

目 錄

二種腹菌類(擔子菌)的台灣新記錄.....	周文能	169
四種不同光適應性蕨類植物於光誘導期間之能量消散與光抑制.....	翁韶良、陳忠偉、翁仁憲	173
毒鼠藥對壽山地區台灣獼猴(<i>Macaca cyclopis</i>)之危害.....	陳貞志、章愛梅、裴家騏	191
壽山台灣獼猴(<i>Macaca cyclopis</i>)腸道線蟲的種類及分布.....	陳貞志、章愛梅、陳彥涵、裴家騏	203
食肉目動物快速調查.....	姚正得、林明璋、林宏儒	217
生物多樣性熱點之推估：以台灣特有鳥種為例.....	呂明倫	231

行政院農業委員會特有生物研究保育中心 編印
Published by Endemic Species Research Institute,
Council of Agriculture, Taiwan, R. O. C.



台灣生物多樣性研究 Taiwan Journal of Biodiversity

第 18 卷第 3 期 | 中華民國105年7月
Vol.18, No.3 | July 2016





封面圖說／

中海拔試驗站以自動相機配合氣味進行食肉目動物快速調查，其中山羊經常被記錄到。

(姚正得 提供)

台灣生物多樣性研究

(原為《特有生物研究》半年刊，2010年元月起更名，並以季刊發行)

發行人／方國運

總編輯／許再文

執行編輯／(依姓氏筆劃序)

何健銘、李麗華、林瑞興、林春富
許再文、陳志輝、張和明、范素瑋
詹芳澤、鄭錫奇、薛美莉

編輯諮詢委員／(依姓氏筆劃序)

于宏燦、方力行、王 穎、王震哲
王 鑫、呂光洋、呂福原、李玲玲
汪靜明、周昌弘、吳忠宏、吳錫圭
吳繼光、邵廣昭、林幸助、林曜松
郭城孟、陳明義、陳章波、許建昌
張清風、黃 生、游祥平、彭鏡毅
楊平世、楊政川、廖一久、裴家騏
趙榮台、劉小如、蔡住發、鄭蕙燕
歐辰雄、蔣鎮宇

英文編輯／金恒鏢

出版編輯／李麗華

出版／農委會特有生物研究保育中心

住址／南投縣集集鎮55244民生東路1號

電話／049-2761331 轉 315

網址／http://www.tesri.gov.tw

印刷／綠凌興業社

出版日期／中華民國 105 年 7 月

創刊日期／中華民國 88 年元月

出版登記／局版台誌第 10207 號

Taiwan Journal of Biodiversity

(Continuation of former journal of “Endemic Species Research”, 1999-2009)

Publisher / Kuo-Yun Fang

Editor-in-chief / Tsai-Wen Hsu

Executive Editors /

Jen-Zon Ho, Li-Hua Lee,
Ruey-Shing Lin, Chun-Fu Lin,
Tsai-Wen Hsu, Chih-Hui Chen,
Ho-Ming Chang, Su-Wei Fan,
Fang-Tse Chan, His-Chi Cheng,
May-Li Hshiu,

Editorial Board /

Hon-Tsen Yu, Lee-Shing Fang,
Ying Wang, Jenn-Che Wang,
Shin Wang, Kuang-Yang Lue,
Fu-Yuan Lue, Ling-Ling Lee,
Ching-Ming Wang, Chang-Hung Chou,
Homer C. Wu, Shi-Kuei Wu,
Chi-Guang Wu, Kwang-Tsao Shao,
Hsing-Juh Lin, Yao-Sung Lin,
Chen-Meng Kuo, Ming-Yih Chen,
Chang-Po Chen, Chien-Chang Hsu,
Ching-Fong Chang, Shong Huang,
Hsiang-Ping Yu, Ching-I Peng,
Ping-Shih Yang, Jeng-Chuan Yang,
I-Chiu Liao, Kurtis Jai-Chyi Pei,
Jung-Tai Chao, Lucia Liu Severinghaus,
Chu-Fa Tsai, Huei-Yann Joann Jeng,
Chern-Hsiung Ou, Tzen-Yuh Chiang

English Editor / Hen-Biau King

Publication Editor / Li-Hua Lee

Published by Endemic Species Research Institute

1 Ming-Shen E. Road, Jiji, Nantou 55244,
Taiwan, R.O.C.

Tel: 886-49-2761331 ext. 315

http://tesri.tesri.gov.tw

Published Date: July 2016

GPN: 2009900002

ISSN: 2076-6971

Contents

Two Species of Hypogeous Gasteroid Fungi (Basidiomycota) New to Taiwan.....	
.....Wen-Neng Chou	169
Energy Quenching and Photoinhibition during Light Induction in Four Fern Species	
Adapted to Different Light Regimes.....	
.....Shau-Lian Wong, Chung-Wei Che and Jen-Hsien Weng	173
Threats of Anticoagulant Rodenticides to Free-range Formosan Macaques (<i>Macaca cyclopis</i>) in Shoushan.....	Chen-Chih Chen, Ai-Mei Chang, Kurtis Jai-Chyi Pei 191
Intestinal Nematodes in Taiwanese Macaques (<i>Macaca cyclopis</i>) and Distribution in Shoushan.....	
.....Chen-Chih Chen, Ai-Mei Chang, Yen-Han Chen, Kurtis Jai-Chyi Pei	203
Quick Survey of Carnivores.....	Cheng-Te Yao, Ming-Chang Lin and Hung-Ju Lin 217
Estimating Biodiversity Hotspot: A CaseStudy of Endemic Bird Species in Taiwan	
.....Ming-Lun Lu	231

Two Species of Hypogeous Gasteroid Fungi (Basidiomycota) New to Taiwan

二種腹菌類(擔子菌)的台灣新記錄

Wen-Neng Chou*

周文能*

National Museum of Natural Science 1, Kuan-Chien Rd, Taichung 404, Taiwan.

國立自然科學博物館 台中市館前路一號 404，台灣

* Corresponding author: cwn@mail.nmns.edu.tw

*通訊作者：cwn@mail.nmns.edu.tw

Abstract

Two species of hypogeous gasteroid fungi are described and illustrated as new records in Taiwan. They are *Descomyces albellus* and *Gymnoglossum connectens*.

摘要

本文描述二種腹菌類的台灣新記錄種。它們分別為小白似圓頭傘腹菌(*Descomyces albellus*) 及連體裸腹菌(*Gymnoglossum connectens*)。

Key words: false truffles, gasteromycetes, hypogeous fungi.

關鍵詞：假松露，腹菌，地下真菌

Received: December 18, 2015

Accepted: June 13, 2016

收件日期：2015 年 12 月 18 日

接受日期：2016 年 06 月 13 日

Introduction

The hypogeous gasteroid basidiomycetes, known as “false truffles” (Dodge & Zeller, 1934), usually inhabit under or on soil surface surrounding Fagaceous and Pinaceous trees. Traditionally, the truffle-like basidiomycetes were placed in the taxonomical class Gasteromycetes, but are now found to be actually closer to different agaricoid groups (Peinter et al. 2001). As such,

the taxonomical term “gasteromycetes” is no longer valid. Two species of hypogeous gasteroid fungi, *Rhizopogon rubescens* and *Hymenogaster arenarius*, are reported in Taiwan (Chou, 2011). Two additional hypogeous species, *Descomyces albellus* and *Gymnoglossum connectens* are found, thus described and illustrated as new records in this paper. Specimens are deposited at the Herbarium of National Museum of Natural Science, Taiwan (TNM).

Taxonomy

Descomyces albellus (Masse & Rodway) Bougher & Castellano, *Mycologia* **85**(2): 282, 1993. (Fig. 1-3)
 ≡ *Hymenogaster albellus* Masse & Rodway, in Masse, Bull. Misc. Inf., Kew: 126, 1898.

Fruit bodies 2–3 cm wide and 1–1.5 cm tall, irregularly tuberous, exoperidium smooth, whitish, spotting gray-red when handled. **Gleba** grayish red-yellow to ochraceous-brown, gleba chambers irregularly daedaleoid. **Spores** broadly fusiform to obovoid, yellowish, smooth or slight roughened, apiculate, bearing a large, cup-like hilar appendix, with irregular, wrinkled utricle, 15–18 × 6.5–8 μm (not counting the utricle). Hyphae with clamps.

Habitat: Hypogeous under *Cyclobalanopsis glauca* tree.

Specimen examined: Nantou: Hoshe (和社), 120°53' E, 23°36' N, elev. 780 m, W. N. Chou, CWN 11030, Nov. 17, 2015.

Distribution: Southern hemisphere, Australia (Bougher and Castellano, 1993), Brazil (Giachini et al., 2000)

Notes: *Descomyces* can be separated from *Hymenogaster* by having distinctive spore morphology and characteristic peridium structure (Bougher and Castellano, 1993). In Australia, this species is very commonly associated with *Eucalyptus* trees (Dodge & Zeller, 1934; Bougher & Castellano, 1993; Liu, 1998). *Descomyces* is phylogenetically related to *Descolea*, thus was placed either in Cortinariaceae or Bolbitiaceae by different researches (Peinter et al. 2001, Tóth et al. 2013).

Gymnoglossum connectens (Bucholtz) Zeller, *Mycologia* **40**(6): 643, 1948. (Fig. 4-6)
 ≡ *Dendrogaster connectens* Bucholtz, *Hedwigia* **40**: 316, 1901.

Fruit bodies 2–4 cm wide and 1–3 cm tall, subglobose, exoperidium smooth, gray-brown.

Gleba grayish red-brown to brown-black, gleba chambers irregularly oblong. **Spores** oblong-ellipsoid, yellowish brown, smooth, with irregular, apparently, saccate utricle, short-apiculate, with narrow base, $20\text{--}25 \times 8\text{--}10 \mu\text{m}$. Basidia capitate, $24\text{--}28 \times 7\text{--}8 \mu\text{m}$, with two sterigmata. Hyphae without clamps.

Habitat: Hypogeous under Fagaceae tree.

Specimen examined: Nantou: Lienhwachih (蓮華池), $120^{\circ}53' \text{ E}$, $23^{\circ}56' \text{ N}$, elev. 700 m, W. N. Chou, CWN 09892, May 25, 2011.

Distribution: Europe, Russia (Smith, 1966).

Notes: This species is similar to *Descomyces albellus* superficially. However, it differs in having larger spores with a prominent utricle (Dodge & Zeller, 1934; Smith, 1966).

References

- Bougher, N.L. and Castellano, M.A., 1993. Delimitation of *Hymenogaster* sensu stricto and four new segregate genera. *Mycologia* 85: 273–293.
- Chou, W. N. 2011. *Hymenogaster arenarius* (Basidiomycotina) new to Taiwan. *Taiwan Journal of Biodiversity*. 13: 265–268.
- Dodge, C.W. and S.M. Zeller, 1934. *Hymenogaster* and related genera. *Ann. Missouri Botanical Garden* 21: 625–708.
- Giachini, A.J., V.L. Oliveira M.A. Castellano and J.M. Trappe 2000. Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. *Mycologia* 92: 1166–1177.
- Liu, B. 1998. *Flora fungorum sinicorum* Vol.7 Hymenogastrales, Melanogastrales et Gautieriales. Science Press, 87pp.
- Peintner, U., N. Bougher, M.A., Castellano, J.-M. Moncalvo, M. M. Moser, J.M. Trappe and R. Vilgaly, 2001. Multiple origins of sequestrate fungi related to *Cortinarius* (Cortinariaceae). *American Journal of Botany* 88: 2168–2179.
- Smith, A.H. 1966. Notes on *Dendrogaster*, *Gymnoglossum*, *Protoglossum*, and species of *Hymenogaster*. *Mycologia* 58: 100–124.
- Tóth, A., A. Hausknecht I. Krisai-Greilhuber, T. Papp, C. Vágvolgyi and L.G. Nagy, 2013. Interactively refined guide trees help improving alignment and phylogenetic inference in the mushroom family Bolbitiaceae. *Plos one* 8(2).
- Zeller, S. M. 1948. Notes on certain Gasteromycetes, including two new orders. *Mycologia* 40: 639–668.

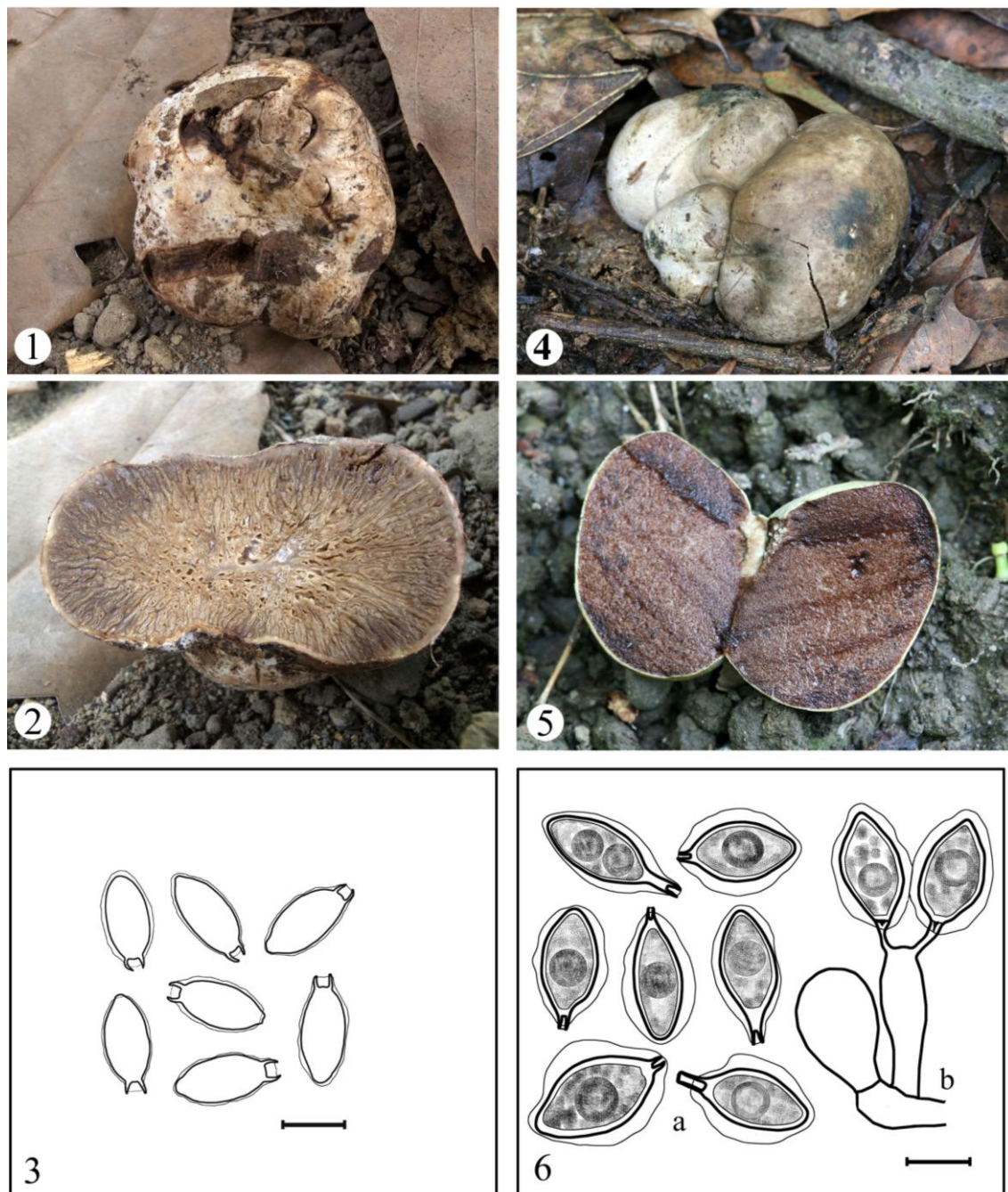


Fig. 1-3. *Descomyces albellus*. **1:** fruit body, **2:** section, **3:** basidiospores.

Fig. 4-6. *Gymnoglossum connectens*. **4:** fruit body, **5:** section, **6:** basidiospores (a) and basidia (b).

Bars=10µm

Energy Quenching and Photoinhibition during Light Induction in Four Fern Species Adapted to Different Light Regimes

四種不同光適應性蕨類植物於光誘導期間之能量消散 與光抑制

Shau-Lian Wong¹, Chung-Wei Chen² and Jen-Hsien Weng^{3,*}

翁韶良¹ 陳忠偉² 翁仁憲^{3,*}

¹ Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

² Dongshih Forest District Office, Taichung, Taiwan

³ China Medical University, Taichung, Taiwan

¹ 行政院農業委員會特有生物研究保育中心

² 行政院農業委員會林務局東勢林區管理處

³ 中國醫藥大學

* Corresponding author: jhweng@mail.cmu.edu.tw

*通訊作者: jhweng@mail.cmu.edu.tw

Abstract

Four ferns with different light adaptation capabilities (ranking from high to low, *Pyrrosia lingus*, *Asplenium antiquum*, *Diplazium donianum*, *Archangiopteris somai*) were used to elucidate energy quenching and photoinhibition during light induction. Pot-grown materials received up to three levels of light intensity, *i.e.*, 100%, 50% and 10% sunlight, according to their light adaptation capabilities. At least six months after light acclimation, plant were illuminated with 50, 100, 300, 500, 1000 and 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux density (PPFD), respectively, for 30 min, and then dark-adapted for 30 min. Chlorophyll fluorescence were recorded just before and every 2–5 min during illumination and darkness. Results showed that the leaves measured under high-light intensity declined more in PSII

efficiency and showed less reversion after dark adapted for 30 min (high photoinhibition). Even though four tested ferns had different capability of light adaptation, when compared to the same level of PPFD, the degree of photoinhibition was only divided into two groups. Among them, *P. lingus* utilized more sunlight with high photosynthetic capacity, while *A. antiquum* and *D. donianum* dissipated more excess light energy through energy-dependent quenching (qE). This showed that three species could maintain a low degree of photoinhibition, and this could possibly be attributed to their adaptation to direct sunlight and sunfleck. In contrast, *A. somai*, a heavy-shade adapted fern, showed low photosynthetic rate as well as qE, hence they had high level of excess energy and low ability of photoprotection, resulting in high degree of photoinhibition.

摘 要

本研究以 4 種不同光適應性之蕨類為材料(光適應性由高至低分別為石葦、山蘇花、細柄雙蓋蕨及台灣原始觀音座蓮)，探討在光度誘導下，其光保護及光抑制之機制。苗木分別培育於全光、50%遮光及 90%遮光 3 種不同光度環境下 6 個月後，以 50、100、300、500、1,000 及 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD 光度各照射 30 分鐘，隨後再暗適應 30 分鐘，於光照前及光照和暗適應過程間每 2-5 分鐘皆紀錄一次葉綠素螢光值。結果顯示，越是陰性物種或於越高光照下測定時，其光照 30 分鐘後之光系統 II 效能($\Phi\text{PSII}_{\text{L30}}$ %)之下降程度越大，且在關燈 30 分鐘後之回復程度也越低，表示越容易受到光抑制。光抑制僅可大約分成二群。石葦因其光合作用能力較高可利用較多的光能，而山蘇花及細柄雙蓋蕨則可藉 qE 消散過多的光能，因此這三種受測之物種可維持低光抑制程度。可能這些物種為了適應棲地直射光照或斑光而造成此等特性。相較之下臺灣原始觀音座蓮係重度偏好陰性之物種，其光合作用能力及 qE 皆較弱，光保護能力低下，因而導致光抑制的程度較高。

Key words: light adaptation, photosynthetic ability, photoprotection, energy quenching, photoinhibition, photosystem II.

關鍵詞：光適應、光合作用能力、光保護、能量消散、光抑制、光系統 II.

Received: February 19, 2016

Accepted: June 13, 2016

收件日期：2016 年 02 月 19 日

接受日期：2016 年 06 月 13 日

Introduction

Sunlight is the energy source for plant photosynthesis and a major environmental factor influencing plant growth and distribution (Boardman 1977; Lambers *et al.* 1998). Plants may show reduced net carbon assimilation and growth if insufficiently exposed to light energy. However, under high irradiance, the light reaction may result in more photon absorbance than the carbon fixation can use, which often leads to photoinhibition of photosynthesis (Demmig-Adams *et al.* 1996; Kato *et al.* 2003; Morosinotto *et al.* 2003). This phenomenon damages the photosystem, especially PSII, because of the formation of toxic photoproducts such as O_2^- , H_2O_2 , and OH^- (Demmig-Adams *et al.* 1996; Kato *et al.* 2003; Adams *et al.* 2004).

To protect the photosynthetic apparatus against photodamage, plants have developed several strategies to balance the captured and consumed photon energy. Xanthophylls cycle-dependent NPQ can play an important role in dissipating the excess energy as heat, thereby decreasing the efficiency of PSII (Demmig-Adams and Adams 1996; Li *et al.* 2000; Adams *et al.* 2004). Thus, the light energy absorbed by the photosystem can be quenched mainly by photochemical and non-photochemical processes, and the fraction of both types of quenching can be estimated by chlorophyll fluorescence variables (Demmig-Adams *et al.* 1996).

Under high light, with increasing light intensity, the proportion of excess light energy increases. The xanthophyll cycle and NPQ are

often enhanced and PSII efficiency decreases. Nevertheless, PSII efficiency gradually recovers and NPQ decreases when light becomes weak (Demmig-Adams *et al.* 1996; Verhoeven *et al.* 1999). As well, when photosynthesis is inhibited by environmental or physiological factors, PSII efficiency may decrease because of increased excess light energy (Ghannoum *et al.* 2003; Adams *et al.* 2004; Weng 2009). At a lower layer of the canopy and understory, leaves commonly receive highly variable sunflecks. When leaves are exposed to a sudden increase in irradiance, the induction of photosynthesis requires several minutes to reach stability (e.g., Allen and Pearcy 2000; Wong *et al.* 2012b). This induction is always slower than the induction of PSII efficiency (Han *et al.* 1999; Bai *et al.* 2008; Wong *et al.* 2012b). At the initial stage of photosynthetic induction, the amount of absorbed photons is more than the CO_2 fixation can use because photosynthesis is not completely started; thus PSII efficiency decreases rapidly. Thereafter, PSII efficiency may increase and NPQ may decrease in parallel with the time-course increase in photosynthetic rate (Finazzi *et al.* 2004; Tausz *et al.* 2005; Bai *et al.* 2008; Wong *et al.* 2012b).

NPQ is a heterogeneous process. According to formation and dark relaxation kinetics, NPQ can be divided into at least three different components, namely, qE, qT and qI (Müller *et al.* 2001). qE is the fastest component, with induction and relaxation within seconds to minutes. It is related to xanthophyll cycle-dependent energy quenching. The second component, qT, which forms and relaxes in

terms of minutes, is state-transition quenching. The third component, qI, develops when leaves are under prolonged exposure to highly excessive light and was originally ascribed to the photoinhibition of PSII. It needs more time to relax (Müller *et al.* 2001; Morosinotto *et al.* 2003; Finazzi *et al.* 2004; Kalituho *et al.* 2007; Zulfugarov *et al.* 2007).

Plant species adapted to different light regimes show differential photosynthetic characteristics. High-light-adapted species tend to have high photosynthetic rate and/or NPQ (Demmig-Adams *et al.* 2006; Golan *et al.* 2006). In addition, the same plant species grown under different light environments should be able to acclimate to the habitat by morphological and physiological changes (Griffin *et al.* 2004; Aleric and Kirkman 2005; Demmig-Adams *et al.* 2006; Ballottari *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2007; Dai *et al.*, 2009). However, in the same species, photosynthetic characteristics and NPQ may vary under different light conditions by the species' acclimation to different light regimes, and the allocation of absorbed light energy to photosynthesis versus NPQ differs. Demmig-Adams *et al.* (2006) suggested that the high-light-grown shade-intolerant species *Arabidopsis thaliana* and *Spinacia oleracea* could enhance their photosynthetic rate markedly to use more absorbed light energy. In contrast, shade-grown *Monstera deliciosa*, a shade-tolerant species, still showed low photosynthetic rate but enhanced xanthophyll cycle-dependent NPQ to disperse more absorbed light energy when transferred to high light. As

well Ballottari *et al.* 2007, high-light-grown *Arabidopsis thaliana* showed high qE and low qI, which indicates the dissipation of more excess light energy and diminished photoinhibition, whereas low-light-grown *A. thaliana* showed the opposite results, with more photodamage (Ballottari *et al.* 2007).

Most ferns live in moist and shady environments. However, some species are able to grow with high irradiance. Light adaptation capabilities vary greatly among fern species (Saldaña *et al.* 2010; Wong *et al.* 2012a). Previously, we found that fern species adapted to different light regimes or the same species acclimated to different light intensity showed varied photosynthetic characteristics. Sun leaves of a slight-shade-adapted fern species showed higher photosynthetic rate and lower degree of photoinhibition than leaves of other medium- to heavy-shade-adapted fern species when exposed to high light (Wong *et al.* 2012b). However, the relation of energy quenching and photoinhibition in fern species adapted to different light regimes has not been studied in detail.

These fern plants distribute in different light environments show different photosynthetic rates in our previous researches. We use the parameter ETR as an indicator for estimating the photosynthetic rate of species across a wide taxonomic range and light adaptation and acclimation capability. By comparing the ETR and photosynthetic rate, *P. lingus*, which prefers habitats with higher light intensity, showed higher photosynthetic capability. *A. antiquum* and *D. donianum* showed lower photosynthetic

capabilities, prefer distribution under shaded environments. *Arc. somai*, which prefers living under heavy shade, showed the lowest photosynthetic capability (Wong *et al.*, 2012a ; Wong *et al.*, 2014). Found by our previous results, the photosynthetic capabilities could be associated with light environment adaptations for these fern species. In this study, we used four fern species with different light adaptation capabilities in energy quenching and photoinhibition in leaves induced by different light intensity. For the purpose to examine that the fern species possessing higher photosynthetic rate or higher qE could diminish the excess light energy to prevent photoinhibition.

Materials and methods

Plant materials

We used four ferns with different light-adaptation capabilities (ranking from high to low: *Pyrrosia lingus*, *Asplenium antiquum*, *Diplazium donianum*, *Archangiopteris somai*). Adult plants, about 30 cm tall, were collected from central Taiwan (23°49'–24°05'N, 120°54'–121°01'E, 560–800 m a.s.l.), *Pyrrosia lingus*, which grows on the ground or trunks as an epiphyte, distributes in the gap or the border of the forest, palisades or other habitats with slight shade at the altitude range of about 0–2000 m a.s.l. *Asplenium antiquum*, which prefers habitats with slight to medium shade, distribute on the ground or the trunks under the forest canopy at an altitude range at about 0–1500 m a.s.l. *Diplazium donianum*, which prefers

habitats with medium to heavy shade than *A. antiquum*, distributes on the soil or the rocks in the understory of the forests at an altitude range at about 0–1500 m a.s.l. *Archangiopteris somai*, which possesses very limited ecological amplitude than other fern species, prefers habitats with heavy shade and high relative humidity. In Taiwan, this species could be found in only two locations: Yuchi Township, Nantou County (23°56'N, 120°54'E, 700–800 m a.s.l., with mean annual temperature at about 21°C and average annual rainfall about 2,200 mm) and Wulai Dist., New Taipei City (24°51'N, 121°32'E, 400–500 m a.s.l., with mean annual temperature at about 17°C and average annual rainfall about 2,900 mm). The yellow soil in these habitats is deeply covered under dense canopy and contains abundant organic matters (Wong *et al.* 2012a ; Lin *et al.* 2015). Then the plants were transplanted to pots (16-cm diameter, 12-cm depth, 1 plant per pot for *A. antiquum* and 1 rhizome with 3–4 leaves per pot for the other three ferns) filled with organic soil and maintained outdoors in the nursery at the Endemic Species Research Institute, Chichi Township, Nantou County, Taiwan (23°49'N, 120°48'E, 250 m a.s.l.). Materials were regularly watered and fertilized (half-strength Hoagland's nutrient solution per month), and received up to one to three light intensities according to the light condition of their habitat: (1) complete sunshine, namely, 100% sunlight; (2) filtered 50% sunshine beneath a shade cloth, namely, 50% sunlight; and (3) filtered 90% sunshine beneath a shade cloth, namely, 10% sunlight.

The two slight- to medium-shade ferns, *P. lingus* and *A. antiquum*, received 10%, 50% and 100% sunlight. One medium-to-heavy shade fern, *D. donianum*, received both 10% and 50% sunlight; and one heavy-shade fern, *Arc. somai*, received 10% sunlight.

Measurements

At least six months after transplanting, the chlorophyll fluorescence of the fully expanded youngest leaves was measured. At nightfall the day before the measurement, potted materials were dark-adapted overnight (room temperature $\sim 25^\circ\text{C}$). On the measurement day, potted materials were placed in a growth chamber (*F-360DN*) at 25°C . First, chlorophyll fluorescence of dark-adapted leaves was measured (see below) under darkness. Then leaves were exposed to luminescent lamps (halogen lamp and optical fiber) stepwise from low to high light, i.e., 50, 100, 300, 500, 1,000 and $2,000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ for 30 min. Chlorophyll fluorescence were recorded every 2 min during illumination. After illumination, leaves were dark-adapted for 30 min, and chlorophyll fluorescence was recorded every 2 min for 10 min, then every 5 min for 20 min.

Chlorophyll fluorescence was measured by using a portable chlorophyll fluorometer (*PAM-2100*, Walz, Germany). For dark-adapted leaves, F_0 and F_m , the minimal and maximal fluorescence, respectively, were determined by applying a weak pulse of light ($0.1\ \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$) and a 0.8-s pulse of saturating flashes of approximately $6,000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectively.

For leaves under each level of illumination, F was determined for each PPFD level, and F_m' was determined by the same process as for F_m . F and F_m' are the actual and maximal levels, respectively, of fluorescence during illumination.

Calculation and statistical analysis

The potential quantum efficiency of PSII (F_v/F_m) was calculated as $(F_m - F_0)/F_m$; the actual PSII efficiency (ΦPSII) was calculated as $(F_m' - F)/F_m'$; and NPQ was calculated as $F_m/F_m' - 1$. qE and qI were calculated as $F_m/F_m' - F_m/F_{mD2}$ and $F_m/F_{mD30} - 1$, respectively. F_{mD2} and F_{mD30} is F_m with dark-adaptation for 2 and 30 min after illumination, respectively (Bilger and Björkman 1990; Demming-Adams et al. 1996; Maxwell and Johnson 2000; Müller et al. 2001). Data are mean $\pm$ SE for 4 to 6 leaves from 4 plants for each species grown under each light condition. Each leaf was considered one replicate for statistical analyses. Statistical analyses involved use of Sigma Plot v10.0 (Systat Software, Point Richmond, CA, USA). $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Result

The F_v/F_m for all overnight dark-adapted leaves was ~ 0.8 . When these leaves were suddenly exposed to 50 to $2,000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD, the ΦPSII decreased rapidly during the first 2 min of illumination, then increased with increasing illumination time almost to a stable level within ~ 5 to 20 min of illumination (Fig. 1). The steady ΦPSII value decreased with

increasing light intensity. At 50 to 1,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD, steady ΦPSII was in the approximate high to low order in *P. lingus*, *A. antiquum*, *D. donianum* and *Arc. somai* at the same PPFD. At 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD, the ΦPSII for *P. lingus*, *A. antiquum* and *D. donianum* was ~ 0.2 to 0.3 , whereas that for *Arc. somai* was < 0.1 . In addition, low-light-grown plants always had lower steady ΦPSII than high-light-grown plants within the same species. When leaves were exposed to 50–500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD for 30 min, the relative values of ΦPSII ($\Phi\text{PSII}_{L30\%}$, F_v/F_m value for each treatment before illumination set to 100%) decreased near-linearly with increasing PPFD (Fig. 2A–D). *Arc. somai* showed the greatest decrease in $\Phi\text{PSII}_{L30\%}$, followed by *D. donianum* and *A. antiquum*, and *P. lingus* showed the least decrease. With increasing PPFD from 500 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, the decrease in $\Phi\text{PSII}_{L30\%}$ gradually slowed to reach a steady state at $> 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD. At 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

PPFD, *D. donianum*, *A. antiquum* and *P. lingus* remained at 30% to 40% of $\Phi\text{PSII}_{L30\%}$ but *Arc. somai* at only about 10%.

After the light was turned off, with leaves exposed to 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD for 30 min, F_v/F_m increased sharply within 2 min, then slowly reached a steady state within 2 to 15 min (Fig. 2). This steady F_v/F_m did not differ among plants grown under different light conditions as compared with the same species and at the same level of PPFD (Fig. 1). When illuminated leaves were dark-adapted for 30 min, the relative value of F_v/F_m [$F_v/F_{mD30\%}$, F_v/F_m value for each treatment before illumination set to 100%] decrease with increasing PPFD (Fig. 2 E–H). Negative correlation relationships between $F_v/F_{mD30\%}$ and PPFD were observed for all tested species, and the descending slope of the regression equation was lower for *P. lingus*, *A. antiquum* and *D. donianum* than *A. somai* (0.003–0.004 vs. 0.006, Table 1).

Table 1. Regression analyses for the association of relative values of photosystem II efficiency ($F_v/F_{mD30\%}$, F_v/F_m value for each treatment before illumination set to 100%) and photoinhibitory quenching (qI) with photosynthetic photon flux density (PPFD) of four fern species under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD for 30 min.

Species	$F_v/F_{mD30\%}$ -PPFD			qI-PPFD		
	a	b ($\times 10^2$)	R ²	A	b ($\times 10^3$)	R ²
<i>Pyrrosia lingus</i>	97.648	−0.382	0.793***	0.145	0.116	0.792***
<i>Diplazium donianum</i>	96.253	−0.324	0.857***	0.114	0.116	0.848***
<i>Asplenium antiquum</i>	96.202	−0.395	0.915***	0.122	0.135	0.802***
<i>Archangiopteris somai</i>	90.601	−0.604	0.880**	0.172	0.309	0.928**

Data from Figs. 2 and 3 a and b: constant and regression coefficient of regression equation ($Y = bX + a$, Y is $F_v/F_{mD30\%}$ or qI, X is PPFD), respectively; ** and ***: $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively.

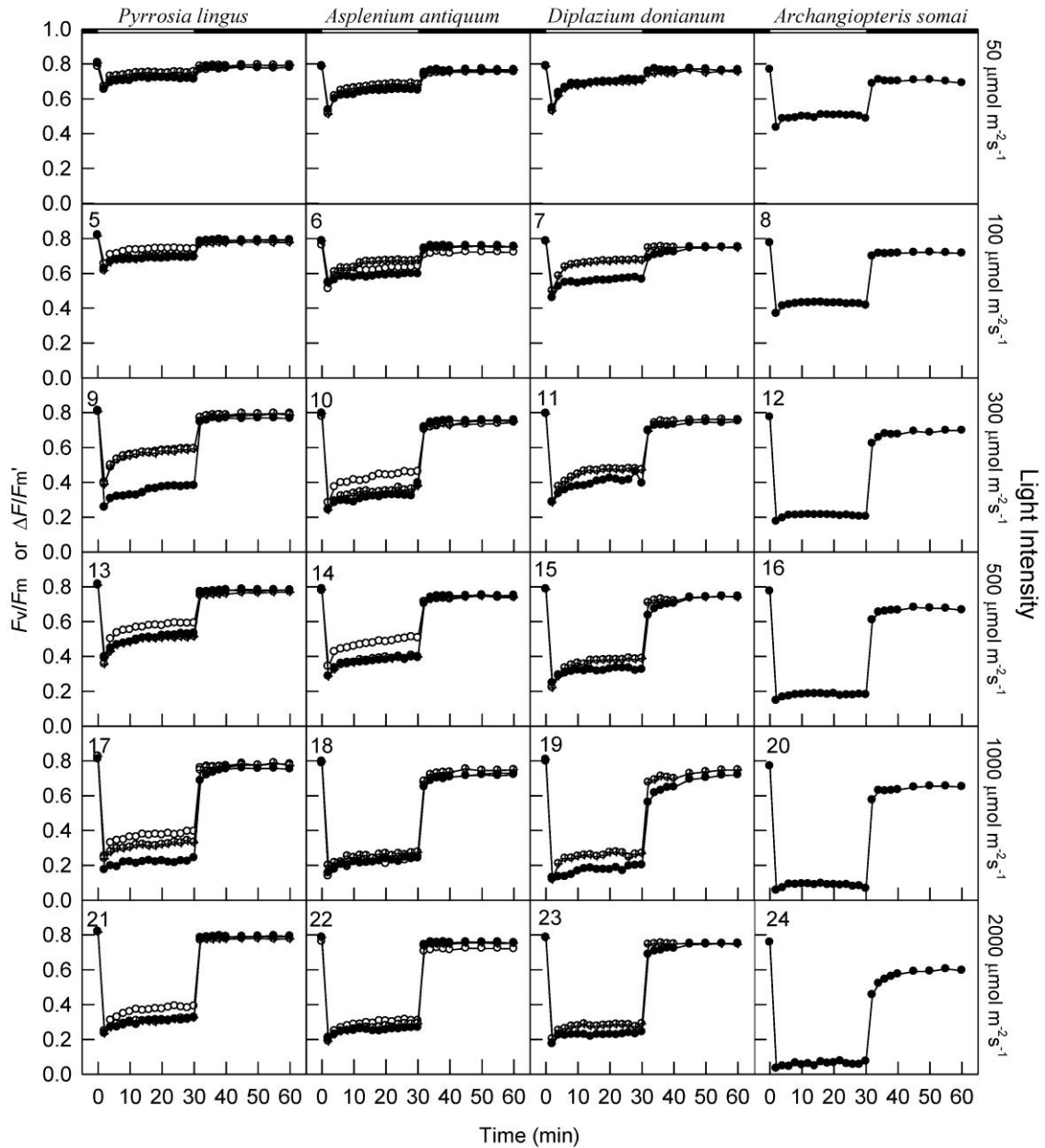


Fig. 1, Time course of illumination and darkness and variation in photosystem II efficiency [F_v/F_m under darkness and $\Delta F/F_m'$ (Φ PSII) under illumination] for four fern species cultivated under 100% ($\circ$), 50% ($\oplus$) and 10% ($\bullet$) sunlight. Variables were measured under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux density. Data are mean $\pm$ SE ($n = 4$). $\blacksquare$: darkness; $\square$: illumination

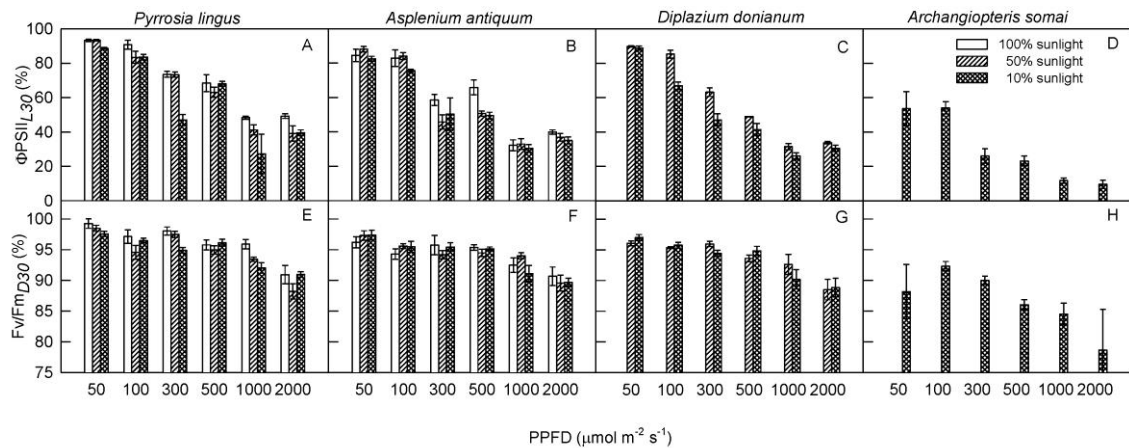


Fig. 2, The relative values of photosystem II efficiency in leaves of four fern species under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux density (PPFD) for 30 min ($\Phi_{PSII_{L30}}(\%)$), then dark-adapted for 30 min ($F_v/F_{mD30}(\%)$). Materials were cultivated under 100%, 50% and 10% sunlight for at least six months. Values are means $\pm$ SE; PSII efficiency of each treatment before illumination was set to 100%. [data of E–H are from Weng and Wong (2015)]

When leaves were suddenly exposed to 50–2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD for 30 min, NPQ of all treatments increased with increasing PPFD (Fig. 3A–D). The increasing pattern of qE with increasing PPFD was similar to NPQ but increased slower than NPQ for the heavy-shade-adapted fern *Arc. somai* (Fig. 3E–H). qI increased linearly with increasing PPFD for all species, and *Arc. somai* had a higher increasing slope than the other three species (0.0003 vs. 0.0001) (Fig. 3I–L and Table 1). NPQ was positively correlated with qE and qI when leaves were illuminated with 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD for 30 min. The slope for qE–NPQ regression was higher for *P. lingus*, *A. antiquum* and *D. donianum* than *Arc. somai*

(0.724, 0.735 and 0.675 respectively, vs. 0.226) but lower for qI–NPQ regression (0.146, 0.109 and 0.104, respectively vs. 0.416; Fig. 4).

After leaves were illuminated with 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD for 30 min, $F_v/F_{mD30}\%$ was negatively correlated with qI when combining data from each species grown under each light condition ($R^2 = 0.784$, $P < 0.001$) (Fig. 5), so photoinhibition increased linearly with increasing qI for the four species negatively. As well, $F_v/F_{mD30}\%$ for *Arc. somai* located at the lower side of the regression line when qI was < 0.4 . Thus, at low light intensity, *Arc. somai* showed greater photoinhibition than the other species even with the same qI.

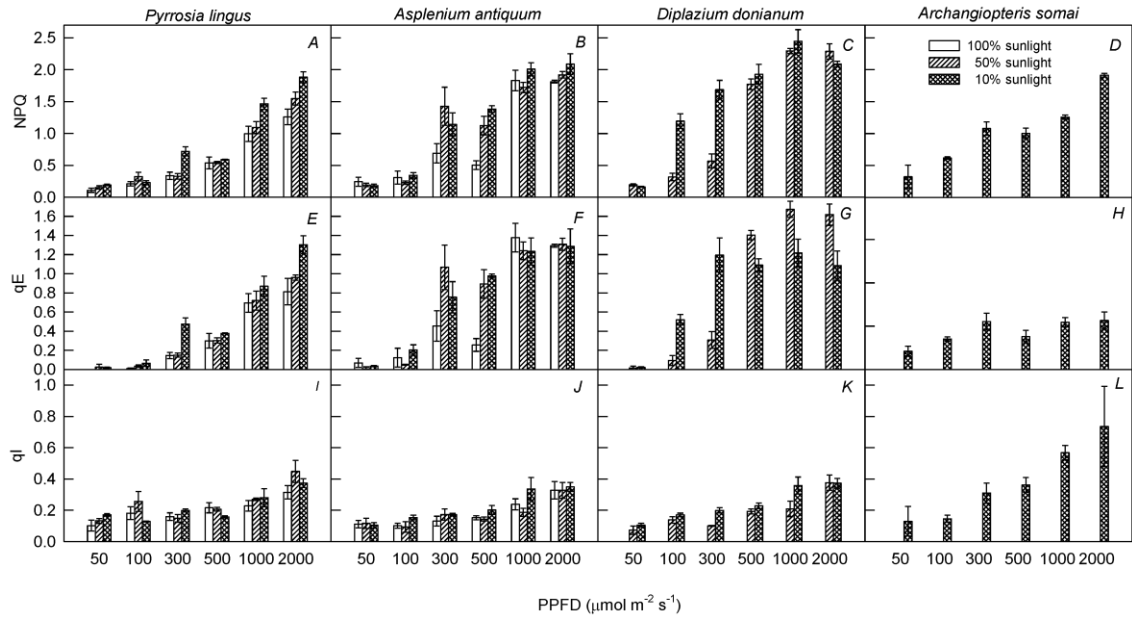


Fig. 3, Variation in non-photochemical quenching (NPQ), energy-dependent quenching (qE) and photoinhibitory quenching (qI) in leaves of four fern species under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux density (PPFD) for 30 min. Materials were cultivated under 100%, 50% and 10% sunlight for at least six months. Values are means $\pm$ SE. [data of E–L are from Weng and Wong (2015)]

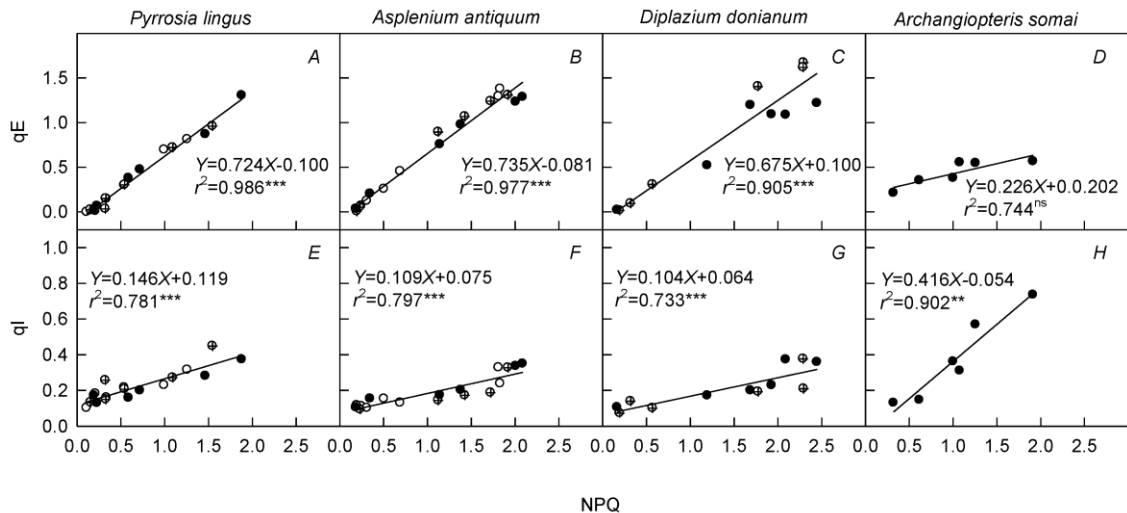


Fig. 4, Regression analysis of non-photochemical quenching (NPQ) and energy-dependent quenching (qE), and NPQ and photoinhibitory quenching (qI) in leaves of four fern species under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetic photon flux density for 30 min. Materials were cultivated under 100% ($\circ$), 50% ($\oplus$) and 10% ($\bullet$) sunlight for at least six months. **, *** and ns: $P < 0.01$, $P < 0.001$ and not significant.

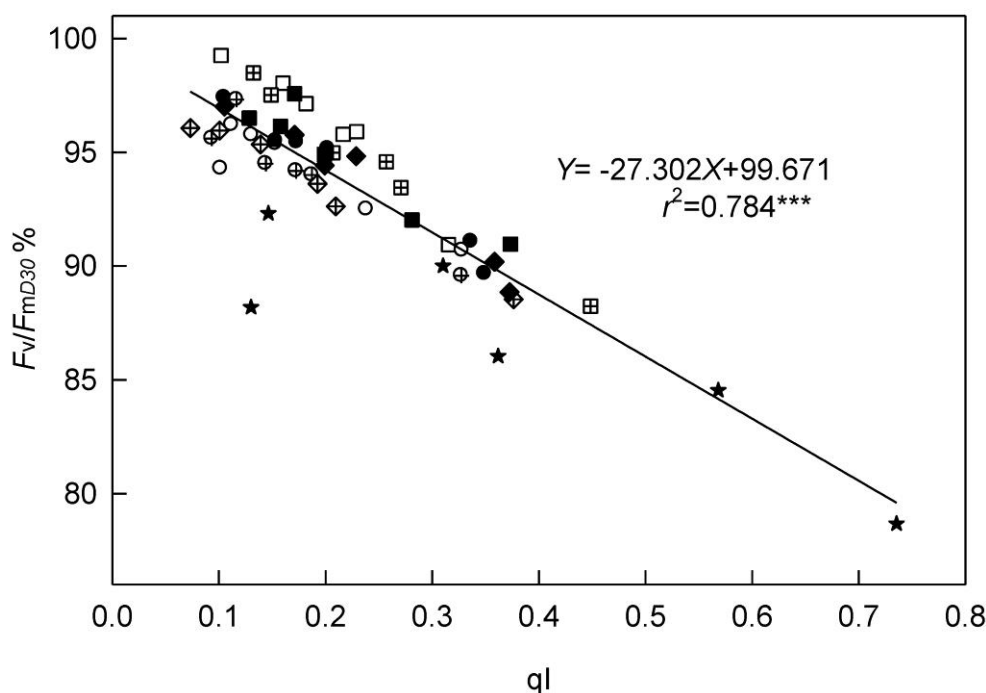


Fig. 5, The correlation of photoinhibitory quenching (q_l) and degree of photoinhibition ($F_v/F_{mD30}\%$, relative F_v/F_m value when leaves were illuminated for 30 min then dark adapted for 30 min, F_v/F_m value of each treatment before illumination set to 100%) in leaves of four fern species under 50, 100, 300, 500, 1,000 and 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD for 30 min. Materials [*Pyrrosia lingus* (squares), *Asplenium antiquum* (circles), *Diplazium donianum* (diamonds) and *Archangiopteris somai* (stars)] were cultivated under 100% (open symbols), 50% (within the cross) and/or 10% (closed symbols) sunlight for at least six months. ***: $P < 0.001$.

Discussion

To understand the energy quenching and photoinhibition of fern species during light induction, we examined four ferns adapted to different light regimes. The F_v/F_m for all overnight-dark-adapted leaves was ~ 0.8 (Fig. 1), indicated that materials did not experience long-term photoinhibition before light induction (Björkman and Demmig 1987). When these

dark-adapted leaves were suddenly exposed to 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, the ΦPSII decreased rapidly during the first 2 min of illumination, then increased with increasing time to a stable level. The transient decline in ΦPSII at the initial stage of light induction was mainly due to the downregulation of PSII efficiency (Finazzi *et al.* 2004; Kalituho *et al.* 2007; Zulfugarov *et al.* 2007). Because light induction of PSII efficiency is more rapid than that of CO_2

assimilation (Han *et al.* 1999; Bai *et al.* 2008; Wong *et al.* 2012b), the energy may be absorbed more at the early stage of photosynthetic induction. To avoid the damage caused by excess energy absorbed, PSII efficiency was sharply downregulated to a low level, with greater downregulation under high light because of greater excess absorbed energy (Thiele *et al.* 1998; Tausz *et al.* 2005; Bai *et al.* 2008).

The excess absorbed energy may decrease with increasing photosynthetic rate over time (Mott *et al.* 1997; Finazzi *et al.* 2004), which led to an increase in Φ_{PSII} with increasing illumination time to a stable level (Fig. 1). The steady value of Φ_{PSII} decreased with increasing light intensity and explains why the excess absorption of light energy often leads to decreased the PSII function (Demmig-Adams *et al.* 1996; Kato *et al.* 2003; Morosinotto *et al.* 2003; Tu *et al.* 2012). For the difference in steady value of Φ_{PSII} among fern species under the same level of PPFD, at 50 to 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, the low-light-adapted species showed lower $\Phi_{PSII_{L30}}\%$ than those adapted to high light (Fig. 2A–D). This finding might be due to the former species having lower photosynthetic rate than the latter species (Wong *et al.* 2012a, b) and thus decreased requirement for light energy (Murchie and Horton 1998; Yamashita *et al.* 2000; Cai *et al.* 2005; Rodriguez-Calcerrada *et al.* 2007). To avoid the damage caused by excess energy absorbed, the former species may downregulate their PSII efficiency more than the latter species.

Under high light, leaves may absorb more

photons than photosynthesis can use, and this excessively absorbed energy often leads to photoinhibition (Demmig-Adams *et al.* 1996; Kato *et al.* 2002; Morosinotto *et al.* 2003). Species adapted to or leaves acclimated to high light tend to show low photoinhibition at the final state of light induction (Wong *et al.* 2014). However, even though our four fern species had different light adaptation capability, the descending slope of $F_v/F_{mD30}\%$ with increasing light intensity led to the classification of only two groups when overnight dark-adapted leaves were suddenly exposed to 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD for 30 min (Fig. 2E–H). For *Arc. somai*, a heavy-shade-adapted fern, the descending slope was higher than for the other three test ferns that were slight-shade-adapted (*P. lingus*), slight-to medium-shade-adapted (*A. antiquum*) and medium- to heavy-shade-adapted (*D. donianum*). Thus, with light intensity $> 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, *Arc. somai* had the lowest Φ_{PSII} and $F_v/F_{mD30}\%$, so the fern was more vulnerable to photoinhibition than the other three species.

These differences among species might be due to the species-specific variation in photosynthetic rate as well as qE and qI, which are components of NPQ. qE is related to the xanthophylls cycle-dependent energy quenching and represents the major portion of photoprotection, whereas qI is related to photoinhibition and represents the major portion of damage of PSII (Müller *et al.* 2001; Morosinotto *et al.* 2003; Kalituho *et al.* 2007). Our study also showed that qI was negatively correlated to $F_v/F_{mD30}\%$ (Fig. 5).

Therefore, leaves with high qI showed severe photoinhibition.

Plants have several strategies to balance the capture and use of photon energy to avoid photoinhibition. Demmig-Adams *et al.* (2006) noted that high-light-adapted annual species used more sunlight, with high photosynthetic capacity. Conversely, a medium- to low-light-adapted perennial species, *Monstera deliciosa*, had low photosynthetic capacity but showed high xanthophylls cycle-dependent NPQ to avoid photoinhibition in full sunlight. Our previous results (Wong *et al.* 2012a) indicated that the photosynthetic rate of tested species was in the order of *P. lingus*, slight-shade-adapted (maximal P_N (net photosynthetic rate) was about $9 \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), $> A. antiquum$ (maximal P_N was about $6 \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), slight- to medium-shade-adapted, $> D. donianum$ (maximal P_N was about $5 \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), medium- to heavy-shade-adapted $> Arc. Somai$ (maximal P_N was only about $2 \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), heavy-shade-adapted. In contrast, the order for the xanthophyll cycle-dependent qE was *D. donianum* $> A. antiquum$ $> P. lingus$ $> Arc. somai$ when leaves were exposed 300 to 1,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD for 30 min (Fig. 3E–H). Therefore, *P. lingus* could use more sunlight with high photosynthetic capacity and did not need high qE to dissipate the excess light energy. In contrast, even *A. antiquum* and *D. donianum* showed lower photosynthesis ability than *P. lingus* (Wong *et al.* 2012a, b), but they could dissipate more excess light energy via qE (Fig. 3F, G). Thus, these two species could maintain a

similar level of qI as *P. lingus* under the same level of PPFD (Fig. 3I–K).

When leaves were exposed to a sudden increase in irradiance, the two shade-adapted ferns, *A. antiquum* and *D. donianum*, showed diminished qI through qE, probably because of their adaptation to sunflecks. In contrast, *Arc. somai* showed low photosynthetic rate (Wong *et al.*, 2012a, b) and qE (Fig. 3H and 4D) but high qI (Fig. 3L, 4H and 5). The species might retain more excess light energy, which leads to more drastic photoinhibition (Fig. 2H and 5). In addition, *Arc. somai* showed a lower slope for the qE-NPQ regression but higher slope for the qI-NPQ regression than the other three tested species (Fig. 4). For *Arc. somai*, the major portion of NPQ and the decrease in PSII efficiency during light induction might be caused by qI but less due to downregulation of PSII efficiency through photoprotection mechanisms. This characteristic is probably related to its adaptation to heavy shade.

We found that when overnight dark-adapted leaves were suddenly exposed to 50 to 2,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PPFD for 30 min, the species-specific differences in photoinhibition were closely related to the species' energy utilization and quenching with adaptation to different light regimes. *P. lingus*, a slight-shade-adapted fern, could use more sunlight with high photosynthetic capacity, whereas *A. antiquum*, a slight- to medium-shade-adapted fern, and *D. donianum*, a medium- to heavy-shade-adapted fern, could dissipate more excess light energy through qE.

Thus, under the same level of PPFD, these three species could maintain a low degree of qI. In contrast, *Arc. somai*, a heavy-shade-adapted fern, showed low photosynthetic rate as well as qE and so a high level of excess energy and low photoprotection ability, for a high degree of qI. In addition, photoprotection of PSII is affected by antioxidation (Golan *et al.*, 2006; Murchie and Niyogi 2011). However, this feature needs further investigation.

References

- Adams III, W. W., C. R. Zarter, V. Ebbert and B. Demmig-Adams. 2004. Photoprotective strategies of overwintering evergreens. *BioScience* 54: 41-49.
- Aleric, K. M. and L. K. Kirkman. 2005. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *American Journal of Botany* 92: 682-689.
- Allen, M. T. and R. W. Pearcy. 2000. Stomatal behavior and photosynthetic performance under dynamic light regimes in a seasonally dry tropical rain forest. *Oecologia* 122: 470-478.
- Bai, K. D., D. B. Liao, D. B. Jiang and K. F. Cao. 2008. Photosynthetic induction in leaves of co-occurring *Fagus lucida* and *Castanopsis lamontii* saplings grown in contrasting light environments. *Trees* 22: 449-462.
- Ballottari, M., L. Dall'Osto, T. Morosinotto and R. Bassi. 2007. Contrasting behavior of higher plant photosystem I and II antenna systems during acclimation. *The Journal of Biological Chemistry* 282: 8947-8958.
- Bilger, W. and O. Björkman. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research* 25: 173-185.
- Björkman, O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 355-377.
- Cai, Z. Q., T. Rijkers and F. Bongers. 2005. Photosynthetic acclimation to light changes in tropical monsoon forest woody species differing in adult stature. *Tree Physiology* 25: 1023-1031.
- Dai, Y., Z. Shen, Y. Liu, L. Wang, D. Hannaway and H. Lu. 2009. Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. *Environmental and Experimental Botany* 65: 177-182.
- Demmig-Adams, B. V. Ebbert, D. L. Mellman, K. E. Muech, L. Schaffer, C. Funk, C. R. Zarter, I. Adamska, S. Jansson and W. W. Adams III. 2006. Modulation of PsbS and flexible vs sustained energy dissipation by light environment in different species.

- Physiologia Plantarum 127: 670-680.
- Demmig-Adams, B. and W. W. Adams III. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. Trends Plant Science 1: 21-26.
- Demmig-Adams, B., W. W. Adams III, D. H. Barker, B. A. Logan, D. R. Bowling and A. S. Verhoeven. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. Physiologia Plantarum 98: 253-264.
- Finazzi, G., G. N. Johnson, L. Dall'Osto, P. Joliet, F. A. Wollman and R. Bassi. 2004. A zeaxanthin-independent nonphotochemical quenching mechanism localized in the photosystem II core complex. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101:12375-12380.
- Ghannoum, O., J. P. Conroy, S. P. Driscoll, M. J. Paul, C. H. Foyer and D. W. Lawlor. 2003. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C₄ grasses. New Phytologist 159: 599-608.
- Golan, T., P. Müller-Moulé and K. K. Niyogi. 2006. Photoprotection mutants of *Arabidopsis thaliana* acclimate to high light by increasing photosynthesis and specific antioxidants. Plant, Cell & Environment 29:879-887.
- Griffin, J. J., T. G. Ranney and D. M. Phar. 2004. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and carbohydrate content of *Illicium* taxa grown under varied irradiance. Journal of the American Society for Horticultural Science 129: 46-53.
- Han, Q., E. Yamaguchi, N. Odaka and Y. Kakubari. 1999. Photosynthetic induction responses to variable light under field conditions in three species grown in the gap and understory of a *Fagus crenata* forest. Tree Physiology 19: 625-634.
- Kalituho, L., K. C. Beran and P. Jahns. 2007. The transiently generated nonphotochemical quenching of excitation energy in *Arabidopsis* leaves is modulated by zeaxanthin. Plant Physiology 143:1861-1870.
- Kato, M. C., K. Hikosaka and T. Hirose. 2002. Photoinactivation and recovery of Photosystem II in *Chenopodium album* leaves grown at different levels of irradiance and nitrogen availability. Functional Plant Biology 29: 787-795.
- Kato, M. C., K. Hikosaka, N. Hirotsu, A. Makino and T. Hirose. 2003. The excess light energy that is neither utilized in photosynthesis nor dissipated by photoprotective mechanisms determines the rate of photoinactivation in photosystem II. Plant & Cell Physiology 44: 318-325.
- Lambers, H., F. S. Chapin III and T. L. Pons. 1998. Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag, New York, pp. 540.
- Li, X. P., O. Björkman, C. Shih, A. R. Grossman, M. Rosenquist, S. Jansson and K. K. Niyogi. 2000. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. Nature 403: 391-395.
- Lin, T.C., N. L. Zu and S.L. Wong. 2015.

- Arbuscular Mycorrhizal Fungi in *Archangiopteris Somai* Habitats. Taiwan Journal of Biodiversity 17 (4): 321-330.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.
- Mott, K. A., F. Denne and J. Poweel. 1997. Interactions among stomata in response to perturbations in humidity. Plant, Cell & Environment 20: 1098-1107.
- Morosinotto, T., S. Caffarri, L. Dall'Osto and R. Bassi. 2003. Mechanistic aspects of the xanthophylls dynamics in higher plant thylakoids. Physiologia Plantarum 119:347-354.
- Müller, P., X. P. Li and K. K. Niyogi. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiology 125: 1558-1566.
- Murchie, E. H. and P. Horton. 1998. Contrasting patterns of photosynthetic acclimation to the light environment are dependent on the differential expression of the responses to altered irradiance and spectral quality. Plant, Cell & Environment 21: 139-148.
- Murchie, E. H. and K. K. Niyogi. 2011. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. Plant Physiology 155:86-92.
- Rodriguez-Calcerrada, J., J. A. Pardos, L. Gil and I. Aranda. 2007. Acclimation to light in seedlings of *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl. and *Quercus pyrenaica* Willd. planted along a forest-edge gradient. Trees 21: 45-54.
- Saldaña, A. O., Hernández C, Coopman RE, Bravo LA, Corcuera LJ 2010. Differences in light usage among three fern species of genus *Blechnum* of contrasting ecological breadth in a forest light gradient. Ecological Research 25:273-281.
- Tausz, M., C. R. Warren and M. A. Adams. 2005. Dynamic light use and protection from excess light in upper canopy and coppice leaves of *Nothofagus cunninghamii* in an old growth, cool temperate rainforest in Victoria, Australia. New Phytologist 165: 143-156.
- Thiele, A., G. H. Krause and K. Winter. 1998. In situ study of photoinhibition of photosynthesis and xanthophyll cycle activity in plants growing in natural gaps of the tropical forest. Australian Journal of Plant Physiology 25: 189-195.
- Tu, W., Y. Li, Y. Zhang, L. Zhang, H. Liu, C. Liu and C. Yang. 2012. Diminished photoinhibition is involved in high photosynthetic capacities in spring ephemeral *Berteroa incana* under strong light conditions. Journal of Plant Physiology 169:1463-470.
- Verhoeven, A. S., W. W. Adams III and B. Demmig-Adams. 1999. The xanthophyll cycle and acclimation of *Pinus ponderosa* and *Malva neglecta* to winter stress. Oecologia 118: 277-287.
- Weng, J. H. 2009. Relationship between allocation of absorbed light energy in PSII and photosynthetic rates of C₃ and C₄ plants.

- Acta Physiologia Plantarum 31: 639-647.
- Weng, J.H. and S. L. Wong 2015. Photosynthetic light responses of fern species adapted to different light regimes. In: Tuft J (ed) Ferns and shrubs: diversity, cultivation and implications for the environment. Nova, New York, pp 57-76.
- Wong, S.H., C.W. Chen, H.W. Huang and J.H. Weng. 2012a. Using combined measurements of gas exchange and chlorophyll fluorescence to investigate the photosynthetic light responses of plant species adapted to different light regimes. Photosynthetica 50: 206-214.
- Wong, S.H., C.W. Chen, H.W. Huang and J.H. Weng. 2012b. Using combined measurements for comparison of light induction of stomatal conductance, electron transport rate and CO₂ fixation in woody and fern species adapted to different light regimes. Tree Physiology 32: 535-544.
- Wong, S. L., M. Y. Huang, C. W. Chen and J. H. Weng. 2014. Light induction of nonphotochemical quenching, CO₂ fixation and photoinhibition in woody and fern species adapted to different light regimes. Photosynthetica 52(2):272-282.
- Yamashita, N., A. Ishida., H. Kushima and N. Tanaka. 2000. Acclimation to sudden increase in light favoring an invasive over native trees in subtropical islands, Japan. Oecologia 125: 412-419.
- Zhang, S. B., H. Hu, K. Xu, Z. R. Li and Y. P. Yang. 2007. Flexible and reversible responses to different irradiance levels during photosynthetic acclimation of *Cypripedium guttatum*. Journal of Plant Physiology 164: 611-620.
- Zulfugarov, I. S., O. K. Ham, S. R. Mishra, J. Y. Kim, K. Nath, H. Y. Koo, H. S. Kim, Y. H. Moon, G. An and C. H. Lee. 2007. Dependence of reaction center-type energy-dependent quenching on photosystem II antenna size. Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics 1767: 773-780.

毒鼠藥對壽山地區台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)之危害

Threats of Anticoagulant Rodenticides to Free-range Taiwanese Macaques (*Macaca cyclopis*) in Shoushan

陳貞志^{1,*} 章愛梅² 裴家騏^{1,3}

Chen-Chih Chen^{1,*}, Ai-Mei Chang², Kurtis Jai-Chyi Pei^{1,3}

¹ 國立屏東科技大學獸醫學院野生動物保育研究所

² 國立屏東科技大學獸醫學院獸醫學系

³ 國立東華大學環境學院自然資源與環境學系

¹ Wildlife Conservation Institute, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology.

² Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology.

³ Also being a faculty of Department of Natural Resources and Environmental Studies, College of Environmental Studies, National Dong Hwa University

*通訊作者: ychih0502@gmail.com

* Corresponding author: ychih0502@gmail.com

摘 要

2014 年 12 月至隔年 4 月間,研究團隊接獲來自壽山國家自然公園之台灣獼猴傷亡案例共 5 例,於接獲案例中,部份個體(2/5)被民眾發現身體虛弱倒臥在地並出現抽搐以及顫抖等臨床症狀,後即死亡。經病理解剖,肉眼病變可見許多臟器之多發局部出血,根據臨床症狀以及肉眼病變懷疑為毒鼠藥中毒所導致。採集肝臟以及胃內容物,並以液相串聯式質譜儀(LC-MS/MS)進行毒物檢測,檢測結果共發現四種抗凝血型毒鼠藥(anticoagulant rodenticides, ARs),肝臟所檢出之 ARs 及個體檢出比例分別為: Brodifacoum(5/5)、Coumatfuryl(2/5)、Difenacoum(1/5)以及 Flocoumafen(3/5);胃內容

物檢出 Brodifacoum(2/5)、Coumafuryl(2/5)、Difenacoum(1/5)以及 Flocoumafen(1/5)。ARs 殘留量以 Brodifacoum 為最高，其濃度最高達 10,390 ng/g。值得注意的是，本研究檢測出 Coumafuryl 殘留於死亡獼猴體內，此類 AR 對生物具有強毒性，在化學特性上具有水溶性且對河川環境、水生動物具毒性，於美國、歐盟以及台灣均禁止使用。本研究於野生獼猴檢驗出多種 ARs，也顯示毒物使用對於野生動物及共域環境中的人類或家畜動物之威脅，因此相關類型毒物之使用應謹慎並進行適當之管理及非目標物種之曝露防護。

Abstract

From December 2014 to May 2015, we received five Taiwanese macaques (*Macaca cyclopis*) found dead in Shoushan National Nature Park. The clinical signs were observed on two out of five individuals with weakness, unconsciousness, seizure and finally death. Necropsy was conducted and the gross lesions showed severe hemorrhage on multiple organs. Anticoagulant rodenticide poisoning was primarily suspected to induce the lesions and death. Liver and stomach contents were then collected from the affected animals for screening residues of anticoagulant rodenticides (ARs) using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrophotometry (LC-MS/MS). We found all five individuals with detectable residues of ARs. Four different ARs, including Brodifacoum, Coumafuryl, Difenacoum and Flocoumafen with the proportion of 5/5, 2/5, 1/5 and 3/5, were detected in the liver of the affected animals, respectively. The four ARs were also detected in the stomach contents with the proportion of 2/5, 2/5, 1/5 and 1/5, respectively. In addition, we detected multiple ARs exposure in three out of five individuals. The highest concentration of ARs residues was the Brodifacoum with concentration of 10,390 ng/g from the individual with severe gross lesions. It is also notable that Coumafuryl, found in the Taiwanese macaques, is prohibited in the European Union, United State, and Taiwan due to its water soluble character and high toxicity to aquatic species. In conclusion, our study revealed the impact of ARs on free-range Taiwanese macaques. Sympatric wildlife, domestic animals and humans might also be exposed to ARs in the habitat. It is critical to have extensive management on the use of ARs and proper protection on non-target species against such harmful exposures.

關鍵詞：抗凝血劑型毒鼠藥、保育醫學、台灣獼猴

Key words: anticoagulant rodenticide, conservation medicine, taiwanese macaques

收件日期：2016 年 03 月 28 日 接受日期：2016 年 06 月 13 日

Received: March 28, 2016

Accepted: June 13, 2016

緒 言

毒物危害為衝擊野生動物族群之因子之一(Wobeser 2013)，隨著農業的發展，各式農藥、毒鼠藥、除草劑的使用劇增，造成棲地環境中的野生動物、家畜動物及人曝露於環境毒物當中。在全球各地，許多環境監測單位應用傷亡的野生動物屍體進行環境的毒物監測，如美國加州地區利用海獺的屍體來監測湖泊內「微囊藻毒素」的汙染，並發現汙染範圍擴及至一般民眾食用的海鮮(Miller *et al.* 2010)。由此可知，藉由監測野生動物體內之毒物殘留，可以做為一個環境是否健康的生態指標。

毒鼠藥使用為另一項重要的環境毒害議題。鼠害造成多方面的影響，包含農作物損失、流行疾病傳播及環境衛生汙染(Shore *et al.* 2006; Vidal *et al.* 2009)，而毒鼠藥最常應用於解決上述鼠害問題。台灣系統性使用毒鼠藥可以追溯至 1926 年台灣糖業株氏會社使用磷劑對啃食甘蔗使得採收量降低的老鼠進行毒殺(盧 2004)。

抗凝血型毒鼠藥的主要作用機制為干擾維生素 K 和其環氧化物的循環代謝。維生素 K 在生理代謝上是協助凝血因子合成的主要因子，所以當維生素 K 不能被還原時，會造成體內的維生素 K 依賴性因子 II、VII、IX、X 無法被活化而產生凝血不全的狀況，並導致血管內皮細胞的功能減弱且呈現多孔化及造成大範圍的出血產生(Stone *et al.* 1999; Hoare and Hare 2006; Ishizuka *et al.* 2008)。

第一代抗凝血型毒鼠藥發展於 1950 年代(first generation anticoagulant rodenticides-FGARs)，此類藥物如殺鼠靈(Warfarin)、Pindone、Diphacinone 等，但 FGARs 在實際運用上有藥效短、毒性不強等缺點，且由於抗藥

性的產生，於是在 1970 年代發展了毒性更強且效果更持久的第二代毒鼠藥(second generation anticoagulant rodenticides-SGARs)(Ishizuka *et al.* 2008)。在澳洲以及紐西蘭，SGARs 廣為使用在移除外來鼠類和倉鼠的數量控制，然而，SGARs 的使用對野生動物的族群衝擊極大，因為此藥物的殘存時間較長且不容易代謝(Eason *et al.* 2002; Erickson and Urban 2004)，在目標物種死亡後高濃度之 SGARs 仍會殘存在體內，極容易引發次級毒害(secondary poison)問題。文獻紀錄顯示受到影響的物種包含有多種的鳥類以及哺乳類動物(Eason and Spurr 1995; Eason *et al.* 2002)。

2013 年 11 月於屏東一隻死亡之黑鳶(*Milvus migrans*)體內檢出高劑量的可滅鼠(Brodifacoum)以及後續所檢測的八隻猛禽個體中，五隻檢出毒鼠藥的殘留，且最高殘留量為 33.4ng/g (洪等 2015)。推論黑鳶中毒死亡的原因，為食入因吃到毒鼠藥毒發而虛弱的老鼠或鳥類。

本研究針對於 2014 年底至 2015 年 4 月間，於壽山國家自然公園發現疑似毒鼠藥中毒而導致台灣獼猴死亡之個體進行解剖及毒鼠藥分析，以了解該區域毒鼠藥使用對野生台灣獼猴所造成之病害，相關資訊可做為野生動物保育以及棲地環境管理之重要科學參考資訊。

材料與方法

一、死亡台灣獼猴

研究團隊於 2014 年 12 月至 2015 年 4 月間收到來自壽山國家自然公園通報之獼猴屍體，死亡個體的發現位置如圖 1。根據發

表 1. 死亡後進行解剖及毒鼠藥檢測之台灣獼猴個體資料

Table 1. Information of individual dead Taiwanese macaques from necropsy and rodenticides screening

編號	發現地點	日期	性別	年齡
1	良友亭	2014/12/09	雄性	成體
2	台泥礦區道路旁	2015/01/29	雌性	成體
3	鼓山高中停車場	2015/02/07	雄性	亞成體
4	西海岸	2015/04/11	雄性	亞成體
5	龍皇亭登山口附近	2015/04/14	雌性	成體

結果

1. 病理解剖

死亡獼猴個體的主要肉眼病變以出血為主(圖 2、3)，出血部位包含皮下，其中 5 隻個體中有 3 隻個體具皮下出血病灶(3/5)、心(1/5)、肺(3/5)、腸繫膜(2/5)、大腸黏膜層及漿膜層。組織病理學切片之判讀結果符合肉眼病變結果，於顯微鏡下各見上述各臟器之出血病變。獼猴的體態皆為發育良好之個體，編號 1 與 2 獼猴個體於剖檢時發現頰囊內含有未吞食的食物殘渣，判定為急性死亡過程。

2. 毒鼠藥物殘留檢測

5 隻獼猴個體之檢測結果共發現 4 種抗凝血型毒鼠藥(anticoagulant rodenticides, ARs)，其中肝臟內殘留之 ARs 及個體檢出比例分別為：Brodifacoum(5/5)、Coumafuryl(2/5)、Difenacoum(1/5)以及 Flocoumafen(3/5)；胃內容物的檢出結果為 Brodifacoum(2/5)、Coumafuryl(2/5)、Difenacoum(1/5)以及 Flocoumafen(1/5)。檢測出一種以上 ARs 之個體為 3 隻、僅檢測出單一 ARs 之個體 2 隻。ARs 殘留量以 Brodifacoum 殘留量 10,390 ng/g 最高(表 2)。



圖 2 獼猴體表上出現大範圍的出血。a:出血區域分布於四肢腹側以及軀幹(黑色箭頭)；b:口腔牙齦之出血斑(黑色箭頭)。

Fig. 2. Extensive hemorrhage was observed on the surface of the carcass of Taiwanese macaque. a. Hemorrhage was found around the ventral side of limbs and trunk (arrow); b. Hemorrhage in the oral mucosa (arrow).

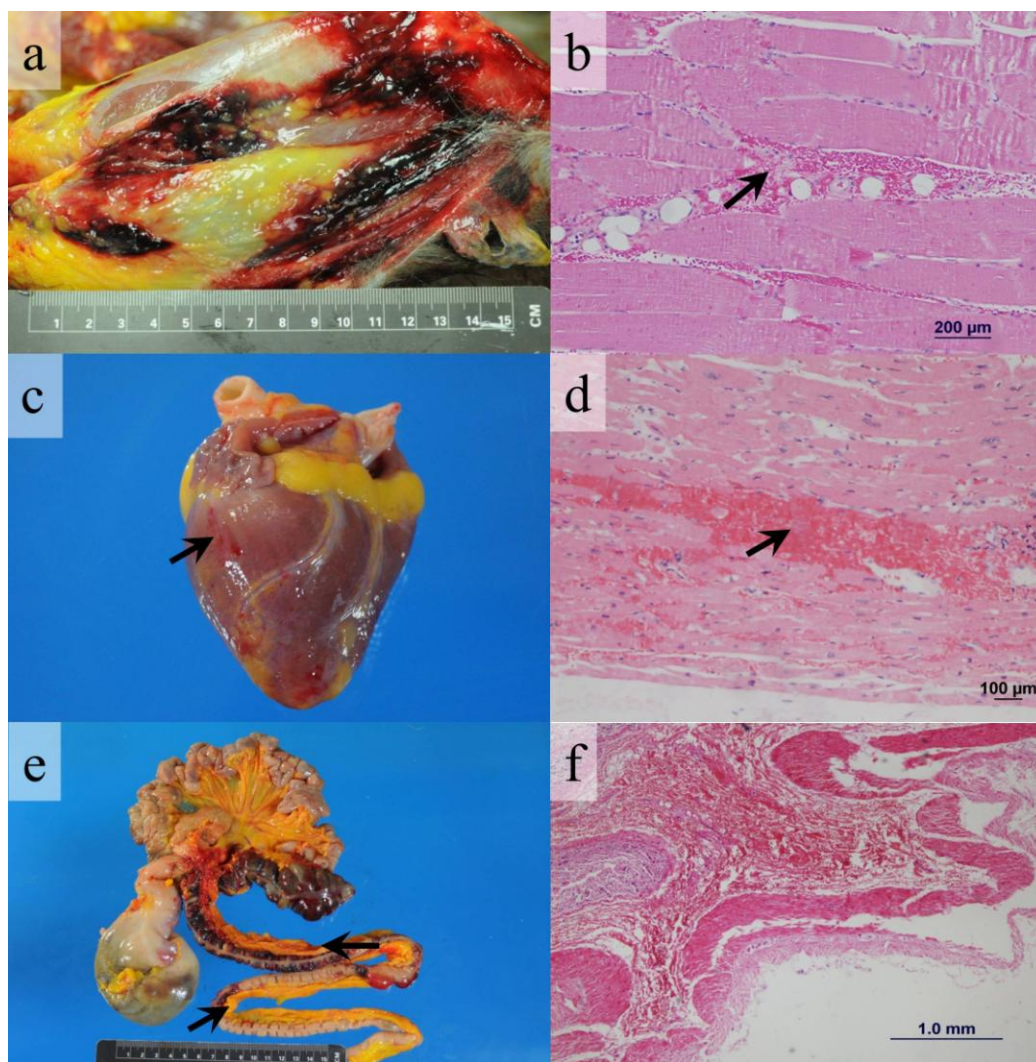


圖 3. 毒鼠藥中毒獼猴個體之內眼解剖及組織病理學病變。a：皮下及肌肉組織可見大量出血；b：肌肉組織之顯微病變，可見大量紅毛球(箭頭)蓄積於肌束間(蘇木紫-伊紅染色)；c：心肌具多發局部出血斑(箭頭)；d：心肌之組織病理切片顯示大量紅血球蓄積於心肌肌束間之出血病灶(蘇木紫-伊紅染色)；e：大腸漿膜面可見廣泛性的出血灶；f：顯微鏡下可見出血瀰漫性散布於大腸組織之黏膜層、黏膜下層及肌肉層(蘇木紫-伊紅染色)。

Fig. 3. Gross and histopathological lesions of suspected rodenticide intoxication of Taiwanese macaque individuals. a: massive and diffused hemorrhages of the muscle and subcutaneous tissue; b: the histopathological lesion of the skeletal muscle with hemorrhage (arrow) between muscle fibers (hematoxylin and eosin stain); c: multiple hemorrhage areas of heart muscle (arrow); d: Histopathological lesion of the heart muscle with hemorrhage between the space of heart muscle fiber (hematoxylin and eosin stain); e: gross lesion of hemorrhages in the large intestine; f: diffused hemorrhage in the large intestine in the mucosal, sub-mucosal and muscle layer (hematoxylin and eosin stain).

表 2. 5 隻死亡台灣獼猴個體之胃內容物及肝臟檢出毒鼠藥種類及殘留濃度。

Table 2. The detected anticoagulant rodenticides and its concentration of residues in stomach content and liver of five Taiwanese macaques.

編號	胃內容物毒鼠藥殘留量 ng/g									肝毒鼠藥殘留量 ng/g							
	BF ¹	BO	CF	CT	DC	FM	V	W		BF	BO	CF	CT	DC	FM	V	W
1	- ²	-	-	-	-	-	-	-		111	-	-	-	-	4.7	-	-
2	855	-	26.1	-	2.3	5.2	-	-		10,390	-	34.4	-	34.5	720	-	-
3	-	-	3.6	-	-	-	-	-		106	-	233	-	-	4.0	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-		5.3	-	-	-	-	-	-	-
5	88	-	-	-	-	-	-	-		111	-	-	-	-	-	-	-

¹BF: Brodifacoum ; BO: Bromadiolone ; CF: Coumafuryl ; CT: Coumatetralyl ; DC: Difenacoum ; FM: Flocoumafen ; V: VACOR ; W: Warfarin

²non-detected: the limitations of detectable concentration were 2ng/g

討 論

本研究首次證實野外台灣獼猴因毒鼠藥中毒而導致凝血功能不全並致死，此外，並發現於壽山國家自然公園環境之台灣獼猴族群曝露於多種毒鼠藥物之威脅之下。

環境毒物危害為衝擊野生動物族群的重要因子，野生動物可能藉由受到污染的食物或是飲水而曝露於毒物的風險之下，如重金屬(鉛、鎘、汞)、殺蟲劑(有機磷)以及毒鼠藥(Wobeser 2013)。

毒鼠藥毒害的影響主要可以分為三部分：1.主要毒害(primary poisoning) 2.次級毒害(secondary poison) 以及 3.非致死性汙染(sub-lethal contamination)。主要毒害(primary poisoning)是指動物直接食用到含有毒鼠藥的餌料而導致死亡；次級毒害(secondary poison)則是指間接食用體內含有毒鼠藥的獵物而導致死亡，如猛禽類常捕食因毒鼠藥中毒的老鼠而使得毒素在體內累積進而導致間接的死

亡；食肉目動物如郊狼(coyote)、猓猓(bobcat)於近年的研究顯示次級毒害也是造成他們在野外死亡的主因(Riley *et al.* 2007)。次級毒害的影響對野生動物影響甚鉅，案例遍及世界各地(Eason and Wickstrom 2001; Hoare and Hare 2006; Riley *et al.* 2007)；而非致死性汙染(sub-lethal contamination)是指非致死性的影響使得個體對環境的適應力降低、生育力下降等問題(Hoare and Hare 2006)，例如綿羊攝入非致死劑量之 Brodifacoum 可導致跛行以及繁殖障礙(Eason and Wickstrom 2001)。

毒鼠藥在分類上可以區分為急性型毒鼠藥(acute poisons)、抗凝血型毒鼠藥(anticoagulant poisons)以及其他類型的毒鼠藥(Eason and Wickstrom 2001)，全球毒鼠藥的使用以抗凝血型毒鼠藥為主，台灣市售核可使用的毒鼠藥則全部皆為抗凝血型的毒鼠藥(圖 4)。

本研究於獼猴體內發現了 4 種抗凝血型毒鼠藥殘留分別為 Brodifacoum(可滅鼠)、Coumafuryl(克滅鼠)、Difenacoum(雙滅鼠)以及

Flocoumafen(伏滅鼠)，其中以 Brodifacoum 殘留量最高，其中一病變最嚴重個體之胃內含物殘留量高達 855 ng/g，顯示死亡前剛食入毒鼠藥劑並造成凝血功能抑制並導致死亡。Brodifacoum 之劑型多樣，因此使用方便，且不須核可認證及登記管制，因此為台灣市佔率最高的毒鼠藥成分(32%)，在全世界毒鼠藥的使用上也最為廣泛使用。由於使用廣泛，此藥物對野生動物族群的影響更是巨大，根據 2006 年於紐西蘭進行的調查發現，當地受到 Brodifacoum 影響的非目標性野生動物物種十分多樣，包含鳥類、魚類、水棲性無脊椎動物和陸棲性的無脊椎動物、蝙蝠以及食肉目動物

(Hoare and Hare 2006)。影響包含造成個體死亡、體內過量殘留等，而兩棲爬蟲類之凝血機制與哺乳類不同，因此毒鼠藥對兩棲爬蟲類動物之影響仍需進一步研究(Hoare and Hare 2006)。

Brodifacoum 可以長時間累積於身體組織中，於肝臟和腎臟可殘存將近一年以上(Eason and Wickstrom 2001; Eason *et al.* 2008)，此藥物不溶於水，因此會殘留於土壤內，並移轉至食物鏈中並造成後續的危害。於表 3 中比較各個毒鼠藥於組織和血液內殘留的時間，可發現 Brodifacoum 的代謝時間較長，其污染整個食物鏈生態系統的風險也因而增高。

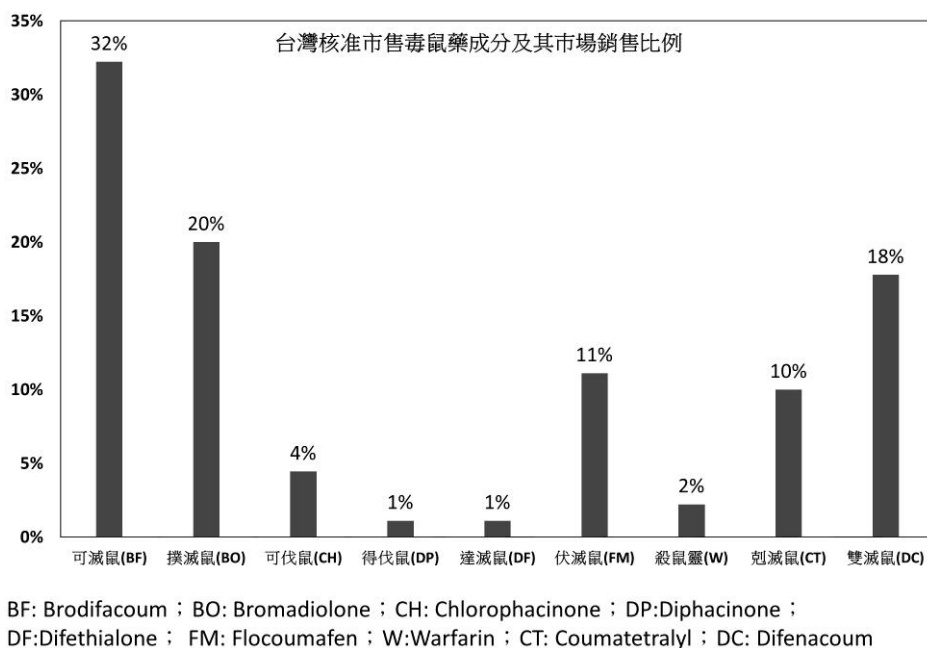


圖 4. 台灣核准市售毒鼠藥市售比例。以可滅鼠(Brodifacoum)佔市售比例之 32%為最高。

(資料來源：行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 2016，行政院環境保護署 2016)

Fig 4. The market occupancy of approved rodenticides in Taiwan. Brodifacoum has the highest market occupancy ratio in Taiwan. (Data source: Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan 2016; Environmental Protection Administration, Executive Yuan 2016)

表 3. 比較不同毒鼠藥之半衰期，及亞致死劑量曝露下殘留於體內之時間 (自 Eason *et al.* 2008)。

Table 3. Comparing the half-life values and persistence of residues in the body under sub-lethal exposure (adapted from Eason *et al.* 2008).

毒鼠藥類別	半衰期	亞致死劑量之殘留時間
Cyanide	+	12-24 小時
Zinc phosphide	+	12-24 小時
1080	<11 小時	7 天
Pindone	2.1 天	4 週
Diphacinone	3 天	6 週
Cholecalciferol	10-68 天	12 週
Coumatetralyl	50-70 天	12-16 週
Brodifacoum	130-300 天	24 月 或 更久
Bromadiolone	170 天	24 月 或 更久
Flocoumafen	220 天	24 月 或 更久

+: 表示殘存時間沒有文獻紀錄，但應該少於 12 小時 (+: indicated no data available, but should be less than 12 hours)

Coumafuryl 為第一代毒鼠藥，目前為台灣、歐盟以及美國禁止使用之毒鼠藥物，在台灣從來未開放使用過。此藥物為強毒性，對水生動物以及河川湖泊有毒害。此禁止使用之毒鼠藥為何殘留於檢測之台灣獼猴體內，仍待進一步釐清此藥物在台灣坊間的使用情形以及和獼猴體內的關聯性。

Difenacoum 與 Flocoumafen 於台灣的市占率分別為 18%及 11%，於台灣為合法使用之毒鼠用藥，此兩種藥物和 Brodifacoum 一樣為第二代抗凝血型的毒鼠藥，因此在化學結構、生物活性、藥物作用以及殘留特性上皆極為相似，且對野生動物族群都存在著次級毒害的風險(Eason and Wickstrom 2001)。於本研究的檢驗結果中更發現 5 起中毒事件中有 3 起為多種毒鼠藥混和殘留於獼猴體內，目前市面所售的毒鼠藥經調查皆為單一劑型的包裝，並無混和毒鼠藥販售的劑型，至於獼猴是藉由何種方式

攝入多種毒鼠藥無法得知，但由胃內容物之檢測結果顯示，編號 2 號個體應為同時攝入的多種毒鼠藥，且可能經由人為混合多種毒鼠藥物至毒餌中；另外，由於 SGARs 之半衰期長達數個月之時間，因此肝臟之檢測結果顯示所檢測之獼猴個體會曝露於多種毒鼠藥物殘留的環境中。

於檢測之獼猴個體中，代號 3 以及代號 4 之獼猴個體同時亦發現具嚴重物理性撞擊所導致之病灶，但兩隻獼猴個體的肝臟或胃內容物均分別檢出 ARs 的殘留。過去許多研究已證實野生動物體內之低劑量毒鼠藥殘留會對野生動物適應力(fitness)產生嚴重影響。Quinn 等人(2012)於美國加州的研究中發現美洲獾(*Taxidea taxus*)路死個體中亦檢出 Brodifacoum 以及 Bromadiolone 兩種毒鼠藥的殘留，並懷疑是低劑量毒鼠藥對其造成身體適應力的影響。Fournier-Chambrillon *et al.* (2004)等人，亦

認為接觸低致死劑量毒鼠藥的暴露可能使歐洲水鼬(*Mustela lutreola*)反應力遲緩而增加毒鼠藥暴露個體被路殺、天敵捕捉以及誤觸陷阱的機會增加。

毒鼠藥除了造成急性的毒害導致動物死亡之外，長期的接觸以及曝露於毒鼠藥環境的操作者亦可能產生慢性毒害反應。皮膚長期接觸低劑量的毒鼠藥可引發皮膚的免疫毒性反應，使得患者出現紅疹、皮膚搔癢等症狀出現(Popov *et al.* 2011)。另外，流行病學研究發現，曝露於毒鼠藥可能對胎兒造成先天性完全大動脈轉位(Loffredo *et al.* 2001; Rady *et al.* 2013)，亦有研究指出長期操作毒鼠藥、農藥等化學毒物的操作者，會增加罹患胰臟癌風險(Jaga and Dharmani 2005)。

結 論

本研究確認野生台灣獼猴個體因毒鼠藥中毒而導致死亡，並且於檢出台灣獼猴體內殘存 4 種抗凝血型毒鼠藥，分別為 Brodifacoum、Coumafuryl、Difenacoum 以及 Flocoumafen。其中，Brodifacoum 為全球廣泛使用的毒鼠藥但在使用上對野生動物影響甚劇，Coumafuryl 為禁用之毒鼠藥。

本研究結果顯示毒鼠藥對於野生哺乳動物之衝擊，而發生的地點皆在於遊客聚集之處，台灣獼猴體內之毒鼠藥殘留亦表示人類及於當地活動之家畜動物可能曝露於毒鼠藥的風險之下。野生動物為棲地環境毒物曝露的重要指標，針對野生動物所進行之環境毒物監測更是為擬訂棲地及物種保育策略之重要資訊。相關研究可做為政府機關政策擬定之參考以提升整體生態系的健康品質。

致謝

本研究感謝壽山國家自然公園管理處於研究經費上的支持，計畫執行期間工作人員協助保存獼猴屍體；感謝國立屏東科技大學野生動物保育研究所疾病生態實驗室裡面的成員，在研究調查中協助樣本的採集以及運送；感謝國立屏東科技大學獸醫學系病理室張志堅醫師、薛丞舜同學、楊絮安同學、沈芷萱同學、曾宇靚同學、黃昱翎同學於屍體解剖以及病理診斷上的協助，僅此一併致謝。

引用文獻

- 洪孝宇、林惠珊、孫元勳。2015。殺鼠劑究竟毒死誰？從一隻黑鳶的墜落談起。自然保育季刊 90(2)：4-13。
- 衛生福利部食品藥物管理署。2014。食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析方法(五)。2016 年 1 月 25 日，下載自衛生福利部官方網站(<http://www.fda.gov.tw>)。
- 盧高宏。2004。鼠害防治技術與展望。鼠類危害及防除技術研討會專刊。中華植物保護協會。25-38 頁。
- 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。2016。農藥資訊服務網。2016 年 1 月 29 日，下載自行政院農業委員會動植物防疫檢疫局官方網站(http://pesticide.baphiq.gov.tw/web/Insecticides_MenuItem5_3.aspx)。
- 行政院環境保護署。2016。環境用藥許可證及病媒防治業網路查詢系統。2016 年 1 月 29 日，下載自行政院環境保護署官方網站(<http://mdc.epa.gov.tw/PublicInfo>)。
- Eason, C. T., and E. B. Spurr. 1995. Review of

- the toxicity and impacts of brodifacoum on non-target wildlife in New Zealand. *New Zealand journal of zoology* 22: 371-379.
- Eason, C. T. and M. Wickstrom. 2001. Vertebrate pesticide toxicology manual (poisons): information on poisons used in New Zealand as vertebrate pesticides. Department of Conservation Technical Series 23. Department of Conservation, Wellington, New Zealand.
- Eason, C. T., E. C. Murphy, G. R. Wright and E. B. Spurr. 2002. Assessment of risks of brodifacoum to non-target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology* 11: 35-48.
- Eason, C. T., S. Ogilvie, A. Miller, R. Henderson, L. Shapiro, S. Hix, D. MacMorran and E. Murphy. 2008. Smarter pest control tools with low-residue and humane toxins. *In* Proceedings of the 23rd Vertebrate Pest Conference. San Diego, California, USA. University of California, Davis, pp. 148-153.
- Erickson, W. A., and D. J. Urban. 2004. Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach. US Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA, pp. 225.
- Fournier-Chambrillon, C., P. J. Berny, O. Coiffier, P. Barbedienne, B. Dassé, G. Delas, H. Galineau, A. Mazet, P. Pouzenc, and R. Rosoux. 2004. Evidence of secondary poisoning of free-ranging riparian mustelids by anticoagulant rodenticides in France: implications for conservation of European mink (*Mustela lutreola*). *Journal of Wildlife Diseases* 40: 688-695.
- Hoare, J. M., and K. M. Hare. 2006. The impact of brodifacoum on non-target wildlife: gaps in knowledge. *New Zealand Journal of Ecology* 30: 157-167.
- Ishizuka, M., T. Tanikawa, K. D. Tanaka, M. Heewon, F. Okajima, K. Q. Sakamoto, and S. Fujita. 2008. Pesticide resistance in wild mammals-Mechanisms of anticoagulant resistance in wild rodents. *The Journal of Toxicological Sciences* 33: 283-291.
- Jaga, K., and C. Dharmani. 2005. The epidemiology of pesticide exposure and cancer: a review. *Reviews on Environmental Health* 20: 15-38.
- Loffredo, C. A., E. K. Silbergeld, C. Ferencz, and J. Zhang. 2001. Association of transposition of the great arteries in infants with maternal exposures to herbicides and rodenticides. *American Journal of Epidemiology* 153: 529-536.
- Middleberg, R. A., and J. Homan. 2012. Qualitative identification of rodenticide anticoagulants by LC-MS/MS. *LC-MS in Drug Analysis: Methods and Protocols* 902: 139-148.
- Miller, M. A., R. M. Kudela, A. Mekebri, D. Crane, S. C. Oates, M. T. Tinker, M. Staedler, W. A. Miller, S. Toy-Choutka, and C. Dominik. 2010. Evidence for a novel marine harmful algal bloom: cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. *PLoS ONE* 5: e12576.
- Popov, A., I. Mirkov, L. Zolotarevski, M. Jovic,

- S. Belij, D. Kataranovski, and M. Kataranovski. 2011. Local proinflammatory effects of repeated skin exposure to warfarin, an anticoagulant rodenticide in rats. *Biomedical and Environmental Sciences* 24: 180-189.
- Quinn, J. H., Y. A. Girard, K. Gilardi, Y. Hernandez, R. Poppenga, B. B. Chomel, J. E. Foley, and C. K. Johnson. 2012. Pathogen and rodenticide exposure in American badgers (*Taxidea taxus*) in California. *Journal of Wildlife Diseases* 48: 467-472.
- Rady, G. H., F. S. El-Mahrouky, H. M. Abdelnabby, and H. A. Ahmed. 2013. Sub-Lethal and Teratogenicity Action of Bromadiolone and Chlorophacinone Anticoagulant Rodenticides on Albino Rats. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 5: 7-14.
- Riley, S. P., C. Bromley, R. H. Poppenga, F. A. Uzal, L. Whited, and R. M. Sauvajot. 2007. Anticoagulant exposure and notoedric mange in bobcats and mountain lions in urban southern California. *Journal of Wildlife Management* 71: 1874-1884.
- Shore, R. F., H. M. Malcolm, D. McLennan, A. Turk, L. A. Walker, C. L. Wienburg, and A. J. Burn. 2006. Did foot-and-mouth disease-control operations affect rodenticide exposure in raptors? *Journal of Wildlife Management* 70: 588-593.
- Stone, W. B., J. C. Okoniewski, and J. R. Stedelin. 1999. Poisoning of wildlife with anticoagulant rodenticides in New York. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 187-193.
- Vidal, D., V. Alzaga, J. Luque-Larena, R. Mateo, L. Arroyo, and J. Viñuela. 2009. Possible interaction between a rodenticide treatment and a pathogen in common vole (*Microtus arvalis*) during a population peak. *Science of the Total Environment* 408: 267-271.
- Wobeser, G. A. 2013. *Essentials of disease in wild animals*. John Wiley & Sons, Ames, Iowa, USA.

壽山台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)腸道線蟲的種類及分布

Intestinal Nematodes in Taiwanese Macaques (*Macaca cyclopis*) and Distribution in Shoushan

陳貞志^{1,*} 章愛梅² 陳彥涵² 裴家騏^{1,3}

Chen-Chih Chen^{1,*}, Ai-Mei Chang², Yen-Han Chen², Kurtis Jai-Chyi Pei^{1,3}

¹ 國立屏東科技大學獸醫學院野生動物保育研究所

² 國立屏東科技大學獸醫學院獸醫學系

³ 國立東華大學環境學院自然資源與環境學系

¹ Institute of wildlife conservation, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology

² Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology

³ Also being a faculty of Department of Natural Resources and Environmental Studies, College of Environmental Studies, National Dong Hwa University

*通訊作者: ychih0502@gmail.com

* Corresponding author: ychih0502@gmail.com

摘 要

壽山國家自然公園地區之台灣獼猴因長期與遊客之間接觸，或因遊客不當行為及餵食導致台灣獼猴出現搶食甚至攻擊遊客之情形，因而增加了人畜共通傳染病傳播的風險。為了解台灣獼猴所帶原之人畜共通腸道線蟲感染情形，本研究利用糞便蟲卵檢測及分子生物學檢測法，針對壽山地區之台灣獼猴進行腸道寄生蟲物種鑑定。此外，本研究亦應用地理資訊系統及空間統計模式於流行病學資料分析以了解寄生蟲於此地區之空間分布現象。於 178 個台灣獼猴糞便有效樣本中，共檢出人鞭蟲(*Trichuris trichiura*)、腸結節蟲(*Oesophagostomum aculeatum*)、福氏桿

線蟲(*Strongyloides fuelleborni*)、毛圓線蟲(*Trichostrongylus* sp.)等腸道寄生蟲。各腸道寄生蟲之感染率(95%信賴區間)分別為人鞭蟲 36.0% (28.9-43.0%)；福氏桿線蟲 18.0% (12.3-23.6%)；腸結節蟲 9.6% (5.2-13.9%)；毛圓線蟲 3.9% (1.1-6.8%)。流行病學分析結果顯示台灣獼猴所感染之腸道線蟲，包含人鞭蟲、福氏桿線蟲及腸結節蟲無顯著的空間及季節分布差異。本研究結果顯示壽山地區之獼猴族群所帶原之腸道線蟲，具有潛在的人畜共通傳播風險，野生動物管理及防疫單位應予以重視相關議題，也應持續進行監控以了解影響寄生蟲分布之因子，而本研究結果可做為遊客及棲地經營管理之參考。

Abstract

The frequent contact between human and Taiwanese macaques (*Macaca cyclopis*) has raised concerns of zoonosis transmission in Shoushan National Nature Park. This study was aimed to understand the species and epidemiology of selected zoonotic intestinal nematoda in the population of Taiwanese macaque in Shoushan. One hundred and seventy-eight macaque fecal samples were collected for intestinal nematoda screening. In those samples, four intestinal nematoda were identified morphologically and by molecular technique. Those were *Trichuris trichiura*, *Oesophagostomum aculeatum*, *Strongyloides fuelleborni*, *Trichostrongylus* sp.. The prevalence (95% confidence interval) of the four parasites were 36.0% (28.9-43.0%), 9.6 % (5.2-13.9%), 18.0% (12.3-23.6%), and 3.9% (1.1-6.8%), respectively. In this study, we also attempted to identify high prevalence areas as “hotspots” of intestinal parasites by utilizing Geographic Information System and spatial statistical models. However, we did not find any significant difference in spatial and temporal distribution for the parasite of *T. trichiura*, *O. aculeatum*, *S. fuelleborni* in the sampling area. Our findings indicated the potential risk of pathogen transmission between Taiwanese macaques and human. These results are critical information for the management of zoonotic pathogens in the Taiwanese macaques and prevention of pathogen transmission between human and macaques.

關鍵詞：壽山國家自然公園、靈長類、腸道寄生蟲、人畜共通疾病、保育醫學

Key words: Shoushan National Nature Park, primate, intestinal parasites, zoonosis, conservation medicine

收件日期：2016 年 04 月 06 日 接受日期：2016 年 06 月 13 日

Received: April 06, 2016

Accepted: June 13, 2016

前 言

台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)為台灣特有種，因其族群數量穩定，已於 2008 年，由珍貴稀有保育類動物改列為其他應予保育物種。牠們是台灣許多自然環境中，常見的較大型野生哺乳動物，但也因長期與人類接觸或因遊客不當餵食，導致部分遊憩區台灣獼猴出現搶食，甚至攻擊民眾之情形逐漸增加，也同時增加了人畜共通傳染病傳播的風險。

靈長類動物由於與人類之親緣關係相近，細胞結構與生理現象皆非常的類似，所以能夠感染靈長類動物之病原體也常在人類間共通傳染(Wallis and Lee 1999)，或者可以發現親緣關係非常接近的病原體分別感染人類及靈長類物種(Renquist and Whitney Jr 1987)，如猴猴免疫缺乏病毒(simian immunodeficiency virus；SIV)及人類免疫缺乏病毒(human immunodeficiency virus；HIV)(Huet *et al.* 1990)。再者，當病原體從長期適應演化之靈長類宿主跨入人類身體後，往往造成更嚴重之疾病(Wilson 1995)，其中在獼猴屬中最著名的例子當屬獼猴所帶原之疱疹 B 病毒(*Cercopithecine herpesvirus 1*)；獼猴為疱疹 B 病毒之自然宿主，曾檢驗過之物種包含：恆河獼猴(*M. mulatta*)、馬來獼猴(*M. fascicularis*)、截尾獼猴(*M. arctoides*)、豬尾猴(*M. nemestrina*)、絳帽獼猴(*M. radiata*)、日本獼猴(*M. fuscata*)及台灣獼猴，且都發現有極高比例感染 B 病毒的現象(陳與裴 2005，(Weigler 1992)。帶原之獼猴通常無病變或非常輕微之口腔或生殖道病變，如牙齦及口腔水泡、潰瘍及結膜炎(Huff and Barry 2003)，

但當疱疹 B 病毒感染人類時，病毒會延著周邊神經侵犯至脊髓神經而後至腦部，而引起腦脊髓炎甚至導致死亡(Cohen *et al.* 2002)。

獼猴所帶原之寄生蟲也在近年發現對人類具有潛在的危險性。應用分子生物學於寄生蟲診斷時，發現東南亞馬來獼猴及豬尾猴所帶原之 *Plasmodium knowlesi* 瘧原蟲，其感染人類之陽性率不但高，並且具高病原性及致死性，此瘧原蟲過去僅以顯微鏡進行型態學鑑定，且均被誤診為對人類較不具致病性之 *P. malariae* (Cox-Singh *et al.* 2008)。靈長類動物也可能因為感染以人類為保毒宿主的病原，而造成嚴重的族群衝擊(Wolfe *et al.* 1998)，例如：小兒麻痺病毒(poliovirus)與結核病(tuberculosis)都曾感染野生靈長類族群並造成大量死亡(Dowdle and Birmingham 1997; Wolfe *et al.* 1998)。

另一方面，由於人與靈長類動物有許多共通的疾病，因此靈長類動物也相當於人類疾病預警系統中的哨兵物種(sentinel species)(Wolfe *et al.* 1998)。1956 年在印度發現的新型黃病毒 Kyanasur Forest virus，就是因為大規模的絳帽獼猴(*Macaca radiata*)及長尾葉猴(*Semnopithecus entellus*)感染此病毒死亡而被發現(Wolfe *et al.* 1998)。非洲的依波拉病毒疫情爆發的過程中，黑猩猩常是最早發現死亡的物種，而後再有人類案例(Morell 1995)。因此，對於靈長類動物族群的病原監控，除可預防人畜共通病原相互傳播，以及做為疾病爆發的預警系統外，同時對於靈長類動物的保育及經營管理成效，也會有極大的貢獻。

台灣獼猴感染之腸道線蟲(Nematoda)具有高度人猴互相傳播的危險性，早在1960年代，即有學者進行過調查，並發現有：鞭蟲(*Trichuris* sp.)、桿線蟲(*Strongyloides* sp.)、腸結節蟲(*Oesophagostomum* sp.)、蛔蟲(*Ascaris* sp.)、鉤蟲(*Ancylostoma* sp.)、毛圓線蟲(*Trichostrongylus* sp.)、毛細線蟲(*Capillaria* sp.)及蟯蟲(*Enterobius* sp.)等腸道線蟲(林1997；趙2011, Kim and Bergner Jr 1964; Myers and Kuntz 1964; Kuntz and Myers 1969)；另外，Lau *et al.* (2002)亦曾發現台灣民眾感染台灣獼猴絲狀蟲(*Macacacnema formosana*)，並造成眼球移行及嚴重的眼球病變。然而，過去寄生蟲物種之鑑定端賴蟲體或蟲卵之型態學，因此在許多型態上極為接近之寄生蟲種類，常會有鑑定錯誤之問題，或無法判別出多寄生蟲物種混合感染的情形(McManus and Bowles 1996)。由於不同寄生蟲物種之間的傳播模式及生活史差異，鑑定錯誤的結果更會造成進一步的流行病學研究結果的錯誤，並影響防疫及管理的工作進行。本研究之目的旨在了解壽山地區與民眾接觸頻繁之獼猴腸道線蟲種類，而為求物種鑑定之正確性，本研究並搭配分子生物學方法，進行寄生蟲物種之鑑定；另外，在確認所感染之腸道線蟲後，估算其陽性率以及在當地的分布變化，以了解其流行病學以及空間分布狀況，並做為野生台灣獼猴帶原人畜共通寄生蟲之防疫，以及經營管理基礎。

材料與方法

一、研究樣區概述

本研究於2014年6月至10月在高雄市的壽山國家自然公園內的壽山地區進行樣本資料之收集(圖1)。壽山地區屬於熱帶季風氣候，為高位珊瑚礁地形，具有許多洞穴及谷地地形。依據中央氣象局2014年之監測資料顯示，2014年一月至十二月高雄市地區之年平均氣溫為25.6，最低月均溫為一月之19.5℃；最高月均溫為7月之30.3℃，降雨量以一月份雨量0公釐最低；八月份雨量902公釐最高(圖1) (資料來源：交通部中央氣象局網站<http://www.cwb.gov.tw/V7/climate/monthlyData/mD.htm>)。依據近年來針對壽山地區進行的族群估算結果顯示，此地區之台灣獼猴族群量約為1200-1500隻個體(裴2008，裴與賴2014，蘇與粘2013)。

二、糞便樣本收集及腸道線蟲檢測

本研究在所設定的5條樣線上收集新鮮的獼猴糞便樣本(圖1)，並記錄糞便採樣點之台灣TWD97系統二度分帶GPS位置。每堆糞便樣本經混合均勻後，各稱取一克重浸泡於Merthiolate-iodine-formaldehyde (MIF)保存溶液及70%酒精中保存。

浸泡於MIF溶液之糞便樣本以沉澱法依Roepstorff and Nansen (1998)所描述之流程進行檢測：MIF保存之糞便先經篩網過濾移除雜質後，以3000rpm轉速離心10分鐘，移棄上清液體，加入14公克的蒸餾水搖晃均勻，取1/3量之混和液體，再次以3000rpm轉速離心10分鐘，棄上清液體後，加入3ml的ethyl acetate，

以 1500rpm 轉速離心 2 分鐘，離心後糞便混合液形成四層分層，分別為 1.ethyl acetate；2.殘渣層；3.MIF 溶液層；4.沉澱層，移除上方的三層並吸取最下方之沉澱層進行顯微鏡鏡檢，並記錄腸道線蟲之蟲卵種類。

以酒精保存之糞便混合液則進行蟲卵分離及 DNA 萃取，其流程為以 3000rpm 轉速離心 10 分鐘，移除酒精上清液體，加入無菌蒸餾水清洗殘餘酒精，再以同轉速離心後，棄上清液並加入 100ug 之 glass beads，依序進行-80°C 冰箱冷凍、100°C 水浴槽加熱及高速振盪各 10 分鐘，連續進行 3 次此冰凍、加熱及振盪之循環過程以破壞寄生蟲卵之卵殼以釋出 DNA(Demeler *et al.* 2013)，之後以 QIAamp DNA stool mini kit (Qiagen, Germany)進行 DNA 萃取及聚合酶鏈鎖反應。DNA 萃取依套組所附之流程進行。

本研究針對每一寄生蟲種類及蟲卵進行聚合酶鏈鎖反應(Polymerase Chain Reaction；PCR)檢測及 DNA 定序，以確認於台灣獼猴之寄生蟲感染種類。聚合酶鏈鎖反應所選用之引子對及其反應時之黏合溫度如表 1。確定 PCR 目標產物後，將純化之 PCR 產物及引子送交生技公司(基龍米克斯，Genomics)以自動定序儀進行 PCR 產物的雙向定序，定序後之結果於 National Center for Biotechnology Information (NCBI)基因資料庫進行序列比對以確認產物序列片段為各寄生蟲之目

標基因序列。雙向序列進行比對並組合成單股正向序列後，使用 MEGA version 4(Molecular evolutionary genetics analysis)軟體(Tamura *et al.* 2007)之 Alignment 功能並以 Clustal W 法進行多重序列比對(Higgins *et al.* 1994)，再以肉眼進行序列手動校正。本研究以 Kimura 雙參數模式 Kimura-2-parameter model 進行鹼基替換率及遺傳距離之計算。另分別選定相近種作為序列分析之外群種類，所有的序列以距離法(Distance-based Methods)，先算出遺傳距離，再以鄰近歸群法(Neighbor-joining, NJ)進行演化親緣關係樹之構建，並搭配 bootstrap 法，將原始序列進行 1000 次的重覆取樣以檢測其可信度，並以此建構親緣關係樹(Kimura 1980)。

三、資料分析

本研究依各項腸道線蟲之檢測結果計算各線蟲感染陽性率及 95%信賴區間。同時，各線蟲種類之空間分布為評估影響線蟲分布因子的重要依據，再者亦為病原防疫及經營管理之重要資訊。本研究應用 SaTScanTM (Version 9.3)空間統計軟體來進行各病原之空間分佈統計，由於樣本檢測結果為陽性與陰性之資料型態，因此資料分析選擇以 Bernoulli 空間統計模式進行之(Coleman *et al.* 2009; Kulldorff 2014)。

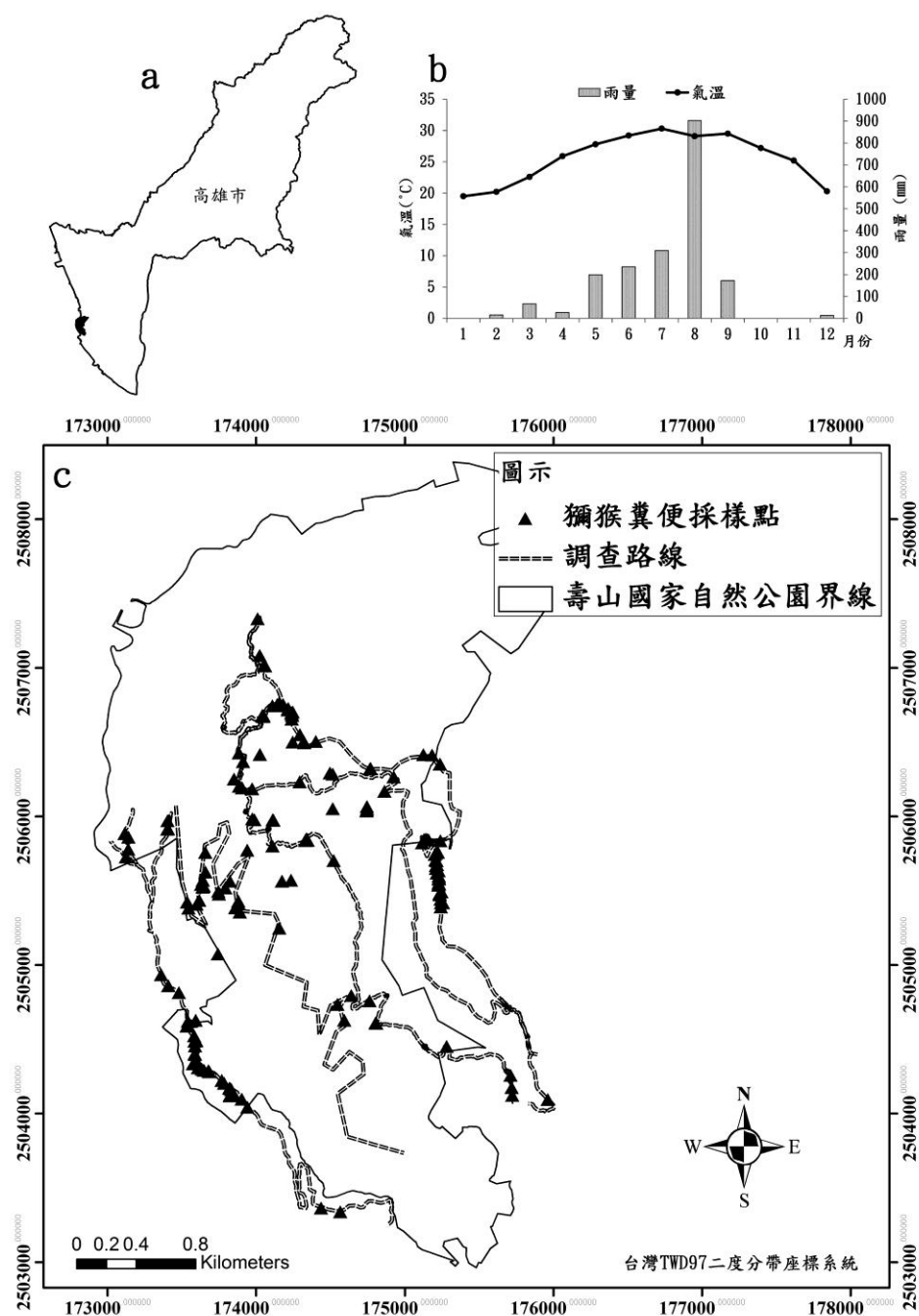


圖 1 研究樣區(a)：壽山國家自然公園於高雄市之相對位置；(b)：資料收集樣區氣候狀況及(c)：糞便樣本採集點位置。

Fig. 1. The location (a) and climate condition (b) of ShouShan National Nature Park in Kaohsiung City, and (c) sampling sites of Taiwanese macaque fecal samples

表 1. 本研究所選用之寄生蟲鑑定用基因片段及引子序列

Table 1. Target genes and primers selected for nematode identification

引子名	寄生蟲/目標基因	引子序列(5'端-3'端)	Ta 值 ¹	參考文獻
Str-ITS2F	<i>Strongyloides</i> spp./ITS2 ²	5'-GCTAAGCAGAGCCTTAAATT-3'	52 °C	(Arizono <i>et al.</i> 2012)
Str-ITS2R	<i>Strongyloides</i> spp./ITS2	5'-TCCGCTTAACGATATGCTTA-3'	52 °C	(Arizono <i>et al.</i> 2012)
Trichuris semi-nested PCR				
NC5	<i>Trichuris</i> spp./ITS2	Outer primer : NC5-NC2 5'-GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT-3'	58 °C	(Cutillas <i>et al.</i> 2009)
Trichuris semi-nested PCR				
NC2	<i>Trichuris</i> spp./ITS2	Inner primer : Tri-ITS2-NC2 5'-TTAGTTTCTTTCTCCGCT-3'	55 °C	(Cutillas <i>et al.</i> 2009)
Tri-ITS2	<i>Trichuris</i> spp./ITS2	5'-CTCGTAGGTCGTTGAAGAAC-3'	55 °C	(Cutillas <i>et al.</i> 2009)
NC1 ³	Strongylida/ITS2	5'-ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT-3'	55 °C	(Demeler <i>et al.</i> 2013)
NC2	Strongylida/ITS2	5'-TTAGTTTCTTTCTCCGCT-3'	55 °C	(Demeler <i>et al.</i> 2013)

¹引子黏合溫度；²ITS2：Internal transcribed spacer 2 gene；³圓線蟲目之 universal primer，適用於增幅腸結節蟲及毛圓線蟲之 ITS2 基因片段。

結果

一、台灣獼猴腸道線蟲之檢測

於 178 個台灣獼猴糞便樣本中（圖 1），共檢測出 4 種腸道線蟲之蟲卵及蟲體。所有檢測出之腸道線蟲除毛圓線蟲 (*Trichostrongylus* sp.) 因蟲卵量過低，無法有效增幅出足量的 DNA 外，其餘均完成 DNA 定序，經比對 NCBI 基因資料庫後，於樣本中所分離出之其他腸道線蟲分別鑑定為人鞭蟲 (*Trichuris trichiura*)、腸結節蟲 (*Oesophagostomum aculeatum*) 及福氏桿線

蟲 (*Strongyloides fuelleborni*) (圖 2)。顯微鏡下依蟲卵型態學檢測結果，台灣獼猴線蟲感染率由高至低分別為人鞭蟲 36.0% (95% 信賴區間：28.9-43.0)、福氏桿線蟲 18.0% (12.3-23.6)、腸結節蟲 9.6% (5.2-13.9) 和毛圓線蟲 3.9% (1.1-6.8)。

本研究中，鞭蟲、腸結節蟲及福氏桿線蟲均利用 ITS2 基因來做為物種鑑定之目標基因，然而因為此段基因不轉譯成任何胺基酸，其演化不受天擇作用並且具極高的突變率，也因此於比對 NCBI 基因資料庫中同一物種之腸道線蟲時，序列並非

完全相同。為進一步確認寄生蟲之物種，再以本研究所增幅之基因片段序列，與 NCBI 基因資料庫中同屬物種之同一基因片段進行親緣關係分析，結果也顯示三種腸道線蟲均位於所鑑定物種之叢集內(圖 3)。

二、台灣獼猴腸道線蟲之空間分布

所有樣本中以鞭蟲、福氏桿線蟲、腸結節蟲之感染率較高，因此僅選擇上述腸道線蟲進行空間統計分析。Bernoulli 模式空間掃描統計結果顯示，鞭蟲、福氏桿線蟲、腸結節蟲之統計機率值分別為 0.104、0.189 及 0.118，均無顯著的空間聚集現象。

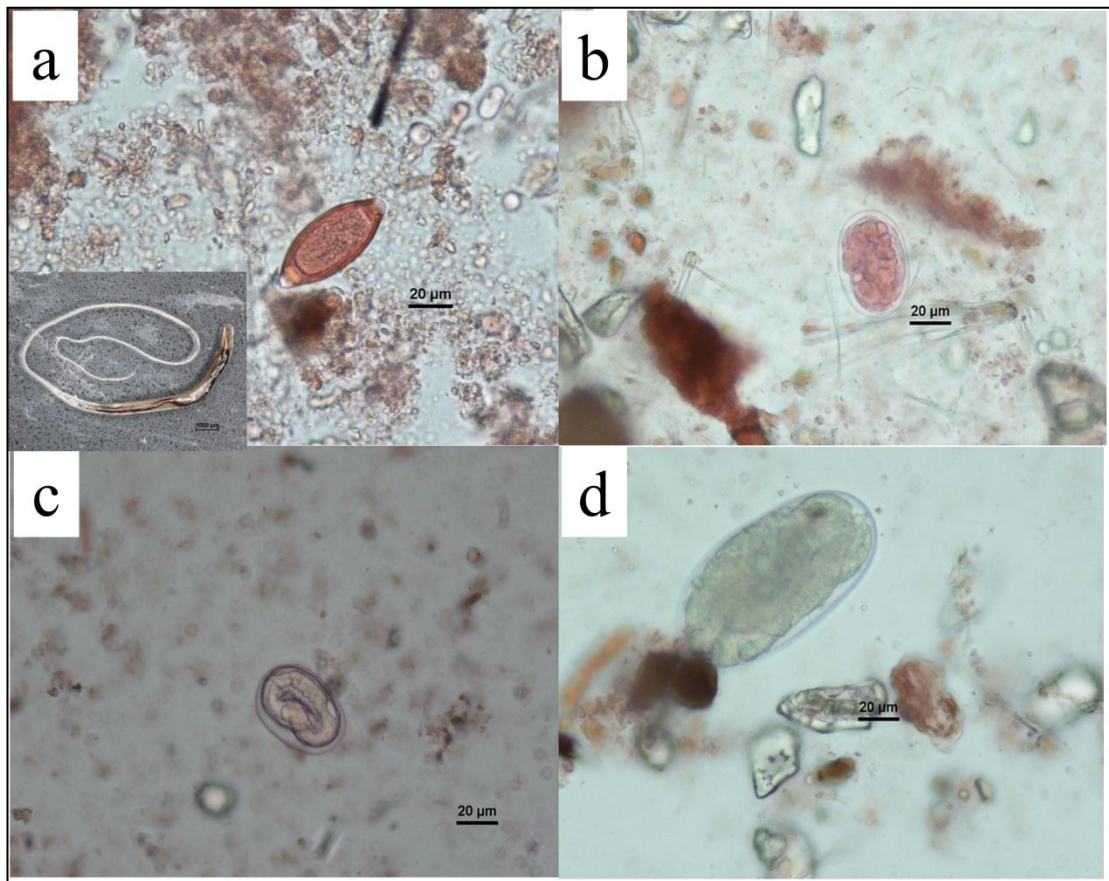


圖 2. 台灣獼猴之腸道線蟲種類。a：人鞭蟲(*Trichuris trichiura*)蟲卵及其雌性成蟲之蟲體外觀(左下方小圖)；b：腸結節蟲(*Oesophagostomum aculeatum*)之蟲卵外觀；c：福氏桿線蟲(*Strongyloides fuelleborni*)卵外觀；d：毛圓線蟲(*Trichostrongylus* sp.)卵外觀。

Fig. 2. The parasitic nematodes found in the Taiwanese macaques in this study. a: the ova of *Trichuris trichiura* and adult female (small figure at the lower-left side); b: the ova of *Oesophagostomum aculeatum*; c: the ova of *Strongyloides fuelleborni*; d: the ova of *Trichostrongylus* sp

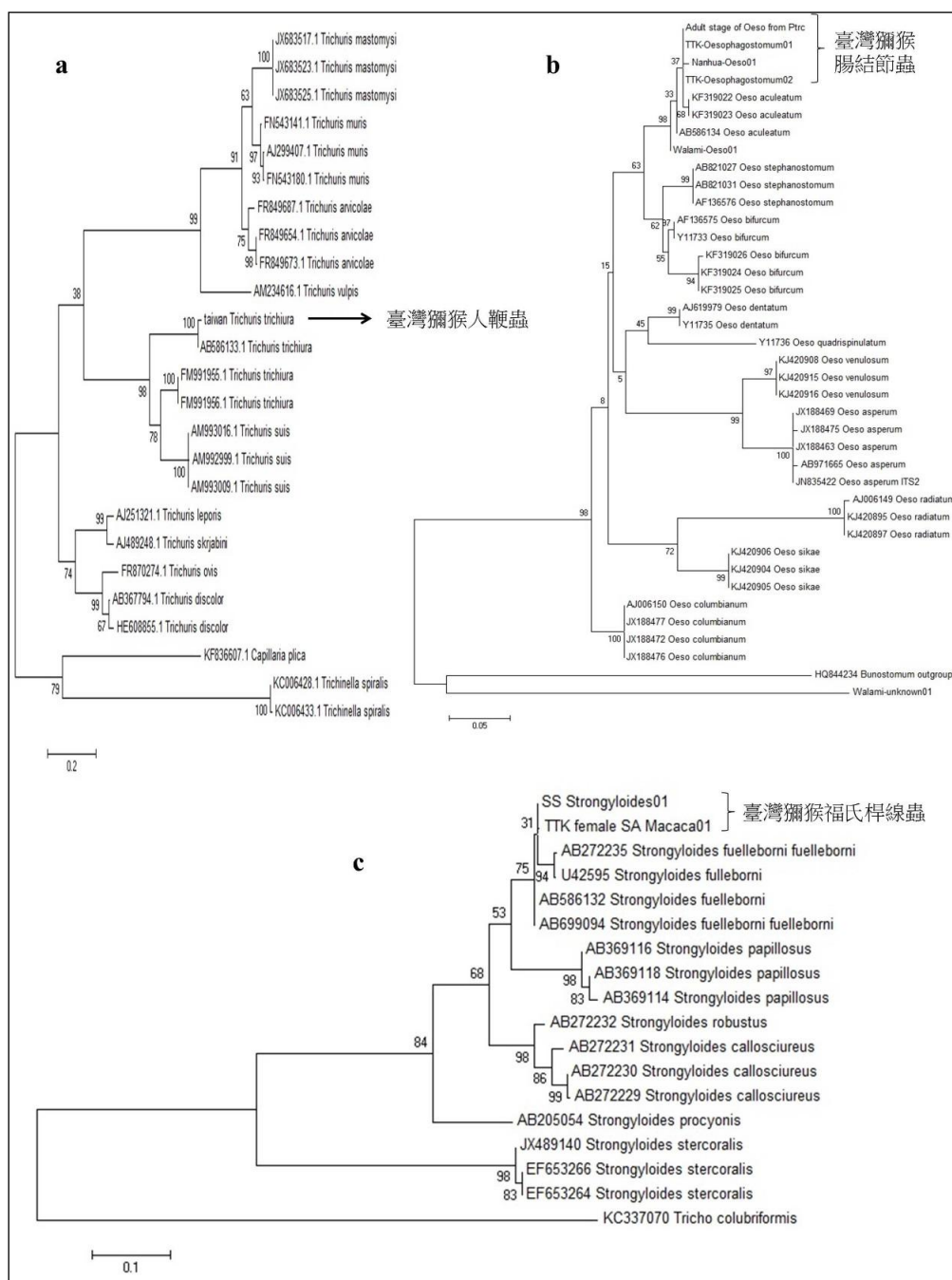


圖 3. 台灣獼猴所分離之：a. 鞭蟲；b. 腸結節蟲；及 c. 福氏桿線蟲，與 NCBI 資料庫下載近似物種之 ITS2 基因 DNA 序列親緣樹。

Fig 3. Constructed phylogenetic relationship of: a. *Trichuris*; b. *Oesophagostomum*; c. *Strongyloides* in this study and related species (data download from NCBI database) based on the ITS2 gene

討論

過去台灣獼猴寄生蟲研究中發現感染的寄生蟲有許多種類為可能人猴共通寄生蟲，(林 1997, 趙 2011; Kim and Bergner Jr 1964; Myers and Kuntz 1964; Kuntz *et al.* 1968)。此結果與其他國家針對不同靈長類物種，如日本獼猴、恆河獼猴、東非狒狒 (*Papio anubis*) 及黑長尾猴 (*Cercopithecus aethiops*)，所進行之研究相符(Remfry 1978; Itoh *et al.* 1988; Legesse and Erko 2004)。然而，因過去針對寄生蟲之鑑定端賴其型態學，因此，多數研究僅分類至屬的階層。由於不同寄生蟲物種之間的流行病學與生態特性有異，錯誤鑑定會造成進一步的流行病學研究結果的錯誤，並直接影響病原防疫的工作。本研究利用已被廣泛採用的分子生物學方法來鑑定線蟲物種(McManus and Bowles 1996)，除可避免物種鑑定錯誤之外，亦可提供後續不同宿主物種、族群及地區之間寄生蟲之差異比較，以釐清病原之來源及傳播途徑。本研究發現研究區域內之台灣獼猴具高比例的鞭蟲、桿線蟲及腸結節蟲感染，這些腸道寄生蟲主要係透過水源汙染和糞便、土壤的接觸，在衛生條件落後之國家或地區，亦常為主要造成人類感染及致病的寄生蟲。

鞭蟲寄生在宿主動物的大腸和盲腸中，靈長類動物最常感染之鞭蟲種類為人鞭蟲 (Arizono *et al.* 2012; Ravasi *et al.* 2012)，而此寄生蟲亦為全世界人類寄生蟲感染率最高的線蟲之一，當大量感染時會導致嚴重的腸胃道症狀，如：腹痛、下痢、噁心嘔吐及無食慾等 (Huang *et al.* 2003)。腸結節蟲在非洲北部是影響人類健康的重要寄生蟲，該區域每年至少有百萬人會受到感染(Lieshout *et al.* 2005)，而舊大陸地區之靈長類物種(如獼猴和猩猩)亦常發

現感染腸結節蟲(Huffman and Chapman 2009)。

人體中最常發現的兩種桿線蟲，糞桿線蟲 (*S. stercoralis*) 和福氏桿線蟲廣泛的分布在非洲、巴布新幾內亞、東南亞、拉丁美洲地區，其中針對 *S. stercoralis* 所進行的調查顯示，此腸道寄生蟲在 70 個國家中之感染人數達三千萬人，透過與土壤和感染者的接觸為此寄生蟲的主要傳播方式，感染後通常無嚴重致病性，但感染後未治療通常可持續數十年存在於腸道中，並對病患造成許多腸胃道症狀，對免疫抑制或缺乏的病人，此寄生蟲甚至可造成死亡 (Ericsson *et al.* 2001)。

過去從未有任何針對疾病如何影響台灣獼猴野外族群的研究，然而，於圈養環境中或救傷過程中可發現，大量寄生蟲感染時，常可導致獼猴個體之惡病質及死亡。因此，可以預期疾病對獼猴的族群可能具有顯著的影響。傳染性疾病為野生動物族群量的一項非常重要的影響因子。病原與其他環境因素如氣候、棲地、食物品質及族群密度等因子交互作用而對野生動物族群造成影響，甚至造成物種區域性或全面性的滅絕(Hudson *et al.* 1992; Tompkins and Wilson 1998)。在靈長類動物中亦曾有許多因為疾病爆發而導致族群嚴重衝擊的案例 (Wolfe *et al.* 1998)。然而，要評估病原對於靈長類動物的影響，除了需要確認感染靈長類物種之病原種類外，長期的監控亦是不可或缺的資料。

本研究顯示壽山地區獼猴之腸道線蟲分布不具有顯著的空間分布差異，很可能是因為台灣獼猴族群密度高，個體及猴群間的接觸頻繁，而導致此結果。

壽山地區為高雄市珍貴的自然綠地及遊憩場所，民眾與台灣獼猴接觸頻繁更增加了人畜共通疾病傳播的風險，針對腸道線蟲所進行

之調查結果可作為未來民眾宣導教育及疾病防疫之科學根據，民眾在壽山地區進行遊憩活動時，應對人猴共通疾病有基本的認知，並了解如何進行疾病的預防，以保護自身安全。

結論

本研究對壽山國家自然公園台灣獼猴之腸道線蟲進行調查，並以分子生物學方法確認台灣獼猴所攜帶之線蟲種類；此外，建立壽山地區台灣獼猴之腸道線蟲感染及分布狀況，對台灣獼猴之腸道線蟲所進行的空間分析發現上述腸道線蟲並不具有空間之分佈差異，此現象更增加人猴互通疾病傳播之風險。未來對於獼猴族群的寄生蟲性疾病研究應進行長期監測，以提供針對獼猴族群及民眾之疾病防疫及經營管理之科學資料，並宣導民眾不要與獼猴接觸以避免人猴共通疾病之傳播。

誌謝

本研究部份經費由壽山國家自然公園籌備處支持，謹此致謝。

引用文獻

- 林慧玉。1997。玉山和柴山地區台灣獼猴 (*Macaca cyclopis*) 腸道寄生蟲之比較。國立台灣大學動物學研究所碩士論文，67 頁。
- 陳貞志、裴家騏。2005。台灣獼猴 B 病毒之發生現況及人類暴露後之管理建議。野生動物保育彙報及通訊 9(2):16-23。
- 裴家騏。2008。壽山台灣獼猴群的保育議題。野生動物保育彙報及通訊 12: 12-16。
- 裴家騏、賴玉菁。2014。壽山國家自然公園台灣獼猴族群資源暨人猴關係，壽山國家自然公園籌備處，高雄，142 頁。
- 趙羚雅。2011。福山和柴山地區台灣獼猴 (*Macaca cyclopis*) 之腸道寄生蟲相。屏東科技大學野生動物保育研究所碩士論文，65 頁。
- 蘇秀慧、粘書維。2013。壽山國家自然公園台灣獼猴 (*Macaca cyclopis*) 族群密度及人猴互動。國家公園學報 23: 33-48。
- Arizono, N., M. Yamada, T. Tegoshi, and K. Onishi. 2012. Molecular Identification of *Oesophagostomum* and *Trichuris* Eggs Isolated from Wild Japanese Macaques. The Korean Journal of Parasitology 50: 253-257.
- Cohen, J. I., D. S. Davenport, J. A. Stewart, S. Deitchman, J. K. Hilliard, and L. E. Chapman. 2002. Recommendations for prevention of and therapy for exposure to B virus (Cercopithecine herpesvirus 1). Clinical Infectious Diseases 35: 1191-1203.
- Coleman, M., M. Coleman, A. M. Mabuza, G. Kok, M. Coetzee, and D. N. Durrheim. 2009. Using the SaTScan method to detect local malaria clusters for guiding malaria control programmes. Malar J 8: 10.1186.
- Cox-Singh, J., T. M. E. Davis, K.-S. Lee, S. S. G. Shamsul, A. Matusop, S. Ratnam, H. A. Rahman, D. J. Conway, and B. Singh. 2008. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clinical Infectious Diseases 46: 165-171.
- Cutillas, C., R. Callejon, M. De Rojas, B. Tewes, J. Ubieda, C. Ariza, and D. Guevara. 2009.

- Trichuris suis* and *Trichuris trichiura* are different nematode species. *Acta Tropica* 111: 299-307.
- Demeler, J., S. Ramünke, S. Wolken, D. Ianiello, L. Rinaldi, J. B. Gahutu, G. Cringoli, G. von Samson-Himmelstjerna, and J. Krücken. 2013. Discrimination of gastrointestinal nematode eggs from crude fecal egg preparations by inhibitor-resistant conventional and real-time PCR. *Plos One* 8: e61285.
- Dowdle, W. R., and M. E. Birmingham. 1997. The Biologic Principles of Poliovirus Eradication. *Journal of Infectious Diseases* 175: S286-S292.
- Ericsson, C. D., R. Steffen, A. A. Siddiqui, and S. L. Berk. 2001. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clinical Infectious Diseases* 33: 1040-1047.
- Higgins, D., J. Thompson, and T. Gibson. 1994. {CLUSTAL W}: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- Huang, N.-C., H.-C. Fang, K.-J. Chou, and H.-M. Chung. 2003. *Trichuris trichiura*: An unusual cause of chronic diarrhoea in a renal transplant patient. *Nephrology Dialysis Transplantation* 18: 2434-2435.
- Hudson, P. J., D. Newborn, and A. P. Dobson. 1992. Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. *Journal of Animal Ecology*: 477-486.
- Huet, T., R. Cheynier, A. Meyerhans, G. Roelants, and S. Wain-Hobson. 1990. Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1. *Nature* 345: 356-359.
- Huff, J. L., and P. A. Barry. 2003. B-virus (Cercopithecine herpesvirus 1) infection in humans and macaques: potential for zoonotic disease. *Emerging Infectious Diseases* 9: 246-250.
- Huffman, M. A., and C. A. Chapman. 2009. Primate parasite ecology: The dynamics and study of host-parasite relationships. Cambridge University Press Cambridge, UK.
- Itoh, K., Y. Oku, M. Okamoto, M. Ohbayashi, Y. Kitamura, and T. Shibahara. 1988. Helminth parasites of the Japanese monkey, *Macaca fuscata fuscata* in Ehime prefecture, Japan. *Japanese Journal of Veterinary Research* 36: 235-247.
- Kim, C., and J. F. Bergner Jr. 1964. A study of filaria in Taiwan monkeys. *The Korean Journal of Parasitology* 2: 81-86.
- 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.
- Kulldorff, M. 2014. SaTScan™ User Guide for version 9.3, pp. 105.
- Kuntz, R. E., and B. J. Myers. 1969. A checklist of parasites and commensals reported for the Taiwan macaque (*Macaca cyclopis* Swinhoe, 1862). *Primates* 10: 71-80.

- Kuntz, R. E., B. J. Myers, J. F. Bergner Jr, and D. E. Armstrong. 1968. Parasites and commensals of the Taiwan macaque (*Macaca cyclopis* Swinhoe, 1862). *Formosan Science* 22: 120-136.
- Lau, L.-I., F.-L. Lee, W.-M. Hsu, S. Pampiglione, M. L. Fioravanti, and T. C. Orihel. 2002. Human subconjunctival infection of *Macacanema formosana*: The first case of human infection reported worldwide. *Archives of Ophthalmology* 120: 643-646.
- Legesse, M. and B. Erko. 2004. Zoonotic intestinal parasites in *Papio anubis* (baboon) and *Cercopithecus aethiops* (vervet) from four localities in Ethiopia. *Acta Tropica* 90: 231-236.
- Lieshout, L., J. M. Gruijter, M. Adu- Nsiah, M. Haizel, J. J. Verweij, E. A. Brienem, R. B. Gasser, and A. Polderman. 2005. *Oesophagostomum bifurcum* in non- human primates is not a potential reservoir for human infection in Ghana. *Tropical Medicine & International Health* 10: 1315-1320.
- McManus, D. P., and J. Bowles. 1996. Molecular genetic approaches to parasite identification: Their value in diagnostic parasitology and systematics. *International Journal for Parasitology* 26: 687-704.
- Morell, V. 1995. Chimpanzee outbreak heats up search for Ebola origin. *Science* 268: 974-975.
- Myers, B. J., and R. E. Kuntz. 1964. Nematode parasites from mammals taken on Taiwan (Formosa) and its offshore islands. *Canadian Journal of Zoology* 42: 863-868.
- Ravasi, D. F., M. J. O’Riain, F. Davids, and N. Illing. 2012. Phylogenetic evidence that two distinct *Trichuris* genotypes infect both humans and non-human primates. *Plos One* 7: e44187.
- Remfry, J. 1978. The incidence, pathogenesis and treatment of helminth infections in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Laboratory animals* 12: 213-218.
- Renquist, D. M., and R. A. Whitney Jr. 1987. Zoonoses acquired from pet primates. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice* 17: 219-240.
- Roepstorff, A., and P. Nansen. 1998. Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine. Food and Agriculture Organization (FAO), Rome.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Tompkins, D. M., and K. Wilson. 1998. Wildlife disease ecology: From theory to policy. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 476 -478.
- Wallis, J., and D. R. Lee. 1999. Primate conservation: the prevention of disease transmission. *International Journal of Primatology* 20: 803-826.
- Weigler, B. J. 1992. Biology of B virus in macaque and human hosts: A review. *Clinical Infectious Diseases* 14: 555-567.
- Wilson, M. E. 1995. Travel and the emergence of infectious diseases. *Emerging infectious*

diseases 1: 39-46.

Wolfe, N. D., A. A. Escalante, W. B. Karesh, A. Kilbourn, A. Spielman, and A. A. Lal. 1998. Wild primate populations in emerging infectious disease research: The missing link? *Emerging Infectious Diseases* 4: 149-158.

食肉目動物快速調查

Quick Survey of Carnivores

姚正得 林明璋 林宏儒*

Cheng-Te Yao, Ming-Chang Lin and Hung-Ju Lin*

行政院農業委員會特有生物研究保育中心 55244 南投縣集集鎮民生東路 1 號

Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

*通訊作者: kv1713@hotmail.com

* Corresponding author: kv1713@hotmail.com

摘 要

台灣大多數山區地形崎嶇陡峭、植群密布，且食肉目動物大多生性隱密，造成直接觀察上的障礙。為了能夠提升食肉目動物調查效率，本研究自 2013 年 10 月至 2014 年 3 月，在行政院農業委員會特有生物研究保育中心中海拔試驗站以自動相機配合氣味站進行食肉目動物快速調查之可能性初探研究，於海拔 1,600-1,800m 範圍中選定 40 個樣點架設紅外線自動相機(KeepGuard SD 1039)及氣味站(scent-station)進行調查。調查結果共記錄哺乳類 5 目 11 科 15 種，其中食肉目動物計 4 科 7 種，非食肉目動物中台灣野兔(*Lepus sinensis formosanus*)為本地區新記錄種。食肉目動物出現頻率(Occurrence Index, OI)方面，以黃喉貂(*Martes flavigula chrysospila*)(OI=13.0)最多、食蟹獾(*Herpestes urva*)(OI=4.5)及白鼻心(*Paguma larvata taivana*)(OI=4.4)居次。受到氣味站的吸引，黃喉貂、食蟹獾、白鼻心及華南鼬鼠(*Mustela sibirica*)等食肉目動物出現頻度較無氣味站自動相機的調查結果高，台灣黑熊(*Ursus thibetanus formosanus*)及鼬獾(*Melogale moschata subaurantiaca*)對氣味站沒特別反應。雖然從結果顯示氣味站的使用部分食肉目動物 OI 值顯著提升，但我們無法排除是因為重複個體導致，使得 OI 值無法用於估計物種豐富度，僅能表示該物種在此地活動頻繁，要了解食肉目族豐富度，往後的研究仍需要對個體進行標記後再進行族群數量的估計。食肉目動物多在氣味站架設後 4~6 天記錄到，建議相機的架設時間，宜滿足工作時數至少 168 小時。

Abstract

Direct observation of carnivores is difficult in Taiwan due to the elusive nature of carnivores and the Island's dense vegetation coverage and many rugged mountains with steep slopes. As a way to effectively understand carnivores in Taiwan, we conducted a survey in Medium Altitude Experiment Station, Endemic Species Research Institute, COA, EY, from October 2013 to March 2014 via tested camera traps with scent-station. Forty plots were set up with 10 KeepGuard SD1039 digital camera traps and scent-stations. We recorded 15 kinds of mammal, among which *Lepus sinensis formosanus* is a new record in this area. Occurrence Index (OI) of species varied from numerous to common, which included *Martes flavigula chrysospila* (OI=13.0), *Herpestes urva* (OI=4.5) and *Paguma larvata taivana* (OI=4.4). In addition to *Ursus thibetanus formosanus* and *Melogale moschata subaurantiaca*, *Martes flavigula chrysospila*, *Herpestes urva*, *Paguma larvata taivana* and *Mustela sibirica* showed the highest OI. We also found *Martes flavigula chrysospila* kept *Herpestes urva formosanus* out from scent-station, and they were sympatric animals. The OI of *Paguma larvata taivana* and *Viverricula indica taivana* varied due to suspected food shortage in different seasons, which may cause sympatric carnivores to migrate. We recommend that camera traps should be set at least 168 hours to record almost all the mammals in the survey area.

關鍵詞：自動相機、氣味站、出現頻率、食肉目動物、名錄

Key words : camera traps, scent-station, occurrence index, carnivore, catalog

收件日期：2014 年 05 月 27 日 接受日期：2016 年 06 月 13 日

Received: May 27, 2014

Accepted: June 13, 201

前 言

野生動物族群的分布型式為一項重要資料，陸域哺乳動物族群分布為生態系統的一個重要指標(Ahumada *et al.* 2011)。了解物種在棲地內的分布型式，有助於確認區域內物種豐富度大小，並了解各物種對棲息地的選擇性，或影響其分布的環境因

子，進一步可評估環境變遷對族群分布和數量之影響。台灣山區地形極為複雜陡峭且植被叢生(林 2003)，造成直接觀察法難以執行(裴等 1997)，獲得資料難以完整，且不同調查人的差異亦會使得調查資料品質不均，訪問資料往往缺乏可信度或精確度(裴和姜 2003)，相同資料可能隨著不同調查人或訪問人而改變，直接影響後續資

料分析之正確性和有效性。因此尋求一種客觀且科學的調查方式，對於野生動物資料之收集將有莫大助益。

氣味站(Scent station)是使用特殊氣味吸引動物接近，此法可在低成本下，快速收集當地物種資料(Harrison 1997; Sargeant *et al.* 2003)，一般而言氣味站會與追蹤物(如泥土及滑石粉等)並用(Linhart and Knowlton 1975)。氣味站調查已被廣泛應用於野生動物調查(Conner *et al.* 1983)，在美國最初應用於赤狐(*Vulpes vulpes*)的調查(Richards and Hine 1953)，之後便開始擴展至其他野生食肉動物(Conner *et al.* 1983)，包括郊狼(*Canis latrans*; Roughton and Sweeney 1982)；加拿大猓猓(*Lynx canadensis*; McDaniel *et al.* 2000; Weaver 2002)；短尾貓(*Lynx rufus*; Diefenbach *et al.* 1994)；北美水獺(*Lutra canadensis*; Conner *et al.* 1983)等各物種的調查(Chamberlain *et al.* 1999)。Roughton and Sweeney (1982)認為氣味站為調查食肉目動物族群變動趨勢的一種實用方法，Diefenbach *et al.* (1994)建議氣味站調查法，應每年調查數次，盡可能設置大量氣味站，並將每個氣味站間距加大。

中大型哺乳動物(成體平均體重大於250g)多生性隱密不易觀察，其中食肉目動物不但稀有且鮮少留下蹤跡，因此估計食肉目動物的族群大小更顯困難 (Sargeant *et al.* 1998; 裴和姜 2003)。台灣 11 種食肉目哺乳動物中，其中就有 7 種屬於瀕臨絕種或是珍貴稀有保育類野生動物。此外，2013 年陸續在台灣各地檢驗出感染狂犬病的鼬獾(*Melogale moschata subaurantiaca*)，疫情主要分布於中南部。截至 2014 年 3 月，於 9 縣市 61 鎮確診 325 例食肉目野生動物感染

狂犬病，另外有 1 例為被鼬獾咬傷之家犬及 1 例錢鼠(*Suncus murinus*)感染狂犬病死亡之案例(狂犬病中央流行疫情指揮中心 2014)，因此鼬獾及白鼻心(*Paguma larvata taivana*)等食肉目動物造成大眾人心惶惶。為了能夠快速調查食肉目動物分布，本研究在特有生物研究保育中心中海拔試驗站，使用紅外線數位自動相機並配合使用氣味站作為調查工具，透過將自動相機設置於不同棲地類型，試驗自動相機配合氣味站的使用是否可以提升食肉目哺乳動物調查效率。獲得資料再標準化動物相對豐富度指數，並與過去的調查方式比較，以利後續食肉目動物之調查及經營管理。

材料與方法

一、調查區域

本研究調查區域為行政院農業委員會特有生物研究保育中心中海拔試驗站，試驗站位於東經 120°47'，北緯 23°05'，即林務局屏東林管處在高雄縣桃源鄉寶山村境內所轄之荖濃溪事業區第 57 林班地，東臨中央山脈南一段之石山，南面出雲山自然保留區。面積為 219.06 公頃，海拔高度為 1,100-2,635 m，年平均溫度約 15℃，年平均雨量約 2,200 ml(姚 2009)。涵蓋了數種氣候帶，因多雲霧且濕度高植被覆蓋完整，除海拔 2,350 m 處已砍伐約 25 公頃外，其餘皆為天然林(彭等 2000；陳等 2002)。

本地區依地理氣候區劃分屬西南區，為夏雨型氣候。植群帶分布界限與台灣中部山地垂直氣候植群帶及各林帶之林型分化一致(林 2003)，主要可分為 5 個植群型包括：(1)森氏

櫟—高山新木薑子林型 (*Cyclobalanopsis morii*-*Neolitsea acuminatissima* type)，海拔高度介於 2,150-2,575 m；(2)卡氏櫟—日本槭楠林型 (*Castanopsis carlesii*-*Machilus japonica* type)，海拔高度介於 1,615 -2,095 m；(3)屏東木薑子—灰背葉子珠林型 (*Litsea akoensis*-*Callicarpa hypoleucophylla* type)，海拔高度介於 1,210-1,510 m；(4)瓊楠—大葉木犀林型 (*Beilschmiedia erythrophloia*-*Osmanthus matsumuranus* type)，海拔高度介於 1,570-1,615 m；(5)小葉樹杞—栲樹林型 (*Ardis quinqueгона*-*Castanopsis fargesii* type)，海拔高度 1,505 m。

中海拔試驗站自 2009 年八八風災過後，造成道路多處崩塌，至今仍未全部修復，因此自然環境幾乎無人為干擾，加上該區具有相當完整之自然環境，故野生動植物資源相當豐富，極具研究價值。

本次研究選擇試驗站內兩條較為容易抵達之路線進行調查，調查範圍分別為 1,600 m 石山林道及 1,800 m 木馬道(圖 1)，並在兩條路線每 200 m 設置 200x200 m 相連小樣區，每個樣區內設置至少 2 個樣點，樣區編號以 A~T 表示，樣點編號則在樣區內以 1.2.3 等數字表示(如：A1 表示 A 樣區第 1 樣點)。於 2013 年 9 月以豬肉為氣味站，設置 5 個樣點進行前試驗(不列入分析)，發現豬肉氣味站平均設置 8.2 天可吸引食肉目動物中的黃喉貂(*Martes flavigula chrysospila*)、白鼻心及食蟹獾(*Herpestes urva*)，因此本次試驗以前試驗為基礎，每個樣點設置時間為 8~38 天，逐步更換相機位置。紅外線自動相機對光的感應極為敏感，有時會因內建感光元件在陰天時判斷曝光度不足，紅外線模式啟動，導致整個影像過度曝光，而無法辨識物種，故適

時調整相機位置及架設時間，以滿足工作時數至少 192 小時。

二、調查方法

1.紅外線數位自動相機

本次調查使用 10 台 Keep Guard SD 1039 紅外線數位自動相機，裝載 8 顆鋰電池，可連續運作 12 個月不間斷，配合使用 Transend 4GB 及 ADATA 16GB 記憶卡，可分別記錄 1 及 4 小時影片內容，有效延長調查時間。本次調查將相機設定為錄影模式，將自動相機設定為錄製 10 秒，間格 10 秒，以利野生動物之行爲模式觀察。8~38 天進行記憶卡更換 1 次，並且更換自動相機位置，逐步將相機設置於每個樣區，樣點設置輔以 GPS 定位，供更精準之樣點設置。架設位置以有獸徑痕跡、避免有陽光直射及坡度過陡之地點為主要架設位置，相機架設於離地 1.5~2 m 的樹幹上，並將相機角度向下調整 30°~45°，確定能夠拍攝到經過獸徑之動物。隨後在相機前方適合地點設置氣味站，吸引食肉目動物前來，以試驗氣味站配合自動相機是否可提升地區食肉目調查的效率。

2.氣味站設置

氣味站由新鮮的秋刀魚(*Cololabis saira*)及豬肉組成，以懸掛方式吊掛在自動相機前方 2~5 m 處，距離頂端樹枝至少 1 m，距離周圍樹幹至少 1.5 m，距離底部至少 1.8 m (圖 2)，此種吊掛方式可避免氣味站遭動物取下食用，以延長氣味站使用時間。前試驗顯示，氣味站吊掛 15 天後仍有食肉目動物前來嗅聞、採食氣味站，氣味站每次更換記憶卡時一併更換，如果氣味站遭動物取下，或放置超過 15 天，之後資料不納入分析。

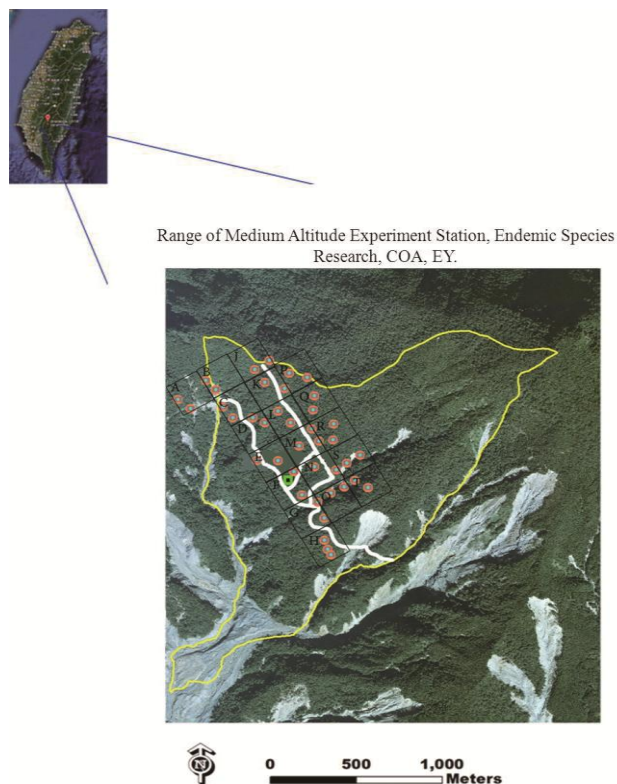


圖 1.中海拔試驗站研究樣區，圖中方格表示樣區，橘點表示樣點。

Fig. 1. The study area in the Medium Altitude Experiment Station, Endemic Species Research, COA, EY (Squares = plots; orange = points).

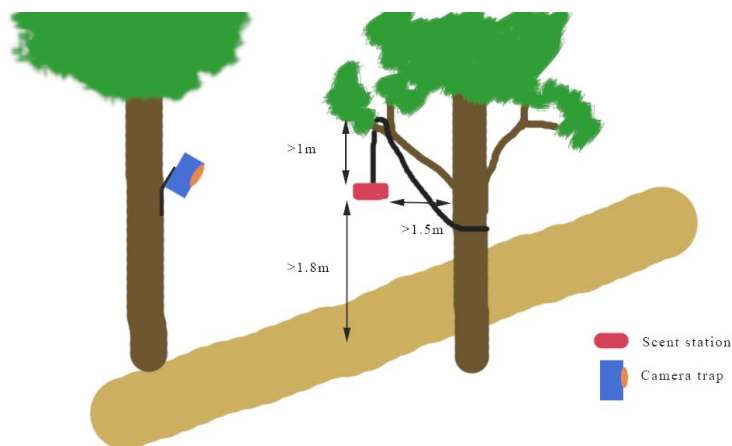


圖 2.自動相機及氣味站架設示意圖。

Fig. 2. Schematic diagram of camera traps and scent station.

3. 資料分析

資料記錄各樣點編號、物種名稱、日期時間、地點、數量及行為等資訊。出現頻率 (Occurrence Index, OI): 根據自動相機資料計算各種食肉目動物在各個樣點的出現頻率, 計算方式為(某目標物種在該樣點的照片數量/該樣點的相機總工作時) $\times 1000$ 。(若單張照片上有 1 隻動物(多數情形), 則記為 1 隻次; 若有 2 隻動物, 則記為 2 隻次), 一旦氣味站遭動物食用, 之後的資料則不進行分析, 相機工作時數須滿足 192 小時。統計分析則採用 Excel 進行 ANOVA 檢定分析放置氣味站後物種出現頻率是否有顯著差異。

物種最快出現天數: 本次試驗為了解當氣味站設置後, 幾天內能夠調查到食肉目動物, 故將物種調查的天數量化, 以自動相機及氣味站架設後開始計算食肉目動物樣點第一次出現時間, 每個樣點個別計算, 如果物種沒出現的樣點則不分析, 最後再以第 n 天出現平均的方式繪出物種累積天數圖, 物種最快出現天數 $= \Sigma(\text{第 } i \text{ 樣點物種第一次出現時間} - \text{第 } i \text{ 樣點自動相機及氣味站架設時間}) / \text{物種出現樣點數}$ 。

結果

一、出現頻率:

2013 年 10 月 3 日至 2014 年 3 月 17 日間, 於特有生物研究保育中心中海拔試驗站共以 10 部紅外線數位自動相機, 輪流設置於 40 個調查樣點, 有效工作時間共 11,888 小時, 每個樣點每台相機平均工作時數 297.2 ± 75.4 小時, 總共記錄到野生動物影片 1,323 段, 扣除可判斷為連續錄製部分, 有效記錄 757 隻次野生動物, 涵蓋哺乳類 5 目 11 科 15 種, 鳥類 6 種。食肉目哺乳類包括黃喉貂、食蟹獾(*Herpestes*

urva)、白鼻心、華南鼬鼠(*Mustela sibirica*)、麝香貓(*Viverricula indica taivana*)、鼬獾、台灣黑熊(*Ursus thibetanus formosanus*); 其他哺乳類有山羌(*Muntiacus reevesi micrurus*)、台灣長鬃山羊(*Capricornis swinhoei*)、台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)、刺鼠(*Niviventer coxingi*)、赤腹松鼠(*Callosciurus erythraeus*)、條紋松鼠(*Tamias maritimus*)、台灣野豬(*Sus scrofa*)及台灣野兔(*Lepus sinensis formosanus*), 其中台灣野兔為本地區新記錄之物種。出現頻率方面(表 1), 整體出現頻率為 63.6, 其中以黃喉貂最多 (OI=13.0), 其次為刺鼠 (OI=11.0)、台灣山羌 (OI=7.9)、台灣獼猴 (OI=6.6)、食蟹獾 (OI=4.5)、白鼻心 (OI=4.4)、赤腹松鼠 (OI=4.0), 此 7 種哺乳類為本試驗中最常記錄的物種, 其中食肉目動物中的黃喉貂、食蟹獾、白鼻心及華南鼬鼠因為氣味站的使用, 出現頻度顯著比張和姚 (2013) 採用固定型底片式自動相機高 (ANOVA, $p < 0.05$) (表 1)。其他物種方面皆未超過 5%, 出現頻度皆不足 3, 即在每台相機前每 1000 個小時出現不足 3 次, 包含麝香貓、台灣長鬃山羊、鼬獾、華南鼬鼠、台灣野豬、條紋松鼠、台灣野兔、台灣黑熊及台灣水鹿等等。先前調查(周 1991; 張和姚 2013)指出, 此區中大型地棲哺乳動物尚有穿山甲(*Manis pentadactyla pentadactyla*), 但本次試驗中並無記錄。

鳥類出現頻率部分, 以地棲型的鳥種記錄較多, 以藍腹鵲(*Lophura swinhoii*, OI=3.5)最多, 其次為深山竹雞(*Arborophila crudigularis*, OI=1.4), 其於鳥類出現頻率皆未滿 0.7。

食肉目物種平均最短記錄天數累積圖如圖 3, 相機架設前 6 天記錄到 5 種食肉目動物, 6 天後記錄到物種數便趨於平緩, 架設 15 天共記錄 7 種食肉目動物, 包含前 6 天的麝香貓、白鼻心、黃喉貂、華南鼬鼠、食蟹獾, 及 6~15

天記錄到的鼬獾及台灣黑熊等 7 種食肉目動物，結果顯示 71%的食肉目動物在氣味站架設 4~6 天記錄到，顯示氣味站在 4~6 天間所散發出的氣味達到最大效果，可將大多數食肉目動物吸引至調查點。麝香貓平均 3.9 ± 2.2 天($n=5$)可記錄到；白鼻心 4.4 ± 3.1 天($n=18$)；黃喉貂需 4.9 ± 2.5 天($n=35$)；華南鼬鼠需 5 ± 3.5 天($n=10$)；食蟹獾需 5.5 ± 3.6 天($n=25$)而鼬獾則需 14.8 ± 9.7 天($n=7$)，但鼬獾從未對氣味站有採食動作；台灣黑熊 13 天($n=1$)，僅一筆幼熊從氣味站周圍

經過的畫面。

本次試驗發現黃喉貂的活動範圍幾乎廣布於溪南山地區，20 個樣區 40 個自動相機樣點中，有 18 個樣區 35 個樣點發現黃喉貂，佔 87.5%；食蟹獾次之，16 個樣區 25 樣點(62.5%)有自動相機記錄；白鼻心出現於 10 個樣區 18 個樣點(45.0%)、鼬獾出現於 6 個樣區 7 個樣點(17.5%)；華南鼬鼠出現於 5 個樣區 10 個樣點(25.0%)，麝香貓出現於 4 個樣區 5 個樣點(12.5%)，而台灣黑熊僅 1 筆出現記錄(2.5%)。

表 1. 本次調查與張和姚(2013)之比較

Table 1. Our results compared to Chang and Yao (2011~2013)

Species	2011	2012	2013	In our study
<i>Muntiacus reevesi micrurus</i>	55.4	39.2	32.5	7.9
<i>Macaca cyclopis</i>	12.8	12.3	10.1	6.6
<i>Capricornis swinhoei</i>	3.1	2.2	2.1	1.3
• <i>Martes flavigula chrysospila</i>	3.9	0.7	1.3	13.0**(F=31.3)
• <i>Melogale moschata subaurantiaca</i>	2.4	2.8	0.6	0.76
• <i>Herpestes urva</i>	0.7	0.5	0.3	4.54**(F=306.0)
• <i>Mustela sibirica</i>	0.3	0.4	0.2	1.6*(F=126.8)
<i>Sus scrofa</i>	0	0.1	0.1	0.25
• <i>Paguma larvata taivana</i>	0.1	1	0.1	4.37*(F=43.8)
<i>Rusa unicolor swinhoei</i>	0	0	0.1	0
• <i>Ursus thibetanus formosanus</i>	0.3	0	0	0.1
• <i>Viverricula indica taivana</i>	0	0	0	0.75
<i>Lepus sinensis formosus</i>	0	0	0	0.25
<i>Manis pentadactyla pentadactyla</i>	0	0	0	0
<i>Niviventer coxingi</i>	9.5	30	28.3	11.0
<i>Callosciurus erythraeus</i>	8	8	17.8	4.0
<i>Tamias maritimus</i>	0.3	0.1	2.4	0.3

OI from Chang and Yao's survey and our study. We had surveyed all kinds of carnivores that had been recorded in Medium Altitude Experiment Station using scent-station with camera trap.

• = carnivores, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

二、食肉目調查天數累積

食肉目物種平均最短記錄天數累積圖如圖 3，相機架設前 6 天記錄到 5 種食肉目動物，6 天後記錄到物種數便趨於平緩，架設 15 天共記錄 7 種食肉目動物，包含前 6 天的麝香貓、白鼻心、黃喉貂、華南鼬鼠、食蟹獾，及 6~15 天記錄到的鼬獾及台灣黑熊等 7 種食肉目動物，結果顯示 71% 的食肉目動物在氣味站架設 4~6 天記錄到，顯示氣味站在 4~6 天間所散發出的氣味達到最大效果，可將大多數食肉目動物吸引至調查點。麝香貓平均 3.9 ± 2.2 天 ($n=5$) 可記錄到；白鼻心 4.4 ± 3.1 天 ($n=18$)；黃喉貂需 4.9 ± 2.5 天 ($n=35$)；華南鼬鼠需 5 ± 3.5 天 ($n=10$)；食蟹獾需 5.5 ± 3.6 天 ($n=25$) 而鼬獾則需 14.8 ± 9.7 天 ($n=7$)，但鼬獾從未對氣味站有採食動作；台灣黑熊 13 天 ($n=1$)，僅一筆幼熊從氣味站周圍經過的畫面。

本次試驗發現黃喉貂的活動範圍幾乎廣布於溪南山地區，20 個樣區 40 個自動相機樣點中，有 18 個樣區 35 個樣點發現黃喉貂，佔 87.5%；食蟹獾次之，16 個樣區 25 樣點(62.5%)有自動相機記錄；白鼻心出現於 10 個樣區 18 個樣點(45.0%)、鼬獾出現於 6 個樣區 7 個樣點(17.5%)；華南鼬鼠出現於 5 個樣區 10 個樣點(25.0%)，麝香貓出現於 4 個樣區 5 個樣點(12.5%)，而台灣黑熊僅 1 筆出現記錄(2.5%)。

食肉目物種平均最短記錄天數累積圖如圖 3，相機架設前 6 天記錄到 5 種食肉目動物，6 天後記錄到物種數便趨於平緩，架設 15 天共記錄 7 種食肉目動物，包含前 6 天的麝香貓、白鼻心、黃喉貂、華

南鼬鼠、食蟹獾，及 6~15 天記錄到的鼬獾及台灣黑熊等 7 種食肉目動物，結果顯示 71% 的食肉目動物在氣味站架設 4~6 天記錄到，顯示氣味站在 4~6 天間所散發出的氣味達到最大效果，可將大多數食肉目動物吸引至調查點。麝香貓平均 3.9 ± 2.2 天 ($n=5$) 可記錄到；白鼻心 4.4 ± 3.1 天 ($n=18$)；黃喉貂需 4.9 ± 2.5 天 ($n=35$)；華南鼬鼠需 5 ± 3.5 天 ($n=10$)；食蟹獾需 5.5 ± 3.6 天 ($n=25$) 而鼬獾則需 14.8 ± 9.7 天 ($n=7$)，但鼬獾從未對氣味站有採食動作；台灣黑熊 13 天 ($n=1$)，僅一筆幼熊從氣味站周圍經過的畫面。

本次試驗發現黃喉貂的活動範圍幾乎廣布於溪南山地區，20 個樣區 40 個自動相機樣點中，有 18 個樣區 35 個樣點發現黃喉貂，佔 87.5%；食蟹獾次之，16 個樣區 25 樣點(62.5%)有自動相機記錄；白鼻心出現於 10 個樣區 18 個樣點(45.0%)、鼬獾出現於 6 個樣區 7 個樣點(17.5%)；華南鼬鼠出現於 5 個樣區 10 個樣點(25.0%)，麝香貓出現於 4 個樣區 5 個樣點(12.5%)，而台灣黑熊僅 1 筆出現記錄(2.5%)。

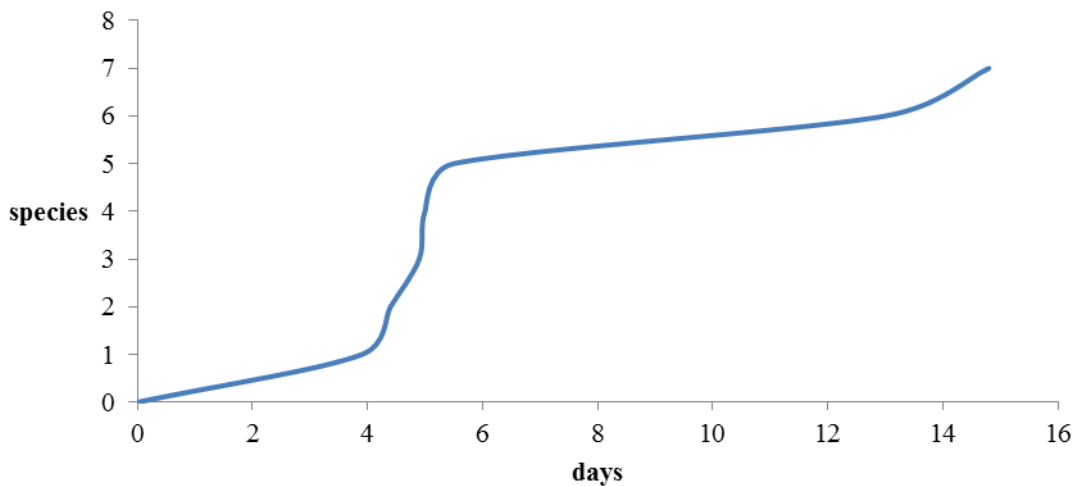


圖 3. 食肉目動物逐日平均累積圖(X 軸代表天數，Y 軸代表物種數)。

Fig. 3. Accumulation of surveyed carnivores. (X = days; Y = species).

三、動物採食行為描述：

本次架設的氣味站因部分樣點周圍的樹叢較為茂密，吊掛的位置受到限制，因此試驗一開始經常遭白鼻心及黃喉貂所食用。透過自動相機發現，兩者採取不同的覓食策略，白鼻心通常先爬上樹再往下採食，有時會從爬上樹幹，再由樹幹一躍而下的方式來抓取餌料，其橫跳的距離可達 1.3 m。而運動能力較強的黃喉貂，取食餌料的方式有兩種，一種是由地面往上跳躍，黃喉貂可用兩腳站立並跳躍，跳躍的高度幾乎達 1.5 m，如果氣味站設置離上方樹枝太近，黃喉貂亦會爬上周圍樹枝再跳下取食。此外食蟹獾、華南鼬鼠及麝香貓亦對氣味站有採食動作，食蟹獾相對於黃喉貂及白鼻心顯得較為遲鈍，一般而言食蟹獾的主要食物為溪裡的蛙、魚、蝦、蝸牛等甲殼動物，因此其身體構造並不擅長於樹林間獵食，而本次觀察到食蟹

獾為了取食樹上的氣味站，也試著爬樹，但往往爬了一小段便會摔下，嘗試多次失敗後，會改採取由地面跳躍的方式，雖其相對黃喉貂短胖的身軀，動作不若黃喉貂敏捷，但其跳躍高度與黃喉貂相當。而華南鼬鼠體型似小型的黃喉貂，其採食餌料方式也與黃喉貂相似，但其咬到肉懸在空中後，會有甩動身體似圖將肉扯下的行為。而麝香貓方面僅記錄會以雙腳站立不斷伸長脖子意圖食取氣味站，並在氣味站周圍不斷徘徊，但未拍攝到其取食氣味站的畫面。因此試驗期間，氣味站設置的時間約在 3~15 天內即會被食肉目動物取下食用(氣味站被取下後的資料不納入分析)。另外試驗也發現，黃喉貂大多以兩隻一起行動，取食氣味站時，兩隻有合作取食的行為，取下氣味站後，兩隻黃喉貂並不會爭食，而是輪流食用。

討論

一、出現頻率：

本研究成果與張和姚(2013)，採用固定底片式自動相機調查進行比較(表 1)，黃喉貂、白鼻心、食蟹獾及華南鼬鼠的出現頻率顯著的提高(ANOVA, $p < 0.05$)，但本次試驗因為無捕捉標記進行個體辨識，且樣點距離相近，無法判斷出是否為同一個體。OI 值高在本次試驗中並不一定能表示物種數量豐富，僅能解釋此物種在此地活動頻繁。要了解食肉目族群量，往後的研究仍需要對個體進行標記後再進行族群數量的估計。由於台灣山區地形複雜、棲地條件變異大，單一樣區所獲得的估算密度，除非有證據顯示具代表性，否則並不適合採用做大面積的族群總量估計(裴 2006)。Wang and Macdonald(2009)以自動相機在布丹進行孟加拉虎 (*Panthera tigris tigris*) 及印度花豹 (*Panthera pardus fusca*) 的族群密度估計及大小估計，利用老虎及豹之斑紋進行個體的判斷標記，有效率的估算出老虎及豹族群大小和密度，並判定出老虎及豹的領域並不重疊，老虎喜歡棲息於無人為干擾之棲地，而豹能夠適應輕微人為干擾的地方。透過自動相機配合野生動物個體特徵的辨識，再利用相關的估算方式，可以在有限的時間內估算出物種的密度及族群大小(Carbone *et al.* 2001)。但本次試驗採用的數位自動相機 KeepGuard SD 1039 在夜間時會以紅外線模式進行拍攝，紅外線模式的影片解析度相對較差，且僅黑白畫面，對於個體的辨識相對困難，因此往後進行族群大小估計時，建議可採用有閃光燈之數位自動相機(Wang and Macdonald 2009)，雖然閃光燈會對動物產生干擾，但卻可獲得解析度更高的影像，供個體的判斷。

二、調查天數與物種累積及活動範圍

本次調查中，每台自動相機的工作時數在 192~360 小時之間，平均 297.2 ± 75.4 小時，40 個樣點總工作時數 11,888 小時，調查到 15 種哺乳類，其中 7 種為食肉目動物，比張與姚(2013)長期監測計畫中，每年約 30,000 小時工作時數，調查到 3~6 種食肉目動物。本次調查的食肉目動物種類相較於過去調查(張與姚 2013)效率提升不少，雖然本次調查範圍相對較大，且涵蓋相對多元的棲地。但在試驗中我們發現，氣味站的有無，為食肉目動物出現與否的關鍵。我們曾嘗試將樣點設置於獸徑不明顯，底層植物叢生的棲地。試驗結果顯示，此種棲地仍有黃喉貂、食蟹獾、華南鼬鼠等食肉目動物紀錄，且當氣味站被取下後，獸徑不明顯的樣點便無食肉目動物紀錄(除了 2 次黃喉貂與食蟹獾有疑似留下氣味的動作重複探訪外)，直到更換氣味站食肉目動物又出現於同一樣點，顯示氣味站對於食肉目動物有相當的調查效果，能夠確實的吸引周遭食肉目動物前往調查樣點。

另外，部分食肉目動物因為氣味站的架設的 OI 值顯著上升，可能是因為氣味站散發出的氣味廣泛，加上食肉目動物嗅覺靈敏，使同一個體重複探訪，或不同個體分別到訪，仍得更進一步的研究。平均調查最短天數，大多數食肉目紀錄時間約在 3.9~5.5 天之間，麝香貓為最快紀錄物種(約 3.9 天)，在過去 3 年中在溪南山區皆無任何發現紀錄，但本次藉著自動相機及氣味站紀錄到了數筆麝香貓對於氣味站有採食行為的畫面。雖然麝香貓為平均調查天數最短物種，但其分布及出現季節較為侷限僅分布於中海拔試驗站周圍及 1~3 月有紀錄，因此往後在調查麝香貓時，須注意調查季節及地點，才能夠有更有效率的調查麝香貓。Chen

(2009) 指出麝香貓多在低海拔、曾受人為干擾及鑲嵌的次生林環境中。平均 4.4 天記錄到白鼻心，其分布樣點較為零散，推測因為白鼻心大多在樹上活動，因此張與姚(2013)調查記錄較少，本次透過氣味站將白鼻吸引至相機前，增加發現機會；黃喉貂為本次試驗 OI 值最多的物種，約 4.9 天會紀錄到，且廣泛分布於 18 個樣區，僅試驗站前方水泥道路區域無紀錄外，黃喉貂活動範圍廣，且無固定路線，並且當氣味站開始有腐味出現後，黃喉貂會在短時間內出現在氣味站周圍。雖然我們無法確定調查到的黃喉貂是否為不同個體，但我們能肯定在中海拔山區的黃喉貂活動範圍廣泛且頻繁；華南鼬鼠在過去的調查中屬於溪南山區稀有物種，但本次配合氣味站使用後，於 2014 年 1 月後，紀錄的次數有變多的趨勢，氣味站放置 5 天左右會記錄到，記錄到的區域分布於海拔 1,800 m 以上；食蟹獾在氣味站放置約 5.5 天可被記錄。Chen (2009) 於台灣南部低海拔山區研究小型食肉目的種間關係，認為食蟹獾偏好潮濕和底層植物較茂密的微棲地環境。因此溪南山區適合食蟹獾棲息，且氣味站設置後，食蟹獾的 OI 顯著提升；而鼬獾未對氣味站有嗅聞動作，且大多數僅經過畫面，且調查結果比張與姚(2013)的 OI 還低，因此我們認為氣味站對於鼬獾的吸引力不高，且可能因為氣味站吸引其他食肉目前來可能是降低鼬獾 OI 值下降的原因；本次調查有一筆台灣黑熊幼熊紀錄，但黑熊在氣味站面前直接走過，推測黑熊可能不被秋刀魚及豬肉組成的氣味站吸引，雖然黑熊偶爾會食取山羌或山羊等哺乳類及昆蟲，但主要的食物仍以植物為主，如殼斗科的堅果及台灣胡桃(*Juglans cathayensis* Dode)。試驗期間曾有一次於試驗站遮雨棚內有疑似黑熊留下的痕跡，黑熊將置於外面的鳳

梨玻璃罐打破吃掉內容物，並在周圍留下毛痕及排遺，我們推論鳳梨罐頭的氣味可能有吸引黑熊的效果。鼬獾主要的食物以土壤表層的無脊椎動物和植物為主(裴 2002)，因此往後進行食肉目調查時，可增加氣味站餌料種類，包括水果或是蚯蚓，以增加台灣黑熊及鼬獾之調查效率。

食肉目動物集中於 4~5 天紀錄的原因可能與肉的腐敗氣味有關，因為本次試驗所使用的是新鮮的秋刀魚以及豬肉，當氣味站在野外放置 4~5 天後開始腐敗，氣味便逐漸向外傳播，吸引周圍的食肉目動物前來，且氣味可以維持超過 15 天的氣味，曾有數筆記錄，記錄到氣味站放置 19 天後仍有食肉目動物採食。食肉目動物多在氣味站架設後 4~6 天記錄到，建議相機的架設時間，宜滿足工作時數至少 168 小時。

三、食肉目動物行為：

部分食肉目動物似乎對氣味站有多次探訪的傾向，因為未對個體進行標記，因此無法確認是否為同一個體。除採食氣味站餌料行為，本次試驗發現黃喉貂及食蟹獾有疑似留下氣味之動作，影片記錄到黃喉貂及食蟹獾數次在氣味站周圍將臀部向地面磨擦，且完成此行為後，黃喉貂及食蟹獾會重覆來探訪此樣點。關於黃喉貂疑似留下氣味之動作，可能與黃喉貂獵食習性有關，推測黃喉貂會在殘留食物周圍留下濃烈氣味，往後重新找尋食物時可依循此味道找到食物，但無相關之文獻探討，黃喉貂及食蟹獾此行為值得更進一步研究。

食肉目動物會因為各種生境不同能產生不同生態棲位，食蟹獾偏好較潮溼且平緩的環境，而黃喉貂則會選擇較為乾燥且能夠適應陡峭地形(裴與姜 2004)。Chen (2009)在台灣南部

低海拔淺山地區進行共域的小型食肉目群聚研究指出，白鼻心、麝香貓、食蟹獾及鼬獾，各物種在時間、空間分布及食性上有不同程度的生態棲位(niche) 區隔。但本次自動相機有 2 次記錄到黃喉貂與食蟹獾相遇的情況，影片中兩物種的相遇的行為，我們推測部分共域的黃喉貂及食蟹獾會發生競爭，而且黃喉貂會躲避食蟹獾，兩者間的競爭值得更進一步的研究，另外本次試驗發現白鼻心在不同季節出現頻率稍有差異，於調查前期 10~12 月間 OI 較高，但 1 月後，出現頻率顯著的下降，與其同為靈貓科的麝香貓取而代之。Chen (2009)指出白鼻心在乾季與濕季時活動力並沒有差異，但 Zhang *et al.* (1991) 指出白鼻心在冬季時活動力會下降，Zhang *et al.* (1991)指出物種的活動模式亦受到日出日沒時間、季節、溫度和性別等因素影響。麝香貓為溪南山區相當稀有之食肉目動物，已四年未有記錄，我們發現 2014 年 1 月後，陸續有 5 筆記錄，麝香貓出現於海拔 1,600 m 的部分樣點。初步推論此兩種食肉目動物在不同地點及季節活動的棲地應有所不同，或是其食性隨著季節而發生改變，或是年周期性變化，有待進一步的研究。

雖然從結果顯示氣味站的使用部分食肉目動物 OI 值顯著提升，但我們無法排除是因為重複個體導致，另外本次調查的時間相對短，加上氣味站的影響，使得 OI 值無法用於估計物種豐富度，僅能表示該物種在此地活動頻繁。

四、其他非食肉動物

本次調查的山羌、刺鼠及赤腹松鼠與張和姚(2013)於溪南山區以固定行底片式自動相機調查出現頻率有所不同(表 1)。發現山羌在各樣點間的 OI 差異極大，從 0~60 皆有，OI 值

大於 30 的樣點有 4 個(7.5%)，而 OI 為 0 的樣點有 24 個(45.2%)。我們發現山羌 OI 值大於 30 的樣點，植被覆蓋稀疏，有極為明顯之獸徑且坡度平緩，而無山羌出現的樣點，大多為有裸岩的陡坡、植被覆蓋較為密集、獸徑不明顯。推測山羌選擇活動棲地時，會偏好坡度平緩且植被較為稀疏的環境。而本次試驗將自動相機設置於多種棲地，是否因大多數的樣點由於植被密度過高或是坡度過陡問題使得山羌出現頻率減少，或是因為氣味站的使用食肉目動物 OI 值提高，使山羌 OI 降低，其中原因還有待進一步研究。

自動相機具備全天候工作的特性，氣味站可延伸調查範圍，但傳統的自動相機及氣味站調查方式皆需要消耗大量人力及時間，本次將自動相機與氣味站結合的調查方式，發現此方法能在短時間內將區域內大多數食肉目動物描述出來，兩者結合運用的調查方式運用於食肉目快速調查是行的。往後亦可結合動物標記，以探討食肉目動物的行為、數量及活動範圍等等重要生態訊息，提供食肉目動物保育及管理之參考。

誌謝

感謝審查委員的建議使得這篇報告能夠順利完成，也很感謝俊凱、榮順大哥及秀珍姐的適時支援，感謝有大家的共同陪伴，讓杳無人煙的中海拔試驗站增添了不少人文氣息，最後也感謝秭好和英元校稿，讓本次的研究得以更加圓滿。

參考文獻

狂犬病中央流行疫情指揮中心。2014。狂犬病

- 中央流行疫情指揮中心階段性報告。行政院農委會。
- 周蓮香。1991。出雲山自然保護區動物相之調查II。台灣省農林廳林務局保育研系列80-08號。
- 林坤益。2003。藤枝森林遊樂區植群生態之研究。國立屏東科技大學森林系碩士班碩士論文。
- 姚正得。2009。藤枝國家森林遊樂區甲蟲類生態調查。行政院農業委員會林務局屏東林區管理處。
- 陳立楨、沈瑞琛、黃獻文、楊吉宗、彭仁傑、賴肅如、李權裕、薛美莉、張仕緯。2002。溪南山地區生態系長期監測(2/4)。行政院農業委員會特有生物研究保育中心。
- 張仕緯、姚正得。2013。中海拔試驗站之經營管理。行政院農業委會特有生物研究保育中心。
- 彭仁傑、陳立楨、林旭宏、許再文、李權裕。2000。溪南山地區永久樣區植物長期監測(2/3)。特有生物研究保育中心。
- 裴家騏。2002。墾丁國家公園陸域野生哺乳類動物調查研究（第二年）。保育研究報告第 111 號。內政部營建署墾丁國家公園管理處。
- 裴家騏。2006。新竹、苗栗之淺山地區小型食肉目動物之現況與保育研究（1/3）。行政院農業委員會林務局委託研究系列94-00-8-05號。
- 裴家騏、陳朝圳、吳守從、滕民強。1997。利用自動照相設備與地理資訊系統究森林野生動物族群之空間分佈。中華林學季刊30: 279-289。
- 裴家騏、姜博仁。2003。大武山自然保留區和周邊地區雲豹及其他中大型哺乳物物之現況與保育研究（二）。行政院農業委員會林務局。
- 裴家騏、姜博仁。2004。大武山自然保留區和周邊地區雲豹及其他中大型哺乳物物之現況與保育研究（三）。行政院農業委員會林務局。
- Ahumada, J. A., C. E. F. Silva, K. Gajapersad, C. Hallam, J. Hurtado, E. Martin, A. McWilliam, B. Mugerwa, T. O'Brien, F. Rovero, D. Sheil, W. R. Spironello, N. Winarni and S. J. Andelman. 2011. Community structure and diversity of tropical forest mammals: data from a global camera trap network. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 366: 1578, 2703-2711.
- Carbone, C., S. Christie, K. Conforti, T. Coulson, N. Franklin, J. R. Ginsberg, M. Griffiths, J. Holden, K. Kawanishi, M. Kinnaird, R. Laidlaw, A. Lynam, D. W. Macdonald, D. Martyr, C. McDougal, L. Nath, T. O'Brien, J. Seidensticker, D. J. L. Smith, M. Sunkist, R. Tilson and W. N. Wan Shahrudin. 2001. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals. *Animal Conservation* 4: 75-79.
- Chamberlain, M. J., J. W. Mangrum, B. D. Leopold and E. P. Hill. 1999. A comparison of attractants used for carnivore track surveys. *Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies* 53: 297-304.
- Chen, M. T., M. E. Tewes, K. J. Pei and L. I. Grassman. 2009. Activity patterns and

- habitat use of sympatric small carnivores in southern Taiwan. *Mammalia* 73: 20-26.
- Conner, M. C, R. F. Labisky and D. R. Progulske, Jr. 1983. Scent-station indices as measures of population abundance for bobcats, raccoons, gray foxes, and opossums. *Wildlife Society Bulletin* 11: 146-152.
- Diefenbach, D. R., M. J. Conroy, R. J. Warren, W. E. James, L. A. Baker and T. Hon. 1994. A test of the scent-station survey technique for bobcats. *Journal of Wildlife Management* 58: 10-34.
- Harrison, R. L. 1997. Chemical attractants for Central American felids. *Wildlife Society Bulletin* 25(1): 93-97.
- Linhart, S.B. and F.F. Knowlton. 1975. Determining the relative abundance of coyotes by scent station line. *Wildlife Society Bulletin* 119-124.
- McDaniel, G. W., K. S. McKelvey, J. R. Squires and L. F. Ruggiero. 2000. Efficacy of lures and hair-snares to detect lynx. *Wildlife Society Bulletin* 28(1): 119-213.
- Richards, S. H. and R. L. Hine. 1953. Wisconsin fox populations. Wisconsin Conservation Department Technical bulletin. No. 6.
- Roughton, R. D. and M. W. Sweeny. 1982. Refinements in scent-station methodology for assessing trends in carnivore populations. *Journal of Wildlife Management* 46: 217-229.
- Sargeant, G. A., D. H. Johnson and W. E. Berg. 1998. Interpreting carnivore scent station surveys. *Journal of Wildlife Management* 62: 1235-1245.
- Sargeant, G. A., D. H. Johnson and W. E. Berg. 2003. Sampling designs for carnivore scent-station surveys. *Journal of Wildlife Management* 67(2): 289-298.
- Wang, S. W. and D. W. Macdonald. 2009. The use of camera traps for estimating tiger and leopard populations in the high altitude mountains of Bhutan. *Biological Conservation* 142: 606-613.
- Weaver, J. 2002. Favorite beastie. *Wildlife Conservation* 4: 10-11.
- Zhang, B., X. Su, G. Gao and W. Zhang. 1991. Note on the activity and winter dormancy of masked palm civet (in Chinese). *Chinese Journal of Zoology* 26: 19-22.

生物多樣性熱點之推估：以台灣特有鳥種為例

Estimating Biodiversity Hotspot: A Case Study of Endemic Bird Species in Taiwan

呂明倫*

Ming-Lun Lu*

行政院農業委員會特有生物研究保育中心 55244 南投縣集集鎮民生東路 1 號

Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

*通訊作者：alan@tesri.gov.tw

* Corresponding author: alan@tesri.gov.tw

摘 要

尋找生物多樣性熱點為從事保育工作之首要目標之一，而所謂熱點是指某一區域的物種具有顯著多樣性，但同時棲地又面臨干擾的威脅。本研究選擇台灣特有鳥種做為研究案例，整合物種分布模式、主成分分析與模糊邏輯等空間分析技術，發展一套在區域尺度下的生物多樣性熱點推估模式，所推估的熱點再和當前之法定保護區套疊，瞭解兩者之契合度。研究結果顯示，全島之生物多樣性熱點大多位於高海拔且潛藏天然災害威脅之區域，其中，約 70%的面積有座落於法定的保護區內，另將熱點強度由高至低分為 5 級後發現，有少數屬次高級別的熱點並未受到保護，如雪霸國家公園的與玉山國家公園的邊緣地帶，因此，可規劃為特有鳥種之保育優先順位。本研究所建立的推估模式，未來亦可應用於其他類群之生物，以提供物種的保育與經營管理之參考。

Abstract

Biodiversity hotspot evaluation could be an essential tool to focus conservation efforts. An observed hotspot is defined as a habitat with significant levels of species diversity that is under threat from disturbances. In this research, a model is developed by using a combination of a species distribution model, principal component analysis and fuzzy logic to identify biodiversity hotspots of endemic bird species in Taiwan on a regional scale, and assess the agreement with legally protected areas. The results showed that the hotspots were mostly located in high-elevation where there were potential threats for natural disasters, and then approximately 70% of the hotspots be sheltered by the protected areas. Furthermore, the hotspots are classified into five levels from high to low according to grade. A few sub-high-level hotspots have not been protected, such as the edges of the Shei-pa and Yushan National Park. These critical sites could be conservation priority for endemic bird species. The developed model may be applied to any taxa requiring planning for future protection and management.

關鍵詞：干擾、物種分布模式、主成分分析、模糊邏輯、保護區、保育優先順位

Key words : disturbance, species distribution model, principal component analysis, fuzzy logic, protected area, conservation priority

收件日期：2016 年 02 月 16 日

接受日期：2016 年 06 月 13 日

Received: February 16, 2016

Accepted: June 13, 2016

前 言

維繫地球的生物多樣性，為從事自然保育之基本宗旨，首要目標之一是找尋生物多樣性熱點(biodiversity hotspot)，期望能針對關鍵區位集中資源與人力，投入正確的保育方針，獲得最大的功效(方等 2010)。所謂熱點係指某一區域擁有豐富的物種，惟其生物棲地歷經嚴重的擾動，或存有威脅壓力，使面積快速地流失，簡言之，具顯著生物多樣性，同時又面臨干擾威脅的棲地即可視為熱

點(Myers 1988; 1999)。據此概念，Myers *et al.* (2000)提出決定熱點的條件，當一區域的維管束植物至少 1,500 種屬於特有種(endemism)，且自然植被面積已流失 70%以上，就應被指定為熱點，而全球符合熱點條件的區域計有 25 個，截至今日，國際保育組織(Conservation International)陸續更新至 35 個。

由於全球尺度下的熱點範圍廣闊，保育工作不易施行，因此，評估生物多樣性熱點可降尺度，鎖定在區域性的單元，以利制定

保育地的優先順位 (Brooks *et al.* 2006; Estrada *et al.* 2011; Cañadas *et al.* 2014)。決定區域性的熱點並無標準的評估模式，大多仍依循特有或稀有種之多樣性及棲地受干擾等原則，進行資料的量化，相關研究如直接評估物種多樣性指數(Kraft *et al.* 2010; Huang *et al.* 2012; Cañadas *et al.* 2014)，或強調特有種的出現(Dunstan *et al.* 2012; Ko *et al.* 2014)，另亦有針對保護區與周邊範圍，監測長期受人為開發的影響程度(Sanchez-Cuervo and Aide 2013)。

台灣是位於熱帶與亞熱帶交界處之島嶼，受板塊活動的影響，地勢起伏多變，加上本身海拔的落差構成多種氣候型態，使島內孕育出多元的生態系，並吸引了豐富的物種前來棲息。然而，受地狹人稠之故，人為開發活動明顯，近年來又因重大天然災害事件頻傳，使台灣的地貌鉅變，原本覆蓋良好的森林出現大規模坍方(謝等 2010)，嚴重衝擊到野生生物的原始棲地(呂及何 2013；黃 2015；呂 2015)，且經過干擾後的環境，更潛藏著高度的脆弱性(黃及林 2014；黃 2016)，因此，有效建立一套生物多樣性熱點的推估模式，儼然已刻不容緩。

本研究以台灣本島研究區域，物種選擇台灣特有鳥種做為研究案例，依據生物多樣性熱點概念，整合物種調查資料、物種分布模式(species distribution model, SDM)、主成分分析(principal component analysis, PCA)與模糊邏輯(fuzzy logic)等空間分析技術，建立推估模式，其目地包含：1. 模擬各特有鳥種之分布機率，並計算物種多樣性；2. 分析棲地受潛在威脅之情形；3. 瞭解生物多樣性熱點之範圍，以及其與當前法定保護區之契合度。

材料與方法

一、研究區概述

台灣位於亞洲東部、太平洋西北側，西隔台灣海峽，土地面積約 36,000 km²(圖 1)。島內人口約 2,300 萬人；地形陡峭，多為山地與丘陵，平原主要集中於西部沿海，形成東高西低的地勢，主要山脈有中央、玉山、阿里山、雪山及海岸等 5 大山脈，其中，玉山主峰為最高峰，標高 3,952 m；河川多發源於中央山脈，水系密布，大多分布於西半部，流域長度最長的為濁水溪，面積最廣的為高屏溪；據中央氣象局資料顯示，年均溫約 21℃，年雨量約 2,500 mm，冬季有來自西伯利亞的大陸冷高壓，以東北季風為主，夏季則有來自太平洋的海洋高壓，以西南季風為主；據林務局第 3 次森林資源調查報告，土地覆蓋型態以森林為主，占全島的 58%，依海拔與溫度的差異，可將林相劃分為高山植群、冷杉林、鐵杉及雲杉林、櫟林、楠櫟林與榕楠林等(蘇 1992)。由於島內富含豐富的生物多樣性，至今政府機關依保育相關法規設置了 72 處的保護區，陸域面積約 6,945 km²，約占全島 19%(圖 1)。

二、研究方法

(一) 物種資料

依據中華民國野鳥學會 2015 年最新公布，台灣特有鳥種共有 27 種，各物種之點位資料蒐集，乃源自林務局跨單位物種查詢平台之政府開放資料，該批資料調查期間為 1999~2003 年。在取得資料後，統一將座標轉換為 1997 台灣大地基準座標系統(Taiwan Datum 97)，後續所採用之相

關環境資料也以此座標系統儲存，網格基本運算單元設定為 $1 \times 1 \text{ km}^2$ ，若一個網格內有同一物種重複記錄者將之剔除，27 種

特有鳥種之名錄與經篩選後之點位數量如表 1 所示。

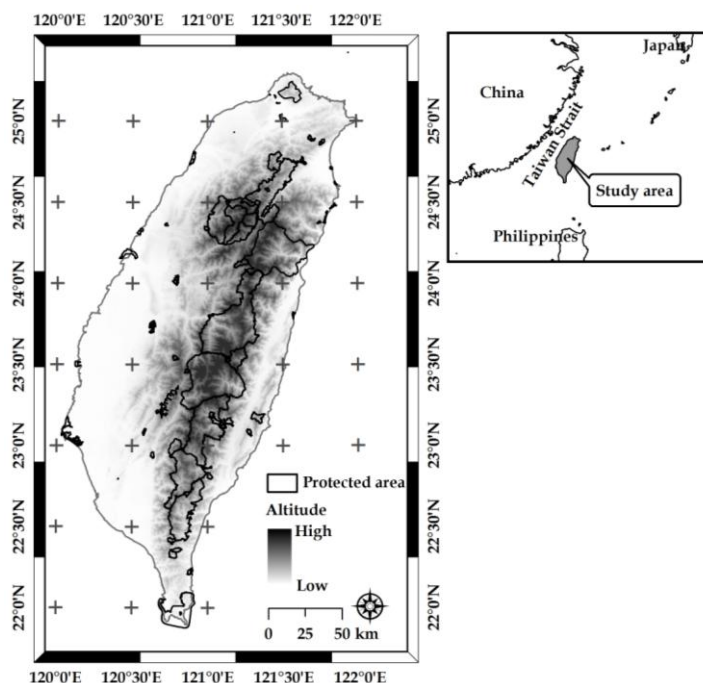


圖 1. 研究區地理位置圖，背景為數值高程模型(海拔高)。

Fig. 1. Location of study area showing a digital elevation model (altitude) in the background.

表 1. 本研究分析之鳥種名錄與出現網格筆數

Table 1. Selected bird species and their number of occurrence grids in this study

Scientific name	English name	Grid number
<i>Arborophila crudigularis</i>	Taiwan Partridge	337
<i>Lophura swinhoii</i>	Swinhoe's Pheasant	106
<i>Syrmaticus mikado</i>	Mikado Pheasant	36
<i>Megalaima nuchalis</i>	Taiwan Barbet	259
<i>Urocissa caerulea</i>	Taiwan Blue-Magpie	136
<i>Parus holsti</i>	Yellow Tit	95
<i>Pycnonotus taivanus</i>	Styan's Bulbul	426

<i>Regulus goodfellowi</i>	Flamecrest	102
<i>Pnoepyga formosana</i>	Taiwan Cupwing	214
<i>Locustella alishanensis</i>	Taiwan Bush-Warbler	76
<i>Fulvetta formosana</i>	Taiwan Fulvetta	116
<i>Yuhina brunneiceps</i>	Taiwan Yuhina	594
<i>Pomatorhinus musicus</i>	Taiwan Scimitar-Babbler	1,195
<i>Megapomatorhinus erythrocnemis</i>	Black-necklaced Scimitar-Babbler	712
<i>Alcippe morrisonia</i>	Gray-cheeked Fulvetta	1,074
<i>Garrulax taewanus</i>	Taiwan Hwamei	114
<i>Ianthocincla ruficeps</i>	Rufous-crowned Laughingthrush	22
<i>Ianthocincla poecilorhyncha</i>	Rusty Laughingthrush	113
<i>Trochalopteron morrisonianum</i>	White-whiskered Laughingthrush	154
<i>Heterophasia auricularis</i>	White-eared Sibia	611
<i>Liocichla steerii</i>	Steere's Liocichla	546
<i>Actinodura morrisoniana</i>	Taiwan Barwing	80
<i>Myophonus insularis</i>	Taiwan Whistling-Thrush	372
<i>Tarsiger johnstoniae</i>	Collared Bush-Robin	170
<i>Carpodacus formosanus</i>	Taiwan Rosefinch	69
<i>Poecile varius</i>	Varied Tit	66
<i>Bambusicola sonorivox</i>	Taiwan Bamboo-partridge	837

(二) 環境資料

環境資料為建構 SDM 之預測變項，包含氣候、地形、地物與位置等 4 類因子，其中，氣候因子乃從 Hijmans *et al.* (2005)建立的全球氣候資料庫(WorldClim database v1.4)下載，該資料庫涵蓋全球，依據 1950~2000 年全球各地氣象站的雨量及溫度資料，經過內插轉換後，產生最小空間尺度近 1 km² 的氣候網格，本研究由資料庫下載 19 種生物氣候資料做為預測變項(參閱 Hijmans *et al.*

2006; www.worldclim.org)。地形因子由 WorldClim database v1.4 取得數值高程模型(digital elevation model)，利用 ArcGIS 10.0 軟體製作海拔高、坡度與坡向，並參考 Gessler *et al.* (1995)與 McCune and Keon (2002)的方法，產生表示環境濕度的複合地形指標(compound topographic index)與表示太陽輻射強度的熱負荷指標(heat load index)，共計 5 個變項。地物因子依據瑞竣科技公司之雲端服務平臺(RiChi GIS Cloud)

數化主要河流，並製作離河流距離圖資，此外，由美國 NASA 的 Land Processes Distributed Active Archive Center (LP DAAC) 取得 2000~2010 年的 MODIS 衛星影像產品：MOD17A3 與 MOD44B，各別表示年平均淨生產力與樹木覆蓋度，共計 3 個變項。位置因子計有經度與緯度兩個變項，係記錄每一運算單元中心點的座標，最小單位為秒，最終，累計全部預測變項共有 29 個(表 2)。

除模擬物種分布所需之預測變項外，另蒐集有關威脅棲地之變項，建構棲地危

險度(habitat risk, HR)推估模式，包括人為的建地、農地、道路與人口密度，以及天然災害構成的崩場地等，利用 GIS 產生離建地、農地、道路與崩場地距離圖資，其中，建地與農地分布範圍係根據 LP DAAC 取得 2013 年 MCD12Q1 之土地覆蓋產品；道路參考 RiChi GIS Cloud 數化主要道路(國道、快速道、省道、縣道及鄉道)；崩場地參考林務局於 2014 年以 Formosa 2 影像數化之成果；此外，人口密度(人/km²)則取自社會經濟資料庫共通平臺，統計年度為 2015 年。

表 2. 模擬物種分布之預測變項

Table 2. Predictor variables used to model species distributions

Variable	Code	Keep in final ^a
Annual mean temperature	BIO1	Yes
Mean diurnal range (Mean of monthly (max temp - min temp))	BIO2	Yes
Isothermality (BIO2/BIO7) (×100)	BIO3	No
Temperature seasonality (Standard deviation×100)	BIO4	No
Max temperature of warmest month	BIO5	No
Min temperature of coldest month	BIO6	No
Temperature annual range (BIO5-BIO6)	BIO7	Yes
Mean temperature of wettest quarter	BIO8	No
Mean temperature of driest quarter	BIO9	No
Mean temperature of warmest quarter	BIO10	No
Mean temperature of coldest quarter	BIO11	No
Annual precipitation	BIO12	Yes
Precipitation of wettest month	BIO13	No
Precipitation of driest month	BIO14	Yes
Precipitation seasonality (Coefficient of variation)	BIO15	No
Precipitation of wettest quarter	BIO16	No
Precipitation of driest quarter	BIO17	No
Precipitation of warmest quarter	BIO18	No

Precipitation of coldest quarter	BIO19	No
Altitude	Alti	No
Slope	Slop	Yes
Aspect	Aspe	Yes
Compound topographic index	CTI	No
Heat load index	HLI	No
Distance to the nearest river	River	Yes
Net primary productivity	NPP	Yes
Tree cover	TC	Yes
Latitude	Lati	No
Longitude	Long	No

^a Spearman's rank correlation coefficients < 0.7 between predictor variables are kept.

(三) 物種分布模擬

本研究利用 Phillips *et al.* (2006)所開發的最大熵(maximum entropy)：Maxent 3.3.3k，做為模擬物種分布之預測模式，該工具係將有限的訓練集資料，透過機械學習(machine learning)理論建立機率分布函數，進而模擬物種的分布，為現今最廣泛使用，也被認證是最佳的SDM(Elith *et al.* 2006; Kumar and Stohlgren 2009)。Maxent 係應用 Gibbs 機率分布(q_λ)，推算物種在 x 樣點的最大可能率，基本公式如下(Phillips *et al.* 2006)：

$$q_\lambda(x) = \frac{e^{\lambda \cdot f(x)}}{Z_\lambda} \quad (1)$$

式中 λ 為預測變項的權重， f 為預測變項的向量， Z_λ 為標準化常數，確保 q_λ 加總後等於 1。

在模式建立前，先以 Spearman 相關分析進行預測變項篩選，確保各變項的相關係數小於 0.7，避免共線性問題，隨後各物種逢機選取 75%的資料做為訓練資料集，利用 Maxent

建立預測模式，模擬各特有鳥種的分布機率，每一物種重複運算 10 次，取其平均值，輸出結果設定邏輯斯分布，使預測的值域介於 0~1，愈接近 1 者，代表該網格的物種出現機率愈高。另一方面，將剩餘 25%的物種資料做為驗證資料集，並依接受者操作特徵(receiver operating characteristic)所產生之曲線面積(area under the curve, AUC)，評估模式的有效性，其值域介於 0.5~1，當 AUC 愈高代表模式預測出來的準確性愈佳，而高於 0.7 以上則達優良之標準(Fielding and Bell 1997; Pearce and Ferrier 2000)。所建立的預測模式則可透過 Jackknife 檢驗，瞭解各預測變項對模式的貢獻比。

Shannon 多樣性指標(Shannon index of diversity, SHDI)為觀察某一地區物種多樣性之常用指標，故 27 種特有鳥種之分布機率模擬完成後，計算全島每一網格之 SHDI，其計算式如下(Shannon and Weaver 1949)：

$$SHDI = - \sum_{i=1}^N p_i \ln p_i \quad (2)$$

式中 N 為所有物種之出現機率總和， p_i 為第 i 個物種占有所有物種出現機率的比。

(四) 主成分分析

PCA 所構成之統計模型具線性組合特性，除可運用於抽取資料的主要成分外，亦能整合各種變項，建立空間推估模式。本研究將建地、農地、道路、人口密度與崩塌地等威脅棲地之變項，透過 IBM SPSS 20.0 統計軟體進行 PCA，轉化成獨立的新成分，以累積解釋變異量達 80% 水準做為標準，決定新成分的數目(林及陳 2003)，最後再利用迴歸分析法取得每一新成分的得點。各成分可依產生的解釋變異量做為權重(呂及謝 2013; Shao *et al.* 2014)，建立 HR 空間推估模式：

$$HR = \sum_{i=1}^n c_i w_i = c_1 w_1 + c_2 w_2 + \dots + c_n w_n \quad (3)$$

$$w_i = \frac{\lambda_i}{\sum_{i=1}^m \lambda_i} \quad (4)$$

式中 c_i 為第 i 個新成分之得點， w_i 為第 i 個成分的解釋變異量(即權重)， λ_i 為第 i 個成分的特徵值，當某一網格之 HR 值愈高，代表該網格棲地受威脅的壓力愈高，反之則愈低。

(五) 模糊邏輯運算

為推估特有鳥種之生物多樣性熱點，利用模糊邏輯中的交集(intersection)運算方法(Zadeh 1965)，整合 SHDI(式 2)與 HR(式 3)，運算前先設定平均值加上 1 個標準偏差，以

此做為門檻，並萃取大於此門檻之網格值，表示物種高多樣性與棲地高危險度之範圍，再將兩者透過式(5)標準化，使值域介於 0~1。

$$y = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (5)$$

式中 y 為標準化之結果， x_i 為第 i 個網格之 SHDI 或 HR 原始值， $x_{\max}$ 與 $x_{\min}$ 分別為 SHDI 或 HR 之最大值及最小值。經轉換後透過式(6)運算：

$$BioHS = SHDI \cap HR = \min(SHDI, HR) \quad (6)$$

式中 $BioHS$ 為生物多樣性熱點， $SHDI \cap HR$ 為交集運算子，即取 SHDI 及 HR 之交集網格最小值，當 $BioHS$ 愈高，代表 SHDI 及 HR 的交集率愈高，可顯現生物多樣性之熱點分布範圍與強度值。所得之強度值進一步以 Jenks 自然間斷分類法(Jenks natural break method)進行分級(Jenks 1967)，以利表現生物多樣性熱點之強度，並與當前之法定保護區進行套疊，用以評估契合度。

結 果

將 29 個預測變項進行 Spearman 相關分析，在相關係數小於 0.7 的標準下，可篩選出 10 個預測變項(表 2)，並以此建立 Maxent 物種分布預測模式，由運算結果可知，各物種的 AUC 介於 0.75~0.95 之間，平均值為 0.87，標準偏差為 0.06。所篩選出的 10 個預測變項中，有 5 個變項為氣候因子，並以年均溫(BIO1)對模式的貢獻比最高(48%)，

與其他氣候因子：年溫差(BIO7; 9%)、年雨量(BIO12; 7%)、最乾月雨量(BIO14; 6%)及月均溫潮差(BIO2; 5%)，合計貢獻比達75%，其餘變項為地形因子中的坡度與坡向；地物因子的河流距離、淨生產力與樹木覆蓋度(圖 2)。

經由 PCA 將建地、農地、道路、人口密度與崩塌地等威脅生物棲地之變項轉化為新成分，其分析結果如表 3 所示，新成分數量的萃取一般取決於特徵值大於 1 者，表 3 結果顯示特徵值大於 1 之新成分僅有 1 個，然其累積解釋變異量稍有不足(約 54%)，為避免遺漏過多資訊，依據 80%以上水準(林及陳，2003)，取 3 個新成分，累積解釋變異量可達 86.27%。3 個新成分之解釋變異量可做為權重，並代入式 3、4 中獲得 HR 推估模式(式 7)。

$$HR = 0.540c_1 + 0.194c_2 + 0.128c_3 \quad (7)$$

由 SDM 與 PCA 結果演算出特有鳥種之 SHDI 與 HR，由圖 3 顯示，顏色愈偏向黑者，代表該區的物種多樣性愈高(圖 3a)，以及棲地存在高危險度(圖 3b)，經統計後可知，全島的 SHDI 與 HR 平均值各為 1.11 與 -0.01；標準偏差各為 0.16 與 0.58，因此，各自設定 1.27 與 0.57 為門檻，超過此二門檻之網格，即視為物種多樣性較豐富(圖 3c)及棲地受威脅壓力大之範圍(圖 3d)。圖 3c 可知，特有鳥種多集中於中央地帶，屬海拔梯度較高的自然環境(圖 1)，另圖 3d 的 HR 顯示，棲地存在威脅壓力的區域除零星分布於沿海周邊的都會區外，大多數也都位於高山地區。

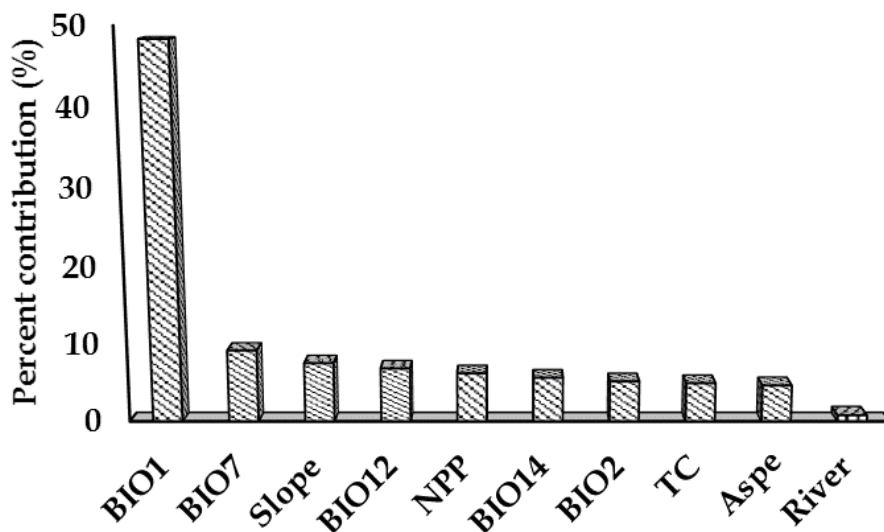


圖 2. 以 Maxent 模擬台灣特有鳥種所採用之預測變項貢獻度。

Fig. 2. Predictors and their average (from 27 species) percent contribution reported from Maxent model for endemic bird species in Taiwan.

表 3. 主成分分析結果

Table 3. The results of principal component analysis

	Selected principal component		
	I	II	III
Eigenvalue λ_i	2.70	0.97	0.64
Variance (%)	54.01	19.44	12.82
Cumulative variance (%)	54.01	73.45	86.27

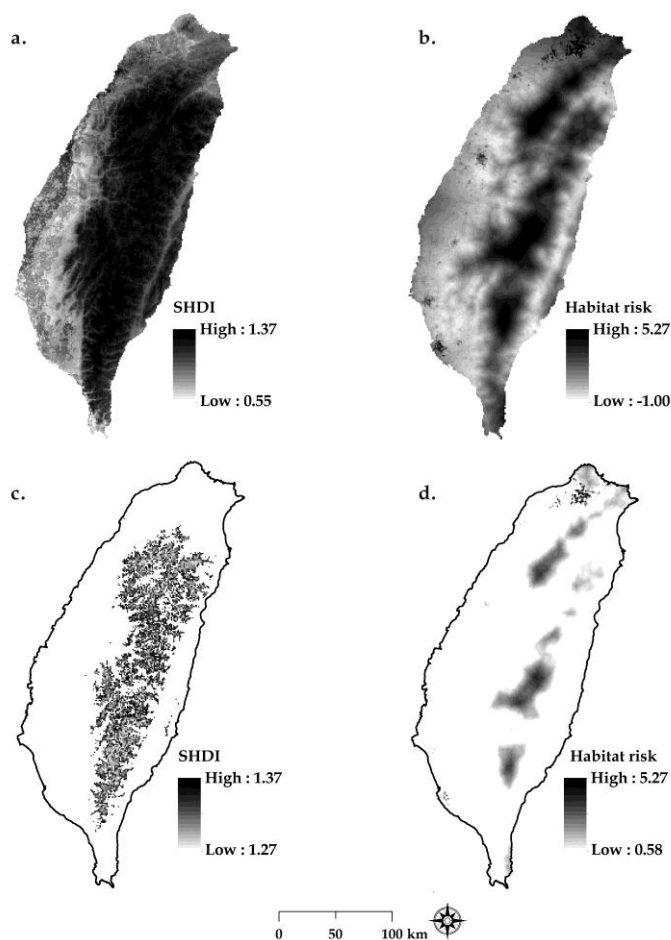


圖 3. (a) 台灣特有鳥種之 Shannon 多樣性指標分布圖；(b)棲地危險度分布圖；(c)高 Shannon 多樣性與(d)棲地高危險度之範圍(高於平均值+1 個標準偏差)。

Fig. 3. (a) Shannon index of diversity (SHDI) for endemic bird species; (b) habitat risk in Taiwan; ranges of high value (threshold at 1 standard deviations from the mean) for (c) SHDI and (d) habitat risk

藉由模糊邏輯理論將 SHDI 與 HR 結合運算，可獲得特有鳥種之生物多樣性熱點範圍，換算面積約 3,270 km²，占全島面積約 9%，再套用當前所規劃之自然保護區圖來看，大多數的熱點皆有座落在保護區內(約 2,302 km²)，約占有熱點範圍的 70%。利用 Jenks 自然間斷分類法可將熱點強度由高至低，細分成高、次

高、中、次低及低等 5 個級別，經分級後可知，高與次高級別主要落在雪霸、玉山國家公園，以及丹大、玉里與雙鬼湖野生動物重要棲息環境等 5 個保護區，然而，亦有次高級熱點未被涵蓋於保護區內，分別為雪霸國家公園北面與玉山國家公園西面(圖 4)。

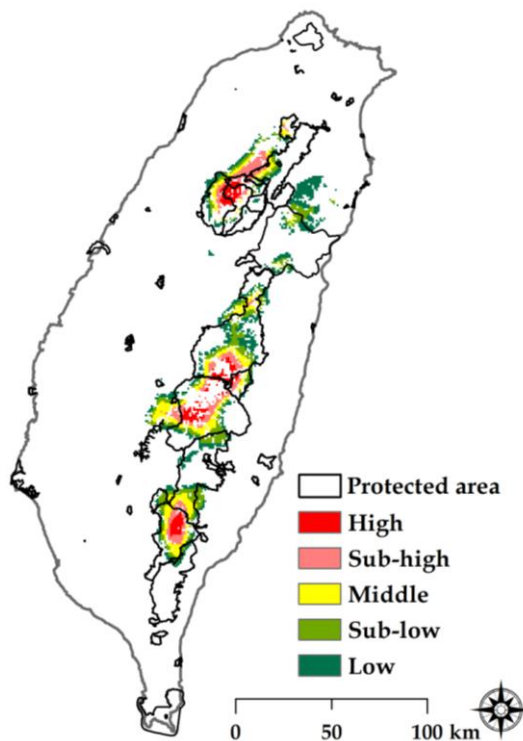


圖 4. 台灣特有鳥種之生物多樣性熱點範圍。

Fig. 4. Range of biodiversity hotspots for endemic bird species in Taiwan.

討 論

物種空間分布資訊是執行自然保育工作之重要依據，本研究利用氣候、地形、地物與位置因子等環境資料，建立預測模式，模擬台

灣特有鳥種的物種分布，模擬的結果皆有達到理想標準，由此可知，該模式具備良好的預測能力(Fielding and Bell 1997; Pearce and Ferrier 2000)。所挑選的預測變項中，氣候因子的變項占多數，且對模式的貢獻比亦最高(圖 2)，是

影響鳥類族群分布的重要關鍵，因此，採用氣候資料即可準確地預測鳥類的分布，特別是與氣溫有關的變項，相關的前人研究亦可發現相仿的結果(Barbet-Massin and Jetz 2014)，未來若探討氣候變遷與物種分布的研究議題，建議可著重於這些氣候變項的應用，模擬特有鳥種可能受到的衝擊。

運用 SDM 模擬結果計算全島特有鳥種之 SHDI，可明顯看出，高多樣性範圍主要分布於雪山、中央及玉山山脈等自然度高的環境(圖 3a、c)，與相關的研究相符(Ko *et al.* 2014)，因此，植被覆蓋度高及林相完整之森林係普遍特有鳥種所偏好之棲地(Cheng and Lai 2002; Ko *et al.* 2010)，此外，這些區域除了有天然屏障的庇護外，大多也是受法律規範的國有林地，受人為破壞的情形相形較少，為野生動物提供良好的棲息場所。然而，由 PCA 所推導的 HR 發現，海拔較高的棲地雖適合特有鳥種的生存，卻存在高度威脅壓力，此乃因近代台灣歷經大規模的天然災害所致，據中央氣象局資料顯示，近 10 年內全台各地屢遭颱風與強降雨侵襲，誘發洪水、山崩及土石流等，使森林的地景呈現明顯的破碎化(呂及何 2013；呂 2015；黃 2015)，棲地歷經災害干擾過後，勢必也會影響到鳥類的繁殖與物種豐富度(Matsui *et al.* 2006; Lee *et al.* 2008)。

藉由 SHDI 與 HR 的推估結果進行模糊運算，可將兩者之特性結合，呈現出生物多樣性熱點範圍，運算結果顯示，多數的熱點都有落在保護區內，尤其棲蘭、丹大及關山野生動物重要棲息環境等 3 處保護區，乃行政院農業委員會於 2000 年，因應「中央山脈保育廊道」策略所新增設，目的是為了填補由北至南無法串連的保護區缺口，為野生生物創造連續不斷的生物廊道，比對本研究結果，以上 3 個保護

區均有涵蓋大量的熱點範圍(圖 4)，確實對特有鳥種提供了相當程度的保護機制。

本研究進一步將特有鳥種的熱點強度分成 5 個級別，其中，屬次高以上的級別雖大多數有受到保護區庇護，惟更值得關注的是，少數落在保護區外的次高級熱點，如雪霸國家公園北面與玉山國家公園西面的邊緣地帶(圖 4)。近代的自然保護區策略強調境外多重緩衝區的影響(Mondal and Southworth 2010; Sieber *et al.* 2013)，因此，位於保護區邊緣的熱點，可沿保護區邊界向外劃設不同距離的緩衝區，並參考熱點強度制定保育策略的優先順序，若屬高強度的熱點，盡可能規劃就地保育計畫，避免棲地環境再次受到干擾；級別較低的熱點則可與周邊社區合作，進行有限度之賞鳥或環境教育活動。

結 論

本研究之目標是以物種分布資料為基礎，結合 SDM、PCA 與模糊邏輯等方法，建立推估台灣特有鳥類之生物多樣性熱點模式，研究成果可獲得以下重要結論：一、所建立的 SDM，以氣候變項所提供的貢獻度最高，可有效預測各物種的分布；二、全島特有鳥種多樣性較高處，分布於高海拔且有植被覆蓋之棲地，但此環境也潛藏天然災害威脅之風險；三、推估的生物多樣性熱點範圍，約有 70% 落在法定的保護區內，另熱點依強度大小分級後發現，有少數次高級別的熱點並未受到保護，因此，可優先規劃為棲地保育之重點區位。綜合以上結論，本研究所建立的空間推估模式，可有效推估特有鳥種之生物多樣性熱點，未來亦可應用於其他類群之生物，協助決策者制定正確的保育策略與方針。

引用文獻

- 方懷聖、林宗岐、楊耀隆、鄭錫奇、楊育昌。2010。陸域動物多樣性熱點評估之建議—台灣野生動物資料庫之應用。台灣生物多樣性研究 13: 51-68。
- 呂明倫、何健鎔。2013。烏石坑地區受天然災害引起之地景變遷分析。台灣生物多樣性研究 15: 275- 285。
- 呂明倫、謝漢欽。2013。鰲鼓海岸地區之生態環境脆弱度評估。作物、環境與生物資訊 10: 34-43。
- 呂明倫。2015。遙測應用於藤枝地區之森林干擾度偵測。台灣生物多樣性研究 17: 1-13。
- 林師模、陳苑欽。2003。多變量分析：管理上的應用。台北：雙葉書廊。
- 黃靜宜、林文和。2014。應用遙測技術評估玉山國家公園之植生退化潛勢。台灣生物多樣性研究 16: 379-391。
- 黃靜宜。2015。玉山國家公園地景變遷之時空分析。台灣生物多樣性研究 17: 191-204。
- 黃靜宜。2016。棲蘭野生動物重要棲息環境之脆弱度評估。台灣生物多樣性研究 18: 93-108。
- 謝正倫、黃敏郎、蔡在宗、張維恕。2010。運用福衛二號影像進行莫拉克颱風崩塌地判釋。中華防災學刊 2: 35-42。
- 蘇鴻傑。1992。台灣之植群：山地植群帶與地理氣候區。中央研究院植物研究所專刊 11: 39-53。
- Barbet-Massin, M. and W. Jetz. 2014. A 40-year, continent-wide, multi-species assessment of relevant climate predictors for species distribution modeling. *Diversity and Distributions* 20: 1285-1295.
- Brooks, T. M., R. A. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca et al. 2006. Global biodiversity conservation priorities. *Science* 313: 58-60.
- Cañadas, E. M., G. Fenu, J. Peñas, J. Lorite, E. Mattana and G. Bacchetta. 2014. Hotspots within hotspots: Endemic plant richness, environmental drivers, and implications for conservation. *Biological Conservation*. 170: 282-291.
- Cheng, C. C. and Y. C. Lai. 2002. Biodiversity in Deciduous Hardwood and Conifer Plantations of the Upper Liukuei (Shanping) Area. *Taiwan Journal of Forest Science* 17: 155-170.
- Dunstan, P. K., N. J. Bax, S. D. Foster, A. Williams and F. Althaus. 2012. Identifying hotspots for biodiversity management using rank abundance distributions. *Diversity and Distributions* 18: 22-32.
- Elith, J., C. H. Graham, R. P. Anderson, M. Dudik, S. Ferrier, A. Guisan, et al. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* 29: 129-151.
- Estrada, A., R. Real and J. M. Vargas. 2011. Assessing coincidence between priority conservation areas for vertebrate groups in a Mediterranean hotspot. *Biological Conservation* 144: 1120-1129.
- Fielding, A. H. and J. F. Bell. 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation* 24: 38-49.
- Gessler, P. E., I. D. Moore, N. J. McKenzie and

- P. J. Ryan. 1995. Soil-landscape modeling and spatial prediction of soil attributes. *International Journal of Geographical Information Systems* 9: 421-432.
- Hijmans, R. J. and C. H. Graham. 2006. The ability of climate envelope models to predict the effect of climate change on species distributions. *Global Change Biology*: 12: 2272-2281.
- Hijmans, R. J., S. E. Cameron, J. L. Parra, P. G. Jones and A. Jarvis. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology* 25: 1965-1978.
- Huang, J., B. Chen, C. Liu, J. Lai, J. Zhang and K. Ma. 2012. Identifying hotspots of endemic woody seed plant diversity in China. *Diversity and Distributions* 18: 673-688.
- Jenks, G. 1967. The data model concept in statistical mapping. *International Yearbook of Cartography* 7: 186-190.
- Ko C. Y., R. S. Lin and P. F. Lee. 2010. Macrohabitat characteristics and distribution hotspots of endemic bird species in Taiwan. *Taiwania* 55: 216-227.
- Ko, C. Y., S. C. Murphy, T. L. Root and P. F. Lee. 2014. An assessment of the efficiency of protection status through determinations of biodiversity hotspots based on endemic bird species, Taiwan. *Journal for Nature Conservation* 22: 570-576.
- Kraft, N. J. B., B. G. Baldwin and D. D. Ackerly. 2010. Range size, taxon age and hotspots of neoendemism in the California flora. *Diversity and Distributions* 16: 403-413.
- Kumar, S. and T. J. Stohlgren 2009. Maxent modelling for predicting suitable habitat for threatened and endangered tree *Canacomyrica monticola* in New Caledonia. *Journal of Ecology and Natural Environment* 1: 94-98.
- Lee, Y. F., Y. M. Kuo, Y. H. Lin, W. C. Chu, S. H. Wu, H. H. Wang and J. T. Chao. 2008. Spatiotemporal variation in avian diversity and the short-term effects of typhoons in tropical reef-karst forests on Taiwan. *Zoological Science* 25: 593-603.
- Matsui, S., M. Hisaka and M. Takagi. 2006. Direct impact of typhoons on the breeding activity of Bullheaded Shrike *Lanius bucephalus* on Minami-Daito Island. *Ornithological Science* 5: 227-229.
- McCune, B. and D. Keon. 2002. Equations for potential annual direct incident radiation and heat load index. *Journal of Vegetation Science* 13: 603-606.
- Mondal, P. and J. Southworth, 2010. Protection vs. commercial management: Spatial and temporal analysis of land cover changes in the tropical forests of Central India. *Forest Ecology and Management* 259: 1009-1017.
- Myers, N. 1988. Threatened biotas: "hotspots" in tropical forests. *The Environmentalist* 8: 187-208.
- Myers, N. 1990. The biodiversity challenge. *The Environmentalist* 10: 243-256.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca and J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation

- priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Pearce, J. and S. Ferrier. 2000. Evaluating the predictive performance of habitat models developed using logistic regression. *Ecological Modelling* 133: 225-245.
- Phillips, S. J., R. P. Anderson and R. E. Schapire 2006. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231-259.
- Sanchez-Cuervo, A. M. and T. M. Aide. 2013. Identifying hotspots of deforestation and reforestation in Colombia (2001-2010): implications for protected areas. *Ecosphere* 4:
- Shannon, C. E. and W. Weaver 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27: 379-423.
- Shao, H., M. Liu, Q. Shao, X. Sun, J. Wu, Z. Xiang and W. Yang. 2014. Research on eco-environmental vulnerability evaluation of the Anning River Basin in the upper reaches of the Yangtze River. *Environmental Earth Sciences* 72: 1555-1568.
- Sieber, A., T. Kuemmerle, A. V. Prishchepov, K. J. Wendland, M. Baumann, V. C. Radeloff, L. M. Baskin and P. Hostert. 2013. Landsat-based mapping of post-Soviet land-use change to assess the effectiveness of the Oksky and Mordovsky protected areas in European Russia. *Remote Sensing of Environment* 133: 38-51.
- Zadeh, L. 1965. Fuzzy sets. *IEEE Information and Control* 8: 338-356.

《台灣生物多樣性研究》稿約

壹、一般說明

- 一、《台灣生物多樣性研究》為行政院農業委員會特有生物研究保育中心出版之學術期刊，歡迎國內外學者發表有關生物多樣性或自然保育之學術論文，但以未曾曾在其他刊物發表之原創研究為限。
- 二、本刊為網路期刊，隨時接受投稿，並於每年 1 月、4 月、7 月及 10 月在中心網站 (http://tesri.tesri.gov.tw/list_protect.php)刊登發行。
- 三、撰稿中、英文均可，來稿以完整 WORD 格式文稿電子檔傳送至「台灣生物多樣性研究」期刊編輯委員會電子信箱(email: tjbd@tesri.gov.tw)。
- 四、經本刊接受刊登之稿件，投稿著作所有列名作者皆同意授權本刊單位以非專屬授權之方式再授權，並得為重製、公開傳輸、授權用戶下載、列印等行為。為符合資料庫之需求，並得進行格式之變更。
- 五、稿件無稿酬，但經刊登之文稿將提供 Pdf 檔給作者，不另贈送抽印本。
- 六、來稿由本刊送請相關學者專家審查、簽註意見或修改，如需修改者再送請作者自行補充修正，作者應於收稿 2 週內完成修正，如於收稿 2 個月後仍未將修正稿件寄回者，視同放棄投稿。稿件付印前作者應負責校對。
- 七、通訊作者需在期刊出版前簽署文稿版權轉移同意書給期刊編輯室。

貳、文稿章節順序

依照 1.題目，2.作者姓名、服務單位、地址，3.通訊作者之 e-mail，4.摘要，5.關鍵詞，6.緒言，7.材料與方法，8.結果與討論(可分列)，9.結論(可省略)，10.謝誌(可省略)，11.引用文獻等順序撰寫；其中 1 至 5 項請中英文並列，本文為中文撰寫者，依先中文後英文順序；本文為英文撰寫者，則先英文後中文。

文章若屬於研究短報(Note)者可不分章節。

另附標題頁(cover page)，註明簡題(short running title)及作者或聯絡人之姓名、電話、傳真、住址、e-mail 位址。

參、文稿結構

- 一、題目以 30 字為限。
- 二、作者中英文姓名之右上角以縮小數字標示服務單位註記。作者的英文姓名需列全名，名在前姓在後；複姓複名者，二字間用“-”相連；作者若為兩人，姓名間以“and”連接；若為三人或以上，除最後一人與其前一人間以“and”連接外，其餘之間以半形逗號連接。
- 三、中英文摘要以 500 字為限，摘要內容應以結果及結論為主，目的及方法可簡潔敘述或省略。避免使用條列式的摘要。
- 四、中英文關鍵詞以 5 個為限。

肆、文稿書寫應注意事項

- 一、文稿須以 Microsoft Word 可讀取之軟體編輯，以 A4 (30cm×21cm)白紙單面雙空行(double spaces)列印，文稿之天、地、左、右須留白 3 公分，於每頁正下方註記頁碼。
- 二、本文敘述，應用數字編號時，其層次：
中文用：一、(一)、1、(1)、①....
英文用：I、(I)、1、(1)、A、a、(a)....
- 三、中英文單位請用公制之符號，例如：kg、mg、ml、ppm、pH、cm 等，數值請以阿拉伯數字表示之，年代一律採用西元。
- 四、插圖請用白紙(或繪圖紙)以黑墨水精繪，亦可採電腦製圖，惟須以雷射印表機列印；照片限原始攝影採光面相紙沖印者，幻燈片限用原片；未按規定之插圖致圖片模糊無法製版者不予受理。
- 五、圖片之標題在下方，表格標題在上方，標題需中英文並列，圖的說明應中英文對照另頁繕打，不可附在繪圖及相片上面。本文中圖表順序以圖 1，圖 2，表 1，表 2...，Fig. 1, Fig. 2, Table 1, Table 2, ...等表示。
- 六、圖表內容請用英文，表格不加縱線。圖、表均以 A4 大小列印，定稿後圖、表請送原稿。
- 七、引用文獻以確經引用者為限，文中提到之文獻，請列出姓氏、年代。
- 八、引用文獻書寫方式：先列中、日、韓文，次列西文，其書寫方法按作者、年份、題目、發表刊物名稱(全名，不採用縮寫)、卷期及頁號順序。

例：1.中、日文期刊：柳樁、徐國士。1971。台灣稀有及有絕滅危機之動植物種類。中華林學季刊 4(4): 89-96。

2.中、日文書籍：徐國士。1980。台灣稀有及有絕滅危機之植物。台灣省教育廳。

3.中、日文彙編書籍：徐國士。1987。台灣的稀有植物。周昌弘、彭鏡毅、趙淑妙撰(編)。台灣植物資源與保育 139-157 頁。中華民國自然生態保育協會。

4.英文期刊：Clough, B. 1998. Mangrove forest productivity and biomass accumulation in Hinchinbrook Channel, Australia. *Mangroves and Salt Marshes* 2: 191-198.

5.英文期刊：Pimm, S. L. and J. L. Gittleman. 1992. Biodiversity : Where is it ? *Science* 255: 940.

6.英文期刊：Baker, C. S., F. Cipriano and S. R. Palumbi. 1996. Molecular genetic identification for whale and dolphin products from commercial markets in Korea and Japan. *Molecular Ecology* 5: 671-685.

7.英文書籍：Soule, M. E. and B. A. Wilco. 1980. *Conservation biology: An evolutionary-ecological, approach*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

8.英文彙編書籍：Jinchu, H. and W. Fuwen. 1990. Development and progress of breeding and rearing giant pandas in captivity within China. pp. 322-325. *In*: H. Jinchu (ed.). *Research and progress in biology of the giant panda*. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Sichuan, People's Republic of China.

Notice to Contributors

I. General Guides:

1. The Taiwan Journal of Biodiversity is an online journal (January, April, July and October, http://tesri.tesri.gov.tw/list_protect.php) by the Endemic Species Research Institute, Council of Agriculture. The journal is an academic publication that welcomes the submission of manuscripts of various biological disciplines in the field of biodiversity. The manuscripts are limited to original work previously unpublished in any other journal.
2. The journal accepts manuscripts written in either Chinese or English. Submit manuscript by online in WORD format to the e-mail address: tjbd@tesri.gov.tw.
3. Manuscript submitted will be sent to at least two referees in the field of its specialty for peer review and comments. Revised manuscript will be reexamined by the Editorial Board. Author(s) are responsible for proof correction of the printer's copy to ensure accuracy.
4. Corresponding author is required to sign a Copyright Transfer Agreement for the paper accepted for publication to the journal publisher, the Endemic Species Research Institute.

II. Manuscript Preparation:

1. Manuscript should be written in a sequence of 1) Title, 2) Authors' full name 3) Author(s) affiliations(s) and address(es), 4) Abstract, 5) Key words, 6) Introduction, 7) Materials and methods, 8) Results, 9) Discussion, 10) Conclusions, 11) Acknowledgements, 12) Literature Cited. Of them 1 to 5 should be written in dual languages, Chinese and English.
2. Cover page should contain title of manuscript, author name(s), author's (s') affiliation(s), corresponding author's name, telephone number, fax number and e-mail address, and a short running title.
3. Title should be less than 30 words. Capitalize the first letter of each word except articles, conjunctions and prepositions.
4. Author's name should be first name first followed by surname. For multiple authors, use comma to separate the names but the last two names by "and".
5. Running title should be less than 50 letters including spaces.
6. Abstract must be a single paragraph not exceeding 500 words.
7. Key words should be no more than 5 words.

III. Manuscript Format:

1. Manuscript must be typed using standard software (Microsoft Word) with top, bottom, left and right. Mark page numbers on the bottom.
2. Manuscript should be typed in a uniform character size. There is no need to differentiate paragraph, title, subtitle or contents by using large or small characters.

3. Measurements should use International System of Units (kg, mg, km, m, cm.... etc.). All numerals or quantities should be expressed in Arabic numbers. Years in the text should use A.D. universally.
4. Figures and tables in the text should be sequenced by Arabic numbers (e.g. Fig.1 and Table 1). Both graphs and photos use same "Fig." designation.
5. Common name of an animal or plant that appears in title and first appears in abstract and text should be accompanied with scientific name. All scientific names in manuscript should be italic.
6. When citing a reference in text, use surname and year, e.g. (Clough 1998) for single author, use "and" to link authors, e.g. (Pimm and Gittleman 1992) for double authors, and use "*et al.*" e.g. (Baker *et al.* 1996) for multiple authors. When citing multiple references, separate them with semi-colons in a chronological order.
7. Using the following system for arranging references in literature cited.

For journals:

Clough, B. 1998. Mangrove forest productivity and biomass accumulation in Hinchinbrook Channel, Australia. *Mangroves and Salt Marshes* 2: 191-198.

Pimm, S. L. and J. L. Gittleman. 1992. Biodiversity: Where is it? *Science* 255: 910-940.

Baker, C. S., F. Cipriano and S. R. Palumbi. 1996. Molecular genetic identification of whale and dolphin products from commercial markets in Korea and Japan. *Molecular Ecology* 5: 671-685.

For books and symposiums:

Soule, M. E. and B. A. Wilco. 1980. *Conservation biology: An evolutionary-ecological approach*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Jinchu, H. and W. Fuwen. 1990. Development and progress of breeding and rearing giant pandas in captivity within China. pp. 322-325. *In*: H. Jinchu (ed). *Research and progress in biology of the giant panda*. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Sichuan, China.

8. Table should be typed on a separate sheet and be headed by a title of dual languages (Chinese and English). It consists of only horizontal lines and typed with English terms (if possible) and Arabic numerals. If foot notes are required, mark with superscripts ¹, ², *, #, etc.
9. Figure should be drawn with black ink on a separate white tracing paper with a figure legend of the dual languages below. Computer graph made from laser printer is acceptable.
10. Photograph should be a glossy black and white shot with sufficient resolution to be clearly legible after reduction. When multiple photos are employed, the author should arrange them in plates. Micrographs should include bars indicating scales of magnification. Photos should be pasted on white A4 paper loosely with the figure legend below.