

# 目 錄

鹽度變化對大吻鰕虎魚脊索上屈後期仔魚成長、死亡與甲狀腺發育之影響..... .....陳奕帆、黃文彬	1
以核內之內轉錄區間序列探討珊瑚共生藻系群的遺傳變異與演化..... .....朱育民、陳啓祥、蔣鎮宇、蕭義勇、方力行	17
Enhancement of Spermatogenesis from Spring Male Chorus for the Spectacled Toad <i>Duttaphrynus melanostictus</i> (Schneider, 1799)..... .....Chun-Fu Lin, Ta-Chun Yeh and Kuang-Yang Lue	29
台灣東北部山區湖沼水質與底棲無脊椎動物群聚之關係..... .....林斯正、黃朝慶、邱錦和、楊平世、謝森和	37
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..... .....方懷聖、林宗岐、楊耀隆、鄭錫奇、楊育昌	53
在不同溫度與光度下桃實百日青之光合速率與葉綠素螢光特性..... .....翁韶良、陳忠偉、方懷聖、黃士元、翁仁憲	71
Supplements to the Genus <i>Microstegium</i> Nees (Poaceae: Andropogoneae) of Taiwan .....Chih-Hui Chen, Jan Frits Veldkamp and Chang-Sheng Kuoh	85
<i>Lobelia cliffortiana</i> L. (Campanulaceae) a Newly Naturalized Plant in Taiwan..... .....Tsai-Wen Hsu, Tzen-Yuh Chiang and Ching-I Peng	93

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.



GPN : 2009900002  
定價：新台幣100元整

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

第13卷第1期

中華民國100年1月

Vol. 13, No. 1

January 2011





封面圖說／

大吻鰕虎魚(*Rhinogobius gigas*)為台灣特有種生物，主要分布在台灣東部河川之中、下游水域，具有河海兩側洄游與高豐度特性。(林在田 攝)

## 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／湯曉虞  
總編輯／李訓煌  
主編／鄭錫奇、許再文

執行編輯／(依姓氏筆劃序)

何健鎔、林瑞興、許再文、陳志輝  
陳榮宗、張和明、詹芳澤、蔡奇立  
鄭錫奇、劉靜榆、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、林耀松  
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／蔡住發  
助理編輯／羅華娟

出版／農委會特有生物研究保育中心  
住址／南投縣集集鎮552民生東路1號  
電話／049-2761331 轉 315  
網址／<http://tesri.coa.gov.tw>  
印刷／財政部印刷廠  
出版日期／中華民國100年1月  
創刊日期／中華民國88年元月  
出版登記／局版台誌第10207號

定價／新台幣100元整

展售處／  
五南文化廣場 04-22260330  
台中市中山路2號  
國家書店松江門市 02-25180207  
台北市松江路209號1樓  
國家網路書店  
<http://www.govbooks.com.tw>

特有生物研究保育中心消費合作社  
南投縣集集鎮民生東路1號  
049-2762490

## Taiwan Journal of Biodiversity

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

Publisher / Hsiao-Yu Tang  
Editor-in-chief / Hsun-Hwang Lee  
Editors / Hsi-Chi Cheng and Tsai-Wen Hsu

Executive Editors /

Jen-Zon Ho, Ruey-Shing Lin,  
Tsai-Wen Hsu, Chih-Hui Chen,  
Rung-Tsung Chen, Ho-Ming Cheng,  
Fang-Tse Chan, Chi-Li Tsai,  
Hsi-Chi Cheng, Ching-Yu Liou,  
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 / Chu-Fa Tsai

Assistant Editor / Hua-Chuan Lo

Published by Endemic Species Research Institute  
1 Ming-Shen E. Road, Jiji, Nantou 552,  
Taiwan, R.O.C.  
Tel: 886-49-2761331 ext. 315  
<http://tesri.coa.gov.tw>

Published Date: January 2011

GPN: 2009900002  
ISSN: 2076-6971

# Contents

Effects of Salinity Changes on Growth, Mortality, and Thyroid Gland Development of <i>Rhinogobius gigas</i> Postflexion Larvae.....	Yi-Fan Chen and Wen-Bin Huang	1
Genetic Variation and Evolution of <i>Symbiodinium</i> in Corals Based on Phylogeny Reconstructed from the Nuclear Internal Transcribed Spacer (ITS rDNA) Sequences .....	Yu-Min Ju, Chii-Shiarng Chen, Tzen-Yuh Chiang, Yi-Young Hsiao and Lee-Shing Fang	17
Enhancement of Spermatogenesis from Spring Male Chorus for the Spectacled Toad <i>Duttaphrynus melanostictus</i> (Schneider, 1799).....	Chun-Fu Lin, Ta-Chun Yeh and Kuang-Yang Lue	29
Relationships between Water Quality Variables and Benthic Invertebrate Assemblages in Mountain Ponds of Northeastern Taiwan.....	Sue-Cheng Lin, Chao-Ching Huang, Chin-Her Chiu, Ping-Shih Yang and Sen-Her Shieh	37
Suggestions on Developing an Investigation Scheme for Identifying Terrestrial Animal Biodiversity Hotspots of Taiwan with the Wildlife Database.....	Huai-Hseng Fang, Chung-Chi Lin, Yaw-Long Yang, Hsi-Chi Cheng and Yu-Chang Yang	53
Chlorophyll Fluorescence and Photosynthetic Rate of <i>Podocarpus nakaii</i> at Different Light Intensities and Temperatures.....	Shau-Lian Wong, Chung-Wei Chen, Huai-Hseng Fang, Shy-Yuan Hwang and Jen-Hsien Weng	71
Supplements to the Genus <i>Microstegium</i> Nees (Poaceae: Andropogoneae) of Taiwan .....	Chih-Hui Chen, Jan Frits Veldkamp and Chang-Sheng Kuoh	85
<i>Lobelia cliffortiana</i> L. (Campanulaceae) a Newly Naturalized Plant in Taiwan.....	Tsai-Wen Hsu, Tzen-Yuh Chiang and Ching-I Peng	93

# 鹽度變化對大吻鰕虎魚脊索上屈後期仔魚成長、 死亡與甲狀腺發育之影響

## Effects of Salinity Changes on Growth, Mortality, and Thyroid Gland Development of *Rhinogobius gigas* Postflexion Larvae

陳奕帆<sup>1</sup> 黃文彬<sup>1,2,\*</sup>

Yi-Fan Chen<sup>1</sup> and Wen-Bin Huang<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> 國立東華大學生物資源與科技研究所 花蓮縣花蓮市華西路 123 號

<sup>2</sup> 國立東華大學自然資源與環境學系 花蓮縣壽豐鄉志學村大學路二段 1 號

<sup>1</sup> Graduate Institute of Biological Resources and Technology, National Dong Hwa University, Hualien, Taiwan

<sup>2</sup> Department of Natural Resources and Environmental Studies, National Dong Hwa University, Hualien, Taiwan

\* 通訊作者：bruce@mail.ndhu.edu.tw

\* Corresponding author: bruce@mail.ndhu.edu.tw

### 摘要

大吻鰕虎魚(*Rhinogobius gigas*)為台灣特有種生物，主要分布在台灣東部河川之中、下游水域，具有兩側洄游與高豐度特性。為了解大吻鰕虎魚仔魚在其溯河洄游過程中，經歷海河鹽度變化的影響，本研究於花蓮溪河口採集大吻鰕虎魚脊索上屈後期仔魚，將之馴化在 30 ppt 之水槽中，進行 4 個不同鹽度變化處理組實驗：一、15 ppt 10 天後轉為 2 ppt 15 天；二、15 ppt 10 天後回到 30 ppt 15 天；三、15 ppt 25 天；以及四、30 ppt 25 天。大吻鰕虎魚仔魚之日成長、日死亡及甲狀腺發育等均被記錄。研究結果顯示，接受處理組 1 (鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt) 之仔魚比接受其他 3 個處理組者，有顯著較高的日平均成長率與數目較多但形狀較小的甲狀腺濾泡。日平均死亡率在此 4 個處理組間無顯著差異。這些結果顯示，在上溯洄游進入河川時，經由幾乎是海水環境轉變為淡水環境之自然鹽度變化過程的大吻鰕虎仔魚，具有較快速的成長率與較多但較小的甲狀腺濾泡；滯留在較高鹽度之沿岸水域與河口域環境中的大吻鰕虎魚仔魚，會付出成長

率延遲與甲狀腺濾泡變大等仔魚停留在高鹽度水域之代價。

## Abstract

*Rhinogobius gigas* is an endemic species of amphidromous goby commonly found in mid- and lower reaches of rivers in the eastern Taiwan. It is one of the dominant species in the fish larval assemblages of the rivers. To investigate the effects of salinity changes on the larvae during their upstream migration, its postflexion larvae were collected from the Hualien River estuary. They were acclimated at 30 ppt, and then, treated with 4 different regimes of salinity changes: 1) 15 ppt for 10 days and then 2 ppt for 15 days; 2) 15 ppt for 10 days and then back to 30 ppt for 15 days; 3) 15 ppt for 25 days; and 4) 30 ppt for 25 days. The daily growth, daily mortality and thyroid gland development of the larvae were measured. The larvae that received Treatment 1 (salinity changes to 15 ppt and 2 ppt) had significantly higher growth rate, and higher number but smaller size of the thyroid follicles than those received the other three treatments. There was no significant difference in the daily mortality rate among the 4 treatments. The results indicated that *R. gigas* larvae that encounter natural changes in salinity from nearly sea water to freshwater in their upstream migration in river have a faster growth rate with increase in number but decrease in size of thyroid follicles. For those remain in high salinity coastal and estuarine waters, the growth rate retards and the thyroid glands enlarge, the cost of the larvae to stay in the high salinity zones.

**關鍵詞：**大吻鰕虎魚、仔魚、洄游、成長、甲狀腺濾泡

**Key words:** *Rhinogobius gigas*, fish larvae, migration, growth, thyroid follicle

收件日期：99年8月26日

接受日期：99年10月19日

Received: August 26, 2010

Accepted: October 19, 2010

## 緒 言

大吻鰕虎魚(*Rhinogobius gigas*)為台灣特有生物之一，廣泛分布於台灣東部宜蘭、花蓮及台東各河川之中、下游水域，為東部河川中兩側洄游型鰕虎魚類的優勢魚種之一(Chen and Shao 1996)。該魚由 Aonuma and Chen (1996) 首度發表與命名，而其學名中之「*gigas*」在

拉丁文的意思為「巨大」，意指其體型較一般鰕虎魚大。大吻鰕虎魚成魚體長通常為 5-8 cm，最大可到 11 cm 左右，為台灣產吻鰕虎魚中體型最大者(Aonuma and Chen 1996; 陳及方 1999)。其主要特徵為：頭大而前部扁，鰓蓋及頰部有許多紅色斑點，頂部有數個紅色條紋，腹鰭為一厚實的吸盤，體色呈黑棕色且具 6-7 條黑褐色垂直橫帶，雌魚在生殖季節腹部

會呈現水藍色(陳及方 1999)。大吻鰕虎魚為兩側洄游型魚類，其生活史模式為：在河川中產卵與孵化，而剛孵化之仔魚立刻被河水順流移至海洋中，之後仔魚在海洋中攝食，並且經過一定時間之成長後回到河口域，最後在早期稚魚(small juveniles)階段進入純淡水之河川系統(McDowall 2004)。

幾乎所有的硬骨魚類(尤其是海洋性物種)，都有一段隨波逐流的浮游仔魚期，此時期的仔魚在外部形態上與成魚有著極大的不同(Keith *et al.* 2008)。例如，許多種類的鰕虎魚在早期生活史中會從表層浮游轉變成水底底棲的生活型態，其變態(metamorphosis)發生之外型改變主要有：色素點生成、鱗片形成及腹鰭癒合(Harada *et al.* 2003)。除上述3點外型之主要改變外，Keith *et al.* (2008)在兔頭瓢鰭鰕虎魚 *Sicyopterus lagocephalus* 之研究中另指出，該鰕虎魚之變態尚有嘴部的移動、消化系統的改變、胸鰭與尾鰭的改變等等。

硬骨魚類之變態，大致可以說是一個內分泌驅動的過程，而甲狀腺素是一個主要的影響因子(Barbara and Fernald 1990; Yamano 2005)。在許多魚類的變態研究上，例如：圓斑星鰈 *Verasper variegates* (Tagawa and Aritaki 2005)、嘉鱸 *Pagrus major* (Hirata *et al.* 1989)及點帶石斑 *Epinephelus coioides* (唐等 2010)、斑馬魚 *Danio rerio* (Brown 1997)等，都已證明甲狀腺素對這些魚類均有促進與加速變態的作用。牙鯨 *Paralichthys olivaceus* 仔魚在孵化後的第4天，其腦下腺近端遠側葉已可偵測到甲狀腺促進素(thyroid stimulating hormone)之免疫反應，該反應強度及細胞數目隨著個體發生過程逐漸加強，並在變態初期到達最高，而後下降(Miwa and Inui 1987)。在比目魚仔魚體內，甲狀腺激素 T<sub>4</sub> 含量在變態尖峰期出現高峰(Miwa *et al.* 1988)。此外，Iwata and Honma (1986)在川鰕虎 *Rhinogobius brunneus* 之研究中發現，其仔魚在溯河洄游剛開始時，體內的甲狀腺呈現高

度活化的狀態，但接觸到淡水一段時間後甲狀腺變得不活躍。因此，甲狀腺在洄游魚類溯河行為之影響上，可能扮演一個不可或缺的重要角色。

河口域是兩側洄游魚類從海洋回到河川中，必須面臨的第一道關卡。洄游性仔稚魚在路經或滯留河口域時，可能會受到河口域環境特性(例如：溫度、光照)的刺激，而發生變態(Youson 1988)。Shen and Tzeng (2002)指出，接觸到淡水的日本禿頭鯊 *Sicyopterus japonicus* 仔魚在體色、外型及鰭形狀上會開始變化，並會從浮游攝食轉變為底棲攝食的模式。因此，河口域環境的特性及其變化，對兩側洄游型魚類在早期生活史中的成長與存活，影響甚鉅。

由於大吻鰕虎魚具兩側洄游及高豐度等特性，使其在台灣東部河川與鄰近海域之食物鏈中，可能扮演極為關鍵的生態及能量傳遞之角色，然而迄今有關大吻鰕虎魚在河口外定位、聚集及溯河行為之環境誘發及生理變化機制，尚無任何研究文獻。因此，本研究之目的，將以台灣東部河川中最主要也是台灣特有魚種之一的大吻鰕虎魚為研究材料，在實驗室模擬其仔魚溯河洄游時之環境鹽度變化，用以了解該魚在早期生活史之溯河洄游過程中，經歷海、河之鹽度變化對其仔魚成長與存活的影響及甲狀腺參與的情形，進而探討該溯河洄游行為對大吻鰕虎魚仔魚成長與存活之影響。

## 材料與方法

### 一、材料來源與實驗設施

在本研究中，共進行3次重複組之實驗。3次大吻鰕虎魚仔魚之採集地點，均在花蓮溪出海口(圖1)，日期分別為2009年5月9、11日和6月11日，時間均為清晨4點半至6點半，所捕獲之仔魚數分別約有250、450及450尾，仔魚體長平均值±標準差(n=10)分別為15.70±0.38、15.78±0.34及16.09±0.51 mm，仔

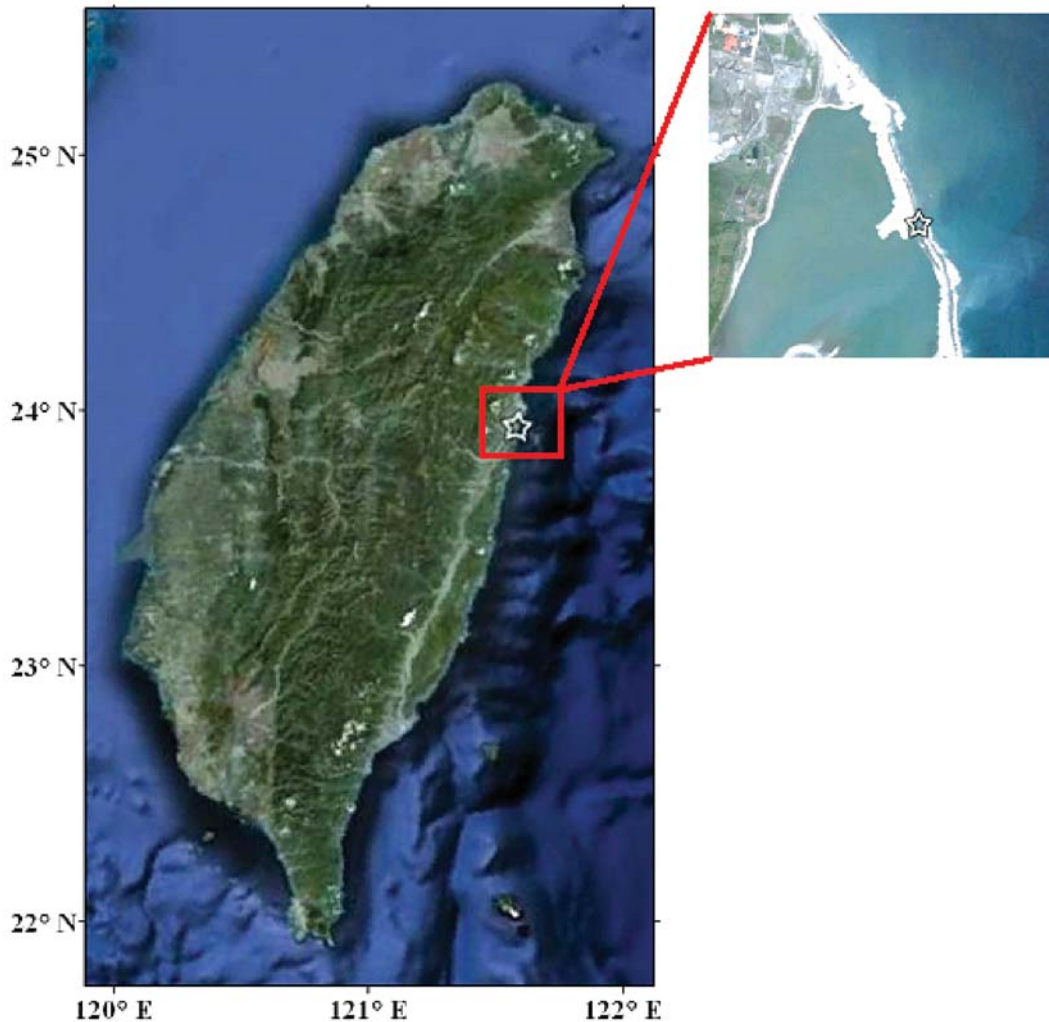


圖 1. 大吻鰕虎魚仔魚在台灣花蓮溪河口之採樣點(星號)。(圖片來源：Google earth)

**Fig. 1.** The collection site (star) of *Rhinogobius gigas* larvae at the estuary of the Hualien River, Taiwan.

魚發育期均為脊索上屈後期(postflexion stage)。仔魚之捕捉工具為台灣東部地區捕撈魚苗慣用之大型手握三叉型網。

大吻鰕虎魚仔魚在運回實驗室後，先置於與沿岸水域鹽度(30 ppt)相同、容積為 27L (30 cm × 30 cm × 30 cm)之 4 個魚缸內馴養。在馴養 3 天後，始進行不同鹽度變化處理之實驗。實驗期全長為 25 天，在實驗第 0 天時先自馴養缸中隨機選取 10 尾仔魚樣本，用以獲取實

驗起始時之全長(total length)與甲狀腺發育資訊。之後，再隨機選取仔魚，置入另外 4 個已設定好鹽度變化處理之蓄養缸中。蓄養缸之容積與馴養缸相同，設定水深為 20 cm，注水量為 18L。3 次重複之實驗期間與蓄養密度分別為：第一次由 5 月 9 日起至 6 月 5 日止、50 尾/缸(2.78 尾/L)，第二次由 5 月 11 日起至 6 月 8 日止、100 尾/缸(5.56 尾/L)，以及第三次由 6 月 11 日起至 7 月 8 日止、100 尾/缸(5.56 尾/

L)。在蓄養及馴養缸中，均裝置簡易式打氣與過濾循環系統，並且每 3 天置換蓄養缸內約 1/3 的水量，用以維持水質。在實驗期間，每天於早上 9 點以人工方式飽量餵食豐年蝦 *Artemia salina* 幼體(nauplius)。光照採自然光照週期(約 13 hr 光亮：約 11 hr 黑暗)；溫度採室溫，3 次重複實驗期內之水溫平均值(範圍)分別為 24.6 (15.6-30.6)、24.7 (15.7-30.6)及 27.0 (22.5-32.8) °C。同時，每天觀察蓄養缸，若有死亡個體馬上將其撈出並記錄日期與個數。

## 二、不同鹽度變化之室內處理

實驗之環境鹽度變化設定，係模擬花蓮溪出海口沿岸(30 ppt)、河口域(15 ppt)及河川(2

ppt)等 3 種鹽度，並且由於大吻鰕虎魚仔魚在溯河洄游進入河口域時，會在河口域停留之時間約為 10 天(蕭 1998)，因此本研究在實驗的第 10 天，進行鹽度轉換處理。同時，為檢視該鹽度變化時程對大吻鰕虎魚溯河期仔魚之影響，在實驗期之第 10 天與結束時(25 天)隨機自各蓄養缸中撈取約 10-20 尾之仔魚樣本，俾供成長率與甲狀腺發育分析。仔魚魚體樣本，以電子游標尺測量全長(精確至 0.01 cm)，之後將魚體樣本置於 6% 福馬林溶液中固定與保存，以供甲狀腺組織切片使用。

本研究依大吻鰕虎魚在溯河洄游時必需經歷 3 種不同鹽度變化之時程，設計下列 4 個不同洄游鹽度變化之時程處理組(表 1)：

表 1. 本研究中大吻鰕虎魚仔魚之 4 種不同鹽度變化時程處理組

Table 1. Four salinity change treatments for *Rhinogobius gigas* larvae used in this study

Treatments	Acclimation salinity	1 <sup>st</sup> salinity treatment (1-10 days) <sup>1</sup>	2 <sup>nd</sup> salinity treatment (11-25 days) <sup>1</sup>
1	30 ppt	15 ppt	2 ppt
2	30 ppt	15 ppt	15 ppt
3	30 ppt	15 ppt	30 ppt
4	30 ppt	30 ppt	30 ppt

<sup>1</sup> Number of experimental days after the beginning of the experiments.

(一) 15 ppt 10 天後轉為 2 ppt 15 天處理組(15 ppt for 10 days and then 2 ppt for 15 days treatment)

鹽度變化處理之模擬設定，與大吻鰕虎魚仔魚溯河洄游水域之自然鹽度變化相似。鹽度在實驗開始當天(第 0 天)，自 30 ppt (模擬沿岸水域鹽度)調降為 15 ppt (河口域)，蓄養 10 天後，再降低至 2 ppt (河川)，蓄養 15 天。

(二) 15 ppt 25 天處理組(15 ppt for 25 days treatment)

鹽度變化處理之模擬設定，係假設仔魚雖然已順利洄游進入河口域中，但是因故無法再上溯入河川中，而滯留河口域時之環境鹽度變化。鹽度在第 0 天自 30 ppt (沿岸)調降為 15

ppt(河口域)後，一直維持在 15 ppt，蓄養 25 天。

(三) 15 ppt 10 天後回到 30 ppt 15 天處理組(15 ppt for 10 days and then back to 30 ppt for 15 days treatment)

鹽度變化處理之模擬設定，係假設仔魚雖然已順利洄游進入河口域中，但是因故被河水自河口域沖回到沿岸水域時之環境鹽度變化。鹽度在第 0 天自 30 ppt (沿岸)調降為 15 ppt (河口域)，蓄養 10 天後，再調高至 30 ppt (沿岸)，蓄養 15 天。

(四) 30 ppt 25 天處理組(30 ppt for 25 days treatment)

鹽度變化處理之模擬設定，係假設仔魚因故無法自沿岸水域洄游進入河口域，而一

直滯留於沿岸海水域時之環境鹽度變化。鹽度在第 0 天開始一直維持在 30 ppt (沿岸)，蓄養 25 天。

### 三、甲狀腺組織切片處理

取出固定於福馬林液中之大吻鰕虎魚仔魚樣本，用手術剪刀剪取該仔魚之頭部(從吻部至鰓後緣)，並將其置於包恩氏液(Bouin's solution)中 1-3 天後，進行甲狀腺濾泡組織切片之製作。組織切片之處理步驟為：酒精漸次脫水(dehydration)、二甲苯清洗(cleaning)、二甲苯與石蠟浸潤(infiltration)、石蠟包埋(embedding)、 $6\mu\text{m}$ 厚之切片製作(sectioning)、蘇木精(Mayer's hematoxylin)和伊紅(eosin)之染色(staining)及封膠(mounting)。

### 四、實驗參數計量

#### (一) 日平均成長率(daily average growth rate)

於實驗第 10 天及第 25 天採樣之仔魚全長，分別減去第 0 天及第 10 天時之仔魚全長

平均值後，除以 10 及 15，再乘以 100%，即分別為第 1-10 天及第 11-25 天之日平均成長率。

#### (二) 日平均死亡率(daily average mortality rate)

由實驗第 1-10 天及第 11-25 天之累積死亡仔魚尾數，分別除以實驗第 0 天及第 10 天時魚缸內之總仔魚尾數，再除以 10 天及 15 天，最後乘以 100%，即分別為第 1-10 天及第 11-25 天之日平均死亡率。

#### (三) 甲狀腺濾泡數量(thyroid follicle number, TFN)

在光學顯微鏡(400X)下，於切片樣本中可見兩群甲狀腺濾泡組織，計數該兩群組織內的總甲狀腺濾泡數量(圖 2A)。

#### (四) 甲狀腺細胞高度(thyroid cell height, TCH)

在光學顯微鏡(1000X)下，挑選在切片樣本中最大濾泡，進行細胞高度之測量(圖 2B)。

#### (五) 甲狀腺濾泡大小(thyroid follicle size, TFS)

在光學顯微鏡(1000X)下，挑選在切片樣本中最大濾泡，進行濾泡大小之測量，而濾泡大小之計算為：(長軸+短軸)/2 (圖 2C)。

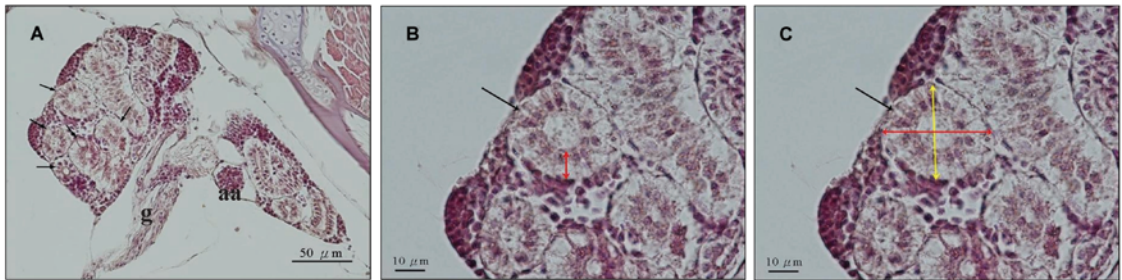


圖 2. 大吻鰕虎魚仔魚在光學顯微鏡下甲狀腺組織切片圖。A, 甲狀腺濾泡(400X), 黑箭頭; aa, 動脈; g, 鰓。B, 甲狀腺細胞高度(1000X), 在切片中選擇最大之甲狀腺濾泡(黑箭頭)測量上皮細胞自基底到頂點之距離(紅色雙向箭頭)。C, 甲狀腺濾泡大小(1000X), 在切片中選擇最大之甲狀腺濾泡(黑箭頭)測量長軸(紅色雙向箭頭)與短軸(黃色雙向箭頭)大小後取平均值。

**Fig. 2.** Photomicrographs of the thyroid gland tissues of *Rhinogobius gigas* larvae. A, thyroid follicles (400X) (black arrow): aa, afferent artery; g, gill; B, thyroid tissue section: thyroid cell height (1000X) measured from epithelial cell base to apex (the red two-way arrow) of the largest follicle (black arrow); C, thyroid follicle size (1000X) calculated from the long axis (red two-way arrow) and short axis (yellow two-way arrow) of the largest follicle (black arrow).

上述 3 種甲狀腺參數之計數，皆在光學顯微鏡下進行數位攝影後，藉由 Motic Images Plus 2.0 S 軟體進行測量。

## 五、統計分析

將 4 個鹽度變化處理組之日平均成長率、日平均死亡率與 TFN、TCH 及 TFS 等 3 種甲狀腺參數，以 3 次重複實驗期為區集(block)，分別進行隨機完全區集設計(randomized complete block design, RCBD)之變異數分析(ANOVA)，並且以事後比較之最小顯著差異(least significant difference, LSD)法進行同質性檢定，用以檢視本研究鹽度變化處理影響之顯著性與差異(沈 2007)。上述之統計分析，均經由 SPSS (ver.

12.0)套裝軟體來進行。

## 結果

### 一、不同鹽度變化處理下之成長率與死亡率

#### (一) 日平均成長率

變異數分析結果顯示，實驗第 1-10 天之日平均成長率在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p=0.003$ ) (表 2)。其中，鹽度 30 ppt 25 天組之日平均成長率( $\pm$ 標準誤) ( $5.94 \pm 0.51\%$ ,  $n=45$ ) 顯著低於鹽度 15 ppt 25 天組( $7.70 \pm 0.45\%$ ,  $n=45$ )、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組( $7.82 \pm 0.47\%$ ,  $n=30$ )及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組( $8.23 \pm 0.50\%$ ,  $n=45$ )，而後三者間無顯著差異(圖 3)。在

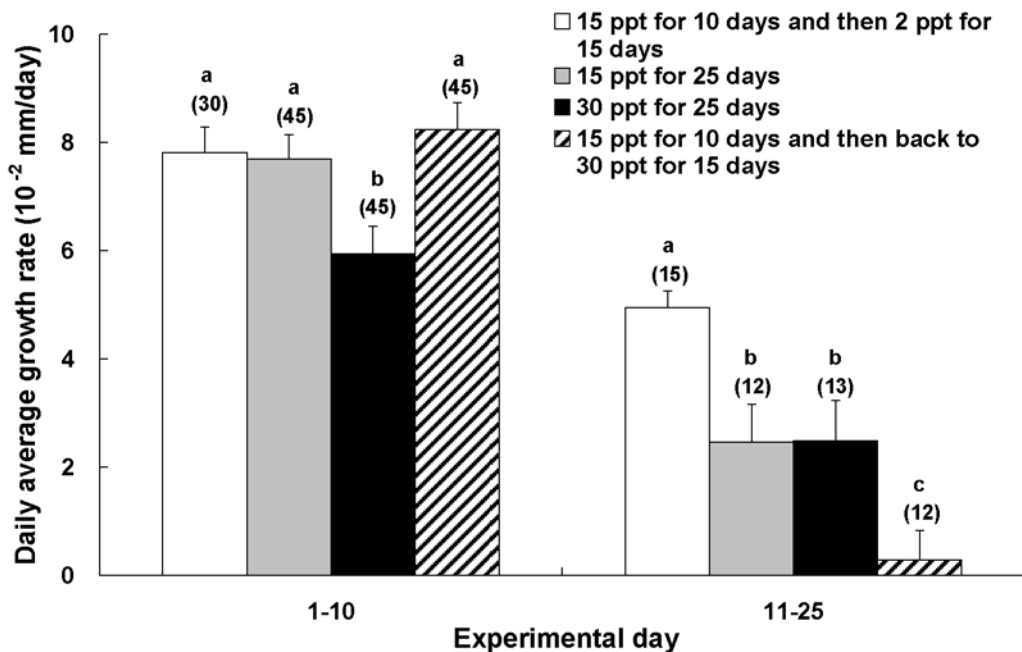


圖 3. 大吻鰕虎魚仔魚在 4 種不同鹽度變化處理下實驗期第 1-10 天與 11-25 天之日平均成長率。垂直線代表標準誤，括弧內為樣本數。a、b 及 c，相同字母代表在鹽度處理組間無顯著差異(最小顯著差異之多域檢測)。

**Fig. 3.** Daily average growth rates of *Rhinogobius gigas* larvae in 4 salinity change treatments during the experimental periods of 1-10 and 11-25 days (vertical lines, standard errors; sample sizes in the parentheses; a, b, and c, same letters not significantly different among the treatments by multiple range tests of the least significant difference).

表 2. 鹽度變化處理與實驗時間區集對大吻鰕虎魚仔魚在實驗期第 1-10 天與第 11-25 天日平均成長率與日平均死亡率影響之變異數分析表

Table 2. Analysis of variance for the effects of salinity change treatments and experimental time blocks on the daily average growth rate and daily mortality rate of *Rhinogobius gigas* larvae during the experimental periods of 1-10 days and 11-25 days

Days <sup>1</sup>	Source of variation	Sum of squares	df	Mean square	F	p
Daily average growth rate						
1-10	Salinity	138.8	3	46.3	4.81	0.003
	Block	74.7	2	37.3	3.88	0.023
	Error	1531.6	159	9.6		
11-25	Salinity	127.7	3	42.6	10.99	< 0.001
	Block	16.2	2	8.1	2.09	0.136
	Error	178.2	46	3.9		
Daily average mortality rate						
1-10	Salinity	0.325	3	0.108	0.763	0.555
	Block	0.73	2	0.036	0.256	0.782
	Error	0.854	6	0.142		
11-25	Salinity	0.818	3	0.273	1.678	0.270
	Block	0.309	2	0.155	0.952	0.437
	Error	0.975	6	0.162		

<sup>1</sup> Number of experimental days after the beginning of the experiments.

經第 10 天之鹽度變化處理後，所有鹽度處理組之日平均成長率均下降，並且以鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組日平均成長率之下降最劇、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組最緩(圖 3)。經變異數分析結果顯示，在實驗第 11-25 天，日平均成長率在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p < 0.001$ ) (表 2)。其中，鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組之平均日成長率( $0.29 \pm 0.54\%$ ,  $n=12$ )顯著最低、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組( $4.95 \pm 0.31\%$ ,  $n=15$ )顯著最高，而鹽度 15 ppt 25 天組( $2.47 \pm 0.70\%$ ,  $n=12$ )及鹽度 30 ppt 25 天組( $2.49 \pm 0.74\%$ ,  $n=13$ )居中，且兩者間無顯著差異(圖 3)。

#### (二) 日平均死亡率

變異數分析結果顯示，實驗第 1-10 天之日平均死亡率在不同鹽度處理組間，沒有顯著差異( $p=0.555$ ) (表 2)。其中，該 4 個鹽度處理之日平均死亡率，依高低分別為鹽度 30 ppt 25 天組( $3.60 \pm 0.25\%$ ,  $n=3$ )、鹽度 15 ppt 25 天組( $3.40 \pm 0.13\%$ ,  $n=3$ )、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組( $3.26 \pm 0.20\%$ ,  $n=3$ )及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組( $3.16 \pm 0.18\%$ ,  $n=3$ ) (圖 4)。在經第 10 天之鹽度變化處理後，除鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之下降較為明顯外，其餘 3 個鹽度組之變化不明顯(圖 4)。經變異數分析結果顯示，在實驗第 11-25 天之日平均死亡率在不同鹽度處理組間，沒有顯著差異( $p=0.270$ ) (表 2)。其中，

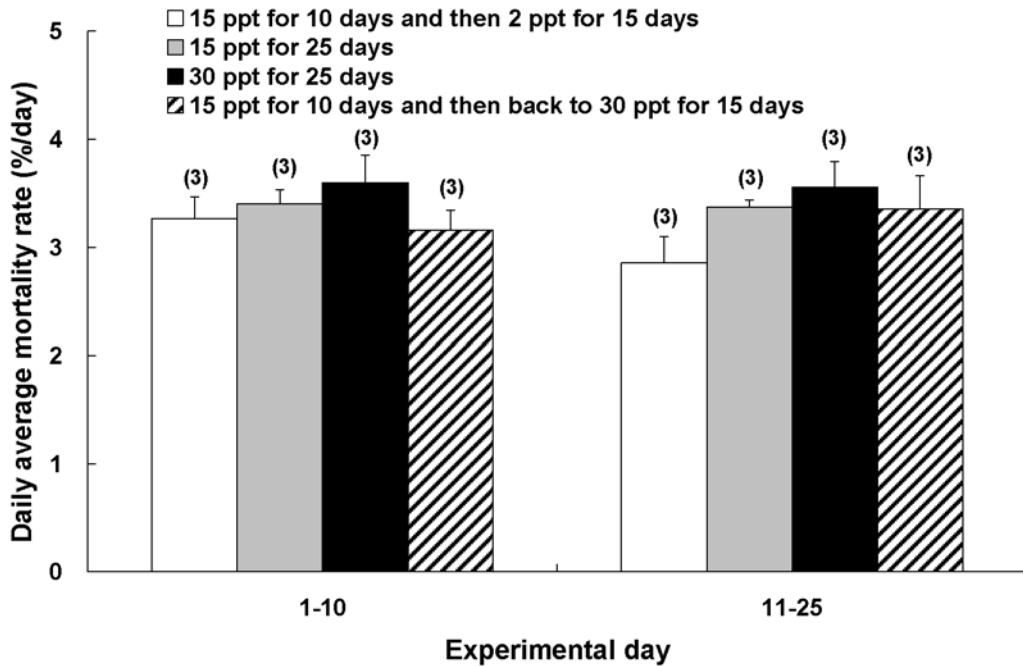


圖 4. 大吻鰕虎魚仔魚在 4 種不同鹽度變化處理下實驗期第 1-10 天與 11-25 天之日平均死亡率。垂直線代表標準誤，括弧內為樣本數。

Fig. 4. Daily average mortality rates of *Rhinogobius gigas* larvae in the 4 salinity treatments during the experimental periods of 1-10 and 11-25 days (vertical lines, standard errors sample sizes in the parentheses).

該 4 個鹽度處理之平均日死亡率，依高低分別為鹽度 30 ppt 25 天組(3.56±0.23%, n=3)、鹽度 15 ppt 25 天組(3.37±0.06%, n=3)、鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組(3.35±0.31%, n=3)及鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組(2.85±0.25%, n=3) (圖 4)。

## 二、不同鹽度變化處理下之甲狀腺發育

在實驗起始(第 0 天)時，TFN、TCH 及 TFS 在本研究 3 次重複實驗期之間，無顯著差異 (TFN:  $F_{2,29}=2.910$ ,  $p=0.071$ ; TCH:  $F_{2,29}=0.513$ ,  $p=0.604$ ; TFS:  $F_{2,29}=0.892$ ,  $p=0.421$ )；其平均值±標準差(n=32)為 TFN 之 7.88±1.39 個、TCH 之 7.54±0.74  $\mu\text{m}$  及 TFS 之 27.81±1.75  $\mu\text{m}$ 。同時，在實驗起始時之仔魚全長，在本研究 3 次重複實驗期之間，亦無顯著差異( $F_{2,29}=2.561$ ,  $p=0.095$ )；其平均值±標準差為 15.86±0.44 mm

(n=32)。

### (一) 甲狀腺濾泡數(TFN)

變異數分析結果顯示，實驗第 10 天大吻鰕虎魚仔魚之 TFN 在不同鹽度處理組間，沒有顯著差異( $p=0.946$ ) (表 3)。其中，該 4 個鹽度處理之 TFN，依高低分別為鹽度 15 ppt 25 天組(11.15±0.43 個, n=26)、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組(11.0±0.47 個, n=21)、鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組(11.00±0.43 個, n=29)及鹽度 30 ppt 25 天組(10.87±0.42 個, n=23) (圖 5A)。在經第 10 天之鹽度變化處理後，除鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之上升較為明顯外，其餘 3 個鹽度組之變化不明顯(圖 5A)。經變異數分析結果顯示，在實驗第 25 天之 TFN 在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p=0.019$ ) (表 3)。其中，鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之 TFN (13.50±0.82 個，

n=8)，顯著高於鹽度 15 ppt 25 天組(10.44±0.71 個, n=9)，而鹽度 30 ppt 25 天組(11.75±0.59 個, n=8)及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組(11.75±0.53 個, n=8)，與上述兩鹽度處理組間無顯著差異(圖 5A)。此外，由單一鹽度處理組內之時間變

化來看，鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之 TFN 在實驗開始(第 0 天)至第 25 天結束，有逐漸上升的現象；其餘 3 個鹽度處理組之 TFN，在實驗開始至第 10 天時俱上升的現象，而至第 25 天時之變化不顯著(圖 5A)。

**表 3.** 鹽度變化處理與實驗時間區集對大吻鰕虎魚仔魚在實驗開始後第 10 天與第 25 天甲狀腺濾泡數、甲狀腺細胞高度及甲狀腺濾泡大小影響之變異數分析表

**Table 3.** Analysis of variance for the effects of salinity change treatments and experimental time blocks on numbers, heights, and sizes of the thyroid follicles of *Rhinogobius gigas* larvae for 10 days and 25 days after the beginning of the experiments

Thyroid follicles	Days	Source of variation	Sum of squares	df	Mean square	F	p
Number	10	Salinity	1.6	3	0.5	0.12	0.946
		Block	55.5	2	27.7	6.49	0.002
		Error	397.5	93	4.3		
	25	Salinity	39.1	3	13.0	3.91	0.019
		Block	19.1	2	9.5	2.86	0.075
		Error	90.1	27	3.3		
Height	10	Salinity	153.9	3	51.3	9.91	< 0.001
		Block	24.2	2	12.1	2.34	0.102
		Error	481.1	93	5.2		
	25	Salinity	75.5	3	25.2	10.83	< 0.001
		Block	4.1	2	2.1	0.89	0.422
		Error	62.8	27	2.3		
Size	10	Salinity	356.3	3	118.8	6.09	0.001
		Block	51.0	2	25.5	1.31	0.276
		Error	1814.5	93	19.5		
	25	Salinity	322.9	3	107.6	5.28	0.005
		Block	11.2	2	5.6	0.28	0.762
		Error	550.7	27	20.4		

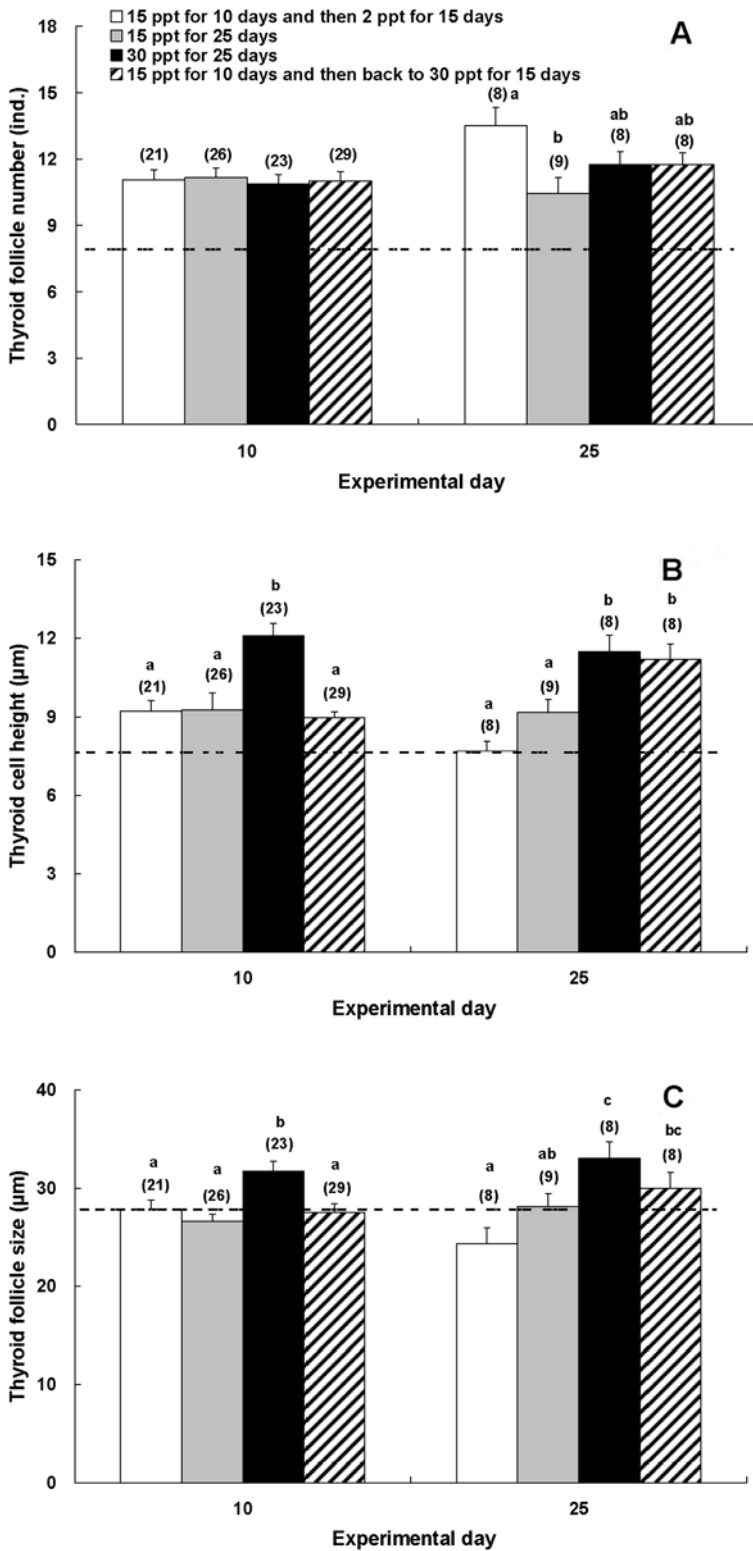


圖 5. 大吻鰕虎魚仔魚在 4 種不同鹽度變化處理下實驗開始第 10 天與 25 天之甲狀腺濾泡(A)、甲狀腺細胞高度(B)及甲狀腺濾泡大小(C)。水平虛線代表該甲狀腺參數在實驗起始時(第 0 天)之平均值，垂直線代表標準誤，括弧內為樣本數。a、b 及 c，相同字母代表在鹽度處理組間無顯著差異(最小顯著差異之多域檢測)。

Fig. 5. The thyroid follicle size (C) of *Rhinogobius gigas* larvae in the 4 salinity change treatments for 10 days and 25 days after the beginning of the experiments (horizontal dotted line, mean of thyroid parameter on the beginning date (date 0) of the experiment; vertical lines, standard errors; sample sizes in the parentheses; a, b and c, same letters not significantly different among the treatments by multiple range tests of the least significant difference).

### (二) 甲狀腺細胞高度(TCH)

變異數分析結果顯示，實驗第 10 天大吻鰕虎魚仔魚之 TCH 在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p < 0.001$ ) (表 3)。其中，鹽度 30 ppt 25 天組之 TCH ( $12.09 \pm 0.49 \mu\text{m}$ ,  $n=23$ )，顯著高於其他 3 個鹽度處理組，而鹽度 15 ppt 25 天組 ( $9.27 \pm 0.65 \mu\text{m}$ ,  $n=26$ )、鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組 ( $9.22 \pm 0.41 \mu\text{m}$ ,  $n=21$ ) 及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組 ( $8.96 \pm 0.23 \mu\text{m}$ ,  $n=29$ ) 等 3 組間，沒有顯著差異(圖 5B)。在經第 10 天之鹽度變化處理後，TCH 在鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中會分別因鹽度由高轉低及由低轉高之處理而減小及增大，而其餘 2 個鹽度組之變化不明顯(圖 5B)。經變異數分析結果顯示，在實驗第 25 天之 TCH 在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p < 0.001$ ) (表 3)。其中，TCH 在鹽度 30 ppt 25 天組 ( $11.49 \pm 0.63 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ ) 與鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組 ( $11.20 \pm 0.58 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ ) 間，無顯著差異，但這 2 個鹽度處理組顯著高於鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組 ( $7.68 \pm 0.38 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ ) 與鹽度 15 ppt 25 天組 ( $9.18 \pm 0.49 \mu\text{m}$ ,  $n=9$ )，而後 2 組間無顯著差異(圖 5B)。此外，由單一鹽度處理組內之時間變化來看，TCH 在實驗開始(第 0 天)至第 25 天結束，在鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組中有先升而後降回原點之現象；在鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中則有逐漸上升的現象，尤其後期明顯增加。在鹽度 15 ppt 25 天組與鹽度 30 ppt 25 天組等 2 組中，TCH 之變化情形相似，皆為先升而後持平之現象，惟鹽度 30 ppt 25 天組在前期之升幅較高(圖 5B)。

### (三) 甲狀腺濾泡大小(TFS)

變異數分析結果顯示，實驗第 10 天大吻鰕虎魚仔魚之 TFS 在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p = 0.001$ ) (表 3)。其中，鹽度 30 ppt 25 天組之 TFS ( $31.72 \pm 1.01 \mu\text{m}$ ,  $n=23$ )，顯著高於其他 3 個鹽度處理組，而鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組 ( $27.85 \pm 0.93 \mu\text{m}$ ,  $n=21$ )、鹽度由 15 ppt 回

到 30 ppt 組 ( $27.54 \pm 0.88 \mu\text{m}$ ,  $n=29$ ) 及鹽度 15 ppt 25 天組 ( $26.62 \pm 0.73 \mu\text{m}$ ,  $n=26$ ) 等 3 組間，沒有顯著差異(圖 5C)。在經第 10 天之鹽度變化處理後，TFS 在鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組及鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中會分別因鹽度由高轉低及由低轉高之處理而減小及增大，而其餘 2 個鹽度組之變化不明顯(圖 5C)。經變異數分析結果顯示，在實驗第 25 天之 TFS 在不同鹽度處理組間，有顯著差異( $p = 0.005$ )。其中，最高之 TFS 出現在鹽度 30 ppt 25 天組 ( $33.06 \pm 1.70 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ )，且與鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組 ( $29.99 \pm 1.60 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ )，無顯著差異，最低之 TFS 出現在鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組 ( $24.36 \pm 1.57 \mu\text{m}$ ,  $n=8$ )，且與鹽度 15 ppt 25 天組 ( $28.14 \pm 1.28 \mu\text{m}$ ,  $n=9$ )，無顯著差異(圖 5C)。此外，由單一鹽度處理組內之時間變化來看，TFS 在實驗期間在鹽度 30 ppt 25 天組中有逐漸上升的現象，尤其是第 1-10 天之增加明顯；相對地，在鹽度 15 ppt 25 天組中 TFS 之變化不明顯。然而，在鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組與鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中，TFS 在第 1-10 天之變化亦不明顯，但在第 11-25 天則分別有下降與上升之現象(圖 5C)。

## 討 論

### 一、鹽度變化對仔魚成長與死亡之影響

兩側洄游魚類在早期生活史中，必須經歷棲息環境由海洋轉換至淡水河川之改變，所以鹽度是其必須面對的關鍵環境因子之一。鹽度能影響稚齡魚的存活，特別是在變態時期中的仔稚魚(DeSilva and Perera 1984)。鰕虎魚科魚類能夠成為太平洋熱帶島嶼溪流中之優勢物種，具廣鹽性(euryhaline)之特徵為其主要原因之一(Ryan 1991)。除成魚外，兩側洄游之鰕虎魚科魚類仔魚對鹽度亦有良好的耐受性(Iida *et al.* 2010)。

在本研究中模擬 4 組不同洄游鹽度變化處

理之結果指出，日平均成長率在 1-10 天鹽度為 30 ppt 之沿岸滯留處理組中，顯著低於其他 3 個鹽度處理組(鹽度均為 15 ppt)(圖 3)。該結果顯示，大吻鰕虎魚仔魚在此時期必須進入河口域停留，若因故滯留於高鹽度之沿岸水域，其成長會發生遲緩之現象。在經第 10 天之第二次鹽度變化處理後，鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之日平均成長率，顯著高於鹽度 30 ppt 25 天組、鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組、鹽度 15 ppt 25 天組等 3 個鹽度處理組，同時鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組之日平均成長率發生明顯下降之現象(圖 3)。這些結果顯示，大吻鰕虎魚仔魚長期滯留於沿岸水域、河口域，或是由河口域再次回到沿岸等非低鹽度之環境裡，皆是不利其成長，唯有依時序順利由海洋進入河口域且漸進上溯進入低鹽度之淡水河川棲地裡，才能擁有最佳之成長。Iwata and Honma (1986) 對於川鰕虎魚之研究結果也顯示，順利進入淡水河川中之仔稚魚，其成長較佳(體長、體重皆最大)，反之若將其飼養於海水裡，成長明顯較差(體長、體重皆最小)。簡言之，在鹽度 30 ppt 25 天組與鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中之低成長率情形，均顯示高鹽度的海洋環境不利大吻鰕虎魚脊索上屈後期仔魚之成長發育；相對地，在鹽度漸次轉低之鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組中，仔魚用於滲透壓調節之能量較低且再加上時間適應等因素，其成長率因而最佳。

日平均死亡率在本研究中第 1-10 天與第 11-25 天之 4 個不同鹽度處理組間，皆無顯著差異(表 2, 圖 4)，這可能是由於大吻鰕虎魚為廣鹽性魚種，可以適應一定程度的鹽度變化，所以其死亡率在各鹽度變化處理組間，無顯著差異。然而，在死亡率之數值上，在鹽度維持 30 ppt 的鹽度 30 ppt 25 天組中一直是高於其他鹽度處理組的，再加上在實驗結束時鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組之死亡率是最低的(圖 4)，顯示高鹽度之環境不利於脊索上屈後期仔魚之存活，而低鹽度的環境才是存活最有利的條件。

Iida *et al.* (2010) 在日本禿頭鯊的成魚研究中指出，若將棲息於淡水環境中之成魚移入海水(33 ppt)環境，在 14 hr 後實驗個體全數死亡，顯示即使日本禿頭鯊仔魚在早期生活史中，有經歷過海洋浮游的階段，但是已棲息在低鹽度淡水河川中之成魚，仍無法在高鹽度之環境中存活。

綜合上述之研究結果顯示，進入脊索上屈後期之大吻鰕虎仔魚在高鹽度之海洋環境中是不利於其成長與存活的，意指即使是廣鹽性魚類，如果不配合其個體發育(ontogenesis)所應符合的環境狀態，會導致其成長率之下降，甚至於引發死亡。大吻鰕虎仔魚在溯河洄游期間，由表層浮游之脊索上屈後期仔魚階段發育進入底棲之稚魚階段時，經由半淡鹹水之河口域而形成漸進的鹽度改變過程(海洋—河口域—淡水河川)，使得河口域成為脊索上屈後期仔魚溯河時鹽度改變之緩衝區，以作為上溯淡水河川的滲透壓生理調節與適應。此現象與 Shen and Tzeng (2008) 之研究指出，日本禿頭鯊溯河仔魚會在中鹽度(14 ppt)的河口域環境停留之結果相似。然而，最終大吻鰕虎魚必須回到純淡水的河川中棲息，才能擁有最佳的成長與存活。

## 二、鹽度變化對甲狀腺發育與活動之影響

對大多數的脊椎動物而言，已知甲狀腺素可以控制身體大範圍生理上的改變，例如：生長發育、基礎代謝及體內平衡等(Yamano 2005)。就時序而言，TFN 在本研究之鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組中會隨著時間之增加而上升(圖 5A)，顯示 TFN 會隨著大吻鰕虎魚仔魚之個體發育而增加。在其他魚種方面，相似的研究結果有：在成長發育過程中三刺魚 *Gasterosteus aculeatus* 仔魚之 TFN 會不斷地增加(Sugisaki and Honma 1981)；在鮎屬魚類(*Sebastes*)之研究中亦發現，由新生仔魚發育至稚魚階段之 TFN，有持續增加的現象(Kang and Chang 2005)。此

外，其餘 3 個鹽度處理組之 TFN，在實驗第 11-25 天時變化不顯著之現象(圖 5A)，可能與其此時與環境鹽度適應相關之甲狀腺活動有關(如 TCH 與 TFS 之變大)。

在經歷由海洋遷移至河口域之鹽度變化時，甲狀腺之活動會影響牙鯨仔稚魚的滲透壓調節(Hiroi *et al.* 1997)。在脊索上屈後期仔魚至稚魚階段間之日本裸身鰕虎魚 *Gymnogobius urotaenia*，其 TCH 會隨著甲狀腺濾泡開始活化而逐漸增高，此時之 TFS 亦會隨著 TCH 之增高而增大，顯示該兩種甲狀腺參數間存有正向的關聯(Harada *et al.* 2003)。TCH 與 TFS 在本研究第 1-10 天之鹽度 30 ppt 25 天組中，顯著高於其他 3 個鹽度處理組，並且在第 11-25 天之鹽度 30 ppt 25 天組與鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中，亦同時高於鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組與鹽度 15 ppt 25 天組(圖 5B, 5C)。這些結果顯示，大吻鰕虎魚仔魚甲狀腺活動在高鹽度之海洋環境時為最高、在鹽度漸小的鹽度由 15 ppt 轉為 2 ppt 組中為最低，而在鹽度由 15 ppt 回到 30 ppt 組中因鹽度由低轉高之處理，而導致其甲狀腺活動有急劇上升的情形(圖 5B)。本研究之結果與 Iwata and Honma (1986) 在川鰕虎魚之研究結果相似：在海水鹽度處理組中之仔魚具高 TCH 之現象，顯示甲狀腺濾泡在此處理組中呈現活躍的狀態；相對地，TCH 在低鹽度(2 ppt)處理組中很低，甲狀腺濾泡在此處理組中呈現不活躍的狀態；另外，若將正上溯進入河川中的仔魚，移至海水環境裡，則甲狀腺濾泡又會回到活躍的狀態。綜言之，此等 TCH 及 TFS 會因為外在高鹽度環境而活化、增大的結果，可能就是該等仔魚為了在高鹽度環境下進行較高負荷之滲透壓調節而導致的現象，因此滯留在沿岸水域中之大吻鰕虎魚仔魚，會付出甲狀腺活動增高之代價，而順利經由河口域上溯進入低鹽度淡水河川棲息地之仔魚則否。

一般而言，魚類甲狀腺濾泡在孵化後幾天

內就會出現，特別是卵生物種之濾泡在孵化時就會出現(Kang and Chang 2005; Yamano 2005)。在本研究中觀察實驗開始前大吻鰕虎魚仔魚甲狀腺之組織切片中，就發現已具有甲狀腺濾泡的存在，這表示該仔魚在進入河口域之前，其濾泡就已經開始發育，因此在本研究中鹽度變化之處理，會影響大吻鰕虎魚甲狀腺活動的強度，而與甲狀腺濾泡的起始發育無關。此外，大吻鰕虎魚在脊索上屈後期仔魚之 TCH 與 TFS 在進入純淡水環境後變小之現象，在川鰕虎魚與三刺魚之研究中，亦有發現相似的結果。川鰕虎魚稚魚欲從海洋進入河口域時，甲狀腺濾泡呈現高度活化的狀態且 TCH 很高；而進入淡水河川後，甲狀腺濾泡漸漸不活化且 TCH 變低(Iwata and Honma 1986)。在 Sugisaki and Honma (1981) 研究亦發現，若將三刺魚稚魚飼養於淡水中 1 個月，其甲狀腺濾泡有明顯退化的現象。

### 三、大吻鰕虎魚之生存策略

沿岸地區與河口域因為河川沖刷、人為活動及浮游植物行光合作用等因素，含有大量營養鹽且初級生產力較其他水域高(Wootton 1992)。一般而言，大吻鰕虎魚仔魚在海洋浮游期時不會離開沿岸水域太遠(蕭 1998)。春季，通常是藻類爆發(spring algal bloom)的時期(Tang *et al.* 2003)。配合此時間點，使得仔魚能在高生產力的環境下，快速完成其海洋浮游期之成長，進而上溯進入河川之成魚棲息地。這種獨特的生殖策略，可能為大吻鰕虎魚利用自然資源的一種最適方式；在幼齡仔魚之脆弱時期，避開水流湍急、生產力低且易遭捕食的河川淺水環境，而選擇環境穩定、生產力高及面積較為寬廣之沿岸水域作為哺育場所，同時亦有利於仔魚的擴散及被捕食率之降低。兩側洄游的鰕虎魚類仔稚魚，在回到河川後，會開始不斷地向上游遷移，並且具有攀爬陡峭岩壁、瀑布的能力，而可以分布與上溯一段很長的距離

(McDowall 2004)。最後，已成長至一定大小的大吻鰕虎魚，洄游棲息在河川中所遭遇捕食者的機率會比體型小的仔魚低，其在河川中能選擇的食物顆粒範圍也較仔魚大，這些條件均使得大吻鰕虎魚能在台灣東部湍急河川的魚類相中，占有高豐度優勢的地位。

## 謝 誌

感謝審查委員們細心審查並提供寶貴意見，使本文更加完善，謹此致上誠摯之謝意。感謝台灣東部花蓮溪出海口原住民朋友們，在本研究大吻鰕虎魚仔魚樣本採集時熱心的協助。感謝慈濟大學生命科學系陳俊堯教授組織切片技術的指導與協助。

## 引用文獻

- 沈明來。2007。生物統計學入門(第五版)。九州圖書。
- 唐嘯塵、劉曉春、林浩然。2010。斜帶石斑魚仔魚變態過程中甲狀腺的發育變化。水生生物學報 34(1): 210-214。
- 陳義雄、方力行。1999。台灣淡水及河口魚類誌。國立海洋生物博物館籌備處。
- 蕭仁傑。1998。秀姑巒溪洄游性鰕虎魚初期生活史與資源量。國立清華大學碩士論文。
- Aonuma, Y. and I. S. Chen. 1996. Two new species of *Rhinogobius* (Pisces, Gobiidae) from Taiwan. *Journal of Taiwan Museum* 49(1): 7-13.
- Barbara, I. E. and R. D. Fernald. 1990. Metamorphosis and fish vision. *Journal of Neurobiology* 21(7): 1037-1052.
- Brown, D. D. 1997. The role of thyroid hormone in zebrafish and axolotl development. *Developmental Biology* 94: 13011-13016.
- Chen, I. S. and K. T. Shao. 1996. A taxonomic review of the gobiid fish genus *Rhinogobius* Gill, 1859, from Taiwan, with descriptions of three new species. *Zoological Studies* 35 (3): 200-214.
- DeSilva, S. S. and M. K. Perera. 1984. Digestibility in *Sarotherodon niloticus* fry: Effect of dietary protein level and salinity with further observations on variability in daily digestibility. *Aquaculture* 38: 293-306.
- Harada, Y., S. Harada, I. Kinoshita, M. Tanaka and M. Tagawa. 2003. Thyroid gland development in a neotenic goby (ice goby, *Leucopsarion petersii*) and a common goby (ukigori, *Gymnogobius urotaenia*) during early life stages. *Zoological Science* 20: 883-888.
- Hirata, Y., H. Krokura and S. Kasahara. 1989. Effects of thyroxine and thiourea on the development of larval red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55(7): 1189-1195.
- Hiroi, J., Y. Sakakura, M. Tagawa, T. Seikai and M. Tanaka. 1997. Development changes in low-salinity tolerance and responses of prolactin, cortisol and thyroid hormones to low-salinity environment in larvae and juveniles of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Zoology Science* 14: 987-992.
- Iida, M., S. Watanabe, Y. Yamada, C. Lord, P. Keith and K. Tsukamoto. 2010. Survival and behavioral characteristics of amphidromous goby larvae of *Sicyopterus japonicus* (Tanaka, 1909) during their downstream migration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 383: 17-22.
- Iwata, Y. and Y. Honma. 1986. Thyroid activity of juvenile goby, *Rhinogobius brunneus* (Temminck et Schlegel), in relation to its upstream migration. *Sado Marine Biological Station, Niigata University* 16: 1-8.

- Kang, D. Y. and Y. J. Chang. 2005. Development of thyroid follicles and changes in thyroid hormones during the early development of Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Journal of the World Aquaculture Society* 36(2): 157-164.
- Keith, P., T. B. Hoareau, C. Lord, O. Ah-Yane, G. Gimonneau, T. Robinet and P. Valade. 2008. Characterisation of post-larval to juvenile stages, metamorphosis and recruitment of an amphidromous goby, *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas) (Teleostei: Gobiidae: Sicydiinae). *Marine and Freshwater Research* 59: 876-889.
- McDowall, R. M. 2004. Ancestry and amphidromy in island freshwater fish faunas. *Fish and Fisheries* 5: 75-85.
- Miwa, S. and Y. Inui. 1987. Histological changes in the pituitary-thyroid axis during spontaneous and artificially-induced metamorphosis of larvae of the flounder *Paralichthys olivaceus*. *Cell and Tissue Research* 249: 117-123.
- Miwa, S., M. Tagawa, Y. Inui and T. Hirano. 1988. Thyroxin surge in metamorphosing flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology* 70: 158-163.
- Ryan, P. A. 1991. The success of the Gobiidae in tropical Pacific insular streams. *New Zealand Journal of Zoology* 18: 25-30.
- Shen, K. N. and W. N. Tzeng. 2002. Formation of a metamorphosis check in otoliths of the amphidromous goby *Sicyopterus japonicus*. *Marine Ecology Progress Series* 228: 205-211.
- Shen, K. N. and W. N. Tzeng. 2008. Reproductive strategy and recruitment dynamics of amphidromous goby *Sicyopterus japonicus* as revealed by otolith microstructure. *Journal of Fish Biology* 73: 2497-2512.
- Sugisaki, T. and Y. Honma. 1981. Thyroid activity of the juvenile threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, reared in different salinities of water. *Sado Marine Biological Station, Niigata University* 11: 11-19.
- Tagawa, M. and M. Aritaki. 2005. Production of symmetrical flatfish by controlling the timing of thyroid hormone treatment in spotted halibut *Verasper variegates*. *General and Comparative Endocrinology* 141: 184-189.
- Tang, D., D. R. Kester, I. H. Ni, Y. Qi and H. Kawamura. 2003. In situ and satellite observations of a harmful algal bloom and water condition at the Pearl River estuary in late autumn 1998. *Harmful Algae* 2(2): 89-99.
- Wootton, R. J. 1992. Feeding ecology in the open oceans. pp. 110-112. *In: R. J. Wootton (ed.). Fish Ecology*. Chapman and Hall, New York.
- Yamano, K. 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. *Japan Agricultural Research Quarterly* 39(3): 161-168.
- Youson, J. Y. 1988. First metamorphosis. pp. 135-196. *In: W. S. Hoar and D. J. Randall (eds.). The Physiology of Developing Fish*. Academic Press, San Diego.

以核內之內轉錄區間序列探討  
珊瑚共生藻系群的遺傳變異與演化

Genetic Variation and Evolution of *Symbiodinium* in Corals  
Based on Phylogeny Reconstructed from the Nuclear Internal  
Transcribed Spacer (ITS rDNA) Sequences

朱育民<sup>1,3,\*</sup> 陳啓祥<sup>1,2</sup> 蔣鎮宇<sup>3</sup> 蕭義勇<sup>1,2</sup> 方力行<sup>4</sup>

Yu-Min Ju<sup>1,3,\*</sup>, Chii-Shiang Chen<sup>1,2</sup>, Tzen-Yuh Chiang<sup>3</sup>, Yi-Young Hsiao<sup>1,2</sup>  
and Lee-Shing Fang<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 國立海洋生物博物館 屏東縣車城鄉後灣村後灣路 2 號

<sup>2</sup> 國立東華大學海洋生物科技研究所 屏東縣車城鄉後灣村後灣路 2 號

<sup>3</sup> 國立成功大學生命科學系 台南市大學路 1 號

<sup>4</sup> 正修科技大學運動健康與休閒系所 高雄縣鳥松鄉澄清路 840 號

<sup>1</sup> National Museum of Marine Biology and Aquarium, Pingtung, Taiwan

<sup>2</sup> Institute of Marine Biotechnology, National Dong Hwa University, Pingtung, Taiwan

<sup>3</sup> Department of Life Sciences, Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

<sup>4</sup> Department of Kinesiology, Health and Leisure Studies, Cheng Shiu University, Kaohsiung, Taiwan

\* 通訊作者：yumine@nmmba.gov.tw

\* Corresponding author: yumine@nmmba.gov.tw

## 摘 要

共生藻(*Symbiodinium*)與珊瑚所形成的互利共生(mutualism)在珊瑚生態系扮演著重要的角色。在珊瑚中常見的共生藻有 4 種系群(clade)，分別為 A、B、C 及 D 系群。本研究以珊瑚主要共生藻系群的細胞核之內轉錄區間(internal transcribed spacer; ITS rDNA)序列，探討共生藻基因組成上的差異、親緣關係與演化路徑。結果顯示，共生藻 ITS rDNA 序列平均總長度介於 526-576 bp，

G+C 百分比介於 47.5-53.8%，而 A 系群在序列長度及 G+C 百分比均低於 4 種共生藻系群的平均值。共生藻 ITS rDNA 區段在系群內的遺傳距離為 0.00-0.052，系群間的遺傳距離為 0.283-0.677，由親緣樹狀圖呈現系群間有明顯的分群現象，且 A 系群位於共生藻的最外群，而 A 系群在親緣網狀圖具有古老單型(haplotype)，顯示出在共生藻的分歧演化(divergent evolution)中，A 系群與其他系群有特殊的演化軌跡，而這可能與共生藻從寄生(parasitism)到互利共生(mutualism)的演化過程有關。

## Abstract

Mutualistic relationship between *Symbiodinium* and corals is crucial importance for the coral reef ecosystem. Using ITS rDNA sequences, we reconstructed the phylogeny of the *Symbiodinium*. The lengths of the sequences were 526 to 576 bp and the G+C contents were 47.5 to 53.8%. There were four major clades A to D with the genetic distances of 0.283 to 0.677 among the clades and 0.00 to 0.052 among the species within the clades, indicating that there was long divergence among the four clades. A phylogenetic neighbor-joining tree displayed a step-wise differentiation from Clade A, the basal lineage, through Clades D and B to Clade C. The minimum spanning network also revealed that Clade A was ancestral form and clades B, C and D were its evolutionary trajectories. The phylogenetic relationship of the four clades expressed the divergent evolution of *Symbiodinium* from parasitism to mutualism in corals.

**關鍵詞：**共生藻、細胞核內轉錄區間、演化

**Key words:** *Symbiodinium*, ITS rDNA (internal transcribed spacer), evolution

收件日期：99 年 7 月 27 日

接受日期：99 年 10 月 4 日

Received: July 27, 2010

Accepted: October 4, 2010

## 緒 言

共生藻是一種單細胞的渦鞭毛藻(dinoflagellates)，在許多的海洋無脊椎動物(如珊瑚與海葵)及單細胞生物(如有孔蟲)的宿主上形成共生(symbiosis)關係(Baillie *et al.* 2000; LaJeunesse 2001; Pawlowski *et al.* 2001; Pochon *et al.* 2001)。可存於造礁珊瑚組織的內胚層中並行光合作

用，提供宿主珊瑚成長所需要的 O<sub>2</sub> 及營養物質。相對的，宿主動物在氧化代謝的過程中，提供共生藻所需要的 CO<sub>2</sub> 及含氮營養鹽，兩者建立了互利共生(mutualism)關係(Goulet and Coffroth 2003)。共生藻的共生作用具有加速有機碳循環與形成珊瑚骨骼的功能，為熱帶珊瑚礁形成的先決條件，當珊瑚受到干擾而失去共生藻時，珊瑚出現白化(bleaching)現象，而長

時間的白化通常會造成珊瑚的死亡(Ware *et al.* 1996)。

共生藻的外觀顏色為黃褐色，形態幾乎相同而無法進一步區分，因此早年稱之蟲黃藻(zooxanthellae) (Taylor 1974)，然而經由核體28S 與葉綠體23S rDNA 基因之分子鑑定，可將共生藻分類為A-I等9個系群(clades) (Pochon and Gates 2010)，在珊瑚上的共生藻主要為A、B、C及D系群(Pochon *et al.* 2006)。A系群在遺傳序列上具有高度的歧異度(divergence) (Santos *et al.* 2003)，曾在刺細胞生物及軟體動物上發現，但未曾在有孔蟲(foraminifera)上發現(Pochon *et al.* 2006)，主要分布於西太平洋(Baker and Rowan 1997)及紅海區域(Barneah *et al.* 2004)。B系群常存於造礁珊瑚上，並曾在柳珊瑚(*Briareum* sp.)上發現(Santos *et al.* 2003, 2004; Lewis and Coffroth 2004)，廣泛存於西太平洋(Baker and Rowan 1997)。C系群廣泛存於造礁珊瑚上，曾在有孔蟲及纖毛蟲(ciliates)上發現(Lobban *et al.* 2002)，分布於印度—太平洋區域，為溫度敏感型(temperature sensitivity)，不耐高溫環境，與珊瑚在高溫環境下所造成之白化事件有關(Baker *et al.* 2004; Rowan 2004)。D系群常存於西太平洋、熱帶地區之造礁珊瑚上，為溫度耐受型(thermally tolerant)，可在增溫海域的白化珊瑚中發現(Baker *et al.* 2004; Rowan 2004)，並具有逆境適應性(Chen *et al.* 2003)。

rDNA 由於其序列高度保守及廣存於生物體，使其基因序列成為建構親緣關係與探討演化的重要工具(Pochon *et al.* 2004)。rDNA 為一群縱線排列(tandem array)的重複性基因族(repeated gene families)，位於染色體的核仁組成區域(nucleolar organizer region)。每個重覆單位(repeat unit)中，含有可轉錄區域，包括18S、5.8S及28S rDNA等3個基因，而在18S、5.8S及28S rDNA 基因間各有一個內轉錄間隔區(internal transcribed spacer; ITS)，在rDNA

中18S、5.8S及28S rDNA 基因序列，在不同物種間相當一致，但在ITS區域中，不同物種間之長度及序列上常有很大變異，使得ITS常被研究於屬間或屬內之親緣關係及演化上的探討(Baldwin *et al.* 1995; Chiang and Schaal 2000; Bellarosa *et al.* 2005)。因此，本研究嘗試從基因資料庫中所搜尋珊瑚的主要共生藻系群之ITS rDNA 序列，探討共生藻基因組成上的差異、親緣關係與演化路徑。

## 材料與方法

### 一、共生藻 ITS rDNA 區段序列搜尋

從已發表的文獻中查詢得到4種珊瑚共生藻系群(A, B, C及D系群) (Baillie *et al.* 2000; LaJeunesse 2001; Santos *et al.* 2002; Diekmann *et al.* 2003; Reimer *et al.* 2006; Reimer *et al.* 2007; Thornhill *et al.* 2007; Santiago-Vazquez *et al.* 2007; Reimer and Todd 2009)。將所得ITS rDNA 整區段序列，利用美國國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI) GenBank 的BLAST 線上軟體(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)進行基因庫比對，再篩選出相似度高珊瑚共生藻ITS rDNA 區段序列(表1)，所得的序列以Clustal X 1.81 程式(Thompson *et al.* 1997)完成比對及排列，並將共生藻之ITS rDNA 序列，以位於18S和5.8S rDNA 之間定為ITS1；5.8S和28S rDNA 之間定為ITS2，逐一定義出共生藻ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 之相關位置(圖1)。由於ITS1與ITS2之鹼基變異較大，為盡量減少排列時所形成的gap數目，因此將spacer區域以人工手動方式加以逐一挑出，再依同源性的原理逐一檢視與修正。

### 二、序列分析

利用DAMBE (Data Analysis in Molecular Biology and Evolution, Version 4.10) (Xia and Xie 2001)來計算鹼基組成的百分比。將排序後

表 1. 序列代碼與 NCBI 資料庫序列登錄號對照表

Table 1. A list of sample codes and NCBI accession numbers of four *Symbiodinium* clades (A-D)

A		B		C		D	
Code	NCBI	Code	NCBI	Code	NCBI	Code	NCBI
S1	AF186055	S33	AF458607	S58	DQ068038	S85	EU074902
S2	AF186058	S34	AF458608	S59	DQ068040	S86	EU074898
S3	AF186059	S35	AF458609	S60	DQ068042	S87	EU074901
S4	AF186060	S36	AF458611	S61	DQ068044	S88	AF174553
S5	AF186061	S37	AF458612	S62	DQ480631	S89	AF174554
S6	AF186062	S38	AF458613	S63	DQ889737	S90	AF174556
S7	AF186063	S39	AY876596	S64	DQ889741	S91	AF174566
S8	AF186069	S40	AY876598	S65	DQ889743	S92	AF174574
S9	AF195149	S41	AY876599	S66	DQ889744	S93	EU333710
S10	AB253789	S42	AY876600	S67	EU074885	S94	EU333714
S11	AF333505	S43	AY894809	S68	EU074887	S95	AF174544
S12	AF333508	S44	AY894810	S69	EU074892	S96	AF174545
S13	AF427466	S45	AY894812	S70	EU634159	S97	AF174546
S14	AB190281	S46	DQ238587	S71	EU074965	S98	AF174547
S15	AB190282	S47	EU074863	S72	AB207190	S99	AF174551
S16	AB190285	S48	EU074864	S73	AF427469	S100	AF174552
S17	AB207200	S49	EU074865	S74	DQ068025	S101	AF174562
S18	AB190283	S50	EU074866	S75	DQ068043	S102	EU074903
S19	AB207201	S51	EU074867	S76	DQ335307	S103	EU074904
S20	AB207202	S52	EU074868	S77	DQ335355	S104	EU074905
S21	AB207205	S53	EU074870	S78	DQ335356	S105	EU074909
S22	AB207206	S54	EU074871	S79	DQ335357	S106	EU074911
S23	AB207208	S55	EU074872	S80	DQ480598	S107	EU074912
S24	AB207209	S56	EU074874	S81	DQ480616		
S25	EU074856	S57	EU074875	S82	DQ480618		
S26	EU074858			S83	EU074963		
S27	EU074859			S84	EU074964		
S28	EU074860						
S29	EU074861						
S30	EU074862						
S31	EU074867						
S32	EU074962						



圖 1. ITS rDNA 示意圖(ITS rDNA 包含 ITS1-5.8S-ITS2 區段)。

Fig. 1. The ITS1-5.8S-ITS2 region of ITS rDNA sequences.

的 DNA 以 MEGA 4.0 套裝軟體，以雙參數模式(two-parameter model)的方法計算鹼基替代率及遺傳距離(Kimura 1980)，利用聚類分析法(neighbor-joining method)原理(Saitou and Nei 1987)構築出 4 種共生藻系群每一個基因的基因樹狀圖。NJ tree 中每一個 group 之可信度利用不加權重、重複 1,000 次的bootstrap 分析檢測(Felsenstein 1985)；bootstrap 數值大於 70 時，相當於統計學上 95% 信心水準支持(Hillis and Bull 1993)。由所得到的基因樹狀圖，可加以比對所篩選出的共生藻系群所屬類群。

### 三、親緣網狀圖

利用 MEGA 4.0 (Tamura *et al.* 2007)軟體計算單型(haplotype)間的突變數，所得數據以 MINSNET 軟體(Excoffier and Smouse 1994)建構親緣網狀圖 minimum spanning network (Excoffier *et al.* 1992)，藉以追溯單型間的親緣關係與演化途徑。

## 結 果

從 NCBI 基因資料庫所搜尋到的珊瑚共生藻 ITS rDNA，含細胞核內部分 18S 和部分 28S rDNA，序列總長度約 730 bp，扣除 18S rDNA 及 28S rDNA 片段序列，ITS rDNA 序列平均總長度介於 526-576 bp，包含 ITS1 區、5.8S 區和 ITS2 區。其中 ITS1 區平均長度介於 202-227

bp、ITS2 區介於 164-198 bp、5.8S rDNA 區則介於 156-158 bp 之間。序列最長的為 D 系群(576 bp)，最短為 A 系群(526 bp)。由於 ITS2 區鹼基變異較大，經去除 space 排序後共生藻 ITS rDNA 總長度為 547 bp。分析序列中 4 種鹼基比例，在全段 ITS rDNA 區間序列，各系群平均的 G+C 百分比分別為 47.5% (A 系群)、53.8% (B 系群)、54.2% (C 系群)及 52.9% (D 系群)，4 種共生藻系群的平均 G+C 百分比為 52.1%，經分析 5.8S rDNA 基因的 G+C 百分比介於 50.6-61.6%；ITS1 及 ITS2 區域之 G+C 百分比分別介於 47.7-55.8% 及 44.3-51.9% 之間(表 2)。

4 種珊瑚共生藻 ITS rDNA 區段之遺傳距離範圍約在 0.00-0.677 之間，系群內最小的遺傳距離值為 0.00 (data not shown)，最大的遺傳距離為 A 系群的 0.052 (S15-S28)。系群間遺傳距離最小的是 B 系群和 C 系群；遺傳距離值為 0.283 (S52-S58)。最大的是 A 系群和 D 系群，遺傳距離值為 0.677 (S15-S99) (表 3)。

以 neighbor-joining (NJ) 法及 maximum parsimony (MP) 法所建構的基因樹狀圖中，其系群的組成結構完全相同。在樹狀圖上，A 系群首先被分出來，B 系群與 C 系群互成姐妹群，再分出 D 系群，整體呈現了 [(B, C), D], A 的親緣結構(圖 2)。親緣樹狀圖上的 bootstrap 值皆高於 75%。為了探究共生藻單型的演化路徑，進一步利用 minimum spanning network，

表 2. 共生藻系群 ITS rDNA 區域序列平均長度與 GC 百分比

Table 2. Sequence sizes (bp) and G+C contents (%) of four *Symbiodinium* clades (A-D) of the ITS rDNA

<i>Symbiodinium</i> clade	ITS1		ITS2		5.8S		Total length	
	Size	G+C	Size	G+C	Size	G+C	Size	G+C
A	202	47.7	164	44.3	158	50.6	526	47.5
B	211	55.8	198	51.9	156	53.6	567	53.8
C	223	54.0	192	47.0	157	61.6	574	54.2
D	227	55.6	190	50.4	157	52.7	576	52.9



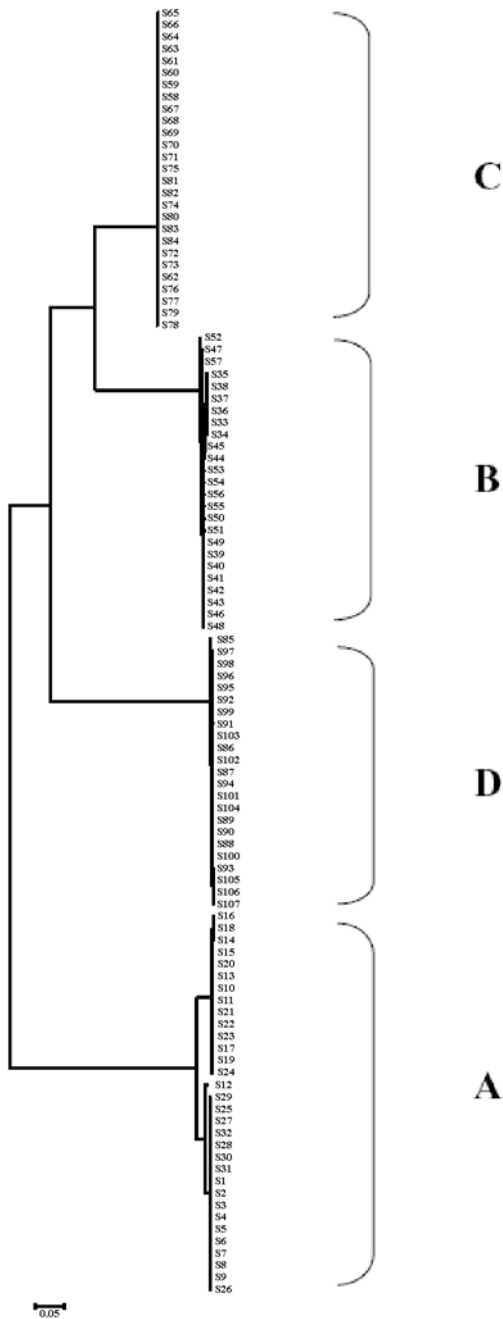


圖 2. 4 種共生藻系群 ITS rDNA 的 neighbor-joining 親緣樹狀圖。

Fig. 2. The neighbor-joining tree reconstructed from the ITS rDNA sequences of *Symbiodinium* (A-D, four major clades).

藉以追溯各單型間的親緣關係與演化路徑。從親緣網狀圖(圖 3)結果顯示，所有的單型可區分為 4 大型，其中 A 系群中 S1 等單型位於親緣網狀圖的中心位置，可能為 4 個系群的共生藻 ITS rDNA 區段中最古老的單型。

### 討 論

rDNA 在生物的蛋白質合成上扮演著重要的角色，影響著生物成長、發育及各項生理功能(Graves *et al.* 1994)。在本研究的共生藻中，ITS rDNA 序列平均長度為 561 bp，A 系群平均長度為 526 bp，明顯低於平均值。5.8S 基因區的序列長度介於 156-158 bp 之間(表 2)，5.8S 區域的平均基因相似度(similarity)有 76.6%，屬於保守的區域，但在 ITS1 與 ITS2 區域，不同系群間之序列長度及組成則有差異，5.8S 為具有功能性的 rDNA 部位，在功能限制(functional constraint)的壓力下受到高度保留，序列的變異有限，但是 ITS1 和 ITS2 區域因不受功能限制，隨著演化路徑加長，可保留較多的突變量，並致使 ITS rDNA 序列有加長的跡象。此現象在其他的生物中亦有存在(Gardes *et al.* 1991; Kasuga *et al.* 1993)。

ITS rDNA 序列之 G+C 百分比，在大多數的物種中存在 GC 平衡(GC balance)共同演化(coevolution)現象(Torres *et al.* 1990)。根據結果顯示(表 2)，各共生藻 ITS1 與 ITS2 有著相似的 G+C 百分比，符合 GC 平衡共同演化的現象。然 A 系群的 G+C 百分比低於 4 種共生藻系群的總平均值(52.1%)，B、C、D 系群 G+C 百分比明顯高於 A 系群。G+C 百分比的增加，可能是生物體對環境的一種適應現象(Nazar *et al.* 1987)。

本研究以 ITS rDNA 基因建構 4 種珊瑚共生藻系群的演化樹，結果顯示共生藻在演化樹中各自形成獨立的系群，整體的親緣關係呈現 [(B, C), D], A 的樹形結構，此結果與 nr18S、

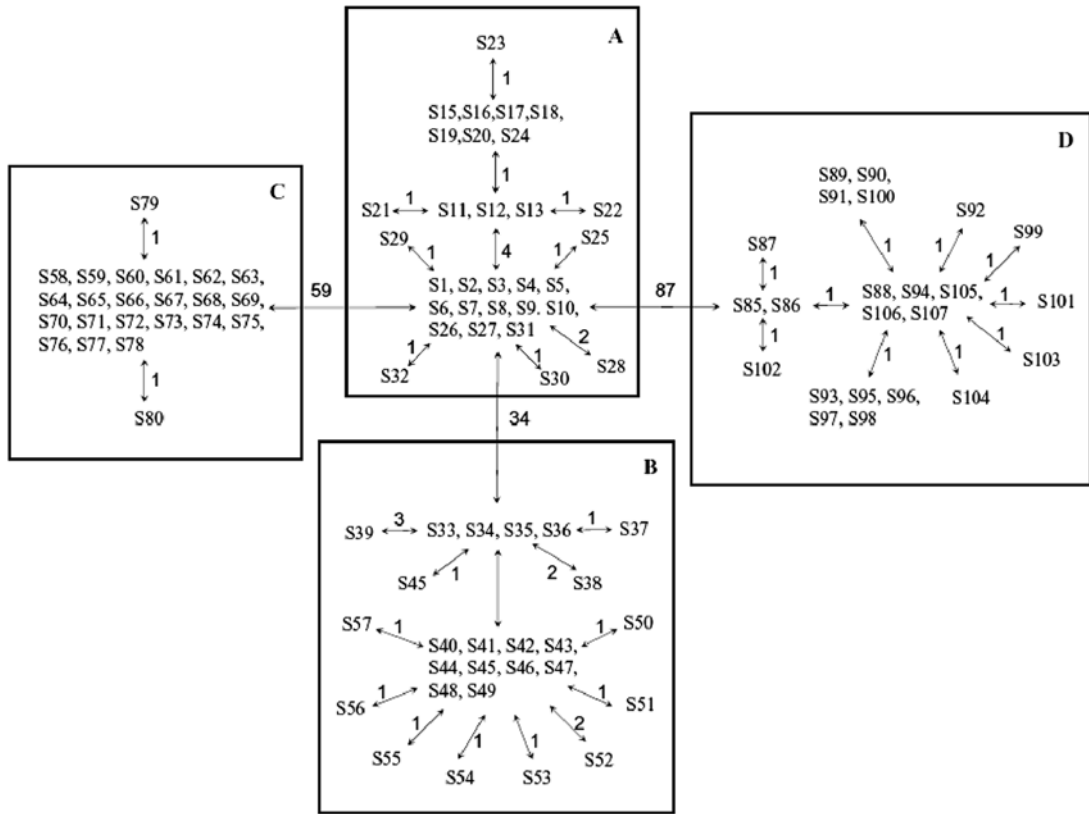


圖 3. 4 種共生藻系群 ITS rDNA 的親緣網狀圖。

Fig. 3. A minimum spanning network of four *Symbiodinium* clades (A to D) based on the ITS rDNA haplotypes.

nr28S 與 cp23S 所得的樹形圖完全一致(Santos *et al.* 2002; Pochon *et al.* 2006; Stat *et al.* 2008)。顯示此親緣關係的結構無論以核體 rDNA、ITS rDNA 或葉綠體的 rDNA 均有相同的支持度。但以葉綠體 *psbA* gene 分析時，卻呈現 [(C, D), B], A) 的樹形結構(Barbrook *et al.* 2006)，此可能是不同的分子標示在不同的物種內有不同的演化歷史所造成。然而在目前的研究中，無論以何種分子標示，均顯示出此 4 種珊瑚共生藻均為各自獨立的系群。

ITS rDNA 遺傳距離的分析結果顯示，在系群內的遺傳距離介於 0.00-0.052，在系群間的遺傳距離介於 0.683-0.677 (表 3)。系群內與系群間的遺傳距離並未有重疊現象，且系群間

彼此區隔有很高的遺傳距離。共生藻的 ITS1 區域曾被檢測出在系群間並無重組現象，並認為應達到「種」的分化層級(Mauricio 2003)，顯示 4 種共生藻系群間的遺傳分化相當明顯。

親緣網狀圖可提供物種可能的親緣模式及遺傳變異分布，其中位於網狀圖的邊緣位置為近代起源之單型(Golding and Taberlet 1994)，而存在於網狀圖內部位置者為古老的單型(Crandall and Templeton 1993)。由 ITS rDNA 所建構的親緣網狀圖顯示，A 系群可能為 4 種珊瑚共生藻系群中的古老型，B、C、D 系群由古老型的 A 系群擴展而來(圖 3)。

本研究的分析結果顯示，A 系群在 ITS rDNA 的序列長度及 G+C 百分比均低於 4 種共

生藻系群的平均值，而無論以何種分子標示所呈現的親緣樹狀圖，亦顯示A系群均位於共生藻的最外群，在共生藻的分歧演化(divergent evolution)中，顯示出A系群與其他系群有著特殊的演化軌跡。在共生藻與宿主的共生演化過程中，當共生藻進入宿主體內時，並非立刻就達到共生階段，而應是先有了寄生(parasitism)的起始階段(ancestral state)，經過了一段時間與宿主演化，進而達到互利共生(Holte *et al.* 2001)。A系群被認為存有寄生現象，而C系群則為互利共生關係(Stat *et al.* 2008; Stat and Gates 2008)。在本研究中 ITS rDNA 親緣網狀圖的分析顯示，A系群可能為古老型，而在親緣樹狀圖上，A系群為最外群，B、C、D系則群聚成一大類群，若C系群為互利共生，則B、D系群應與C系群有相似之功能。從nr28S與cp23S的分子時鐘推測，共生藻可能於50 MYA分歧出A系群與B、C、D系群的祖先型(Pochon *et al.* 2006)。因此，共生藻的演化，應是由早期的寄生關係，經過了長期的演化，進而形成了互利共生與多樣性系群。

## 引用文獻

- Baillie, B. K., C. A. Belda-Baillie and T. Maruyama. 2000. Conspecificity and Indo-Pacific distribution of *Symbiodinium* genotypes (Dinophyceae) from giant clams. *Journal of Phycology* 36: 1153-1161.
- Baker, A. C., C. J. Starger, T. M. McClanahan and P. W. Glynn. 2004. Coral reefs: Corals' adaptive response to climate change. *Nature* 430: 741.
- Baker, A. C. and R. Rowan. 1997. Diversity of symbiotic dinoXagellates (zooxanthellae) in scleractinian corals of the Caribbean and eastern Pacific. *Proceeding of the 8th International Coral Reef Symposium* 2: 1301-1306.
- Baldwin, B. G., M. J. Sanderson, J. M. Porter, M. F. Wojciechowski, C. S. Campbell and M. J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 247-277.
- Barbrook, A. C., S. Visram, A. E. Douglas and C. J. Howe. 2006. Molecular diversity of dinoflagellate symbionts of Cnidaria: The *psbA* minicircle of *Symbiodinium*. *Protist* 157: 159-171.
- Barneah, O., V. M. Weis, S. Perez and Y. Benayahu. 2004. Diversity of dinoflagellate symbionts in Red Sea soft corals: Mode of symbiont acquisition matters. *Marine Ecology Progress Series* 275: 89-95.
- Bellarosa, R., M. C. Simeone, A. Papini and B. Schirone. 2005. Utility of ITS sequence data for phylogenetic reconstruction of Italian *Quercus* spp. *Molecular Phylogenetics Evolution* 34: 355-370.
- Chen, C. A., K. K. Lam, Y. Nakano and W. S. Tsai. 2003. A stable association of the stress-tolerant zooxanthellae, *Symbiodinium* clade D, with the low-temperature-tolerant coral, *Oulastrea crispata* (Scleractinia: Faviidae) in subtropical non-reefal coral communities. *Zoological Studies* 42: 540-550.
- Chiang, T. Y. and B. A. Schaal. 2000. The internal transcribed spacer 2 region of the nuclear ribosomal DNA and the phylogeny of the moss family Hylocomiaceae. *Plant Systematics and Evolution* 224: 127-137.
- Crandall, K. A. and A. R. Templeton. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics* 134: 959-969.

- Diekmann, O. E., J. L. Olsen, W. T. Stam and R. P. M. Bak. 2003. Genetic variation within *Symbiodinium* clade B from the coral genus *Madracis* in the Caribbean (Netherlands Antilles). *Coral Reefs* 22: 29-33.
- Excoffier, L. and P. E. Smouse. 1994. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: Molecular variance parsimony. *Genetics* 136: 343-359.
- Excoffier, L., P. E. Smouse and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA data. *Genetics* 131: 479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gardes, M., T. J. White, J. A. Fortin, T. D. Bruns and J. W. Taylor. 1991. Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. *Canadian Journal of Botany* 69: 180-190.
- Golding, L. and P. Taberlet. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: Noncoding versus *rbcL* sequence. *Molecular Biology and Evolution* 11: 769-777.
- Goulet, T. L. and M. A. Coffroth. 2003. Stability of an octocoral-algal symbiosis over time and space. *Marine Ecology Progress in Series* 250: 117-124.
- Graves, D. J., B. L. Martin and J. H. Wang. 1994. Co- and Post- Translational Modification of Proteins: Chemical Principles and Biological Effects. Oxford University Press, New York.
- Hillis, D. M. and J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 41: 182-192.
- Holte, A., M. Houck and N. Collie. 2001. Potential role of parasitism in the evolution of mutualism in astigmatid mites: *Hemisarcoptes cooremani* as a model. *Experimental and Applied Acarology* 25: 97-107.
- Kasuga, T., C. Woods, S. Woodward and K. Mitchelson. 1993. *Heterobasidion annosum* 5.8S ribosomal DNA and internal transcribed spacer sequence: Rapid identification of European intersterility groups by ribosomal DNA restriction polymorphism. *Current Genetics* 24: 433-436.
- 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.
- LaJeunesse, T. C. 2001. Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: In search of a species level marker. *Journal of Phycology* 37: 866-880.
- Lewis, C. L. and M. A. Coffroth. 2004. The acquisition of exogenous algal symbionts by an octocoral after bleaching. *Science* 304: 1490-1492.
- Lobban, C. S., M. Schefter, A. G. B. Simpson, X. Pochon, J. Pawlowski and W. Foissner. 2002. *Maristentor dinoferus* n.gen. n.sp., a giant heterotrich ciliate (Spirotrichea: Heterotrichida) with zooxanthellae, from coral reefs on Guam, Mariana Islands. *Marine Biology* 140: 411-423.
- Mauricio, R. L. 2003. Evolving lineages of *Symbiodinium*-like dinoflagellates based on ITS1 rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28: 152-168.
- Nazar, R. N., W. M. Wang and J. L. Abrahamson.

1987. Nucleotide sequence of the 18-25S ribosomal RNA intergenic region from a thermophile, *thermomyces lanuginosus*. *Journal of Biological Chemistry* 262: 7523-7527.
- Pawlowski, J., M. Holzmann, J. F. Fahrni, X. Pochon and J. J. Lee. 2001. Molecular identification of algal endosymbionts in large miliolid foraminifera: 2. Dinoflagellates. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 48: 368-373.
- Pochon, X., T. C. LaJeunesse and J. Pawlowski. 2004. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*, Dinophyta). *Marine Biology* 146: 17-27.
- Pochon, X. and R. D. Gates. 2010. A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 492-497.
- Pochon, X., J. I. Montoya-Burgos, B. Stadelmann and J. Pawlowski. 2006. Molecular phylogeny, evolutionary rates, and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 20-30.
- Pochon, X., J. Pawlowski, L. Zaninetti and R. Rowan. 2001. High genetic diversity and relative specificity among *Symbiodinium*-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans. *Marine Biology* 139: 1069-1078.
- Reimer, J. D. and P. A. Todd. 2009. Preliminary molecular examination of zooxanthellate zoanthid (Hexacorallia: Zoantharia) and associated zooxanthellae (*Symbiodinium* spp.) diversity in Singapore. *The Raffles Bulletin of Zoology (Supplement)* 22 : 103-120.
- Reimer, J. D., K. Takishita, S. Ono, T. Maruyama and J. Tsukahara. 2006. Latitudinal and intracolony ITS-rDNA sequence variation in the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium* (Dinophyceae) in *Zoanthus sansibaricus* (Anthozoa: Hexacorallia). *Phycological Research* 54: 122-132.
- Reimer, J. D., S. Ono, J. Tsukahara, K. Takishita and T. Maruyama. 2007. Non-seasonal clade-specificity and subclade microvariation in symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* spp.) in *Zoanthus sansibaricus* (Anthozoa: Hexacorallia) at Kagoshima Bay, Japan. *Phycological Research* 55: 58-65.
- Rowan, R. 2004. Thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature* 430: 742.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 406-425.
- Santiago-Vazquez, L. Z., N. C. Newberger and R. G. Kerr. 2007. Cryopreservation of the dinoflagellate symbiont of the octocoral *Pseudopterogorgia eli sabethae*. *Marine Biology* 152: 549-556.
- Santos, S. R., D. J. Taylor, R. A. Kinzie 3rd, M. Hidaka, K. Sakai and M. A. Coffroth. 2002. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 97-111.
- Santos, S. R., C. Gutierrez-Rodriguez, H. R. Lasker and M. A. CoVroth. 2003. *Symbiodinium* sp. associations in the gorgonian *Pseudopterogorgia elisabethae* in the Bahamas: High levels of genetic variability and population structure in symbiotic dinoXagellates. *Marine Biology* 143: 111-120.
- Santos, S. R., T. L. Shearer, A. R. Hannes and M. A. Coffroth. 2004. Fine-scale diversity and specificity in the most prevalent lineage of

- symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*, Dinophyceae) of the Caribbean. *Molecular Ecology* 13: 459-469.
- Stat, M. and R. D. Gates. 2008. Vectored introductions of marine endisymbiotic dinoflagellates into Hawaii. *Biological Invasions* 10: 579-583.
- Stat, M., E. Morris and R. D. Gates. 2008. Functional diversity in coral-dinoflagellate symbiosis. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 105: 9256-9261.
- 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.
- Taylor, D. L. 1974. Symbiotic marine algae: taxonomy and biological fitness. pp. 245-262. *In*: W. B. Vernberg (ed). *Symbiosis in the Sea*. University of South Carolina Press, Columbia.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins. 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.
- Thornhill, D. J., T. C. Lajeunesse and S. R. Santos. 2007. Measuring rDNA diversity in eukaryotic microbial systems: How intragenomic variation, pseudogenes, and PCR artifacts confound biodiversity estimates. *Molecular Ecology* 16: 5326-5340.
- Torres, R. A., M. Ganal and V. Hemleben. 1990. GC balance in the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 of nuclear ribosomal RNA genes. *Journal of Molecular Evolution* 30: 170-181.
- Ware, J. R., D. G. Fautin and R. W. Buddemeier. 1996. Patterns of coral bleaching: Modeling the adaptive bleaching hypothesis. *Ecological Modelling* 84: 199-214.
- Xia, X. and Z. Xie. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity* 92: 371-373.

# Enhancement of Spermatogenesis from Spring Male Chorus for the Spectacled Toad *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799)

## 雄性黑眶蟾蜍春季的合唱鳴聲對於生精作用的強化現象

Chun-Fu Lin<sup>1,\*</sup>, Ta-Chun Yeh<sup>1</sup> and Kuang-Yang Lue<sup>2</sup>

林春富<sup>1,\*</sup> 葉大詮<sup>1</sup> 呂光洋<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> Department of Life Science, National Taiwan Normal University, Taipei, Taiwan

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

<sup>2</sup> 國立台灣師範大學生命科學系 台北市汀州路四段 88 號

\* Corresponding author: spring@tesri.gov.tw

\* 通訊作者：spring@tesri.gov.tw

### Abstract

The conspecific male chorus stimulation experiment was conducted for 33 days in the early breeding season in spring for the spectacled toad *Duttaphrynus melanostictus*, using 20 wild males captured shortly after their emergence from winter hibernation. The average number of sperm bundles of the test group (n=10) that received daily stimulation of male chorus was 56% higher than that of the control group (n=10) that did not have the chorus stimulation. Otherwise, there was no significant difference in food intakes, body condition (body lengths, and body, liver and fat body weights), and testicular size between the two groups after the experiment. The male chorus is not merely a vocal signal for attracting males and females for congregation, or a vocal warning in male-male competition and for territorial protection, but is also an acoustic stimulus that enhances spermatogenic activities to accelerate the sperm production for the reproductive success.

## 摘要

於春季初期，我們使用剛出現的 20 隻黑眶蟾蜍進行為期 33 天的雄蟾蜍鳴聲刺激實驗。雄蟾蜍在每天接受鳴聲刺激的實驗組(10 隻)中，其平均的精子束數目比沒有接受鳴聲刺激的實驗組(10 隻)，其精子束數目多出了 56%。除外，在鳴聲刺激與否的實驗後，於食物的取食量及身體條件狀況(如體長、體重、肝臟重及脂肪體重等)方面，實驗組與控制組間則無統計上的差異。兩棲類雄性的合唱鳴聲不只是吸引雄性與雌性聚集的訊號，或做為雄性間彼此競爭領域的警告之用，春季雄蟾蜍合唱鳴聲對於同種雄蟾蜍的聽覺刺激，也有強化其生精作用並加速精子的生成，以利後續生殖成功的作用。

**Key words:** spermatogenesis, advertisement call, male chorus, spectacled toad *Duttaphrynus melanostictus*

**關鍵詞：**生精作用、宣告叫聲、雄性合唱、黑眶蟾蜍

Received: February 9, 2010

Accepted: August 25, 2010

收件日期：99 年 2 月 9 日

接受日期：99 年 8 月 25 日

## Introduction

Many of the anuran calls have been defined and classified according to acoustic characters and related behaviors (Duellman and Trueb 1994). It has been generally considered that male calls are used as vocal signals for attracting females and intraspecific recognition, and as vocal warning or threatening in male-male competition (Duellman and Trueb 1994; Tobias *et al.* 2004). The male calls are also known as acoustic stimuli that maintain the reproductive state of ovaries for *Alytes muletensis* (Lea *et al.* 2001) and enhance secretion of androgen for *Rana sphenoccephala* (Chu and Wilczynski 2001) and *Hyla cinerea* (Burmeister and Wilczynski 2001). However, it still remained unclear whether male calls have any effects on spermatogenic activities of conspecific

males, though there is evidence that the calls enable males to maintain the reproductive status of the testes in *Rana temporaria* (Brzoska and Obert 1980).

Spectacled toad *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799) is a common tropical anuran distributed widely in Taiwan, southeastern China, Southeast Asia, and South Asia (Shieh 1993). In the central region of Taiwan, its spermatogenic cycle has been found to fluctuate seasonally in testicular sizes, spermatogenic activities, and plasma androgen levels. They rapidly increase in February, have a peak in March, and decline gradually in the rest of the year. The breeding season is suggested to be from middle February to May with a peak in March (Huang *et al.* 1997).

The courtship behavior of the spectacled toad is highly social; males congregate to emit

advertisement calls and form a chorus along the edges of quiet water ponds. An advertisement call usually lasts for 15-25 seconds. It has been regarded as a vocal warning to approaching males to protect its breeding territory, and at the same time it attracts both males and females for congregation at the breeding ground to increase the breeding success (Shieh 1993). Since our previous observations in the wild showed that the male chorus continued nearly for weeks prior to having an amplexus behavior in March. We tested whether the spring male chorus affects testicular sizes and spermatogenic activities of male spectacled toads.

## Materials and Methods

### Experimental toads

Spectacled toads were rarely found in the cold month of January, 2006. On 29 January to 2 February when the weather warmed up for a time, the toads suddenly emerged from their winter hibernation and started to call intermittently. We captured 75 male toads during this 4-day period at the Endemic Species Research Institute campus and its vicinity in the central Taiwan. They were immediately brought to the laboratory, and their snout-vent lengths were measured and body weights were taken. Twenty adult males with similar sizes were selected from the captures for the experiment. They were divided into two groups, the test group and the control group, each with 10 males. In order to avoid the body size difference between the two groups, ten pairs of almost equal sizes were selected. There were no significant differences in both body lengths and weights between the two groups (Table 1). Each male was kept in a terrarium (60×30×20 cm) with soil and gravel covered with dry leaves and a dish of water.

The experimental males of both groups were acclimated in the laboratory for three days. Each day the two groups were placed under ambient environments outside the laboratory for the day time, and transferred into two separate sound-proof rooms, one for the control group and the other for the test group, for the night. The rooms were mostly free from disturbance and were exposed to a natural photoperiod. Ten live mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) were provided in each terrarium as a daily ration. The number of the worms decreased in the following morning was recorded as the daily food intake for the day.

### Acoustic stimulus

In February of the previous year (2005), we recorded male chorus of spectacled toads with a Sony TC-D5M cassette tape recorder in the field where the experimental toads of this study were collected. The chorus had the fundamental frequency about 1.73 kHz, belonging to the typical spectral character of advertisement calls during the breeding season (Shieh 1993). The analog sound was transferred into the digital file with sampling frequency of 48 KHz and the sample size of 16 bits. It was used as the source of acoustic stimulus for this study.

### Acoustic experiment

Immediately after the acclimation, the acoustic stimulation experiment was conducted for 30 days, started on 5 February and ended on 8 March, 2006. The test group and the control group were placed under ambient environments outside the laboratory for the day time and in the separate sound-proof rooms for the night, and a daily ration of 10 mealworms, similar to the conditions used

for the acclimation.

During the experimental period, the digital file of male chorus was played in the room of the test group every night from 20:00 to 24:00 through a PC with the Windows Media Player software and two small speakers in front of the terraria at a sound pressure level of 75 dB at the distance of 1m to mimic the field condition.

A sound recorder (SONY IC Recorder) was set in the control group room to record if there were any calls or sounds made by the toads during both acclimation and experimental periods. Also, a same recorder was set in the room of the test group to record calls or sounds from the toads and the chorus from the speakers. The calls and sounds recorded were compared to the male chorus from the digital files to identify whether the test toads made chorus in response to the acoustic stimulus, or made any other particular calls or sounds.

### Data collection and analysis

At the end of the experiment period, for each of the toads, the snout-vent length was measured and the weight was taken. They were then anesthetized and dissected, and their livers and fat bodies were removed and weighed. Both testes were removed and were weighed individually, and the lengths and diameters measured. The averages of both testes were used in data analysis. Both testes were fixed in the Bouin's solution. Histological slides were made from the horizontal middle section of each of the testes at a thickness of 5  $\mu\text{m}$ . It was stained with hematoxylin and eosin solutions (H&E), following the standard histological slide preparation procedure (Ross *et al.* 1989). The slides were examined under a light microscope at a 100X magnification. Sperm bundles tubules was usually clustered, and the

number of sperm bundles in the seminiferous were counted. The bundles in both testes were averaged as the intensity of spermatogenic activity (Huang *et al.* 1997). The total number of mealworms consumed during the experimental period was computed by adding up the daily consumptions. Paired t-test was used to compare between the test group and the control group for each of the variables studied.

## Results and Discussion

It was observed that male toads of the control group were fairly quiet during the acclimation and experimental periods. They did not make chorus (advertisement calls) in the nights but occasionally made low and short sounds. These sounds might be regarded as vocal relieves to stress or fright caused by the daily handlings and unfamiliar terrarium environments. For the test group the male toads behaved fairly similar to that of the control group; they did not make chorus but only a few stress or fright sounds. They did not make vocal responses to the chorus stimulus.

Despite of the experimental conditions that might cause the stress to the experimental toads, the daily mealworm consumption averaged about 3 worms without significant difference between the test group and the control group ( $t=0.17$ ,  $df=9$ ,  $p=0.87$ ). Also, the snout-vent lengths ( $t=-1.65$ ,  $df=9$ ,  $p=0.13$ ) and body weights ( $t=-0.24$ ,  $df=9$ ,  $p=0.82$ ) of both groups at the end of the experiment were not significantly different (Table 1). Evidently, the food intakes of the toads were sufficient to maintain the body condition, and the acoustic stimulus did not affect both food consumption and body condition. Liver weights ( $t=-0.37$ ,  $df=9$ ,  $p=0.72$ ) and fat body weights ( $t=-0.21$ ,  $df=9$ ,

$p=0.84$ ) were also not affected by acoustic stimulus (Table 1). On the other hand, the acoustic stimulus affected significantly the spermatogenic activities ( $t=-4.34$ ,  $df=8$ ,  $p=0.002$ ) but not the testis sizes (weight,  $t=-1.15$ ,  $df=8$ ,  $p=0.28$ ; length,  $t=0.51$ ,

$df=8$ ,  $p=0.63$ ; diameter,  $t=-1.39$ ,  $df=8$ ,  $p=0.20$ ) (Table 1). The sperm bundles produced by the test group were 56% higher than those of the control group.

**Table 1.** A comparison of body lengths, body weights, liver weights, fat body weights, testes sizes, sperm bundles, and daily mealworms consumptions (mean  $\pm$  standard deviations; sample sizes in parentheses) of the experimental male spectacled toads between the control group and the test group

Variables	Control group	Test group
At the time of capture		
Snout-vent length (mm)	58.5 $\pm$ 7.8 (10)	58.8 $\pm$ 8.7 (10)
Body weight (g)	19.7 $\pm$ 6.8 (10)	19.5 $\pm$ 6.7 (10)
End of acoustic experiment		
Snout-vent length (mm)	58.9 $\pm$ 8.1 (10)	60.6 $\pm$ 8.6 (10)
Body weight (g)	22.5 $\pm$ 9.2 (10)	22.9 $\pm$ 7.0 (10)
Liver weight (mg)	787.8 $\pm$ 406.5 (10)	819.6 $\pm$ 239.0 (10)
Fat body weight (mg)	381.0 $\pm$ 249.7 (10)	358.0 $\pm$ 227.6 (10)
Mealworms consumption (30 days)	87.0 $\pm$ 34.2 (10)	84.5 $\pm$ 35.8 (10)
Testes weight <sup>1/</sup> (mg)	38.6 $\pm$ 16.9 (9)	42.8 $\pm$ 18.5 (9)
Testes length <sup>1/</sup> (mm)	11.3 $\pm$ 4.8 (9)	10.5 $\pm$ 2.0 (9)
Testes diameter <sup>1/</sup> (mm)	2.4 $\pm$ 0.8 (9)	2.7 $\pm$ 0.4 (9)
Number of sperm bundles <sup>2/</sup>	153.3 $\pm$ 79.7 (9)	239.6 $\pm$ 109.2 (9)

<sup>1/</sup> Average values of both testes of individuals.

<sup>2/</sup> Significant difference between the two groups at 1% level (paired t-test,  $p<0.01$ ).

The experimental period of this study corresponded to the early breeding season when male spectacled toads started gathering at water edges and emitting the advertisement calls. The sex ratio during this period was biased extremely toward males (Shieh 1993). The male chorus continued nearly for a month prior to having an amplexus behavior in March. Such a long period of the pre-mating male chorus can not be simply explained for attracting males and females for gathering or protecting their territories per se (Duellman and Trueb 1994; Tobias *et al.* 2004). The male calls are known to be one of the energetically most

expensive activities of ectothermic vertebrates (Taigen and Wells 1985; Pough *et al.* 1992; Emerson and Hess 2001). Continuous callings also cause frogs to expose themselves in dangers. Therefore, besides attraction, recognition or competition, the long period of male chorus before the arrival of females might have other biological significances. The results of this study suggest that the male chorus plays an important role in male reproductive cycle as an acoustic stimulus that enhances spermatogenic activities to accelerate the sperm production.

The acoustic stimulus caused the enhancement

of spermatogenic activities without affecting the testicular sizes for spectacled toads in spring (Table 1). Similar result was found in *Rana sphenocephalia* (Wilczynski and Chu 2001). However, the grass frog *Rana temporaria* exposed to conspecific calls in fall resulted in larger testes (Brzoska and Obert 1980). The above-mentioned difference in testicular growth to male chorus was explainable by the fact that the testicular development with different degrees of seasonal gonadal maturation (Wilczynski and Chu 2001). Male chorus increases testicular sizes in fall when the growth in size is in progress, and enhances spermatogenic activities in spring when the spermatogenesis is just in progress.

A pathway of auditory stimulus to testicular growth in anuran has been suggested to be through the tympanic membrane to the basal forebrain and then to the endocrine control center for GnRH secretion (Neary 1988; Wilczynski *et al.* 1993). Brzoska and Obert (1980) reported that acoustic signals influence the hormone production of testes in *Rana temporaria* and suggested that conspecific chorus could modulate sex steroid levels and thereby mediate the reproductive state of male frog by positive feedback. In this study, we speculated that the conspecific chorus stimulation might also cause the secretion of the male hormone that promotes the testicular maturity, and then lead the spermatogenesis to advance testes maturation.

### Literature Cited

- Brzoska, J. and J. M. Obert. 1980. Acoustic signals influencing the hormone production of the testes in the grass frog. *Journal of Comparative Physiology* 140: 25-29.
- Burmeister, S. S. and W. Wilczynski. 2001. Social context influences androgenic effects on calling in the green tree frog *Hyla cinerea*. *Hormones and Behavior* 40: 550-558.
- Chu, J. and W. Wilczynski. 2001. Social influences on androgen levels in southern leopard frog, *Rana sphenocephala*. *General and Comparative Endocrinology* 121: 66-73.
- Duellman, W. E. and L. Trueb. 1994. *Biology of Amphibians*. Johns Hopkins, London.
- Emerson, S. B. and D. L. Hess. 2001. Androgens, testis mass, and the energetics of vocalization in breeding male frogs. *Hormones and Behavior* 39: 59-69.
- Huang, W. S., J. Y. Lin and Y. L. Yu. 1997. Male reproductive cycle of the toad *Bufo melanostictus* in Taiwan. *Zoological Science (Japan)* 14: 497-503.
- Lea, J., M. Dyson and T. Halliday. 2001. Calling by male midwife toads stimulates female to maintain reproductive condition. *Animal Behaviour* 61: 373-377.
- Neary, T. J. 1988. Forebrain auditory pathways in ranid frogs. pp. 233-252. *In*: B. Frittsch, M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. Hetherington and W. Walkowiak (eds.). *The Evolution of the Amphibian Auditory System*. Wiley, New York.
- Pough, F. H., W. Magnusson, M. Ryan, K. Wells and T. Taigen. 1992. Behavioral energetics. pp. 395-436. *In*: M. Feder and W. Burggren (eds.). *Environmental Physiology of the Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago.
- Ross, M. H., E. J. Reith and L. J. Romrell. 1989. *Histology: A text and atlas*. Second edition. Williams and Wilkins, Maryland.
- Shieh, J. N. 1993. *The breeding ecology of Bufo melanostitus*. M. S. Thesis. Tunghai University, Taiwan, ROC. (in Chinese)

- Taigen, T. and K. Wells. 1985. Energetics of vocalizations by an anuran amphibian. *Journal of Comparative Physiology A* 155: 163-170.
- Tobias, M. L., C. Barnard, R. O'hagan, S. H. Horng, M. Rand and D. B. Kelley. 2004. Vocal communication between male *Xenopus Laevis*. *Animal Behaviour* 67: 353-365.
- Wilczynski, W., J. D. Allison and C. A. Marler. 1993. Sensory pathways linking social and environmental cues to endocrine control regions of amphibian forebrains. *Brain Behavior Evolution* 42: 252-264.
- Wilczynski, W. and J. Chu. 2001. Acoustic communication, endocrine control, and the neurochemical systems of the brain. pp. 23-35. *In*: M. J. Ryan (ed.). *Anuran Communication*. Smithsonian Press, Washington, DC.



# 台灣東北部山區湖沼水質與底棲無脊椎動物群聚之關係

## Relationships between Water Quality Variables and Benthic Invertebrate Assemblages in Mountain Ponds of Northeastern Taiwan

林斯正<sup>1</sup> 黃朝慶<sup>1</sup> 邱錦和<sup>2</sup> 楊平世<sup>3</sup> 謝森和<sup>4,\*</sup>

Sue-Cheng Lin<sup>1</sup>, Chao-Ching Huang<sup>1</sup>, Chin-Her Chiu<sup>2</sup>,  
Ping-Shih Yang<sup>3</sup> and Sen-Her Shieh<sup>4,\*</sup>

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

<sup>2</sup> 宜蘭社區大學 宜蘭縣宜蘭市復興路二段 77 號

<sup>3</sup> 國立台灣大學昆蟲學系 台北市羅斯福路四段 1 號

<sup>4</sup> 靜宜大學生態學系 台中縣沙鹿鎮中棲路 200 號

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> Yilan Community University, Yilan, Taiwan

<sup>3</sup> Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

<sup>4</sup> Department of Ecology, Providence University, Taichung, Taiwan

\* 通訊作者：shshieh@pu.edu.tw

\* Corresponding author: shshieh@pu.edu.tw

### 摘 要

本研究於 2002-2003 年每季在加羅湖群之撤退池、豪邁池、偉蛋池、加羅湖等 4 個池沼進行水質與底棲大型無脊椎動物調查，共記錄底棲大型無脊椎動物 2 綱 7 目 13 科 22 種(taxa) 14,719 隻，包括蜻蛉目 7 種、雙翅目 6 種、毛翅目 3 種、半翅目及鞘翅目各 2 種、貧毛綱及蜉蝣目各 1 種。其中，台灣大仰泳蟴(*Notonecta saramao*)與黃基蜻蛉(*Sympetrum speciosum taiwanum*)為台灣特有種。另外，以共構分析法(co-inertia analysis, CIA)探討水質因子與物種分布關係中，與腐水

性質相關之濁度、氨氮，以及與水體酸化相關之 pH 值、總硬度等水質因子，最能解釋底棲動物分布形式。其中，貧毛綱(*Oligochaeta*)建議作為低腐水池塘之生物指標，叉搖蚊(*Dicrotendipes* sp.)與四節蜉蝣(*Cloeon* sp.)作為水體酸性程度較低之生物指標。

## Abstract

A seasonal survey of water quality and benthic macroinvertebrates was conducted for a mountain lake Chia-Lo and three mountain ponds, Che-Tui, Hao-Mai, and Wei-Tan, in the northeastern Taiwan, 2002 to 2003. A total of 14,719 specimens of benthic macroinvertebrates were collected. They were consisted of 22 taxa, of that seven taxa belonged to Odonata, six taxa to Diptera, three taxa to Tricoptera, two taxa to each of Hemiptera and Coleoptera, and a taxon to each of Oligochaeta and Ephemeroptera. *Notonecta saramao* and *Sympetrum speciosum taiwanum* were found to be the endemic species. Relationships between the water quality and the benthic macroinvertebrate assemblages were assessed with the co-inertia analysis. The results showed that turbidity and ammonia were related to water saprobity, and pH and total hardness to water acidification. They were the most important water quality variables that explained the formation and distributional pattern of macroinvertebrate assemblages in the mountain ponds. Oligochaeta was recommended as a bio-indicator for the water saprobity, and *Dicrotendipes* sp. and *Cloeon* sp. for water acidification.

**關鍵詞：**加羅湖、山區湖沼、水質、底棲大型無脊椎動物、台灣

**Key words:** Chia-Lo Lake, mountain ponds, water quality, benthic macroinvertebrates, Taiwan

收件日期：99年8月10日

接受日期：99年10月19日

Received: August 10, 2010

Accepted: October 19, 2010

## 緒 言

分布在台灣海拔 1,500m 以上的山區湖沼，是相當珍貴且稀少的地理景觀，也是野生動植物重要的水源與棲地。由於山區湖沼景色優美，很早就有相關的踏查報告(吳 2002)，但因路途較遠交通不便，且一般需重裝備徒步前往，因此有關湖沼學研究並不多。少數有研究

報導的高山湖沼，包括：雪山翠池、七彩湖群、嘉明湖、天巒池、合歡翠池等海拔約 3,000m 高海拔湖沼(鹿野及吉村 1934; 大津等 1992a; Liew and Huang 1994; 羅等 1994; 陳等 1997; 顏等 1998; 林等 2006)，以及翠峰湖、鴛鴦湖、松嶺池群、大鬼湖(又名他羅瑪琳池)、小鬼湖(又名巴油池)等海拔 1,500-3,000m 中海拔湖沼(鹿野及吉村 1934; 大津等 1987, 1988, 1989,

1992b; 林及陳 1992)。

由於前人研究不多，且偏重水質(鹿野及吉村 1934; 大津等 1987, 1988, 1989, 1992a, 1992b; 林及陳 1992; 羅等 1994; 林等 2006)、底質(林及陳 1992; Liew and Huang 1994; 羅等 1994; 陳等 1997)與湖濱植物(大津等 1987, 1988, 1989; 羅等 1994; 顏等 1998)，有關底棲大型無脊椎動物報導較少。尤其是中海拔湖沼底棲無脊椎動物資料，比已有初步整理的高海拔湖沼(林等 2006)，更加不足，因此有必要加強這方面研究。為了解台灣中海拔湖沼底棲大型無脊椎動物生態，本研究選定湖沼數量頗多的台灣東北部宜蘭縣加羅湖群進行調查，目的在建立加羅湖群水質與底棲大型無脊椎動物基礎資料，並探討水質與無脊椎動物群聚的相關性。

## 材料與方法

加羅湖群位於宜蘭縣大同鄉與南澳鄉交界之加羅山(2,319m)附近，也就是給里洛山(2,792m)向北經加羅山到太平山間寬廣稜脈上，並已有 18 座大小池沼被發現並命名(陳及邱 2002)。本區氣候涼冷，依據李等(2003)報導加羅湖畔氣象站 2002 年資料顯示，最低溫 1 月的平均溫度為 6.0°C，最高溫 7 月的平均溫度為 15.1°C。在植被方面，過去本地多有有紅檜(*Chamaecyparis formosensis*)、台灣扁柏(*Chaemacyparis obtusa* var. *formosana*)、台灣鐵杉(*Tsuga chinensis* var. *formosana*)等高經濟林木，然因採伐作業，原有林木已不多見。現今所存喬木植物，多為人為更新或自然回復，並以紅檜及台灣鐵杉為多。

圖 1 為 4 個調查池沼位置。撤退池(Che-Tui Pond)(圖 2)是登山步道第一個遇到的水池，由於本池已漸淤積，水池大小端賴雨水豐沛而定，景觀有相當大差異。本調查期間皆僅存一充滿水生植物的狹長水窪。豪邁池(Hao-Mai Pond)(圖 3)位於撤退池東北方約 300m，黃褐

色湖水接近一般所稱的黑水塘。偉蛋池(Wei-Tan Pond)(圖 4)在豪邁池南方約 220m 處，此圓形水池長有很豐富的水生植物。湖面開闊的加羅湖(Chia-Lo Lake)(圖 5)，位於偉蛋池南方約 300m 處，為一東西走向的長形谷地蓄水而成。現場並曾以皮尺測量並計算湖形、周長及面積(表 1)。

水質與底棲大型無脊椎動物於 2002 年 9、12 月及 2003 年 3、6 月各採樣 1 次。湖沼水質是以 CYBERSCAN-310 酸鹼度計、CYBERSCAN-100 溶氧量計及 HACH-CO150 導電度計，配合調查行程於當日 9-13 時測量 pH 值、溶氧量(dissolved oxygen)、導電度(conductivity)、總溶解固體(total dissolved solids)與水溫。另取表水攜回實驗室分析，試水經孔徑 0.45  $\mu\text{m}$  玻璃纖維濾紙過濾後，分析懸浮固體(suspended solids)，並以硫酸滴定測量甲基橙總鹼度(total alkalinity)，EDTA 滴定法測量總硬度(total hardness)。濁度(turbidity)、氨氮(ammonia)、硫化物(sulfide)、總磷酸鹽(total phosphorus)、總凱氏氮(total Kjeldahl nitrogen)及化學需氧量(chemical oxygen demand)則依 HACH DR/2000 水質分析儀之操作程序測定。生物樣品是以半徑 10 cm、長 50 cm 之圓形塑膠採樣筒，每次取樣在水深約 30 cm 處的底質，隨機取 10 cm 深的底質樣品 4 重複，分析時則將此 4 樣品合併為一個生物樣品。底質樣品經 0.5 mm 網目篩出大型無脊椎動物後，先經 5% 福馬林固定再攜回。攜回的樣品先以水清洗，再以肉眼由採集物中挑出動物標本，標本經鑑定後置入 80% 酒精保存。底棲大型無脊椎動物分類主要參考 Wiederholm (1983)、林(1999)等。

底棲大型無脊椎動物樣品在顯微鏡下鑑定種類，並計算種數、密度、多樣性指數(Shannon-Wiener's index,  $H'$ )與均勻度指數(Pielou's evenness index,  $e$ )。多樣性指數公式為： $H' = -\sum_{i=1}^S P_i \log_{10} P_i$ ， $P_i$  為第  $i$  種所占隻數比例， $S$  為種數。均

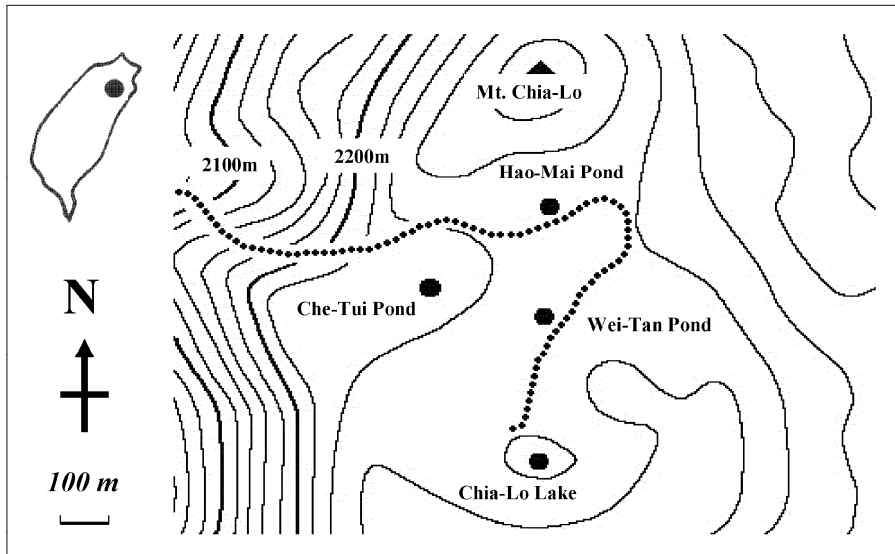


圖 1. 加羅湖、撤退池、豪邁池與偉蛋池位置圖(實心圓形代表湖沼樣點，曲線代表等高線，虛線代表步道)。

**Fig. 1.** Locations of Chia-Lo Lake, and Che-Tui, Hao-Mai and Wei-Tan ponds (solid circles) in the northeastern Taiwan (solid lines, contour lines; dotted line, footpath).



圖 2. 撤退池。

**Fig. 2.** Che-Tui Pond.



圖 3. 豪邁池。  
Fig. 3. Hao-Mai Pond.



圖 4. 偉蛋池。  
Fig. 4. Wei-Tan Pond.



圖 5. 加羅湖。

Fig. 5. Chia-Lo Lake.

表 1. 撤退池、豪邁池、偉蛋池、加羅湖之簡稱、海拔高度、湖形、周長與面積

Table 1. Abbreviations, elevations, shapes, shoreline lengths and surface areas of Chia-Lo Lake, Che-Tui, Hao-Mai and Wei-Tan ponds

Site	Che-Tui	Hao-Mai	Wei-Tan	Chia-Lo
Abbreviation	CT	HM	WT	CL
Elevation (m)	2,213	2,243	2,259	2,246
Shape	Narrow	Oblong	Orbicular	Triangular
Shoreline (m)	26	57	75	313
Surface (m <sup>2</sup> )	30	80	280	2700

勻度指數公式為： $e=H/\log_{10} S$ ， $H$  為多樣性指數， $S$  為種數。

水質與底棲無脊椎動物分布相關性方面，由於兩者關係常無法預先研判，且水質間又有程度不等的交互作用，僅用少數水質特徵研判可能較不適合，多變量分析之排序技術(ordination techniques)是近來漸被採用的方法。本

研究先以降趨對應分析(detrended correspondence analysis, DCA)進行試算，結果顯示生物群聚梯度在DCA前二軸的長度分別為 1.8 及 1.5 標準偏差(standard deviation, SD)，皆小於 2 SD，故選用適合線性模式的主成分分析法(principal components analysis, PCA)進行後續分析(ter Braak 1995; 許及李 2003)。在群聚資料的PCA

分析中，為降低優勢物種對排序分析影響，群聚資料皆經 $\log_{10}(X+1)$ 轉換。此外，因稀有種會干擾排序結果，群聚分析僅使用至少在2個樣區出現且總豐度大於1%的17個物種。其次，在環境資料的PCA分析方面，14項水質資料皆經標準化轉換(normalized transformation)後分析。生物資料與環境因子資料分別經PCA分析後，再以共構分析法(co-inertia analysis, CIA)將生物與環境兩組經PCA分析結果整合連結在一起，並使它們的變異與相關最大，以獲得這兩組資料的共同結構(co-structure)(Doledec and Chessel 1994; Dray *et al.* 2003)。在生物與環境資料間共同結構最佳表達方式上，可將環境資料與相對生物資料的CIA值繪在CIA第1與第2軸的平面上，並以箭將此兩點連接在一起，箭的長度即代表共同結構強度，長度愈短代表生物資料與環境資料間結構愈一致，長度愈長則愈不一致。以上多變量分析主要使

用 ADE-4 套裝軟體進行運算繪圖(Thioulouse *et al.* 1997)。

## 結 果

表 2 為 4 個池沼水質在 4 次調查的平均值，其中水溫介於 14.6-16.5°C，溶氧量介於 3.3-4.4 mg/l，pH 介於 4.5-5.2 之間。導電度介於 8.9-16.4  $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、總溶解固體介於 4-8 mg/l、總硬度介於 1.1-2.0 mg/l、總鹼度介於 2.1-3.5 mg/l。氨氮與硫化物的濃度在加羅湖最低，分別為 0.12 mg/l 與 2  $\mu\text{g}/\text{l}$ ，豪邁池最高，分別為 1.56 mg/l 與 9  $\mu\text{g}/\text{l}$ ，而且有較大數值變動。在總磷酸鹽、總凱氏氮、濁度、懸浮固體及化學需氧量方面，加羅湖除了總磷酸鹽、懸浮固體外，其他皆呈現最低值。相反地，豪邁池的值皆最高，而且有較大的變動。

**表 2.** 撤退池、豪邁池、偉蛋池、加羅湖水質 (abbr. 代表簡寫；mean $\pm$ SD， $n=4$ )

**Table 2.** Water quality measurements (mean $\pm$ standard deviations,  $n=4$ ) at Chia-Lo Lake, and Che-Tui, Hao-Mai and Wei-Tan ponds, 2002-2003 (abbr., abbreviation)

Water quality variables	Abbr.	Che-Tui	Hao-Mai	Wei-Tan	Chia-Lo
Water temperature (°C)	Temp	14.6 $\pm$ 4.6	16.2 $\pm$ 5.6	16.4 $\pm$ 6.7	16.5 $\pm$ 6.9
Dissolved oxygen (mg/l)	DO	4.4 $\pm$ 1.4	3.3 $\pm$ 1.0	3.9 $\pm$ 1.9	4.0 $\pm$ 1.3
pH	pH	4.6 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.2
Conductivity ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Cond	10.5 $\pm$ 0.2	16.4 $\pm$ 14.1	8.9 $\pm$ 0.8	9.2 $\pm$ 1.7
Total dissolved solids (mg/l)	TDS	5 $\pm$ 0	8 $\pm$ 7	4 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1
Total hardness (mg/l)	Hard	1.2 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 1.1
Total alkalinity (mg/l)	Alk	3.4 $\pm$ 0.9	2.9 $\pm$ 1.5	2.1 $\pm$ 0.6	3.5 $\pm$ 0.8
Ammonia (mg/l)	Am	0.34 $\pm$ 0.15	1.56 $\pm$ 1.98	0.26 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.04
Sulfide ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	Sul	3 $\pm$ 2	9 $\pm$ 11	4 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2
Total phosphorus (mg/l)	TP	0.18 $\pm$ 0.08	0.24 $\pm$ 0.14	0.11 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.03
Total Kjeldahl nitrogen (mg/l)	TKN	2.5 $\pm$ 1.0	4.1 $\pm$ 3.5	2.3 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 0.5
Turbidity (FTU)	Tur	14 $\pm$ 4	47 $\pm$ 50	12 $\pm$ 2	6 $\pm$ 2
Suspended solids (mg/l)	SS	6.8 $\pm$ 6.2	7.8 $\pm$ 7.7	3.6 $\pm$ 3.6	5.5 $\pm$ 4.8
Chemical oxygen demand (mg/l)	COD	27 $\pm$ 18	50 $\pm$ 47	30 $\pm$ 20	8 $\pm$ 5

底棲大型無脊椎動物共採獲昆蟲綱(Insecta)、貧毛綱(Oligochaeta)等 2 綱 7 目 13 科 22 種(taxa) 14,719 隻。其中昆蟲綱蜻蛉目(Odonata)計 7 種，占總種類數的 31.8%，雙翅目(Diptera) 6 種(31.8%)，毛翅目(Trichoptera) 3 種(13.6%)，半翅目(Hemiptera)、鞘翅目(Coleoptera)皆 2 種(各占 9.1%)，貧毛綱、蜉蝣目(Ephemeroptera)皆 1 種(各占 4.5%)。就數量比較，雙翅目 11,618 隻最多，占總隻數的 78.93%，貧毛綱 2,080 隻(14.13%)，蜉蝣目 608 隻(4.13%)，蜻蛉目 184 隻(1.25%)，鞘翅目 171 隻(1.16%)，毛翅目 53 隻(0.36%)，半翅目 5 隻(0.03%)。就各類而言，搖蚊科之叉搖蚊(*Dicrotendipes* sp.) 5,444 隻最多，次為素搖蚊(*Polypedilum* sp.) 3,458 隻，貧毛綱 2,080 隻，原搖蚊(*Procladius* sp.) 1,528 隻，搖蚊(*Chironomus* sp.) 1,101 隻，此 5 類占總隻數的 92.12%。

表 3 為 4 個池沼 22 種底棲大型無脊椎動物總調查量，其中貧毛綱、四節蜉蝣(*Cloeon* sp.)、扶桑蜻蜓(*Orthetrum japonicum internum*)、篩板沼石蛾(*Limnephilus* sp.)、豆龍蝨(*Agabus fulvipennis*)、東方黃緣龍蝨(*Cybister tripunctatus orientalis*)、搖蚊、素搖蚊與原搖蚊等 8 種在 4 個池沼皆有紀錄，為本調查常見種類。昧影細蟴(*Ceriatrion fallax fallax*)、青紋絲蟴(*Lestes cyaneus*)、黃基蜻蜓(*Sympetrum speciosum taiwanum*)、叉搖蚊、粗腹搖蚊(*Pentaneura* sp.) 等 5 種只在其中的 3 個池沼發現。褐紋石蛾(*Oligotricha* sp.) 只在豪邁池與偉蛋池 2 個池沼發現。而奇異沼石蛾(*Limnephilus alienus*)與台灣大仰泳蟴(*Notonecta saramao*) 只在豪邁池與加羅湖 2 個池沼發現。泰雅晏蜓(*Aeshna petalura taiyal*)、烏帶晏蜓(*Anax nigrofasciatus*)、灰黑蜻蜓(*Orthetrum melania*)、大水黽(*Aquarius elongatus*)、斑翅家蚊(*Culex mimeticus*)等 5 種僅在 1 個池沼中發現。

4 個池沼中，撤退池計調查到底棲大型無脊椎動物 2 綱 7 目 9 科 13 種 5,529 隻，豪邁池

2 綱 7 目 9 科 16 種 2,750 隻，偉蛋池 2 綱 6 目 11 科 17 種 566 隻，加羅湖 2 綱 7 目 9 科 15 種 5,874 隻(表 3)。底棲大型無脊椎動物群聚特徵上，4 個池沼在種數、多樣性指數與均勻度指數方面較接近，但密度方面差異較大(表 4)。

共構分析法(CIA)結果顯示，CIA 第 1 與第 2 軸分別解釋總變異的 60.4%、25.4%。第 1 軸主要與氨氮、硫化物與濁度等呈正相關，而與總鹼度、溶氧量等呈負相關(圖 6)。第 2 軸主要與總硬度及 pH 呈強負相關，與化學需氧量、懸浮固體、溫度呈弱正相關。在生物資料方面，粗腹搖蚊、奇異沼石蛾、昧影細蟴、素搖蚊、扶桑蜻蜓等與第 1 軸呈正相關(圖 7)，即這些物種在硫化物、氨氮與濁度較高下有較大豐度。貧毛綱與第 1 軸呈負相關，即在硫化物、氨氮與濁度較低，以及溶氧量較高的採樣站有較多數量。大多數的底棲大型無脊椎動物與第 2 軸不呈正相關，只有台灣大仰泳蟴及青紋絲蟴與第 2 軸呈些許的正相關。叉搖蚊、四節蜉蝣則與第 2 軸呈現較強的負相關，顯示在總硬度及 pH 較高情況下有較大豐度。

在生物資料與環境資料間的共同結構強度上，由於偉蛋池生物資料與環境資料間，箭的長度最短，因此共構程度較其他 3 個湖泊一致(圖 8)。就生物資料而言，位於 CIA 的第 1 軸右方之偉蛋池、豪邁池與其左方之撤退池、加羅湖，其生物資料的變異主要在貧毛綱上的變異。位於 CIA 的第 1 軸上方之撤退池、偉蛋池與其下方之豪邁池、加羅湖，其生物資料的變異主要在叉搖蚊與四節蜉蝣上的變異。此外，加羅湖與偉蛋池兩湖排序分布較撤退池與豪邁池為聚集，顯示群聚結構在季節間的變異上，加羅湖與偉蛋池較撤退池與豪邁池為小。就環境資料而言，偉蛋池在排序分布較其他 3 個湖為聚集，顯示偉蛋池的環境變數在季節上的變異較其他 3 個湖為小。而且豪邁池的排序分布分散在第 1 軸，表示其環境的變異主要在硫化物、氨氮與濁度上的變異。加羅湖與撤退池

表 3. 撤退池、豪邁池、偉蛋池、加羅湖之底棲大型無脊椎動物總調查量(abbr.代表簡寫) (單位：隻/16 個樣本，1 個樣本=314 cm<sup>2</sup>)

Table 3. Total number of individual benthic macroinvertebrates from 16 samples, each 314 cm<sup>2</sup>, collected at Chia-Lo Lake, and Che-Tui, Hao-Mai and Wei-Tan ponds, 2002-2003 (abbr., abbreviation)

Taxa	abbr.	Che-Tui	Hao-Mai	Wei-Tan	Chia-Lo
Oligochaeta	Oc	1455	2	1	622
Ephemeroptera					
<i>Cloeon</i> sp.	Cl	10	263	23	312
Odonata					
<i>Ceriagrion fallax fallax</i>	Cf	12	5	8	
<i>Lestes cyaneus</i>	Lc	4		2	1
<i>Aeshna petalura taiyal</i>	Ap			1	
<i>Anax nigrofasciatus</i>	An				1
<i>Sympetrum speciosum taiwanum</i>	Ss		1	1	1
<i>Orthetrum japonicum internum</i>	Oj	4	83	33	26
<i>Orthetrum melania</i>	Om		1		
Trichoptera					
<i>Limnephilus alienus</i>	La		1		1
<i>Limnephilus</i> sp.	Li	11	10	22	2
<i>Oligotricha</i> sp.	Ol		2	4	
Hemiptera					
<i>Aquarius elongates</i>	Ae	1			
<i>Notonecta saramao</i>	Ns		3		1
Coleoptera					
<i>Agabus fulvipennis</i>	Af	57		5	2
<i>Cybister tripunctatus orientalis</i>	Ct	4	48	25	30
Diptera					
<i>Chironomus</i> sp.	Ch	909	109	63	20
<i>Polypedilum</i> sp.	Po	2888	366	130	74
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Di		1299	8	4137
<i>Procladius</i> sp.	Pr	110	547	227	644
<i>Pentaneura</i> sp.	Pe	64	10	11	
<i>Culex mimeticus</i>	Cm			2	
Total		5529	2750	566	5874

表 4. 撤退池、豪邁池、偉蛋池、加羅湖底棲大型無脊椎動物種數、密度、多樣性指數、均勻度指數 (mean±SD,  $n=4$ )

Table 4. Number of taxa, density, diversity, and evenness (mean±standard deviations,  $n=4$ ) of benthic macroinvertebrates sampled at Chia-Lo Lake, and Che-Tui, Hao-Mai and Wei-Tan ponds, 2002-2003

Lake and ponds	No. of taxa	Diversity ( $H$ )	Evenness ( $e$ )	Density (no./ m <sup>2</sup> )
Che-Tui	8.8±1.5	0.52±0.15	0.56±0.17	11005.5±9117.6
Hao-Mai	10.5±1.3	0.68±0.07	0.67±0.10	5473.9±4334.9
Wei-Tan	11.5±2.4	0.71±0.07	0.68±0.08	1126.6±162.1
Chia-Lo	9.8±1.7	0.43±0.06	0.44±0.09	11692.2±3199.2

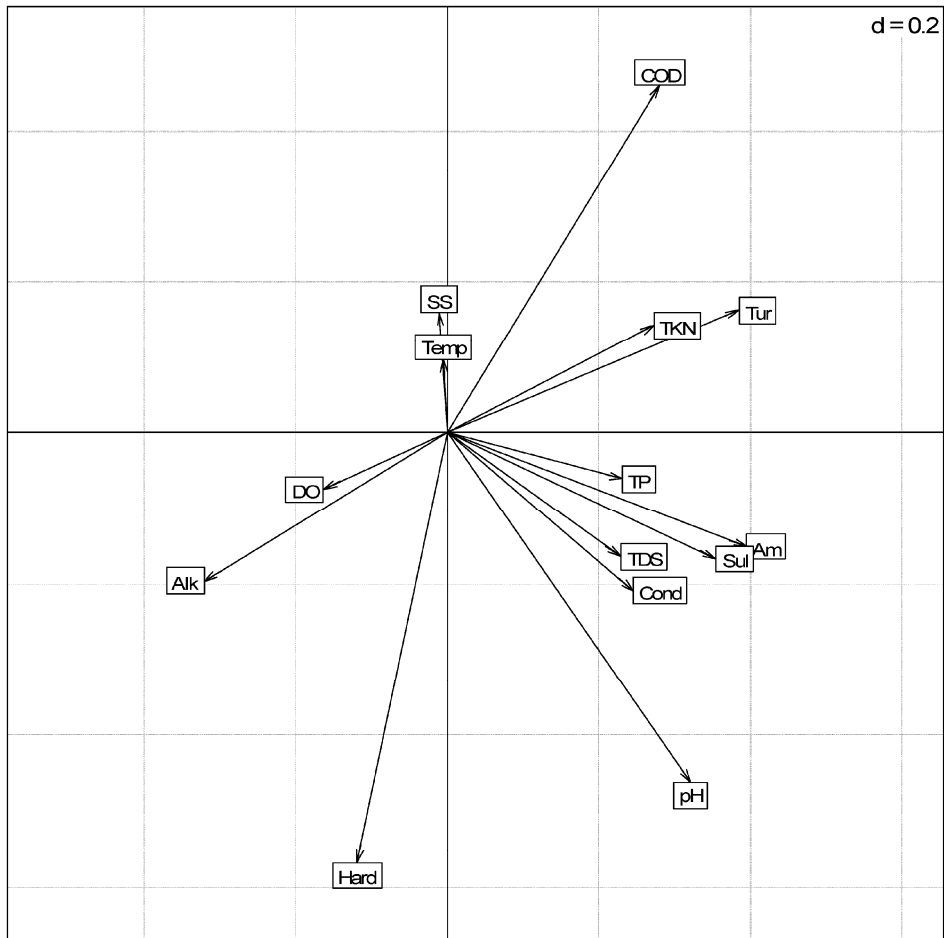


圖 6. 台灣東北部 4 個山區湖沼 4 個採樣日的 14 個環境因子在 CIA 前 2 軸之分布排序圖(環境因子之簡寫見表 2)。

Fig. 6. Ordinations of 14 environmental variables of 4 mountain lake and ponds in northeastern Taiwan, 2002-2003 (co-inertia analysis) (abbreviations of environmental variables denoted to Table 2).

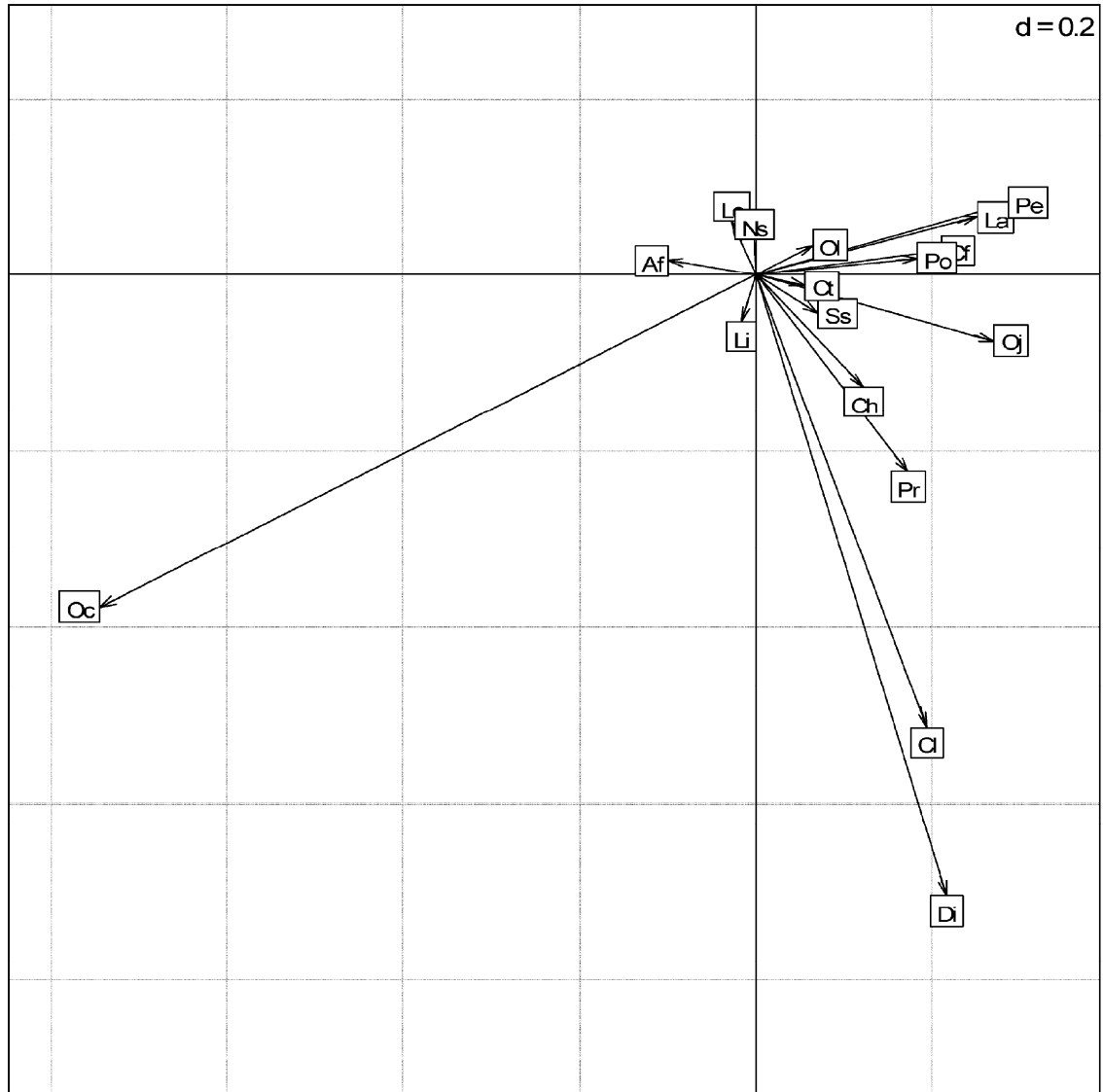


圖 7. 台灣東北部 4 個山區湖沼 4 個採樣日的 17 種底棲動物在 CIA 前 2 軸之分布排序圖(物種之簡寫見表 3)。

**Fig. 7.** Ordinations of 17 taxa of benthic macroinvertebrates collected from 4 mountain lake and ponds in northeastern Taiwan, 2002-2003 (co-inertia analysis) (abbreviations of macroinvertebrate taxa denoted to Table 3).

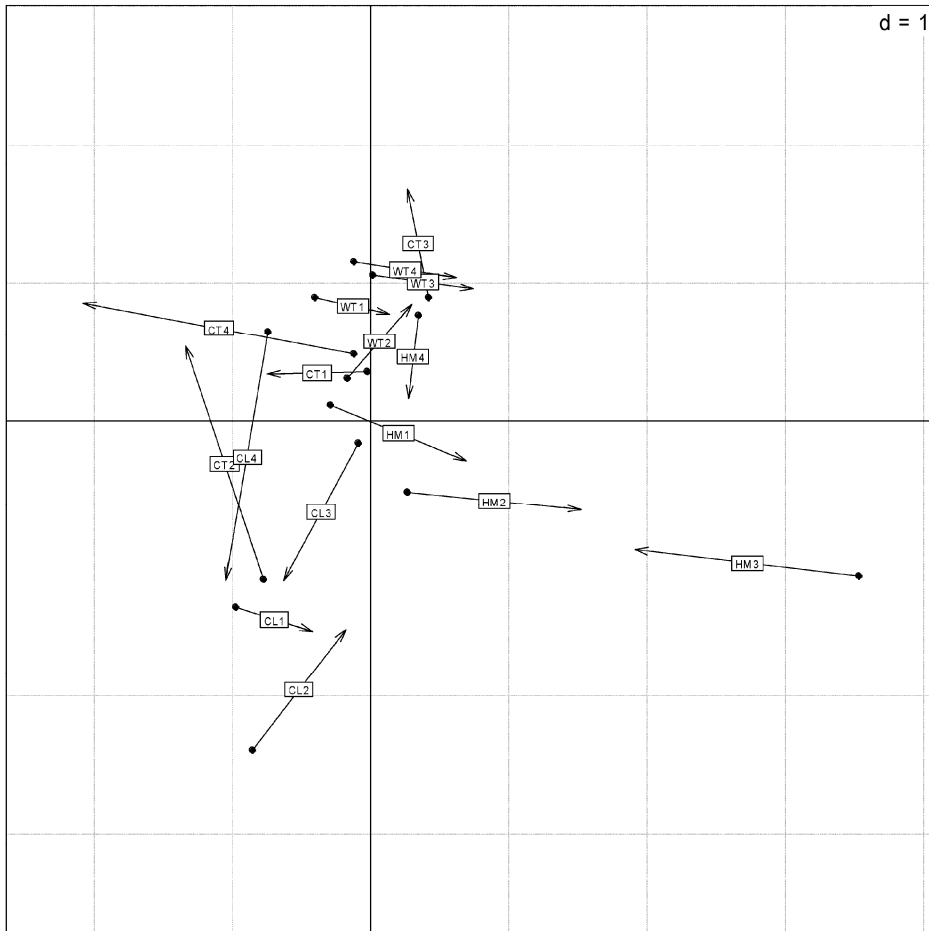


圖 8. 共構分析中第 1 軸與第 2 軸，環境資料與大型無脊椎動物資料共構的標準化值。箭連接了環境資料的標準化值(箭的起始點)與大型無脊椎動物資料的標準化值(箭頭) (池沼之簡寫見表 1；數字 1-4 分別代表秋、冬、春、夏 4 個季節)。

**Fig. 8.** Standardized co-inertia scores of the environmental and macroinvertebrate data projected onto the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> axes of co-inertia analysis (arrows linked between environmental scores (arrowtails) to macroinvertebrate scores (arrowheads)) (abbreviations of ponds denoted to Table 1; numbers 1 to 4, respectively, autumn, winter, spring and summer).

兩湖的排序分布分散在第 2 軸，表示其環境的變異主要在總硬度及 pH 上的變異。

## 討 論

林等(2006)報導台灣中部海拔 2,900-3,200m

合歡山區天巒池等 8 個池沼底棲大型無脊椎動物 7 目 8 科 17 種，與本調查加羅湖等 4 個池沼 7 目 13 科 22 種相比，種類數接近。可能本地氣候仍較寒冷且冬季有降雪現象，故只有少數適應的種類才能生存。其次，在合歡山區與加羅湖群區都有調查紀錄的 9 種底棲動物中，素

搖蚊、搖蚊、原搖蚊、豆龍蟲為兩地常見種類。泰雅晏蜓、奇異沼石蛾較常見於合歡山區，貧毛綱、四節蜉蟬、叉搖蚊較常見於加羅湖區，褐紋石蛾則皆不常見。其次，與較低海拔湖沼相比，劉及林(1992)報導海拔 1,050m 宜蘭南澳神秘湖水生動物，計有豌豆蜆(*Pisidium casertanum*)等螺貝類 9 種，水棲昆蟲 9 目 36 科約 50 種，比起中、高海拔山區湖沼的底棲動物，種類明顯複雜許多。在屬級及種級分類水平上，兩地亦有若干共通種，包括黃細蟴屬(*Ceragrion* sp.)、絲蟴屬(*Lestes* sp.)、綠晏蜓屬(*Anax* sp.)、赤蜻屬(*Sympetrum* sp.)及東方黃綠龍蟲等。因此，加羅湖群底棲無脊椎動物兼有合歡山池群及神秘湖部分種類。

就池沼水質方面，由於 4 個池沼水質調查數值接近，並不易由表 2 直接看出水質項目差異。比較值得注意的是豪邁池的氨氮、硫化物、總磷酸鹽、總凱氏氮、濁度及化學需氧量等，比其他 3 個池沼有更大變異。此因 2003 年 3 月水質調查中，與毒性物質及有機物有關水質項目較其他 3 次測值高出許多，包括氨氮濃度高達 4.5 mg/l、總凱氏氮 9.16 mg/l、化學需氧量 119 mg/l，其原因為季節性變化或有機物偶然匯入或其他因素，仍待後續監測調查。

水質與底棲無脊椎動物分布相關性方面，林等(2006)曾以典型對應分析法(canonical correspondence analysis, CCA)將合歡山池群依有機物消費分解之異營性(heterotrophy)程度，區分為貧、中、富等 3 腐水型(saprobity)。本研究中，由於 CIA 第 1 軸也與有機物消費分解有關的水質因子，如氨氮、硫化物及濁度等呈正相關，而與溶氧量呈負相關，顯示 CIA 第 1 軸亦代表有機物堆積分解的程度，即其腐水性質。故在 CIA 第 1 軸最右方的豪邁池，污濁程度最高，湖水黃褐至深褐色，接近一般登山界所稱的黑水塘或紅茶池。在 CIA 第 1 軸右方對應耐污力強的物種，包括粗腹搖蚊、奇異沼石蛾、素搖蚊、扶桑蜻蜒等。反之，CIA 第 1 軸

左方的加羅湖與撤退池，污濁程度較低，故對應到耐污力弱物種，如貧毛綱。其次，由 CIA 第 2 軸主要與代表水中  $\text{Ca}^{2+}$  與  $\text{Mg}^{2+}$  等鹼土族陽離子的總硬度及 pH 有較強負相關，顯示 CIA 第 2 軸代表湖沼酸化程度(acidification)。即 CIA 第 2 軸上方之撤退池、偉蛋池，湖水酸化程度較高，惟於生物資料上，無明顯對應到的物種。在 CIA 第 2 軸下方之豪邁池、加羅湖，湖水酸化程度較低，主要對應耐酸力弱物種，如叉搖蚊及四節蜉蟬。

由於水體採樣較容易，在過去高山湖泊調查中，這方面資料較為豐富。其中對於鹼性離子與鹼度不足所產生湖水變酸的湖沼酸化現象，以及有機物堆積分解所帶來腐植化(humification)現象，已有不少討論(鹿野及吉村 1934; 大津等 1992a, 1992b; 林及陳 1992; 羅等 1994; 林等 2006)。本研究中，加羅湖群在 CIA 第 1、2 軸上的分布形式，恰可由前人所歸納的腐水性質與湖沼酸化程度等二方面加以解釋，並由 CIA 第 1、2 軸對應到的物種，建議貧毛綱作為低腐水性質之生物指標，叉搖蚊與四節蜉蟬作為湖沼酸化程度較低之生物指標。後續可進行水質耐受試驗，評估作為湖沼水質生物指標的適切性。

湖沼腐植化與酸化是一個漸進而複雜過程，湖盆有機物堆積分解所產生的腐植質(humic substance)、腐植酸(humic acids)、黃酸(fulvic acids)，以及周圍植被、水草吸收  $\text{Ca}^{2+}$  與  $\text{Mg}^{2+}$  等鹽類而釋出  $\text{H}^{+}$  等，都會造成水體腐植化與酸化。在未進行深入研究前，實難闡明加羅湖群在 CIA 第 1、2 軸分布形式的原因，惟現場觀察，加羅湖、豪邁池、偉蛋池、撤退池之植被演替與陸化過程(territorial process)，頗吻合其在 CIA 前二軸所呈現的分布形式。例如，面積最大的加羅湖，底質以砂泥為主，有機碎屑少，湖水清澈，水生植物不多，僅有少數水毛花(*Schoenoplectus mucronatus robustus*)分布在淺水區，屬於演替較初期湖沼。面積次大的豪

邁池，由於底質已有有機物的大量堆積、分解，所以池底與水體富含有機碎屑，為明顯的腐植型池沼。此外，由於豪邁池水深較深，水生植物不多，僅水岸邊有少量的水毛花。面積小且深度淺的偉蛋池，底質除枯枝落葉等有機碎屑外，並附著大量可生存於較酸性水域的泥炭苔(*Sphagnum* sp.) (Szankowski and Klosowski 2004)等濕生植物(hygrophytic plant)，顯示本地已屬湖沼演替較後期階段。由於偉蛋池深度較淺，水體內的有機物可能易於在溶氧較多水層分解，因此水質較豪邁池清澈許多。近乎淤積的撤退池，除有泥炭苔大量滋生外，宜蘭蓼(*Polygonum foliosum*)、金髮苔(*Polytrichum* sp.)、玉山針蘭(*Trichophorum subcapitatum*)等濕生植物也生長茂密，幾乎已布滿整個湖底，除大雨期間有較大臨時性積水外，本地已接近陸化。所以，加羅湖群在 CIA 第 1、2 軸的分布形式可能與水生植物演替及陸化過程有某種程度的關聯性，值得後續再深入探究。

綜言之，加羅湖群這一帶的高山池沼群，不但是台灣高山地區重要的地理景觀，也是台灣大仰泳蟾、黃基蜻蜓等台灣特有水生生物重要棲地，泥炭苔所形成泥炭苔濕原(*Sphagnum* bog)更是亞熱帶台灣所罕見的奇景，極具湖沼保護價值。本研究顯示底棲大型無脊椎動物種類多、密度高且有不同的生活習性，很適合作為湖群保護監測生物指標，如能深入研究並善加利用，對歷經伐木、火燒而仍待恢復的加羅湖群之保護與永續利用，將有很大助益。

## 謝 誌

研究期間承蒙林務局羅東林區管理處的支持與協助，兩位審稿委員費心指正並提供寶貴建議，謹此一併致謝。

## 引用文獻

- 大津 高、加藤 武雄、曾晴賢、張萬福。1987。南台灣高山湖「巴油池」之概況。大自然 16: 106-111。
- 大津 高、曾晴賢、呂勝由、張萬福、大竹 直、蔡百峻。1989。台灣北部高山湖泊—鴛鴦湖湖沼生物學之調查。台灣省立博物館年刊 32: 17-33。
- 大津 高、曾晴賢、蘇建隆、佐藤 五郎。1992a。記台灣七彩湖的湖沼學現況。台灣省立博物館年刊 35: 39-50。
- 吳永華。2002。台灣高山湖泊發現小史。宜蘭文獻雜誌 58: 85-106。
- 李玲玲、郭奇芊、陳雅婷。2003。嘉羅湖地區野生動物相調查。農委會林務局保育研究系列 91-21 號。
- 林志明、陳鎮東。1992。小鬼湖水質與沉積物概況。大自然 37: 114-119。
- 林斯正。1999。台灣產蜻蜓科(蜻蛉目)幼蟲分類研究。東海大學生物學研究所碩士論文。
- 林斯正、謝森和、楊平世。2006。合歡山池沼群底棲大型無脊椎動物之分布。台灣昆蟲 26: 261-272。
- 許皓捷、李培芬。2003。群聚變異梯度長度對排序結果的影響。台灣林業科學 18(3): 201-211。
- 陳建志、邱錦和。2002。蘭陽湖泊初探。宜蘭文獻雜誌 58: 3-33。
- 陳鎮東、羅建育、林志明、陳佳奇。1997。台灣地區湖泊水庫沉積速率初步探討。海洋與湖沼 28(6): 624-631。
- 劉焜錫、林曜松。1992。神祕湖水生動物相及其分布調查研究。生物科學 35(2): 51-64。
- 顏仁德、陳添水、賴國祥、何健鎔、張仕緯。1998。台灣高山湖泊—七彩湖。科學月刊 339: 218-223。
- 羅建育、王冰潔、徐寶琛、陳鎮東。1994。台

- 灣高山湖—嘉明湖之初步研究。大自然 44: 98-104。
- 大津 高、呂勝由、加藤 武雄、張萬福、大竹直、蔡百峻。1988。他羅瑪琳池周辺の陸水学的・生物学的概況。東北地理 40(4): 258-271。
- 大津 高、曾晴賢、水野 寿彦、佐藤 五郎。1992b。台湾太平山翠峰湖の陸水学的概況。季刊地理學 44: 129-131。
- 鹿野忠雄、吉村信吉。1934。次高山附近に於ける高山池沼に就いて。陸水學雜誌 4: 54-65。
- Doledec, S. and D. Chessel. 1994. Co-inertia analysis: An alternative method for studying species-environmental relationships. *Freshwater Biology* 31: 277-294.
- Dray, S., D. Chessel and J. Thioulouse. 2003. Co-inertial analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology* 84: 3078-3089.
- Liew, P. M. and S. Y. Huang. 1994. A 5000-year pollen record from Chitsai Lake, central Taiwan. *Terrestrial, Atmospheric and Ocean Sciences* 5(3): 411-419.
- Szankowski, M. and S. Klosowski. 2004. Distribution and habitat conditions of the phytocoenoses of *Sphagnum denticulatum* Bridel and *Warnstorfia exannulata* (B., S. & G.) Loeske in Polish Lobelia Lakes. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73: 255-262.
- ter Braak, C. J. F. 1995. Ordination. pp. 91-173. *In*: R. H. G. Jongman, C. J. F. ter Braak and O. F. R. van Tongeren (eds). *Data analysis in community and landscape ecology*. Cambridge Univ. Press, UK.
- Thioulouse, J., D. Chessel, S. Doledec and M. Olivier. 1997. ADE-4: A multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7: 75-83.
- Wiederholm, T. 1983. Chironomidae of the holarctic region-keys and diagnoses, part 1 larvae. *Entomologica Scandinavica Supplement* 19: 1-457.



# 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

## Suggestions on Developing an Investigation Scheme for Identifying Terrestrial Animal Biodiversity Hotspots of Taiwan with the Wildlife Database

方懷聖<sup>1</sup> 林宗岐<sup>2</sup> 楊耀隆<sup>1</sup> 鄭錫奇<sup>1</sup> 楊育昌<sup>1,\*</sup>

Huai-Hseng Fang<sup>1</sup>, Chung-Chi Lin<sup>2</sup>, Yaw-Long Yang<sup>1</sup>,  
Hsi-Chi Cheng<sup>1</sup> and Yu-Chang Yang<sup>1,\*</sup>

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

<sup>2</sup> 國立彰化師範大學生物學系 彰化縣彰化市進德路1號

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> Department of Biology, National Changhua University of Education, Changhua, Taiwan

\* 通訊作者: ycyang@tesri.gov.tw

\* Corresponding author: ycyang@tesri.gov.tw

### 摘要

近年有科學家聲稱以集中資源、保護特定「生物多樣性熱點」地區的方式可更有成效地運用保育資源，而這些位於危急狀況之下的熱點則可經由諸如物種豐富度、特有物種比例和原生植被喪失百分比等條件來加以確認。由於找出及保護這些熱點被認為是一帖防止全球相當比例物種處於危險之中的特效藥，因此「就台灣陸域及海域生物多樣性可能的熱點進行普查並確認之」也被列為台灣「永續發展行動計畫」的主要項目之中，而發展作業程序來確認熱點地區亦相對重要。本研究將國際間對於生物多樣性熱點的定義套用於台灣地區後，提出在找尋生物多樣性熱點過程中的重要條件並架構其流程，再以行政院農業委員會特有生物研究保育中心(ESRI)野生動物資料庫中的蝶類、兩棲類和蝙蝠類分布數據為樣本進行試作。由於目前尚無法就「未來受威脅程度」

與「現有保育措施」進行評估與排序，我們建議未來應根據鏈結完善的資料庫架構，如政府的國家地理資訊系統(NGIS)配合若干資料品質原則來達到這個目標。我們同時建議為滿足此作業程序，將來宜有一套使用現況—壓力—反應(SPR)架構之指標系統來加以配合，如此方能有充分的資訊及合宜的方法來確認熱點位置，並對需要優先保護的區域立即採取行動。

## Abstract

It has been generally considered to be more efficient in biodiversity conservation by concentrating its management resources on “biodiversity hotspots”, the areas where conservation management is urgently needed. The hotspots can be identified by species richness, endemic species ratio, and percentage loss of primary vegetation. To identify such spots and to protect their biodiversity have been regarded as a “silver bullet” strategy that would prevent a risk of many of the species of the world to become endangered in a high proportion. Accordingly, to identify marine and terrestrial biodiversity hotspots and to census their species composition and conservation status are listed in the “Taiwan Sustainable Development Action Plan” as its main working tasks. Therefore, it has been becoming increasingly important to identify the hotspot areas. This study was intended to develop an investigation scheme to identify terrestrial biodiversity hotspots of Taiwan, and to determine primary factors and conditions for the identification, with using the inventory database of butterflies, amphibians and bats deposited at Endemic Species Research Institute (ESRI). Because at present there is a lack of information on threatening (or endangered) levels of species available for the conservation status assessment and for establishing an order of their conservation importance, we suggested achieving the objective by using a perfect-linked database frame, such as the National Geographic Information System (NGIS) of Taiwan government, with proper data quality control. We also suggested that the investigation scheme should be developed based on present biological data, future ecological threats, and available conservation measures. It was highly recommendable to build the State-Pressure-Response (SPR) framework by combining it with the investigation scheme of the biodiversity hotspots in the future. The biodiversity hotspots should be given priority over the present wildlife reserve areas in the conservation management. Its immediate action is required.

**關鍵詞：**生物多樣性、熱點、保育、台灣

**Key words:** biodiversity, hotspot, conservation, Taiwan

收件日期：99年6月17日

接受日期：99年11月12日

Received: June 17, 2010

Accepted: November 12, 2010

## 緒 言

「生物多樣性熱點(biodiversity hotspot)」是近年興起的生態保育概念，緣於有些學者認為當一地區較其鄰近區域擁有較高的生物多樣性，尤其特有種或受威脅物種所占比例較高，且原有生態系受到嚴重破壞威脅時，可選定其為熱點，優先投入保育資源。因為與其將人力、物力及經費分散於林林總總的工作項目，倒不如優先集中在這些重點地區，以求達到最大的保育功效。近年來由於科學家發現生態系統的作用極為複雜，特別在諸多因素交互作用時，影響物種存續的關鍵原因並非單一危害。尤其在現今全球環境變遷的背景之下，原生棲地破壞、過度開發利用，以及入侵生物威脅等影響程度更是不易評估(Brook *et al.* 2008)，而生物多樣性保育的尺度也由「特定物種」保育提升成為「棲地及生態系」的完整保存。在此世界潮流中，「如何在有限的人力、財力及時間內最有效地劃設保護區域，以達到現地保育的目標」已成為保育策略中的重要環節。雖然長久以來世界各國已設立了國家公園及各式各樣的生態保護(留)區，但這些區域面積是否已足夠維護全球生物多樣性？是否另有其他生物多樣性高，屬於特有物種、稀有物種重要棲地正面臨開發壓力卻尚未納入保護區域範圍中？為了能夠在有限資源下達到最佳保育效果，便產生了尋找生物多樣性熱點來積極進行保育的想法。

早在 1988 年 Myers 即已提出當一地區較其鄰近地區擁有較高生物多樣性且面臨開發破壞時，可將其選為熱點並作為優先保育的重點區域。隨後其研究團隊根據他們所回顧的各類科學文獻，指定了全球 25 個生物多樣性熱點；這些地區雖然只占全球陸地面積 1.4%，卻包含 44%維管束植物與 35%陸域脊椎動物，特別是有許多特有或族群遭受威脅的種類(Myers *et al.* 2000)。另一方面，這些地區多位處開發中國家，遭受人為破壞的可能性相對較大(Cincotta

*et al.* 2000)，若列為保育重點便可保有原始棲地環境。故尋找生物多樣性熱點的目的，是在保育前提下選出包含最多物種、最符合經濟效益，以達最大保育功效之地區。

物種豐富度(species richness)為選定生物多樣性熱點最普遍的方式，可將所有地區依其物種豐富度高低排列，取其中出現物種最多的部分為熱點候選地區後，再以特定原則(例如如此地區遭受威脅程度，或已有保育措施)逐一檢視這些地區的實際狀況來決定是否選為熱點。而依照生物族群狀況的不同，主要可以分為下列 4 類物種豐富度(呂 1999)：所有物種(total species)、特有種或狹布種(endemic species or limited-ranged species)、稀有種(rare species)及瀕危種(endangered species)。而計算豐富度以選取熱點的途徑亦包括所有物種豐富度(total species richness)、狹布種豐富度(limited-ranged species richness)、瀕危種豐富度(endangered species richness)及互補法(complementary method)等(何 2005)。

另一方面，由於物種豐富度的判斷有賴於足夠且正確的野外調查資料及完備的物種名錄；而調查資料內容則會隨著實際調查頻度、所用設備及方法、該地點可到達程度、資料格式與項目、調查者經驗及嚴謹度而有差異。如何從各方提供的調查資料中篩選出可作為判斷生物多樣性熱點依據的有效資料，則是生物多樣性熱點評估過程中另一個極基礎且重要的課題。

生物多樣性熱點概念提出後，便有許多科學家開始針對過去已設置的保護區域進行熱點調查與檢討，例如開始嘗試找出評估熱點的條件(Grelle 2002; Hobohm 2003; Werner 2005; Garcia 2006; Gjerde *et al.* 2007; Traba *et al.* 2007)與確認的方法(Fattorini 2006; Jennings *et al.* 2008)。由於其所牽連的層面甚廣，學者們大致從幾個不同方向著手進行：例如部分學者研究造成生物多樣性流失的原因(McKee *et al.*

2003; Hoekstra *et al.* 2005)；有些科學家探討全球生物多樣性熱點與該地區生物特有性、物種豐富度之間的關係(Orme *et al.* 2005; Lamoreux *et al.* 2006)；亦有人針對全球的保護區與保育政策設計研究方法(Brooks *et al.* 2006; Wilson *et al.* 2006; Rodriguez *et al.* 2007)；還有科學家針對某些地區現有的生物多樣性狀況，來推測其未來發展的趨勢(Lee and Jetz 2008)。

雖然各國近來陸續設立許多保護區域(呂1999)，但保育學家們依舊針對世界上各種不同棲地環境而規劃出不同生態功能的保護區域(Rouget 2003; Gjerde *et al.* 2004; Kati *et al.* 2004; Bergerot *et al.* 2008)，或找出更多應該被保護的區域(Cavieres *et al.* 2002; Bonn and Gaston 2005; Tchouto *et al.* 2006)。此外，包含所有脊椎動物(Burgess *et al.* 2002; Benayas and Montaña 2003)、爬蟲及兩棲類(Benayas *et al.* 2006; Chen and Bi 2007)、哺乳類(Joly and Wayne 2001; Andelman and Willig 2003)、蝴蝶(Gutie´rrez and Mene´ndez 2007)等不同的生物類別也各有學者進行追蹤調查，以求評估這些生物的棲息地是否已有合宜的保護措施，這些也都屬於評估生物多樣性熱點的範疇。

當面對生物多樣性議題時，不能不考慮到人類生活中各類活動或多或少地影響著周遭環境的生物多樣性，故包括人口密度(Cincotta *et al.* 2000; Fjeldsa 2007)、政策(Myers and Mittermeier 2003)，與其他人口的動態變化(Harcourt *et al.* 2001)等，也成為世界各地的學者們在研究生物多樣性熱點時會討論的主題。

近幾十年國內各研究機關、保育團體及學術單位亦基於各種目的，而在台灣許多區域進行生物資源調查，這些調查成果及累積的物種資料，可進一步地加以運用、整合分析成為選定國內生物多樣性熱點之基礎資訊，惟目前不僅大部分政府委託研究計畫或學者、民間團體自行蒐集之資料仍各自為政，未加以整合、交流或公開分享(林 2009)，國內亦尚無任何標準

化之程序來進行資料分析、排序與熱點選定。特別是在既有的各類保護區域(包括國家公園、自然保留區、野生動物保護區、野生動物重要棲息環境等)之外，可能尚有許多容易遭受干擾，且破壞後可能導致大量物種急遽消失而亟需保育的地區，更需要這類的程序來進行分析與篩選。本研究參考國內外進行生物多樣性熱點評估時所使用的方法，並以現有陸域動物調查成果資料為基礎，發展出一套可供選定生物多樣性熱點的程序，目的在協助分析資料、找出現有保護區域外的生物多樣性熱點，據以建議主管機關採取合宜保育措施、進行適當的經營管理。

## 生物多樣性熱點評估方法與流程

### 一、國內外文獻彙整及參考

本研究彙整近年來有關生物多樣性熱點之定義、所選用生物類別、物種豐富度計算、資料篩選與分析、地理區域尺度、選出熱點之方法等各類文獻，以作為作業程序建置之參考。有鑒於許多學者們對「熱點」看法各異，導致欲應用在我國陸域動物多樣性熱點選定的過程時勢必進行某些特定評估的定義規範，故本研究在文獻彙整工作告一段落後，再根據其中具代表性之定義加以修正來符合我國現況，以利後續工作得以繼續進行。

此外，考量到現有各類動物調查資料狀況不同，野外資料蒐集之難易度及完整性各有差異，加上與調查地點的相關程度亦不全然相符，在初步建立作業程序的架構之後，需經過一系列討論，並徵詢相關領域專家意見，以決定具代表性之動物類別，並以其作為熱點選定過程中的基礎資料。

### 二、對資料品質管控的建議

在熱點選定的過程中，資料品質之良窳將是影響選定結果的重要因子。特別是在蒐集現

有動物調查資料後，需以一定的標準來進行篩選、去蕪存菁，再將其格式統一以利進行標準化作業。初步以該筆調查資料內容之物種名稱、數量、日期時間、地點及座標、調查者為基本項目，再研擬是否加入其他如海拔高度、天氣狀況、棲地環境等輔助資料。另外，資料登錄者是否具備足夠的專業背景，或是經由一定程度的野外調查及資料登錄訓練，亦是資料品質是否可靠的重要因子。

因為資料的正確性及資料庫的完整性影響研究結果甚鉅，故基礎調查資料必須符合特定規範，方能納入資料庫中供科學研究運用。在本研究中對於所使用之野生動物調查資料進行下列查核，以維持資料的品質。

(一)該物種調查資料是否包含所需之基本紀錄項目？

這些項目包括物種名稱、學名、所記錄之數量、日期時間、地點及座標、調查者、其他輔助資料(如照片、證據標本等)。

(二)資料之取得方式是否有系統、符合科學過程？

包括下列各項目：

- 1.各地生物資源調查、研究計畫等系統性調查。
- 2.標本採集紀錄(標本館資料)。
- 3.引用文獻報告(如學術期刊、調查報告)。
- 4.現有野生動物調查資料庫。
- 5.有證據佐證之其他來源(例如附照片、資料完整之網路資料)。

(三)所包含之資料，根據以下條件來進行分級：

- 1.學術期刊所刊載之論文。
- 2.未於學術期刊發表之資源調查報告。
- 3.經過審慎驗證之其他來源。

### 三、建立生物多樣性熱點分析作業流程

本研究係以資料庫為基礎加以運用，並以「熱點選定項目」的方式來查核並輸出結果。藉著生物資料、區域資料、面臨威脅、土地管

制狀況、現有保育措施及未來可能之開發壓力等各類選單，提供不同目的之使用者依其需要加以選取並加權部分資料重要性，最後輸出其結果經過排序後選出生物多樣性高、特有種比例大且目前面臨威脅亟需進行保育之熱點。為使此過程簡單明瞭，並將每個重要步驟納入作業程序之中，我們利用建立流程圖的方式作重要步驟之控管，並建議若干準則(criteria)進行各類生態資料參數的選定、運算與分析過程，以使得最後成果可以確實找出台灣的生物多樣性熱點。

(一)依使用者需求劃分區域

雖然生物的物種資料是建構生物多樣性熱點的基本條件，但單參考物種數目及族群量不僅無法完全反映當地面臨開發威脅的狀況，且無從評估現有保育措施是否足以防止當地生物多樣性流失。雖然資料庫中已累積了相當數量的野生動物資料，但如何加以劃分，選出合宜的「熱點區域」以進行未來的保育措施，才符合使用者需求呢？本研究採用下列方式來製作熱點選定項目，讓使用者依不同目的進行選取。

- 1.特定大小網格：如 1x1、5x5、10x10 km<sup>2</sup> 之方格。
- 2.河川之集水區：河川流域。
- 3.行政區域：縣市、鄉鎮、村里。
- 4.地政系統之地段、地號。
- 5.國有林地之林班、小班。
- 6.地理氣候區及植群型態：依據蘇(1992)的研究基礎。
- 7.土地利用類型：
  - (1)依都市計畫法劃分之「都市區」、「非都市區」。
  - (2)依水土保持法劃分之「山坡地」。
  - (3)依非都市土地使用管制規則之各種分區及用地別。
  - (4)其他：如天然林、次生林、農業用地。

(二)選定生物與環境資料

建立「生物類別」以及「特殊狀況物種」

兩組熱點選定項目。其中「生物類別」除了依動物的分類地位區分外，尚可依其習性、活動能力、生活範圍來加以區隔，以配合所選擇之區域尺度。

此外，依據調查資料進行各地區物種豐富度計算時，為突顯該部分特殊物種，使其地位不同於一般動物種類(每一種類計算數值為 1)之目的，建議將其權重進行增減(權重數值將隨諮詢學者結果及修正過程而有所調整)。在計算過程中分別採用所有物種法、狹布種法、稀有種法、瀕危種法及互補法等各種不同方式以比較個別方法的優缺點。將結果依序排列並確認某一類動物以何種方式較為恰當；或是針對某類經營目標應採取何種方法來進行「物種豐富度指數」或「生物多樣性指數」之計算。

#### 1. 各種陸域野生動物類別：

- (1) 哺乳類(地棲性小型哺乳類、中大型哺乳類、蝙蝠類)。
- (2) 鳥類(留鳥、候鳥)。
- (3) 爬蟲類及兩棲類。
- (4) 淡水魚類。
- (5) 昆蟲及其他無脊椎動物。

#### 2. 部分物種依其特殊地位而增、減其權重：

- (1) 特有種或特有亞種(增加權重)。
- (2) 生態需求或生活史特殊種(增加權重)。
- (3) 分布區域侷限物種(增加權重)。
- (4) 非侷限分布之稀有種(增加權重)。
- (5) 保育類物種(增加權重)。
- (6) 外來種、歸化種及入侵種(減少權重)。

#### (三) 評估未來生態可能面臨威脅狀況

目前台灣生物多樣性所面臨的問題種類繁多，對於生物多樣性造成影響之規模各異，故各地區所受的威脅不容易加以量化。本研究就開發之期程、開發規模、是否有相關管制措施、造成威脅之類型以及破壞狀況來製作熱點選定項目，以期建構出足供量化且合於邏輯性的指標系統。若威脅類型對於當地而言急迫性

高、生態影響程度大或所涵蓋範圍較廣，將得到較高的積分。

1. 中、長期開發計畫：國土綜合開發計畫、區域計畫、特定開發計畫。
2. 造成威脅之類型：天災、污染、盜獵、濫墾、外來入侵種。
3. 威脅狀況：
  - (1) 類別：污染、人為捕捉、土地開發、棲地劣化、天災、競爭或掠食。
  - (2) 程度：依破壞面積、嚴重程度、所需回復時間加以區分。

#### (四) 該地區現有保育措施

##### 1. 現行法規及保護區域：

- (1) 依國家公園法所劃設之「國家公園」。
- (2) 依文化資產保存法所指定之「自然風景」。
- (3) 依森林法設置之「自然保護區」或「保安林」。
- (4) 依野生動物保育法劃定之「野生動物保護區」及「野生動物重要棲息環境」。
- (5) 依漁業法劃設的「水產動植物繁殖保育區」。
- (6) 依水土保持法劃設之「特定水土保持區」。
- (7) 都市計畫法中之都市計畫用地「保護區」。
- (8) 依區域計畫法施行細則劃定之非都市土地「山坡地保育區」。

##### 2. 由主管機關或民間進行之法令與保育措施：

- (1) 主管機關：自治條例、行政命令、封溪護魚措施、執法人員。
- (2) 民間：保育團體、社區自組之巡守隊。

#### 四、作業程序之試作及修正

在作業流程建立後，我們以野生動物資料庫中部分類別陸域動物為試作對象，來初步評

估這套流程的妥善程度。因為動物移動能力與其分布範圍、劃分網格大小相關，在現有資料庫中以筆數較多、物種完整性高的動物類別為基礎，並考量各類動物的移動能力後，本研究選擇了無脊椎動物中的蝶類(移動能力中等)和脊椎動物中的兩棲類(移動能力弱)、蝙蝠(移動能力強)資料進行試作。在目前尚無集水區、行政及地政分區、林班及小班等各類圖層的狀況下，試作過程僅能以邊長各為 1、2、5、10、20、50、100 km 之方格分別進行，試作使用之軟體為 SuperGIS Desktop 2.2 版(崧旭資訊股份有限公司)。我們將依試作結果建議各類動物可進行熱點分析的方格尺度，以供將來實際操作時之參考。若在試作過程中發現某些區域有動物調查資料不足的情形，亦可作為日後加強調查、補足資料的參考。

最後將透過「熱點選定準則」計算出之各地區的生物多樣性數值(如物種豐富度、Shannon 多樣性指數)，讓使用者依其需求進行排序，進而選出特定數量、特定比率，或是特定數值之地區作為生物多樣性熱點，以供未來主管機關據以評估劃設保護區，投入資源進行經營管理，或是作為開發案環境影響評估之參考。在本研究中先以物種豐富度、總個體數、Simpson 多樣性指數、Shannon 多樣性指數和均勻度指數作出方格大小與指數間關係圖，嘗試據以建議選取該類動物熱點的合適尺度，再取以評量個體—物種關係為主的 Shannon 指數從所有方格選出一定比例之熱點候選地區。雖然以目前國內國家公園、保護(留)區面積約占總面積 10-15% 來看，以此比例選出熱點方格較能對目前已有受保護區域是否合適進行評估，但由資料庫中現有資料無法涵蓋上述國家公園與國有林區，加上比例太低恐造成方格分布過於零星而無法達到區域保護效果，故本研究在試作時先取 Shannon 指數值前 25% 之區域作為初步的「熱點方格」，以便進行後續更為深入的討論。

## 生物多樣性熱點評估架構研擬與試作結果

由我們所閱讀、歸納的文獻中，雖然大致可以勾勒出世界各地的生物多樣性議題研究潮流，但針對台灣地區的生物多樣性保護區設置與生物多樣性熱點的探勘，還需經過現在各個資料庫之資料內容的整合與資料不足地區之補充調查後，熱點評估架構才能初步成型並進行更進一步的內容調整。

### 一、熱點評估參考標準之決定

國際上「生物多樣性熱點」的概念初次提出時，是以「物種密度大、特有種比例高」和「面臨相當程度的威脅」等條件初步選出 10 個熱點，其面積約占全球的 0.2%，卻包含了 34,000 種特有植物及 700,000 種特有動物(由於這些地區生物資源調查未臻完善，實際特有種數目可能高達數倍)；另外在地區所遭受的威脅方面，這些熱點地區原生植被破壞的程度約在 90% 以上(Myers 1988)。

而在之後的相關研究中，科學家們逐漸擴充生物多樣性熱點的適用範圍，並增加新的熱點地區，到 2001 年為止，全球熱點區域已達 34 個之多(Olson *et al.* 2001)，它們被選定時考慮的因素主要依據以下條件(Mittermeier *et al.* 1998; Cincotta *et al.* 2000; Myers *et al.* 2000)：

- (一)該地區民眾高度依賴當地生物多樣性而生活。
- (二)該地區較其他地區有特別高的生物多樣性。
- (三)該地區有特別高的特有種比例。
- (四)處於嚴重的威脅狀況(人口密度、受破壞原始林比例)。
- (五)必須重點投入資源以保全最多物種及多樣性。

在本研究中考量我國國土面積、特有種比例、原始森林破壞程度並不符合全球尺度之熱點地區選擇條件，無法將原有選定程序全盤套用而必須另定條件進行熱點區域選定。我們建

議參考先前國內學者們於「永續台灣的評量系統」、「永續台灣 2011」等相關研究中採用之聯合國 S-P-R (State-Pressure-Response) 架構模式進行，將各資料庫中之可用資料指標納入下列類別，並對各地區(或網格)所得數值進行整體分析作為評估之依據：

1. 狀態(state, S)－該地區的生物及生態多樣性狀況。

包括生物物種數及數量、特有種數、珍貴稀有物種、保育類動物，以及生態環境狀況等。

2. 壓力(pressure, P)－該地區受到天然或人為威脅的程度。

我們建議從下列三種面向來進行評估，分別為：

(1) 棲地本身易受破壞：如生態系本身較為脆弱、屬於地質災害敏感地區、易受颱風、火災、洪水等天然災害侵襲等。

(2) 該地區有正進行之破壞：如都市化、農業開墾、大規模的開發案、環境污染或地層下陷等。

(3) 未來可能面臨的威脅：如「國土綜合開發計畫」中或區域計畫預備於 5 年內(短期)、5-10 年間(中期)或 10 年以上(長期)進行大規模開發的區域。

3. 回應(response, R)－該地區現有生態保育法令及制度等回應措施。

包含現有保育相關法令、政府所進行的行政措施、該地所設之保護區域類型，以及非政府組織或其他民間相關措施等。

## 二、生物多樣性熱點分析作業流程圖

流程圖結果如圖 1 所示，其內容共分為「資料庫建構」及「熱點選定項目」兩大部分。其中「資料庫建構」的生物多樣性資料部分以農委會特有生物研究保育中心(以下簡稱特生中心)之「野生動物資料庫」為主，但在

土地基本資料、國土規劃及開發、環境品質及破壞、保護區域與災害敏感地區等各項資訊仍不完備的情況下，未來若需要進行下一步的研究計畫時，則可以透過同屬「國土地理資訊(NGIS)計畫」的其他政府機關資料庫之連結來提供足夠的地理資訊。

熱點選定過程係先由使用者依其需求確認運用範圍，並依次選出生物類別、區域、地區所面臨威脅、土地管制狀況、現行法令及保育措施等各類準則之後產生結果。再依此結果進行內部檢討，並進行專家諮詢以對於每一步驟不盡完善之項目進行修正，以完成最後的結果，並據以作出報告供未來訂定相關保育策略。本研究根據以上所述的生物多樣性熱點評估依據與分析作業流程圖，再參考已研究完成之「台灣永續發展指標系統」(黃 2002)來建立評估架構，以期所建立之生物多樣性熱點評估程序在日後政府進行生物多樣性保育及劃設保護區域時，可作為政府參考的選項之一。至於此評估架構的詳細內容及範例介紹，將在之後的段落中繼續討論。

## 三、陸域動物多樣性熱點試作結果

如前述，本研究選擇蝶類、兩棲類、蝙蝠類(資料庫中各類動物調查地點分布如圖 2)並依照所建立初步評估進行試作。在以不同邊長之方格呈現試作之下多樣性熱點候選區域後，所呈現各類動物生物多樣性數值(包括物種數目、總調查隻次、Simpson 多樣性指數、Shannon 多樣性指數與均勻度指數)與方格大小關係圖如圖 3，我們依據此結果來判斷何種大小的方格是該類動物生物多樣性熱點選定時的較佳選項。雖然各類動物的生物多樣性數值均在 20×20 km<sup>2</sup> 達飽和，選用這個尺度以上的方格可包含較高比例的種類、數量、物種多樣性與均勻度，但考量各類動物移動能力不同，加上因方格大小所呈現之熱點候選區域在地區分布上的連貫性可能影響未來保護區之劃設或相關



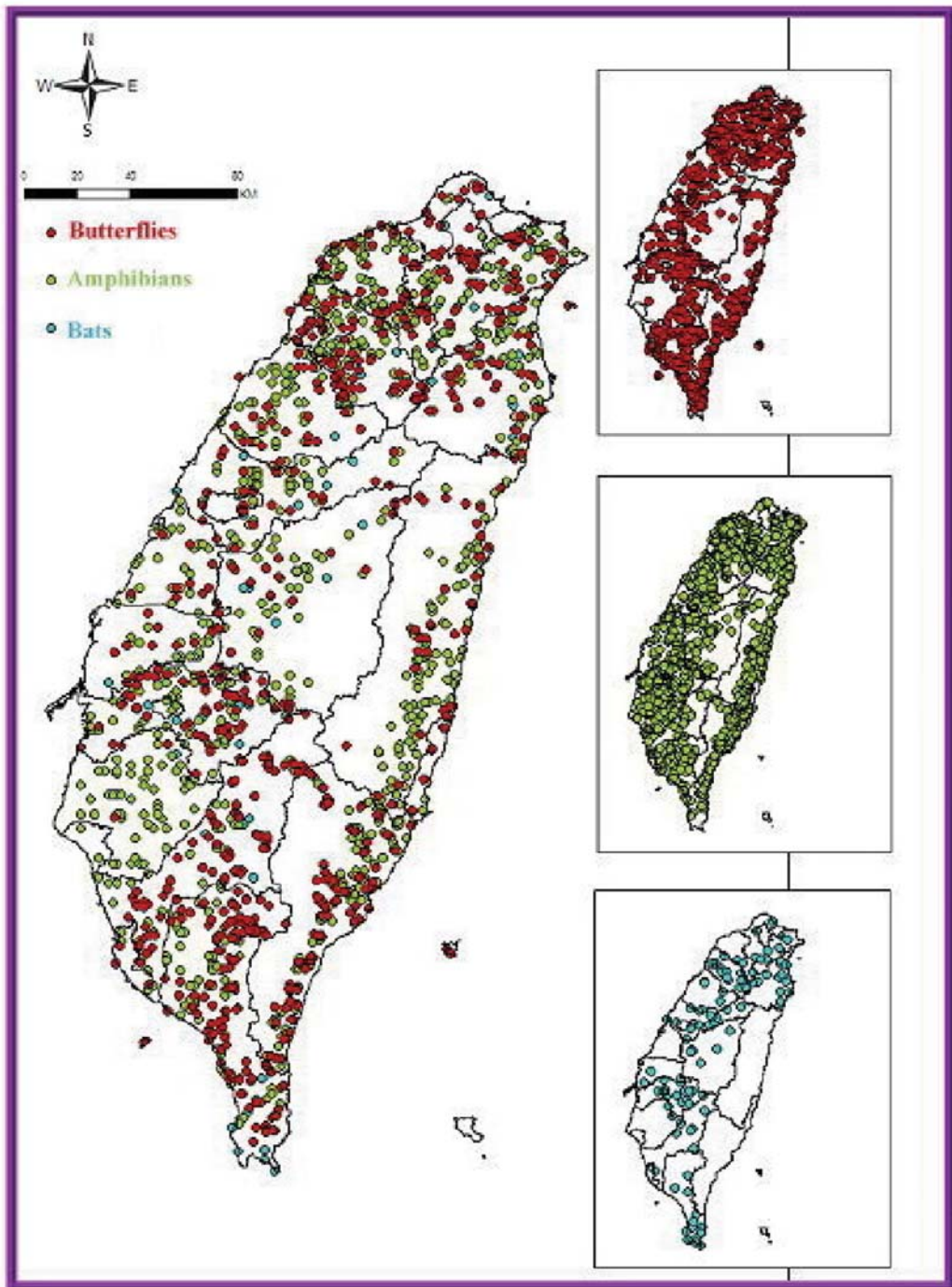


圖 2. 農委會特有生物研究保育中心台灣野生動物資料庫中，現有蝶類、兩棲類與蝙蝠類調查地點分布圖。

Fig. 2. Census sites of butterflies, amphibians and bats from ESRI's Taiwan Wildlife Database.

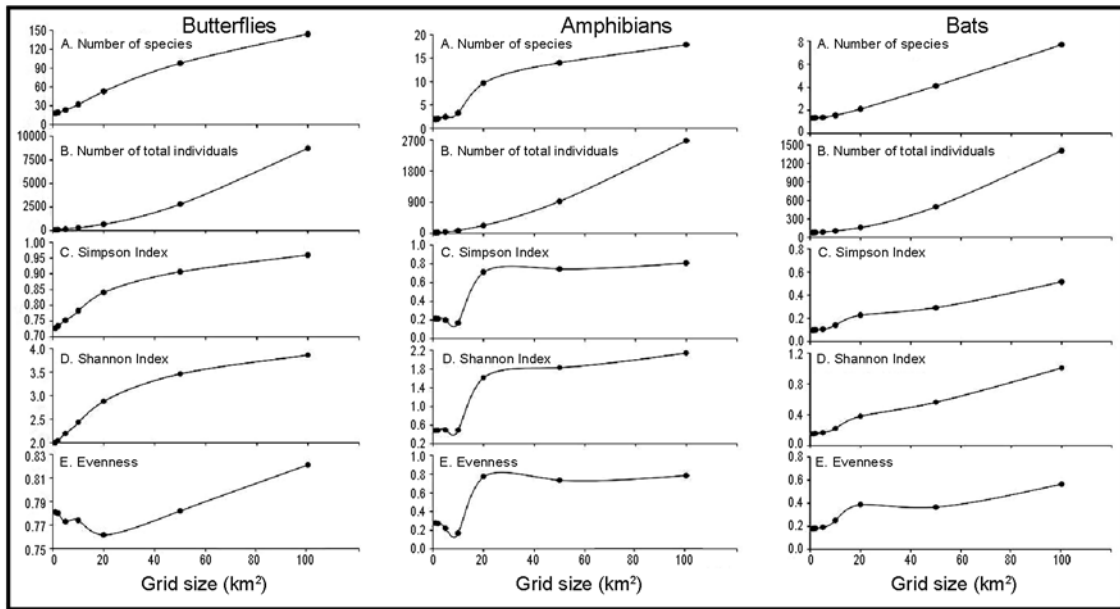


圖 3. 網格大小(X軸)與各類生物多樣性指數(Y軸)關係圖。因各類動物之遷移能力不同，在決定生物多樣性熱點時的網格大小可能對各類生物多樣性指數產生影響。

Fig. 3. Scales of grids of various animals with different dispersal abilities used in developing the investigation scheme to identify the biodiversity hotspots based on miscellaneous biodiversity indices.

資源是否能集中投入，我們在分析Shannon指數後建議以不同的方格尺度來設置生物多樣性熱點區域：例如蝶類採用5×5、10×10、20×20 km<sup>2</sup>等3種(圖4)，活動能力較弱的兩棲類採用5×5、10×10 km<sup>2</sup>等2種，活動能力較強的蝙蝠類則採用10×10、20×20、50×50 km<sup>2</sup>等3種尺度之方格；在上述動物種類互相結合下，則建議使用三者兼具之10×10方格來作為熱點選定尺度。

由於目前特生中心野生動物資料庫中的調查資料主要來自歷年執行動物資源調查計畫成果，這些調查所進行之區域多位於國有林地及國家公園以外，若欲改進本研究成果可以涵蓋的範圍，則需取得農委會林務局和各國家公園過去委託學術機關進行調查之資料內容，再加以整合方能達到上述目的。在完成整合各機關所擁有之調查資料後，研究人員也可以發現目

前尚有哪些方格缺乏調查資料，可建議列為日後的調查重點，以補原有資料之不足。

### 生物多樣性熱點評估問題及其解決之道

在熱點的評估過程中，科學家主要依據生物的特性、分布狀況、稀有性或保育程度來建立合乎特定目的之評估系統，在法國所發展出的綜合性魚類評估標準，便是綜合了物種稀有性、受保護地位和物種起源等參考依據，來判斷如何在保留區或保護區中依區域與群聚狀況的差異來給予不同的保育標準及管理方式(Bergerot *et al.* 2008)；在非洲西部的研究也利用人口數目、人類活動影響程度配合原有的物種—棲地模型來預測不同保護區內野生哺乳動物流失速率，藉此作為劃設保護區面積與管

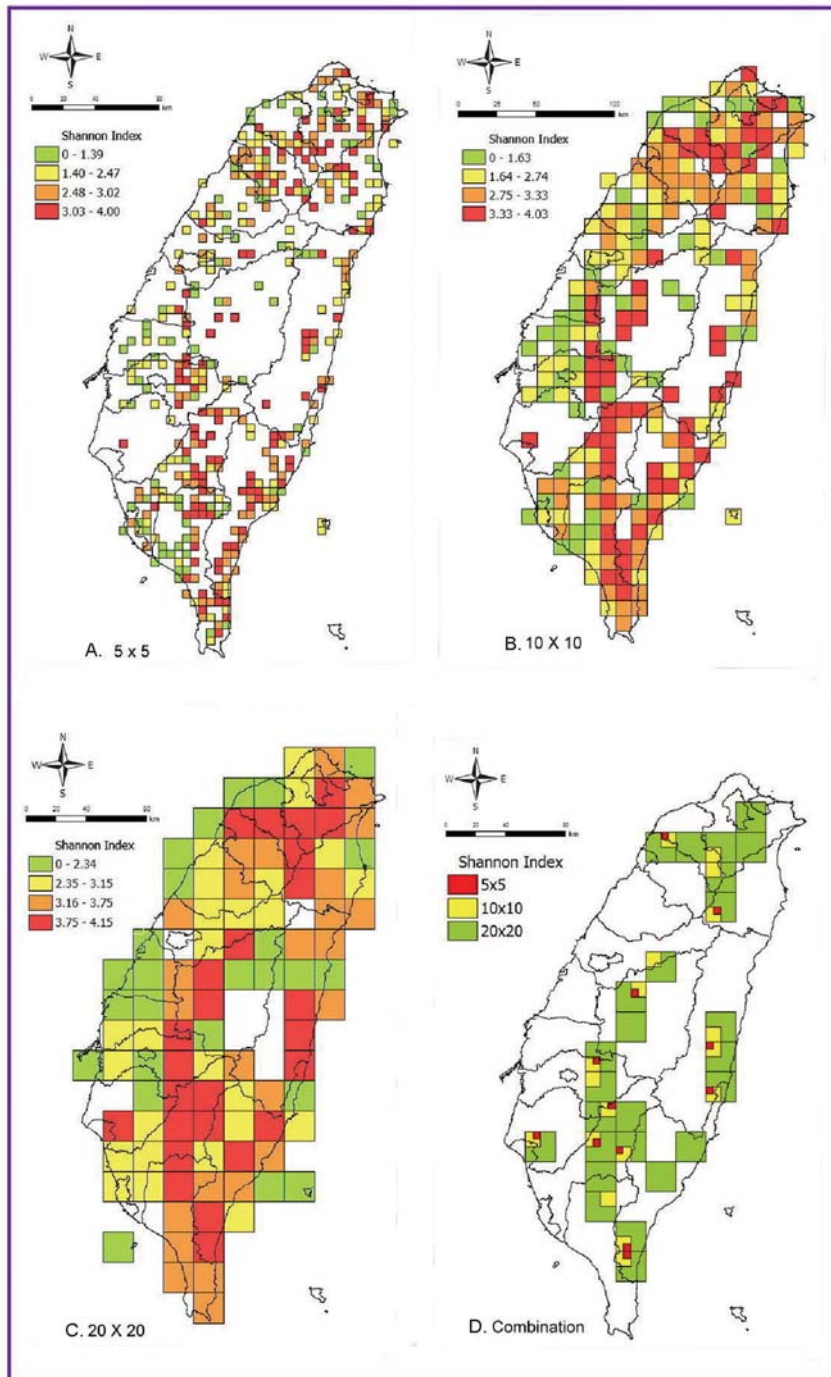


圖 4. 使用農委會特有生物研究保育中心台灣野生動物資料庫資料，以四分法在  $5 \times 5 \text{ km}^2$  (A)、 $10 \times 10 \text{ km}^2$  (B)、 $20 \times 20 \text{ km}^2$  (C) 及綜合尺度(D)下分析台灣地區蝶類 Shannon 生物多樣性指數而找出之熱點區域。

**Fig. 4.** Shannon's indices of butterflies based on ESRI's Taiwan Wildlife Database on the scales of  $5 \times 5 \text{ km}^2$  (A),  $10 \times 10 \text{ km}^2$  (B) and  $20 \times 20 \text{ km}^2$  (C), and overlaps of the highest-indices of the scales (D).

理狩獵行為之學術基礎(Brashares *et al.* 2001)；另一方面，研究人員亦運用資料庫內的生態環境資料與生物棲地需求之基本資訊，綜合分析出各地區之生態環境狀況及是否符合某種生物的棲地需求，來推估該生物的潛在可能分布地區，例如在挪威使用的互補式熱點清單(complementary hotspot inventory, CHI)，便是以此概念預測瀕臨絕種生物棲地，並在事後的調查中證實其效果顯著(Gjerde *et al.* 2007)；而國內亦運用此法來預測台灣黑熊的分布(黃等 2009)，惟其成效仍有待進一步野外資料加以佐證。

即使目前已建立了作業流程圖、熱點選定準則及在狀態－壓力－回應領域中的不同指標項目，在資料來源有限，以及在相關資料庫之間的連結尚未建立完成的現況下，要完整地藉由使用目前的作業程序來選出我國國土範圍內的陸域動物多樣性熱點，仍有相當的不足之處。特別是在僅有野生動物資料庫的情況下，所產出的熱點區域只能呈現出物種多樣性的狀況，至於這些區域是否真的是遭受壓力、需要集中投入人力與物力資源加強保育？則現有資料庫仍有未逮之處。

面對上述困境，我們在此提出兩種可能的解決之道：

首先，將來若可整合國內相關生物資源、地政、環境、氣象、水資源、地形地質等資料庫內容，或納入行政院經濟建設委員會目前正在進行之國土資訊系統(NGIS)計畫內各領域資料庫的應用中，可能可以蒐集到足夠資料加以運用，並進行下一步研究，以真正找出台灣地區生物多樣性熱點所在區域。

其次，目前雖然仍欠缺許多資料內容，但可以嘗試使用資訊軟體，配合現有模型，以模擬的方式進行試作，再將試作所產出之結果請益於各領域專家學者，依其建議去修改相關參數以符合多數專家建議。例如歐洲科學家便以 Core-Eriphery 模型(核心－邊際模型)持續預測部分保護區域之周遭人口變動趨勢及人為活動

所帶來威脅狀況，藉此找出生物多樣性的重點區域(即本研究稱之「熱點」)且有相當成效(Araújo *et al.* 2002)，我國亦可參考其作法加以運用。

由於熱點區域所取用的網格規模愈大，該方格內所容納之生物物種、數量也就愈多，生物多樣性指數亦隨之增高。由生態系保育的觀點來看，熱點或保護區域愈大愈有利於基礎生態功能之保存，但在台灣地區土地有限、人為活動頻繁及相關資源或預算編列等現實考量下，若大尺度方格無法完全納入未來的保護區規劃之中，則建議以其範圍內生物多樣性較高的次一尺度方格取代之，以期達到最大可能保育的效果。

評估生物多樣性熱點之目的，主要在於將有限的人力、物質與經費投入於最受破壞性威脅、亟需進行保育之區域，以達到事半功倍的保育成效。除了了解這些熱點區域的生物多樣性現況與正在遭受的威脅種類與程度外，亦可作為政府在政策規劃與經營管理上之重要參考，甚至可以透過社會教育與觀念推廣，讓更多民眾願意投入保育工作。例如在巴西的研究成果顯示，民眾願意支付每年超過 200 萬美元的代價來保護 Morro do Diabo 國家公園，而這個公園位於全球生物多樣性熱點之一的亞馬遜雨林之中(Adams *et al.* 2008)。

近年有國內學者指出，IUCN 物種生存委員會(SSC)打算發展全球性的評估體系，以多種指標來監測生物多樣性；2007 年聯合國啟動「2010 生物多樣性指標夥伴關係」，也是要開發生物多樣性綜合指標，以便對各國生物多樣性狀況和保護工作進行評估(林 2009)。其中除了保護(留)區數量及面積、森林覆蓋度、瀕臨絕種清單等傳統指標項目之外，還將增列諸如「對森林、農田和漁場進行管理以維護生物多樣性」、「生物多樣性改變對於人類影響程度」等指標。有鑒於此，建立國內的生物多樣性評估準則與指標系統，進而架構出生物多

樣性監測網路不但有助更審慎且持續地蒐集基礎資料，亦有助於我國在生物多樣性保育上與國際接軌及交流。

## 指標系統架構未來發展之探討及結論

我們所建議的狀態－壓力－回應(S-P-R)評估架構，目前在國內已有若干指標系統加以採用。除了自然保育業務中央主管機關行政院農業委員會在幾年前曾建立之「生物多樣性指標 PSR 系統架構」當中所列舉出的 57 個統計項目外([http://www.coa.gov.tw/files/web\\_articles\\_files/7839/11925.xls](http://www.coa.gov.tw/files/web_articles_files/7839/11925.xls))，國內已發展多年且已具備相當成熟度之「永續發展評量系統」和依其架構建立之「台灣永續發展指標」，也是值得參考的範例。其原因不僅在於「永續發展評量系統」參考聯合國及國外其他相關永續指標，可以和國際接軌、相互切磋比較，自 2000 年完成基本架構後仍不斷改善以符合台灣地區之特殊自然生態、人文社會與法令制度狀況。至 2008 年為止仍有 42 個指標項目持續提供資訊，有助了解目前發展方向是否合乎永續原則(<http://sta.epa.gov.tw/nsdn/ch/development/index.htm>)。加上行政院台灣永續發展委員會與研究發展考核委員會每年均會更新此評量系統之相關指標資料內容，探討其變化趨勢並重新加以評估，對於制度的實質回應較為直接且有效率。

依此架構來進行生物多樣性熱點之選定，例如未來可在「生物及生態多樣性狀況(S)」類別中列入與物種多樣性和環境條件之指標(如物種豐富度、溫濕度及年降水量、坡度與海拔高度)；在「受到天然或人為威脅的程度(P)」類別中列入開發壓力、外來入侵種和環境破壞有關指標；在「生態保育法令及制度等回應措施(R)」類別中列入現有相關法令措施、公部門執法能力和民間重視程度等項目來作為生物多樣性熱點評估準則，不僅能使未來熱點

的評估架構與現有相關資源結合，且評量系統中許多資料定期更新，更可幫助熱點地區選擇所參考之資料能有較為新穎及正確的來源。

我們並建議在評估架構的 S-P-R 3 個領域中，可以先使用「永續發展評量系統」中生物多樣性相關指標來作為熱點之選項，未來再根據本研究的熱點選定條件，研究並找尋出適合有整全資料的新指標(舉例而言，在「回應(R)」類別中以「環保及保育相關違法案件起訴率」指標來反映公部門執法能力)。在每個指標項目下容許未來的使用者可依據現有科學研究基礎與其專業素養，來設定該指標是否要予以增加或減少權重，以符合此指標在該領域所占之重要程度。在確保資料的取得無虞與隨時更新的主題上，我們則建議應有一個鏈結完善、內容正確性高並時時更新的資料庫架構，如未來發展健全後之國家地理資訊系統(NGIS)，來配合達到實際可以運用的目標。

我們省思「生物多樣性熱點」之所以成為「熱點」的重要原因之一，常常是人們在使用該地區自然資源時無法考量到永續利用的緣故，希望我們這個初具雛形的作業程序可以配合我國永續發展評量系統，繼續發展到真正可應用於熱點的選擇及決定，使國內自然生態保育的思維不只侷限於物種與環境，而能擴及到國家與社會的每個面向之中。

## 謝 誌

本研究蒙行政院國家科學委員會 NSC 97-2321-B-329-001 計畫經費補助，謹致謝忱。

## 引用文獻

- 呂光洋。1999。生物多樣性熱點如何選定？生物多樣性研討會論文集 159-165 頁。行政院農業委員會。
- 何麗君。2005。東亞鳥類生物多樣性熱點之選

- 擇與分析。國立台灣大學森林環境暨資源學系碩士論文。
- 林曜松。2009。以科學方法評估與推動生物多樣性。第八次全國科學技術會議子題6.4.4。行政院國家科學委員會。
- 黃美秀、吳尹仁、姚中翎、李培芬、王穎、吳海音。2009。台灣黑熊棲息地利用及分布預測模式。特有生物研究 11(2): 1-20。
- 黃書禮。2002。建立台灣永續發展指標系統。行政院經濟建設委員會。
- 蘇鴻傑。1992。台灣之植群：山地植群帶與地理氣候區。台灣生物資源調查及資訊管理研習會論文集 39-53 頁。中央研究院植物研究所專刊第 11 號。
- Adams, C., R. S. da Motta, R. A. Ortiz, J. Reid, C. E. Aznar and P. A. de Almeida Sinisgalli. 2008. The use of contingent valuation for evaluating protected areas in the developing world: Economic valuation of Morro do Diabo State Park, Atlantic Rainforest, São Paulo State (Brazil). *Ecological Economics* 66: 359-370.
- Andelman, S. J. and M. R. Willig. 2003. Present patterns and future prospects for biodiversity in the Western Hemisphere. *Ecology Letters* 6: 818-824.
- Araújo, M. B., P. H. Williams and A. Turner. 2002. A sequential approach to minimize threats within selected conservation areas. *Biodiversity and Conservation* 11: 1011-1024.
- Benayas, J. M. R. and E. de la Montaña. 2003. Identifying areas of high-value vertebrate diversity for strengthening conservation. *Biological Conservation* 114: 357-370.
- Benayas, J. M. R., E. De La Montaña, J. Belliure and X. R. Eekhout. 2006. Identifying areas of high herpetofauna diversity that are threatened by planned infrastructure projects in Spain. *Journal of Environmental Management* 79: 279-289.
- Bergerot, B., E. Lasne, T. Vigneron and P. Laffaille. 2008. Prioritization of fish assemblages with a view to conservation and restoration on a large scale European basin, the Loire (France). *Biodiversity Conservation* 17: 2247-2262.
- Bonn, A. and K. J. Gaston. 2005. Capturing biodiversity: Selecting priority areas for conservation using different criteria. *Biodiversity and Conservation* 14: 1083-1100.
- Brashares, J. S., P. Arcese and M. K. Sam. 2001. Human demography and reserve size predict wildlife extinction in West Africa. *Proceedings Royal Society of London: B* 268: 2473-2478.
- Brook, B. W., N. S. Sodhi and C. J. A. Bradshaw. 2008. Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 453-460.
- Brooks, T. M., R. A. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca, J. Gerlach, M. Hoffmann, J. F. Lamoreux, C. G. Mittermeier, J. D. Pilgrim and A. S. L. Rodrigues. 2006. Global biodiversity conservation priorities. *Science* 313: 58-61.
- Burgess, N. D., C. Rahbek, F. W. Larsen, P. Williams and A. Balmford. 2002. How much of the vertebrate diversity of sub-Saharan Africa is catered for by recent conservation proposals? *Biological Conservation* 107: 327-339.
- Cavieres, L. A., M. T. K. Arroyo, P. Posadas, C. Marticorena, O. Matthei, R. Rodriguez, F. A. Squeo and G. Arancio. 2002. Identification of priority areas for conservation in an arid zone: Application of parsimony analysis of endemism in the vascular flora of the Antofagasta region, northern Chile. *Biodiversity and Conservation* 11: 1301-1311.
- Chen, Y. and J. Bi. 2007. Biogeography and hotspots of amphibian species of China: Im-

- plications to reserve selection and conservation. *Current Science* 92: 480-489.
- Cincotta, R. P., J. Wisnewski and R. Engelman. 2000. Human population in the biodiversity hotspots. *Nature* 404: 990-992.
- Fattorini, S. 2006. A new method to identify important conservation areas applied to the butterflies of the Aegean Islands (Greece). *Animal Conservation* 9: 75-83.
- Fjeldsa, J. 2007. The relationship between biodiversity and population centres: The high Andes region as an example. *Biodiversity Conservation* 16: 2739-2751.
- García, A. 2006. Using ecological niche modeling to identify diversity hotspots for the herpetofauna of Pacific lowlands and adjacent interior valleys of Mexico. *Biological Conservation* 130: 25-46.
- Gjerde, I., M. Sætersdal and H. H. Blom. 2007. Complementary hotspot inventory-A method for identification of important areas for biodiversity at the forest stand level. *Biological Conservation* 137: 549-557.
- Gjerde, I., M. Sætersdal, J. Rolstad, H. H. Blom and K. O. Storaunet. 2004. Fine-scale diversity and rarity hotspots in northern forests. *Conservation Biology* 18: 1032-1042.
- Grelle, C. E. V. 2002. Is higher-taxon analysis an useful surrogate of species richness in studies of Neotropical mammal diversity? *Biological Conservation* 108: 101-106.
- Gutiérrez, D. and R. Menéndez. 2007. Regional hotspots of butterfly diversity in a protected area: Are they indicators of unique assemblages and areas with more species of conservation concern? *Acta Oecologica* 32: 301-311.
- Harcourt, A. H., S. A. Parks and R. Woodroffe. 2001. Human density as an influence on species/area relationships: Double jeopardy for small African reserves? *Biodiversity and Conservation* 10: 1011-1026.
- Hobohm, C. 2003. Characterization and ranking of biodiversity hotspots: Centres of species richness and endemism. *Biodiversity and Conservation* 12: 279-287.
- Hoekstra, J. M., T. M. Boucher, T. H. Ricketts and C. Roberts. 2005. Confronting a biome crisis: Global disparities of habitat loss and protection. *Ecology Letters* 8: 23-29.
- Jennings, M. D., J. Hoekstra, J. Higgin, T. Boucher. 2008. A comparative measure of biodiversity based on species composition. *Biodiversity Conservation* 17: 833-840.
- Joly, K. and L. M. Wayne. 2001. Patterns of mammalian species richness and habitat association in Pennsylvania. *Biological Conservation* 99: 253-260.
- Kati, V., P. Devillers, M. Dufrenoy, A. Legakis, D. Vokou and P. Lebrun. 2004. Hotspots, complementary or representativeness? Designing optimal small-scale reserves for biodiversity conservation. *Biological Conservation* 120: 471-480.
- Lamoreux, J. F., J. C. Morrison, T. H. Ricketts, D. M. Olson, E. Dinerstein, M. W. McKnight and H. H. Shugart. 2006. Global tests of biodiversity concordance and the importance of endemism. *Nature* 440: 212-214.
- Lee, T. M. and W. Jetz. 2008. Future battlegrounds for conservation under global change. *Proceedings of The Royal Society* 275: 1261-1270.
- McKee, J. K., P. W. Sciulli, C. D. Foote and T. A. Waite. 2003. Forecasting global biodiversity threats associated with human population growth. *Biological Conservation* 115: 161-164.

- Mittermeier, R. A., N. Myers, J. B. Thomsen, G. A. B. da Fonesca and S. Olivieri. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology* 12: 516-520.
- Myers, N. 1988. Threatened biotas: "hot spots" in tropical forests. *Environmentalist* 8: 187-208.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonesca and J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Myers, N. and R. A. Mittermeier. 2003. Impact and Acceptance of the Hotspots Strategy: Response to Oviada and to Brummitt and Lughadha. *Conservation Biology* 17: 1449-1450.
- Olson, D. M., E. Dinerstein, E. D. Wikramanayake, N. D. Burgess, G. V. N. Powell, E. C. Underwood, J. A. D'amico, I. Itoua, H. E. Strand, J. C. Morrison, C. J. Loucks, T. F. Allnutt, T. H. Ricketts, Y. Kura, J. F. Lamoreux, W. W. Wettengel, P. Hedao and K. R. Kassem. 2001. Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on earth. *BioScience* 51: 933-938.
- Orme, C. D. L., R. G. Davies, M. Burgess, F. Eigenbrod, N. Pickup, V. A. Olson, A. J. Webster, T. S. Ding, P. C. Rasmussen, R. S. Ridgely, A. J. Stattersfield, P. M. Bennett, T. M. Blackburn, K. J. Gaston and I. P. F. Owens. 2005. Global hotspots of species richness are not congruent with endemism or threat. *Nature* 436: 1016-1019.
- Rodriguez, J. P., A. B. Taber, P. Daszak, R. Sukumar, C. Valladares-Padua, S. Padua, L. F. Aguirre, R. A. Medellín, M. Acosta, A. A. Aguirre, C. Bonacic, P. Bordino, J. Bruschini, D. Buchori, S. González, T. Mathew, M. Méndez, L. Mugica, L. F. Pacheco, A. P. Dobson and M. Pearl. 2007. Globalization of Conservation: A View from the South. *Science Policy Forum*. p.317.
- Rouget, M. 2003. Measuring conservation value at fine and broad scale: Implications for a diverse and fragmented region, the Argulhas Plain. *Biological Conservation* 112: 217-232.
- Tchouto, M. G. P., M. Yemefack, W. F. De Boer, J. J. F. E. De Wilde, L. J. G. Van Der Maesen and A. M. Cleef. 2006. Biodiversity hotspots and conservation priorities in the Campo-Ma'an rain forests, Cameroon. *Biodiversity and Conservation* 15: 1219-1252.
- Traba, J., E. L. G. de la Morena, M. B. Morales and F. Suarez. 2007. Determining high value areas for steppe birds in Spain: Hotspots, complementarity and the efficiency of protected areas. *Biodiversity Conservation* 16: 3255-3275.
- Werner, U. and J. Buszko. 2005. Detecting biodiversity hotspots using species-area and endemics-area relationships: The case of butterflies. *Biodiversity and Conservation* 14: 1977-1988.
- Wilson, K. A., M. F. McBride, M. Bode and H. P. Possingham. 2006. Prioritizing global conservation efforts. *Nature* 440: 337-340.



在不同溫度與光度下桃實百日青之光合速率  
與葉綠素螢光特性

Chlorophyll Fluorescence and Photosynthetic Rate of  
*Podocarpus nakaii* at Different Light Intensities and Temperatures

翁詔良<sup>1,3</sup> 陳忠偉<sup>2</sup> 方懷聖<sup>1</sup> 黃士元<sup>1</sup> 翁仁憲<sup>2,\*</sup>

Shau-Lian Wong<sup>1,3</sup>, Chung-Wei Chen<sup>2</sup>, Huai-Sheng Fang<sup>1</sup>,  
Shy-Yuan Hwang<sup>1</sup> and Jen-Hsien Weng<sup>2,\*</sup>

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

<sup>2</sup> 中國醫藥大學 台中市學士路 91 號

<sup>3</sup> 國立中興大學生命科學系 台中市國光路 250 號

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> China Medical University, Taichung, Taiwan

<sup>3</sup> Department of Life Science, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan

\* 通訊作者: jhweng@mail.cmu.edu.tw

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

摘 要

桃實百日青(*Podocarpus nakaii*)為台灣特有種，僅侷限在低海拔 300-1,000m 之闊葉樹林中，已被列為瀕臨絕滅級。為探討其對環境變遷之適應能力，本研究以培育於 10%、50% 及 100% 日照環境下之小苗為材料，在 10°C 及 25°C 之溫度下，各以 100、200、500 及 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD 之光照照射 30 min，再暗處理 30 min，期間以葉綠素螢光儀測定其光系統 II (PSII) 效能之變化情形。同時也以高光合能力之台灣赤楊(*Alnus formosana*)作為對照，探討兩種植物在光照下之光合速率與 PSII 效能之關係。結果顯示，無論在光合作用尚未達穩定狀態之照光初期，或已達穩定狀

態之光照後期，光合速率與PSII效能間均呈極顯著之正相關。此外，PSII效能之下降幅度會隨光度增加及溫度降低而增大，此下降又以於遮蔭程度越大處培育者越劇。在適溫及低光下，光抑制引起之PSII效能降低百分率只有1-2%左右。隨著溫度降低及光度上升，光抑制引起之PSII效能降低百分率會隨PSII效能之降低呈上彎之指數曲線增加。其中，於100%日照培育之桃實百日青個體，在10°C及1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD下，其光抑制引起之PSII效能降低百分率更可達28%左右。此現象或為桃實百日青只分布於低海拔之原因。由於葉綠素螢光能反映植物之光合速率及生態習性，測定簡便迅速，有利於生態生理研究。

## Abstract

*Podocarpus nakaii* is endemic to Taiwan, and grows strictly in broad-leaf forests at 300-1,000m above the sea level. It has been listed in the extinction-class by IUCN (International Union for Conservation of Nature) as an endangered species. For interpreting its adaptation to environmental changes, seedlings of *P. nakaii* were incubated for 30 minutes at different intensities of sunlight (10%, 50% and 100%), artificial illumination (100, 200, 500 and 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), and temperature (10 and 25°C), and then, followed by a 30 minutes dark recovery period. The efficiency of photosystem II (PSII) was assessed with the measurement of chlorophyll fluorescence. Also, the photosynthetic rate (Pn) and PSII were measured for *Alnus formosana* at 25°C and 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  photosynthetic photon flux density (PPFD) as the references. The results indicated that the efficiency of PSII assessed with chlorophyll fluorescence was closely related to Pn. With the decreasing temperature and increasing PPFD, the efficiency of PSII declined drastically. The decline was more drastic for the seedlings incubated in shade than in full sunlight. At same temperature and light intensity of 25°C and 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD, a portion of the PSII efficiency, due to photoinhibition, declined about 1-2%. However, the declined portion increased exponentially with the decrease in temperature and the increase in PPFD. At 25°C and 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD, the portion rose to about 28% for *P. nakaii* under the full sunlight. The results explained the reason why the distribution of *P. nakaii* is limited at low elevations. Also, the chlorophyll fluorescence measurement was found to be a fast and simple method to estimate photosynthetic rate and ecological behavior of plants for ecological researches.

**關鍵詞：**桃實百日青、葉綠素螢光、光合速率、光抑制、光系統II

**Key words:** *Podocarpus nakaii*, chlorophyll fluorescence, photosynthetic rate, photoinhibition, photosystem II

收件日期：99年9月20日

接受日期：99年12月6日

Received: September 20, 2010

Accepted: December 6, 2010

## 緒 言

植物之光合作用係由光反應(light reactions)及碳反應(carbon reaction)所構成，光反應吸收光能經由光化學反應產生 ATP 及 NADPH，以供碳反應將 CO<sub>2</sub> 固定成醣類。其中光反應可分為光系統 II (photosystem II, PSII) 及光系統 I (photosystem I, PSI)，分別具有反應中心(reaction center)及天線(antenna)系統。當光合作用進行時，先由 PSII 之天線接受光線，將光能傳至反應中心，使水裂解，產生氧及電子。電子會由電子傳遞鏈傳至 PSI。在此過程中，天線所吸收之光能可經由 3 個路徑釋放：一、以熱的形式釋放；二、釋放螢光；三、使用於光化學反應，產生化學能供碳反應使用(Taiz and Zeiger 2006)。當光能傳至光反應中心，若反應中心無法完全利用這些光能於光化學反應時，就會以熱或螢光之形式消散。若無法消散時，過剩光能會導致光抑制(photoinhibition)，使光系統活性、葉綠素螢光值及光合效率降低(Demmig-Adams and Adams III 1992; Long *et al.* 1994)。而植物為了防止過剩光能之危害，在照光後之極短的時間，即 100 sec (Schansker *et al.* 2006) 或數分鐘(Müller *et al.* 2001)內會啟動葉黃素循環(xanthophyll cycle)，調降其光系統之效能，將部分過剩光能以熱之形式消散，此為一種光保護機制(Walters and Horton 1993; Müller *et al.* 2001; Morosinotto *et al.* 2003; Dall' Osto *et al.* 2005)。在光度降低或停止照光後，PSII 效能又會逐漸回升至未照光前之水準。若其 PSII 效能未回升至未照光前之水準，則表示發生光抑制(Roháček and Barták 1999; Maxwell and Johnson

2000)。此光抑制通常會使光合效率降低(Weng *et al.* 2005; Weng 2009)。

過去對植物適應環境之生理反應研究，必須使用多種複雜且操作繁瑣之儀器，費時耗力才可獲得足夠之資訊以資判斷，常對野外現場之研究造成不便。惟近年來之研究結果顯示，無論是 PSII 效能，或反應中心所吸收光能之分配，均能以葉綠素螢光測定技術快速偵知(Demmig-Adams *et al.* 1996; Roháček and Barták 1999; Maxwell and Johnson 2000)。在諸多葉綠素螢光參數之中，Fv/Fm 為葉片經一定時間之暗處理後所測得，可代表 PSII 之潛在光化學效能，其值之高低可用作推估光抑制之程度(Roháček and Barták 1999; Maxwell and Johnson 2000)。許多研究顯示，冬季之低溫逆境下，在黎明未照光前所測得之 Fv/Fm 值均會隨季節性之溫度下降而降低，而此 Fv/Fm 值亦通常與針葉樹之光合能力呈顯著之正相關(Weng *et al.* 2005; Weng 2009)。而在光照下測得之  $\Delta F/F_m'$  則可代表光照下之實際光化學效能，可用來推估光照下 PSII 所吸收的光能中實際能被光化學反應利用之比例(Demmig-Adams *et al.* 1996; Solhaug and Haugen 1998; Maxwell and Johnson 2000; Kato *et al.* 2002; Kato *et al.* 2003)。Weng (2009) 已證實，無論是 C<sub>3</sub> 或 C<sub>4</sub> 型植物，在相同光度下比較時， $\Delta F/F_m'$  均與光合速率呈顯著之正相關。由於葉綠素螢光之測定具有簡單、迅速、非破壞性且儀器輕巧，適合於野外使用等特點，且可對一固定葉片進行長期重複追蹤，知悉植物吸收光能後的分配與利用情形，了解外在環境對植物光合能力之影響，為生態生理研究之利器(Demmig-Adams *et al.* 1996;

Maxwell and Johnson 2000; Weng *et al.* 2005; Weng 2006)。

桃實百日青(*Podocarpus nakaii*)為台灣原生羅漢松科植物中之特有種。由於其族群分布小且實際占有面積少，更因生育地被嚴重隔離，因此專家學者依照 1994 年 IUCN 物種瀕危等級評估之標準，將其列為瀕臨絕滅級(Endangered, EN)(呂 1996)。經調查，僅侷限在低海拔 300-1,000m 之闊葉樹林中(黃 2001)，且係在林下更新，幼苗很少出現在空曠處，由於分布狹隘對生育地要求嚴苛，其對環境變遷之適應能力如何，亟需評估。故本研究以其為對象，將小苗培育於不同光環境下，在不同溫度及不同光度下測定其葉片之葉綠素螢光反應，並探討其生理變化，期能提供保育及全球環境變遷下因應之基本資料。

## 材料與方法

### 一、材料及處理

本研究除了桃實百日青之外，尚同時以廣布於台灣各海拔，且光合速率高(Liao and Weng 2002)之台灣赤楊(*Alnus formosana*)供作比較。其中，桃實百日青種子採自蓮華池，海拔高約 576-925m 處，經 5°C 層積後播種於濕水苔，再移植於容積約 0.7L 之塑膠鉢中培育 3 年，再篩選大小及外形較一致者移植於容積 5L 之塑膠硬盆。介質為其原生地表土。將材料置於南投-集集，於 3 種不同遮光強度下培育：(一)完全曝露在日曬下，即 100%日照；(二)使用尼龍製遮光網過濾 50%陽光，即 50%日照；(三)使用尼龍製遮光網過濾 90%陽光，即 10%日照。所有材料在培育 3 個月後進行測定。而台灣赤楊則是直接採集生長於蓮華池，海拔高約 576-925m 處之一至二年生苗木，盆植於南投集集，在 100%日照之光環境下培育。

### 二、測定方法

#### (一) PSII 效能與光合速率之關係

本項以培育於 100% 及 10% 日照強度下之桃實百日青，以及 100% 日照強度下之台灣赤楊為材料，於測定前 1 日傍晚，將其搬進室內暗處，次晨選取健康、完全展開之上位葉，在 8:30-16:00 於室內以可攜式光合作用測定儀(LI-6400, LI-COR, USA)，搭配內建光源及螢光偵測器之 LI-COR/6400-40 同化箱，同時測得葉綠素螢光及光合速率。測定過程係先將葉片夾在同化箱中，測得暗適應下葉片之最小( $F_0$ )及最大( $F_m$ )螢光值，再以內建光源照射 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF 之光度 30 min，期間每隔 2 min 記錄光合速率及葉綠素螢光值[光照下之最小( $F_0'$ )、最大( $F_m'$ )與穩定( $F_s$ )螢光放射值] 1 次。測定中空氣流速為 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，相對溼度為 70±5%，葉溫為 25°C，實驗地點之大氣  $\text{CO}_2$  濃度為 360-400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ，未加人工控制。各測定 5 重覆，至少使用 4 株材料。

#### (二) 不同測定溫度及光度下桃實百日青 PSII 效能之變化及光抑制

本項以培育於 100%、50% 及 10% 日照下之桃實百日青為材料，分別在 2 種溫度及 4 種光照下測定，形成 3×2×4 之處理。其過程為於測定前 1 日傍晚，將其搬進室內暗處，次晨選取健康、完全展開之上位葉，先測定其經過暗適應後之葉綠素螢光，接著再分別移入 10°C 或 25°C 之定溫生長箱中，待受測葉片之葉溫與生長箱溫度達成平衡後，以冷光光源(鹵素燈泡，以光纖導光)分別給予光度 100、200、500 或 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF 照射 30 min，其間每隔 2 min 測 1 次葉綠素螢光值，然後關閉光源，每隔 2 min 測定 1 次暗馴化下之葉綠素螢光值，從第 40 min 至 60 min，則改以每 5 min 測 1 次。葉綠素螢光之測定係以葉綠素螢光儀(pulse amplitude modulate fluorometer, PAM-2100, Walz, Effeltrich, Germany)測得暗適應及光照下之螢光放射值。將上述各項測得之

螢光值，再用下列公式求得能代表生理意義之各項螢光參數(Bilger and Björkman 1990; Demming-Adams *et al.* 1996; Maxwell and Johnson 2000; Müller *et al.* 2001)：

1.  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ ，代表在暗馴化下，PSII之最大光化學潛能，為推估光抑制之指標。
2.  $\Delta F/F_m' = (F_m' - F_s)/F_m'$ ，代表PSII在光照下之實際效能。
3.  $\Delta\Phi_{PSII}\% = [(F_v/F_m)_0 - (\Delta F/F_m')_{30}] / (F_v/F_m)_0 \times 100\%$ ，代表照光 30 min 後 PSII 效能之總降低百分率。
4.  $PI\% = [(F_v/F_m)_0 - (F_v/F_m)_{d30}] / (F_v/F_m)_0 \times 100\%$ ，代表長期光抑制引起之 PSII 效能降低之百分率。

以上， $[(F_v/F_m)_0]$ 為照光前所測得之 PSII 最大潛能， $[(\Delta F/F_m')_{30}]$ 為照光 30 min 所測得之 PSII 實際效能，而 $[(F_v/F_m)_{d30}]$ 為照光 30 min 後關燈，葉片經暗馴化 30 min 所測得之 PSII 潛能。

## 結 果

### 一、PSII 效能與光合速率之關係

將培育於 100% 及 10% 日照強度下之桃實百日青，以及 100% 日照強度下之台灣赤楊，在 25°C 之溫度條件下，以 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF 之固定光照照射 30 min，期間所測得之 PSII 效能( $F_v/F_m$  或  $\Delta F/F_m'$  值)及光合速率之變化情形如圖 1 所示。在照光前，各供試材料之  $F_v/F_m$  值均在 0.8 左右。在開燈後 2 min， $\Delta F/F_m'$  即迅速降低。惟隨後  $\Delta F/F_m'$  會隨光合速率之上昇而逐漸上升，於照光 15-20 min 後，兩者均漸趨穩定。從圖 1 又可看出，在照光期間，無論桃實百日青或台灣赤楊， $\Delta F/F_m'$  及光合速率兩者之變化相當一致。如 10% 日照強度下培養之桃實百日青，在光照初期， $\Delta F/F_m'$  及光合速率兩者之上升幅度均較緩，而光合速率

較高之台灣赤楊葉片，其上升幅度則有較高之趨勢。圖 2 更顯示，若將圖 1 所得之觀測值合併進行相關分析時，相同物種之光合速率與其  $\Delta F/F_m'$  之間呈極顯著之正相關 [ $r=0.778$  (桃實百日青) 及 0.942 (台灣赤楊)， $p<0.001$ ]。若以達到穩定狀態(照光後 22-30 min)之觀測值合併分析，即使兩個生態習性及光合效率各異之物種，其光合速率與  $\Delta F/F_m'$  之間仍呈極顯著之正相關 ( $r=0.970$ ， $p<0.001$ )。

### 二、不同測定溫度及光度下桃實百日青 PSII 效能之變化及光抑制

將培育於 100%、50% 及 10% 日照強度下之桃實百日青，在 10°C 及 25°C 之溫度條件下，以 100、200、500 及 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF 之固定光照下照射 30 min，再暗馴化 30 min，期間所測得之 PSII 效能之變化情形示於圖 3。此圖顯示，在照光前及照光中，PSII 效能之變化趨勢大致與圖 1 所示者相近，惟在 10% 光照下培育，且於 10°C 下測定時，PSII 效能會維持穩定低值不會緩昇。比較在照光 30 min 後，其 PSII 實際效能  $[(\Delta F/F_m')_{30}]$  之降低情形，發現在相同光度下， $(\Delta F/F_m')_{30}$  之降幅以 10°C 較大，25°C 較小。當溫度相同時，隨著測定光度增強，各處理之  $(\Delta F/F_m')_{30}$  之降幅會增大。而測定溫度及光度均相同時，大致以生長於低日照者，其  $(\Delta F/F_m')_{30}$  之降幅有較低之趨勢，惟此差距則隨測定光度之增加而減少。

圖 3 又顯示，各供試材料在照光後再關燈時，在 2 min 內， $F_v/F_m$  先是快速回升，然後則緩升。至關燈 30 min 後，多數  $F_v/F_m$  值  $[(F_v/F_m)_{d30}]$  仍未回復至未照光前之水準，表示有光抑制之發生。從圖 3 之圖形可看出，在光照末期，PSII 效能降低之幅度至少包含了兩大部分，其一為光保護部分，其二為光抑制部分。前者為葉黃素循環所引發之 PSII 效能之向下調節，此部分可在關燈後之極短時間內停止，

使  $F_v/F_m$  值快速回升。而在關燈 30 min 後， $F_v/F_m$  仍無法回復至照光前水準的部分，則是屬於光抑制。圖 3 顯示，無論是 PSII 效能之向下調節，或是光抑制，其程度均隨溫度及光度而異。爲了進一步探討此差異，而且顧及各供

試材料在照光前之  $(F_v/F_m)_0$  值並非完全相同，在此將各供試材料在照光 30 min 後，以其 PSII 之降低幅度  $[(F_v/F_m)_0 - (\Delta F/F_m')_{30}]$  予以標準化，即除以照光前之  $(F_v/F_m)_0$  值再乘以 100%，求得照光 30 min 後 PSII 效能之總降低百分率

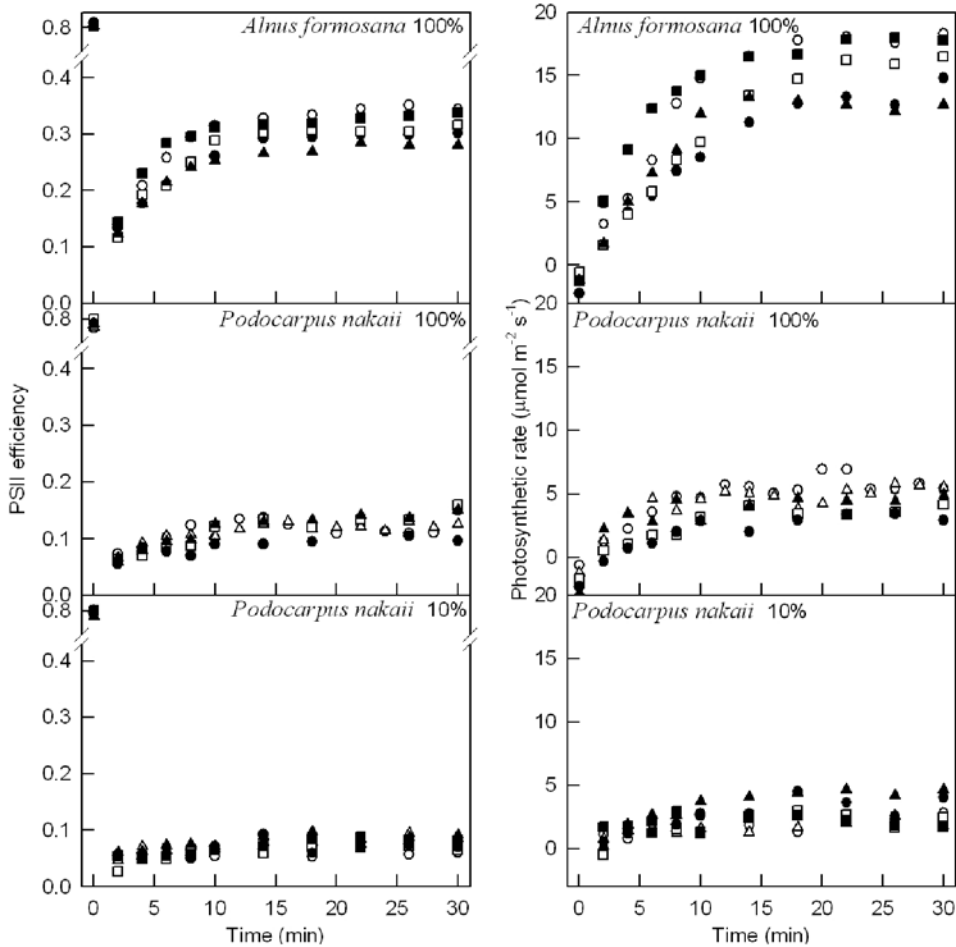


圖 1. 培育於 100% 及 10% 日照強度下之桃實百日青，以及 100% 日照強度下之台灣赤楊，在 25°C 之溫度條件下，於  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF 之固定光照下照射 30 min，期間所測得之 PSII 效能(黑暗下爲  $F_v/F_m$  值，光照下爲  $\Delta F/F_m'$  值)及光合速率之變化情形。不同記號表示不同重複，至少測定 4 株。

**Fig. 1.** Time series variations in PSII efficiency ( $\Delta F/F_m'$  during the light period and  $F_v/F_m$  during the dark period) and photosynthetic rate of *Podocarpus nakaii* incubated at sunlight of 100% and 10%, and *Alnus formosana* at 100%, with a constant temperature of 25°C and a light intensity of  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (different symbols, variant replicates).

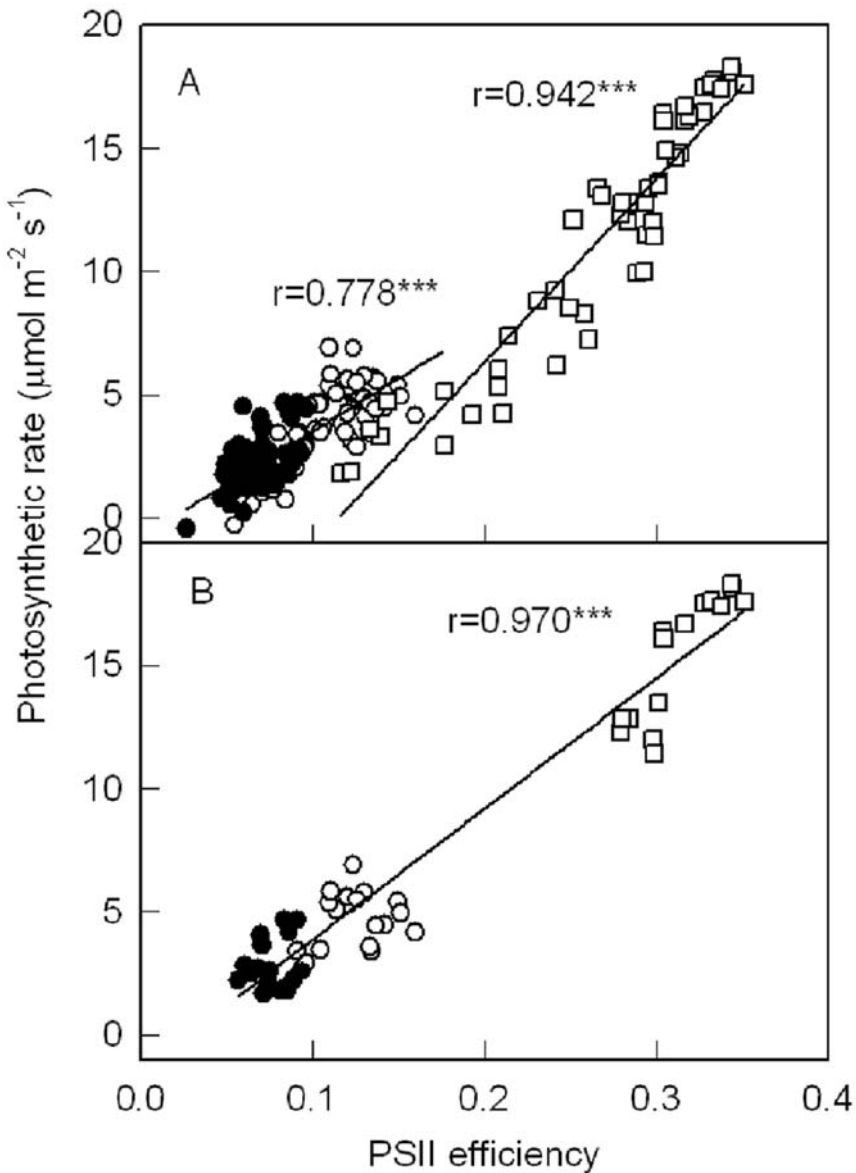


圖 2. 培育於 100% (○)及 10% (●)日照強度下之桃實百日青，以及 100%日照強度下之台灣赤楊(□)，在 25°C 之溫度條件下，於 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFd 之固定光照下照射 30 min，期間所測得之 PSII 效能及光合速率間之關係。A：使用圖 1 所示之所有觀測值。B：使用圖 1 所示達到穩定時(照光後 22-30 min)之觀測值。

**Fig. 2.** The relationships between photosynthetic rates and PSII efficiencies of *Podocarpus nakaii* incubated at 100% (○) and 10% (●) sunlight, and *Alnus formosana* at 100% (□) sunlight (A, all data obtained during the 0-30 minutes experimental period in Fig. 1; B, only the photosynthetically stable data obtained during the 22-30 minutes light period in Fig. 1).

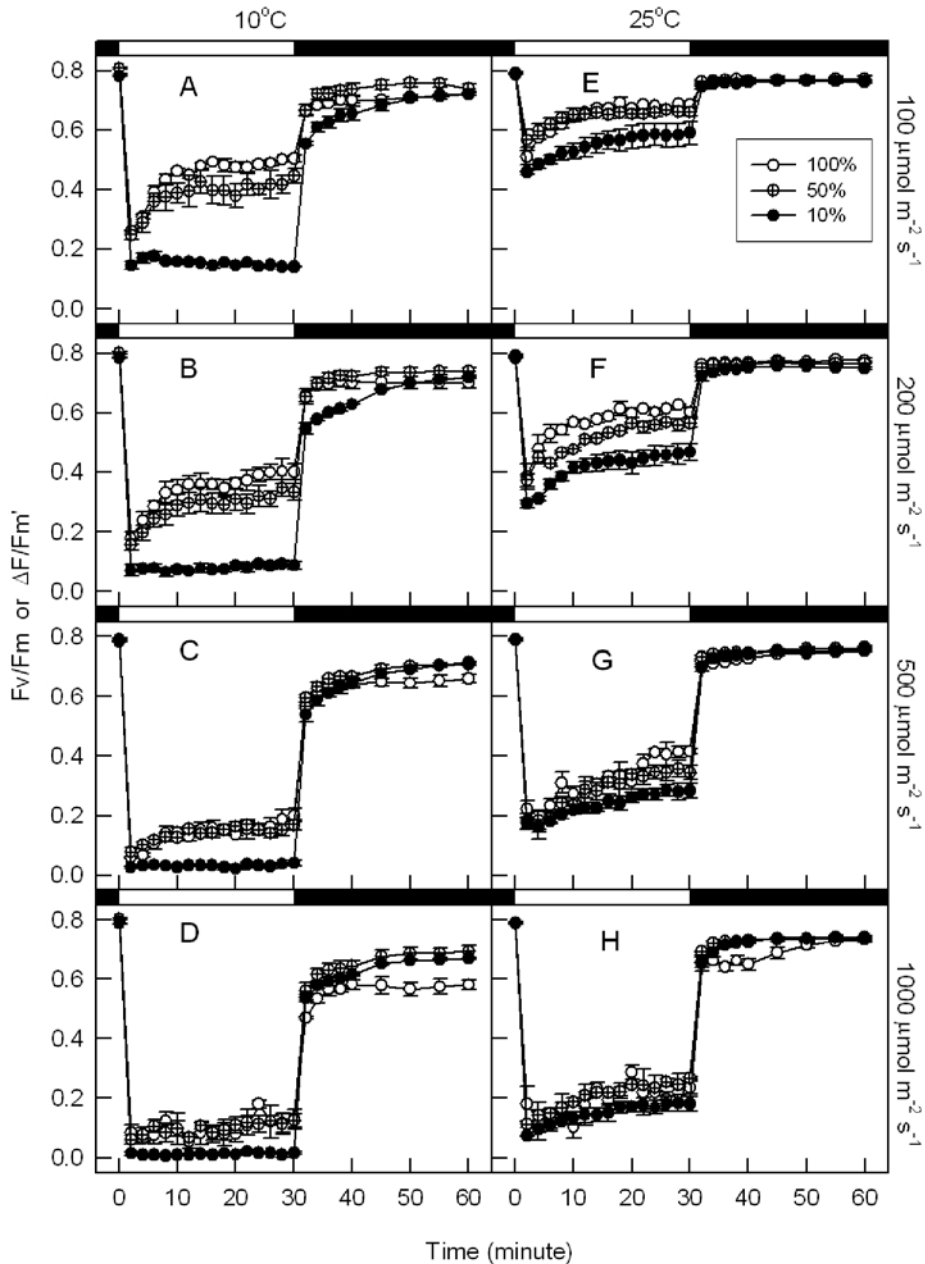


圖 3. 生長於 100% (○)、50% (⊕) 及 10% (●) 日照下之桃實百日青，在照光前之  $F_v/F_m$  及在 10°C 及 25°C 下經 100、200、500 及 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD 等光照強度下照 30 min，以及再經暗處理 30 min 期間 PSII 效能(黑暗下為  $F_v/F_m$  值，光照下為  $\Delta F/F_m'$  值)變化。I: SE (n=4, 各重覆使用不同植株)。

**Fig. 3.** Time series variations in PSII efficiency ( $\Delta F/F_m'$  during the light period and  $F_v/F_m$  during the dark period) of *Podocarpus nakaii* at 100% (○), 50% (⊕) and 10% (●) sunlight, with the temperatures of 10 and 25°C, and the prior illumination of 100, 200, 500 and 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD for 30 min and dark recovery for 30 min (I: SE, n=4).

$\{=[(Fv/Fm)_0-(\Delta F/Fm')_{30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$ 。而因光抑制引起之 PSII 效能降低之百分率，則由關燈 30 min 後之 PSII 效能與未照光前之差值經標準化求得  $\{=[(Fv/Fm)_0-(Fv/Fm)_{d30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$ 。從圖 3 及圖 4 可看出，桃實百日青葉片在適溫(25°C)及  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  之低光照下，其 PSII 效能之總降低幅度最小，最低可至照光前之 10% 左右，然而在低溫(10°C)、高光( $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD)下，則總降低幅度可高至 80% 以上。而於 10% 日照下培育者，更可高至 95% 以上。至於光抑制引起之 PSII 效能降低之百分率，在適溫及低光下，其值只有

1-2% 左右，此值約占 PSII 效能總降低百分率(約 10-20%)之一成左右。隨著溫度降低及光度上升，光抑制引起之 PSII 效能降低百分率會隨 PSII 效能之降低呈上彎之指數曲線關係增加。故在 10°C 之低溫及  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD 之高光下，光抑制引起之 PSII 效能降低百分率一般會上升至 15% 左右，約占 PSII 效能總降低百分率(90-95%)之一成五以上。其中，於 100% 日照環境下培育之桃實百日青個體，其光抑制引起之 PSII 效能降低百分率更可達到 28% 左右，約占 PSII 總降低百分率(約 85%)之三成三左右。

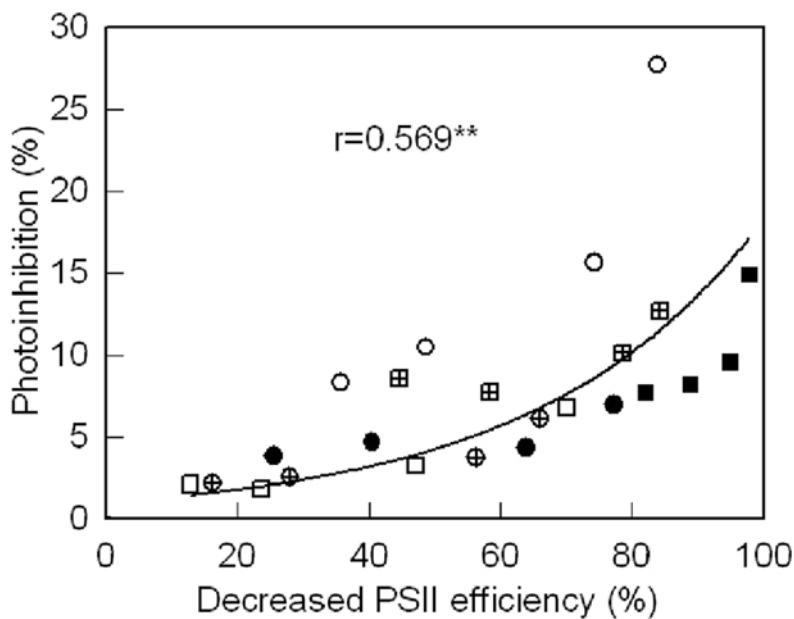


圖 4. 桃實百日青葉片經 100、200、500 及  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD 等光照強度下照射 30 min 後，其 PSII 效能之總降低百分率  $\{=[(Fv/Fm)_0-(\Delta F/Fm')_{30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$ ，及光抑制引起之 PSII 效能降低百分率  $\{=[(Fv/Fm)_0-(Fv/Fm)_{d30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$  之關係。圓形及方形記號各代表於 10°C 及 25°C 下測定。空心、十字心及實心各代表於 100%、50% 及 10% 日照下培育。

Fig. 4. The relationship between declined portions of PSII efficiency due to photoinhibition  $\{=[(Fv/Fm)_0-(Fv/Fm)_{d30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$  and the total decline of the efficiency  $\{=[(Fv/Fm)_0-(\Delta F/Fm')_{30}]/(Fv/Fm)_0 \times 100\}$  of *Podocarpus nakaii* leaves illuminated at 100, 200, 500 or  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD for a 30-minute period (circles and squares, measured at 10°C and 25°C, respectively; open, cross and solid symbols, measured at 100%, 50% and 10% sunlight, respectively).

## 討 論

Fv/Fm 可代表 PSII 之最大光化學潛能，可用以評估 PSII 在逆境下受傷害之程度。植物在未遭受光抑制之情況下，其值約在 0.8 左右 (Björkman and Demmig 1987)。圖 1 及圖 3 均顯示，各供試材料在照光前之 Fv/Fm 值均在 0.8 左右，顯示縱使在測定前日之日照會引光抑制，但經一整夜之暗馴化後 PSII 機能亦已完全回復。

圖 1 及圖 3 顯示，在開燈後 2 min 後即發現各處理之  $\Delta F/Fm'$  會迅速降低，此現象乃在剛照光時，光合作用尚弱，不需太多光能，故迅速引發葉黃素循環，將過剩光能以熱的形式消散，而降低了 PSII 之光化學效能，避免過剩光能傷及光系統，屬於光保護機制 (Demmig-Adams and Adams III 1996; Adams and Barker 1998)。然而，隨著照光時間之增加， $\Delta F/Fm'$  會隨光合速率之增加而逐漸上升，於照光 15-20 min 後，兩者均漸趨穩定。此乃隨著照光時間增加，光合速率逐漸提升，過剩光能逐漸變少所致 (Kalituhu *et al.* 2007)。故綜觀在照光期間，無論桃實百日青或台灣赤楊， $\Delta F/Fm'$  及光合速率兩者之變化相當一致 (圖 1, 圖 2)。

圖 3 顯示，在照光 30 min 後， $(\Delta F/Fm')_{30}$  之降幅以 10°C 較大，25°C 較小。此乃低溫會抑制光合作用之碳反應，使 CO<sub>2</sub> 之固定效率降低，葉片需調降其 PSII 效能，避免過剩光能之危害 (Kao *et al.* 1998; Vogg *et al.* 1998; Lamontagne *et al.* 2000; Demmig-Adams *et al.* 2006)。同理，當溫度相同時，隨著測定光度增強，也會導致過剩光能增加， $\Delta F/Fm'$  之降幅會增大 (Krivosheeva *et al.* 1996; Da' Matta *et al.* 1997; Kao *et al.* 1998; Warren *et al.* 1998)。圖 3 亦顯示，當測定溫度及光度均相同時，大致以生長於低日照者，其  $(\Delta F/Fm')_{30}$  之降幅有較大之趨勢，惟此差距亦隨測定光度之增加而減少。其因可能如圖 1 所示，生長於低光下者通常具有較低之光合能力

(Yamashita *et al.* 2000; Kato *et al.* 2003)，碳反應所需之能量較少所致。在高光下，無論光合速率高或低之葉片，其  $\Delta F/Fm'$  均會降至極低，使  $\Delta F/Fm'$  與光合速率間迴歸方程式之斜率會降低，亦即在高光照下，光反應機能較不易成爲光合作用之限制因子所致 (Taiz and Zeiger 2006)。

在光照下， $\Delta F/Fm'$  與光合速率間之一致性，過去學者包括作者在內亦多有討論 (Oberhuber *et al.* 1993; Kakani *et al.* 2008; Weng 2009)，惟這些研究均屬探討光照已達一定時間，光合作用已達穩定狀態者。圖 2A 顯示，即使在初照光，光合作用尚未達到穩定狀態時，相同物種之光合速率與其  $\Delta F/Fm'$  之間呈極顯著之正相關。圖 2B 亦顯示，即使將兩個生態習性及光合效率各異之物種合併分析，穩定狀態之光合速率與  $\Delta F/Fm'$  之間仍呈極顯著之正相關。此外，固然光合速率與  $\Delta F/Fm'$  間之迴歸方程式斜率會隨光度增強而降低 (Weng 2009)，惟文獻顯示，即使於不同條件下，包括溫度 (Farage *et al.* 2006; Kakani *et al.* 2008)、光度 (Farage *et al.* 2006; Kakani *et al.* 2008) 及 CO<sub>2</sub> 濃度 (Kakani *et al.* 2008)，將測定之數據混合分析時，單位光子之 CO<sub>2</sub> 固定效率 (Pn/PPFD) 與  $\Delta F/Fm'$  之間會呈顯著之正相關。有鑑於此，藉由葉綠素螢光測定之  $\Delta F/Fm'$  可用於推估單位光子之 CO<sub>2</sub> 固定效率，由於測定只需數秒時間，儀器又輕便，非常適合於野外應用。

經高光照再予以暗處理一段時間後，偏陽性物種或生長於較高光照下之植株，其 Fv/Fm 之回復通常有較佳之趨勢，表示陰性物種較易受到光抑制 (Yamashita *et al.* 2000; Cai and Xu 2002; Demmig-Adams *et al.* 2006)。本研究結果顯示，在 25°C 下測定時，經光照 30 min 再經 30 min 之暗馴化後，於不同日照下培育者，其 (Fv/Fm)<sub>430</sub> 值並無顯著差異。但在 10°C 下，當測定光照達 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上時，生長於 100% 日照之 (Fv/Fm)<sub>430</sub> 反較其他 2 種光處理爲

低(圖 3C-D)，表示在全日照下生長之桃實百日青，在低溫且強光之環境下，其光抑制會趨嚴重(圖 4)。此現象反映了桃實百日青只分布於低海拔之現況。造成此種光抑制特別嚴重之原因，可能是因為在低溫下碳反應受到抑制，PSI 還原部分的電子與氧氣作用產生活性氧(reactive oxygen species, ROS)，抑制 PSII 之 D1 蛋白質的修復，因此在低溫和強光下光抑制會更趨嚴重(Takahashi and Murata 2008)。另在低溫及強光下，植物除了可藉葉黃素循環消散過剩光能之外，尚有其他生理機制，如利用抗氧化系統清除過剩光能產生之自由基，以保護光系統，減少光抑制(Demmig-Adams and Adams III 1996; Müller-Moulé *et al.* 2004; Holt *et al.* 2005)，惟本研究並未作此方面之探討。由於葉綠素螢光能反映植物之光合速率及生態習性，測定簡便迅速，有利於生態生理研究。

## 引用文獻

- 黃士元。2001。叢花百日青及桃實百日青分布之調查研究(2/2)。九十年年度試驗研究計畫執行成果。行政院農業委員會特有生物研究保育中心。
- 呂勝由。1996。台灣稀有及瀕危植物之分級-彩色圖鑑(I)。行政院農業委員會印行。
- Adams, W. W. and D. H. Barker. 1998. Seasonal changes in xanthophyll cycle-dependent energy dissipation in *Yucca glauca* Nuttall. *Plant Cell and Environment* 21: 501-511.
- 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 O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- Cai, S. Q. and D. Q. Xu. 2002. Light intensity-dependent reversible down-regulation and irreversible damage of PSII in soybean leaves. *Plant Science* 163: 847-853.
- Da' Matta, F. M., M. Maestri, P. R. Mosquim and R. S. Barros. 1997. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. *Plant Science* 128: 43-50.
- Dall' Osto, L., S. Caffarri and R. Bassi. 2005. A Mechanism of nonphotochemical energy dissipation, independent from PsbS, revealed by a conformational change in the antenna protein CP26. *The Plant Cell* 17: 1217-1232.
- Demmig-Adams, B. and W. W. Adams III. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599-626.
- Demmig-Adams, B. and W. W. Adams III. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198: 460-470.
- 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.
- 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.

- Farage, P. K., D. Blowers, S. P. Long and N. R. Baker. 2006. Low growth temperatures modify the efficiency of light use by photosystem II for CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of two chilling-tolerant C<sub>4</sub> species, *Cyperus longus* L. and *Miscanthus* × *giganteus*. *Plant and Cell Environment* 29: 720-728.
- Holt, N. E., D. Zigmantas, L. Valkunas, X. P. Li, K. K. Niyogi and G. R. Fleming. 2005. Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting. *Science* 307: 433-436.
- 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.
- Kakani, V. G., G. K. Surabhi and K. R. Reddy. 2008. Photosynthesis and fluorescence responses of C<sub>4</sub> plant *Andropogon gerardii* acclimated to temperature and carbon dioxide. *Photosynthetica* 46: 420-430.
- Kao, W. Y., T. T. Tsai and W. H. Chen. 1998. Response of photosynthetic gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Miscanthus floridulus* (Labill) Warb. to temperature and irradiance. *Journal of Plant Physiology* 152: 407-412.
- 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.
- Krivosheeva, A., D. L. Tao, C. Ottander, G. Wingsle, S. L. Dube and G. Öquist. 1996. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine. *Planta* 200: 296-305.
- Lamontagne, M., F. J. Bigras and H. A. Margolis. 2000. Chlorophyll fluorescence and CO<sub>2</sub> assimilation of black spruce following frost in different temperature and light condition. *Tree Physiology* 20: 249-255.
- Liao, T. S. and J. H. Weng. 2002. Ecophysiological characteristics of Taiwan alder (*Alnus formosana* Makino) seedlings adapted to the subtropical region. *Tree Physiology* 22: 355-362.
- Long, S. P., S. Humphries and P. G. Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 633-662.
- Maxwell, K. and G. M. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Morosinotto, T., S. Caffarri, L. Dall'Osoto and R. Bassi. 2003. Mechanistic aspects of the xanthophyll 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.
- Müller-Moulé, P., T. Golan and K. K. Niyogi. 2004. Ascorbate-deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress. *Plant Physiology* 134: 1163-1172.

- Oberhuber, W., Z. Y. Dai and G. E. Edwards. 1993. Light dependence of quantum yields of Photosystem II and CO<sub>2</sub> fixation in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Photosynthesis Research* 35: 265-274.
- Roháček, K. and M. Barták. 1999. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: Basis concepts, useful parameters, and some application. *Photosynthetica* 37: 339-363.
- Schansker, G., S. Z. Tóth and R. J. Szilvia. 2006. Dark recovery of the Chl a fluorescence transient (OJIP) after light adaptation: The qT-component of non-photochemical quenching is related to an activated photosystem I acceptor side. *Biochimica et Biophysica Acta* 1757: 787-797.
- Solhaug, K. A. and J. Haugen. 1998. Seasonal variation of photoinhibition of photosynthesis in bark from *Populus tremula* L. *Photosynthetica* 35: 411-417.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. *Photosynthesis: Physiology and Ecological Considerations*. *Plant Physiology* 4<sup>nd</sup>. pp. 125-165.
- Takahashi, S. and N. Murata. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trend in plant science* 13:178-182.
- Vogg, G., R. Heim, T. Hansen, C. Schafer and E. Beck. 1998. Frost hardening and photosynthetic performance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles I. Seasonal changes in the photosynthetic apparatus and its function. *Planta* 204: 193-200.
- Walters, R. G. and P. Horton. 1993. Theoretical assessment of alternative mechanisms for non-photochemical quenching of PSII fluorescence in barley leaves. *Photosynthesis Research* 46: 119-139.
- Warren, C. R., M. J. Hovenden, N. J. Davidson and C. L. Beadle. 1998. Cold hardening reduces photoinhibition of *Eucalyptus nitens* and *E. pauciflora* at frost temperature. *Oecologia* 113: 350-359.
- Weng, J. H., T. S. Liao, K. H. Sun, C. C. Chung, C. P. Lin and C. H. Chu. 2005. Seasonal variation in photosynthesis of *Picea morrissonicola* grown in sub-alpine of subtropical Taiwan. *Tree Physiology* 25: 973-979.
- Weng, J. H. 2006. Underestimate of PS2 efficiency in the field due to high leaf temperature resulting from leaf clipping and its amendment. *Photosynthetica* 44: 467-470.
- Weng, J. H. 2009. Relationship between allocation of absorbed light energy in PSII and photosynthetic rates of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Acta Physiologia Plantarum* 31: 639-647.
- 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.



# Supplements to the Genus *Microstegium* Nees (Poaceae: Andropogoneae) of Taiwan

## 台灣產莠竹屬禾草補註

Chih-Hui Chen<sup>1,3</sup>, Jan Frits Veldkamp<sup>2,\*</sup> and Chang-Sheng Kuoh<sup>3</sup>

陳志輝<sup>1,3</sup> Jan Frits Veldkamp<sup>2,\*</sup> 郭長生<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> Netherlands Centre of Biodiversity-Naturalis, sect. National Herbarium of the  
Netherlands, Leiden University, 2300 RA Leiden, The Netherlands

<sup>3</sup> Department of Life Sciences, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

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

<sup>2</sup> Netherlands Centre of Biodiversity-Naturalis, sect. National Herbarium of the  
Netherlands, Leiden University, 2300 RA Leiden, The Netherlands

<sup>3</sup> 國立成功大學生命科學系 台南市大學路1號

\* Corresponding author: veldkamp@nhn.leidenuniv.nl

\* 通訊作者: veldkamp@nhn.leidenuniv.nl

## Abstract

For the genus *Microstegium* Nees (Poaceae: Andropogoneae) of Taiwan, four known species have been verified. They are *Microstegium ciliatum* (Trin.) A. Camus, *Microstegium fauriei* (Hayata) Honda, *Microstegium geniculatum* (Hayata) Honda and *Microstegium vimineum* (Trin.) A. Camus. This paper described additional two species, *Microstegium spectabile* (Trin.) A. Camus and *Microstegium tenue* (Trin.) Hosok, as the supplements to the *Microstegium* flora of Taiwan. *M. spectabile* is a replacement of misidentified endemic species *M. okamotoi* Honda, while *M. tenue* is a new record. Also, a key to the six valid species of the genus *Microstegium* of Taiwan and line drawings of the two supplementary species are provided for identification.

## 摘要

台灣產禾本科莠竹屬植物已確認的有剛莠竹、法利莠竹、膝曲莠竹及柔枝莠竹4種，本文增補2種，大莠竹及纖細莠竹。大莠竹是先前發表的 *Microstegium okamotoi* 的正確鑑定，纖細莠竹則是新紀錄種。本文並提供全屬6個種類之檢索表及增補的2個種類的手繪圖。

**Key words:** *Microstegium spectabile*, *Microstegium tenue*, Andropogoneae, Poaceae, Taiwan

**關鍵詞：**大莠竹、纖細莠竹、蜀黍族、禾本科、台灣

Received: August 9, 2010

Accepted: December 6, 2010

收件日期：99年8月9日

接受日期：99年12月6日

## Introduction

There are a total of 17 known species in the genus *Microstegium* Nees (Poaceae: Andropogoneae) from tropical and subtropical Asia, Africa, Australia, and some of the Pacific islands (Clayton and Renvoize 1986; Koyama 1987; Watson and Dallwitz 1992; Hsu 2000). Of them eight species have been reported from Taiwan (Hsu 1975, 1978, 2000). Of these species we regard *Microstegium glaberrimum* (Honda) Koidz. and *Microstegium dilatatum* Koidz. as synonyms of *Microstegium ciliatum* (Trin.) A. Camus and *Microstegium vimineum* (Trin.) A. Camus, respectively. Besides, *Microstegium japonicum* (Miq.) Koidz. was a species recently added to the *Microstegium* flora of Taiwan by Chen and Kuoh (2007), but it was later found to belong to the genus *Leptatherum* Nees by Chen *et al.* (2009). The similar cases were found for *Microstegium nudum* (Trin.) A. Camus and *Microstegium somae* (Hayata) Ohwi (Chen *et al.* 2009).

*M. okamotoi* Honda was described by Honda

(1942) as an endemic species to Taiwan, based on a single collection from Kaohsiung County. Since then, the species has never been found (Hsu 1975, 1978; Koyama 1987; Hsu 2000; Chen and Phillips 2006). We examined the type specimens of *M. okamotoi* deposited at herbarium, University of Tokyo (TI) and found it to be synonymous to *M. spectabile* (Trin.) A. Camus.

Also, there were four unidentified collections from Tsao-Pu, Hengchun Peninsula and deposited at the herbarium of National Taiwan University (TAI) (TAI 137740, 137741, 137742 collected by C. C. Hsu, Oct. 9, 1960, and TAI 016186 by S. Sasaki, Oct. 20, 1934). We examined the specimens and identified them as *M. tenue* (Trin.) Hosok., a new record to Taiwan. Since 1960, however, this species has never been collected.

This paper provides a key to the six valid species of the genus *Microstegium* of Taiwan, with the descriptions and drawings of *M. tenue* and *M. spectabile*, the two new members to the flora of Taiwan.

**A key to the species of the genus *Microstegium* from Taiwan**

- 1. Pedicel margins glabrous; rachis internodes obviously longer than the lower sessile florets.
  - 2. Leaf-blade surfaces glabrous .....*Microstegium fauriei*
  - 2. Leaf-blade surfaces tomentose .....*Microstegium geniculatum*
- 1. Pedicel margins ciliate; rachis internodes shorter than the lower sessile florets.
  - 3. Rachis internodes pyriform; anther 1 .....*Microstegium tenue*
  - 3. Rachis internodes linear; anthers 3.
    - 4. Culms decumbent; awns geniculate .....*Microstegium vimineum*
    - 4. Culms rambling; awns flexuous.
      - 5. Leaf blades linear, 5-10 cm long, 0.8-1.5 cm wide; upper palea present; culms of moderate stature; lower glume apex obtuse .....*Microstegium ciliatum*
      - 5. Leaf blades narrowly lanceolate, 10-15 cm long, 1.5-2.5 cm wide; upper palea absent; culms robust; lower glume apex acute .....*Microstegium spectabile*

**1. *Microstegium spectabile* (Trin.) A. Camus 大莠竹(Fig. 1)**

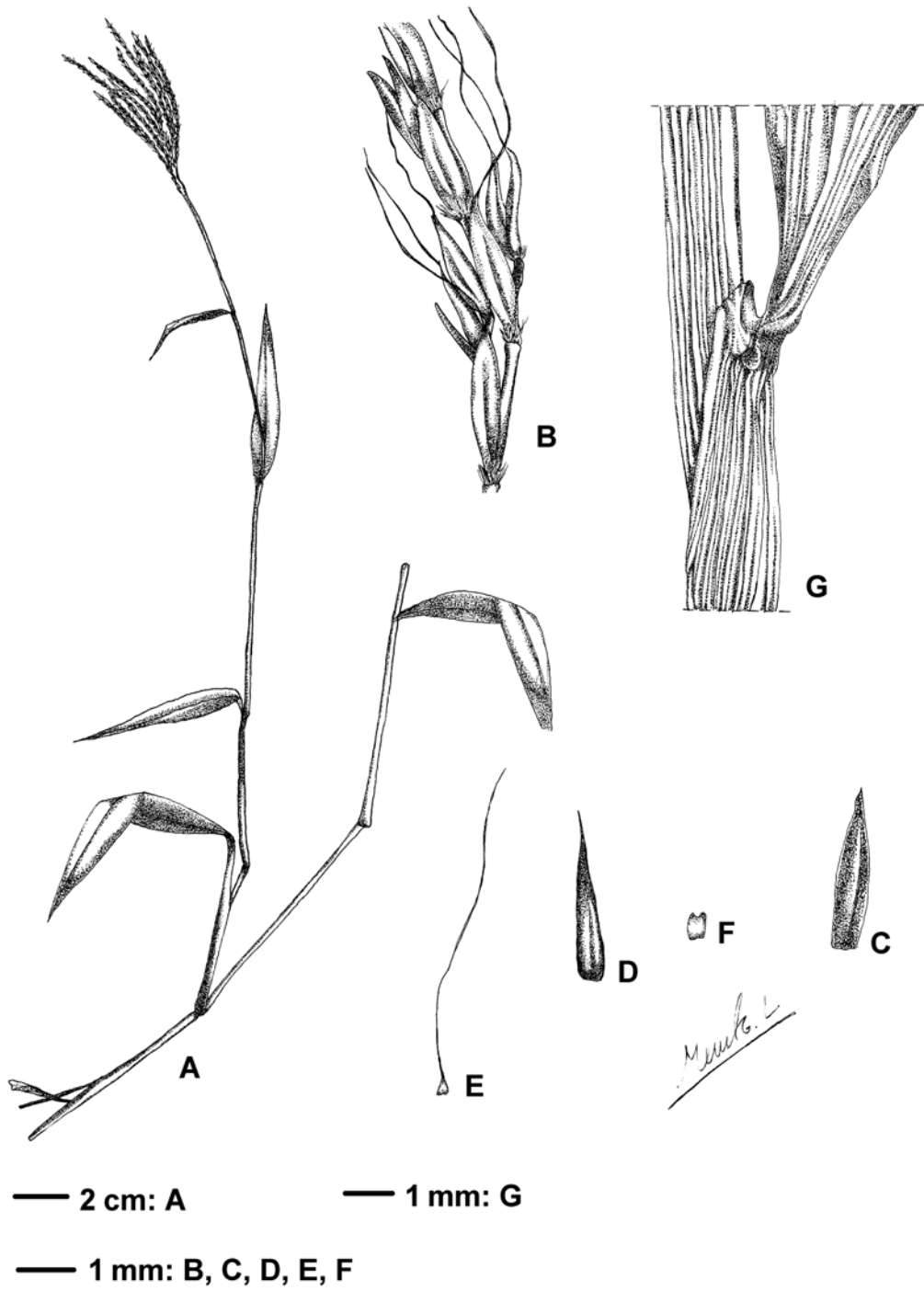
*Microstegium spectabile* (Trin.) A. Camus. Ann. Soc. Linn. Lyon II, 68: 200. 1921; Hosok., J. Soc. Trop. Agric. 7: 310. 1935. Isonyms: *Pollinia spectabilis* Trin. Mém. Acad. Imp. Sci. St. Pétersbourg VI, Sci. Math. 2: 305. 1832; *Eulalia spectabilis* Kuntze. Revis. Gen. Pl. 2: 775. 1891 [*Pogonatherum glabratum* (Brongn.) Roberty subvar. *spectabile* Roberty. Boissiera 9: 389. 1960, nom. inval.]. Type: *Mertens in Herb. Trinius 57.1* (LE, microfiche IDC BT-16/1).

*Pollinia spectabilis* Trin. var. *ternatana* Backer in Heyne, Nutt. Pl. Ned.-Ind. 1: 113. 1922. Reprint 37. Type: *Beguin 73* (BO, holo).

*Microstegium spectabile* (Trin.) A. Camus forma *cryptochaetum* Ohwi. Bot. Mag. (Tokyo) 55: 550. 1941. Type: *Hatusima 11084* (FU, holo).

*Microstegium okamotoi* Honda. Bot. Mag. (Tokyo) 56: 16. 1942. Type: *Okamoto 1* (TI, holo) Annuals. Mat-forming. Culms rambling, robust, 100-170 cm long, rooting from lower nodes. Nodes glabrous. Sheaths glabrous; outer

margin glabrous or hairy; oral hairs absent or ciliate. Ligule a glabrous membrane, c. 1 mm long. Blades firm, lanceolate, 10-18 cm by 10-20 mm; base attenuate to slightly rounded, pseudopetiole absent; margins scabrous; apex acute to acuminate, glabrous. Panicle 7-14 cm long, common axis 1-2.5 cm long. Racemes 10-40, digitate, ascending, straight, 7-10 cm long. Rachis fragile, semiterete; margins ciliate; internodes linear, 2.7-3.3 mm long. Sessile spikelets without a short stalk, deciduous with the adjacent joint and pedicel, oblong to lanceolate, 2.5-4 mm long; callus pilose. Lower glume oblong to lanceolate, coriaceous; midrib ciliolate, dorsally longitudinally grooved, smooth, glabrous, margins glabrous; apex acute, entire. Upper glume elliptic; back acute, glabrous; midrib glabrous; apex entire, attenuate, muticous or mucro, c. 1 mm long. Lower florets absent or present, paleate or barren, epaleate. Lower lemma absent to present, oblong, c. 0.5 mm long, muticous. Upper lemma linear, c. 1 mm long, without veins, glabrous; apex entire; awn apical, flexuous, column absent, 4-10 mm long. Upper palea absent or minute. Anthers 3, 1.5-2 mm long. Pedicels linear,



**Fig. 1.** *Microstegium spectabile* (Trin.) A. Camus: A, habit; B, spikelets; C, lower glume; D, upper glume; E, upper lemma with long flexuous awn; F, upper palea; G, joint of leaf sheath and leaf blade.

flattened, 2-2.5 mm long; margins pubescent. Pedicelled spikelets subequal to sessile ones.

Distribution: Burma, Hong Kong, Sumatra, Borneo, Celebes, Philippines (Luzon, Mindanao), Lesser Sunda Isl. (Flores), Moluccas (Halmaheira, Ternate), New Guinea (wide spread), Micronesia (Solomon Islands).

Habitat: Young secondary rain forest, sandy flood banks, 1,500-2,000m alt.

**Taiwan specimens examined:** TAIPEI: Mt. Chanchu (Mt. Toad), *Nakamura 2907* (TAI); *Suzuki 6283* (TAI). NANTOU: Hsitou, *C. H. Chen 5637* (TAIE). CHIAYI: *Chuang & Wu s.n.* Oct. 21, 2001 (NCKU). KAOHSIUNG: Shanping, *C. S. Kuoh 15381* (NCKU). PINGTUNG: Mt. Liding, *S. Z. Yang 29813* (PPI), *C. H. Chen 6040* (TAIE). HU-ALIEN: Tienhsiang, *Shimizu & Kao 10557* (TAI); Hualien Port, *Kawakami s.n.* Oct. 1909 (TAI); Fuyuan, *P. C. Wang 15381* (NCKU).

**2. *Microstegium tenue* (Trin.) Hosok 纖細莠竹 (Fig. 2)**

*Microstegium tenue* (Trin.) Hosok. Trans. Nat. Hist. Soc. Formosa 28: 150. 1938; Jansen, Reinwardtia 2: 307. 1953. Isonyms: *Pollinia tenuis* Trin. Mém. Acad. Imp. Sci. St. Pétersbourg VI, Sci. Math. 2: 306. 1832; *Eulalia tenuis* Kuntze. Revis. Gen. Pl. 2: 775. 1891 [*Pogonatherum glabratum* (Brongn.) Roberty subvar. *tenue* Roberty, Boissiera 9: 389. 1960, nom. inval.]. Type: *Chamisso 24* in *Herb. Trinius 58.1* (LE, microfiche IDC BT-16/1; W).

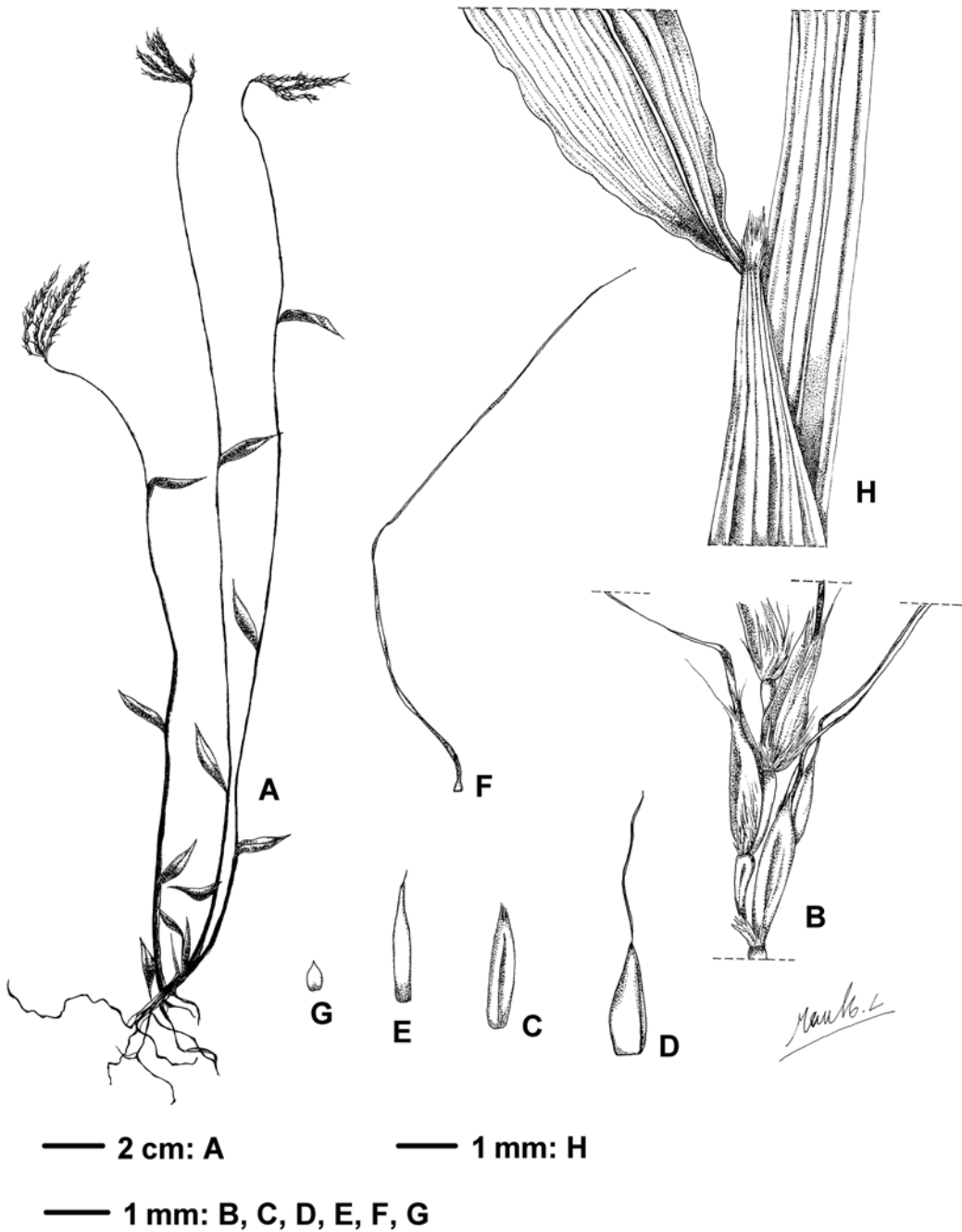
*Pleuroplitis producta* Griseb. in Ledeb. Fl. Ross. 4 (1853) 478. Isonym: *Andropogon productus* (Griseb.) Regel. Bull. Acad. Imp. Sci. Saint-Pétersbourg 5: 760. 1866, t. 2, f. 16-21. Type:

*Eschscholtz s.n.* (LE, holo).

Annuals. Mat-forming. Culms rambling, weak, 20-100 cm long, rooting from lower nodes. Nodes glabrous. Sheaths glabrous; outer margins glabrous; oral hairs absent or ciliate. Ligule a glabrous membrane, c. 1 mm long. Blades firm, linear or lanceolate, 4-20 cm by 4-8 mm; base attenuate to slightly rounded; pseudopetiole absent; margins scabrous; apex acute to acuminate, glabrous to sparsely pilose on both sides, with tubercle-based hairs. Panicle 3-5 cm long, common axis c. 0.5 cm long. Racemes 2-4, digitate, ascending, straight, 2-5 cm long. Rhachis fragile, flattened; margins ciliate; internodes pyriform, 1.5-2 mm long. Sessile spikelets without a short stalk, deciduous, with the adjacent joint and pedicel that are lanceolate, 2-3 mm long; callus puberulous. Lower glume oblong to lanceolate, coriaceous; midrib glabrous; the dorsal longitudinally grooved, smooth, glabrous; margins glabrous; apex entire or dentate. Upper glume elliptic; the back acute, glabrous; midrib glabrous; apex entire, acute; mucro 1-3 mm long. Lower florets present, well-developed, paleate or barren, epaleate. Lower lemma lanceolate, c. 1.5 mm long, muticous. Upper lemma lanceolate, c. 0.3 mm long, without veins, glabrous; apex entire; awn geniculate; column twisted, 7-12 mm long. Upper palea absent or minute. Anthers 1, c. 0.5 mm long. Pedicels clavate, flattened, c. 1.5 mm long; margins pubescent. Pedicelled spikelets variously reduced.

Distribution: Philippines (Luzon) to Micronesia (Kosrae).

Habitat: Dry open slopes, cliffs, 0-1,200m alt.



**Fig. 2.** *Microstegium tenue* (Trin.) Hosok.: A, habit; B, spikelets; C, lower glume; D, upper glume; E, lower lemma; F, upper lemma with awn; G, upper palea; H, joint of leaf sheath and leaf blade.

**Taiwan specimen examined:** PINGTUNG: Tsao-Pu, *Sasaki s.n.* Oct. 20, 1934 (TAI); C. C. Hsu 1075 (TAI).

## Acknowledgements

The authors are grateful to the curators of the herbarium of Natural History Museum (BM), Royal Botanic Garden Edinburgh (E), Biodiversity Research Center, Academia Sinica, Taipei (HAST), Royal Botanic Gardens Kew (K), Kyoto University (KYO), Museum National d'Histoire Naturelle (P), National Pingtung University of Science and Technology (PPI), National Taiwan University (TAI), Forestry Research Institute (TAIF), University of Tokyo (TI) and National Museum of Natural Science (TNM) for their kind assistances and allowing us to examine the specimens in their care. This study is sponsored by the fund of Ministry of Education and Council of Agriculture, R.O.C.

## Literature Cited

- Chen, C. H. and C. S. Kuoh. 2007. *Microstegium japonicum* (Miq.) Koidz. as a newly recorded grass to Taiwan. *Endemic Species Research* 8(1): 77-80.
- Chen, C. H., J. F. Veldkamp, C. S. Kuoh, C. C. Tsai and Y. C. Chiang. 2009. Segregation of *Leptatherum* from *Microstegium* (Andropogoneae, Poaceae) confirmed by Internal Transcribed Spacer DNA sequences. *Blumea* 54: 175-180.
- Chen, S. L. and S. M. Phillips. 2006. *Microstegium* Nees. pp. 593-598. In: Z. Y. Wu and P. R. Raven (eds.). *Flora of China*. Vol. 22, Science Press, Beijing, China.
- Clayton, W. D. and S. A. Renvoize. 1986. *Genera Graminum, Grasses of the World*. Her Majesty's Stationery Office, London.
- Honda, M. 1942. Nuntia ad Floram Japoniae XLVI. *Botanical Magazine (Tokyo)* 56: 14-18.
- Hsu, C. C. 1975. *Taiwan Grasses*. Taiwan Provincial Education Association, Taipei.
- Hsu, C. C. 1978. *Microstegium*. pp. 671-676. In: H. L. Li, T. S. Liu, T. C. Huang, T. Koyama and C. E. DeVol (eds.). *Flora of Taiwan*. Vol. 5. Epoch Publishing Co., Taipei.
- Hsu, C. C. 2000. *Microstegium*. pp. 562-567. In: D. E. Boufford, C. F. Hsieh, T. C. Huang, C. S. Kuoh, H. Ohashi and H. J. Su (eds.). *Flora of Taiwan*. Vol. 5, 2nd edition. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Dept. Bot. National Taiwan University, Taipei.
- Koyama, T. 1987. *Grasses of Japan and Its Neighboring Regions, an Identification Manual*. Kodansha LTD., Tokyo.
- Watson, L. and M. J. Dallwitz. 1992. *The Grass Genera of the World*. Cab International, Wallingford.



## *Lobelia cliffortiana* L. (Campanulaceae) a Newly Naturalized Plant in Taiwan

### 台灣桔梗科的新歸化植物—克氏半邊蓮

Tsai-Wen Hsu<sup>1</sup>, Tzen-Yuh Chiang<sup>2</sup> and Ching-I Peng<sup>3, \*</sup>

許再文<sup>1</sup> 蔣鎮宇<sup>2</sup> 彭鏡毅<sup>3, \*</sup>

<sup>1</sup> Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

<sup>2</sup> Department of Life Sciences, Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

<sup>3</sup> Biodiversity Research Center, Academia Sinica, Taipei, Taiwan

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

<sup>2</sup> 國立成功大學生物學系 台南市大學路1號

<sup>3</sup> 中央研究院生物多樣性研究中心 台北市研究院路二段128號

\* Corresponding author: bopeng@sinica.edu.tw

\* 通訊作者：bopeng@sinica.edu.tw

## Abstract

*Lobelia cliffortiana* L. is a weed belonging to the family Campanulaceae and native to Central America. It was recently found in the central region of Taiwan. This paper describes this newly naturalized weed with field photographs for aiding its identification.

## 摘要

本文報導最近在台灣中部發現原產於中美洲之新歸化種—克氏半邊蓮(*Lobelia cliffortiana* L.)。克氏半邊蓮為桔梗科植物，有可能成為入侵植物，宜早防除。本文提供本植物的描述、彩色照片以資辨識。

**Key words:** Campanulaceae, *Lobelia cliffortiana*, naturalized plant, Taiwan, taxonomy

**關鍵詞：**桔梗科、克氏半邊蓮、歸化植物、台灣、分類

Received: August 4, 2010

Accepted: December 13, 2010

收件日期：99年8月4日

接受日期：99年12月13日

## Introduction

Seven genera, 13 species, and a naturalized species have been reported for the family Campanulaceae in the second edition of “Flora of Taiwan” (Lammers 1998). Of them, the genus *Lobelia* has five known species. In our recent plant inventory survey of Taiwan, an additional weedy species *Lobelia cliffortiana* L. was found to have naturalized in the central region of the island. This paper provides a taxonomic account of *L. cliffortiana* with the field photographs for aiding identification of this potentially aggressive weed.

## Taxonomic Treatment

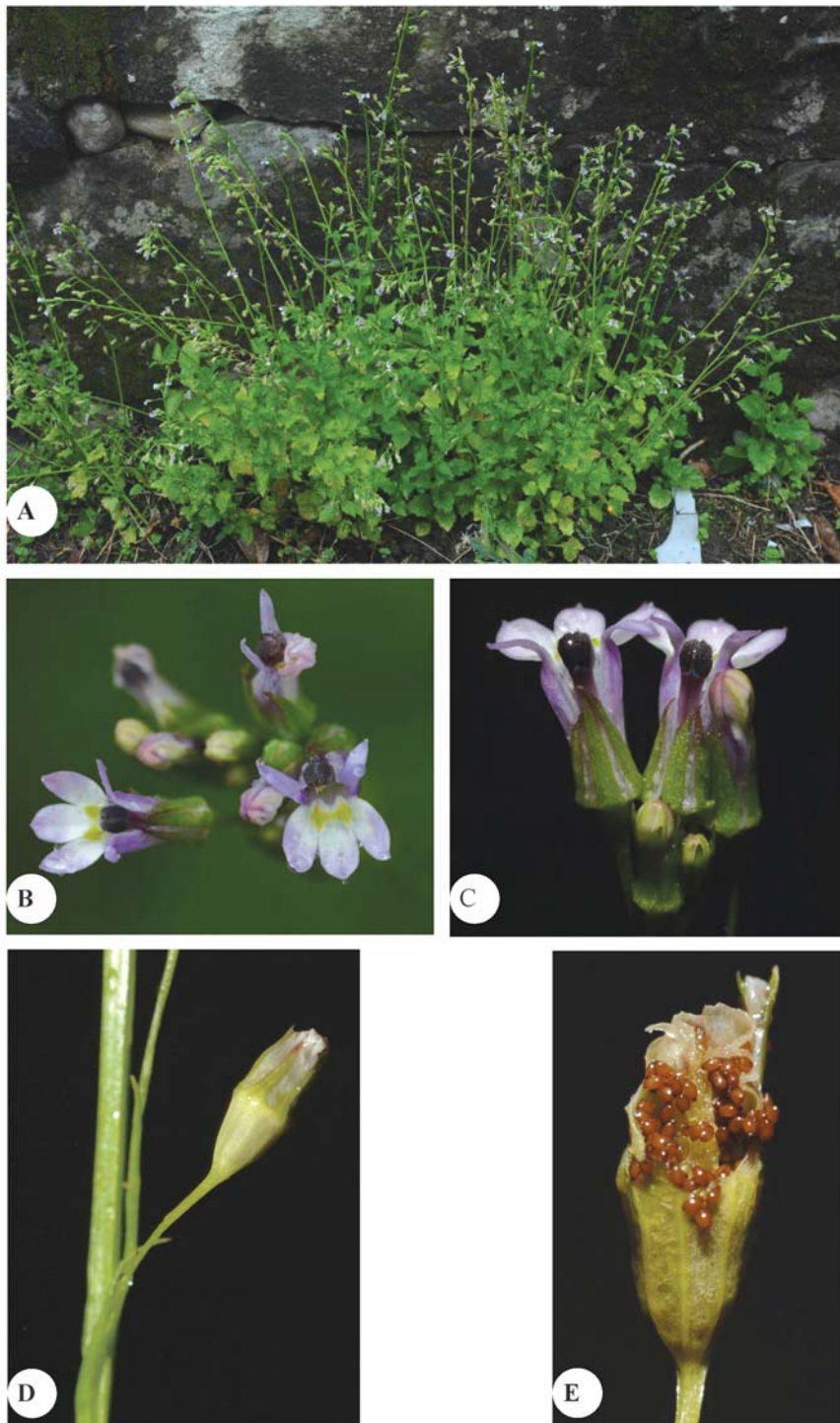
*Lobelia cliffortiana* L., Sp. Pl. 2: 931. 1753. 克氏半邊蓮(新擬中名) Fig. 1.

*Lobelia tetragona* Bl., Bijdr. 729. 1826.

Herbs annual; stem erect, branched, angular, glabrous. Leaves alternate; petiole 0.5-2 cm, semicircle, slightly winged; blades broadly ovate, 1.5-2.5 cm long, 1-2 cm wide, apex acute to obtuse, base obtuse to cordate, margins serrate; lateral veins ca. 3 pairs. Racemes terminal; florets numerous up to 50; peduncle long or short, up to

6 cm; flower buds slender, light pink. Bract 1, acicular, ca. 5 mm long. Pedicel slender, ca. 1 cm long, glabrous. Calyx 5-lobed, lobes elongate deltoid, ca. 3 mm long, 0.8 mm wide. Corolla mauve, bilaterally symmetric, base connate into a tube, 4 mm long, with 2 lips; lower lip larger, with 3 lobes, each oblong, ca. 2 mm long, 1 mm wide, faucal part of each lobe corniculate, green; upper lip with 2 lobes, each deltoid-acicular, ca. 1.2 mm long, 0.3 mm wide. Stamens 5, exerted, filaments light pale purple, ca. 3 mm long; base separate, two on abaxial side, densely pubescent at base, the rest 3 glabrous. Anthers connate around the style, dark purple, ca. 1 mm long; upper three abaxially pubescent, apex glabrous; lower two nearly glabrous, with long hairs apically, perigynous, base fused with calyx tube, glabrous, angulate; style 3 mm long, glabrous; stigma shallowly 2-lobed, lower part with a pubescent ring; ovary 2-locular, placentation axile, ovules many. Capsule oblong-globose, ca. 7.7 mm long, 2.7 mm in diameter.; seeds numerous, each small, 0.4 mm long, 0.2 mm across, oblong-globose, glabrous.

**Specimen examined:** TAIWAN. Nantou County: Lugu Hsiang (鹿谷鄉), Alt. 376m, 1 April 2008, *Hsu 13726* (TAIE).



**Fig. 1.** Habit (A), adaxial (B) and abaxial (C) views of the flowers, and fruit (D) and seeds (E) of *Lobelia cliffortiana* L.

Remarks: *L. cliffortiana* is native to Cuba, Hispaniola and Jamaica (McVaugh 1940). It has been introduced as an ornamental plant to Old World on very early dates and seems to have frequently been naturalized (Moeliono and Tuyn 1960).

For the genus *Lobelia* in Taiwan, three

species, *L. cliffortiana*, *L. alsinoides* subsp. *hancei* and *L. seguinii*, are shared with a character of erect stems. Their salient characters are compared in Table 1. *L. cliffortiana* has petiolate leaves distinguishable from *L. alsinoides* subsp. *hancei* and *L. seguinii* that have sessile leaves.

**Table 1.** A comparison of salient characters among *L. cliffortiana*, *L. alsinoides* ssp. *Hancei*, and *L. seguinii* from Taiwan

Characters	<i>L. cliffortiana</i>	<i>L. alsinoides</i> ssp. <i>hancei</i>	<i>L. seguinii</i>
Leaf	Distinctly petiolate	Sessile	Sessile
Length (cm)	0.5-2	0.4-3.5	6-23
Flowers	Many (to 50), in terminal racemes	Solitary, axillary	In terminal racemes
Corolla length (cm)	0.4	0.5-0.8	2.5-3
Anthers	Only the lower two with apical traichomes	All with apical trichomes	Only the lower two with apical traichomes
Seeds	Globose-oblongoid	Distinctly trigonous	Ellipsoid

## Acknowledgements

We are thankful to Mr. M. I Weng and Ms. S. C. Xen for improving the manuscript. This study was supported in part by the research grant of the National Science Council (NSC 97-2321-B-329-004) and Council of Agriculture, Taiwan.

## Literature Cited

- Cosner, M. E., L. A. Raubeson and R. K. Jansen. 2004. Chloroplast DNA rearrangements in Campanulaceae: Phylogenetic utility of highly rearranged genomes. *BMC Evolutionary Biology* 4: 27.
- Lammers, T. G. 1998. Campanulaceae. pp. 775-800. *In*: D. E. Boufford, C. F. Hsieh, T. C. Huang, P. P. Lowry II, H. Ohashi and C. I Peng (eds.). *Flora of Taiwan*, Vol. 4. 2nd edition. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Dept. Bot. National Taiwan University, Taipei.
- McVaugh, R. 1936. Studies in the taxonomy and distribution of the eastern North American species of *Lobelia*. *Rhodora* 38: 241-263, 276-298, 305-329, 346-362.
- McVaugh, R. 1940. A Key to the North American Species of *Lobelia* (Sect. Hemipogon). *American Midland Naturalist* 24: 681-702.
- Moeliono, B. A. and P. L. Tuyn. 1960. Campanulaceae. pp. 107-141. *In*: C. G. G. J. van Steenis (ed.). *Flora of Malesiana Ser. I. Vol. 6*. Rijksherbarium, Leyden Holland.
- Rosatti, T. J. 1986. The genera of Sphenocleaceae and Campanulaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 67: 1-64.

# 《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，但以未曾在其他刊物發表之原創研究為限。
- 二、本刊為季刊，每年 1 月、4 月、7 月及 10 月出版，隨時接受投稿。
- 三、撰稿中、英文均可，來稿請寄送完整文稿紙本 1 式 3 份或以電子檔案傳送(e-mail: tjbd@tesri.gov.tw)。原圖、表及以紙本投稿者之電子檔案俟審查通過後再通知寄送。
- 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，但經刊登之文稿贈送抽印本 50 份，作者如需額外的抽印本，可於校稿時登記份數，並負擔其費用。
- 六、來稿由本刊送請相關學者專家審查、簽註意見或修改，如須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、來稿請寄：南投縣集集鎮(郵遞區號 552)民生東路 1 號特有生物研究保育中心「台灣生物多樣性研究」期刊編輯委員會收。

## 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 3cm，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，標題須中英文並列，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：柳樞、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 published quarterly (January, April, July and October) 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 3 copies of manuscript by mail to the Editor-in Chief, Endemic Species Research Institute, No.1, Ming-Shen East Road, Jiji, Nantou 552, Taiwan, or by online in WORD format to the e-mail address: tjbd@tesri.gov.tw. However, the original high quality photos should be sent by mail.
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.
5. Fifty reprints will be supplied free of charge to corresponding author once at the time of publication.

## **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 <sup>1</sup>, <sup>2</sup>, \*, #, 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.