

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

腹斑蛙及白領樹蛙蝌蚪越冬生物學之研究(1/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2311-B-029-004-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：東海大學生命科學系

計畫主持人：關永才

計畫參與人員：莊銘豐

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 5 月 30 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中報告

腹斑蛙及白頰樹蛙蝌蚪越冬生物學之研究 (1/2)

The overwintering tadpoles of *Rana adenopleura* in a subtropical lowland of Taiwan (1/2)

計畫編號：NSC 93-2311-B-029-004

執行期間：93 年 8 月 1 日至 94 年 7 月 31 日

主持人：關永才 私立東海大學生命科學系 教授

計畫參與人員：莊銘豐 彰化師範大學 生物系 研究生

中文摘要

本研究擬探討台灣低海拔地區腹斑蛙蝌蚪越冬的生態及生理。蓮華池地區（含澀水村）的腹斑蛙族群位於海拔 500 左右的低海拔山區，自 2003 年 1 月至 2004 年 4 月的研究指出，其蝌蚪具有越冬的現象，當 10-11 月溫度下降之時，蝌蚪開始有延緩發育的現象，12-2 月嚴冬之際更有滯育（完全停止）的現象，3-4 月漸漸回復正常發育的狀態。在同一發育程度（phase）的體型大小，越冬蝌蚪明顯比沒有越冬的蝌蚪體型大，食物的限制則加強了越冬蝌蚪成長發育的限制。本實驗具體結果如下：（1）腹斑蛙為季節性繁殖的種類，冬季時不繁殖，（2）亞熱帶低海拔的腹斑蛙族群，其蝌蚪確實有越冬的現象：10-12 月呈現緩慢發育狀態，12-2 月為滯育的狀態，且越冬蝌蚪會以較大體型變態，（3）冬季溫度降低是促使腹斑蛙蝌蚪越冬的重要因子。本研究結果證實，處於亞熱帶低海拔的地區發現蝌蚪的確有越冬現象，這是相當奇特及深具生態學意義的，且將會對蝌蚪生活史特徵演化的探討有相當重要的參考價值。

英文摘要

We studied the ecology and physiology of overwintering tadpoles of *Rana adenopleura*

in Lien Hua Chih from 2003 to 2004.

Intensive field survey revealed that *Rana adenopleura* is seasonal breeder and does not breed in the winter, which suggests that the tadpoles truly overwinter. Monthly survey of the development and growth of tadpoles revealed that they showed retarded development during October-December and ceased to develop during the winter period (January to February). A laboratory experiment showed that low temperatures but not the food level inhibited tadpole development. Results indicate that *R. adenopleura* tadpoles truly overwinter, and this is the first report of overwintering tadpoles in subtropical region.

緣由與目的

蝌蚪的越冬現象一般被發現在溫帶地區，而在其他地區則幾乎鮮少發現過，蝌蚪會越冬的無尾類，包括 *Rana catesbeiana*, *Rana clamitana*, *Rana sylvatica* 等溫帶物種，其蝌蚪的生長與發育均已被記錄或討論（Lai 2002）。蝌蚪的越冬現象事實上並不常見，舉美國加州地區為例，位於北緯 34°-38° 的加州紅腿蛙（*Rana aurora draytonii*），是當地除了牛蛙以外，唯一被發現有越冬蝌蚪的種類，而且其越冬蝌蚪的數量稀少且不常見（Fellers et al.

2001) 而在台灣，僅有一篇研究有探討到蝌蚪越冬的情形，即梭德氏赤蛙的高海拔族群（海拔約 2000m），而且可能為亞熱帶地區唯一有被報導越冬現象的種類（Lai 2002）。溫帶地區越冬蝌蚪的發生一方面歸因於生長季節的短暫，限制蝌蚪發育達到變態的機會（Wilbur and Collins 1973），另一方面嚴酷的冬季低溫會透過內分泌系統抑制蝌蚪變態相關荷爾蒙的分泌與接收能力，而限制蝌蚪在冬季變態（Dent 1988, Galton 1988）。

腹斑蛙(*Rana adenopleura*)是一種中型肥碩的赤蛙，雄蛙及母蛙體長 6-7cm，廣布於台灣海拔 2000 以下之草澤及靜水域，生殖期 3-8 月，以春夏為主（楊 1998）。但在冬季時都發現有腹斑蛙的大型蝌蚪（個人觀察，2002/12/29 及 2003/1/25），而且並沒有發現有後腳的變態中個體，因此推測腹斑蛙可能有越冬的現象，也就是說，蝌蚪在冬天時發育遲緩或者根本不發育而呈現滯育的狀態，等到來年春天後再變態。若在研究後證實此現象，可能是繼梭德氏赤蛙之後亞熱帶地區的第二次報導，並成為亞熱帶低海拔地區的第一次報導，惟目前對越冬蝌蚪的成長發育相關文獻有限，因此本研究主要的目的是對蓮華池地區的腹斑蛙蝌蚪進行發育的調查與測量，以了解腹斑蛙蝌蚪的越冬模式。

實驗方法

實驗地點說明

林務局蓮華池分所（南投縣魚池鄉）

1. 說明：根據前人的調查報告結果，在蓮華池的無尾目共記錄到 5 科 22 種（徐 2002），分別為黑眶蟾蜍、盤古蟾蜍（以上蟾蜍科）；中國樹蟾（樹蟾科）；小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙（以上狹口蛙科）；斯文豪氏赤蛙、梭德氏赤蛙、澤蛙、拉都希氏赤蛙、腹斑蛙、豎琴蛙、貢德氏赤蛙、古氏赤蛙、虎皮蛙、金線蛙（以上赤蛙科）；日本樹蛙、褐樹蛙、面天樹蛙、艾氏樹蛙、白額樹蛙、莫氏樹蛙、台北樹蛙（以上樹蛙科）。台灣的無尾目共有 31 種（呂等，1999），在蓮華池就記錄到 22 種，所以此

處的無尾目多樣性非常豐富，加上此處為林試所試驗林，可以減少人為干擾的情況，因此選定此處作為實驗樣點。

實驗一：腹斑蛙生殖週期

（一）實驗動機

為了確定冬季所見到之腹斑蛙蝌蚪，是否是冬季所產下的，我們要先知道腹斑蛙冬季是否會產卵。而腹斑蛙的生活史在台灣僅有少數的報告或書籍提及，並無進一步的詳細觀察記錄。為確定其生活週期，了解腹斑蛙是全年生殖或季節性生殖，我們進行以下實驗。

（二）實驗方法

實驗地點：南投縣魚池鄉林業試驗所蓮華池研究中心（圖一）

實驗時間：2003 年 1 月 2004 年 2 月

每個月份至腹斑蛙野外生殖棲地，以穿越線鳴叫辨識法、目視遇測法及兩棲類幼體辨識法合併進行。進行下列各種行為或現象出現時間的始末，包括：成蛙的鳴叫、出現於生殖地、假交配、產卵、蝌蚪的出現。由於上述現象通常會連續發生，在春初每個月觀察時，若遇成蛙數量增多並開始鳴叫時，調查頻率增加至每週一次，直到觀察到卵塊出現為止，方恢復每月一次的調查頻率。在這裡我們定義發現假交配或卵塊的時期稱為生殖期，而有蝌蚪出現的時期稱蝌蚪期。

（三）預期結果

當春季成蛙開始聚集鳴叫時，其他生殖行為如交配及產卵便會隨即發生，秋末時預期生殖行為大量減少直到消失，待來年春天才又開始另一次的循環，腹斑蛙應屬於季節性生殖而非全年性生殖的種類。

實驗二：蝌蚪生長與發育

（一）實驗動機

為了確定腹斑蛙蝌蚪越冬的模式：在冬季是否會延緩發育而越冬，並且探討是否每批腹斑蛙蝌蚪都會越冬，或是只有在生殖期末期的個體才有越冬現象，並且了解觀察冬季蝌蚪會滯育（完全停止發育）來越

冬，或是僅發育緩慢而越冬。

(二) 實驗方法

實驗地點：蓮華池研究中心轄區內之森林教室側邊，有一大一小之靜水池。

實驗時間：2003 年 2 月 2004 年 4 月。

每月於水池中撈取約 100 隻的腹斑蛙蝌蚪，測量記錄蝌蚪的 (1) 全長 (2) 體長 (3) 體重 (4) 發育期數。若在實驗期間遇到即將變態的小蛙，將之帶回，等到其尾巴完全消失時，記錄吻肛長以及體重。體長的記錄是將蝌蚪放入擺有比例尺之培養皿中 (圖二)，拍攝照片後，事後再以照片量取其全長及體長。

蝌蚪拍攝完之後，以紙巾吸取多餘水分後，微量天平 (圖三) 量取其體重，並檢測其發育期數，量完之蝌蚪放回原水池。

蝌蚪發育期數分成五組：

	期數	描述
Phase1	25-26	蝌蚪尚未長出後腳芽，或腳芽極不明顯
Phase2	27-30	蝌蚪長出肉眼可見之後腳芽，腳芽不彎曲且無後肢形狀
Phase3	31-33	具後肢的形狀，腳掌形成，趾節不出現 (不明顯)
Phase4	34-37	趾節明顯，可由背部見到後腳伸出體側之外
Phase5	38-41	蝌蚪的頭部呈現三角形，俯視可見後肢完整，前肢即將伸出
M	42-46	前肢伸出，尾巴開始收縮

若遇 Gosner stage 42 期以上之小蝌蚪 (帶有尾巴的小蛙)，則帶回實驗室，待其尾部完全吸收後，測量其吻肛長及體重。

(三) 預期結果

(1) 越冬但不滯育：蝌蚪雖會延續整個冬季，但仍持續變態。

(2) 越冬且滯育：越冬之蝌蚪完全停止形態上的發育，等到來年春天再發育成小蛙。

(3) 無論是否發育，蝌蚪的體長及體重會持續成長。

(4) 若分成有越冬蝌蚪及無越冬蝌蚪，推測越冬的蝌蚪會有較大的變態吻肛長。

實驗三：室內實驗 - 溫度及食物對蝌蚪發育成長的影響

(一) 實驗動機

影響蝌蚪滯育的原因有可能是食物、溫度，或光週期等。而其中的溫度及食物是很可能的因素。在這裡我們以 15 代表腹斑蛙蝌蚪可能面臨之冬季低溫；23.5 代表可能面臨的夏季高溫；以蝌蚪體重 1/40 的飼料乾重當作低食物組，高食物組的食物乾重則為低食物組的 3 倍 (參考 Alford and Harris, 1988)。將蝌蚪飼養在不同溫度及食物下，試驗溫度或食物是否為影響腹斑蛙越冬的重要因子。

(二) 實驗方法

採集三月時度冬的腹斑蛙蝌蚪 (Phase1)，將蝌蚪分成四組 (高低溫 X 高低食物)，每組 1 隻蝌蚪養在 600ml 的塑膠盒中，裝入 400ml 曝氣後的水，高低溫度置於控制在 15 及 23.5 的恆溫箱中，並給予其體重 1/40 的福壽蝌蚪飼料 1 號當作低食物組，高食物組的食物量是低食物組的 3 倍。每一組重複 11 次。

控制條件：(1) 水量固定維持 400ml；(2) 以福壽 1 號蝌蚪飼料餵養；(3) 每三到四天換水一次；(4) 12 小時光照。

每週量取一次蝌蚪之 (1) 全長 (2) 體長 (3) 體重 (4) 發育期數 (5) 存活的蝌蚪數。到所有蝌蚪變態為止。小蛙待其尾部完全吸收後，測量其吻肛長及體重。

	高溫	低溫
高食物		
低食物		

實驗結果：

在蓮華池發現的蝌蚪種類 (91 年 12 月 93 年 5 月)：拉都希氏赤蛙、腹斑蛙、莫氏樹蛙、台北樹蛙 (以上在水池中有發現)，以及盤古蟾蜍、褐樹蛙、梭德氏赤蛙、古氏赤蛙 (只在水池以外地點發現)。對於蝌蚪的辨識能力，蝌蚪的辨識比成蛙困難，除了某些種類具有特殊的特徵容易辨識，不易辨識的種類，是在實驗中必須克服的一點，而且蝌蚪在發育早期 (27 期以前) 身體仍小，身體特徵發育不完全 (周 1997)，若無法確定種類，可帶回實驗室餵養直到變態後再確定種類，是一解決方法，但在本實驗中須即刻確定是目標物種，因此發育期數太小或體型太小而不可辨識特徵的蝌蚪個體不予紀錄。

實驗一：腹斑蛙生殖週期

本實驗結果如圖四，腹斑蛙的繁殖期主要是從 4 月開始，一直到 10 月為止。其他時間腹斑蛙成蛙不會進行繁殖，偶而在非繁殖季會聽到零星個體鳴叫，其他繁殖行為皆沒有紀錄到成蛙聚集行為、假交配，亦沒有卵的出現。而蝌蚪卻是全年皆可見到相當多的數量，也就是說蝌蚪期是全年的。因此延續整個冬季的蝌蚪預料不是新個體的補充，而是繁殖季時所留下的蝌蚪，在此幾乎可確定腹斑蛙的蝌蚪有越冬的現象。

實驗二：蝌蚪生長與發育

根據蝌蚪發育期數所分成的 5 個發育組 (phase)，我們比較冬季每個月蝌蚪發育組的比例，由圖可以看出蝌蚪的一年發育模式可以分成四個階段：

(1) 緩慢發育：在 10 月時各個 phase 都有出現，其中 phase 4 及 phase 5 的數量仍不少，也有變態蝌蚪的出現。到 11 月時 phase 1 的比例增加，而 phase 4 及 phase 5 的比例減少許多，由於 10 月之後已經沒有新個體的加入，因此推估是發育的速率已經趨緩，但發育較末期蝌蚪已經開始不可停止的變態過程 (Hensley 1993)，因此造成 phase 1 的比例增加，而 phase 4 及

phase 5 的比例減少。

(2) 滯育期：從 12 月開始直到 2 月，蝌蚪各個發育組的比例並沒有太大的改變，發育相當慢，此時發育組的組成以 phase 1 最多，佔約 75%，其餘以 phase 2-3 為主。在滯育時期蝌蚪的型態以發育早期為主 (phase 1-3)。

(3) 恢復期：3-4 月時，各個發育組都有個體往下一發育組發育，且尚未有新個體補充，因此各發育組比例增加，而 phase 1 比例減少，在 2 月時已經有相當數量的蝌蚪進入到接近變態的 phase 5。

(4) 發育穩定期：在 5-9 月時已經進入繁殖期高峰，氣候條件使蝌蚪的發育相當穩定，每個月份的發育組比例變動不大，但卻不是滯育的緣故，而是在此時達到「動態平衡」，可以大略看出蝌蚪在各發育期維持時間的長短。

另外由此實驗也發現，在同一發育組，越冬後的蝌蚪其體型明顯較沒有越冬的蝌蚪大，不論是在體重 (圖六) 或是體長 (圖七)，有經過冬季的越冬蝌蚪，可能由於低溫影響發育甚鉅，卻沒有相對影響成長許多 (Berven et al., 1979)，因此造成同一發育期的蝌蚪其體型會有越冬前後明顯的差別出現。另外以蝌蚪延遲變態，等到來年春季再變態，可以避開冬季的嚴寒環境，在水中維持著體型的持續成長。

實驗三：室內實驗-溫度及食物對蝌蚪發育成長的影響

我們將越冬的蝌蚪飼養於不同的食物及溫度下，發現在高溫處理下的蝌蚪，不論食物量高或低，都呈現高速發育的狀態；而低溫條件下的蝌蚪，不論食物多寡，蝌蚪的發育率均相當緩慢 (圖八)。由發育率來看，可以看出食物的影響並不大，在同一溫度條件下，高食物組與低食物組的蝌蚪發育率幾乎相等 (圖九)。因此推論溫度對於越冬蝌蚪的影響相當大。且根據陳 (2002) 的研究指出，蓮華池野外蝌蚪的食物之一-藻類，在冬季時的出現量是全年最多的，因此也推論食物不是影響蝌蚪冬天滯育的原因。

具體貢獻：

本實驗具體結果如下：(1) 腹斑蛙為季節性繁殖的種類，冬季時不繁殖，(2) 亞熱帶低海拔的腹斑蛙族群，其蝌蚪確實有越冬的現象：10-12月呈現緩慢發育狀態，12-2月為滯育的狀態，且越冬蝌蚪會以較大體型變態，(3) 冬季溫度降低是促使腹斑蛙蝌蚪越冬的重要因子。本研究結果證實，處於亞熱帶低海拔的地區發現蝌蚪的確有越冬現象，這是相當奇特及深具生態學意義的，且將會對蝌蚪生活史特徵演化的探討有相當重要的參考價值。

參考文獻

- Alford, R. A. and R. N. Harris. 1988. Effect of larval growth history on anuran metamorphosis. *American Naturalist* 131: 91-106.
- Berven, K. A., D. E. Gill and S. J. Smith-Gill. 1979. Countergradient selection in the green frog, *Rana clamitans*. *Evolution* 33: 609-623.
- Brown, H. A. 1990. Temperature, thyroxine, and induced metamorphosis in tadpoles of a primitive frog, *Ascaphus-truei*. *General and comparative endocrinology* 79: 136-146.
- Collins, J. P. 1979. Intrapopulation variation in the body size at metamorphosis and timing of metamorphosis in the bull frog, *Rana catesbeiana*. *Ecology* 60: 738-749.
- Fellers, G. M., A. E. Launer, R. Galen, A. Jeff, S. David, B. S. Richard and W. Michael. 2001. Overwintering tadpoles in the California Red-legged Frog (*Rana aurora draytonii*). *Herpetological Review* 32: 156-157.
- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Hensley, F. R. 1993. Ontogenetic loss of phenotypic plasticity of age at metamorphosis. *Ecology* 74: 2405-2412.
- Lai, S.-J., Y.-C. Kam, F.-H. Hsu and Y.-S. Lin. 2002. Elevational effects on the growth and development of tadpoles of Sauter's frog *Rana sauteri Boulenger* in Taiwan. *Acta Zoologica Taiwanica* 13: 11-20.
- Lai, S.-J., Y.-C. Kam and Y.-S. Lin. 2003. Elevation variation in reproductive and life history traits of Sauter's frog *Rana sauteri Boulenger*, 1909 in Taiwan. *Zoological Studies* 42: 193-202.
- Mitchell, N. J. and R. S. Seymour. 2000. Effects of temperature on energy cost and timing of embryonic and larval development of the terrestrially breeding moss frog, *Bryobatrachus nimbus*. *Physiological and Biochemical Zoology* 73: 829-840.
- Sargent, L. G. 2000. Frog and toad population monitoring in Michigan. *Journal of the Iowa Academy of Science* 107: 195-199.
- Semlitsch, R. D., D. E. Scott and J. H. K. Pechmann. 1988. Time and size at metamorphosis related to adult fitness in *Ambystoma talpoideum*. *Ecology* 69: 184-192.
- Smith-Gill, S. J. and K. A. Berven. 1979. Predicting amphibian metamorphosis. *American Naturalist* 113: 563-585.

Ultsch, G. R., D. F. Bradford and J. Freda. 1999. Physiology: Coping with the environment. Pp. 189-214 in R. W. McDiarmid and R. Altig. ed. Tadpoles: the biology of anuran larvae. The University of Chicago press, Chicago and London.

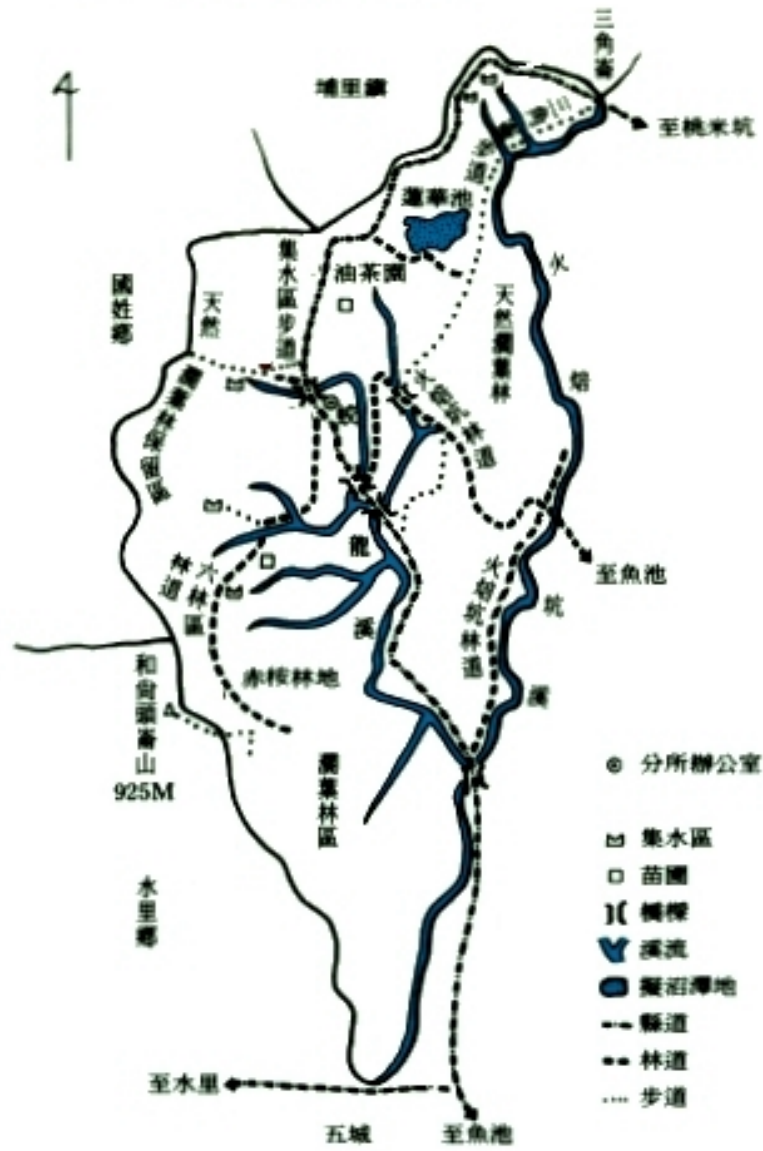
Viparina, S. and J. J. Just. 1975. The life period, growth and differentiation of *Rana catesbeiana* larvae occurring in nature. *Copeia* 1975: 103-109.

Wilbur, H. M. and J. P. Collins. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science* 182: 1305-1315.

徐敏益。2002。蓮華池地區蛙類聲音群聚之研究兼論兩生類三種監測方法的比較。國立彰化師範大學生物學系碩士論文。

陳鴻銓。2002。蓮華池地區溪流底棲藻類群聚與蝌蚪食性之研究。國立彰化師範大學生物學系碩士論文。

蓮華池林業試驗場



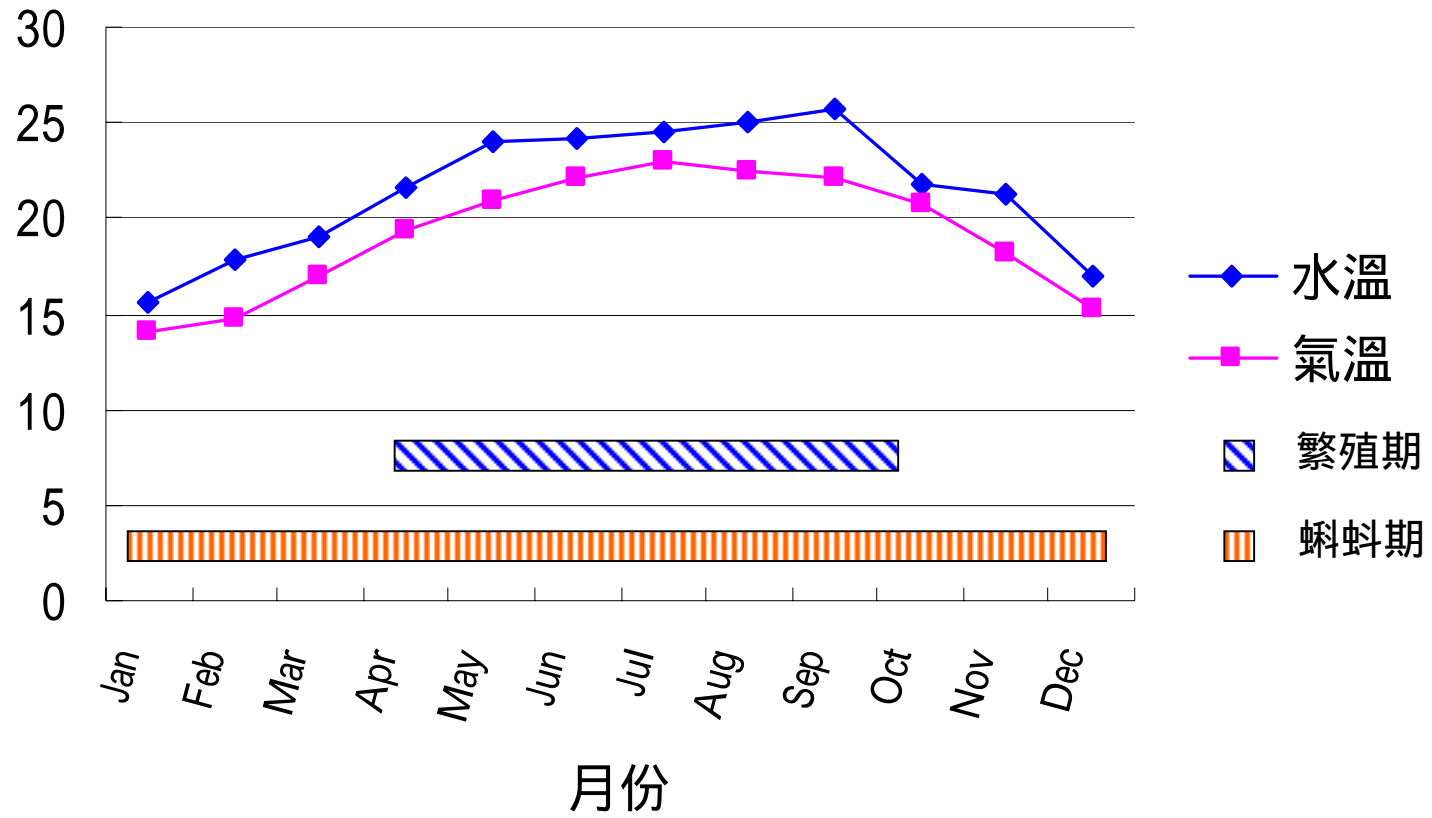
圖一、南投縣魚池鄉蓮華池研究中心位置圖



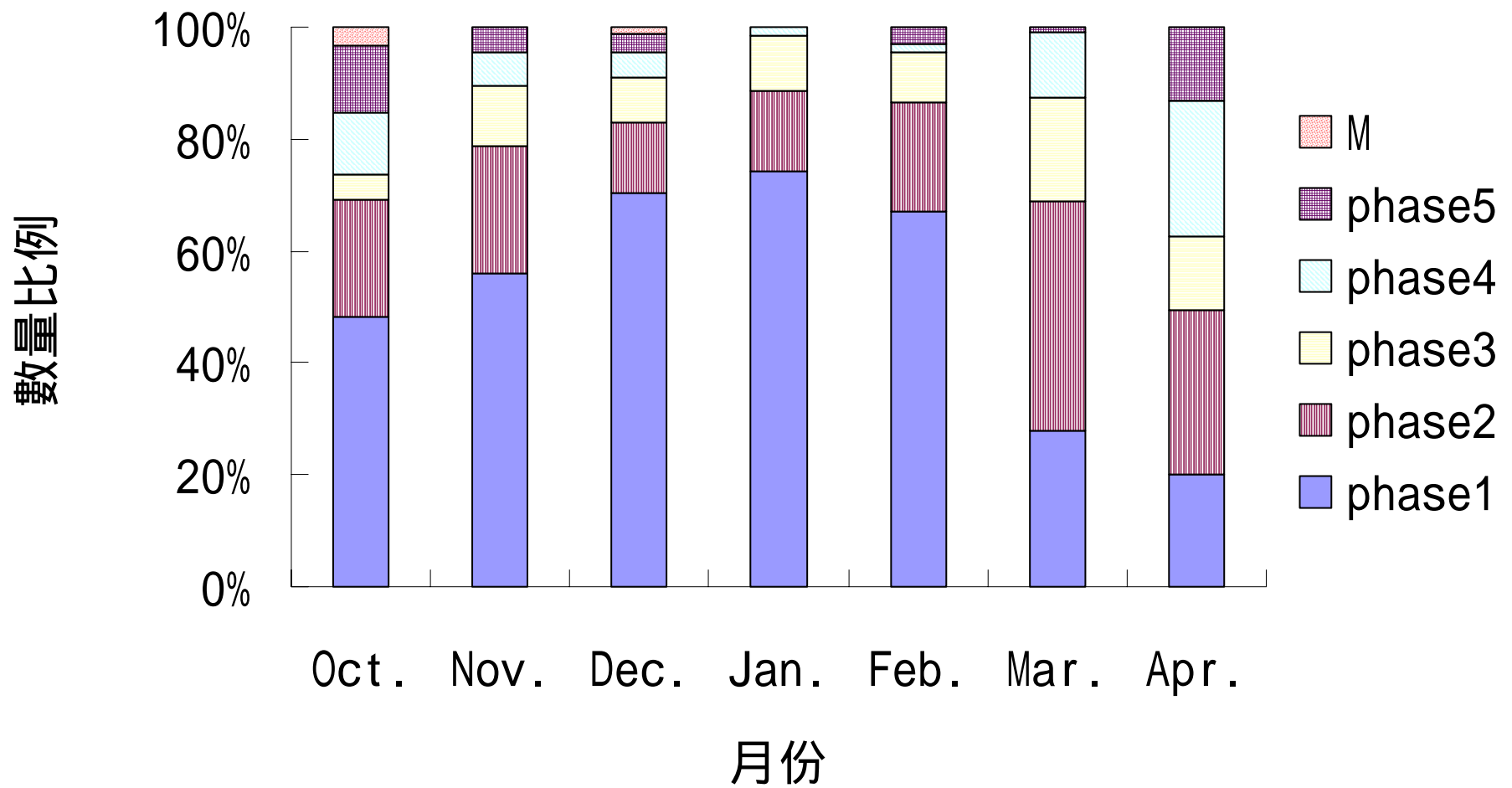
圖二、拍攝照片以量取蝌蚪體長



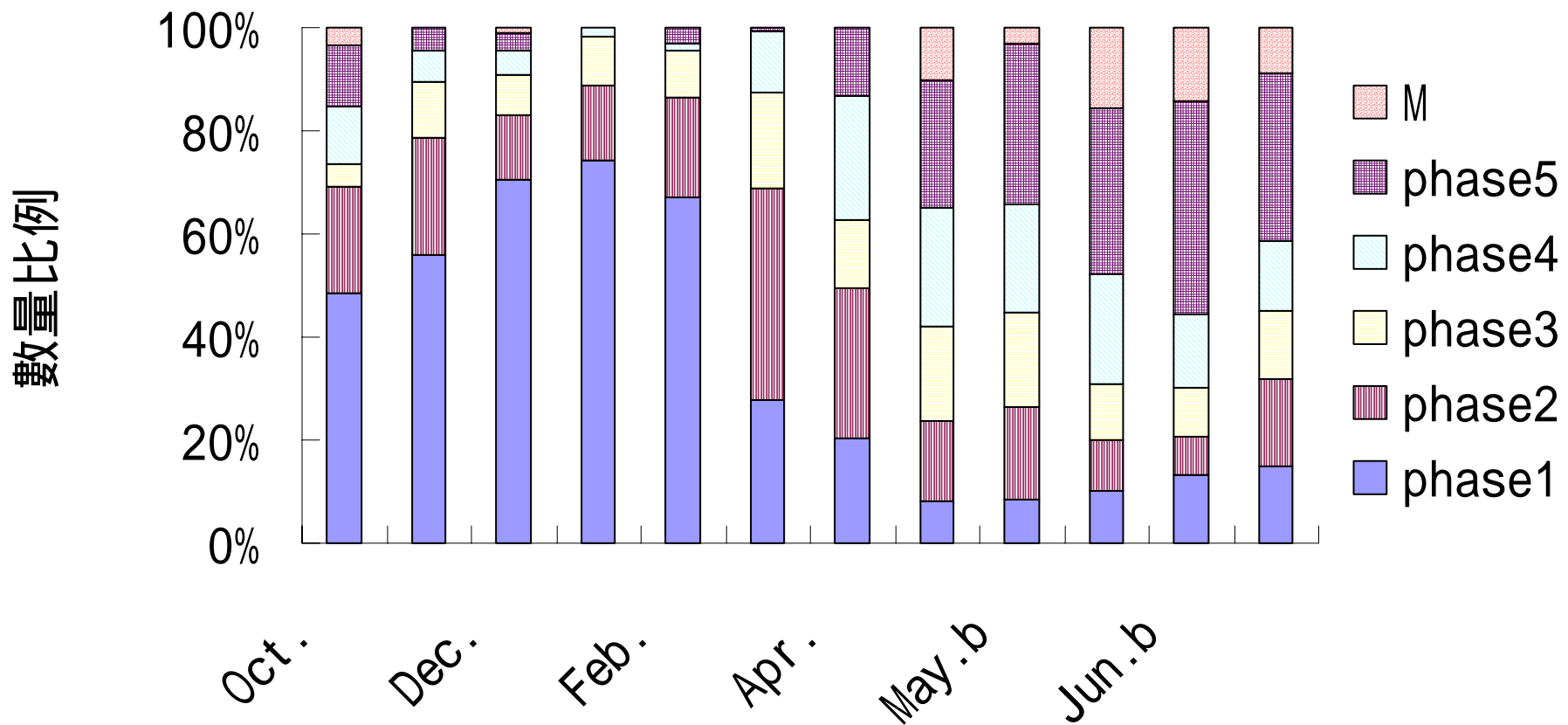
圖三、以微量天平測量蝌蚪體重



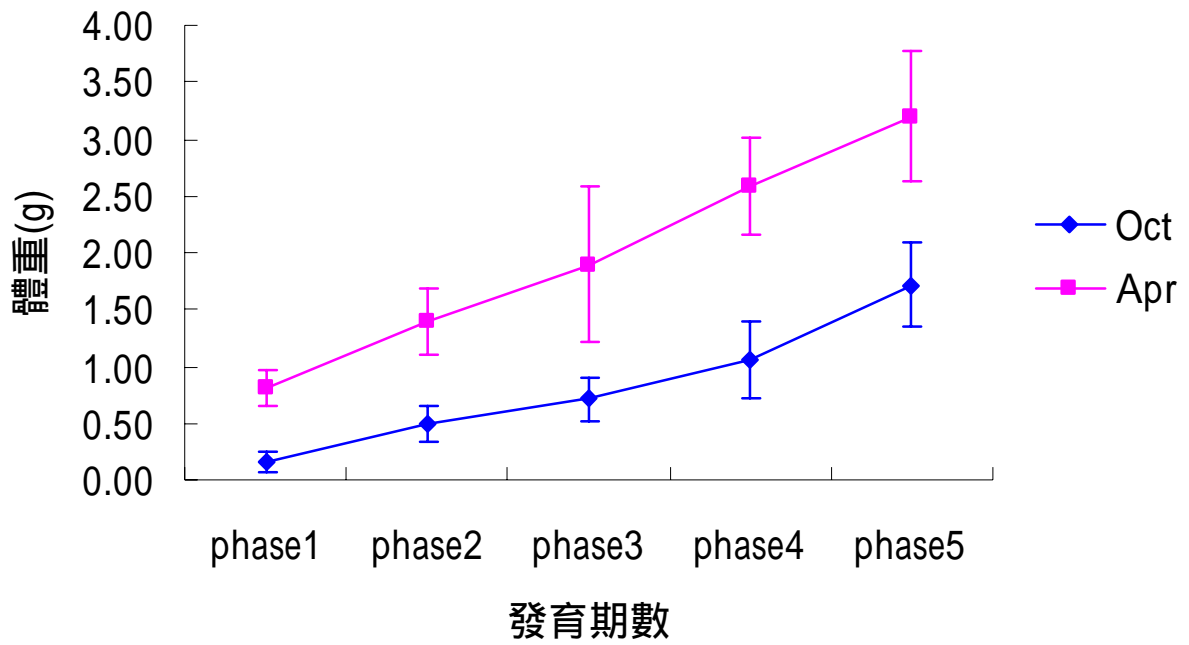
圖四、整天氣溫、水溫，以及繁殖期及蝌蚪期的月份



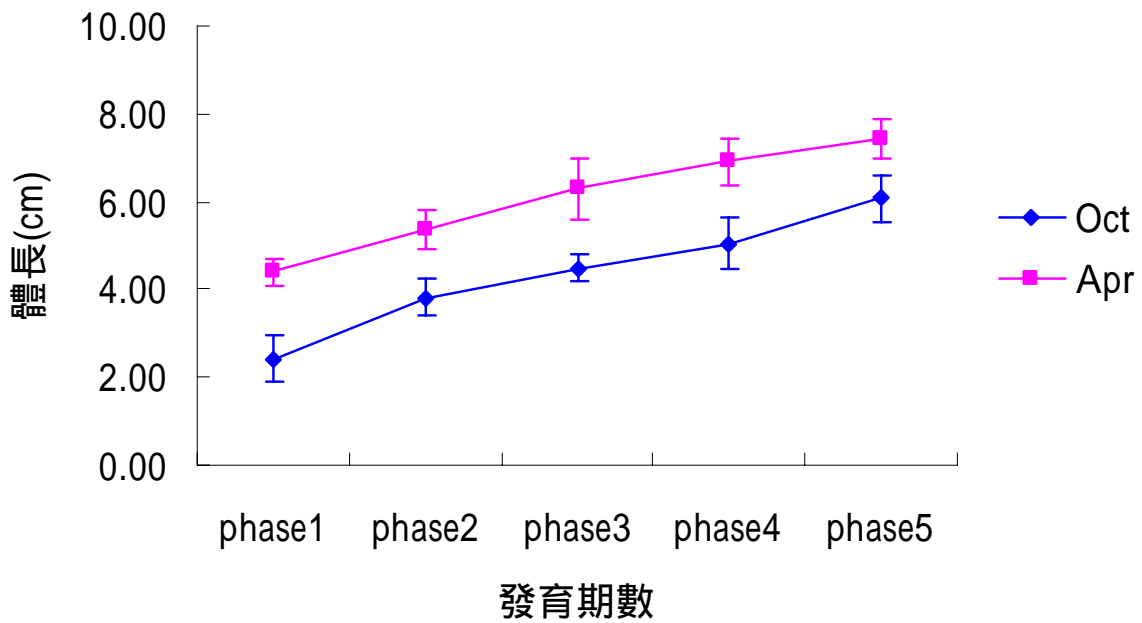
圖五、冬季蝌蚪的發育期數組成



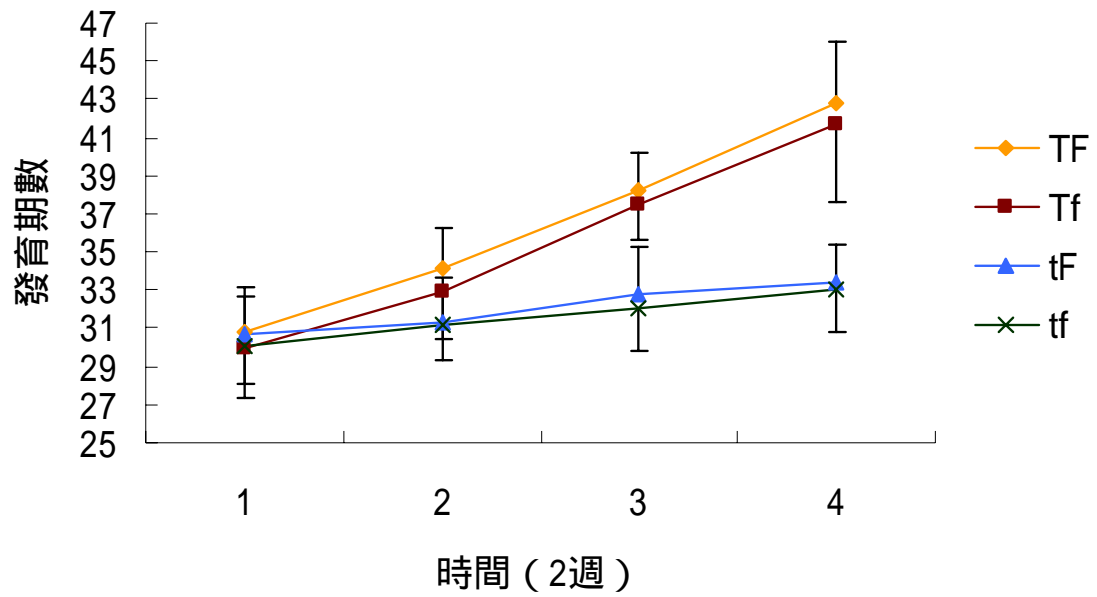
圖五、全年度蝌蚪的發育期數組成



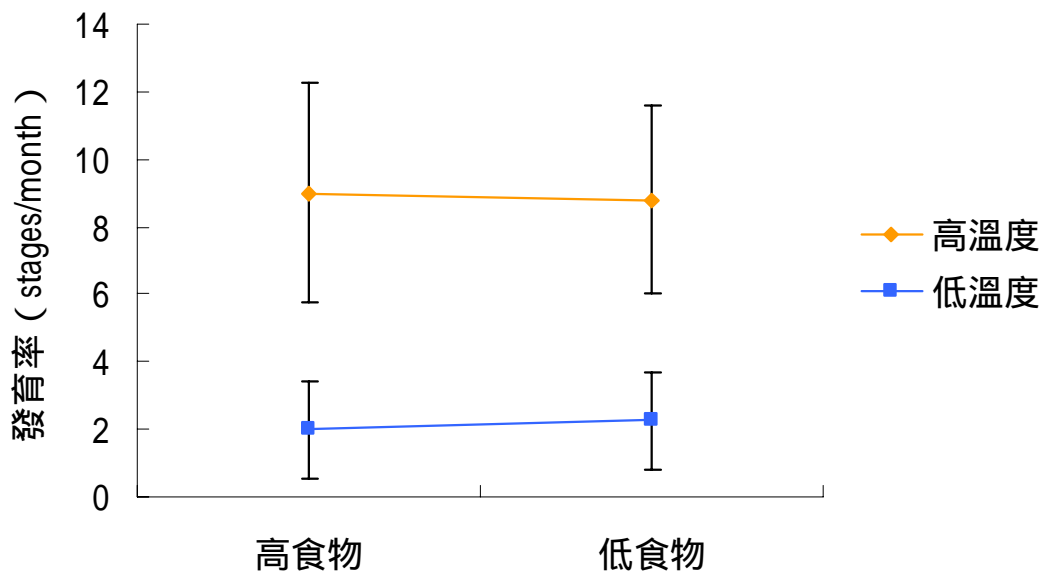
圖六、越冬前後蝌蚪體重的比較



圖七、越冬前後蝌蚪體長的比較



圖八、不同溫度及食物處理下，腹斑蛙蝌蚪的發育期數



圖九、不同溫度及食物量下的蝌蚪發育率