



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：090107e404

行政院農業委員會林務局九十四年度科技計畫 研究報告

資訊庫編號：942863

計畫名稱： 台灣高山地區小型哺乳類遺傳多樣性之研究：
黑腹絨鼠與高山田鼠之親緣地理學研究
(第 1 年/全程 4 年)

(英文名稱) Genetic diversity of small mammals in high mountain of Taiwan:
phylogeography of *Eothenomys melanogaster* and *Microtus kikuchii*

計畫編號： 94 農科-9.1.7-務-e4(4)

全程計畫期間： 94 年 1 月 1 日至 97 年 12 月 31 日

本年計畫期間： 94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

計畫主持人： 林良恭

執行機關： 私立東海大學

摘要

本研究檢視台灣高山地區兩種田鼠類，黑腹絨鼠 (*Eothenomys melanogaster*) 與高山田鼠 (*Microtus kikuchii*) 之細胞遺傳建立個體核型資料，及分析粒線體及核DNA分子序列差異並建立台灣高山山系區域族群之親緣地理關係，以瞭解台灣高山生態系對生物多樣性遺傳多樣性之影響。黑腹絨鼠於18個採集地點捕獲樣本83隻，高山田鼠7個採集地點共103隻。台灣黑腹絨鼠族群可分為兩核型群，差異在於X染色體的形狀，一群X染色體為acrocentric，另一群為submetametric，呈南北分群現象；DNA分子資料顯示*cytb*、*IRBP*及*G6pd*此三段不同的基因獲得的序列資訊，所建構的親緣關係樹型亦支持台灣黑腹絨鼠南北分群現象。台灣黑腹絨鼠南北群親緣關係為monophyly，起源相同自同一祖先族群分化出。高山田鼠Conventational核型於合歡山及阿里山個體並無發現任何染色體上的變異，以DNA粒線體控制區部分序列所建構出的親緣關係樹，其樹型結構上可分為南北兩群，且來自相同採集點的個體自成小群 (subclade)，顯示高山田鼠不同山頂的族群間可能受到隔離而產生遺傳分化。

。

前言

動物族群的分布與擴散常會受到地理或生態因素的限制。地理因素的限制有：山脈、河川、海洋等，例如無法越過高聳的山脈，而無法擴散至山脈的另一側，或者受到大型河流的阻礙，而無法遷徙至河流的對岸 (Alexandrino *et al.* 2000)；生態因素的限制有：棲地的要求與選擇，例如生活在河川中的初級淡水魚因為終生無法離開淡水河流生存，其族群的擴散範圍便會受限於其所生活的河流 (Wang 2000)。這些受限並被隔離於不同地區的族群之間的基因交流 (gene flow) 也會因而被阻斷，於是造成遺傳上的隔離 (genetic isolation)，也就是在族群遺傳結構上產生分化的現象，如果隔離的機制維持的時間夠長，足以產生及累

積足夠的變異，進一步達到生殖隔離 (reproductive isolation)，甚至使隔離的族群形成不同的物種，這也就是異域種化 (allopatric speciation) 的過程 (Avice 2000; Ehinger *et al.* 2002)。

近年來，分子標記 (molecular marker) 被廣泛的應用在族群遺傳結構及地理親緣關係的研究上 (Avice 2000)，因為分子標記所能分析的尺度較傳統的形態特徵 (例如頭骨形質) 要小 (Polly 2001)，可以從遺傳的層次上觀察族群遺傳結構。較常被使用來研究族群遺傳結構的分子標記有：同功異構酶 (allozyme)、核 DNA 及胞器 DNA (粒線體 DNA 或葉綠體 DNA) 的片段長度或序列，及微衛星體 (microsatellite) 等 (Avice 2000)。其中的粒線體 DNA (mitochondrial DNA，簡稱 mtDNA) 為雙股的環狀分子，且為母系遺傳，因此可將其視為一單套分子 (simple haploid molecule)，不受遺傳重組之影響；由於粒線體 DNA 的修補機制 (repair mechanism) 不完善 (Gray 1989)，其平均演化速率為核基因體的 10~15 倍。而其中控制區域 (control region) 的位置介於 phenylalanine tRNA (tRNA^{Phe}) 與 proline tRNA (tRNA^{Pro}) 之間，是粒線體 DNA 在複製及轉錄時主要的調控區域；控制區域為一 non-coding region，容易累積變異，為粒線體 DNA 中演化最快、最多變異的部分，故適合用於研究相近物種間或同種內族群間之親緣關係研究 (Baker 2000)。

近來許多台灣地區的動物地理親緣關係研究顯示，台灣的生物地理深受到過去地質事件及島上複雜地形的影響 (Hsu 2001)。生活在澳洲東南部的高山侏儒負鼠為例，由於生理上無法忍受超過 28°C 的氣溫，因此其分佈僅侷限於 1400 公尺以上的山區，並由於人為開發因素，其族群現僅分別分佈於數個隔離的山區中，其 NADH2 gene 與 mtDNA cytochrome *b* gene 序列經 Neighbour-joining tree 分析顯示，三個分化的主要單型 (Haplotype) 支系分別存在於三個隔離的主要族群中，顯示其族群分佈可能受到冰河時期氣候變動的影響，在氣候變暖時退縮至海拔較高的山區中 (Osborne *et al.* 2000)。

台灣是一個多山的島嶼，海拔 1500 以上的山區就佔據了全島面積的三分之

二，而高聳的中央山脈對島上的生物族群擴散造成極大的影響，對於低海拔物種而言，中央山脈形成了東西向基因交流的阻隔，使得東部族群與西部族群產生遺傳分化現象，例如澤蛙 (*Rana limnocharis*) (Toda *et al.* 1998)、莫氏樹蛙 (*Rhacophorus moltrechti*) (葉 1997)、斯文豪氏攀蜥 (劉 1995)。但是對於分布在中高海拔的物種而言，中央山脈所造成的影響便與低海拔物種不同了，這些物種可能受到不同山系間的山谷或是分布在中央山脈中不同的河系所形成的深蝕河谷阻礙，導致無法在各山系間進行擴散而形成被隔離的族群 (Yu 1995)。因此本研究內容包括 (一) 細胞遺傳研究，建立個體核型資料以豐富核型資料庫可供比對之參考，透過已知相近似外群物種核型資料之比對瞭解台灣二種田鼠類 (其染色體核型演化的關係。(二) 探究粒線體及核 DNA 分子序列差異並建立各段基因序列資訊資料庫，進行遺傳資訊保存，進而比對台灣各高山山系區域之遺傳與地理關係。(三) 本研究將藉由比對相關亞洲近似物種同段基因上的異同，搭配地質歷史資料探討物種分化的可能成因及台灣族群自大陸遷入的可能路徑。(四) 本研究將重新檢視台灣此兩種田鼠類的分類地位，並就生物多樣性的研究架構中，探討出台灣高山地區小型哺乳類群聚型 (community pattern) 於時空尺度 (temporal and spatial scales) 的基因庫變化，尤其是受到人為干擾的環境變遷，瞭解台灣高山生態系對生物多樣性遺傳多樣性之影響。

實驗材料與方法

1. 標本採集

以中或小型薛爾曼式活捉捕鼠器 (Sherman live trap, H. B. Sherman Traps, Inc., USA)，內置適度大小沾有花生醬的地瓜塊為誘餌進行捕捉。除野外採集捕捉樣本外，更申請美國柏克萊大學加州分校博物館高山田鼠冷凍組織樣本 (樣本編號 MK033 至 MK106)，樣本數量截至 94 年 11 月為止，黑腹絨鼠共 83 隻 (見附錄一)，高山田鼠共 103 隻 (見附錄二)。

2. 核型 (Karyotype preparation)

依Harada and Yoshida (1978) 所建立的方法，剪取約五分之一的外耳皮質或單一指頭約三分之一組織，或剪取各內臟器官（主要取肺葉）約0.5克組織或剪取尾骨約0.5公分長，以75%酒精進行3~5秒的消毒，隨後即置入Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) 溶液進行細胞長期培養及染色體染色分析，建立各個體核型資料 (Levan *et al.* 1964)。並進行條帶法 (Banding methods) 比較核型 (Seabright 1971; Sumner 1972)。

3. 去氧核糖核酸萃取 (DNA extraction)

組織採取方式為剪取約五分之一的外耳皮質或單一指頭約三分之一組織，或剪取肝臟、腎臟或肌肉少許組織，保存內含 99.8%酒精的冷凍小管中，置放組織的冷凍小管皆冷凍保存於-20 或-80°C 冰箱中，以減緩 DNA 因 DNA 分解酶的作用產生片段化現象。各個體利用約 0.2 克組織以 phenol/proteinase K/sodium dodecyl sulfate method (Sambrook *et al.* 1989) 萃取其 genomic DNA。

4. 去氧核糖核酸定序 (DNA sequencing)

黑腹絨鼠將自三段不同基因，一段為粒線體 DNA 細胞色素 *b* 基因 (mitochondrial DNA cytochrome *b*)，兩段核 DNA 基因，一為視網膜感光細胞間視黃醇類結合蛋白 (interphotoreceptor retinoid binding protein) exon 1 基因；另一為 X 染色體連鎖基因，葡萄糖六磷酸脫氫酶 (glucose 6-phosphate dehydrogenase intron 1 基因) 以不同引子 (primers) 對獲得各段序列資訊後進行遺傳差異分析 (Felsenstein 1985; Hall 1999; Kumar *et al.* 2004)。

高山田鼠則自粒線體DNA控制區及細胞色素*b*基因 (mitochondrial DNA control region and cytochrome *b*) 以不同引子對 (primers) 獲得序列資訊後進行相關親緣遺傳分析 (Felsenstein 1985; Hall 1999; Kumar *et al.* 2004)。

結果與討論

1. 黑腹絨鼠

黑腹絨鼠採集地點(圖一)，共 18 個採集地點捕獲樣本。依目前採集調查經驗發現，採集個體數量以海拔分佈 2000 公尺左右高度較多，且其棲息環境多為土質鬆軟富含腐植質且較為潮濕的縝密短草植被，亦多因此特殊棲地的不連續而造成其分佈區塊化。

台灣黑腹絨鼠族群可分為兩核型群，其差異在於 X 染色體的形狀，一群 X 染色體為 acrocentric，另一群為 submetacentric，對應目前採樣獲得的樣本其地理分佈，呈南北分群現象，可區分成北核型群和南核型群(圖二)，兩群的核型相互關係就 X 染色體而言，曾發生過 pericentric inversion。許多有關小型哺乳類親緣關係的研究是經由核型(karyotype)分析來探討染色體上的變異，發生於染色體結構上的變異種類有許多，例如 tandem fusions(縱排癒合)、heterchromatic additions(異染色質累積)、inversion(倒位)及 Roberstionian translocation(羅氏易位)(Kawada *et al.* 2001)。染色體變異造成的些微基因組成改變有造成物種種化的可能存在(Nachman and Searle 1995)；可是往往染色體變異造成的生殖隔離速度雖然很快的，但外在型態或基因組成卻不一定會有相對的變異產生(Janice *et al.* 1995)。雖然造成染色體變異的機制尚未完全清楚，且染色體變異是否牽動分子層次上的改變而造成種化仍有待釐清；但運用染色體分析法來觀察物種核型變異，現今仍是推論物種種化機制及描述系統發生史的重要標記工具(maker)之一。

台灣黑腹絨鼠 X 染色體 A (Acrocentric X) 到 SM (Submetacentric X) 是發生了 pericentric inversion，比較有關 *Eothenomys* 屬於日本 *Eothenomys* 屬和韓國的 *Eothenomys* 及北方歐亞大陸的 *Clethrionomys* 屬等核型資料(Iwasa 2000)，黑腹絨鼠北核型群 X 染色體 (Acrocentric X) 上應為祖先型特徵，因為 Acrocentric X 形態跨種及跨屬間共同的特徵。

就 DNA 分析上，除台灣黑腹絨鼠外，並使用獲得自中國四川的黑腹絨鼠樣本，目前 *cytb* 完成的分析個體共 85 隻，*IRBP* 共 61 隻，*G6pd* 共 47 隻。依三段

不同的基因 *Cytb*、*IRBP*、*G6pd* 獲得的序列資訊所建構的親緣關係樹型（圖三、圖四及圖五）其樹型結構皆支持台灣黑腹絨鼠南北分群現象，且因各段基因演化速率不同而各有不同程度的遺傳差異；且台灣黑腹絨鼠南北群親緣關係為 monophyly，即其起源相同、自同一祖先族群分化出。

近來許多台灣地區的動物地理親緣關係研究顯示，對於分布在中高海拔的物種而言，可能受到不同山系間的山谷或是分布在中央山脈中不同的河系所形成的深蝕河谷阻礙，導致無法在各山系間進行擴散而形成被隔離的族群（Yu 1995）。分布於中高海拔山區的長鬃山羊（*Naemorhedus swinhoei*），分析 mtDNA cytochrome *b* gene 顯示長鬃山羊在中央山脈分化為南北兩大族群（張 2002）。以 RFLP 分析分布於中高海拔山區的台灣森鼠（*Apodemus semotus*）mtDNA，亦發現台灣森鼠分為南北兩群（Hsu 2000）。但真正形成南北兩區系的機制或原因仍尚待更多的地質、氣候與化石證據來闡明。

2. 高山田鼠

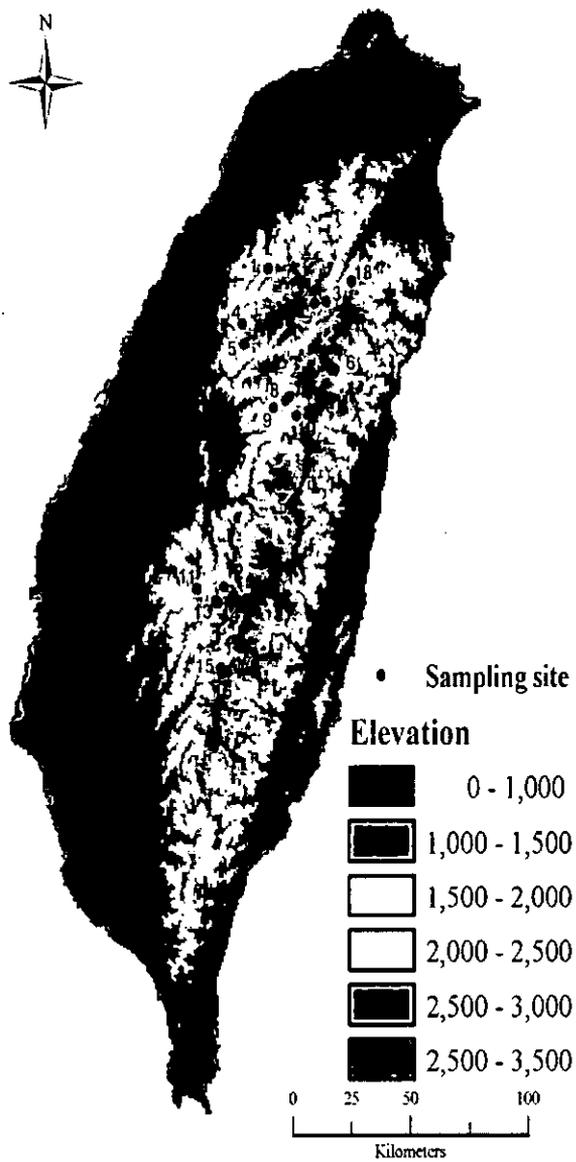
高山田鼠採集地點（圖六）。目前僅 7 個採集地點捕獲樣本，多分佈於 2500 公尺以上的高海拔山區，其較喜好棲息於箭竹草原及高山草原等棲地，植食性，婚配制度可能為一夫一妻制，一胎產 1-3 仔（呂 1991；簡 等 1994；林 1997；陳 等 2000）。

高山田鼠 Conventional 核型圖（圖七），目前比對採自合歡山及阿里山個體並無發現任何染色體上的變異。（與 Harada *et al.* 1991 比較）

高山田鼠以 DNA 粒線體控制區部分序列所建構出的親緣關係樹，其樹型結構上可分為南北兩群，且來自相同採集點的個體自成小群（subclade）（圖八）。於採集點 1 號合歡山、2 號能高、4 號阿里山、6 號關山（圖六）及引用自 NCBI 上一個體（地點不明），共 5 個採樣點 16 隻高山田鼠，在控制區域部分序列（638 bp）中發現 15 個單型（圖八），變異點共 46 個，包括 42 個 transitions、3 個 transversions 以及 1 個 deletion。顯示不同族群間存在著遺傳分化，也就是說這些

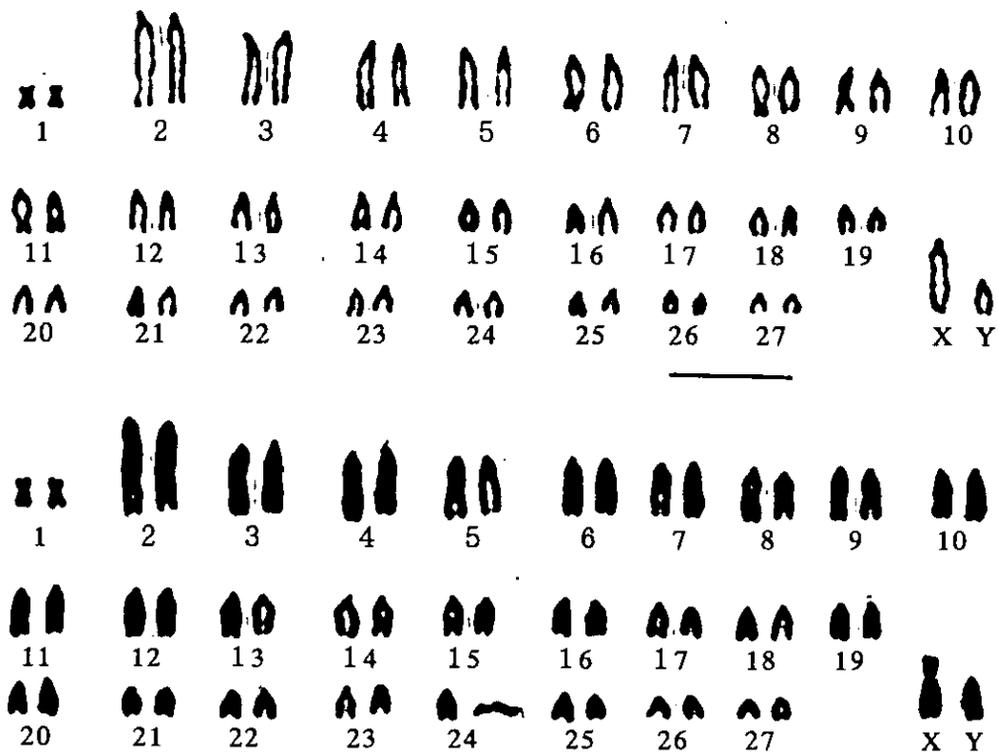
高山田鼠族群可能受到地形、海拔或距離的隔離。此外比對細胞色素 b 的全段序列 (full length, 1143 個鹽基) 訊息亦發現，南北兩群群內的個體其全段序列 (1143 個鹽基) 差異僅約 3 至 5 個鹽基，但群間差異約 30 至 35 個鹽基，雖目前定序樣本數量太少，但此結果與粒線體控制區皆支持粒線體 DNA 基因分化現象。

Yu (1995) 以 allozyme 分析玉山及關山地區的高山田鼠，六個採樣地點皆在海拔 3000 公尺以上 (包含三個樣區、每個樣區有高低二個採樣地點)，同一樣區中的高低二個採樣地點海拔差距在 300-430 公尺間，其結果顯示三個樣區族群間遺傳分化程度較高 (Fst 為 0.203)、基因交流較低 (Nm 為 0.308)，可能是受到隔離所致，此結果顯示高山田鼠不同山頂的族群間可能受到隔離而產生遺傳分化。

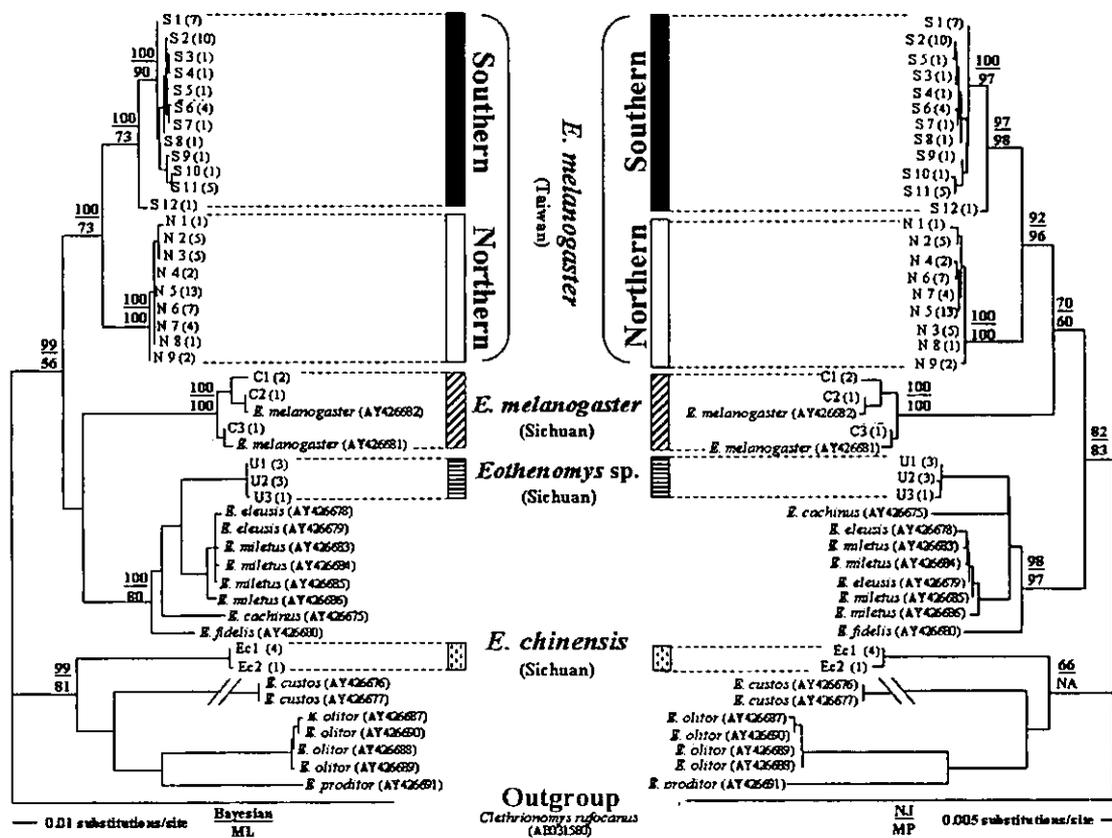


編號	地點
1	苗栗縣泰安鄉雪霸國家公園 觀霧
2	台中縣和平鄉雪霸國家公園
3	宜蘭縣大同鄉台7甲線32.5公里處2
4	台中縣和平鄉雪山路210林道
5	台中縣和平鄉雪山路大霧山 森林遊樂區
6	花蓮縣秀林鄉富世村慈恩
7	南投縣仁愛鄉翠峰1
8	南投縣仁愛鄉翠峰2
9	南投縣仁愛鄉北東眼山
10	南投縣仁愛鄉精英村
11	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里 山森林遊樂區
12	南投縣信義鄉
13	南投縣信義鄉玉山國家公園 玉山登山口
14	南投縣信義鄉玉山國家公園 塔塔加鞍部
15	高雄桃源鄉1
16	高雄桃源鄉2
17	高雄桃源鄉3
18	宜蘭縣大同鄉

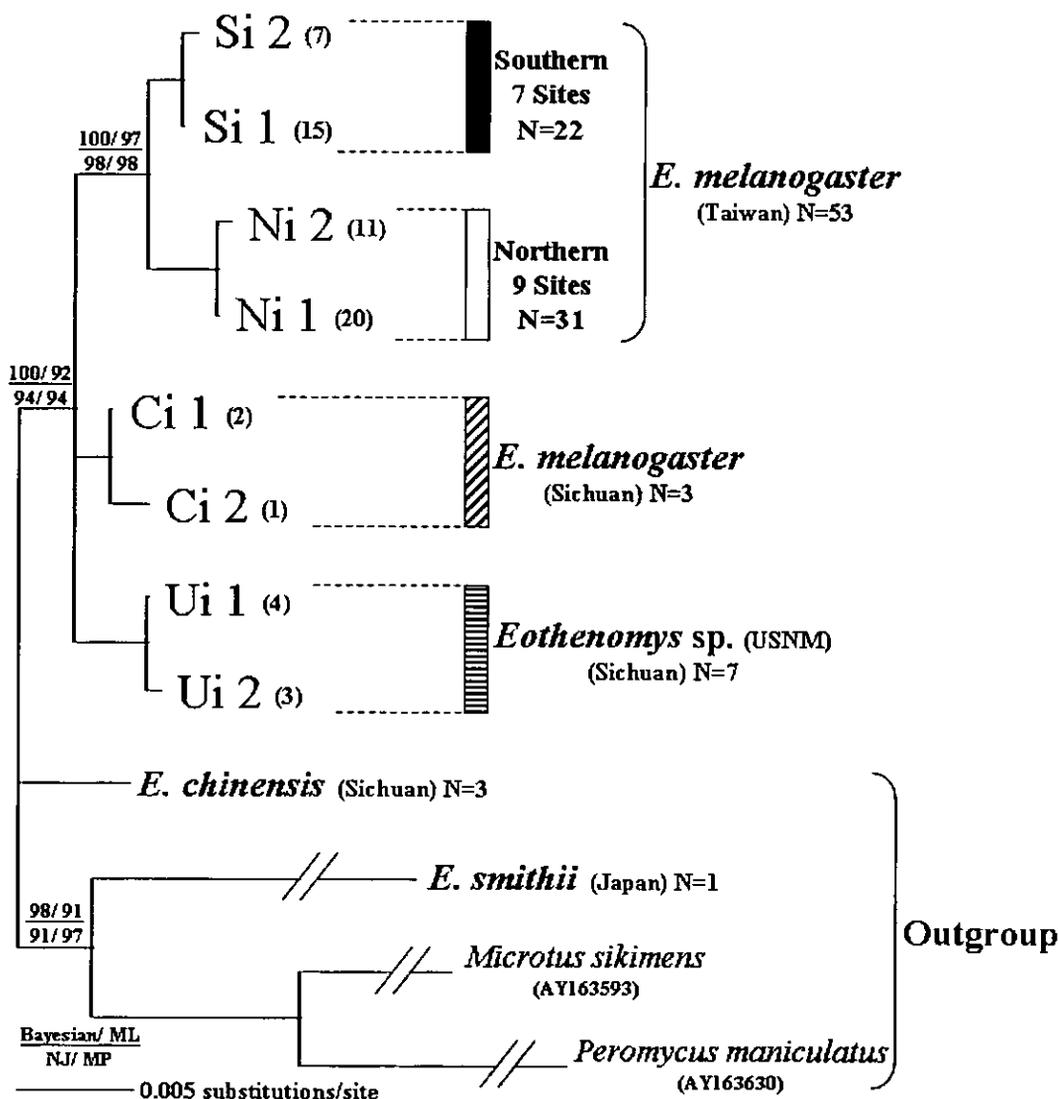
圖一、黑腹絨鼠採集點。



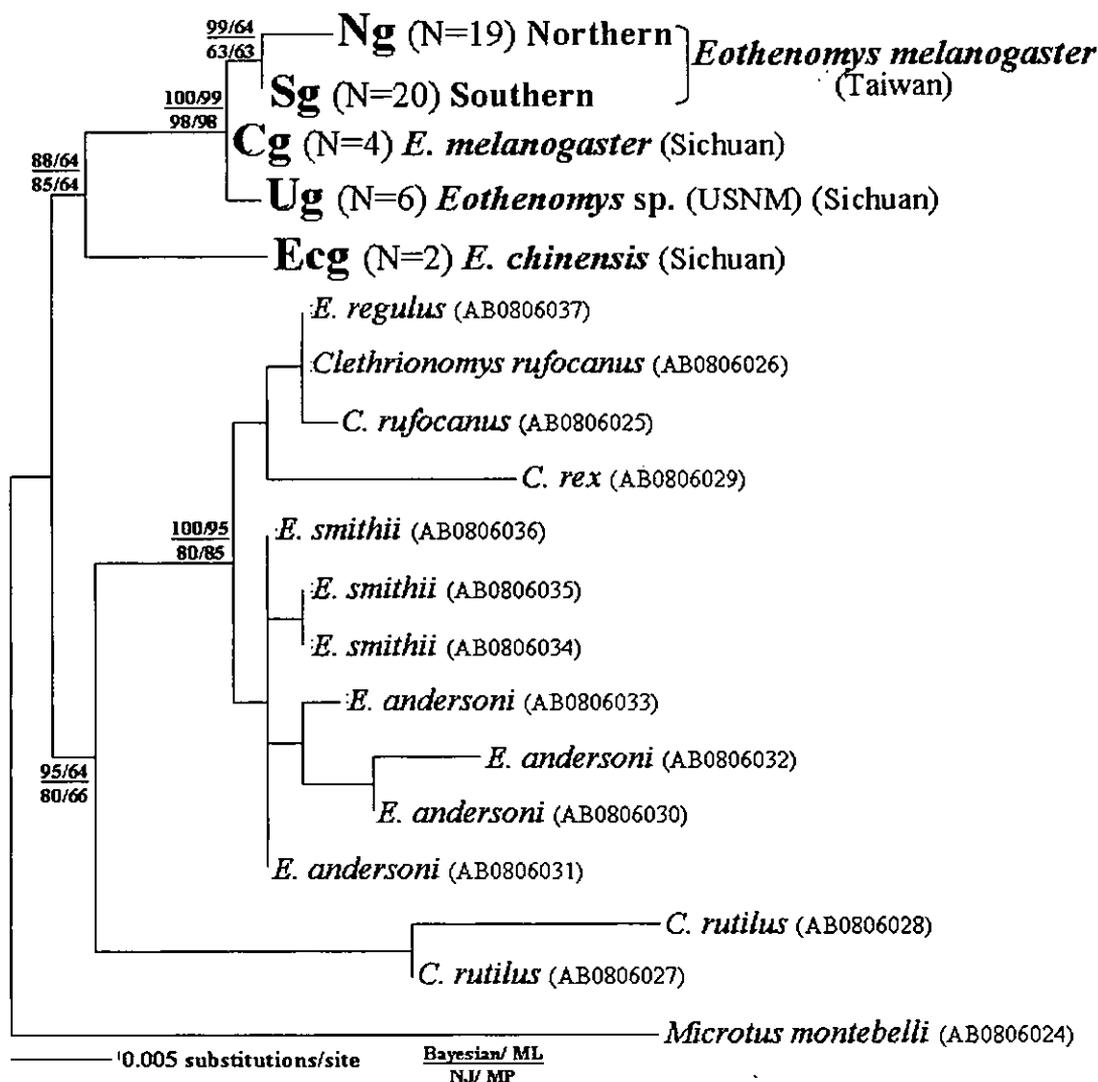
圖二、台灣黑腹絨鼠 Conventational 核型圖。(上為北群核型、X 染色體形狀為 acrocentric，下為南群核型、X 染色體形狀為 submetacentric)。



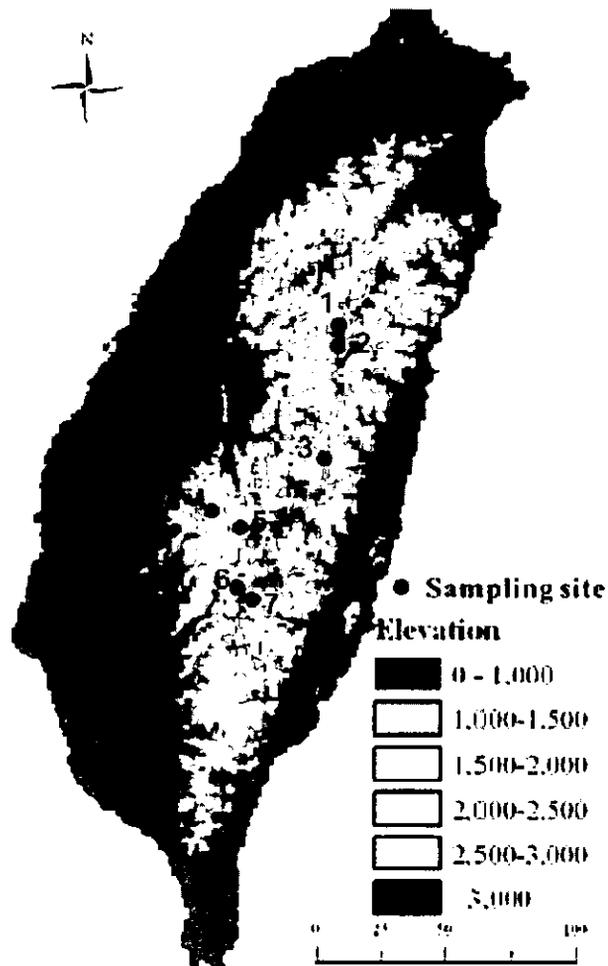
圖三、Cyt *b* 全段序列結果分析。左邊為貝式分析樹型圖，結點的數值分別代表 Bayesian 事後機率值(上值)及 ML likelihood 值(下值)；右邊為鄰接法樹型圖，結點的數值分別代表 NJ bootstrap 值(上值)及 MP bootstrap 值(下值)。S1 至 S12 為台灣黑腹絨鼠南群 12 個單型，N1-N9 台灣黑腹絨鼠北群 9 個單型，C1 至 C3 為四川黑腹絨鼠 3 個單型。種名後有序號為自 NCBI 採用的資料。



圖四、*IRBP* intron1 部分序列結果分析。樹型結構以 ML 樹型呈現，結點的數值分別為 Bayesian 事後機率值(左上)，ML likelihood 值(右上)，NJ bootstrap 值(左下)，MP bootstrap 值(右下)。Si1 為台灣黑腹絨鼠南群單型 1，Si2 為台灣黑腹絨鼠南群單型 2，Ni1 為台灣黑腹絨鼠北群單型 1，Ni2 為台灣黑腹絨鼠北群單型 2；Ci1 為四川黑腹絨鼠單型 1，Ci2 為四川黑腹絨鼠單型 2。種名後有序號為自 NCBI 採用的資料。

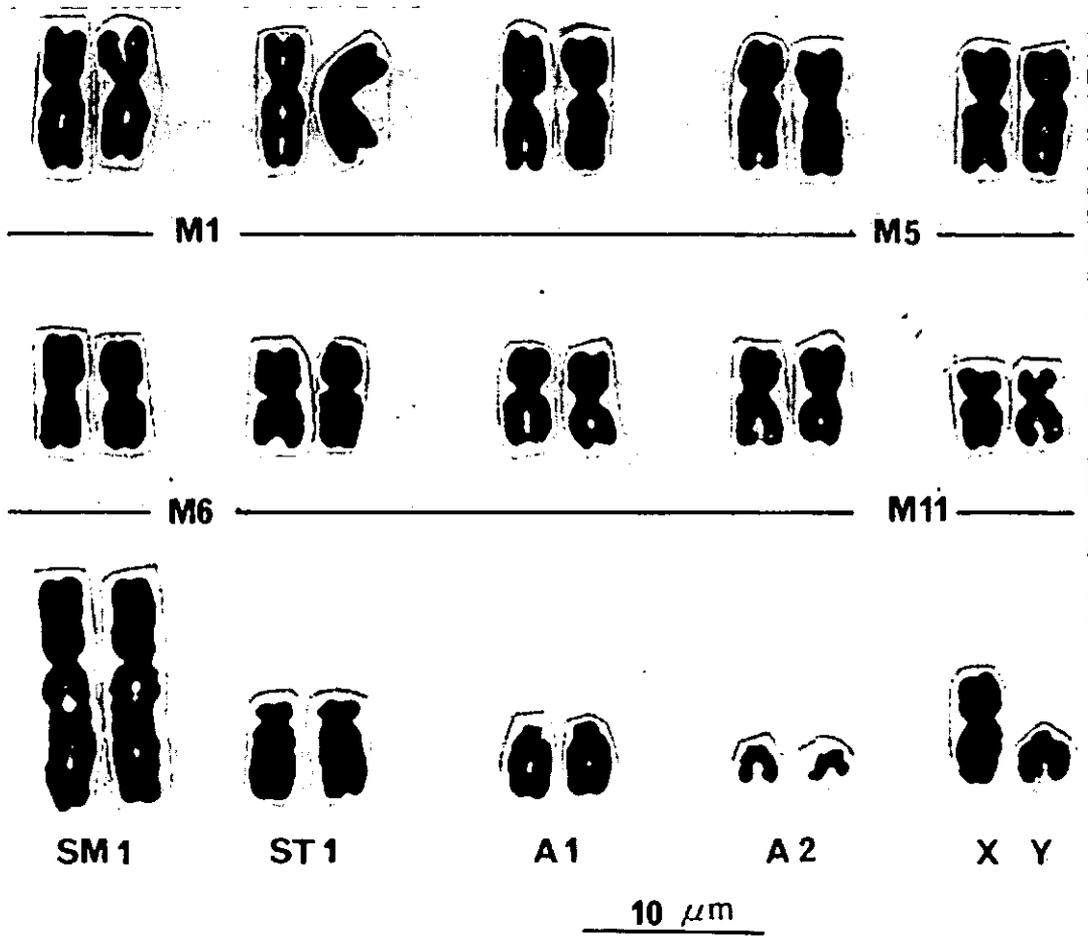


圖五、*G6pd* intron1 部分序列結果分析，樹型結構以 ML 樹型呈現，結點的數值分別為 Bayesian 事後機率值(左上)，ML likelihood 值(右上)，NJ bootstrap 值(左下)，MP bootstrap 值(右下)。Ng 為黑腹絨鼠北群單型，Sg 為黑腹絨鼠南群單型，Cg 為四川黑腹絨鼠單型。種名後有序號為自 NCBI 採用的資料。

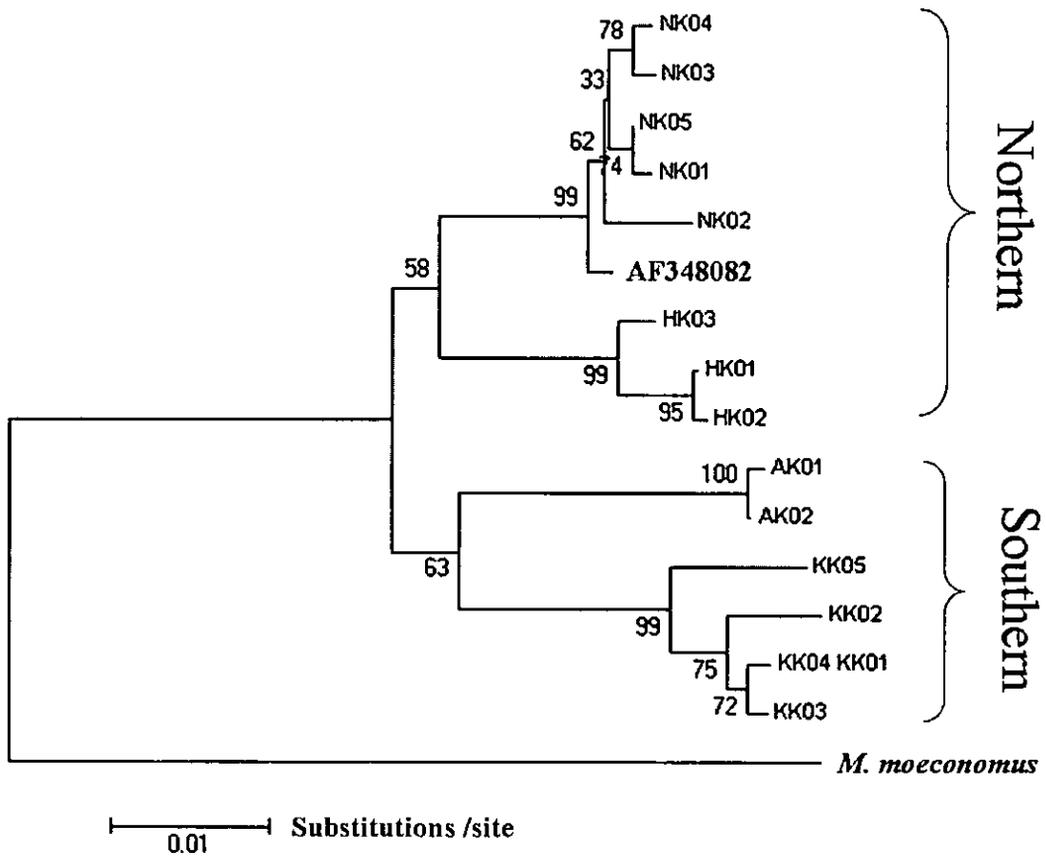


編號	地點
1	南投縣仁愛鄉合歡山 莊雲訓場附近
2	南投縣仁愛鄉精英村 能高天池山莊
3	南投縣信義鄉地利村 丹大林道
4	嘉義縣阿里山鄉阿里 山森林遊樂區
5	嘉義縣阿里山鄉排雲 山莊往塔塔加鞍部
6	高雄縣桃源鄉關山
7	台東縣海端鄉向陽森 林遊樂區

圖六、高山田鼠採集點。



圖七、高山田鼠 Conventional 核型圖。(M 表 metacentric, SM 表 submetacentric, ST 表 subtelocentric, T 表 telocentric)。



圖八、粒線體 DNA 控制區部分序列結果分析顯示，NJ 樹樹型結構上高山田鼠呈南北分群現象。(NK、HK、AK 及 KK 後加號碼等代號表個體，相關資訊請詳見附錄二。除 KK04 與 KK01 為同一單型外，其餘個體皆為不同單型，共 15 個單型)。AF348082 及 *M. moeconomus* 為自 NCBI 採用的資料。

參考文獻

- 呂孟恂。1991。合歡山地區台灣高山田鼠 (*Microtus kikuchii*) 的生態與生殖研究。私立東海大學生物學研究所碩士論文。
- 林良恭。1997。阿里山、鹿林山針闊葉樹林自然保護區野生動物相研究調查。台灣省林務局保育研究系列 86-03 號。嘉義。pp.10-12。
- 張訓誠。2002。以粒線體核酸序列與頭骨形態分析長鬃山羊屬 (偶蹄目：牛科) 之親緣關係與生物地理。國立中山大學生命科學研究所碩士論文。
- 陳佑哲、謝宗宇、林良恭。2000。台灣高山田鼠 (*Microtus kikuchii*) 婚配制度的探討。私立東海大學生物學研究所學士論文。
- 葉文珊。1997。莫氏樹蛙族群地理親緣關係之研究。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文。
- 簡明龍、林春基、鄭錫奇、張簡琳玟、林雲龍、張仕緯。1994。台灣中部地區哺乳類動物之調查。台灣省特有生物研究保育中心。南投。pp.1-24。
- 劉國強。1995。以粒線體核酸分析斯文豪氏攀蜥之生物地理與親緣關係。國立中山大學生命科學研究所碩士論文。
- Alexandrino, J., E. Froufe, J. W. Arntzen and N. Ferrand. 2000. Genetic subdivision, glacial refugia and postglacial recolonization in the golden-striped salamander, *Chioglossa lusitanica* (Amphibia: Urodela). *Molecular Ecology* 9: 771-781.
- Avice, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge. USA.
- Baker, A. J. 2000. *Molecular methods in ecology*. Blackwell Science Press. Oxford. UK.
- Ehinger, M., P. Fontanillas, E. Petit and N. Perrin. 2002. Mitochondrial DNA variation along an altitudinal gradient in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*. *Molecular Ecology* 11: 939-945.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gray, W. M. 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annual Review of Cell Biology* 5: 25-50.
- Hartl, D. L. and A. G. Clark. 1997. *Principles of population genetics*. Sinauer Associates. Massachusetts. USA.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Research Symposium Series* 41: 95-98.
- Harada, M., A. Ando, L. K. Lin, and S. Takada. 1991. Karyotypes of the Taiwan vole *Microtus kikuchii* and the Pere David's vole *Eothenomys melanogaster* from Taiwan. *Journal of the Mammalogical Society of Japan* 16: 41-45.

- Harada, M. and T. H. Yoshida. 1978. Karyological study of four Japanese *Myotis* bats (Chiroptera, Mammalia). *Chromosoma* **65**: 283-291.
- Hsu, F. H., F. J. Lin and Y. S. Lin. 2001. Phylogeographic structure of the Formosan wood mouse, *Apodemus semotus* Thomas. *Zoological Studies* **40**: 91-102.
- Iwasa, M. A. 2000. Phylogeny and taxonomy of the red-backed voles in Far East Asia. Doctor's thesis. Hokkaido University, Hokkaido, Japan.
- Kawada, S.-i., M. Harada, Y. Obara, S. Kobayashi, K. Koyasu, and S.-i. Oda. 2001. Karyosystematic analysis of Japanese talpine moles in the genera *Euroscaptor* and *Mogera* (*Insectivora*, *Talpidae*). *Zoological Science* **18**: 1003-1010.
- Klug, W. S. and M. R. Cummings. 2000. Concepts of genetics. Prentice Hall. New Jersey. USA.
- Kumar S., K. Tamura, I. B. Jakobsen, and M. Nei (2004) MEGA3: molecular evolutionary genetics analysis software, Arizona State University, Arizona, USA.
- Levan, A., K. Fredga, and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* **52**: 201-220.
- Nachman, M. W., and J. B. Searle. 1995. Why is the house mouse karyotype so variable? Pages 397-402 in *Trends in Ecology & Evolution*.
- Osborne, M. J., J. A. Norman, L. Christidis and N. D. Murray. 2000. Genetic distinctness of isolated populations of an endangered marsupial, the mountain pygmy-possum, *Burramys parvus*. *Molecular Ecology* **9**: 609-613.
- Polly, P. D. 2001. On morphological clocks and paleophylogeography: towards a timescale for *Sorex* hybrid zones. *Genetica* **112**: 339-357.
- Sambrook, J; Fritsch, E. F.; Maniatis, T. 1989 *Molecular cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor, New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* **2**: 971-972.
- Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* **75**: 304-306.
- Toda, M., M. Nishida, M. Matsui, K. Y. Lue, H. Ota. 1998. Genetic variation in the Indian rice frog, *Rana limnocharis* (Amphibia: Anura) in Taiwan, as revealed by allozyme data. *Herpetologica* **54**: 3-82.
- Wang, J. P., K. C. Hsu and T. Y. Chiang. 2000. Mitochondrial DNA phylogeography of *Acrossocheilus paradoxus* (Cyprinidae) in Taiwan. *Molecular Ecology* **9**: 483-494.
- Yu, H. T. 1995. Patterns of diversification and genetic population structure of small mammals in Taiwan. *Biological Journal of the Linnean Society* **55**: 9-89.

附錄一、黑腹絨鼠採集地點及 DNA 定序進度一覽表

編號	地點	TW67 X	TW67 Y	性別	核型	Cytb	IRBP	G6pd
EM001	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F		Y	Y	
EM002	花蓮縣秀林鄉富世村慈恩	288800	2676600	F	北群	Y	Y	
EM003	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	M		Y	Y	Y
EM004	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	M		Y	Y	Y
EM005	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y	Y	Y
EM006	花蓮縣秀林鄉富世村慈恩	288800	2676600	M	北群	Y	Y	Y
EM007	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y	Y	Y
EM008	台中縣和平鄉雲山路大雪山森林遊樂區	250217	2685402	M		Y		Y
EM009	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	F	北群	Y	Y	
EM010	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	F		Y	Y	
EM011	南投縣仁愛鄉翠峰 1	267284	2665820	F		Y		
EM012	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	M		Y	Y	Y
EM014	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	F	南群	Y	Y	
EM015	花蓮縣秀林鄉富世村慈恩	288800	2676600	F		Y	Y	
EM016	南投縣仁愛鄉翠峰 1	267284	2665820	F		Y	Y	
EM017	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	M		Y		
EM018	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y	Y	Y
EM019	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F	南群	Y	Y	
EM020	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F		Y		
EM021	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y		Y
EM023	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	M		Y	Y	Y
EM024	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y		Y
EM025	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y		Y
EM026	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M		Y		Y
EM027	苗栗縣泰安鄉雲霸國家公園	260700	2711300	F	北群	Y	Y	
EM028	南投縣信義鄉玉山國家公園玉山登山口	239000	2597125	M		Y	Y	Y
EM029	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F		Y		
EM030	南投縣信義鄉玉山國家公園玉山登山口	239000	2597125	F		Y		Y
EM031	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	M		Y	Y	Y
EM032	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	F		Y	Y	
EM033	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	M		Y	Y	Y
EM034	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F		Y	Y	
EM035	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F		Y		
EM036	台中縣和平鄉雲山路大雪山森林遊樂區	250217	2685402	M		Y	Y	Y
EM037	台中縣和平鄉雲山路大雪山森林遊樂區	250217	2685402	M		Y	Y	Y
EM039	台中縣和平鄉雲霸國家公園	280285	2699290	F		Y	Y	Y

EM040	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F		Y	Y	
EM044	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F		Y	Y	
EM045	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F		Y	Y	
EM046	高雄縣桃源鄉 2	240034	2575050	F	南群	Y	Y	Y
EM047	高雄縣桃源鄉 2	240034	2575050	M	南群	Y	Y	Y
EM048	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	M		Y		Y
EM049	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	F		Y		
EM050	台中縣和平鄉雪山路大雪山森林遊樂區	250217	2685402	M		Y		Y
EM051	花蓮縣秀林鄉富世村慈恩	288800	2676600	M		Y	Y	Y
EM052	南投縣仁愛鄉翠峰 2	271500	2668000	M	北群	Y	Y	Y
EM053	南投縣仁愛鄉翠峰 2	271500	2668000	M	北群	Y	Y	Y
EM054	南投縣仁愛鄉翠峰 2	271500	2668000	M	北群	Y		Y
EM055	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	M	北群	Y	Y	Y
EM056	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F	北群	Y	Y	
EM057	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F	北群	Y	Y	
EM058	台中縣和平鄉雪山路 210 林道	249500	2692380	M	北群	Y	Y	
EM059	台中縣和平鄉雪山路 210 林道	249500	2692380	F	北群	Y	Y	
EM060	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M	南群	Y		
EM061	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	F	南群	Y		
EM062	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	230250	2602000	M	南群	Y	Y	Y
EM063	高雄縣桃源鄉 2	240750	2573000	F	南群	Y		
EM064	台中縣和平鄉雪山路大雪山森林遊樂區	250217	2685402	M		Y	Y	Y
EM067	高雄縣桃源鄉 2	240750	2573000	F	南群	Y	Y	
EM068	南投縣信義鄉玉山國家公園塔塔加鞍部	237900	2597600	M		Y		Y
EM069	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	F		Y		
EM070	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	M	北群	Y		Y
EM071	台中縣和平鄉雪霸國家公園	280285	2699290	F	北群	Y		
EM072	高雄縣桃源鄉 2	240034	2575050	M		Y	Y	Y
EM073	高雄縣桃源鄉 2	240034	2575050	F		Y	Y	
EM074	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	F		Y	Y	
EM075	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	F		Y	Y	
EM076	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	F		Y	Y	
EM077	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	M		Y	Y	Y
EM078	南投縣仁愛鄉北東眼山	262760	2663620	M		Y	Y	Y
EM079	南投縣信義鄉	241450	2602650	M		Y	Y	Y
EM080	南投縣信義鄉	241450	2602650	F			Y	
EM081	南投縣仁愛鄉精英村	272500	2660800	F		Y		
EM083	高雄縣桃源鄉 1	243000	2573900	F		Y	Y	

EM084	高雄縣桃源鄉 2	240034	2575050	M	Y	Y	
EM085	高雄縣桃源鄉 3	240000	2572500	M		Y	
EM095	宜蘭縣大同鄉台 7 甲線 32.5 公里處 2			M			
EM096	中國四川峨嵋山			M	Y	Y	Y
EM097	中國四川峨嵋山			M	Y	Y	Y
EM101	宜蘭縣大同鄉太平山太平公園			F			
EM103	宜蘭縣大同鄉太平山太平公園			M			
EM104	宜蘭縣大同鄉太平山太平公園			M			
CEM01	中國四川唐家河保護區			M	Y	Y	Y
CEM02	中國四川唐家河保護區			M	Y	Y	Y

F: female M: male Y: 已有序列資料

附錄二、高山田鼠採集地點及 DNA 定序進度一覽表

編號	序列編號	地點	採集點 編號	性別	控制區 (D-loop)
MK001	KK01	高雄縣桃源鄉關山	6	M	Y
MK002	KK02	高雄縣桃源鄉庫哈諾辛	6	M	Y
MK003	KK03	高雄縣桃源鄉關山	6	M	Y
MK004	KK04	高雄縣桃源鄉關山	6	M	Y
MK005	KK05	高雄縣桃源鄉關山	6	F	Y
MK006		南投縣信義鄉玉山國家公園白洋金礦	5	M	
MK007		南投縣信義鄉玉山國家公園圓峰山屋	5	M	
MK008	NK01	南投縣仁愛鄉精英村能高天池	2	F	Y
MK009	NK02	南投縣仁愛鄉精英村能高天池山莊	2	F	Y
MK010	NK03	南投縣仁愛鄉精英村能高天池山莊	2	M	Y
MK011	NK04	南投縣仁愛鄉精英村能高天池山莊	2	M	Y
MK012	NK05	南投縣仁愛鄉精英村能高天池山莊	2	M	Y
MK013		南投縣仁愛鄉精英村能高天池山莊	2	M	
MK016	AK01	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	4	M	Y
MK017	AK02	嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	4	F	Y
MK018		嘉義縣阿里山鄉香林村阿里山森林遊樂區	4	F	
MK019	HK01	南投縣仁愛鄉合歡山莊雪訓場附近	1	F	Y
MK020	HK02	南投縣仁愛鄉合歡山莊雪訓場附近	1	F	Y
MK021	HK03	南投縣仁愛鄉合歡山莊雪訓場附近	1	M	Y
MK022		南投縣仁愛鄉合歡山莊雪訓場附近	1	F	
MK023		南投縣仁愛鄉合歡山莊雪訓場附近	1	F	
MK025		南投縣信義鄉地利村丹大林道	3	M	
MK026		南投縣信義鄉地利村丹大林道沿線	3	M	
MK027		台東縣海端鄉向陽森林遊樂區	7	M	
MK028		嘉義縣阿里山鄉阿里山森林遊樂區	4	M	
MK029		塔塔加玉山登山口	5	F	
MK030		塔塔加玉山登山口	5	F	
MK031		嘉義縣阿里山鄉阿里山森林遊樂區姊妹潭附近鐵道旁	4	F	
MK032		能高天池山莊	2	F	
MK033		嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M	
MK034		嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	F	

MK035	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	F
MK036	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK037	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK038	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK039	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK040	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK041	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK042	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK043	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK044	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK045	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK046	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	F
MK047	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	55	M
MK048	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK049	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK050	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK051	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK052	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK053	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	F

MK054	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK055	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK056	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK057	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK058	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK059	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK060	南投縣信義鄉沙里仙溪林道	5	F
MK061	高雄縣桃源鄉南橫公路 143.4 公里處	6	F
MK062	高雄縣桃源鄉南橫公路 143.4 公里處	6	M
MK063	南投縣信義鄉八通關古道 16 公里處	5	F
MK064	南投縣信義鄉八通關古道 16 公里處	5	F
MK065	南投縣信義鄉八通關古道 16 公里處	5	F
MK066	南投縣信義鄉八通關古道 16 公里處	5	F
MK067	南投縣信義鄉八通關古道 16 公里處	5	F
MK068	南投縣信義鄉八通關古道 12.8 公里處	5	F
MK069	南投縣信義鄉老濃溪營地往上 1.5 公里處	5	M
MK070	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	M
MK071	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	M
MK072	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	F
MK073	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	F
MK074	南投縣信義鄉老濃溪營地往上 1.5 公里處	5	M
MK075	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	F
MK076	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	M
MK077	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	F
MK078	南投縣信義鄉老濃溪營地往下 1 公里處	5	F
MK079	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	F
MK080	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK081	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道 2 公里處	5	M
MK082	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M

	2 公里處		
MK083	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	F
	2 公里處		
MK084	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	F
	2 公里處		
MK085	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往圓峰營地步道 3 公里處	5	M
MK086	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK087	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK088	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	F
	2 公里處		
MK089	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK090	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK091	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	F
	2 公里處		
MK092	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK093	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK094	嘉義縣阿里山鄉排雲山莊往塔塔加鞍部步道	5	M
	2 公里處		
MK095	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	M
MK096	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	F
MK097	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	F
MK098	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	M
MK099	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	M
MK100	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	F
MK101	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	F
MK102	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	F
MK103	南投縣信義鄉老濃溪營地	5	F
MK104	南投縣信義鄉班那依克營地	5	M
MK105	高雄縣桃源鄉往關山步道	6	M
MK106	南投縣仁愛鄉合歡山特有生物中心高海拔試 驗站附近箭竹草原	1	F

F: female M: male Y: 已有序列資料

MK33~MK106: 自美國柏克萊大學加州分校博物館申請標本