

113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測

Monitoring of the Reproductive Life-History of the *Hynobius arisanensis*



(本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見)

內政部國家公園署玉山國家公園管理處
中華民國 113 年 12 月

113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測

Monitoring of the Reproductive Life-History of

the *Hynobius arisanensis*

受委託單位：國立臺灣大學

計畫主持人：朱有田教授

計畫期程：中華民國 113 年 2 月至 113 年 12 月

計畫經費：新臺幣 89 萬元

內政部國家公園署玉山國家公園管理處委託辦理

中華民國 113 年 12 月

(本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見)

目錄

表目錄	3
摘要	4
Abstract	6
第一章 緒論	9
第一節 計畫緣由	9
第二節 計畫目標	10
第三節 前人研究	10
第二章 材料與方法	19
第一節 阿里山山椒魚域內圈養，活動型態與繁殖情形	19
第二節 阿里山山椒魚親緣地理研究	23
第三節 規劃園區永久樣區標準化調查方法與監測調查	27
第四節 阿里山山椒魚解說摺頁設計	27
第三章 結果與討論	33
第一節 阿里山山椒魚域內圈養、記錄圈養個體活動型態及生殖情形	33
第二節 阿里山山椒魚親緣地理研究	48
第三節 規劃園區永久樣區標準化調查方法與監測調查	58
第四章 結論	63
第五章 經營管理建議	64
參考文獻	65
附錄一、阿里山山椒魚解說摺頁設計	70
附錄二、期末報告審查會議紀錄	72
附錄三、期末報告審查意見處理情形	78

圖目錄

圖 1、以微核磁共振造影進行圈養雌性阿里山山椒魚的性別判定。.....	12
圖 2、以微核磁共振造影進行圈養雄性阿里山山椒魚的性別判定。.....	12
圖 3、觀霧山椒魚與阿里山山椒魚棲地圈養成功繁殖。.....	13
圖 4、臺灣五種山椒魚粒線體細胞色素 b 基因核苷酸全長序列 Maximum likelihood 親緣關係樹。.....	14
圖 5、以12個微衛星標記進行阿里山山椒魚族群分派檢定。.....	18
圖 6、塔塔加棲地圈養阿里山山椒魚早期生活史。.....	35
圖 7、塔塔加棲地生態箱圈養山椒魚活動模式。.....	36
圖 8、塔塔加生態箱圈養山椒魚幼體的體重變化趨勢。.....	37
圖 9、圈養山椒魚的體長變化曲線。.....	39
圖 10、新設置的棲地圈養生態箱。.....	40
圖 11、六隻雄性阿里山山椒魚生殖影像資料。.....	44
圖 12、四隻雌性阿里山山椒魚生殖影像資料。.....	46
圖 13、性別未知阿里山山椒魚生殖影像資料。.....	47
圖 14、玉山國家公園內與園區周遭阿里山山椒魚分布區域。.....	55
圖 15、玉山國家公園內與園區周遭阿里山山椒魚遺傳分化潛在分群數。.....	56
圖 16、阿里山山椒魚分派檢定結果。.....	57
圖 17、山椒魚測量形值位置示意圖。.....	62
圖 18、山椒魚 VIE-tag 標記施打位置示意圖。.....	62

表目錄

表 1、阿里山山椒魚12個微衛星基因座標記之多型性資訊分析.....	16
表 2、族群分派檢定樣本來源資訊.....	18
表 3、人工圈養環境設置.....	22
表 4、阿里山山椒魚解說摺頁設計.....	27
表 5、來自30個不同樣區之113隻阿里山山椒魚採集地資訊.....	52
表 6、以20組表現序列微衛星標記進行阿里山山椒魚遺傳結構分析解釋能力..	53
表 7、玉山國家公園內與園區周邊阿里山山椒魚基因交流檢測.....	54
表 8、阿里山山椒魚分佈與數量調查紀錄表.....	61

摘要

1921年日本學者安東伊三次郎第一次發現阿里山山椒魚，但百年來未曾有人紀錄牠們完整的早期生活史。缺乏早期生活史的資料，無法由生長體型變化預測牠們的年齡，更無法知道牠們繁殖棲地的生活條件，進行有效的保育管理。為瞭解阿里山山椒魚早期生活史，我們研究團隊執行2020至2022年國家公園署「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」、2023年「阿里山山椒魚域內生活史調查」計畫，與2024年「113年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」計畫。這三個計畫讓我們可以在塔塔加鞍部的山椒魚棲地內進行圈養繁殖試驗，連續兩年（2022年與2023年）在棲地內成功繁殖山椒魚並進行早期生活史、外表形質變化與生長曲線資料收集。本計畫「阿里山山椒魚域內生活史調查」延續過去於塔塔加地區阿里山山椒魚域內圈養的基礎，繼續觀察記錄圈養山椒魚幼體變態過程與生長發育情形。對生殖生態學（Reproductive ecology）的瞭解，是擬定山椒魚繁殖棲地保育策略重要參考依據，同時提供演化適應的基礎資訊。在阿里山山椒魚的遺傳親緣地理學研究方面，臺灣的山椒魚棲地都分佈在中高海拔的天空島嶼（sky island），皆呈現小族群且不連續的隔離在臺灣複雜的高山地形，經歷久遠演化歷史，牠們成為研究種化歷史與機制的寶貴且獨特的模型，更可提供臺灣特有物種種化與親緣地理科普教育重要素材。阿里山山椒魚的地理分布位在小鯢科物種中的最南端，分布範圍與分佈海拔是臺灣所有山椒魚中最廣，北至中央山脈北端的千卓萬山與卡社大山、南至北大武山。東至六順山，向西分佈橫跨中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈。阿里山山椒魚地理分佈的特性顯示牠們是研究親緣地理學理想模型，可幫助瞭解臺灣的山椒魚如何在臺灣多樣的地理環境中演化分歧的機制。

在早期生活史的研究資料收集，塔塔加棲地內的圈養山椒魚分別於2022年9月1日、2022年12月6日與2023年11月23日順利產下三叢卵串。第一叢卵串於產卵後約60天順利孵化，於產卵後111天完成變態，離開水體上岸。第二叢卵串於2023年2月18日順利孵化（74天）。第三叢卵串於產卵後約82天順利孵化，於產卵後135天完成變態，離開水體上岸。第一叢卵與第三叢卵串完整記錄到孵化過程、親代護卵行為、胚變態與離開水體進行陸域生活過程。第一叢卵於孵化後（2023年）2月小山椒魚的體長（吻部至尾末）約3.2公分與體重約0.18克；2023年8月體長已

經達4.21公分，體重0.5克；2024年4月體重平均達0.75克，體長達5公分；2024年9月體重平均達0.95克，體長平均達5.5公分。

在族群遺傳結構與遺傳多樣性分析方面。我們過去利用臺灣五種山椒魚的 mRNA 轉錄體開發20組具有多形性的跨物種微衛星標記，收集分析來自中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈30個不同樣區的阿里山山椒魚。利用20組轉錄組微衛星基因座（標記），分析來自中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈共113隻阿里山山椒魚個體。分派檢定分析結果顯示阿里山山椒魚的遺傳結構分成六至八群時具有較高的分群可信賴值。治茆山西巒大山山系與北大武山與其他地區遺傳特徵明顯不同；玉山國家範圍內塔芬谷、轆轤谷至塔關山成為一群；馬路巴讓西峰、馬利加南山至馬布谷也分成獨特一群；大水窟山到南營地也形成獨特的一群；特別的是從中央山脈的南面山往西，玉山南峰、塔塔加、特富野到阿里山，這一群的阿里山山椒魚的遺傳特徵也跟臺灣其他地區的阿里山山椒魚擁有很不一樣的遺傳特徵。我們也針對這些不同的遺傳類群，進行基因交流分析，結果顯示大部分地區的族群間交流不顯著，但較多的基因交流發生在由中央山脈玉山山脈往南面山往西，玉山南峰、塔塔加的族群。我們目前已擬定玉山林道永久樣區監測範圍、標準化調查方法並定期進行監測調查。在摺頁設計方面亦已完成摺頁設計文稿。這些資料顯示，玉山國家公園內擁有高聳複雜的山系，造就非常高的阿里山山椒魚遺傳多樣性。

Abstract

In 1921, Japanese research Dr. Ando first discovered Alishan salamander. However, over the past century, no one has documented their complete early life history. The lack of such data prevents the prediction of their age and habitat conditions based on morphological changes, as well as an understanding of the living conditions in their breeding habitats, which are crucial for effective conservation management. To study the early life history of the Alishan salamander, our research team undertook several projects: the "High Mountain National Park Salamander Distribution, Genetic Structure, and Biological Investigation" from 2020 to 2022, the "Investigation of life history for *Hynobius arisanensis*" in 2023, and the "Monitoring of the Reproductive Life History of the Alishan Salamander" project. These research projects enabled us to conduct captive breeding trials in the salamander habitat at Tataka region. Successfully, breeding salamanders in situ for two consecutive years (2022 and 2023). This allowed us to study their early life history, morphological changes, and growth curves of the *Hynobius arisanensis*. The "Investigation of life history for *Hynobius arisanensis*" project builds on the previous work in the Tataka region, continuing to observe and document the metamorphosis and growth of captive larvae of salamanders. Understanding reproductive ecology is critical for formulating conservation strategies for salamander breeding habitats and provides foundational information on evolutionary adaptation. In terms of phylogeography study on the Alishan salamander, Taiwan's salamander habitats are located on sky islands landscape at mid-to-high altitudes. These populations are small and isolated in Taiwan's complex mountainous, which has undergone long evolutionary histories. These salamanders serve as a valuable and unique model for studying speciation history and mechanisms. They also offer an important resource for science education on the speciation and phylogeography of Taiwan's endemic species. The Alishan salamander represents the southernmost distribution of Hynobiidae species. Its range and elevation span the widest among Taiwanese salamanders, extending from Ganzhuowanshan and Kashedashan in the northern Central Mountain Range to Beidawu Mountain in the south. It reaches as far east as Liushun Mountain and spans westward across the Central Mountain Range, Jade Mountain Range, and Alishan Mountain Range. The geographic distribution of the Alishan salamander highlights its suitability as a model for phylogeographic studies, helping to understand how Taiwanese salamanders have evolved and diversified across

the island's diverse geographic environments.

During the study of the early life history of the Alishan salamander, three egg sac clutches were successfully laid by captive salamanders in the Tataka habitat on September 1, 2022, December 6, 2022, and November 23, 2023, respectively. The first clutch hatched successfully approximately 60 days after laying and completed metamorphosis 111 days post-laying, transitioning from an aquatic to a terrestrial lifestyle. The second clutch hatched on February 18, 2023, after 74 days. The third clutch hatched approximately 82 days post-laying and completed metamorphosis 135 days post-laying, transitioning to terrestrial life. For the first and third clutches, detailed records were kept of the hatching process, parental care behavior, embryo metamorphosis, and the transition to terrestrial life. After hatching, the salamanders from the first clutch reached an average total length (snout-vent length) of approximately 3.2 cm and a weight of 0.18 g by February 2023. By August 2023, their average length had increased to 4.21 cm, and their weight to 0.5 g. By April 2024, they had an average weight of 0.75 g and a length of 5 cm. By September 2024, their average weight reached 0.95 g, and their average length was 5.5 cm.

In the analysis of population genetic structure and genetic diversity, we previously developed 20 polymorphic cross-species microsatellite markers using transcriptome sequences from five salamander species in Taiwan. These markers were applied to study Alishan salamanders from 30 different sampling sites across the Central Mountain Range, Jade Mountain Range, and Alishan Mountain Range. Using the 20 microsatellite loci, we successfully analyzed 113 individual Alishan salamanders from these regions. The assignment test results revealed that when the Alishan salamanders were divided into six to eight groups, the clustering showed high confidence. Genetic characteristics from Zhimaoshan, Xiluandashan, and Beidawushan were distinctly different from those in other regions. Within the boundaries of Yushan National Park, Tafan Valley, Lulu Valley, and Taguanshan formed one genetic group. Another distinct group included populations from Marubajian West Peak, Malijianan Mountain, and Mabu Valley. Similarly, the populations in Dashueikushan formed another unique genetic group. Notably, populations spanning the southern face of the Central Mountain Range westward, including Mt. Jade South Peak, Tataka, Tefuye trail, and Alishan, exhibited genetic characteristics markedly distinct from Alishan salamanders in other parts of Taiwan. Gene flow analyses of these genetic groups indicated limited gene exchange between most regions. However, higher levels of gene flow were observed in

populations from the southern face of the Central and Jade Mountain Ranges, extending westward to Mt. Jade South Peak and Tataka. We have now established permanent monitoring plots along the Yushan Forest Road, standardized survey methods, and implemented regular monitoring programs. Additionally, the design of informational leaflets has been completed. These findings underscore the exceptional genetic diversity of Alishan salamanders, fostered by the towering and complex mountainous systems within Yushan National Park.

第一章 緒論

第一節 計畫緣由

阿里山山椒魚是世界上小鯢科山椒魚分佈最南界的物種。雖然牠是臺灣地理分佈最廣，數量最多的山椒魚，但至本計畫進行前，沒有任何研究記錄到牠們的繁殖與早期生活史資訊。1921年日本學者安東伊次三郎在阿里山地區發現第一隻阿里山山椒魚，至今已超過100年，但牠的繁殖與早期生活史資訊，至本研究進行前都未被揭露，可見牠在野外棲地的繁殖行為極為隱密。根據文獻推測，阿里山山椒魚應該是在地底伏流產卵，所以在野外難被發現。另外，目前臺灣五種山椒魚早期發育與有關性成熟年齡的研究皆闕如。我們團隊執行2020至2022年營建署國家公園（現稱內政部國家公園署）跨域整合計畫：「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」，針對三個高山型國家公園進行臺灣五種山椒魚跨區域的棲地分布、遺傳結構與生態學調查。我們進行阿里山山椒魚與觀霧山椒魚自然棲地域內圈養試驗，期待研究瞭解牠們的繁殖與早期生活史。圈養環境與棲地內氣溫、濕度、氣壓與光照相似，降低異地圈養的變異。本研究的主要目的之一：利用棲地內圈養繁殖，藉此收集山椒魚繁殖所需水溫、氣溫與環境資訊。同時收集山椒魚幼體變態後陸域生活的前兩年生長曲線與身體斑紋顏色變化資料。這些幼體的早期行為觀察、生長曲線資料（如體長、體重與斑紋），可作為未來利用體型量測資料來估算臺灣的山椒魚年齡將會有很大的助益。根據過去的研究資料，顯示臺灣山椒魚、楚南氏山椒魚與觀霧山椒魚的野外繁殖生活史研究，孵化時間約3個月，變態期也約3個月。瞭解繁殖期的生殖行為，擇偶偏好，護卵行為，都有助於瞭解臺灣的山椒魚演化歷程與棲地需求。

臺灣五種山椒魚都是特有種且分佈在中高海拔的天空島嶼（sky island），族群間的交流受到很大限制。臺灣的山椒魚受到狹長且複雜高山的地形的隔離，加上累積久遠的演化歷史（選拔與適應），形成現在這五種型態與顏色不同的特有種山椒魚，並分別分佈於臺灣不同的中高海拔山區，呈鄰域或部分共域分布。這五種特有種山椒魚大部分棲地都不重疊，但有些地理區域的族群有遺傳分化後再二次接觸（secondary contact）的證據，如從卡社大山到關門山之間的棲地是楚南氏與阿里山山椒魚再次接觸的區域。二次接觸的資料提供一個窗口可讓我們研究牠們在臺灣種化歷史與機制。

阿里山山椒魚棲地位在小鯢科山椒魚分布的最南端，分布緯度範圍與分佈海拔是臺灣所有山椒魚中最廣的山椒魚物種。北至中央山脈北端的干卓萬山與卡社大山、南至北大武山，向西分佈在玉山山脈一直延伸至阿里山山脈，東至六順山。阿里山山椒魚是五種山椒魚中棲地最多樣，這些特性顯示研究阿里山山椒魚的親緣地理學，可幫助瞭解臺灣多樣的地理環境阿里山的山椒魚演化歷史與造成遺傳分歧原因。

第二節 計畫目標

- 一、於塔塔加管理站進行阿里山山椒魚域內圈養，觀察記錄圈養阿里山山椒魚生長、活動模式與繁殖行為。
- 二、進行園區內阿里山山椒魚的族群結構、族群分化與遺傳多樣性分析。
- 三、規劃園區永久樣區標準化調查方法並進行監測調查。
- 四、完成阿里山山椒魚解說摺頁設計(中文內容)，作為管處保育教育宣導用途，預計設計規格為51.3cmX24.0cm，N字5折，彩色雙面印刷(或以機關同意規格為主)。製作本案所需之圖片、文字、美編設計等內容全部由廠商負責攝影、製作、收集，並取得授權。

第三節 前人研究

一、繁殖與生活史研究

小鯢屬山椒魚分佈於溫帶至亞熱帶的東亞地區，臺灣為小鯢屬分佈的最南界(Sato, 1943)，目前計有52種(Frost, 2020)。臺灣共有五種山椒魚，皆為特有種。由於牠們隱蔽的生活習性，繁殖棲地屬於溪流型(Stream-type)棲地，產卵位置位於地底伏流中，因此很難在野外地面棲地觀察到牠們的繁殖、護幼行為與胚的發育過程。過去有關臺灣產的山椒魚生殖生態學研究僅有三篇，其一為Takegawa等人(1985, 1989)將採自松原的楚南氏山椒魚(*Hynobius sonani*)雌雄個體以絨毛膜促性腺激素(HCG)處理後，成功各取得卵串；1988年於翠峰野外棲地找到臺灣山椒魚(*H. formosanus*)，並以同樣方法採集雌雄成體處理後，再次各取得卵串資料，然後簡略描述了圈養條件下的楚南氏山椒魚和臺灣山椒魚的卵和幼體的發生過程。另一文章為呂光洋老師，在玉山國家公園內發現兩窩已孵化，剛變態臺灣山椒魚幼體(依

據其發現之地理點位，判斷應為阿里山山椒魚），並指出山椒魚可能有護幼的行為（Lue and Chuang, 1992）。第三篇為2008年俄羅斯的學者 Vassilieva et al. (2015) 採集臺灣山椒魚在實驗室內進行胚胎發育過程，以及成體的骨骼結構變化的比較。Vassilieva et al. (2015) 在臺研究期間共採集了12叢卵串，文章中對卵串中卵粒數量與形態也做了一些描述。

日本有鑒於氣候變遷與山椒魚棲地環境惡化，近年積極的進行山椒魚人工圈養研究，在棲地內進行域內圈或棲地外進行異域圈養繁殖等經驗都相當豐富（Fukuta et al., 2019）。他們的研究顯示養殖箱內水流、砂粒、產卵場所設置、水溫皆會影響山椒魚的產卵與否。過去，臺灣的研究團隊對已收集相當多的棲地環境資訊，包括溫度、濕度與光照。在這些基礎下，進行人工圈養臺灣的山椒魚，應該可以獲得一些的進展。

山椒魚生活史中繁殖生態學的瞭解，是擬定山椒魚的保育策略與棲地保護的重要參考依據。依過去零星的野外觀察與2020至2022年營建署國家公園跨域整合計畫：「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」研究顯示，楚南氏山椒魚以及臺灣山椒魚的產卵時間都集中在每年2到3月間；觀霧山椒魚集中在12月至3月間。因此，瞭解臺灣的山椒魚繁殖期生活史，必須在每年9月（秋天前）知道個體的性別，才能有效率的進行研究。在臺灣，五種山椒魚皆屬保育類野生動物，難以解剖方式進行性別鑒定。於是我們團隊建立以微核磁共振造影（MRI）技術，對山椒魚進行有系統的公母鑑別研究。過去，我們團隊利用 MRI 技術進行臺灣的山椒魚體內器官的造影，證實以核磁共振造影技術，可以成功判定性別與性腺發育（圖 1與圖 2）。山椒魚公母鑑別無論在進行物種的分類、生殖醫學保育或是進行人工圈養繁殖試驗皆有及其重要性。

為了獲得山椒魚早期生活史資料，團隊執行2020至2022年營建署「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」與2023年「阿里山山椒魚域內生活史調查」計畫，成功在觀霧地區棲地讓觀霧山椒魚與塔塔加棲地的阿里山山椒魚產卵與孵化（圖 3）。觀霧地區棲地的觀霧山椒魚於2021年12月產下兩叢卵串。塔塔加棲地的圈養阿里山山椒魚則分別於2022年9月1日與2022年12月6日產下兩叢卵串。第一叢卵串於產卵後約60天孵化，於產卵後111天完成變態，離開水體上岸。第二叢卵串於2023年2月18日孵化（74

天)。第一叢卵串完整記錄到孵化過程、親代護卵行為、胚變態與離開水體進行陸域生活過程。孵化後（2023年）2月小山椒魚的體長（吻部至尾末）約3.2公分與體重約0.18克；2023年11月體長已經達5公分，體重亦達0.79克。2023年8月又架設一個新的魚缸，已於2023年11月23日成功產卵，進行新一期早期生活史資料收集。

HA230515#03 HAHSS200630-05 BGNON

o: ova, l: lung, i: intestine

External appearance

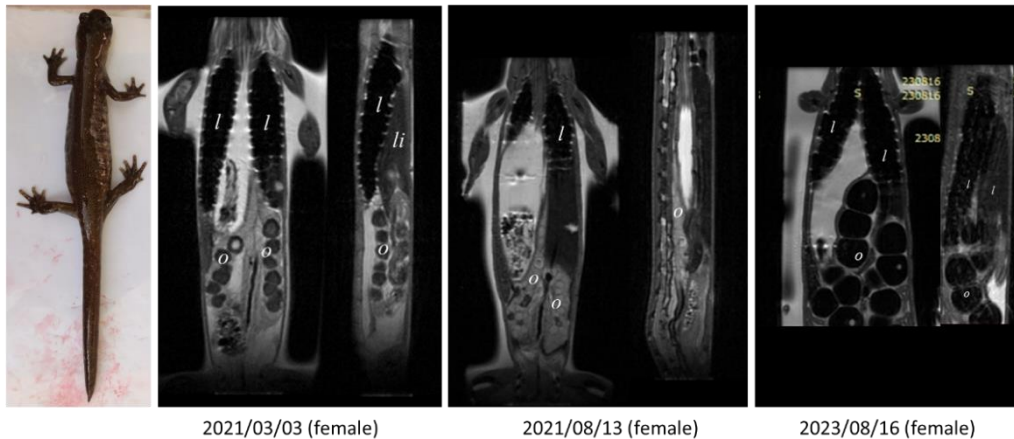


圖 1、以微核磁共振造影進行圈養雌性阿里山山椒魚的性別判定。

個體資料編號 HAHSS200630-05（VIE 色標編號 BGNON）。2021年3月卵巢明顯發育，至同年8月卵巢明顯萎縮。2023年8月卵巢明顯發育腫大。

HATTA230515#02 HAHSS200630-04 小胖 BGNOG

External appearance

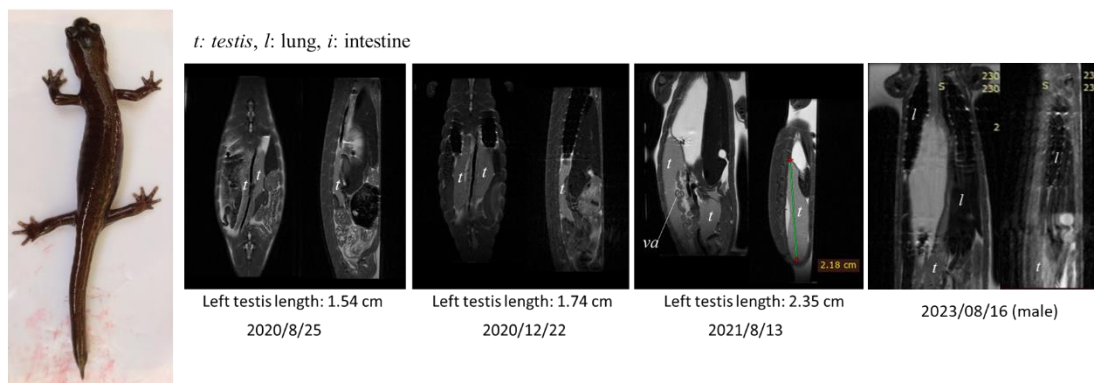


圖 2、以微核磁共振造影進行圈養雄性阿里山山椒魚的性別判定。

個體資料編號 HAHSS200630-04（色標編號 BGNOG，性別判定為雄性）。2020年12月與2021年8月睪丸明顯發育，2023年8月則睪丸明顯萎縮。



圖 3、觀霧山椒魚與阿里山山椒魚棲地圈養成功繁殖。

2020-2022年三個高山型國家公園共同委託我們團隊進行「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」計畫，成功於觀霧管理站、塔塔加管理站棲地內繁養殖箱中產卵並孵化繁殖阿里山山椒魚（A）與觀霧山椒魚（B）。證實未來以圈養繁殖試驗探討山椒魚早期生活史應是可行方法，且可密切觀察親代護卵行為。

二、遺傳親緣地理學研究

有關阿里山山椒魚族群遺傳研究極少，目前只有賴俊祥博士的博士論文內有敘述，但個體數少與個體分布範圍小。賴俊祥博士收集共33隻阿里山山椒魚，其中16隻阿里山地區、8隻阿里山自忠、9隻臺東埡口的阿里山山椒魚。論文同時收集10隻觀霧山椒魚、4隻南湖山椒魚、19隻楚南氏山椒魚與13隻臺灣山椒魚的遺傳樣本。他以粒線體細胞色素 b（cytochrome b）DNA 的部分序列（784bp），進行親緣關係樹分析。結果顯示阿里山山椒魚的粒線體細胞色素 b DNA 序列可分成兩類群，臺東埡口的阿里山山椒魚與其他地區山椒魚獨立成一次類群，顯示阿里山山椒魚族群內有分化(賴俊祥, 2008)。

我們研究團隊在109年（2020-2022年）執行國家公園跨域整合計畫「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」。以粒線體細胞色素 b 基因核苷酸全長序列（1141 bps）建構臺灣五種山椒魚的遺傳結構。我們總共分析阿里山山椒魚65種單套型、觀霧山椒魚19種單套型、南湖山椒魚12種單套型、楚南氏山椒魚45種單套型與臺灣山椒魚46種單套型的細胞色素 b 基因全長序列，顯示阿里山山椒魚族群可分成兩個主要遺傳類群，包括北大武山與主要次類群（圖 4）。主要次類群又分成致茆山及西巒大山類群，與其他類群。由細胞色素 b 基因的多樣性與親緣地理分析結果顯示，阿里山

山椒魚的族群遺傳結構最為複雜。阿里山山椒魚的棲地同時分布在中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈，是臺灣所有山椒魚棲地最複雜的，地理距離與地形的多樣，可能是造成阿里山山椒魚細胞核基因的遺傳分化主因。另外，玉山國家公園的保育與複雜地形是否在過去扮演保種與驅動分化的角色，需更細緻的遺傳標記來進行研究，例如微衛星標記，以劃分不同的保育單位。

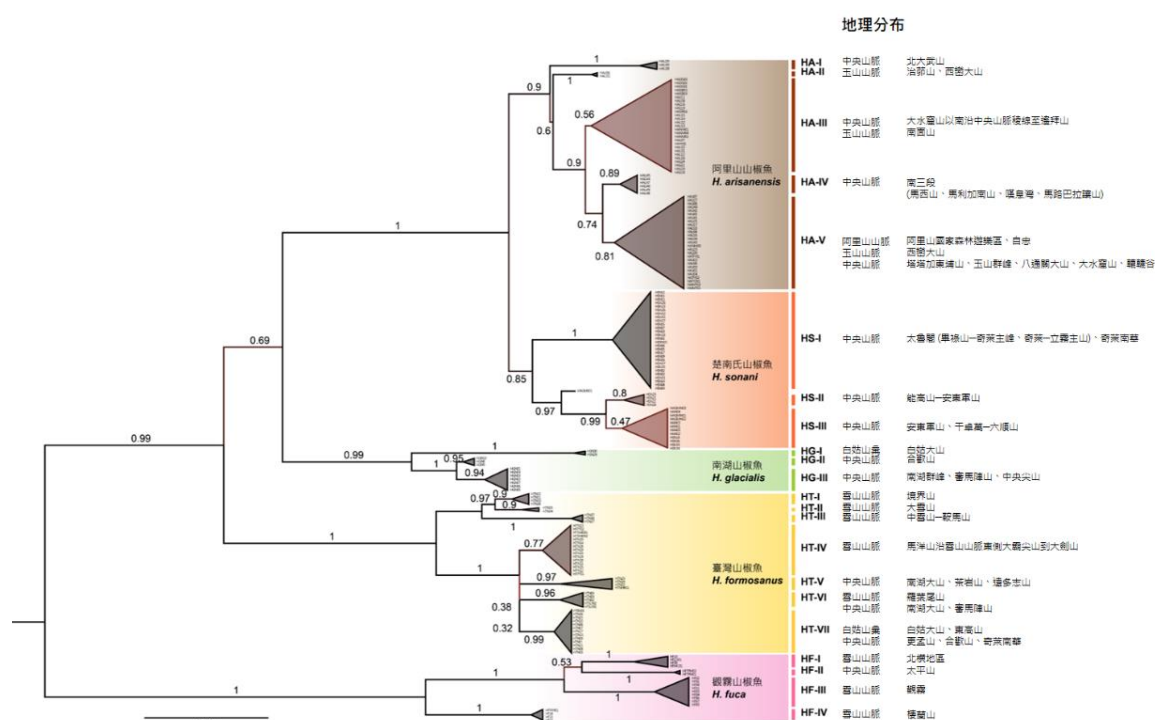


圖 4、臺灣五種山椒魚粒線體細胞色素 b 基因核苷酸全長序列 Maximum likelihood 親緣關係樹。

演化分析軟體 MEGA X 基於 Maximum likelihood 法推演之演化樹。Bootstrap value 小於70的分枝為支持度低的分枝。

三、轉錄體微衛星標記開發

粒線體在每個真核生物細胞內有超過100以上的複本（copy number）。粒線體內的 DNA 為環狀單套型 DNA，擁有約1萬6千個核苷酸序列，其演化速度一般快於細胞核 DNA。但由於每個個體細胞中粒線體 DNA 只有來自母方的單套型 DNA，無法解釋父方的遺傳資訊，因此在過去廣被運用於不同物種種間或同物種遺傳關係疏遠的族群親緣關係研究，無法分析親屬關係相對近的族群結構、親子鑑定或作為個體鑑別的遺傳標記。

在過去「阿里山地區阿里山山椒魚族群分布、食性調查及保育遺傳學研究計畫」中，為檢測阿里山山椒魚各基因座上是否有多型性，我們團隊先開發了12組轉錄體表現序列微衛星標記（表 1）。為了檢測這12組微衛星標記的遺傳資訊含量（對偶基因型的多樣性，PIC），是否足夠進行阿里山山椒魚的族群遺傳分析，我們先初步進行96隻阿里山山椒魚個體的微衛星序列擴增與多型性檢測。於12組表現序列微衛星標記中，每組標記平均具有3種以上的對偶基因型（number of allele，NA），且有效對偶基因型數為1.657（number of effective allele，NE），即該物種內真正對該族群對偶基因頻率有影響的對偶基因數不高。此外，12組遺傳標記中超過半數的觀測雜合度（Observed of heterozygosity，Ho）與預期雜合度（Expected of heterozygosity，He）差異值甚大，後又評估多型性資訊含量（polymorphism information content，PIC），顯示其中六組轉錄體微衛星標記具有高資訊含量（PIC value 大於0.5），五組具有中等資訊含量（PIC value 介於0.25與0.5之間），及一組具低等資訊含量（PIC value 低於0.25）。基於以上結果，顯示需增加轉錄組微衛星標記數量才能獲得更客觀的阿里山山椒魚種內族群遺傳結構。例外，跨樣區的山椒魚遺傳樣本增加，才可獲得更完整的阿里山山椒魚親緣地理結構。

表 1、阿里山山椒魚12個微衛星基因座標記之多型性資訊分析

微衛星 基因座	阿里山山椒魚 (<i>Hynobius arisanensis</i>)					
	Na ¹	N ²	NE ³	H _O ⁴	H _E ⁵	PIC ⁶
H54	5	96	1.470	0.247	0.370	0.339
H2667	9	96	1.943	0.482	0.798	0.767
H3108	6	96	1.763	0.333	0.714	0.660
H3455	6	96	1.667	0.383	0.529	0.462
HT13	11	96	1.821	0.354	0.524	0.490
T41	8	96	1.610	0.256	0.654	0.615
T45	7	96	1.775	0.402	0.684	0.637
H1305	7	96	1.447	0.159	0.621	0.563
H1664	5	96	1.580	0.380	0.513	0.406
H2222	10	96	2.128	0.469	0.777	0.744
H2784	3	96	1.455	0.226	0.410	0.362
H3478	6	96	1.228	0.116	0.169	0.162

¹Na：對偶基因數；²N：成功獲得對偶基因型之個體數；³NE：有效對偶基因數；

⁴H_O：觀測雜合度；⁵H_E：預期雜合度；⁶PIC：多型性資訊含量。

四、以轉錄體微衛星標記分析阿里山山椒魚種內族群遺傳結構

為瞭解初步瞭解阿里山山椒魚分布在臺灣不同棲地之個體在族群遺傳組成上是否有分化，研究團隊收集來自臺灣28個樣區的阿里山山椒魚族群，總計96隻個體（表 2）。經上述12組微衛星標記進行 PCR/毛細管電泳的基因型分析。以 structure 2.3.4軟體進行初步的分派檢定（圖 5）。結果顯示分群數為五群時族群間的遺傳分化最大。第一類群包含治茆山與雙龍林道以北之樣本，為阿里山山椒魚現今分布的最北界；第二類群則以分布於中央山脈的阿里山山椒魚為主，自太平溪流域、馬博拉斯橫斷延伸至馬布谷，並向下自玉山圓峰、玉山南峰、八通關草原、荖濃溪流域、巴奈伊克與大水窟山等區域；第三類群包含阿里山國家森林遊樂區內各樣區（姊妹潭、水山線、復育地、塔山步道與對高岳）、特富野古道以及塔塔加地區（玉山林道、神木林道與鹿林小徑）的樣本為主；第四類群之族群，包含塔芬谷、轆轤谷、拉庫音溪流域、啞口林道、向陽與大鬼湖；第五類群之族群，則為分佈霧鹿林道、北大武山與南北大武主稜之阿里山山椒魚。根據分派檢定所得之結果，於阿里山山椒魚分佈範圍最北之第一類群，與分佈範圍最南之第五類群，在遺傳組成上具有較高的獨特性，而廣泛分佈中央山脈之第二類群，與中央山脈南段之第四類群，與由塔塔加地區、阿里山地區組成之第三類群之分群則較不明顯，推論其關係應較為緊密。此外，特富野古道與阿里山森林遊樂區之採樣個體，在遺傳組成上具有獨特性，而部分塔塔加地區之採樣個體則與第二類群之遺傳組成相近，是否分佈於塔塔加地區、特富野古道與阿里山森林遊樂區之阿里山山椒魚，是由分佈於第二類群範圍之山椒魚播遷而來，而後才因地理阻隔形成分化，還是第二類群與第四類群之山椒魚，是由阿里山山脈為起源播遷出去，仍需進行更進一步的分析與討論。

表 2、族群分派檢定樣本來源資訊

族群編號	地區	族群編號	地區
1	治茆山	15	八通關草原
2	太平溪	16	巴奈伊克
3	馬路巴拉讓西峰	17	南營地
4	嘆息灣	18	大水窟山
5	馬利加南山西鞍	19	塔芬谷
6	馬利加南山東峰	20	轆轤谷
7	塔比拉山	21	拉庫音溪
8	馬布谷	22	南橫
9	塔塔加地區	23	向陽
10	特富野古道	24	塔關山
11	阿里山森林遊樂區	25	霧鹿林道
12	玉山圓峰	26	大鬼湖
13	玉山南峰	27	北大武山
14	荖濃溪	28	南北大武主稜

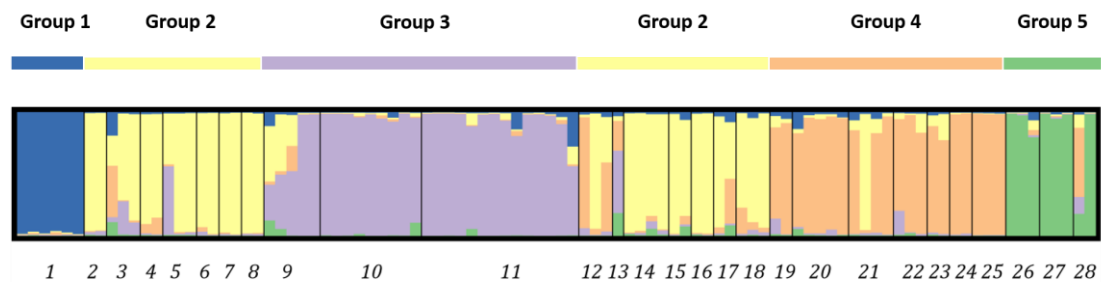


圖 5、以12個微衛星標記進行阿里山山椒魚族群分派檢定。

經 Structure Harvest軟體分析後，依軟體計算建議將將不同採集地之阿里山山椒魚分成5群可以獲得最高族群遺傳分化值。x軸數字為採樣要區編號，y軸為分派係數（q-value）。不同族群資料詳見表 2。

第二章 材料與方法

第一節 阿里山山椒魚域內圈養，活動型態與繁殖情形

一、2021年圈養生態箱設計(舊缸)與2023圈養生態箱設計(新缸)與圈養個體：

本研究延續2020至2022年營建署「高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查」計畫，設計一組圈養生態箱，包括90公分長的生長生態箱與60公分長的繁殖生態箱。2023年「阿里山山椒魚域內生活史調查」計畫，為了生物防治，防止黴菌感染，新設置單一個圈養生態箱（由臺灣大哥大股份有限公司捐贈）。

(一) 人工圈養生態箱設置

為觀察阿里山山椒魚生活史、生殖與胚胎發育行為，2021年所架設魚缸由兩個以不透光塑膠管互通的圈養箱為一組，其一為繁殖用生態箱（長60公分），另一個箱體設計為成體生長生態箱（長90公分）。為控制箱體溫度與光照避免圈養環境溫度過高，分別以兩個冷氣壓縮機控制溫度，繁殖用生態箱最的溫度控制在 $12 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，生長用生態箱溫度控制在 $14 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。兩箱體各自設置過濾器維持箱體內水質。箱間以不透光兩塑膠管連接，但視實驗需求，以透氣過濾棉阻隔兩箱間的通道。2023年所架設魚缸只由一個圈養生態箱構成，箱體設計與2021年設計的成體生長生態箱（長90公分）一樣。

箱體環境內設置見表 3，區分為水域及陸域兩區：

水域

為模擬山椒魚在高山溪流的繁殖環境，於飼養箱底部鋪設棲地河砂或砂礫約3-5公分厚，除底砂外，亦設置大小不等的石塊及紅磚作為卵串附材。水域環境維持5-10 cm 水深，水體來源為棲地溪水或山泉水。水流再以過濾器吸引及冷水機由箱體頂部沿箱壁流下產生的水流模擬。每週更換1/3至1/2的箱內水體並投予適量水質穩定劑。

陸域

為模擬山椒魚在非繁殖期的陸地生活史環境，以紅磚架起一側邊開孔的透明壓克力盒至1/4的盒體高度高於水面。壓克力內部鋪設紗網並填

充細顆粒赤玉土打底，上方鋪設原棲地採集並清洗後的青苔及杉木皮，設置於棲地採集的平石板、30 cm x 30 cm 的陶板與地面維持2-3公分高的間隙提供山椒魚躲藏。石板與陶板上再覆蓋青苔等遮覆物營造棲地環境。

1. 生長生態箱

使用長度90公分缸，上覆紗網避免圈養個體逃脫，底鋪3-10cm 不等之砂礫，佈置適於躲藏之石塊、苔蘚、朽木等材料，以模擬陸地棲息環境；砂礫較淺一側為經常有水環境，水深5cm，使用原棲息地附近溪水，以幫浦營造流水環境，並設置過濾幫浦、風扇等等，保持水質乾淨與適當濕度。

2. 繁殖生態箱

使用60公分長缸，底鋪3-5 cm 砂礫，設置相疊之石塊、陶片、石片等有利產卵環境；水深5cm，使用原棲息地附近溪水；設置幫浦、外覆不透光黑布以模擬地下伏流狀態。

圈養之山椒魚食餌以實驗室飼養鼠婦、殘翅果蠅、跳蟲、線蟲與蠟蟲等小型無脊椎動物為主。箱子底質以來自山椒魚自然棲地溪溝的細砂石或市售的粗粒徑沸石底砂作為底材，使用的底砂厚度為5cm，引入原棲地水體飼養。水流以過濾器吸引由箱體頂部沿箱壁流下由冷水機之冷凝管構成通道產生的水流模擬並同時降溫。製造弱水流模擬野外繁殖環境並維持水質。兩箱的水溫維持溫在最高溫攝氏16度為基準。

成體公母辨別以磁共振造影 (MRI) 進行 (使用臺灣大學電機系微磁共振造影)。山椒魚成體麻醉以 pH 7.0 之 MS-222 (Tricaine Methanesulfonate) 進行麻醉。麻醉時間由獸醫師依據山椒魚反射動作決定，每次麻醉維持約30分鐘無痛覺反射。MS-222劑量為0.8 g/L 於成體個體，麻醉誘導時間低於5分鐘，成體依照前述劑量可維持麻醉時間持續約25至45分鐘無翻正反射 (righting-reflex)。麻醉期間進行體型量測包括：座標、體長、尾長、頭長、頭寬等形值，拍照記錄個體的外觀。並進行 MRI 造影。

二、圈養個體生長發育資料蒐集：

(一) 圈養成體公母資料蒐集：

研究目的乃要瞭解成熟個體生殖系統的季節性變化。圈養的阿里山山椒魚幼體為2022年繁殖幼體。成體則保留3公3母，這些個體來自2022年圈養個體（採集自塔塔加至東埔山、鹿林山區域等），過去對阿里山山椒魚的族群遺傳結構的分析顯示該區域的山椒魚屬於同一種粒線體遺傳類群（朱，2022），選擇同遺傳類群的山椒魚進行圈養可降低雜交不同遺傳背景的族群的風險。

(二) 以磁共振造影（MRI）進行成體性別辨別：

山椒魚成體以 pH 7.0 之 MS-222（Tricaine Methanesulfonate）麻醉山椒魚，成體個體劑量為 0.8 g/L，麻醉誘導時間低於 5 分鐘，成體依照前述劑量可維持麻醉時間持續約 25 至 45 分鐘無翻正反射（righting-reflex）。麻醉期間進行體型量測包括：座標、體長、尾長、頭長、頭寬、體重、吻肛長等形值，拍照記錄個體的外觀，並進行 MRI 造影。採集的預計圈養個體以微核磁共振造影（micro-MRI）進行山椒魚公母檢視，方法依據 Sanches et al. (2017)。掃描當日，動物以低溫保存運輸至 micro-MRI 機房，將山椒魚麻醉（0.8 g/L MS-222 水溶液浸泡 2-5 分鐘至無翻正反射），採腹部朝下趴臥姿勢保持體表濕潤。以 BRUKER BIOSPEC 70/30 MRI 影像儀造影，造影時間約 20 分鐘/隻。再根據 MRI 影像呈現的性腺（卵巢或精巢）型態判斷山椒魚的性別。依個體性別與公母比例挑選出圈養個體後，其餘個體於 MRI 結束後由獸醫判斷健康狀況無礙後選擇氣候穩定、原棲地食物（昆蟲、小型無脊椎動物）豐富的時期攜回原棲地野放。

(三) 受精卵至幼體（胚/蝌蚪/變態）個體生活史資料收集：

山椒魚於圈養環境產下卵串後，則進行孵化期間卵串基本形質測量，照相輔助記錄胚胎發育的狀況。胚發育分期的文獻主要參考 Iwasawa and Kera (1980) 對爪鯢屬無肺鰻胚胎的分期標準，製作成以週為單位的阿里山山椒魚從卵發育到變態完成的發育分期表。另外，彙整資料、提供照片給玉山國家公園進行阿里山山椒魚的環境解說資料。

表 3、人工圈養環境設置

	飼養箱	繁殖箱
尺寸	2~3尺缸	2尺缸
上蓋	紗網	紗網
水缸底部		
底材種類	棲地河砂、砂礫	棲地河砂、砂礫
底材厚度	3 – 5 cm	3 – 5 cm
卵串附材	石塊、石片、紅磚	石塊、石片、紅磚
水深	5-10 cm	5-10 cm
水體	原棲地附近溪水、山泉水	原棲地附近溪水、山泉水
水溫	0-16°C	0-14°C
水流營造	過濾器、冷水機	過濾器、冷水機
陸地造景		
底材種類	赤玉土	赤玉土
環境	石塊、苔蘚 20 x 20 – 30 x 30 cm ² 的陶片	石塊、苔蘚 20 x 20 – 30 x 30 cm ² 的陶片

第二節 阿里山山椒魚親緣地理研究

一、樣區與樣本

欲探討阿里山山椒魚於玉山國家公園內與園區周邊之遺傳結構組成差異，本計畫執行期間先於自2016年起已知具有阿里山山椒魚分布的棲地進行採集，採集範圍包含治茆山、太平溪、馬路巴讓西峰、巴奈伊克山、馬利加南山、塔比拉山、大水窟山、八通關山、塔塔加鞍部、玉山圓峰、玉山南峰、南面山、塔關山、大關山、向陽、阿里山山脈、拉庫音溪山、東埔山塊、大鬼湖、塔芬尖山至北大武山等，總計30個採樣點與113隻採樣個體。每隻採集個體於完成尾部組織採集後，即原地釋放回棲地，並將採集的尾部組織置於95%的酒精中保存於-20℃環境中保存。

二、基因組 DNA 萃取

取約20毫克組織以 Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA)套組萃取基因組 DNA，切碎山椒魚尾部組織後，與500 uL Nuclei Lysis Solution、120 uL 0.5M EDTA (pH 8.0) (Sigma-Aldrich, USA)、17.5 uL Proteinase K (20mg/ml) (Sigma-Aldrich, USA) 混和，於 55-60℃ 作用 12-14 小時，後加入 3 uL RNase A (4 mg/ml)，於水浴槽 37℃ 作用 20 分鐘，切碎後再加入200 uL Protein Precipitation Solution，震盪混勻後於冰上靜置15分鐘，以14,000 rpm，4℃ 下離心10分鐘。收集上清液以 Isopropanol 沈澱 DNA，並以 70%酒精清洗後晾乾，以滅菌 2dH₂O 回溶。最後，以全波長光譜分析儀 (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, Thermo Scientific™, USA) 檢測 DNA 濃度。

三、粒線體 cytb 序列分析

(一) 聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 與 DNA 定序

選擇細胞色素 b(cytb)為粒線體基因的遺傳標記。參考 NCBI 發表之臺灣山椒魚粒線體全長序列(NC008084.1)於 ND6 區域設計順向引子 HT cytb L，tRNA-Thr 至 tRNA-Pro 區域設計反向引子 HT cytb H，擴增產物長度約1,400-1,500 bp。PCR 反應條件依 TOYOBO® Blend Taq-Plus (TOBOYO, Japan) 說明書建議，使用 25 uL 反應體積，0.2 uM dNTP、0.2uM 引子、100 ng 模板 DNA、0.04 U/25 uL 反應體積的

Blend Taq® - Plus DNA 聚合酶進行 PCR 反應。溫度作用條件:94°C 反應 2 分鐘，接續 94°C 反應 30 秒，61°C 反應 30 秒，72°C 反應 1 分 40 秒，重複 36 循環，最後以 72°C 反應 10 分鐘後結束 PCR 作用。在 1.0%瓊脂膠體/0.5X TBE 下分析反應產物。反應完成的 PCR 產物利用 GenepHlow™ (Geneaid, Taiwan) 進行純化。

(二) 粒線體細胞色素 b 全長序列取得與單套型分析

反應完成的 PCR 產物利用 GenepHlow™ Gel/PCR Kit (Geneaid, Taiwan) 依產品說明書建議進行純化，接續以 3730xl DNA 定序儀 (Applied Biosystems™, USA) 進行 DNA 序列定序。獲得之 cytb DNA 序列經 EditSeq 軟體 (DNASTAR Inc.) 編輯，合併重疊的序列獲得粒線體細胞色素 b 全長序列 1,141 bps，而後使用軟體 MegAlign 7.1.0 軟體 (DNASTAR Inc.)，利用 Clustal W method 進行序列比對，並尋找核苷酸替代位點。比對序列完成的序列使用 DnaSP v6.12.03 (Rozas et al., 2017) 尋找核苷酸替代位點判定單倍型。結合過去所獲得的山椒魚序列作為參考序列，為進一步檢視阿里山山椒魚種內的遺傳結構及單套型間潛在的基因流向，接續以軟體 POPART 藉由 Median Joining method (Bandelt et al., 1999) 建構單套型網狀圖，比較阿里山山椒魚種內各族群序列差異程度。

四、利用表現序列微衛星標記進行親緣地理分析

(一) 擴增表現序列微衛星基因座

根據朱(2022)開發的20組可跨物種應用之表現序列微衛星標記，欲檢視中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈的阿里山山椒魚的族群遺傳結構與基因交流情形。微衛星序列擴增使用 Blend Taq Plus system (TOYOBO, Japan) 配置總反應體積 10 µl 於 96 孔盤，包含 1 µl 10X PCR buffer for Blend Taq、1 µl 2 mM each dNTP Mix、0.2 µl 10 µM 正向引子與 0.2 µl 10 µM 反向引子、1 µl 模板 DNA (濃度 50 ng/µl)、0.1 µl Blend Taq Plus (2.5U/µl) 和 6.5 µl 去離子水。溫度作用條件：94°C 反應 5 分鐘，接續 94°C 反應 30 秒，依據不同微衛星標記之最適黏合溫度反應 30 秒，72°C 反應 30 秒，重複共 35 循環，最後以 72°C 反應 10 分鐘後結束 PCR 作用。在 1.8% 洋菜瓊脂膠體/0.5X TBE 下分析反應產物，取 2 µl 各

組微衛星螢光標記引子所增幅之 PCR 產物，委由中央研究院國家基因體醫學研究中心（NCGM STRP）進行毛細管電泳（Capillary Genetic Analyzer）分析，測定微衛星片段增幅之長度，以標準品 GeneScanTW 500 LIZ Size Standard（Thermo, U.S.A.）與 Hi-di Formamide（Applied Biosystems, U.S.A.）作為對偶基因長度校正之標準液。而後，將國家基因體醫學研究中心之分析結果以 Peak Scanner™ Software version 1.0（Applied Biosystems, U.S.A.）判讀樣本之序列長度，以人工掃視波形結果，再以軟體讀值並校正。因每個引子對增幅出之 PCR 產物會有不同的特徵波形，可依觀察不同波形結果找出相似的波形特徵，並以此建立微衛星基因座之標準波形以減少人工判讀之誤差，若一個基因座出現三個以上明顯對偶基因波形的基因座則予以淘汰。

（二）檢測微衛星標記之多型性與品質

於獲取20個微衛星基因座序列之對偶基因型後，以軟體 Cervus 3.0.7（Kalinowski et al., 2017）進行微衛星標記可展現阿里山山椒魚種內多型性的能力，分析項目包含：微衛星基因座的對偶基因數、觀測雜合度、預期雜合度、有效對偶基因數、資訊含量多型性分析（polymorphism information content, PIC）。而後，以 GenAIE Version 6.5計算有效對偶基因（effective number of alleles）；使用 MICRO-CHECKER 2.2.3來檢測潛在的無效對偶（等位）基因，和評斷由 allele dropout 引起的錯誤可能性；使用軟體 GENEPOP version 4.7.5（Rousset, 2008）進行哈溫平衡（Hardy Weinberg equilibrium）檢測；以軟體 FSTAT 2.9.4（Goudet, 2022）進行對偶基因豐度（Allele richness）計算；以軟體 Arlequin 3.5.2（Excoffier and Lischer, 2010）檢測連鎖不平衡

（三）族群遺傳結構分析

將已獲取的對偶基因基因型以軟體 Structure 2.3.4（Pritchard et al., 2000）進行分派檢定，協助檢測中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈內阿里山山椒魚於種內的遺傳結構差異分析，並協助比較在不同潛在分群值下，各族群的遺傳組成變動狀態，以間接探究族群內部的親緣關聯。Length of Burnin Period 設定為 50,000，馬可夫鏈法（Markov Chain Monte Carlo，MCMC chain）設定為 100,000 次演算，預設分群數為

K=1 至 K=10，每群重複計算 10 次。演算結果以軟體 structure harvester (Earl and vonHoldt, 2012) 獲取 delta K，作為阿里山山椒魚於種內之最佳分群數參考值。而後，將分派檢定下最佳之分群結果，以軟體 CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) 進行製圖，以觀察山椒魚種內與種間之遺傳分群情形。此外，另以軟體 GeneAlex (Peakall and Smouse, 2012) 進行主座標分析 (Principal Coordinates Analysis, PCoA)，藉由計算個體間遺傳距離，以二維座標圖呈現，協助推論不同採樣點間個體族群遺傳結構之相似性。

(四) 基因交流檢測

阿里山山椒魚分布橫跨中央山脈、東埔山塊、玉山山脈與阿里山山脈，為釐清各族群之間遺傳結構的相似程度，並推論過去各族群之播遷方向，擬以軟體 BayesAss version 3.0 (Wilson and Rannala, 2003) 計算各族群間的播遷速率 (migration rate)，藉以比較阿里山山椒魚各族群間種內的基因流程度。驗算值 Length of burn-in Period 設定為 500,000 generations，馬可夫鏈蒙地卡羅算法 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC chain) 設定為 10,000,000 次演算，進行 5 次獨立驗算。

第三節 規劃園區永久樣區標準化調查方法與監測調查

在玉山國家公園園區內，本計畫於三個樣線（玉山林道、神木林道與玉山圓峰棲地）規劃進行園區永久樣區的標準化調查方式與監測調查。調查月份以容易在地表發現的月份為主（4月、6月與8月），每年進行三次調查，預計監測各樣區山椒魚活躍的期間與數量，並擬定山椒魚 VIE-tag 標放與生長形值測量的標準化程序作業。

第四節 阿里山山椒魚解說摺頁設計

一、摺頁格式：設計規格為51.3cmX24.0cm，N 字5折12頁，彩色雙面印刷。

二、摺頁內容：

摺頁內容包含臺灣產山椒魚分類地位簡介、臺灣產山椒魚型態差異與辨識方法、阿里山山椒魚分布區域介紹、阿里山山椒魚早期生活史、食性與天敵（食物鏈）、阿里山山椒魚生理構造介紹，各摺頁內細節如表 4。

表 4、阿里山山椒魚解說摺頁設計

摺頁	摺頁標題	設計細節
1（封面）	阿里山山椒魚身體裡藏有臺灣島嶼過去的歷史	封面以手繪大眼睛，並掛著外鰓的幼態阿里山山椒魚。封面註明摺頁名稱中英文，並標示玉山國家公園出版品。
2-3	小鮡屬山椒魚起源與分類地位	最早的小鮡屬起源於日本，臺灣的原生山椒魚與日本的西南的山椒魚親緣關係最近，也是最早從祖先群分歧出來的類群，推測臺灣的山椒魚在始新世晚期（5.58-3.4百萬年前）或漸新世（3.4-2.3百萬年前）早期，由日本的山椒魚經由陸橋遷

摺頁	摺頁標題	設計細節
4-5	臺灣產山椒魚的形態 特徵與地理分佈	徙到臺灣。因此，臺灣的山椒魚是小鮡屬裡較古老的種。 - 臺灣原生山椒魚是臺灣唯一的有尾兩棲類，冰河時期藉由路橋而由亞洲大陸播遷臺灣。跨頁呈現，跨頁呈現，說明臺灣產山椒魚的發現歷史、正式分類地位與分布範圍。觀霧山椒魚分佈於海拔1,300至2,200公尺，是臺灣的山椒魚分布較低海拔的物種；臺灣山椒魚分佈於海拔2,000至3,100公尺；南湖山椒魚分佈於海拔2,700至3,400公尺；楚南氏山椒魚分佈於海拔2,700至3,300公尺；阿里山山椒魚分佈海拔最廣，從2,000至3,600公尺。 - 因此目前在臺灣已知的五種山椒魚都棲息在海拔1,300公尺至3,600公尺山區的溪流源頭，大都成為不連續的小族群分布。 - 觀霧山椒魚：成體長度是臺灣所有山椒魚中最短的。成體全長約8.7公分。尾巴與四肢長度也是臺灣所有山椒魚中最短。體背呈黑褐色，雜有細小的白點。 - 臺灣山椒魚：成體全長約10.9公分。體背呈暗黑褐色，雜有黃白色較細小點狀花紋斑點。

摺頁	摺頁標題	設計細節
6-7	阿里山山椒魚的生活史	• 南湖山椒魚：成體全長約12.1公分。體背呈金黃色和棕色斑點鑲嵌的碎花紋。南湖山椒魚成體的體形是臺灣5種山椒魚中最長的。 • 楚南氏山椒魚：成體全長約11.9公分。體背呈現暗褐色，鑲有乳白色或淡黃色的塊狀花紋。 • 阿里山山椒魚：成體全長約11.5公分。體背呈單一的暗褐色，部分個體雜有非常細小白色斑點。成體身體兩側之肋間溝相當明顯，尾部呈棍棒狀。 • 介紹保育等級。 • 秋末初春是臺灣的山椒魚繁殖的季節，欲繁殖的成體山椒魚約在冬季下到要產卵的緩流溪水中。繁殖時雄雌山椒魚經過互抱行為，雌山椒魚產下的卵子與雄山椒魚排出的精子在緩流溪水中受孕。臺灣的山椒魚繁殖地水體屬緩慢溪流型（stream type），牠們不會在靜水池塘（pond type）中繁殖。雌魚體會產出一對卵串，卵受精後吸水膨脹成透明的長形大卵囊，每個大卵囊中約有10顆左右的卵，卵呈純白色，直徑約0.5公分。這對卵囊會藉由一個卵囊基座（egg sac base）固定於

摺頁	摺頁標題	設計細節
8-9	阿里山山椒魚在中高海拔生態系的功能	水中的石頭上，防止被雨水沖走；卵囊末端為鞭尾狀結構（whiptail-like structure）。每串卵囊中的每顆卵又被一個小而透明圓形的卵囊膜包住。這些受精卵會經歷孵化與形態變化。受精卵孵化約需2個半月到3個月，包括六個時期（I 受精、卵割、胞胚期；II 囊胚期；III 神經胚期；IV 尾芽胚期；V 鰓形成期；VI 肢芽期）。孵化後而後又需經歷2個月到3個月的變態時期，包括鰓的消失、趾頭生長、四肢伸長、體色變深與尾鰭消失等時期（VII 趾分化期；VIII 完成幼生期；與IX 變態期）。親代山椒魚自產卵後至幼體離開水體前，親代會展現照顧幼體的護幼行為（圖3）。孵化與變態時間長短會受環境溫度與水流量影響。 臺灣的五種山椒魚食性組成非常多樣，幼體與成體時期的食性不同。五種山椒魚成體皆以昆蟲綱為最主要的獵物種類，其次是軟甲綱、蛛形綱、唇足綱與倍足綱。同一種山椒魚也會隨不同的棲地類型、季節與不同海拔分布，食性略有不同。所捕食的昆蟲綱獵物裏面，又以鞘

摺頁	摺頁標題	設計細節
		翅目獵物為主，雙翅目居第二。鞘翅目以隱翅蟲、菊虎、步行蟲與象鼻蟲等幼蟲與成蟲為主。其中隱翅蟲、菊虎、步行蟲等都屬於肉食性昆蟲，會獵捕森林中植食性昆蟲族群。另外山椒魚的獵物也包括在地表爬行的軟甲綱如潮蟲、鼠婦；蛛形綱如盲蛛、蜘蛛；唇足綱如蜈蚣與倍足綱的馬陸。透過食性分析也發現，成體山椒魚會吃腹足綱（如體型小的蝸牛）、寡毛亞綱（蚯蚓）等較大動物。另外牠們也獵捕很小的動物，如圓形動物門（線蟲）、內口綱彈尾目動物（跳蟲）與蟬蟎目等體型非常小型，但數量非常豐富的林下地表動物。介紹阿里山山椒魚的潛在天敵（水中黴菌、細菌與病毒、鳥類、爬行類與哺乳類）。
10-11	阿里山山椒魚骨頭構造與捕食方法解密	• 跨頁呈現，分別藉由 microMRI 與 CT 影像介紹山椒魚的骨骼特徵（鋤骨齒等）。 • 介紹管處內常見山椒魚棲地環境（微棲地特徵、遮蔽物、水源），倡導無痕山林概念。
12（封底）	山椒魚棲地維持與環境教育	• 山椒魚受精卵自孵化後，在離開水體前幾乎可以不用進食，因為臺灣的山椒魚卵黃很大（受精卵直徑約

摺頁	摺頁標題	設計細節
		0.5公分)，卵黃養分應足夠維持牠們從受精孵化成長到離開水體前的階段。或許在水棲生活史這期間會獵捕一些浮游生物，但我們目前還沒獲得任何水裡山椒魚幼體會捕食水中浮游生物的證據。離開水體後，小山椒魚會捕食線蟲、跳蟲或體型較小的蝸蟬目、軟甲目等小型動物。 • 這些證據顯示要支持山椒魚完成整個生活史，微棲地的土壤生態系必須豐富且多樣，提供適當的濕度、溫度與酸鹼度。也就是說山椒魚的棲地一定要是一個健康的生態系，而山椒魚的存在是穩定中高海拔溪流附近森林生態、土壤生態的重要物種，更是這些生態系重要的環境指標物種。

第三章 結果與討論

第一節 阿里山山椒魚域內圈養、記錄圈養個體活動型態及生殖情形

一、圈養個體孵化繁殖紀錄

在早期生活史的研究資料收集，我們自2021年9月，即開始在塔塔加棲地內圈養山椒魚，進行棲地圈養繁殖試驗。於2022年9月1日、2022年12月6日與2023年11月23日順利產下三叢卵串。第一叢卵串於產卵後約60天順利孵化，於產卵後111天完成變態，離開水體上岸。第二叢卵串於2023年2月18日順利孵化（74天）。第三叢卵串於產卵後約82天順利孵化，於產卵後135天完成變態，離開水體上岸。第一叢卵與第三叢卵串完整記錄到孵化過程、親代護卵行為、胚變態與離開水體進行陸域生活過程。第二叢卵則受到黴菌感染。本報告內容以敘述2023年11月23日早期生活史發育過程（圖 6）。

（一）受精、卵割、胞胚形成期

胚正處於卵割與胞胚形成期，卵體積不變，但持續進行細胞分裂。卵外清楚可見有三層卵囊膜包裹。親代一直在旁護卵。

（二）囊胚形成期、神經胚形成期

此時期，細胞持續分裂、進行細胞移動，同時分化成不同的胚層。親代一直在旁護卵。

（三）尾芽形成期、前肢芽形成期

此時期，頭部逐漸形成，尾芽突出，成棍棒狀。後期可以先看見前肢芽突起。親代一直在旁護卵。

（四）肢芽形成期

肢芽形成期係指前後肢芽發育時期。小鯢胚會先長出前肢芽，再長出後肢芽。在此同時頸部兩側同時長出3跟外鰓。外鰓會再次分成細分支，來增加氣體交換面積。尾鰭亦會同時發育，肢芽也會發育成扁平的前後鰭。此時心血管發育也會逐漸明顯。肢芽形成期，尾巴逐漸變成扁平，鰓明顯發育形成、眼睛逐漸形成變黑，鰓分支變多，前後肢芽發育成扁平且有黑色素沉積。親代一直在旁護卵。

(五) 指趾分化期、完成幼生期與變態期

2024年2月14日開始孵化破卵，孵化時間長達7天。孵化後前後鰭扁平，但快速進行指趾分化。鰓發育至最完全，但隨即開始退化，尾鰭亦開始退化。變態期開始，鰭消失期，外表接近完全完成變態期。2024年4月26日第一隻幼體變態完成上岸。

(六) 成體活動模式

我們在生長生態箱與繁殖生態箱左右兩側各架設1臺自動相機，共四台。每台設定5分鐘自動照相一次與錄影20秒。共記錄半年（2880小時），活動模式如圖 7。

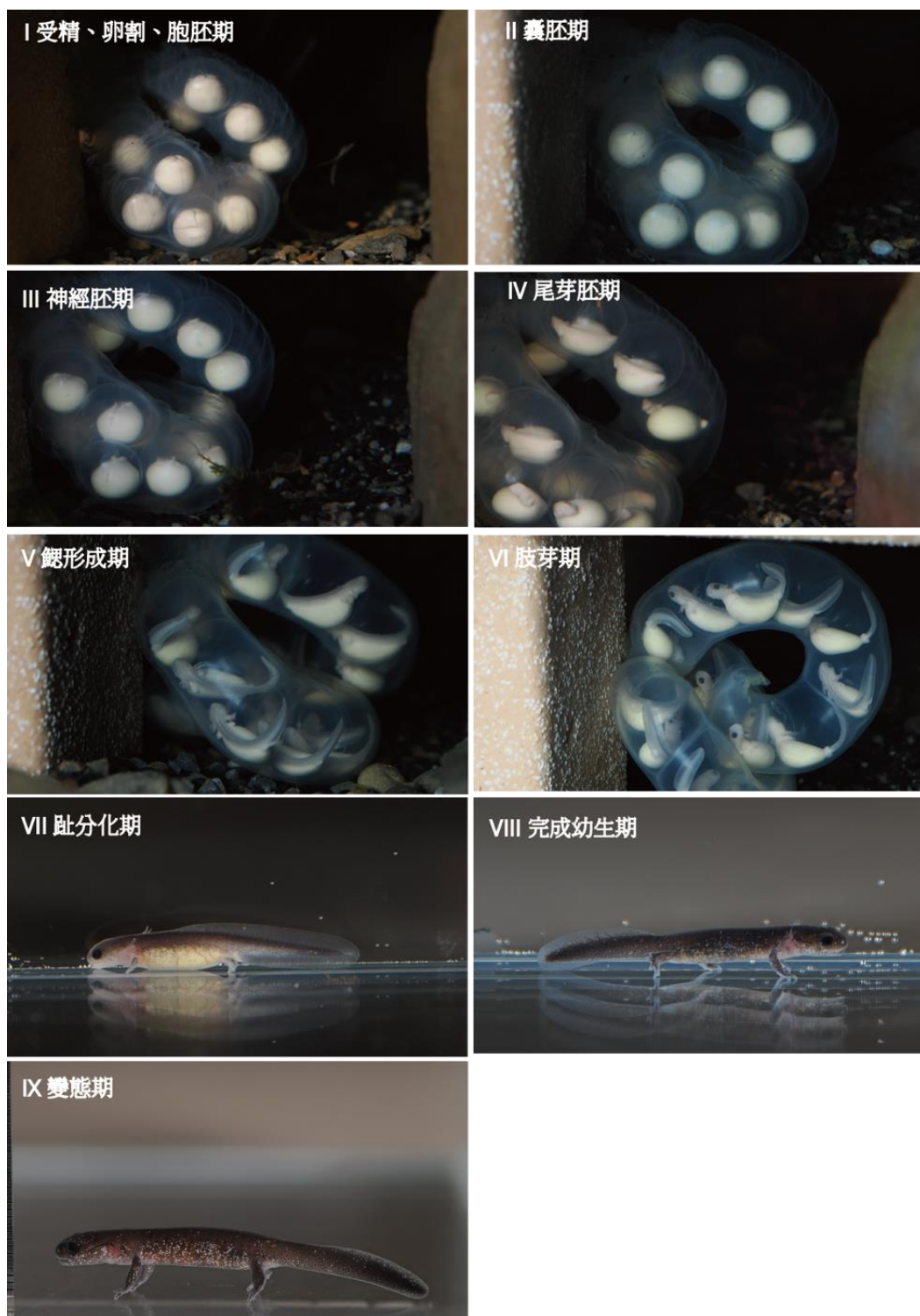


圖 6、塔塔加棲地圈養阿里山山椒魚早期生活史。

I 為經過受精後，經過卵裂過程，逐步發展到胞胚形成期；II 為囊胚形成期；III 為神經胚形成期；IV 為尾芽形成期；V 為鰓形成期；VI 為肢芽形成期，尾巴逐漸變成扁平，鰓和眼睛逐漸形成；VII 為指趾分化期；VIII 為完成幼生期；IX 最後鰭消失，完成變態期。

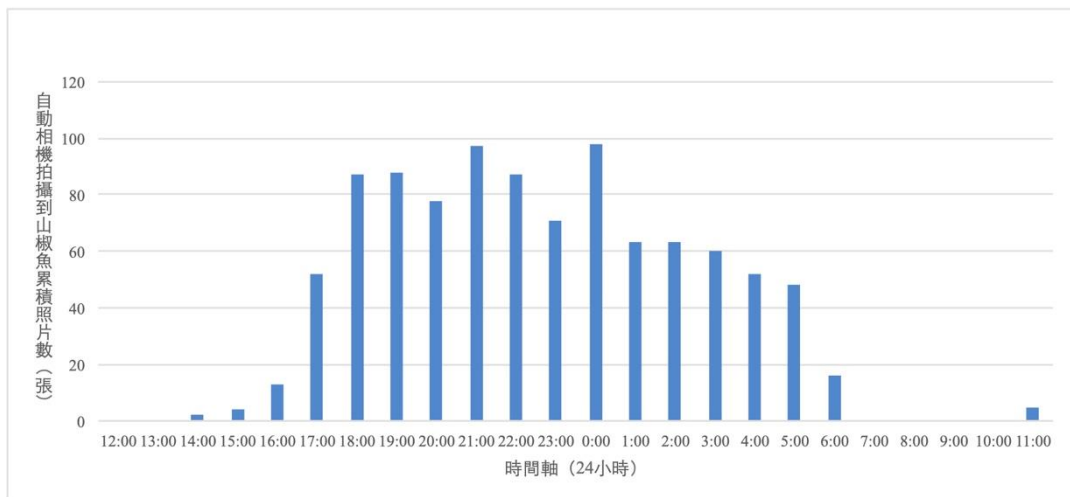


圖 7、塔塔加棲地生態箱圈養山椒魚活動模式。

生長生態箱與繁殖生態箱左右兩側各架設1臺自動相機，每台設定5分鐘自動照相一次與錄影20秒，並記錄山椒魚活動模式。

二、個體生長發育資料蒐集

(一) 第一叢與第三叢卵孵化成功率與存活率

第一叢卵與第三叢卵皆生下兩串卵串，每叢有18顆卵（兩串，一串為10顆，另一串為8顆）。這18顆卵皆成功受精，並順利孵化，孵化率為100%。孵化後的山椒魚背部體色漸漸變黑，有細小白點細斑，顏色與斑紋與圈養箱底質（溪溝的細砂）一樣，隱蔽效果極好，且非常會躲藏，不易觀察。直至今日，每次簡易翻找圈養箱的個體，許多次都可以找到約8隻的幼體，故判斷變態後的存活率約有50%。日本小鮎屬的研究顯示，在7歲齡之前，存活率皆不高。

(二) 體長與體重變化

知道兩棲動物的年齡是研究兩棲動物繁殖行為的重要資料。因為臺灣的山椒魚皆是保育類動物，很難以截斷腿骨，以骨骼鑑齡法判斷年齡，因此建立不同年齡個體體長或吻肛長數據，來推測其他個體的年齡，會是較可行的方法。本研究，每一至兩個月，每次量測皆自圈養生態箱隨機選取3隻個體，置於培養皿中，隨機選取3隻個體，各自置於培養皿

中，放在微量磅秤中秤重。2022年10月16日第一隻小魚孵化後，資料已收集一年6個月。於2022年12月20日（受精後111天）離開水體，開始進行陸域生活。我們於2023年3月11日開始進行體重與體長量測，分別於2023年5月13日、7月25日、8月26日與12月3日進行體重與體長量測。每次體重量測皆自圈養箱逢機選取3隻幼體，以微量磅秤測量，結果如圖8表示。結果顯示，5月之前，幼體體重沒有明顯變化，但五月之後體重變化明顯，從3月的0.19克，5月的0.22克，到7月上升到0.42克，8月26日來到0.55克，12月分則來到平均體重0.65克。

進入到2024年，我們分別於1月3日、2月17日、4月7日、6月1日、7月29日及9月9日持續追蹤小魚的體長與體重變化（圖8），每次隨機抽樣3隻小魚進行體重量測，平均體重自1月份的0.71克、2月的0.73克、4月的0.75克、6月的0.96克、7月的0.87克變化至9月的0.97克。

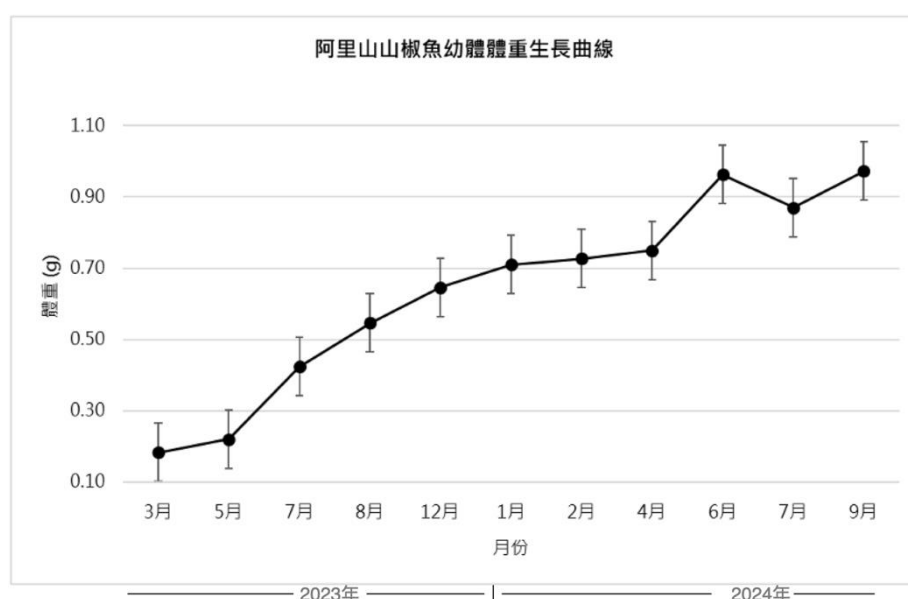


圖 8、塔塔加生態箱圈養山椒魚幼體的體重變化趨勢。

於不同時間，隨機自圈養箱捕捉3隻以上幼體，進行體重量測。Bar 表示標準偏差。

(三) 圈養孵化後山椒魚幼體的體長、與體色變化趨勢

每次體長量測皆自圈養箱隨機選取3隻以上個體，置於培養皿中，培養皿下放置尺標，照相後以影像在電腦中計算體長。2022年9月出生的個體，從2023年3月開始資料收集已累積1年6個月，結果如圖 9表示。結果顯示，5月之前，幼體體長沒有明顯變化，但五月之後體長開始有變化明顯，從2月18日體長約3.2公分，3月的體長約3.2公分，5月的體長約3.2公分，6月的體長約3.5公分，到7月體長上升到約3.8公分，8月26日體長上來到4.2公分。2024年4月平均體長達5公分。2024年6月平均體長達5.5公分。2024年7月體重平均，體長達5.6公分。2024年9月體重平均，體長達5.6公分。體長沒有隨這著月份增加而增長，有可能是量測到不同的個體所導致。

在體色變化上，阿里山山椒魚幼體，在水棲生活史末期，也就是變態期快完成時，背部顏色呈深棕黑色，且綴滿小的白色細斑，這種幼態體色花紋一直到至一歲齡還最近一次觀察（2023年9月20日）還保存著，一歲半後逐漸消失。

我們於不同時間，隨機自圈養箱捕捉3隻幼體以上，進行體型量測。A. 2月18日體長約3.2公分；B. 5月的體長約3.2公分；C. 6月的體長約3.5公分；D. 8月26日體長約4.2公分。2023年12月體長平均4.5公分，體重平均0.6公克。身體背部白色小斑點明顯減少。2024年7月至9月體長平均約5.5公分。資料顯示山椒魚幼體平均一年體長約長大1公分。

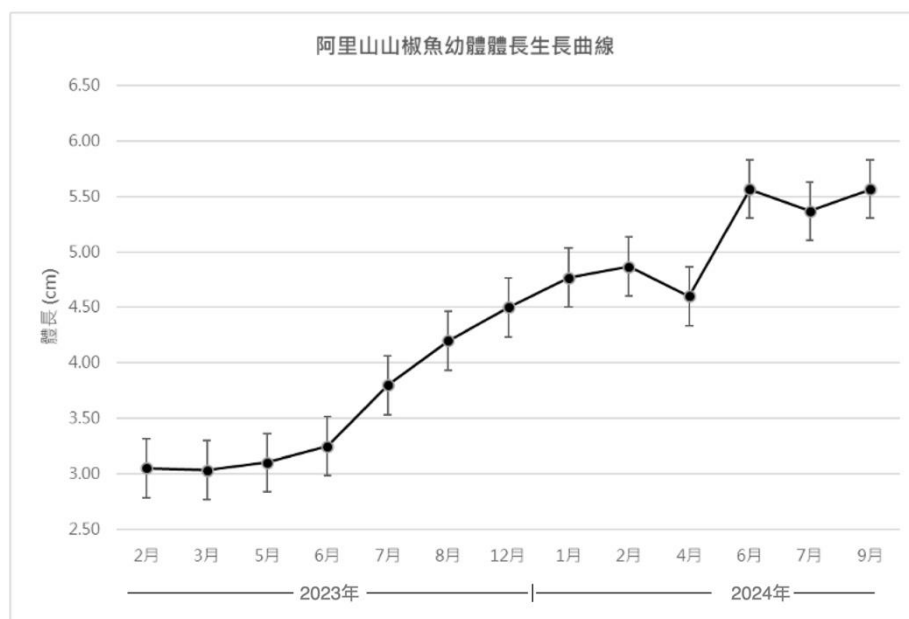


圖 9、圈養山椒魚的體長變化曲線。

於不同時間隨機捕捉3隻幼體，進行體型量測。Bar 表示標準偏差。

三、新圈養繁殖箱的設置

為降低新一季的圈養繁殖黴菌的感染與提高生物安全，我們設計製造一個新的圈養箱（圖 10）。長度與寬度各增加10公分，高度不變。圈養箱下方四腳設置活動輪，方便移動與觀察。



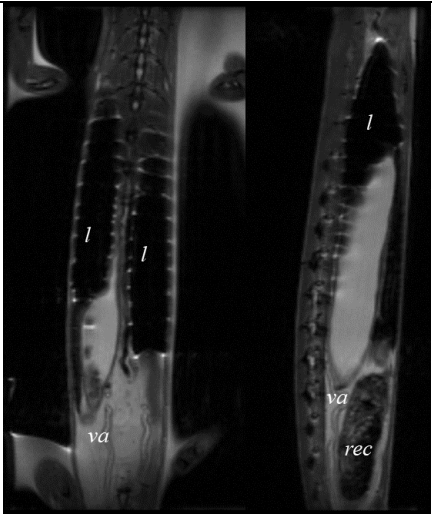
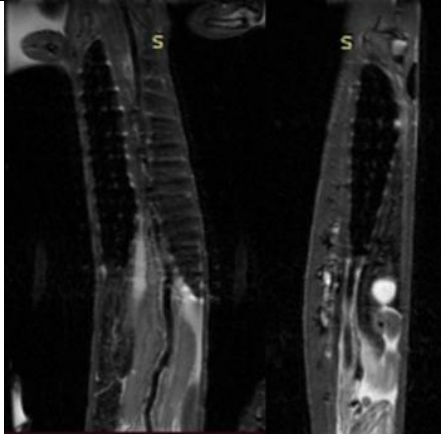
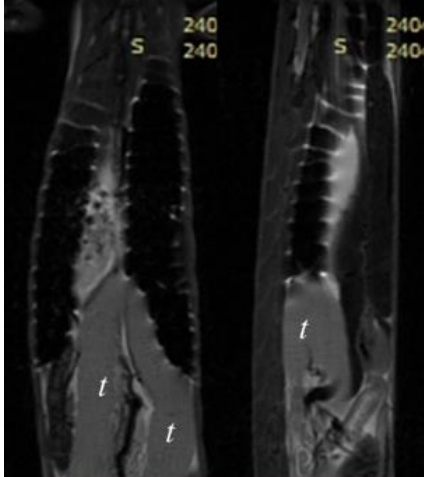
圖 10、新設置的棲地圈養生態箱。

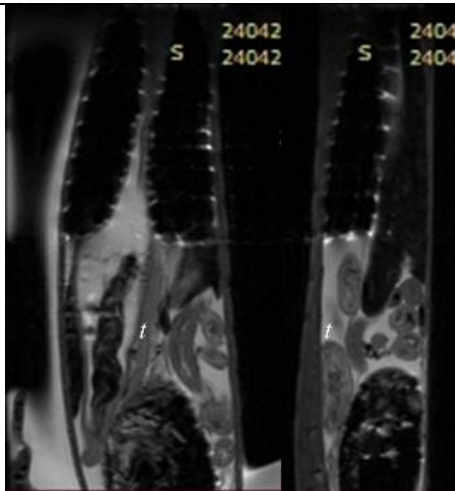
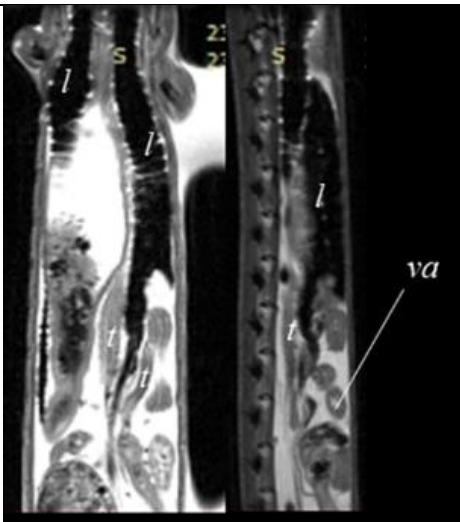
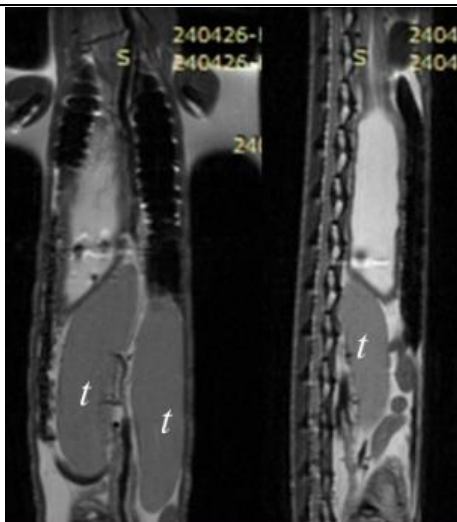
長度與寬度較舊生態箱各增加10公分，高度不變，內放置 HOBO 即時記錄溫濕度。圈養箱下方四腳設置活動輪，方便移動與觀察。

四、圈養阿里山山椒魚的磁振造影影像資料收集

計畫執行期間，已累計收集11隻圈養阿里山山椒魚成體磁振造影生殖影像資料，總計有雄性個體六隻（圖 11），包含一隻自2020年開始收集生殖影像資料至今的個體 BGNOG；四隻雌性個體（圖 12），包含一隻賴俊祥老師過去繫放的個體；以及一隻生殖腺構造不明顯個體（圖 13）。

根據影像資料，雄性個體 BGGGB、BGBRY、BGNOG 在2024年4月的影像顯示睪丸（testis）明顯膨大，接近2公分大小，部分個體甚至可肉眼辨識出輸精管的結構，然而在過去2023年8月發現 BGBRY 和 BGNOG 的睪丸明顯萎縮。雌性個體則顯示均具有較不明顯的卵泡結構，但在個體 BGNON 中發現，該個體曾於2023年9月產下卵串，其影像顯示在2023年8月時腹腔內的卵泡已成形。然而，在隔年同一時間的影像中，腹腔內未見明顯發育中的卵泡結構。生殖腺構造不明顯的個體 BGBON，在腹腔影像中未見明顯的睪丸或卵泡特徵，反而是灰白色的胃部佔據了大部分的影像畫面，此個體難以透過磁振造影影像判定性別。此研究結果顯示，以磁振造影影像進行阿里山山椒魚判定性別亦需要等待其性腺發育至適當時期才可精準判定。

色標 BBRGB，雄性	
外表型	2024年4月
	
色標 BBRYG，雄性	
外表型	2024年4月
	
色標 BGGGB，雄性	
外表型	2024年4月
	

色標 BGNNB，雄性			
外表型		2024年4月	
			
色標 BGBRY，雄性			
外表型			
			
2023年8月		2024年4月	
			

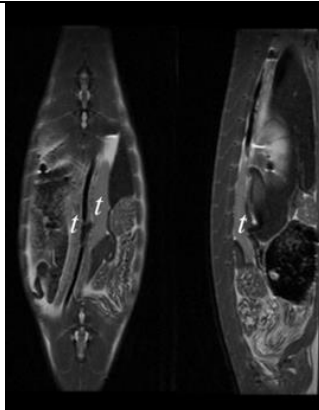
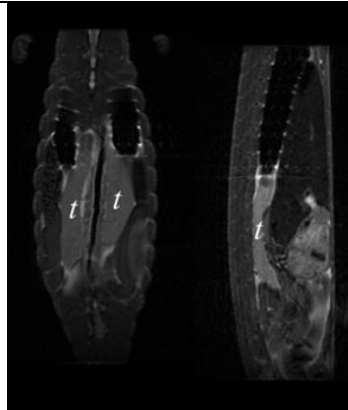
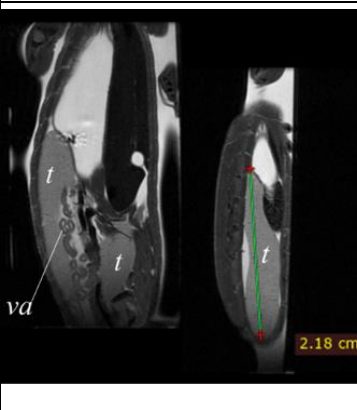
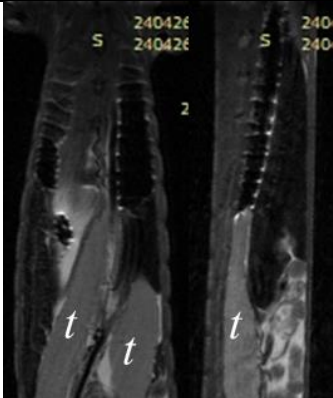
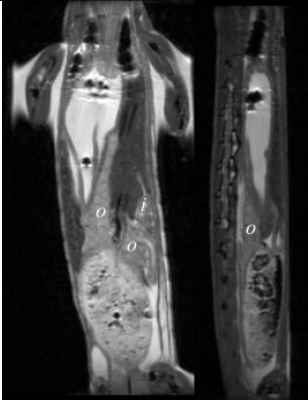
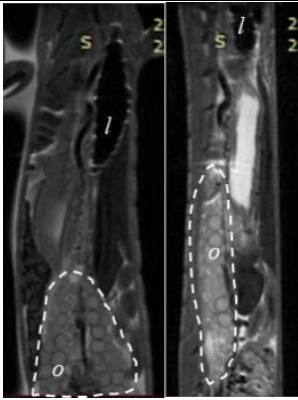
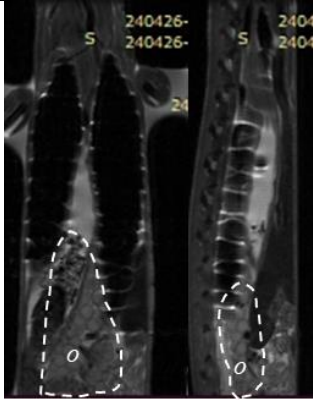
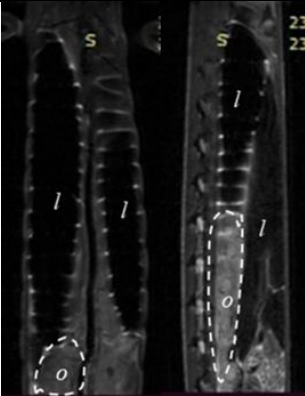
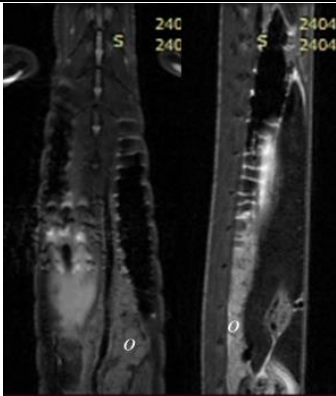
色標 BGNOG，雄性（小胖）		
外表型		
		
2020年8月	2020年12月	2021年8月
		
2023年8月	2024年4月	
		

圖 11、六隻雄性阿里山山椒魚生殖影像資料。

器官以字母縮寫表示：睪丸 (testis)：t，肺臟 (lung)：l，直腸 (rectum)：rec，小腸 (intestine)：i。色標判讀：B（藍色）、G（綠色）、N（橘色）、R（紅色）、O（無色）、Y（黃色），方向由右前肢-左前肢-右後肢-左後肢-尾部。

色標 BGBON，雌性		
外表型		
		
2021年10月	2023年8月	2024年4月
		
色標 BGBRR，雌性		
外表型		
		
2023年8月	2024年4月	
		

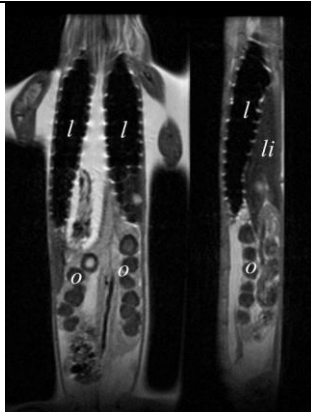
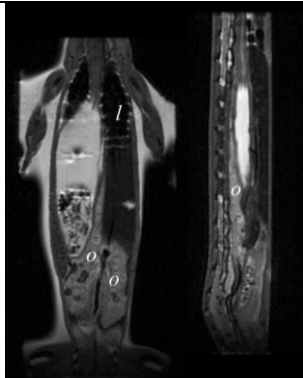
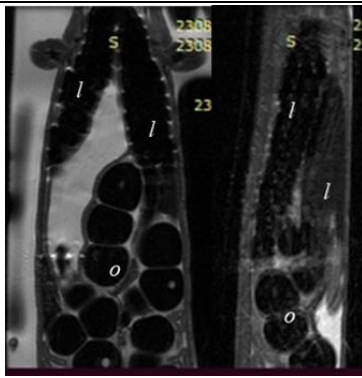
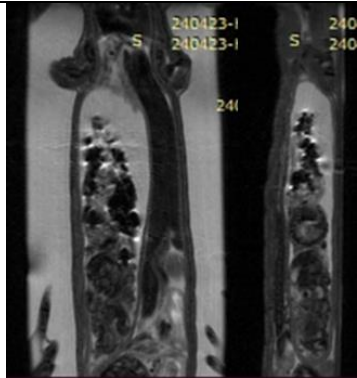
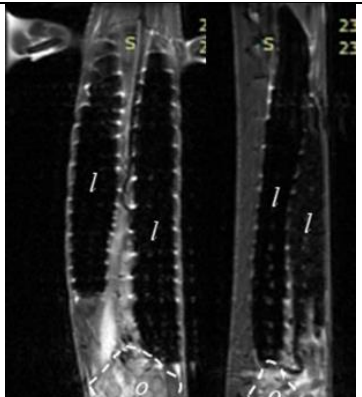
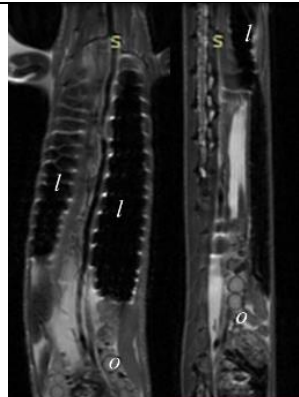
色標 BGNON，雌性			
外表型		2021年3月	
			
2021年8月		2023年8月	
			
2024年8月			
			
色標 GGGGO，雌性（賴俊祥博士繫放個體）			
外表型		2021年8月	
			
		2024年4月	
			

圖 12、四隻雌性阿里山山椒魚生殖影像資料。

器官以字母縮寫表示：卵巢 (ovary)：o，肺臟 (lung)：l，直腸 (rectum)：rec，小腸 (intestine)：i，肝臟 (liver)：li。色標判讀：B (藍色)、G (綠色)、N (橘色)、R (紅色)、O (無色)、Y (黃色)，方向由右前肢-左前肢-右後肢-左後肢-尾部。

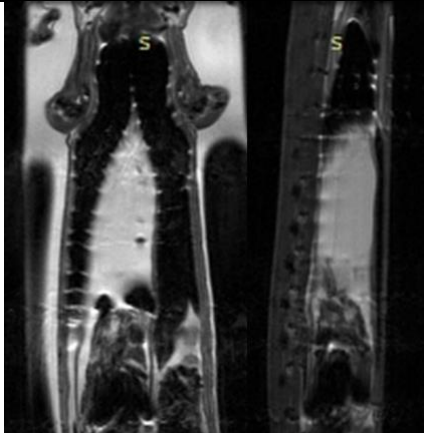
色標 BGBON，無法判斷	
外表型	2024年4月
	

圖 13、性別未知阿里山山椒魚生殖影像資料。

器官以字母縮寫表示：肺臟 (lung)：l，直腸 (rectum)：rec，小腸 (intestine)：i，肝臟 (liver)：li。色標判讀：B (藍色)、G (綠色)、N (橘色)、R (紅色)、O (無色)、Y (黃色)，方向由右前肢-左前肢-右後肢-左後肢-尾部。

第二節 阿里山山椒魚親緣地理研究

一、以粒線體 cytb 基因重建阿里山山椒魚親緣關係

本計畫自30個採集地、總計113隻個體（圖 14），於抽取基因體 DNA 後進行粒線體細胞色素 b (cytb) 基因擴增，採集範圍包含治茆山、太平溪、馬路巴讓西峰、巴奈伊克山、馬利加南山、塔比拉山、大水窟山、八通關山、塔塔加鞍部、玉山圓峰、玉山南峰、南面山、塔關山、大關山、向陽、阿里山山脈、拉庫音溪山、東埔山塊、大鬼湖、塔芬尖山至北大武山等地，各樣區採集數量如表 5。擴增後所得序列經軟體 MegAlign 與軟體 DnaSP v6.進行序列比對與核苷酸替代位點判定，於序列全長1,141 bp 中核苷酸組成不同者，即視為具有不同單套型。經檢視，太平溪樣區於6隻採樣個體中具有5種單套型，而馬利加南山、轆轤谷、南面山、與南營地樣區個體亦於5隻採樣個體中具有4種不同的單套型，具有高單套型多樣性，另外，每一樣區均具有一種以上不與鄰近樣區重疊的單套型（表 5）。

而後，為了解阿里山山椒魚種內各族群的親緣相關性，將前述單套型比對的結果進行網狀圖繪製，總計113隻個體中有71種不同的單套型，結果如圖 15。於結果中，每個圓圈表示同種單套型，單套型代號可對照至表 5，圓圈大小表示屬於該單套型的個體數多寡，不同顏色則表示每隻個體所屬的30個不同採集地，相鄰兩圓圈間的短黑線數量則表示兩種單套型在核苷酸數上的差異量。將採集地與個體單套型比較，可發現自馬利加南山、塔比拉山、巴奈伊克山、八通關、荖濃溪營地與南營地樣區均具有單套型 HALI05，為113隻個體中佔比最大的單套型，此外，阿里山、特富野與塔塔加鞍部的山椒魚具有高度重疊的單套型構型，顯示在遺傳結構上的高相似性。

二、表現序列微衛星標記於阿里山山椒魚種內族群遺傳結構之可行性評估

欲檢測本計畫執行使用的20組表現序列微衛星標記，於來自30個樣區的113隻阿里山山椒魚中在種內族群遺傳結構的解釋能力，分別計算對偶基因數（number of allele, k ）、觀測雜合度（observed heterozygosity）、預期雜合度（expected heterozygosity）及資訊含量多型性分析（polymorphism information content, PIC）。對偶基因數可解釋該基因座可解釋族群分化程

度的能力，相比較觀測雜合度與預期雜合度，可協助檢視於採樣中潛在的偏差情形，而資訊含量多型性分析值，則可量化遺傳標記在族群中的解釋能力，PIC 值若小於0.25視為低解釋能力標記，PIC 值介於0.25至0.5為中度解釋能力，PIC 值大於0.5表示該標記具有高度解釋能力。

檢視結果如表 6，H405、H3099、H346、H3478、H1284與 H08僅具低解釋能力，且 H405僅有兩種對偶基因型，對阿里山山椒魚種內遺傳結構的分析能力有限；H243、H58、H54、H2784、H1664與 H3455則具有中度解釋能力，且 H58、H54及 H3455三組標記具有五種對偶基因型；T13、H330、H1305、T41、H3108、T45、H2222與 H2667則為高解釋能力的遺傳標記，其中以 H2222及 H2667具有最高的 PIC 值，且均具有10組對偶基因型，在解釋阿里山山椒魚種內遺傳結構上，具有較佳的解釋能力。

三、以核基因微衛星基因座檢視阿里山山椒魚種內分化情形

為更細緻的探究阿里山山椒魚種內不同族群間的遺傳結構差異，接續以20組核基因的表現序列微衛星標記，進行基因型（genotyping）擴增與取得。因核基因具有來自父方與母方的遺傳信息，可更中立的藉由對偶基因差異，反應族群過去基因交流下的結果。針對來自30個採樣區的113隻個體，接續以軟體 Structure 2.3.4進行分派檢定，並以軟體 Structure Harvest 計算最佳的分群結果。結果顯示，包含玉山國家公園與園區周遭的阿里山山椒魚族群，根據遺傳結構相似性大致可分為六至八個不同的次類群（表 7），且當分群數為七群時具有最高的支持率。

根據分派檢定檢視不同分群值下的遺傳背景組成，第一類群（Group 1，採集點編號1 - 2）包含分佈東埔山塊北段、洽茆山與雙龍林道以北之個體，與其他採集族群具有迥異的遺傳組成；第二類群（Group 2，採集點編號3 - 8）則以分布於中央山脈的族群為主，自太平溪流域、馬博拉斯橫斷延伸至馬布谷，其遺傳組成相對混雜。比較遺傳組成也相對混雜的第三類群（Group 3，採集點編號9 - 14）的阿里山山椒魚，分佈包含巴奈伊克山、八通關、荖濃溪營地、南營地、大水窟山及玉山圓峰等區域的個體，第二類群與第三類群雖有潛在的遺傳分化，兩者在種內遺傳組成上卻仍相近，顯示橫跨中央山脈的阿里山山椒魚間，可能仍具有潛在的基因交流。第四類群（Group 4，採

集點編號15-19)組成則以玉山山脈、東埔山塊與阿里山山脈的山椒魚族群組成，包含玉山南峰、塔塔加鞍部的玉山林道與神木林道、南面山、特富野古道與阿里山森林遊樂區的個體為大宗，其中玉山圓峰與玉山南峰雖均位於玉山山脈，兩族群的遺傳組成卻具有差異。第五類群(Group 5，採集點編號20-26)包含塔芬谷、轆轤谷、拉庫音溪山、大關山、向陽與塔關山的族群，少數個體與拉庫音溪族群具有相近的遺傳組成，第六類群(Group 6，採集點編號27)之族群則集中於馬里山溪流流域的石山，而分佈區域最南端的第七類群(Group 7，採集點編號28-30)，則為大鬼湖、北大武山與南北大武主稜之阿里山山椒魚。

根據分派檢定所得之結果，於阿里山山椒魚分佈範圍最北之第一次類群、橫跨玉山山脈、東埔山塊與阿里山山脈的第四次類群、與分佈範圍最南之第六次類群，在遺傳組成上具有較高的獨特性，而廣泛分佈中央山脈之第二次類群與第三次類群，在分群關係上則較不明顯，少數個體遺傳組成相似，推論其關係應較為緊密。概觀而論，檢視113隻阿里山山椒魚個體的遺傳背景，於核基因組成上並無觀察到明顯分化的狀態，顯示各鄰近族群間，仍存有基因交流的可能性。

四、玉山國家公園與園區周邊阿里山山椒魚基因交流情形

根據玉山國家公園與園區周邊族群中，阿里山山椒魚種內分群檢測所得之最佳分群結果，接續將七大類群進行基因交流檢測，協助檢視不同山椒魚類群遺傳相近程度。基因交流檢測可偵測該類群（sink）中具有多少比例為鄰近類群（source）基因交流而來的機率，即其他類群播遷至該族群之播遷率（migration rate），可反應類群與鄰近類近期基因交流的頻度。

結果表 7顯示，阿里山山椒魚的七大類群內基因交流比例均高於65%，顯示均可能具有高度族群分化，其中以第一類群最低（69.22%），並以第三類群最高（90.79%）；分析結果亦顯示第一類群中有17.93%的比例可能曾與第三類群進行基因交流，然而於族群分派檢定中具有較高遺傳相似度的第二類群及第三類群，卻分別僅檢測到3.47%及2.90%的基因交流機率。相比較各類群中與鄰近族群的基因交流頻度，以第四類群顯示普遍與各類群間較難進行基因交流，與各類群間的播遷率均小於1%。而第六類群中，則平均檢測到來自各族群至少2%的播遷率。分析造成具有地理隔離的山椒魚，與鄰近不同山域的各类群間具有近期基因交流的潛在原因，可能與過去物種種內分化播遷過程中的方向性有關，亦有可能為單一物種種內各族群分化時間不長，難以準確計算近期基因交流頻度導致，此部分仍有待未來提高分析單一族群樣本數，或使用如轉錄組定序技術（transcriptome sequencing）、基因組定序技術（whole genome sequencing）提高種內分化分析的細緻程度，以排除潛在偏差。

表 5、來自30個不同樣區之113隻阿里山山椒魚採集地資訊

編號	個體數 (隻)	單套型 (種)	採集區域	水系	單套型代號
1	2	1	治茆山	濁水溪	HALI33
2	4	3	雙龍林道	郡大溪	HALI34、HALI35、HALI36
3	6	5	太平溪	太平溪	HALI45、HALI46、HALI47、HALI48、 HALI49
4	3	2	馬路巴讓西峰	丹大東溪	HALI45、HALI46
5	2	1	嘆息灣	郡大南溪	HALI44
6	5	4	馬利加南山	郡大溪	HALI05、HALI41、HALI42、HALI43
7	2	2	塔比拉山	馬霍拉斯溪	HALI05、HALI41
8	2	2	馬布谷	豐坪溪	HALI40、HALI47
9	3	2	巴奈伊克山	荖濃溪	HALI05、HALI27
10	4	3	八通關	荖濃溪	HAALI05、HALI06、HALI07
11	2	1	荖濃溪營地	荖濃溪	HALI05
12	5	4	南營地	荖濃溪	HALI05、HALI22、HALI25、HALI26
13	3	3	大水窟山	米亞桑溪	HALI20、HALI21、HALI24
14	3	2	玉山圓峰	荖濃溪	HALI23、HALI39
15	1	1	玉山南峰	荖濃溪	HALI23
16	7	3	塔塔加	郝馬戛班溪	HALI08、HALI09、HALI10
17	9	7	特富野	後大埔溪	HALI02、HALI03、HATFY01、HATFY02、 HATFY03、HATFY04、HATFY05
18	10	7	阿里山	阿里山溪	HAFYD01、HAFYD02、HAJMT01、 HAJMT02、HAJMT03、HALI01、HALI04
19	5	4	南面山	荖濃溪	HANM01、HANM02、HANM03、 HANM04
20	2	1	塔芬谷	荖濃溪	HALI20
21	5	4	轆轤谷	荖濃溪	HALI16、HALI17、HALI18、HALI19
22	4	4	拉庫音溪山	拉庫音溪	HALI12、HALI13、HALI14、HALI15
23	3	2	大關山	拉庫音溪	HALI38、HAYK01
24	2	2	向陽	卑南溪	HALI11、HASY01
25	2	1	塔關山	拉庫音溪	HALI37
26	3	2	霧鹿林道	馬里蘭溪	HALI31、HALI32
27	6	3	石山	馬里山溪	HASSR01、HASSR02、HASSR03
28	3	3	大鬼湖	濁口溪	HADG01、HADG02、HADG03
29	3	2	北大武山	隘寮南溪	HALI28、HALI30
30	2	1	南北大武山	太麻里溪	HALI29

表 6、以20組表現序列微衛星標記進行阿里山山椒魚遺傳結構分析解釋能力

Locus ¹	N ²	K ³	Ho ⁴	He ⁵	PIC ⁶
H54	113	5	0.239	0.352	0.321
H2667	113	10	0.513	0.808	0.780
H3108	113	5	0.345	0.692	0.631
H3455	113	5	0.398	0.540	0.463
T13	113	9	0.345	0.537	0.503
T41	113	9	0.239	0.657	0.622
T45	113	8	0.425	0.725	0.685
H346	113	2	0.097	0.124	0.116
H405	113	2	0.027	0.060	0.058
H1305	113	7	0.177	0.634	0.579
H1664	113	4	0.363	0.511	0.392
H2222	113	10	0.496	0.797	0.770
H2784	113	3	0.195	0.380	0.336
H3478	113	5	0.124	0.166	0.160
H58	113	5	0.142	0.314	0.300
H08	113	4	0.150	0.250	0.238
H243	113	3	0.168	0.274	0.255
H330	113	4	0.398	0.563	0.516
H3099	113	5	0.035	0.094	0.091
H1284	113	3	0.062	0.213	0.193
mean	113	5.4	0.247	0.435	0.400

¹Locus：微衛星標暨基因座名稱；²N：分析個體數；³k：對偶基因數；⁴Ho：觀測雜合度；⁵He：預期雜合度；⁶PIC：資訊含量多型性指數。

表 7、玉山國家公園內與園區周邊阿里山山椒魚基因交流檢測

Source	Sink						
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6	Group 7
Group 1	69.22% (0.0238)	1.22% (0.0118)	1.24% (0.0120)	0.86% (0.0084)	1.17% (0.0113)	2.55% (0.0236)	2.21% (0.0208)
Group 2	2.55% (0.0237)	89.89% (0.0333)	2.90% (0.0249)	0.87% (0.0085)	2.66% (0.0183)	2.57% (0.0237)	2.26% (0.0210)
Group 3	17.93% (0.0444)	3.47% (0.0240)	90.79% (0.0331)	0.88% (0.0086)	1.68% (0.0157)	2.56% (0.0238)	2.30% (0.0215)
Group 4	2.59% (0.0241)	1.66% (0.0154)	1.31% (0.0125)	94.81% (0.0194)	1.35% (0.0129)	2.57% (0.0239)	4.26% (0.0284)
Group 5	2.57% (0.0238)	1.27% (0.0122)	1.28% (0.0122)	0.88% (0.0085)	90.67% (0.0299)	2.56% (0.0237)	2.30% (0.0216)
Group 6	2.56% (0.0239)	1.24% (0.0120)	1.25% (0.0121)	0.85% (0.0083)	1.27% (0.0125)	84.62% (0.0444)	2.23% (0.0207)
Group 7	2.57% (0.0240)	1.24% (0.0121)	1.24% (0.0120)	0.86% (0.0084)	1.20% (0.0115)	2.59% (0.0238)	84.44% (0.0417)

Group1至 Group7表示潛在的分群值，可對照至圖 16；表中各數值表示該類群中（Sink）具有多少比例的個體可能來自鄰近的類群（Source），括號內數字表示標準差。每個 Group 所分布的地理位置，參考圖14。

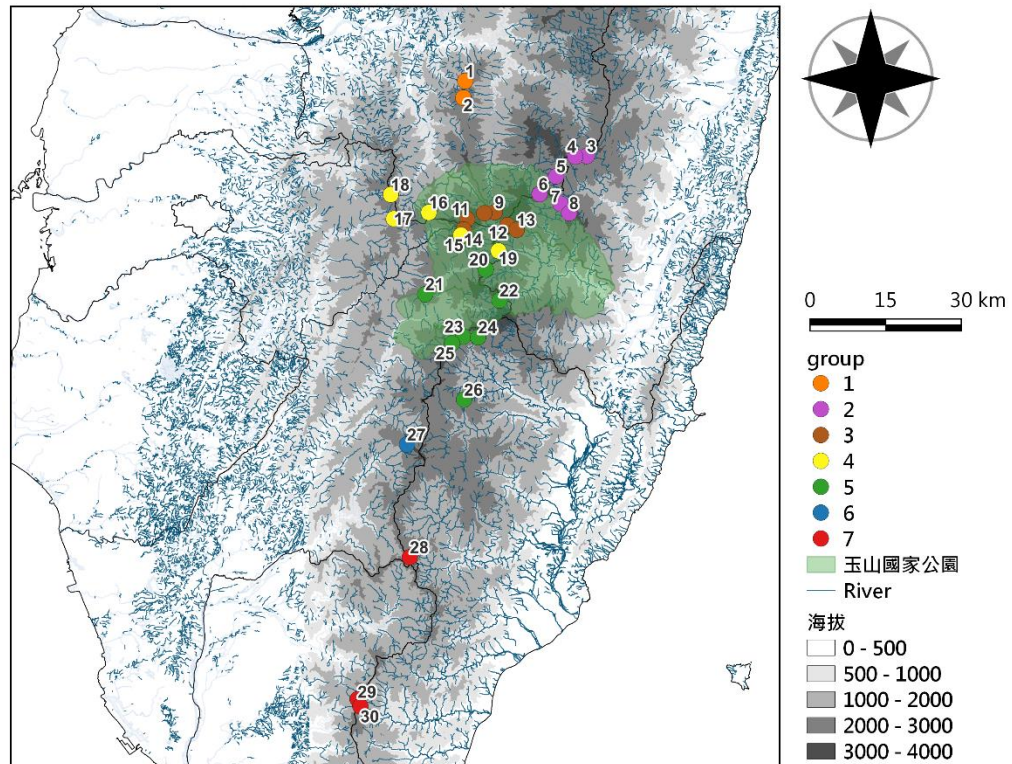


圖 14、玉山國家公園內與園區周遭阿里山山椒魚分布區域。

編號1-30表示113隻個體的採集地點，可對照製表 5。Group 1至 Group 7為核基
因分析中的七個不同的潛在類群，對照至圖 16。

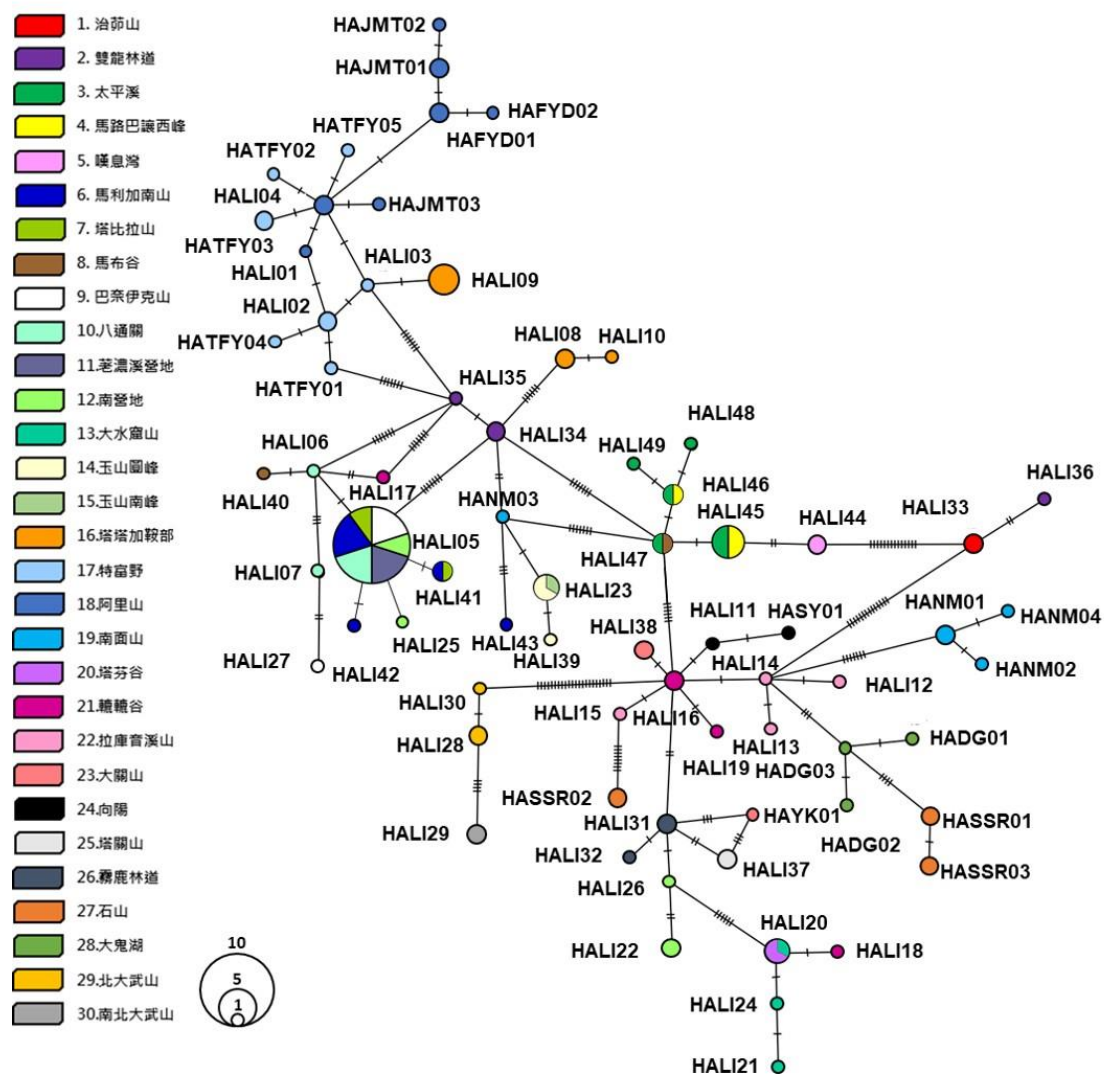


圖 15、玉山國家公園內與園區周遭阿里山山椒魚遺傳分化潛在分群數。

以20組表現序列微衛星標記進行113隻個體種內潛在分群數分析，K 值表示113隻個體之潛在分群值，MeanLnP(K)值表示具有最高分群可能之數值。

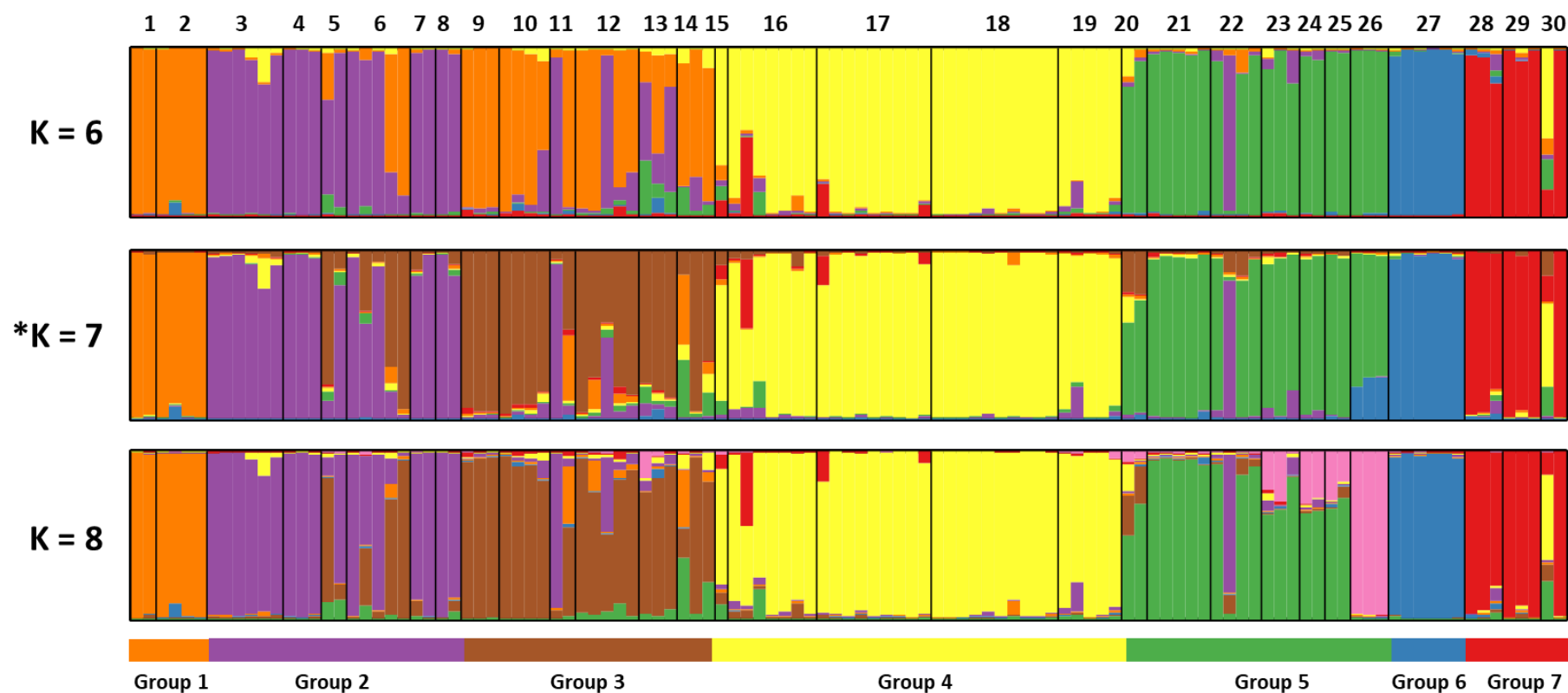


圖 16、阿里山山椒魚分派檢定結果。

不同 K 值表示在不同潛在分群數下各採樣點於遺傳組成上的相近程度，以分群數七群（K=7）具有最高的可信程度。相同顏色表示採樣點（編號 1-30）遺傳組成相似度越高，Group 1 至 Group 7 表示潛在的次類群編號。採樣點編號可對照至表 5。

第三節 規劃園區永久樣區標準化調查方法與監測調查

一、目的：

玉山國家公園園區內阿里山山椒魚族群遺傳多樣性最高。由於玉山國家公園內阿里山山椒魚分佈海拔達3,800公尺，最低為2,600公尺。園區內山椒魚棲地涵蓋臺灣3大山脈：中央山脈、玉山山脈與鄰近的阿里山山脈。長期監測玉山國家公園園區內特定的山椒魚族群可反映出山椒魚受氣候變遷的影響。所以我們挑選園區內海拔最高的棲地與海拔最低的棲地，山椒魚族群數量相對穩定的棲地之作為長期調查樣區與提出標準監測方法。監測目標為：監測族群數量變動與生長形質的資料收集。並依監測目的分為以下兩點。

(一) 山椒魚永久調查樣線：

於園區內劃定的三個樣線包括：1.玉山林道鹿林山莊前後3K；2.神木林道0-2K 進行山椒魚數量變動調查。調查月份以容易在地表發現的月份為主：每年進行4月、6月與8月三次調查。可依不同月份、年份進行山椒魚分布區域比對，了解阿里山山椒魚不同時間的族群變化狀態。若人力與經費允許，進行3.玉山圓峰山椒魚棲地4月、6月與8月三次調查。

(二) 山椒魚數量調查與生長形質收集：

於園區內進行山椒魚數量監測，藉由彈性植入螢光標記(VIE-tag)進行個體鑑別與推估族群數量。亦可以瞭解不同季節山椒魚在地表的數量變化。藉由 VIE-tag 標放與再捕捉可獲得個體的生長與外觀形值資料，繪製臺灣山椒魚生長曲線，年齡推論、性別推論與生長狀態。

考量可行性與研究效率，山椒魚 VIE-tag 標放與數量調查與生長形質收集主要在本計畫所劃定的三個樣線（玉山林道、神木林道與玉山圓峰棲地）進行。

二、研究材料：

- (一) 手持式 GPS 定位器
- (二) 游標卡尺
- (三) 攜帶式電子秤、秤紙
- (四) 山椒魚分布調查紀錄表、筆
- (五) 塑膠夾鏈袋

三、操作流程：

(一) 採用範圍限制尋找法(Area-Constrained Survey, ACS)，於調查區域內以徒手翻找地表的方式，針對所有可能有山椒魚躲藏的石頭、木片與倒木進行翻找山椒魚。翻起遮蔽物時注意掀起面須背對自己，並於檢視後將遮蔽物輕放回原處。

(二) 人員在山椒魚原棲地進行族群調查，於石頭、木片或倒木等遮蔽物下翻到山椒魚時，先不抓取（避免驚動造成山椒魚警戒逃走），以紅外線熱像儀（或溫度計）偵測此時山椒魚剛發現體溫、微棲地氣溫與遮蔽物下方土溫，而後進行調查資訊、棲地資料與樣本採集之紀錄（如下表 8），包括：

1. GPS 座標：以手持式 GPS 定位器紀錄發現山椒魚之座標點位，並記錄於調查記錄表格。
2. 調查資訊：調查日期、時間、氣溫、天氣狀態、濕度、調查時數與調查人數。
3. 巨棲地環境：主要植被林相類型（針葉林、混合林或箭竹）、坡向、海拔高度與罩蓋度（%）。
4. 微棲地環境：依發現山椒魚位置紀錄微棲地環境特性，如遮蔽物位置、遮蔽物體積、遮蔽物上附著植物、底質（碎石、泥土、草根土或腐質土）、鄰近水源狀況（穩定、季節性乾涸、無水源）。
5. 個體資料：記錄山椒魚種類、測量形值資料後拍照記錄。

(三)形值量測：

人員於棲地調查到山椒魚後，於形值量測前，先以苔蘚包覆山椒魚裝入塑膠夾鏈袋中，防止山椒魚逃走並避免直接接觸造成山椒魚的緊迫，再以游標卡尺記錄山椒魚之體長（SVL）、尾長（TL）、頭長（HL）、頭寬（HW）等形值資料（圖 17），並以攜帶式電子秤記錄山椒魚體重，記錄於調查表格中。

(四)色標紀錄：VIE-tag 標記可協助往後調查的再捕捉（recapture）個體記錄，藉由紅、藍、黃、綠、四種顏色的螢光標記，施打在山椒魚的四肢與腹面尾部下方，以協助辨識個體，判讀部位如圖 18。人員於尋獲再捕捉山椒魚後，可比對色標卡與阿里山山椒魚個體對照表（圖 18），以對應該個體先前被捕捉情形。若需施打 VIE-tag 標記，必須以 MS222 麻醉，且需要有獸醫師在場。

(五)場地復原：人員於完成調查表格後，於翻找面放置若干個小石塊或木塊，再將遮蔽物放回原處，以避免棲地表層土壤於反覆翻找過程中壓實。隨後，將山椒魚輕放在遮蔽物旁，並協助確認山椒魚自行鑽回遮蔽物下方。

表 8、阿里山山椒魚分佈與數量調查紀錄表

調查日期： / / 調查天候： 調查時間： ~ 調查人數： 人									
地點		GPS 座標 (tw-d-97)		海拔 (m)		林相		單蓋度 (%)	
與活水距離 (m)		尋獲者		山椒魚種類		色標			
個體特徵		環境溫度 (°C)				體溫 (°C)			
		氣溫		土溫		現地		肛溫	
微棲地特性									
溪流水量		覆蓋植物		底質		覆蓋物			
☐ 整年有水 ☐ 乾季缺水 ☐ 整年乾涸		☐ 苔蘚 ☐ 草本植物 ☐ 無		☐ 土 ☐ 碎石 ☐ 腐植土 ☐ 草根土 ☐ 水 ☐ 木		☐ 土 ☐ 石			
形值量測 (mm)									
吻肛長	尾長	頭長	頭寬	泄殖腔長	眼間距	鼻間距	前後肢距	左前肢長	左後肢長
肋間溝數		前後交疊		體重 (g)		編號與備註			

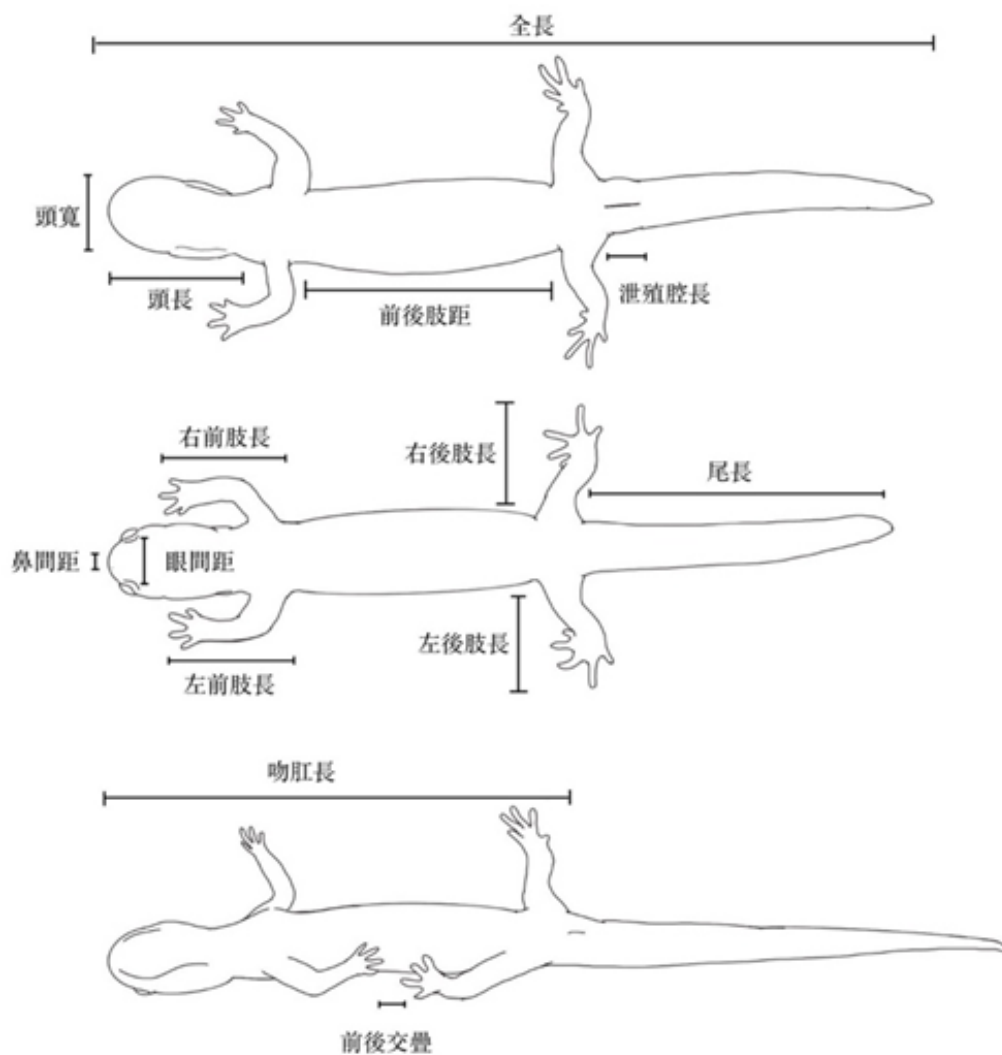


圖 17、山椒魚測量形值位置示意圖。

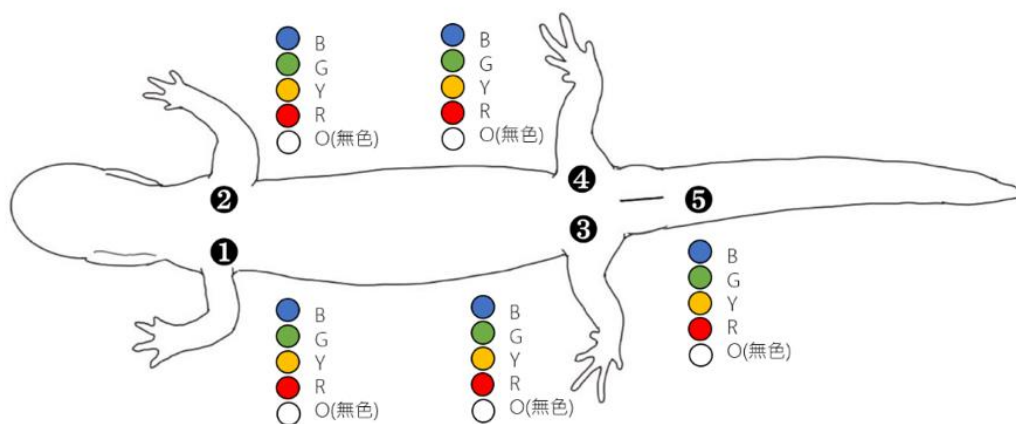


圖 18、山椒魚 VIE-tag 標記施打位置示意圖。

第四章 結論

本計畫截至2024年為止，在早期生活史的研究資料收集，塔塔加棲地的圈養山椒魚則分別於2022年9月1日、2022年12月6日與2023年11月23日順利產下三叢卵串。第一叢卵串於產卵後約60天順利孵化，於產卵後111天完成變態，離開水體上岸。第二叢卵串於2023年2月18日順利孵化（74天）。第三叢卵串於產卵後約82天順利孵化，於產卵後135天完成變態，離開水體上岸。團隊已完整記錄阿里山山椒魚自卵串孵化、親代護幼、與幼體變態離岸過程，並持續監測小山椒魚體長與體重資料超過兩年。於遺傳領域，亦已完成113隻阿里山山椒魚遺傳組成初步分析，檢測出71種不同的粒線體單套型，並完成20組表現序列微衛星標記之核基因擴增，根據分派檢定的結果，顯示阿里山山椒魚，大致可被分為六至八個次類群。研究顯示，玉山國家公園涵蓋中央山脈、玉山山脈與阿里山山脈。玉山國家公園內的阿里山山椒魚多樣性最高。有基因交流分析，園區內串連各山脈的稜線，形成間冰期山椒魚的生物廊道，在基因交流上別具意義。整體而言，玉山國家公園在阿里山山椒魚保育研究具有重要角色。

第五章 經營管理建議

- 一、連續兩年成功的在塔塔加棲地內繁殖阿里山山椒魚，代表本研究已蒐集到阿里山山椒魚繁殖所需要的環境條件。建議未來可以進行阿里山山椒魚異地繁殖試驗，探討異域保育的可能性。
- 二、本計畫在玉山國家公園玉山林道與神木林道設有永久調查樣區，然這兩樣區位於較低海拔（約2,600公尺海拔）。未來建議增加玉山圓峰阿里山山椒魚棲地（約3,600公尺海拔）。如此，可以同時監測高低兩個海拔山椒魚族群變動情形，作為氣候變遷指標。
- 三、玉山國家公園擁有最多樣複雜的高山地形，孕育出多樣的生物，也是小鮭屬山椒魚冰河時期緯度最低的避難所。建議，應利用科普文宣將玉山國家公園在山椒魚保育的功能與角色介紹給大眾。
- 四、阿里山山椒魚在玉山國家公園的棲地分布海拔高度差異將近2,000公尺。建議未來可以以阿里山山椒魚為生物模型，研究阿里山山椒魚的基因在不同海拔棲地如何進行適應與演化。

參考文獻

- 朱有田。2023。阿里山山椒魚域內生活史調查。玉山國家公園委託研究報告書。
- 朱有田。2022。高山型國家公園山椒魚分布棲地、遺傳結構與生物學調查 (109-111)。雪霸國家公園委託研究報告書。
- 朱有田。2019。太魯閣國家公園山椒魚棲地調查與族群遺傳結構研究 (107-108)。太魯閣國家公園委託研究報告書。
- 呂光洋、賴俊祥。2010。觀霧山椒魚 (*Hynobius fuca*) 之分布及棲息地的調查。國立臺灣師範大學。
- 李心予、賴俊祥、蔡孟勳、朱有田。2016。太魯閣國家公園保育類物種監測調查計畫，太魯閣國家公園委託報告。
- 杜銘章、呂光洋。1982。十一種臺灣產兩棲類食性之研究 (包括山椒魚科之臺灣山椒魚)。省立博物館科學年刊 25:225-234。
- 林明杰。2007。阿里山地區阿里山山椒魚食性與棲地利用之研究，國立嘉義大學生物資源學系研究所碩士論文。
- 林春富、葉大詮、吳和瑾。2009。以排遺分析探討楚南氏山椒魚的食性。特有生物研究 11 (1): 21-25。
- 袁守立。2003。以粒線體細胞色素 b 區域序列探討臺灣地區短尾鮑族群的地理親緣變異。私立東海大學生物學系碩士論文。
- 張立宜。2011。臺灣山椒魚與楚南氏山椒魚棲地及食性資源利用區隔之比較研究。國立師範大學碩士學位論文。
- 郭瓊華。2002。臺灣蜓蜥族群遺傳結構之研究，第79頁。國立臺灣師範大學生物學系碩士論文。
- 陳世煌、呂光洋。1984。台灣產山椒魚之生物學研究。國立臺灣師範大學碩士論文。
- 陳世煌、鍾珞璿、張奕儂、楊典諺。2010。觀霧巨木步道地區山椒魚棲地地表活動無脊椎動物多樣性調查，行政院農業委員會林務局。
- 陳世煌。2010。觀霧巨木步道地區山椒魚棲地地表活動無脊椎動物多樣性調查。行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列 99-02-8-03。
- 陳柔安。2023。以表現序列微衛星標記多型性探討臺灣產山椒魚族群與交界帶的

- 遺傳結構及基因滲入事件。國立臺灣大學動物科學技術學系碩士論文。
- 陳惠琦。1994。梭德氏蛙粒線體 DNA 序列與族群變異之初探。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文。
- 葉文珊。1997。莫氏樹蛙族群地理親緣關係之研究。國立臺灣大學動物研究所碩士論文。
- 游佩儒。2022。以粒線體與核基因 DNA 序列探討臺灣產山椒魚的親緣地理與歷史族群動態。國立臺灣大學動物科學技術學系碩士論文。
- 劉國強。1994。粒線體核酸分析斯文豪氏攀析之生物地理與親緣關係，第62頁。國立中山大學生命科學研究所碩士論文。
- 歐辰雄、邵廣昭、吳聲海、陸聲山、邱清安。2014。觀霧地區觀霧山椒魚及其相關物種調查。雪霸國家公園管理處委託辦理計畫成果報告。
- 賴俊祥、呂光洋。2007。阿里山地區阿里山山椒魚的分布與族群監測。BioFormosa 42 (2) : 105-117。
- 賴俊祥。2008。臺灣產山椒魚的分類與阿里山山椒魚族群生態與族群遺傳研究，國立臺灣師範大學生命科學系博士論文。
- 賴俊祥。2008。臺灣產山椒魚的分類與阿里山山椒魚族群生態與族群遺傳研究。國立臺灣師範大學生命科學系博士論文。
- 繁玉萍。2001。臺灣島形成過程對臺灣淡水魚族群遺傳結構影響之研究。國立清華大學生命科學系碩士論文。
- Bradley, P. W., M. D. Brawner, T. R. Raffel, J. R. Rohr, D. H. Olson, and A. R. Blaustein. 2017. Shifts in temperature influence how *Batrachochytrium dendrobatidis* infects amphibian larvae. bioRxiv 165985. doi: 10.1101/165985.
- Catenazzi, A. 2016. Ecological implications of metabolic compensation at low temperatures in salamanders. PeerJ. 4:e2072. doi: 10.7717/peerj.2072.
- Chai N. 2015. Endoscopy in Amphibians. Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract. 18(3):479-491. doi: 10.1016/j.cvex.2015.04.006.
- Frost, Darrel R. 2020. Amphibian Species of the world: an online reference. Version 6.0 (Accesed Jan. 16, 2020). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, U. S. A. doi.org/10.5531/db.vz.0001.
- Fukuta F., R. Iwaki, S. Murase, N. Katou, and H. Miyake. 2019. Observation of

- spawning behavior in *Hynobius kimurae*. Bulletin of the Herpetological Society of Japan. 2019(1):28-31.
- Hasumi, M. 1994. Reproductive behavior of the salamander *Hynobius nigrescens*: monopoly of egg sacs during scramble competition. Journal of Herpetology. 28(2): 264-267.
- Ihara, S. 1998. The food habits of *Hynobius tokyoensis* in broad-leaved forest floor. Edaphologia 60: 1-9. (In Japanese)
- Iwasawa, H., and Y. Kera. 1980. Normal stages of development of the Japanese lungless salamander, *Onychodactylus japonicus* (Houttuyn). Jap. J. Herpetol, 8, 73-89.
- Jang-Liaw, N. H., T. H. Lee, and W. H. Chou. 2008. Phylogeography of *Sylvirana latouchii* (Anura, Ranidae) in Taiwan. Zoolog. Sci. 25(1): 68-79.
- Takegawa, M., K. Iizuka and S. Kuzumi. 1989. Morphology of egg sacs and larvae just after hatching in *Hynobius sonani* and *H. formosanus* from Taiwan, with analysis of skeletal muscle protein compositions. Current Herpetology in East Asia p.147-155.
- Kukita, S., M. Gouda, S. Ikeda, S. Ishibashi, T. Furuya, and K. Nakamura. 2015. Effects of Photoperiod and Temperature on Growth and Development in Clouded Salamander (*Hynobius nebulosus*) Larvae. Zoolog. Sci. 32(3): 266-271. doi: 10.2108/zs140220.
- Lai, J. S., and K. Y. Lue. 2008. Two new *Hynobius* (Urodela: Hynobiidae) salamanders from Taiwan. Herpetologica 64(1): 63-80.
- Lin, H. D., K. C. Hsu, K. T. Shao, Y. C. Chang, J. P. Wang, C. J. Lin, and T. Y. Chiang. 2008. Population structure and phylogeography of *Aphyocypris kikuchii* (Oshima) based on mitochondrial DNA variation. J. Fish. Biol. 72(8):2011-2025. doi:10.1111/j.1095-8649.2008.01836.x.
- Lin, H. D., Y. R. Chen, and S. M. Lin. 2012. Strict consistency between genetic and topographic landscapes of the brown tree frog (*Buergeria robusta*) in Taiwan. Mol. Phylogenet. Evol. 62(1):251-62. doi: 10.1016/j.ympev.2011.09.022
- Lue, K. Y. and K. S. Chuang. 1992. The discovery of metamorphosed juveniles of formosan salamander (*Hynobius formosanus*) in Yu-Shan national park. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, 31(4) : 312-316.
- Martel A, S. A. Spitzen-van der, M. Blooi, W. Bert, R. Ducatelle, M. C. Fisher, A. Woeltjes, W. Bosman, K. Chiers, F. Bossuyt, and F. Pasmans. 2013.

- Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. Proc Natl Acad Sci U S A. 110(38):15325-9. doi: 10.1073/pnas.1307356110.
- Martinez-Solano, I., E. L. Jockusch, and D. B. Wake. 2007. Extreme population subdivision throughout a continuous range: phylogeography of *Batrachoseps attenuatus* (Caudata: Plethodontidae) in western North America. Mol. Ecol. 16(20): 4335-4355. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03527.x.
- Matsui, K., K. Mochida and M. Nakamura. 2003. Food habit of the Juvenile of the Japanese newt *Cynops pyrrhogaster*. Zoological science 20(7): 855-859.
- Matsunami, M., T. Igawa, H. Michimae, T. Miura, and K. Nishimura. 2016. Population structure and evolution after speciation of the Hokkaido Salamander (*Hynobius retardatus*). PLoS One 11(6): e0156815.
- Morueta-Holme, N., K. Engemann, P. Sandoval-Acuña, J. D. Jonas, R. M. Segnitz, and J. C. Svenning. 2015. Reply to Feeley and Rehm: land-use intensification increases risk of species losses from climate change. Proc. Natl. Acad. Sci. 10;112(45): E6085. doi: 10.1073/pnas.1518956112.
- Oshida, T., J. K. Lee, L. K. Lin, and Y. J. Chen. 2006. Phylogeography of Pallas's squirrel in Taiwan: geographical isolation in an arboreal small mammal. J. Mammal 87:247-254. doi: 10.1644/05-MAMM-A-123R1.1.
- Pereira, R. J., I. Martínez-Solano, and D. Buckley. 2016. Hybridization during altitudinal range shifts: nuclear introgression leads to extensive cyto-nuclear discordance in the fire salamander. Mol. Ecol. 25: 1551-1565.
- Peterman, W., and R. Semlitsch. 2013. Fine-scale habitat associations of a terrestrial salamander: the role of environmental gradients and implications for population dynamics. PLoS One 8(5): e62184. doi: 10.1371/journal.pone.0062184.
- Riddle, B., D. Hafner, L. Alexander, and J. R. Jaeger. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert Biota. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 97(26):14438-43. doi: 10.1073/pnas.250413397.
- Sanches P. G., R. C. Op 't Veld, W. de Graaf, G. J. Strijkers, H. Grüll. 2017. Novel axolotl cardiac function analysis method using magnetic resonance imaging. PLoS One. 2017 Aug 24;12(8):e0183446. doi: 10.1371/journal.pone.0183446.
- Sato, I. 1943. A monograph of tailed batrachians of Japan. Nippon Shuppan-sha Osaka 24: 119-500.
- Schneider, C. J., M. Cunningham, and C. Moritz. 1998. Comparative phylogeography

- and the history of endemic vertebrates in the wet tropics rainforests of Australia. *Mol. Ecol.* 7: 487–498.
- Stewart, K. A., J. D. Austin, K. R. Zamudio, and S. C. Loughheed. 2016. Contact zone dynamics during early stages of speciation in a chorus frog (*Pseudacris crucifer*). *Heredity* 116(2): 239-247. doi: 10.1038/hdy.2015.96.
- Toda, M., M. Matsui, M. Nishida, and H. Ota. 1998. Genetic divergence among southeast and east asian populations of *Rana limnocharis* (Amphibia: Anura), with special reference to sympatric cryptic species in Java. *Zoolog. Sci.* 1;15(4):607-13. doi: 10.2108/0289-0003(1998)15.
- Vassilieva, A. B., J. S. Lai, S. F. Yang, Y. H. Chang, and N. A. Poyarkov Jr. 2015. Development of the bony skeleton in the Taiwan salamander, *Hynobius formosanus* Maki, 1922 (Caudata: Hynobiidae): heterochronies and reductions. *Vertebr. Zool.* 65: 117-130.
- Wilson, G. A., and B. Rannala. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*. 163:1177-1191. doi:10.1093/genetics/163.3.1177
- Zhu, W., C. Bai, S. Wang, C. Soto-Azat, X. Li, X. Liu, and Y. Li. 2014. Retrospective survey of museum specimens reveals historically widespread presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in China. *Ecohealth*. 11(2): 241-250.

附錄一、阿里山山椒魚解說摺頁設計

阿里山山椒魚 藏有 臺灣島嶼記憶

Alishan salamander
(*Hynobius arisanensis*) hides
the memory of Taiwan island



玉山國家公園出版品



山椒魚起源與分類



臺灣的五種山椒魚



黑露山椒魚：成體長度是臺灣所有山椒魚中最短的。成體全長約8.7公分，尾巴與四肢長度也是臺灣所有山椒魚中最短。體背呈黑褐色，並有細小的白點。常在黑巧克力上撒白色糖霜。黑露山椒魚分佈於海拔1300至2200公尺。



南湖山椒魚：成體全長約12.1公分，體背呈金黃色和棕色底點斑紋的碎花紋。南湖山椒魚成體的體形是臺灣5種山椒魚中最長的。南湖山椒魚分佈於海拔2700至3400公尺。



楚南氏山椒魚：成體全長約10.9公分。體背呈暗黑褐色，帶有黃白色細小點狀斑紋。像黑褐色巧克力上撒山椒粉狀的黃色糖霜。楚南氏山椒魚分佈於海拔2700至3300公尺。



臺灣山椒魚：成體全長約11.9公分。體背呈暗粉褐色，帶有乳白色或淡黃色的塊狀斑紋。斑紋色塊較臺灣山椒魚大，類似阿麗的荷爾摩身上的淡白色塊狀斑紋。臺灣山椒魚分佈於海拔2000至3100公尺。



阿里山山椒魚：成體全長約11.5公分，體背呈單一的粉褐色，部分個體擁有非常細小白底點。成體身體兩側之肋部清晰明顯，尾部呈棍棒狀。阿里山山椒魚分佈於海拔2000至3600公尺。

其中以黑露山椒魚為海拔分佈較低的物種；阿里山山椒魚則為海拔分佈最高的物種。

封底

臺灣的山椒魚 地理與海拔分佈

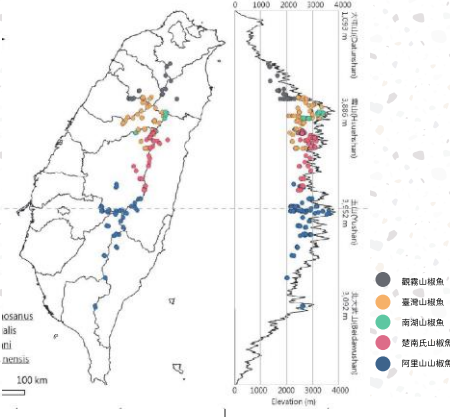


阿里山山椒魚是地理與海拔分佈最廣的山椒魚，玉山國家公園的高山環境提供重要的棲地。

玉山國家公園涵蓋中央山脈與玉山山脈，同時連接阿里山山脈。豐富的地形形成多種垂直氣候帶，提供阿里山山椒魚在冷涼潮濕的避難所；多種地形與垂直氣候帶也使得阿里山山椒魚有較高的遺傳多樣性。

臺灣的山椒魚經過演化，適應在不同的地理、緯度與海拔分佈的範圍。

五種山椒魚都棲息在海拔1300公尺至3800公尺山區的溪流源頭，大都成為不連續的小族群分佈。



附錄二、期末報告審查會議紀錄

電子公文

校級公文 113/12/27



1130132628

檔 號：
保存年限：

內政部國家公園署玉山國家公園管理處 函

地址：553208 南投縣水里鄉中山路1
段515號

聯絡人：李毓芬

聯絡電話：049-2773121#244

電子郵件：b95605089@ysnp.gov.tw

傳真：049-2348254

受文者：國立臺灣大學

發文日期：中華民國113年12月27日

發文字號：玉保字第1131012065號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：如說明二

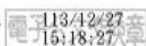
主旨：有關本處委託貴校執行之「113年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」案（計畫主持人：動物科學技術學系朱有田教授），第3期款新臺幣17萬8,000元整，將由國庫逕撥，請查照。

說明：

- 一、復貴校113年12月17日校生農字第1130126034號函暨113年12月18日校生農字第1130126087號函。
- 二、旨揭案於113年12月24日驗收合格，檢附勞務驗收紀錄及勞務結算驗收證明書各1份。

正本：國立臺灣大學

副本：本處主計室、行政室、保育研究科



「113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」期末報告審查會議紀錄

一、時間：113 年 12 月 9 日（星期一）下午 3 時 30 分

二、地點：本處 3 樓第 1 會議室

三、主持人：盧處長淑妃

紀錄:李毓芬

四、列席單位及人員：詳簽到表

五、承辦單位報告：略

六、受託單位報告：國立臺灣大學(略)

七、呂光洋委員審查意見

（一）報告書 P.49 表 2-1 可區分玉山園區內外，P.51 group1-7 可列出其分布位置，以利判讀。

（二）永久樣區監測設置不同位置可以做為比較。

（三）摺頁內容資訊多，建議可以再篩選。標題為阿里山山椒魚，而摺頁內容非僅侷限於阿里山山椒魚，建議摺頁名稱可以再調整。

（四）摺頁之起源頁標註年份、引用出處請再確認。

（五）食物鏈箭頭，建議由下至上，非全指向山椒魚。

（六）摺頁用詞部分建議調整處：

1. 一對外鰓應為三對外鰓。

2. 護卵及護幼行為，用詞可以再精簡。

3. 親代會將脫落的卵串掛在身體上護卵，可能非通例，建議用詞更謹慎。

4. 天敵可在圖片下方加註名稱。

5. 獵物建議改為食物。食物鏈的鳥類可以用帝雉代表。

八、處內委員審查意見

(一) 報告書

1. 結果討論及經營管理建議請老師再補充。
2. 簡報資料建議補充至成果報告書。
3. 分布圖片請加上玉山園區範圍，以利判讀。
4. 報告書中因阿里山山椒魚為保育類野生動物，建議補充說明保育類野生動物利用申請核准等文字。
5. 報告書中描述圈養環境有多種寫法，如圈養生態箱、圈養生態缸、人工養殖缸(圖 1-2)，應統一名詞即可。
6. 點數寫法請依序為一、(一)、1、(1)。
7. 圖表編號混亂，有圖一、二及圖 1-1、1-2 等、表一、二及表 1-1、1-2，建議統一。
8. 日期寫法建議一致，如 P.33 2024 04 06，建議寫為 2024 年 4 月 26 日。
9. 圖 1-6~1-8 圖片太小，文字看不清，建議可再調整。
10. 數字部分請 3 位數加 1 逗號，如海拔 3,952。
11. P.37 內文體長與 P.38 圖片數值有些不一致，另圖 1-3 及 1-4 X 軸標示建議加上年度。
12. P.55 園區分布最低為 2,600 公尺，神木林道後段海拔應更低，請再確認。
13. 部分處請修改：
 - (1) P.6 摘要中 2023、2024 年為不同計畫，2023 年計畫名稱為「阿里山山椒魚域內生活史調查」，2024 年計畫名稱為「113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」，請修改。
 - (2) P.7 很不樣→很不一樣。

- (3) P.18 設高→設計。
- (4) P.19、P.20 磁震造影→磁振造影。
- (5) P.39 圖 1-5，……即時紀錄溫濕度→即時記錄溫溼度。(記-動詞、紀-名詞)
- (6) P.52 圖說，公園→玉山國家公園。

(二) 摺頁

- 1. 遷徙文字與圖示的箭頭不同，請確認。
- 2. 生活史建議補充箭頭，以利閱讀。有些內容受限於篇幅沒辦法有太詳細的解釋，例如阿里山山椒魚生活史的每個階段，只知道那個時期的名稱，但不知道那個時期的重點或不同時期的差異，民眾不易理解。
- 3. 五種山椒魚的介紹因為文字多，可考慮是否列表。圖片可以有更多輔助效果，例如「臺灣的五種山椒魚」，如果直接把山椒魚體長標示在圖上，內文就不用再敘述，比較節省空間，應該也更有記憶點。
- 4. 天敵圖片-如猴子、豬的圖示，建議可以改為臺灣的物種。
- 5. 印刷版權頁文字請確認，製件單位玉山國家公園請寫全銜「內政部國家公園署玉山國家公園管理處」。
- 6. 摺頁標題阿里山山椒魚學名應為斜體。
- 7. 部分處請修改：
 - (1) 山椒魚為有尾目小鯢屬小鯢屬，屬應為誤植。
 - (2) 台灣唯一的有尾目兩棲物種，台請改為臺。
 - (3) 小鯢屬裡教古老的物種，應為較古老。
 - (4) 雜有細小的白點。，像在……。有重複的標點符號，請確認。

「113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」

期末報告審查會議簽到簿

- 一、時間：113 年 12 月 9 日（星期一）下午 3 時 30 分
- 二、地點：本處三樓第一會議室
- 三、主席(主持人)：盧淑妃處長 *盧淑妃* 紀錄：李毓芬
- 四、出（列）席單位及人員：

委員	職稱	簽名
呂光洋	國立臺灣師範大學 名譽教授	<i>視訊</i>
列席機關/單位	職稱	簽名
國立臺灣大學	<i>教授</i>	<i>朱有田</i>
	<i>研究助理</i>	<i>陳永平</i>
	<i>研究助理</i>	<i>莊可達</i>

本處單位名稱	簽名
副處長	鄧卓強
秘書	鄧強明
企劃經理科	劉潔真
環境維護科	蔣志輝
解說教育科	陳永松 鄧新敏
遊憩服務科	楊日如
塔塔加管理站	視訊
排雲管理站	視訊
南安管理站	視訊
梅山管理站	視訊
保育研究科	鄧淳芬

許慧如

附錄三、期末報告審查意見處理情形

外聘委員：

(一) 呂光洋委員

意見	處理情形
1. 報告書 P.49 表 2-1 可區分玉山園區內外，P.51 group1-7 可列出其分布位置，以利判讀。 2. 永久樣區監測設置不同位置可以做為比較。 3. 摺頁內容資訊多，建議可以再篩選。標題為阿里山山椒魚，而摺頁內容非僅侷限於阿里山山椒魚，建議摺頁名稱可以再調整。 4. 摺頁之起源頁標註年份、引用出處請再確認。 5. 食物鏈箭頭，建議由下至上，非全指向山椒魚。 6. 摺頁用詞部分建議調整處： (1) 一對外鰓應為三對外鰓。 (2) 護卵及護幼行為，用詞可以再精簡。 (3) 親代會將脫落的卵串掛在身體上護卵，可能非通例，建議用詞更謹慎。 (4) 天敵可在圖片下方加註名稱。 (5) 獵物建議改為食物。食物鏈的鳥類可以用帝雉代表。	1. 感謝委員建議，已於報告書註記 group1-7 在圖表中對應方式，利於判讀。 2. 謝謝委員的建議，永久樣區監測的設置位置不同，未來可以進行哪些科學問題探討，團隊會進一步探討研究（參考建議事項）。 3. 感謝委員建議，摺頁的內容與標題名稱已進行內容刪減與更改標題。標題為：雲嶺間的靜默信使-阿里山山椒魚。 4. 標註年份是根據過去文獻中以現有的山椒於分布資料、遺傳資料推論出來的。另外，我們已將相關文獻納入摺頁中，已提供讀者參考。 5. 感謝委員的提醒，摺頁中食物鏈的圖已進行修改。 6. (1)感謝委員提醒，已於最終版摺頁中更改。 (2)護卵及護幼等用詞皆統一改為護幼。 (3)關於親代將卵串掛在身上的圖片與陳述會進行修改。

	(4)感謝委員建議，天敵的部分將圖像替換成更清楚的物種，並會再進行修改。 (5)此部分會再進行更改。
--	--

(二) 處內委員

意見	處理情形
1. 報告書 (1) 結果討論及經營管理建議請老師再補充。 (2) 簡報資料建議補充至成果報告書。 (3) 分布圖片請加上玉山園區範圍，以利判讀。 (4) 報告書中因阿里山山椒魚為保育類野生動物，建議補充說明保育類野生動物利用申請核准等文字。 (5) 報告書中描述圈養環境有多種寫法，如圈養生態箱、圈養生態缸、人工養殖缸(圖 1-2)，應統一一名詞即可。 (6) 點數寫法請依序為一、(一)、1、(1)。 (7) 圖表編號混亂，有圖一、二及圖 1-1、1-2 等、表一、二及表 1-1、1-	1. (1)已在結果討論與管理建議上進行補充。 (2)簡報上新增的資料會補充進後續的成果報告書中。 (3)感謝委員建議，將在成果報告書中新增範圍。 (4)感謝委員建議，已於報告書中補充保育類野生動物利用申請核准相關文字說明。 (5)已於報告書中統一名詞寫法。 (6)已於報告書中修正。 (7)圖表標號已統一進行修改。 (8)感謝委員建議，已於報告書中修改成統一寫法。 (9)感謝委員建議，已將圖片大小調整。 (10)感謝委員提醒，已於成果報告書中修正。

2，建議統一。 (8) 日期寫法建議一致，如 P.33 2024 04 06，建議寫為 2024 年 4 月 26 日。 (9) 圖 1-6~1-8 圖片太小，文字看不清，建議可再調整。 (10) 數字部分請 3 位數加 1 逗號，如海拔 3,952。 (11) P.37 內文體長與 P.38 圖片數值有些不一致，另圖 1-3 及 1-4 X 軸標示建議加上年度。 (12) P.55 園區分布最低為 2,600 公尺，神木林道後段海拔應更低，請再確認。 (13) 部分處請修改： a. P.6 摘要中 2023、2024 年為不同計畫，2023 年計畫名稱為「阿里山山椒魚域內生活史調查」，2024 年計畫名稱為「113 年度阿里山山椒魚繁殖生活史監測」，請修改。 b. P.7 很不樣 很不一樣。 c. P.18 設高 設計。 d. P.19、P.20 磁震造影 磁振造影。 e. P.39 圖 1-5，.....即時紀錄溫濕度 即時記錄溫溼度。(記-動詞、紀-名詞) f. P.52 圖說，公園 玉山國家公園。 2. 摺頁 (1) 遷徙文字與圖示的箭頭不同，請	(11)感謝委員提醒與建議，已於成果報告書中修改並新增年度資訊。 (12)報告中最低海拔2,600公尺表示為目前找到的山椒魚之最低海拔。 (13)感謝委員提醒，各個需要修改的文字內容已於成果報書中進行修正。 2. (1)遷徙的圖示與文字敘述會參考過去文獻進行補充修正。 (2)感謝委員建議，生活史的圖示與文字內容會再精簡，並透過更簡單清楚的描述，以利民眾了解。 (3)感謝委員建議，摺頁中五種三椒魚的描述介紹會再調整成更精簡明瞭的說明。 (4)天敵與獵物這張食物鏈圖片，會再更改成較適合的圖示。 (5)會再確認印刷版權頁文字，並將製件單位之全銜標上。 (6)感謝委員提醒，已進行修正。 (7) 感謝委員提醒，摺頁中的文字錯誤已修正。
---	--

確認。 (2) 生活史建議補充箭頭，以利閱讀。 有些內容受限於篇幅沒辦法有太詳細的解釋，例如阿里山山椒魚生活史的每個階段，只知道那個時期的名稱，但不知道那個時期的重點或不同時期的差異，民眾不易理解。 (3) 五種山椒魚的介紹因為文字多，可考慮是否列表。圖片可以有更多輔助效果，例如「臺灣的五種山椒魚」，如果直接把山椒魚體長標示在圖上，內文就不用再敘述，比較節省空間，應該也更有記憶點。 (4) 天敵圖片-如猴子、豬的圖示，建議可以改為臺灣的物種。 (5) 印刷版權頁文字請確認，製件單位玉山國家公園請寫全銜「內政部國家公園署玉山國家公園管理處」。 (6) 摺頁標題阿里山山椒魚學名應為斜體。 (7) 部分處請修改： a. 山椒魚為有尾目小鯢屬類小鯢屬，屬類應為誤植。 b. 台灣唯一的有尾目兩棲物種，台請改為臺。 c. 小鯢屬裡教古老的物種，應為較古老。	
---	--

d. 雜有細小的白點。『像在……』。有重複的標點符號，請確認。 e. 臺灣山椒魚：花紋色塊較”臺灣山椒魚”大。同一物種比較嗎?應為誤植請確認。	
---	--