chuang, M. F., C.B. Cheng, C. S. Wu, and Y. C. Kam. Variation of warming tolerance and thermal acclimation capacity of Taiwanese tadpoles living in different habitat types. Conservation Asia 2016, joint meeting, Society for Conservation Biology Asia Action and ATBC Asia-Pacific chapter, National University of Singapore. Singapore.
- 2016 Kam Y. C., K. T. Feng, and C. S. Wu. Life history traits explain body size patterns of frogs in different altitudes. Conservation Asia 2016, joint meeting, Society for Conservation Biology Asia Action and ATBC Asia-Pacific chapter, National University of Singapore. Singapore.
- 2016 巫奇勳、謝佳宏、梁桓瑄、陳汲緘、周家成、吳聲海、賴俊祥、孫雅筠。整合溫度生理與族群遺傳資料評估氣候暖化對觀霧山椒魚(*Hynobius fuca*)族群動態的影響。2016 動物行為暨生態研討會，國立中興大學，台中。
- 2016 鄭全斌、巫奇勳、關永才。台灣蝌蚪的暖化耐受度與溫度馴化能力之研究：氣候暖化對台灣蛙類潛在的威脅。2015 動物行為暨生態研討會，國立中興大學，台中。
- 2016 魏忻怡、陳胤愷、李鳳玲、鄭全斌、巫奇勳、關永才。以暖化耐受度來探討氣候暖化對不同地區之蝌蚪的威脅。2015 動物行為暨生態研討會，國立中興大學，台中。
- 2015 Tominaga, A. M. Matsui, N. Shimoji, J. P. Jiang, C. S. Wu, K. Eto, M. Toda, H. Ota, and K. Nishikawa. Phylogeography of *Microhyla okinavensis*. The 54th annual meeting of the Herpetological Society of Japan. Toho University, Chiba, Japan.
- 2015 C. S. Wu, Y. H. Chan, and H. Y. Tseng. Tadpoles of *Buergeria japonica* (Rhacophoridae) living in geothermal hot springs and

streams exhibit different life history traits under different thermal regimes. 18th European Congress of Herpetology. Wrocław, Poland.

2015 陳家凱、陳泓名、曾衡宇、巫奇勳。天母古道鉛山壁虎(*Gekko hokouensis*)的族群生物學研究。2015 年地球科學系統學術論壇— 全球生物多樣性的過去、現在與未來發展。中國文化大學，台北。

2015 張育瑄、曾衡宇、潘怡靜、巫奇勳。溫度轉換對溫泉與冷水域日本樹蛙(*Buergeria japonica*)蝌蚪存活與變態的影響。2015 動物行為暨生態研討會，國立嘉義大學，嘉義。

2015 鄭全斌、巫奇勳、曾煒哲、張智揚、邱若筑、陳俊維、關永才。不同棲地類型蝌蚪的暖化耐受度與高溫耐受度的比較。2015 動物行為暨生態研討會，國立嘉義大學，嘉義。

2014 鄭全斌、張智揚、曾煒哲、邱若筑、陳俊維、巫奇勳、關永才。不同棲地類型蝌蚪的暖化耐受度與高溫耐受度的比較。第二屆台灣兩棲爬行動物研討會，國立自然科學博物館，台中。

2014 C. S. Wu, J. C. Lai, and Y. C. Kam. Enhanced salinity tolerance of the euryhaline tadpoles depends on increased Na⁺, K⁺-ATPase expression after salinity acclimation. The Inaugural Asian Conference on the Life Sciences and Sustainability. The PRESDA Foundation of Japan. Hiroshima, Japan.

2014 曾煒哲、粘博硯、張智揚、巫奇勳。以暖化耐受度與溫度馴化能力為指標來評估氣候暖化對台灣蝌蚪可能的影響。動物行為暨生態研討會，東海大學，台中。

(A) 專書及專書論文 (Books and Thesis)

2009 王金和、王珮琪、巫奇勳、何美鄉、吳正男、林俊宏、林俊銘、姚正得、陳石柱、黃旭田、潘明正、廖永剛、魯懿萍、劉家伶、劉振軒、薛美莉、關永才、龐飛。龜鱉目、有鱗目、無尾目、有尾目(第 35 章~第 55 章)。媒介重要人畜傳染病的有害生物—鳥類與兩棲爬蟲動物篇(潘銘正、姚正得、關永才主編)。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局/中臺科技大學/國立台灣大學。

	<p>(B) 技術報告及其他等 Other Publications:</p> <p>2004 關永才、<u>巫奇勳</u>、徐敏益、林逸賢、莊銘豐。2004。兩棲爬行動物資源調查方法及技術。pp. 1-29。整合性生物資源調查人力培訓研習會講義。台中。</p> <p>2004 <u>巫奇勳</u>。東埔地區兩棲爬行動物群聚組成之調查報告。內政部營建署玉山國家公園管理處。</p> <p>2003 關永才、<u>巫奇勳</u>、陳鴻銓、邱嘉德、莊銘豐、徐敏益。台灣中地區生物資源調查及研究之五-兩棲爬蟲動物，pp. 89-105。台灣生物資源調查與研究研討會論文集。</p>
目前進行或規劃參與計畫	<p>目前進行:</p> <p>台灣蛙類熱點族群特徵與群聚結構多樣性之研究-不同熱點蛙類生殖場所的時空利用、蝌蚪種間互動與生活史特徵表之研究 (2/3) (105-2621-B-034-001-)(2016/08/01-2017/07/31) (科技部)(計畫主持人)</p> <p>觀霧山椒魚偏好環境選擇及潛在分布推估(SP105118) (2016/03/31-2016/12/31) (雪霸國家公園管理處) (計畫主持人)</p> <p>鹽化對沿海淡水棲地蛙類生活史特徵的影響(104-2621-B-034 -001 -) (2015/04/01-2016/07/31) (科技部)(計畫主持人)</p>

(二) 其他研究人員

姓名	性別	出生日期	身分證字號	地 址	學歷	工作內容
謝佳宏	男	68.12.08	S123072457	台北市文山區羅斯福路五段 186 號 3 樓	博士	協同主持人
洪念民	男	62.3.26	X120036363	台北市文山區興隆路三段 181 巷 3 弄 1 號 2 樓	博士	協同主持人