

台灣地區外來種緬甸小鼠的族群遺傳結構與生物地理起源
Genetic Patterns and Biogeographic Origins of the Exotic
Rodent (*Rattus exulans*) in Taiwan

儲瑞華¹ 曹又仁² 莊媛茹² 陳皇奇³ 林曜松¹ 吳海音^{3,*}

Jui-Hua Chu¹, Yu-Jen Tsao², Yuan-Ju Chuang², Huang-Chi Chen³,
Yao-Sung Lin¹ and Hai-Yin Wu^{3,*}

¹ 國立台灣大學生態與演化生物學研究所 台北市羅斯福路四段1號

² 天主教輔仁大學生命科學系 台北縣新莊市中正路510號

³ 國立東華大學自然資源管理研究所 花蓮縣壽豐鄉志學村大學路二段1號

¹ Institute of Evolutionary Biology and Ecology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

² Department of Life Science, Fu Jen Catholic University, Taipei, Taiwan

³ Institute of Natural Resources, National Dong Hwa University, Hualien, Taiwan

* 通訊作者

* Corresponding author

摘 要

本研究利用 SSCP (single-strand conformation polymorphism) 技術，分析近年發現入侵台灣之外來種緬甸小鼠 (*Rattus exulans*) 粒線體 DNA 單倍體基因型 (haplotype) 的多型性，探尋其可能來源，並檢視各基因型在花蓮縣吉安鄉的分布狀況，以推論此外來種族群的擴散模式。在粒線體 DNA 控制區 (mtDNA control region) 中，以 SSCP 共判別出 4 種單倍體基因型 (Type I-IV)，其中 Type I 和 II 占大多數，且分布最廣；Type III 和 IV 則較少，皆僅見於單一捕捉點。經與 NCBI 資料庫中的序列比對，發現 Type I 與分布於泰國的序列相同，而 Type IV 則與蘇拉維西的序列相近，推測入侵台灣的緬甸小鼠來自東南亞大陸及週邊島嶼區域，而由各基因型間的遺傳變異程度判斷，緬甸小鼠可能至少有 2 次以上的入侵史。

Abstract

Mitochondria DNA (mtDNA) haplotypes were identified with single-strand conformation polymorphism (SSCP) for the exotic rodent (*Rattus exulans*) found in Jian Township, Hualien County, Taiwan. The objectives of this study were to examine distribution patterns of the haplotypes and to determine biogeographical origins of this exotic rat. We found four distinct SSCP haplotypes, Types I, II, III and IV, in a segment of 372 base-pairs in the mtDNA control region. Types I and II were dominant and occurred widely in the sampling area, while Types III and IV were restricted, each to a single sampling location. When the sequences of the four haplotypes obtained in this study were compared with the sequences of 32 *R. exulans* haplotypes available in NCBI, Type I was identical to the sequence from Thailand, Type IV differed to one sequence from Sulawesi by only one base pair. The results indicated that this species of exotic rat in Hualien might be originated from the Southeast Asia mainland and Malay Archipelago. The presence of four haplotypes suggested that there were at least two invasion events.

關鍵詞：緬甸小鼠、SSCP、外來種、粒線體 DNA 控制區域

Key words: *Rattus exulans*, SSCP, exotic species, mtDNA control region

收件日期：95 年 3 月 6 日

接受日期：95 年 7 月 27 日

Received: March 6, 2006

Accepted: July 27, 2006

緒 言

緬甸小鼠(*Rattus exulans*)是 1999 年 4、5 月間，始被發現入侵台灣的外來鼠種。是年，行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所協同花蓮區農業改良場，於花蓮縣吉安鄉(121°34'E, 23°57'N)休耕甘藷田監測田間鼠類組成時，捕獲此外來種(陳及高 2001)，而後經 Motokawa *et al.* (2001)確認其種類。緬甸小鼠在分類上屬於鼠科(Murinae)、家鼠屬(*Rattus*)，其全球分布範圍僅次於小家鼠(*Mus musculus*)、家鼠(*R. rattus*)與溝鼠(*R. norvegicus*)，是分布第四廣泛的鼠種(Wodzicki and Taylor 1984)，主要廣布

於東南亞及大洋洲上各島嶼之亞熱帶及熱帶地區(Wirtz 1973; Corbet and Hill 1992)，台灣及琉球(Ryukyus)則是在近幾年才確認有緬甸小鼠的蹤跡(陳及高 2001; Motokawa *et al.* 2001)。

成熟緬甸小鼠的頭軀幹長約 11.5- 15 cm，尾長約與頭軀幹長相等，後腳長約 23 mm，平均體重為 36-80g (Lekagul and McNeely 1988; Tobin 1994)。小鼠的生殖表現因地理區的不同而有變化(Wirtz 1972; Tobin 1994)，入侵台灣花蓮地區之緬甸小鼠則在春季與夏季時處生殖狀況之個體的比例較高(吳海音，未發表資料)，懷孕雌鼠的胚胎數在 1-7 隻間，以 4-5 個胚胎

較為常見(吳等 2003)。緬甸小鼠偏好人類活動造成與維持的多類環境,包括住家、穀倉、耕地、灌叢、林地邊緣(Musser and Newcomb 1983; Wodzicki and Taylor 1984; Corbet and Hill 1992)。其於台灣主要棲息於植被高度 1m 以下,且植被組成以非禾本科草本植物為主的休廢耕草地(吳等 2001)。

由田野調查中捕獲之緬甸小鼠數量及年齡判析,此種鼠類侵入花蓮縣吉安鄉已有一段時間,並已建立繁殖族群(盧及徐 2003)。後續相關單位的調查結果顯示,緬甸小鼠並未出現於台灣各主要港埠區的週邊,而其在花蓮的分布則局限在吉安溪、台九線、木瓜溪與花蓮海岸間,包括吉安鄉台九線以東的永興村、稻香村、仁和村、仁安村與干城村域內(吳等 2001)。2004 與 2005 年的監測調查則發現,緬甸小鼠的分布已擴展至吉安鄉台九線以西與壽豐鄉木瓜溪以南一帶(吳海音,未發表資料)。

在分子生態學的相關研究中,DNA 序列分析是目前常用的技術。大多數生物粒線體 DNA 具有母系遺傳的特性,且單一細胞內的分子套數為核 DNA 的 500-1,000 倍。配合 PCR 技術的使用,粒線體 DNA 序列成為研究族群結構、類緣關係、生物地理、生態保育等領域最適用的遺傳標幟之一(Avise and Walker 1998; Emerson 2002; Wan *et al.* 2004; Ballard and Rand 2005)。雖然目前取得 DNA 序列不再那樣昂貴和耗時,但這仍是大部分研究中的一個限制步驟。在採用 DNA 序列分析法來研究族群遺傳結構時,常需要較多的樣本數,然而在這種研究尺度下,大部分的個體可能攜帶相同的 DNA 序列,逐一定序的花費不貲。此時即可應用 DNA 單股構造多態性(single-strand conformation polymorphism, SSCP)此一簡單、便宜、且可靈敏的偵測出不同序列的技術,以有效減少需要定序的樣本數量(Sunnucks *et al.* 2000)。

簡單來說,SSCP 利用聚丙烯醯胺凝膠 (polyacrylamide gel, PAGE) 電泳,區分因鹼基序列不同而三級摺疊結構相異的單股 DNA,使之在膠體上呈現不同的片段模式(Hayashi 1991)。將 SSCP 應用於檢測 PCR 產物的序列變異,稱為 PCR-SSCP 分析,能進一步提升檢測的簡便性和靈敏性。PCR-SSCP 的敏感性與分析片段的長度大小成反比(Girman 1996),雖然過去研究結果顯示,SSCP 可區分出序列長度達 775 個鹼基之單股 DNA 小分子上的單一鹼基變異(Orti *et al.* 1997),但一般多應用於區分長度小於 400 個鹼基的單股 DNA 小分子上。配合一般族群層次之分子生態研究選擇的分子標幟多為變異程度大的短 DNA 片段來看,PCR-SSCP 可說是極適當的應用技術。

吳等(2001)曾利用捕獲到緬甸小鼠的組織,進行粒線體 DNA 控制區(control region) 276 個鹼基序列分析,並與 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 核酸序列資料庫中的資料比對,結果除了肯定早先其他學者利用形態所做的分類鑑定(Motokawa *et al.* 2001),更在所定序的 35 隻個體中歸類出 7 種基因型,且最接近 NCBI 資料庫中採集自紐西蘭地區樣本的序列。由於該研究中所定序的樣本數量有限,且當時 NCBI 資料庫與相關文獻中可供比對的序列樣本多採樣於紐西蘭及大洋洲各島嶼(Matisoo-Smith *et al.* 1998),缺乏東南亞大陸及週邊島嶼區域的樣本,因此比較後所得之結果有限。本研究延續之前的研究,使用過往採集到的緬甸小鼠樣本,以 PCR-SSCP 技術普查粒線體 DNA 控制區域單倍基因型有多少種片段模式,針對不同的片段模式進行定序,並與 NCBI 序列資料庫中晚近增添之序列比對分析,以探尋台灣緬甸小鼠的可能來源。此外,將進一步分析採樣區域粒線體 DNA 基因型的歧異度及分布狀況,藉以探討此外來族群侵入台灣後的擴散模式。

材料與方法

一、研究材料

研究材料為 2001 年及 2003 年間，在花蓮縣吉安鄉進行緬甸小鼠捕捉監測時所捕獲的樣本。捕捉採樣的方法是先將樣區劃分為 95 個 500m×500m 的方格區塊，2001 年時在每一個方格內選擇一塊草地設置捕捉樣站，扣除中華紙漿廠與光榮砂石專業區等無法設置樣站的方格外，共計 91 處草地樣站，另於樣區內選擇 10 處的樹林樣站；2003 年時在各方格內選擇一樹林或草地設置樣站，共計 92 處。捕捉樣站的設置參考 Bowman *et al.* (2001)，在選取的樣站中心，以十字形放置薛門氏鼠籠(Sherman's Live Trap, 26 cm×8 cm×10 cm) 5 個，每站進行 1 次連續 3 晚的捕捉。2003 年中，在對全樣區系統取樣捕捉後，另對捕獲量較高的兩方格區塊及中華紙漿廠區分別進行 110 與 195 籠次的捕捉。兩年度的捕捉努力量分別為 1,515 與 1,685 籠次，兩年度的捕捉個體各為 100 及 80 隻，共計 180 隻。對捕獲的鼠隻樣本，依吳等(2003)建立的成幼體判別標準，將體重在 25g 以上的雄鼠，22g 以上的雌鼠判為成體。捕捉到的個體取肌肉組織樣本，以酒精及 STE 溶液保存，以備 DNA 萃取之用。

二、粒線體 DNA 控制區域基因型分析

本研究將採集到的緬甸小鼠組織樣本均質後萃取粗 DNA，並根據先前研究所定之粒線體 DNA 控制區域序列(吳等 2001)設計 PCR 引子組，以 LR-SSCP (5'-CCCCAAGCATATAAG-CATGT-3') 及 HR-SSCP (5'-CGTCCCTCTTA-AATAAG ACATCTCG-3') 進行 PCR，增幅出長度為 372 個鹼基對的 PCR 片段。PCR 產物經鹼解後，以濃度 8 % 的 PAGE 進行 13-16 hr 之單股 DNA 片段低溫直立式電泳。電泳後的 PAGE 膠體以銀染法呈現 SSCP 片段模式，並將膠體乾燥保存，以供資料判別。將不同的

SSCP 片段模式判定為不同的粒線體 DNA 控制區域單倍基因型，對出現個體數目較多的基因型，隨機挑選 15 - 20% 的個體，而出現個體數目較少的基因型，則選取全數個體，利用前述的引子組對這些個體的基因型進行定序，以檢視相同基因型的序列是否相同，藉此確認 SSCP 結果的可信度。

以 MEGA 3.1 軟體(Kumar *et al.* 2003)計算各基因型序列(長度為 372 個鹼基對)間的鹼基差異數目及遺傳距離(Tamura-Nei Distance)。為判別台灣外來種緬甸小鼠的可能來源，將本研究定序出的粒線體 DNA 控制區域序列與 NCBI 資料庫中 Matisoo-Smith and Robins (2004) 發表的 32 種緬甸小鼠序列(R1-R25 及 R27-R33, AY604202-AY604233)，經序列排列比對(alignment)後，選取落在粒線體 DNA 控制區域高變異區(hyper variable region I, HVR I)內長度為 174 個鹼基對的序列，利用 MEGA 3.1 軟體以鄰聚法(neighbor-joining method)建構關係樹型圖，並以 Bootstrap (1,000 次)檢驗分群的可信度，以觀察台灣外來種緬甸小鼠與這些序列間的相似程度，藉此推測其來源地。另外，依照 Matisoo-Smith and Robins (2004) 對這些基因型區分出的分群模式，包括東南亞群(Southeast Asian Haplogroup)、東南亞及近大洋洲群(Southeast Asian & Near Oceanic Haplogroup)、遠大洋洲群(Remote Oceanic Haplogroup) 及僅有一基因型的泰國分支，並將台灣的緬甸小鼠視為一群，計算 5 組資料的群內及群間平均鹼基差異數目及遺傳距離，以比對目前台灣外來緬甸小鼠的遺傳變異程度。

三、粒線體 DNA 控制區域基因型的空間分布

為檢視緬甸小鼠不同粒線體 DNA 控制區域基因型在研究區內的空間分布，以捕捉採樣之方格系統的方格為單位，將兩年間自同一方格不同樣站的捕捉資料加以合併，計算各方格內不同基因型的頻度。以吳逸華(2003)修改姜

聖華(2000)的研究區道路圖層為底圖，利用 ArcView 3.0 將各方格內不同基因型的頻度分布圓形圖套疊其上。

結 果

2001 年及 2003 年捕獲的 180 隻緬甸小鼠中，包括雄鼠 102 隻，雌鼠 78 隻，雄鼠數量略多於雌鼠，但性比未偏離 1:1 ($p = 0.074$)。其中雄性成鼠有 99 隻，最大體重為 67g，平均體重 41.1g (SD = 10.1g)，雌性成鼠有 68 隻，最大體重為 54g，平均體重 36g (SD = 6.8g)，成熟雄鼠的體重顯著大於成熟雌鼠($p < 0.01$)。

以 PCR-SSCP 分析 180 隻緬甸小鼠的粒線體 DNA 控制區域片段，共分辨出 4 種 SSCP 片段模式，分別有 123、53、2 及 2 隻樣本，取其中的 24、8、2 及 2 隻個體進行定序(共 36 隻個體)，經定序後確認為 4 種不同的粒線體 DNA 控制區域單倍基因型，且相同 SSCP 片段模式之樣本定序出的序列均相同。以發現的先後順序將之命名為 Type I、Type II、Type III 及 Type IV。在攜帶 Type I 基因型的 123 隻個體中有 74

隻雄鼠，49 隻雌鼠；攜帶 Type II 的 53 隻個體中有 25 隻雄鼠，28 隻雌鼠；攜帶 Type III 的 2 隻個體為 1 隻雄鼠及 1 隻雌鼠；攜帶 Type IV 的僅有 2 隻雄鼠。由所定序的 372 個鹼基對來看，各基因型間的鹼基差異數目介於 5-12 個鹼基對(表 1)，其中 Type III 和 Type IV 間的差異性最大(相差 12 個鹼基對)，而 Type I 和 Type II 間的差異性最小(相差 5 個鹼基對)。4 種基因型間以 Tamura-Nei 方法所計算出的遺傳距離介於 0.014-0.034 間(表 1)。

將本研究所發現的 4 種基因型與 NCBI 資料庫中的 32 種緬甸小鼠粒線體 DNA 控制區域單倍基因型重新建構樹型圖(圖 1)後發現，樹型圖的主要分群結構分為東南亞群、東南亞及近大洋洲群及遠大洋洲群 3 個有效分群(Bootstrap=84-96%)與泰國分支。在台灣緬甸小鼠的 4 個基因型中，Type I 與採樣自泰國的緬甸小鼠序列(R33)完全相同，Type IV 與採樣自蘇拉維西的小鼠序列(R5)僅相差 1 個鹼基對，而 Type II 及 III 則各自成單獨分支，但與東南亞區域的樣本序列較為接近。

表 1. 台灣地區緬甸小鼠粒線體 DNA 控制區域 4 種單倍基因型間的鹼基差異數目(左下)及以 Tamura-Nei 方法計算出來之遺傳距離(右上)

Table 1. Nucleotide differences (below diagonal) and Tamura-Nei genetic distances (above diagonal) among four mtDNA haplotypes (Types I-IV) of *Rattus exulans* in Taiwan

Haplotypes	Type I	Type II	Type III	Type IV
Type I	-	0.014	0.022	0.028
Type II	5	-	0.025	0.025
Type III	8	9	-	0.034
Type IV	10	9	12	-

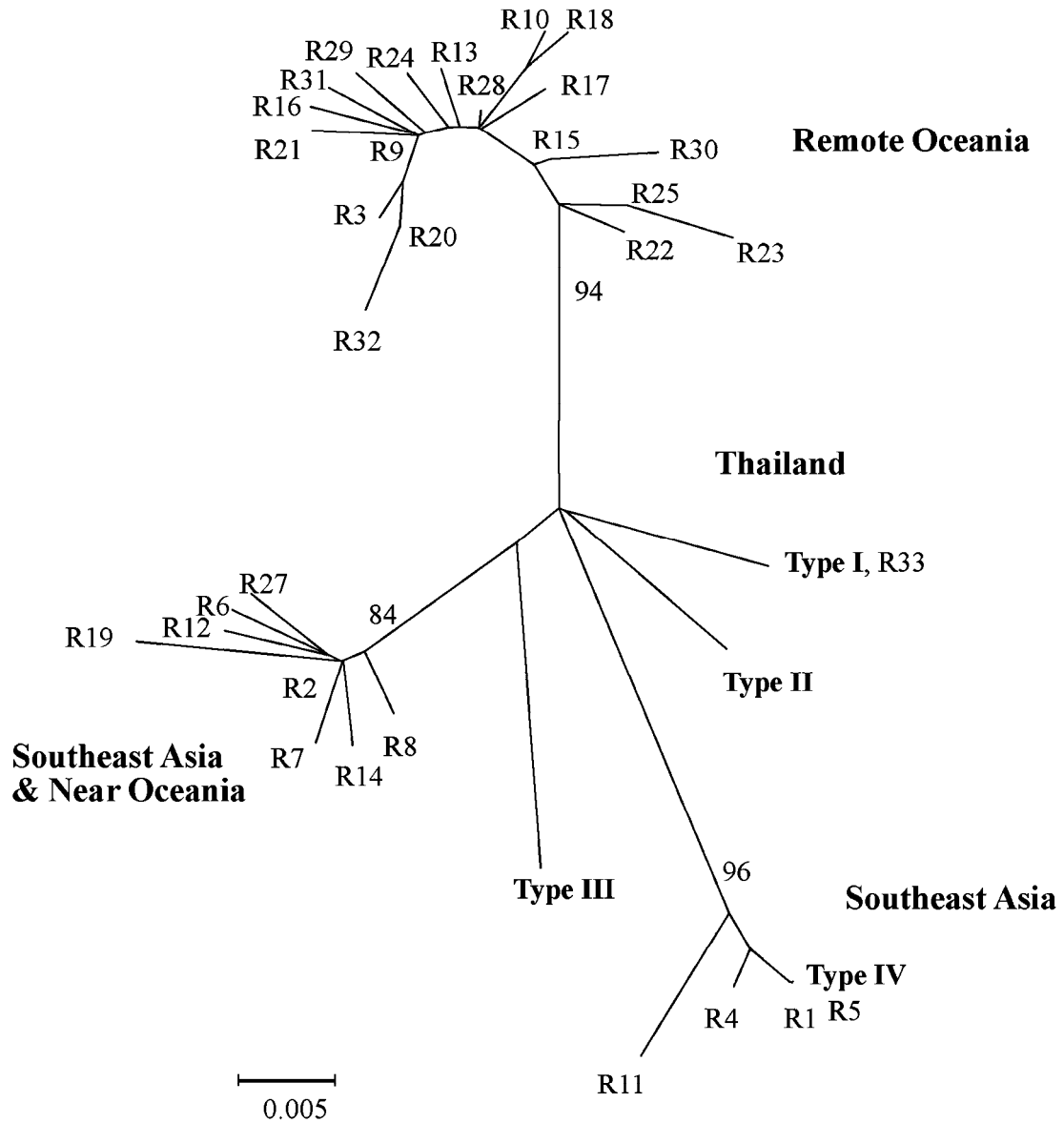


圖 1. 緬甸小鼠(*Rattus exulans*)粒線體 DNA 控制區域 4 種單倍基因型(Types I-IV)，與 NCBI 核酸序列資料庫中 32 種緬甸小鼠基因型(R1-R25 與 R27-R33)間以鄰聚法(neighbor-joining method)建構之親緣關係圖。

Fig. 1. Phylogenetic relationships expressed by a neighbor-joining network among four mtDNA haplotypes (Types I-IV) of *Rattus exulans* from Hualien, Taiwan and 32 haplotypes of those reported from Southeast Asia, Southeast Asia and Near Oceania, and Remote Oceania by NCBI (R1-R25 and R27-R33).

表 2. 台灣地區緬甸小鼠與 Matisoo-Smith and Robins (2004) 提出之緬甸小鼠粒線體 DNA 基因型分群間，群內與群間的平均鹼基差異 (左下) 及以 Tamura-Nei 方法計算出的遺傳距離 (右上)

Table 2. Mean nucleotide differences (below diagonal) and Tamura-Nei genetic distances (above diagonal) of mtDNA haplogroup of Taiwan and those from Southeast Asia, Southeast Asia and Near Oceania, Remote Oceania, and Thailand proposed by Matisoo-Smith and Robins (2004)

Haplogroups	1	2	3	4	5
1. Taiwan	6.8/0.043	0.039	0.040	0.052	0.026
2. Southeast Asia	6.3	1.7/0.010	0.057	0.066	0.047
3. Southeast Asia & Near Oceania	6.4	9.0	2.4/0.015	0.051	0.029
4. Remote Oceania	8.5	10.7	8.2	2.0/0.012	0.045
5. Thailand	4.3	7.5	4.8	7.3	0/0

計算 Matisoo-Smith and Robins (2004) 的基因型分群 (東南亞群、東南亞與近大洋洲群、遠大洋洲群及泰國)，及台灣緬甸小鼠群 5 組資料的群間及群內平均鹼基對差異數及遺傳距離，結果顯示台灣緬甸小鼠 4 個基因型的群內平均鹼基差異數 (6.8) 與遺傳距離 (0.043) 遠大於其他 3 群區域族群群內的差異 (鹼基差異數，1.7-2.4；遺傳距離，0.010-0.015)，而與這 3 個區域族群群間的差異 (鹼基差異數，8.2-10.7；遺傳距離，0.051-0.066) 較相似 (表 2)。

檢視小鼠各基因型在樣區的空間分布，可發現數量最多之基因型 Type I 和 Type II 的分布也最廣 (圖 2)。在總數 95 個採樣方格內，共有 44 個方格內捕捉到緬甸小鼠，而 Type I 及 Type II 分別出現於 40 及 14 個方格，且兩者的分布具重疊性，同時出現在 10 個方格中。若以中華紙漿廠為中心，則鄰近紙漿廠的採樣點多為兩基因型分布重疊區，而距離紙漿廠較遠的採樣點則多僅有 Type I 的分布。數量最少的 Type III 和 Type IV 基因型，則各自局限在單一方格，且與 Type I 或 Type I、II 共存。

討 論

由台灣及 NCBI 資料庫中緬甸小鼠序列比對結果顯示，台灣外來種緬甸小鼠與東南亞大陸以及鄰近大陸之島嶼區族群的類緣關係較為接近 (圖 1)。且台灣所發現的 4 種緬甸小鼠基因型，其群內平均鹼基差異數與遺傳距離遠大於其他 3 群區域族群群內的差異，而與這 3 個區域族群群間的差異較相似 (表 2)。由以上結果推測，目前在台灣所發現的緬甸小鼠，其來源可能並不僅止於單一族群，而是來自數個區域族群，或是來自一個擁有多重來源的混合族群。由於台灣常自東南亞各國進口原木或造紙用木料，因此緬甸小鼠可能是在運輸木材的過程中經貨船挾帶進入台灣。

本研究發現攜帶基因型 Type I 和 Type II 的小鼠隻數最多，且分布範圍相對來說較為廣泛，因此我們推測攜帶 Type I 和 Type II 之小鼠可能為較早入侵台灣之族群，其入侵後能適應台灣的棲地環境，因此逐步擴散範圍。由圖 2 可見攜帶基因型 Type II 小鼠的分布區域多與 Type I 重疊，顯示帶有兩種不同基因型的入侵者在進入台灣後，具有類似的播遷模式。這同時也顯示，攜帶這兩種基因型的小鼠可能侵入台灣的時間點很接近，有可能 Type I 先入侵，Type II 隨後入侵。但也不排除兩者同時入侵

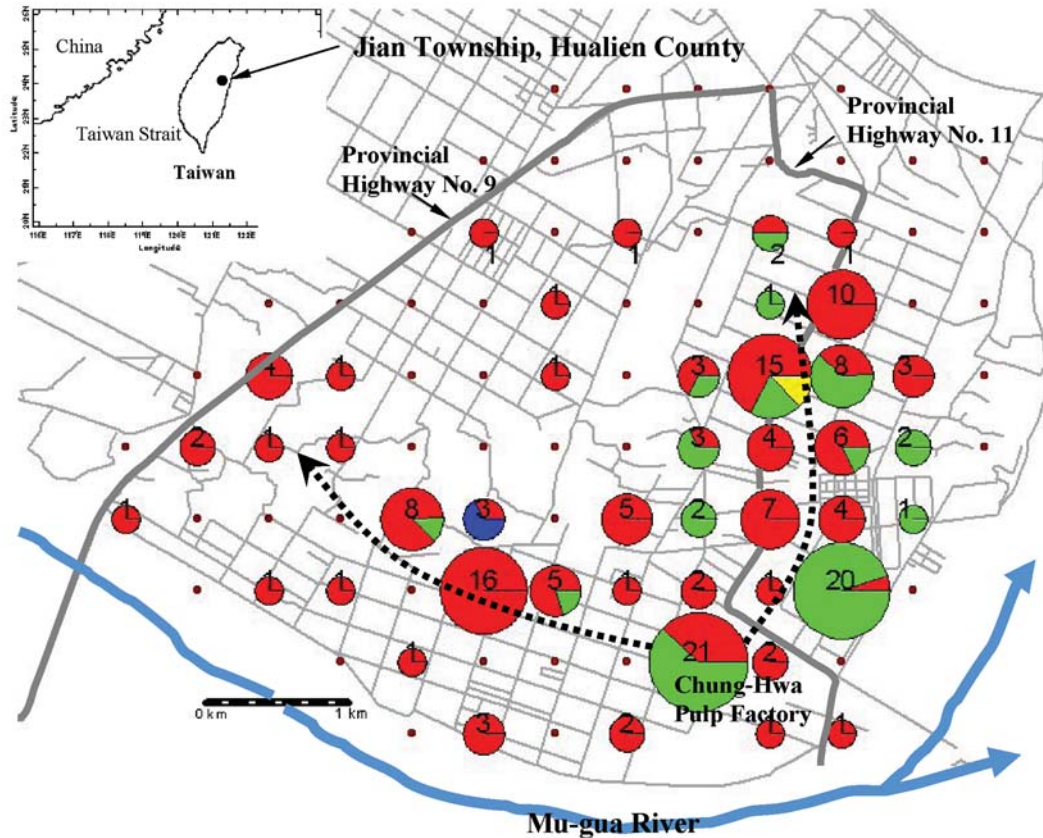


圖 2. 花蓮縣吉安鄉緬甸小鼠(*Rattus exulans*)粒線體DNA控制區域4種單倍基因型分布模式。圓形圖為在每個方格捕獲緬甸小鼠樣本中不同基因型的頻度分布，紅色為基因型 Type I、綠色為 Type II、深藍色為 Type III、黃色為 Type IV，數字代表各採樣區內的樣本數。未捕獲緬甸小鼠的方格以棕色點表示。由基因型分布模式推論，緬甸小鼠可能由中華紙漿廠逐漸向北及向西擴散至紙漿廠週邊(如虛線箭頭所示)。

Fig. 2. Distribution patterns of four mtDNA haplotypes (Types I-IV) of *Rattus exulans* in Jian Township, Hualien County (pies, haplotypic frequencies of rats captured at each of the sampling locations; red, green, blue, and yellow, respectively, Types I, II, III and IV; dotted lines with arrow heads, hypothesized directions of range expansion of the rats from the Chung-Hwa Pulp Factory).

的可能，只是入侵的起始族群攜帶兩種基因型的個體數量或入侵後的生殖成功率有差異，使得 Type I 母系族群成長較快而分布範圍較 Type II 母系群廣。此外，由兩種基因型間的差異來看(兩基因型差 5 個鹼基對，遺傳距離

為 0.014，表 1)，攜帶這兩種基因型的小鼠有可能皆來自東南亞鄰近泰國的區域。相對於 Type I 和 Type II 而言，攜帶基因型 Type III 和 Type IV 的小鼠個體數甚少(Type III & IV/Type I & II = 4 / 176)，僅於 2001 年採集到，且兩

種基因型分布均局限於單一採樣點。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局為防治此外來種的入侵，曾於 2002 年提撥經費在花蓮縣吉安鄉進行滅鼠活動。經過此滅鼠活動後，2003 年並未再採集到這兩種基因型，因此推測帶有這兩種基因型的個體可能為較晚近才入侵的小族群，族群尚未開始擴散即因滅鼠活動而降至極少數甚或滅絕。

從基因型分布的模式來看，中華紙漿廠週邊的住宅區或農地等採樣點，多為 Type I 及 II 分布的重疊區，而在距離紙漿廠較遠之區域採樣到的小鼠數量較少，基因型也減少為單一型，且多為 Type I (圖 2)。因此，我們推測中華紙漿廠可能為攜帶這兩種基因型之緬甸小鼠族群向外擴散的源頭。由於緬甸小鼠可能是在運送木材的過程中被挾帶入台灣，推測紙漿廠為小鼠族群擴散的源頭實屬合理。自基因型分布的模式也可發現，小鼠族群可能自紙漿廠分別向北及向西往紙漿廠週邊逐漸擴張，這兩個擴散方向的棲地具有較高比例的雜林及長期休耕的荒地，而雜林及荒地是緬甸小鼠較偏好的棲地型態(吳 2003)。至於攜帶 Type III 及 Type IV 的緬甸小鼠由於個體數量太少，難以判定兩種基因型的擴散來源是否即為其採樣點。

本研究採用 PCR-SSCP 技術檢測台灣外來種緬甸小鼠的遺傳結構，這個方法雖然簡易且便宜，但亦有不足之處，如只能作為一種變異檢測方法，要確定變異的位置和類型，還需進一步定序，且電泳條件要求較嚴格，及當某些位置的點突變對單鏈 DNA 分子架構的改變不起作用或作用很小時，有可能使 PAGE 無法偵測出基因型有差異。儘管如此，和其他方法相比，此方法在分子生態研究的應用領域上仍具優勢，能以低實驗耗費來普查大量樣本，並能偵測出族群中大部分的變異(通常>90%) (Girman 1996; Mitterski *et al.* 2000; Sunnucks *et al.* 2000)。偵測序列變異的敏感性能因為修改實驗上的一些細節而改善，必要時，可藉由改變溫度、膠

體組成、電泳緩衝液成分和跑膠狀態來改善實驗結果(Hayashi 1991; Hayashi and Yandell 1993; Liu *et al.* 1999; Nataraj *et al.* 1999; Yip *et al.* 1999; Sunnucks *et al.* 2000)。當實驗結果的敏感度提高後，SSCP 甚至可應用來重複檢驗定序結果的正確性。吳等(2001)依核酸定序後所發表的 7 種緬甸小鼠粒線體基因型(Type-1, Type-1', Type-1'', Type-2, Type-3, Type-3' 及 Type-4)，經 SSCP 重複檢驗後發現這 7 種基因型僅具有 3 種 SSCP 片段模式。經重複定序當時被判定為攜帶這些基因型的緬甸小鼠樣本後，發現有 4 種為電腦判別定序鹼基錯誤而誤判的基因型(Type-1', Type-1'', Type-3', Type-4)，其中 Type-1' 及 Type-1'' 與 Type-1 相同，Type-3' 與 Type-3 相同，而 Type-4 與 Type-2 相同。由上述情況可知，核酸定序未經多次的重複確認，結果不必然正確。但是敏感度高的 SSCP 技術，在判別大量樣本中具有幾種不同基因型上，錯誤率極低，例如在本研究中並未發現相同的 SSCP 片段模式具有不同的鹼基序列。因此在族群尺度的分子生態研究上，PCR-SSCP 可算是初步性普查的最佳技術，值得未來研究推廣使用。

謝 誌

本研究承蒙農業委員會動植物防疫檢疫局提供田野調查的研究經費，農業藥物毒物試驗所、花蓮區農業改良廠及花蓮港疾病管制局等單位，提供協助與指導，及國科會計畫(NSC-94-2313-B-002-06、92-2621-B-002-01)提供分子實驗之經費補助，在此一併致謝。

引用文獻

吳海音、吳逸華、儲瑞華、林曜松。2001。緬甸小鼠在台灣之發生與防治。植保會刊 43: 205-214。

- 吳海音、盧高宏、徐保雄、吳逸華。2003。緬甸小鼠之防治。入侵種生物管理研討會論文集。267-274 頁。
- 吳逸華。2003。外來種緬甸小鼠於兩種尺度中的棲地利用。國立東華大學自然資源管理研究所碩士論文。
- 姜聖華。2000。花蓮地區都市擴張行為之研究。國立東華大學自然資源管理研究所碩士論文。
- 陳保良、高清文。2001。台灣地區野鼠之防治。農政與農情 105: 60-62。
- 盧高宏、徐保雄。2003。緬甸小鼠(*Rattus exulans* Peale)之棲群分布。植保會刊 45: 163-167。
- Avise, J. C. and D. Walker. 1998. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 265: 457-463.
- Ballard, J. W. O. and D. M. Rand. 2005. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 36: 621-642.
- Bowman, J., C. V. Corkum and G. J. Forbes. 2001. Spatial scales of trapping in small-mammal research. *Canadian Field-Naturalist* 115: 472-475.
- Corbet, G. B. and J. E. Hill. 1992. *The mammals of the Indomalayan region*. Oxford University Press, New York.
- Emerson, B. C. 2002. Evolution on oceanic islands: Molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular Ecology* 11: 951-966.
- Girman, D. 1996. The use of PCR-based single-stranded conformation polymorphism analysis (SSCP-PCR) in conservation genetics. pp. 167-182. *In*: Smith, T. B. and R. K. Wayne (eds.). *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press, Oxford.
- Hayashi, K. 1991. PCR-SSCP: A simple and sensitive method for detection of mutation in the genomic DNA. *PCR Methods and Applications* 1: 34-38.
- Hayashi, K. and D. W. Yandell. 1993. How sensitive is PCR-SSCP?. *Human Mutation* 2: 338-346.
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei. 2003. MEGA3: An integrated software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment. *Integrative and Comparative Biology* 43: 947-947.
- Lekagul, B. and J. A. McNeely. 1988. *Mammals of Thailand*. Darnsutha Press, Bangkok.
- Liu, Q., J. Feng, C. Buzin, C. Wen, G. Nozari, A. Mengos, V. Nguyen, J. Liu, L. Crawford, F. K. Fujimura and S. S. Sommer. 1999. Detection of virtually all mutations-SSCP (DOVAM-S): A rapid method for mutation scanning with virtually 100% sensitivity. *Biotechniques* 26: 932.
- Matisoo-Smith, E., R. M. Roberts, G. J. Irwin, J. S. Allen, D. Penny and D. M. Lambert. 1998. Patterns of prehistoric human mobility in Polynesia indicated by mtDNA from the Pacific rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 15145-15150.
- Matisoo-Smith, E. and J. H. Robins. 2004. Origins and dispersals of Pacific peoples: Evidence from mtDNA phylogenies of the Pacific rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 9167-9172.
- Miterski, B., R. Kruger, P. Wintermeyer and J. T. Eppelen. 2000. PCR/SSCP detects reliably and efficiently DNA sequence variations in

- large scale screening projects. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 3: 211-218.
- Motokawa, M., K. H. Lu, M. Harada and L. K. Lin. 2001. New records of the Polynesian rat *Rattus exulans* (Mammalia : Rodentia) from Taiwan and the Ryukyus. *Zoological Studies* 40: 299-304.
- Musser, G. G. and C. Newcomb. 1983. Malaysian murids and the giant rat of Sumatra. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 174: 327-598.
- Nataraj, A. J., I. Olivos-Glander, N. Kusukawa and W. E. Highsmith. 1999. Single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for gel-based mutation detection. *Electrophoresis* 20: 1177-1185.
- Orti, G., M. P. Hare and J. C. Avise. 1997. Detection and isolation of nuclear haplotypes by PCR-SSCP. *Molecular Ecology* 6: 575-580.
- Sunnucks, P., A. C. C. Wilson, L. B. Beheregaray, K. Zenger, J. French and A. C. Taylor. 2000. SSCP is not so difficult: The application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology* 9: 1699-1710.
- Tobin, M. E. 1994. Polynesian rats. pp.121-124. *In: Hygnstrom, S. E., R. M. Timm and G. E. Larson (eds.). Prevention and control of wildlife damage. University of Nebraska, Lincoln.*
- Wan, Q. H., H. Wu, T. Fujihara and S. G. Fang. 2004. Which genetic marker for which conservation genetics issue?. *Electrophoresis* 25: 2165-2176.
- Wirtz, W. O. I. 1972. Population ecology of the Polynesian rat, *Rattus exulans*, on Kure Atoll, Hawaii. *Pacific Science* 26: 433-464.
- Wirtz, W. O. I. 1973. Growth and development of *Rattus exulans*. *Journal of Mammalogy* 54: 189-202.
- Wodzicki, K. and R. H. Taylor. 1984. Distribution and status of the Polynesian rat *Rattus exulans*. *Acta Zoolgica Fennica* 172: 99-101.
- Yip, S. P., D. A. Hopkinson and D. B. Whitehouse. 1999. Improvement of SSCP analysis by use of denaturants. *Biotechniques* 27: 20-24.