

東海大學生命科學系

碩士論文

指導教授：關永才 博士

Dr. Yeong-Choy Kam

巫奇勳 博士

Dr. Chi-Shiun Wu

台灣蝌蚪的暖化耐受度與溫度馴化能力之研究

A study of warming tolerance and thermal acclimation

capacity of tadpoles in Taiwan

研究生：鄭全斌

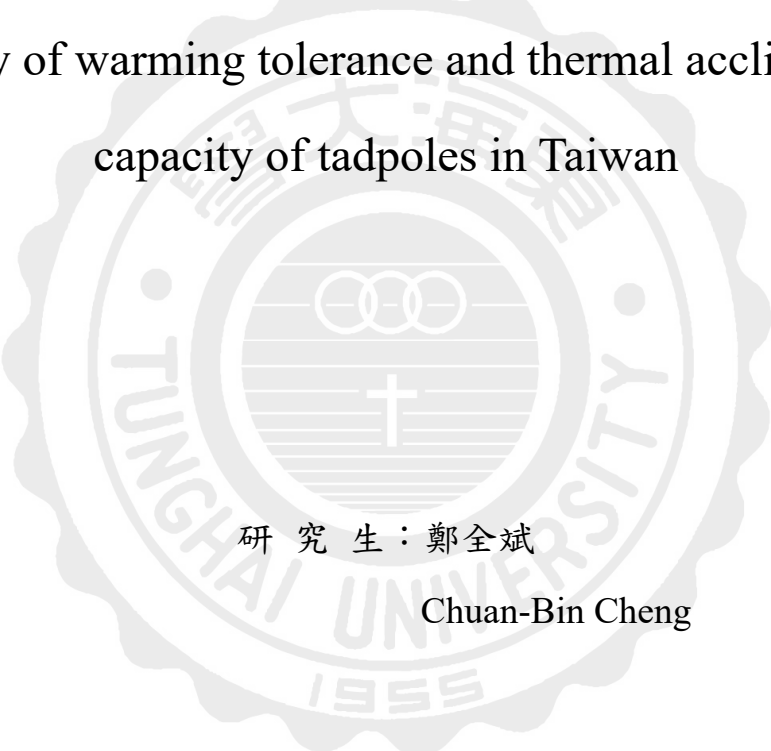
Chuan-Bin Cheng

中華民國一百零五年七月

東海大學生命科學系碩士論文

台灣蝌蚪的暖化耐受度與溫度馴化能力之研究

A study of warming tolerance and thermal acclimation
capacity of tadpoles in Taiwan

The logo of Tungshai University is a circular seal with a scalloped edge. It features a central emblem with three interlocking rings and a cross-like symbol. The text 'TUNGSHAI UNIVERSITY' is written around the inner circle, and '1955' is at the bottom. The Chinese characters '東海大學' are at the top.

研究生：鄭全斌

Chuan-Bin Cheng

指導教授：關永才 博士

Dr. Yeong-Choy Kam

巫奇勳 博士

Dr. Chi-Shiun Wu

中華民國一百零五年七月

東海大學生命科學系
碩士論文學位考試審定書

生命科學系碩士班研究生 鄭全斌 君所撰寫之論文

(中文)

台灣蝌蚪的暖化耐受度與溫度馴化能力之研究

(英文)

A study of warming tolerance and thermal acclimation capacity of
tadpoles in Taiwan

經本委員會審定通過，特此證明。

學位考試委員會

召集人

許登雄

(簽名)

委員

周永才

張厚謀

石奇勳

劉少偉

中華民國 105 年 7 月 22 日

致謝

時光飛逝，三年的碩士研究的道路已到了盡頭。回頭看一下，在這條碩士研究的道路上要感謝許多人的幫助，有你們的相助才能讓我順利走完這一條碩士生涯的道路。

首先，要感謝關永才老師與巫奇勳老師，兩位老師在我這實驗期間耐心的指導並給我許多人生上的啟發。關老師有條不紊的處事態度、清晰的邏輯思考與專心研究的精神，給了我研究與生活上許多啟發，並在研究的期間，老師都在適當的時機提點我，也在我研究上有瓶頸的時候給我許多方向與鼓勵，讓我有勇氣去走完這條研究的道路。感謝巫老師帶領我進入蝌蚪生理的世界，並不厭其煩的教我辨識蝌蚪種類，讓我對蝌蚪有更深入的了解，也在研究的一路上都給我許多寶貴的建議與幫助。

此外，感謝江智民老師在我研究的期間熱心提供交通工具(小白)，讓我可以免於搭”11號”公車去採集的命運；感謝陳怡惠老師的收留與協助，讓我可以專心在分子生態實驗室做實驗；感謝劉少倫在統計分析上、Perl的幫忙，並讓我得以從不同角度去思考我的資料；感謝林宜靜老師在R軟體上使用上的協助。最後，感謝許富雄老師和張原謀老師細心審查我的論文，並在口試時所提出的專業問題與建議，以及文章撰寫上的建議。由衷感謝以上老師們的協

助與建議，讓這本論文更加的完備。

除了感謝老師們，還要感謝兩爬實驗室內大夥們。感謝有問必答的豐哥在研究上提供給我許多建議與幫助，並在我撰寫論文卡住時，聽我胡言亂語的釐清思緒，以及給我許多鼓勵與靈感，並也在我找不到有蝌蚪的時候，還提供我許多私房採集點；感謝家俊一路陪伴我到最後，除了耐心幫我摘要、PPT 上英文校對以外，還有耐心的聽我抱怨東抱怨西；感謝淑媚姐幫我處理實驗的耗材與出差帳目事務；感謝猷威在我研究卡住時，給了我許多想法以及 PPT 排版設計上許多建議和幫助，以及在我借無車出野外時，慷慨借我 X-Trail 讓我出野外。此外，感謝冠達、橋奕凱、惡勢力和利文，有你們在的時光總是有許多歡樂的笑聲，以及感謝菟佐哥提供我採集的私房點。最後，還要感謝曾經幫忙我採集的學弟妹們，若竹、俊維(阿多)、炘怡(老魏)、胤愷和郁潔(鳳梨)，有你們的幫忙讓我的實驗更加順利完成，另外能指導你們專題研究也讓我有很大的成就感，你們都表現很好!

另外，還要感謝生理生態實驗室的智揚(小怪)、煒哲、博硯、揚德和欣霖，在我研究上幫忙野外採集，有你們的幫忙才讓我的研究的資料更加完整。感謝分子生態實驗室的內凱傑、昱亘、翎嘉、南希等人，在我利用實驗室做實驗的期間陪我聊天，以及感謝元誠

學長、宛儒學妹在我分生實驗部份上的協助，並且也耐心的教我做實驗和幫忙訂購藥品，我的實驗也才得以順利進行。感謝植物家的阿超助理在交通工具上的協調安排。另外，要更感謝宣辰學弟在我去台北做實驗期間無私的提供住宿，讓我免於露宿街頭的命運。最後，要感謝蓮華池研究中心志堅學長在採集行政申請上的幫忙，讓我得以順利在蓮華池進行研究；感謝蓮華池研究中心與文化大學林場提供採集與住宿。

然而，一路走來的背後最需要感謝的是我家人和女友宥岑。感謝我家人在我研究這一路上默默的支持，包容我因繁忙而鮮少回家陪伴，讓我專心走完這一條研究之路；感謝宥岑在我研究的低潮期給我許多鼓勵與陪伴，有時犧牲假日悠閒時光陪我出野外採集與收集資料，並且也包容煩躁時會”碎碎唸”的我。由衷的感謝你們對我無限的包容與支持。

還要感謝許多蛙類蝌蚪的犧牲，才能讓我研究順利進行以及更加了解環境對蛙類的影響。最後，由衷感謝曾經幫助過我的所有人以及被犧牲的蝌蚪們。

目錄

表目錄.....	2
圖目錄.....	3
附錄目錄.....	4
中文摘要.....	5
Abstract.....	7
前言.....	9
文獻探討.....	12
材料與方法.....	18
結果.....	26
討論.....	30
總結.....	36
參考文獻.....	37

表目錄

表一、各物種的高溫耐受度(CT_{max})、棲地高溫度(T_{max})、暖化耐受度 (WT)與棲地分類.....	43
表二、馴養物種之馴養溫度、均溫組的高溫耐受度高溫組的高溫耐 受度(CT_{maxH})與馴化能力(AC).....	44
表三、熱帶物種的高溫耐受度(CT_{max})、棲地高溫(T_{max})、暖化耐受度 (WT)與棲地分群.....	45



圖目錄

圖一、高溫耐受度(CT_{max})與環境高溫(T_{max})之關係.....	46
圖二、不同棲地類型蝌蚪的高溫耐受度(CT_{max})比較.....	47
圖三、不同棲地類型的棲地高溫度(T_{max})比較.....	48
圖四、不同棲地類型蝌蚪的暖化耐受度(WT)比較.....	49
圖五、不同棲地類型蝌蚪的馴化能力(ARR)比較.....	50
圖六、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域物種的高溫耐受度 (CT_{max})比較.....	51
圖七、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域之環境最高溫(T_{max}) 比較.....	52
圖八、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域之物種暖化耐受度 (WT)比較.....	53

附錄目錄

附錄表 1、各物種採集點的經緯度與海拔高度.....	54
附錄表 2、亞熱帶物種三個粒線體基因序號(GENE BANK).....	55
附錄表 3、熱帶物種三個粒線體基因序號(GENE BANK).....	56
附錄圖 1、台灣蛙類的親緣關係樹與棲地分類.....	57
附錄圖 2、亞熱帶與熱帶物種親緣關係.....	58



中文摘要

暖化耐受度(Warming Tolerance)與物種的馴化能力(Acclimation Capacity)被當作研究氣候暖化對動物影響的指標。近期已有相關研究顯示，棲息於亞熱帶與熱帶的蛙類，特別是利用開闊型棲地繁殖物種，其蝌蚪暖化耐受度比較小，認為其未來受到暖化威脅的程度較大。然而，目前相關研究以對於同個地理區的蛙類的棲地分群不夠詳細，也極少相關研究以蝌蚪的馴化能力去探討暖化對兩棲類的影響。本研究目的是比較不同棲地蝌蚪的暖化耐受度與馴化能力來評估氣候暖化對亞熱帶台灣蛙類的影響，同時也與熱帶(新加坡)蛙類作比較。我將棲地粗分成開闊型棲地與森林型棲地，並測量生活在不同棲地類型蝌蚪的高溫耐受度、棲地高溫以及馴化能力。研究結果顯示，生活在開闊型的蝌蚪與森林型的蝌蚪高溫耐受度與暖化耐受度並沒有顯著性的差異，但生活在森林型的蝌蚪其馴化能力顯著地比開闊型的蝌蚪高。另外，亞熱帶台灣蛙類的高溫耐受度與熱帶的蛙類並無顯著的差異，但生活在熱帶區域蛙類的暖化耐受度顯著地比亞熱帶的蛙類小。從棲地角度看，在熱帶開闊型的蛙類其高溫耐受度顯著地比其他棲地類型蛙類的高，但暖化耐受度則顯著地

最小。綜合結果來看，生活在開闊型的蛙類與熱帶的蛙類其可能受到暖化潛在威脅較高。

關鍵字：氣候暖化、蝌蚪、暖化耐受度、馴化能力、棲地



Abstract

Warming tolerance and thermal acclimation capacity of species are indicators to assess the degree of climate warming that could affect animals. Previous researches showed that anurans living in subtropical or tropical open country habitats have low warming tolerance and are at risk from climate warming. However, these studies did not assess the thermal acclimation capacity of tadpoles, and the sampling habitats were limited. The purposes of this study were to compare warming tolerance and thermal acclimation capacity of Taiwanese tadpoles and warming tolerance and critical thermal maximum of tadpoles between subtropical and tropical habitats. In my study, I divided habitats into open country and forest habitats. I measured the critical thermal maximum, warming tolerance, and thermal acclimation capacity of tadpoles. The results showed that the warming tolerance and critical thermal maximum of tadpoles between open country and forest habitats were not differed, but thermal acclimation capacity of tadpoles from forests habitats was significantly higher than those from open country habitats. Critical thermal maximum of tadpoles from subtropical and tropical habitats were not differed, but warming tolerance of tadpoles from tropical habitats was lower than others. Critical thermal maximum of tadpoles from tropical open country habitat was higher than the others, and warming tolerance

of tadpoles from tropical open country habitat was lower than the others. Overall, species from open country habitats and tropical habitats are at high risk from climate warming.

Keywords: climate warming, tadpole, warming tolerance, acclimation capacity, habitats



前言

全球暖化對生物的影響是一個重大的議題。目前預測顯示，2016-2035 年間全球平均大氣溫度將會比上個世紀上升高 0.3-0.7 度 (Stocker et al. 2013)，將對生物造成重大威脅。氣候暖化造成許多物種將會面臨生理、地理分布、棲地改變等生存壓力 (Walther 2002, Root 2003, Huey et al. 2009)，例如歐洲有 35 種蝴蝶因暖化導致遷徙點的改變 (Parmesan et al. 1999, Hughes 2000)。氣候暖化造成兩棲類或爬蟲類棲地分布改變或子代性別比率改變，進而影響族群生存有影響 (Janzen 1994, McMenamin 2008)。

溫度是影響外溫動物生理的重要因子之一 (Moyes and Schulte 2008)，而面臨氣候暖化情況下，物種的暖化耐受度 (Warming Tolerance) 與馴化能力 (Acclimation Capacity) 是被當作評估氣候暖化對外溫動物威脅程度的指標 (Parmesan and Yohe 2003, Stillman 2003, Deutsch 2008)。目前研究發現，生活在棲地溫度偏高的物種，其高溫耐受度高 (Critical Thermal Maximum)，暗示物種的高溫耐受度與棲地溫度有正相關 (Stillman 2003, Duarte et al. 2012, Madeira et al. 2012, Ng 2013)。暖化耐受度，為物種的高溫耐受度與棲地高溫之差值 (Deutsch 2008)。過去研究顯示，亞熱帶區域與熱帶區域的物種高

溫耐受度高，但暖化耐受度值比溫帶的物種還要小，在未來可能受到氣候暖化的威脅程度比較高(Huey et al. 2009, Duarte et al. 2012, Ng 2013)。另外，一些研究顯示，溫馴化能力程度小的外溫動物，未來可能會受到氣候暖化的影響也比較大(Stillman 2003, Calosi et al. 2008)。

兩棲類具有複雜的生活史與生理構造，在生態系中扮演著陸域與水域間能量流動重要的連結者(Wells 2007)與對於環境的變化比較敏感(Ng 2013)，相較其他脊椎動物是更容易受威脅，因此，在面對全球暖化時兩棲類是受威脅的種群之一(Wake and Vredenburg 2008)。溫度的變化是影響兩棲類幼體生理、行為等重要的因子(Feder 1992, McDiarmid and Altig 1999)。蝌蚪被侷限於水中，水溫上升時可能因棲地受限而無法躲避，因此容易受到氣候暖化的威脅。另外，蛙類的繁殖棲地多樣化，可以分成開闊地型棲地和森林型棲地。過去研究顯示，利用開闊地型棲地繁殖的蛙類其蝌蚪的高溫耐受度較高但暖化耐受度小，在暖化下較為脆弱的(Duarte et al. 2012; Ng 2013)。

過去研究認為，亞熱帶與熱帶的物種在未來受到威脅程度很大(Duarte et al. 2012, Ng 2013, Simon et al. 2015)，但在氣候暖化對兩棲類研究中只有利用暖化耐受度指標來評估，缺乏微棲地及蝌蚪馴化

能力資料來加強兩棲類面對氣候暖化衝擊的評估。台灣屬於亞熱帶區域，原生種蛙類有 31 種(向等，2009)，其中包括 11 種特有種、7 種保育類，兩棲類物種種類豐富，蛙類的棲地類型多樣化，但蛙種間馴化能力也比較缺乏被研究，以及缺少整合暖化耐受度與馴化能力為兩個指標來評估氣候暖化對台灣蛙類潛在威脅相關的研究資料。

本研究主要目的是比較不同棲地蝌蚪的暖化耐受度與溫度馴化能力，來評估氣候暖化對亞熱帶台灣蛙類潛在的威脅，同時和熱帶(新加坡)蛙類作比較。我探討四個問題：(一) 在亞熱帶區域物種的高溫耐受度與棲地高溫是否有相關？(二) 森林型的物種是否比開闊型的有較低的高溫耐受與較高的暖化耐受度？(三) 森林型的物種是否比開闊型的有較高的馴化能力？(四) 亞熱帶的物種是否比熱帶的有較低的高溫耐受度和較高的暖化耐受度？

文獻探討

一、氣候變遷對生物的影響

近年來，全球氣候暖化是一個倍受關注的議題。自1750年後，由於人類科技快速發展與工業革命，大氣中的二氧化碳(CO₂)、甲烷(CH₄)和一氧化氮(N₂O)溫室氣體快速增加；2011年時，溫室氣體各別比工業前期增加了40%、150%和20%，導致氣候暖化加速使大氣平均溫度快速增加(Stocker et al. 2013)。根據聯合國政府氣候變遷小組(IPCC)第五次年度報告顯示，預測2016-2035年間全球大氣平均溫度會比1986-2005年間平均上升0.3°C-0.7°C，對生物造成重大的威脅(Stocker et al. 2013)。

氣候暖化會影響生物生理、分布、族群，生活週期等，尤其對外溫動物影響更大(Hughes 2000, Parmesan and Yohe 2003, Root 2003)。例如Janzen(1994)研究顯示，錦龜(*Chrysemys picta*)的子代比率和七月的月均溫有高度的相關，氣候暖化則造成溫度升高了2-4°C，會使子代雄性比率下降；也有研究發現，將近35種會遷徙的歐洲蝴蝶，有三分之二種的遷徙點的邊界比以前往北移，但南邊能維持同樣的邊界(Parmesan et al. 1999; Hughes 2000)；兩棲類中，美國黃石國家公園中研究發現，有四種兩棲類族群，虎斑鈍口螈

(*Ambystoma tigrinum*)、西岸蟾蜍(*Bufo boreas*)、條紋蛙(*Pseudacris triseriata*)和哥倫比亞赤蛙(*Rana luteiventris*)，因為氣候暖化造成濕地棲地改變而造成族群有下降的趨勢(McMenamin 2008)；北美福勒氏蟾蜍(*Bufo fowleri*)因暖化造成春季提早，而比以往繁殖季間提早6.3天/10年到繁殖棲地(Root 2003)。另外，氣候暖化對不同緯度區域的威脅程度不一，其中低緯度的亞熱帶與熱帶的陸域外溫動物(e.g. 蛙類、蜥蜴類、昆蟲類)對於棲地溫度比較敏感，其受到暖化潛在威脅程度比高緯度溫帶區域的大(Deutsch 2008)。

二、 棲地溫度對外溫動物生理的影響

外溫動物的生理情況對環境溫度變化是很敏感(Feder 1992, Hughes 2000, Root 2003, Clusella-Trullas et al. 2011)。當環境溫度改變時，外溫動物可以藉由生理的(e.g. 提高溫度耐受)或行為上的方式來調節體溫來適應環境溫度的變化(Moyes and Schulte 2008)。例如海蟾蜍(*Bufo marinus*)的蝌蚪馴養在 35°C 的處理組比 20°C 組別的有較高的高溫耐受度(Floyd 1983)。台灣艾氏樹蛙蝌蚪則會利用代謝補償的方式來適應竹筒內水溫的變動(Kam et al. 2001)。在高溫度溫泉水域的日本樹蛙(*Buergeria japonica*)的蝌蚪會透過行為選溫的方式來適應高

溫環境(Wu and Kam 2005)。澳洲熱帶的蜥蜴研究發現，熱帶區域的蜥蜴可藉由植被陰影來調節體溫，緩衝過熱的危機(Kearney et al. 2009)。

當氣候暖化使環境溫度增加，對外溫動物而言，將面臨棲地溫度增加潛在的威脅，因此外溫動物提高溫耐受度是很重要的適應方式(Stillman 2003, Deutsch 2008)。外溫動物的高溫耐受度是具有可塑性的，易受到降雨量(Clusella-Trullas et al. 2011)、行為(Kearney et al. 2009)、棲地日夜溫度變化(Paaijmans 2013)、棲地歷史溫度(Simon et al. 2015)及馴化溫度(Brown 1969, Floyd 1983)等因子影響。在許多不同動物分類群中研究中顯示，外溫動物的高溫耐受度與棲地高溫是有關係。熱帶與亞熱帶的蛙類研究中顯示，蛙類蝌蚪的高溫耐受度與棲地高溫呈正相關，生活在棲地溫度偏高的蛙類蝌蚪有較高的高溫耐受度(Duarte et al. 2012, Ng 2013, Simon et al. 2015)。其他脊椎與無脊椎動物分類群中也有相似的發現(Stillman 2003, Compton et al. 2007)，例如生活在水溫高的上潮間帶(intertidal)的魚類，其高溫耐受度比水溫低的水底的高(Madeira et al. 2012)；Kelley et al. (2011)研究顯示，生活在棲地溫度偏高的歐洲青蟹的族群有較高的高溫耐受度。

三、 評估暖化對外溫動物威脅的指標暖化耐受度與馴化能力

了解氣候暖化對動物的影響，主要有兩個層面：一、環境溫度持續增加，動物還有多少溫度耐受緩衝的空間。二、動物能提高自己高溫耐受度多少(馴化能力)，來適應環境逐漸暖化(Stillman 2003, Gunderson and Stillman 2015)。要了解動物對環境溫度還有多少緩衝，此議題目前常用的兩個指標：暖化耐受度。暖化耐受度是指物種的高溫耐受度與棲地高溫之差值，數值越小則表示暖化下是比較脆弱的，數值大則反之(Deutsch 2008, Paaijmans 2013)。在低緯度區域或是高溫度棲地的昆蟲、兩棲類、爬蟲類等外溫動物，有較小的暖化耐受度，未來受到暖化潛在威脅較大小(Deutsch 2008, Ng 2013, Paaijmans 2013)。譬如亞熱帶棲地溫度高的開闊棲地類型，蛙類的高溫耐受度比溫帶與亞熱帶森林棲地的高，但是暖化耐受度卻是最低，表示在該棲地的蛙類能緩衝暖化潛在威脅的空間不大，極可能受到潛在的威脅較大(Duarte et al. 2012)。在菲律賓熱帶雨林中，生活葉子表面微棲地的直接發育型的山林蛙(*Platymantis montanus*)蝌蚪，其暖化耐受度比其他棲地的低，表示大氣溫度與高溫耐受度很靠近，其受到暖化威脅程度比微棲地的物種大(Scheffers et al. 2013)。爬行動物類的研究顯示，低緯度區域蜥蜴的體溫安全範圍值比高緯度的低，顯示熱帶區域棲地溫度已逼近該區域蜥蜴的最佳體

溫，棲地溫度的持續上升將會使他們受到的威脅較高緯度的大(Huey et al. 2009)。

另外，外溫動物對環境溫度增加的適應能力，可以透過動物的高溫馴化能力來評估未來受到暖化潛在威脅的程度(Stillman 2003, Gunderson and Stillman 2015)。目前研究發現，在低緯度區域或在棲地溫度較高的外溫動物，高溫馴化能力較小，顯示高溫耐受度已經很靠近高溫耐受極限，其受到暖化潛在威脅較大(Stillman 2003, Bilyk and Devries 2011, Kelley et al. 2011)。例如在低緯度的歐洲青蟹(*Carcinus maenas*)族群在比高緯度的有較高的高溫耐受度，但高溫馴化能力較小(Kelley et al. 2011)。另外有些研究則顯示，在棲地溫度高的動物，其也有較佳的高溫馴化能力。在熱帶開闊臨時性積水的蛙類(e.g. *Rhinella granulosa*, *Pleurodema diplolistris*)蝌蚪比森林蛙類(e.g. *Rhinella icterica*, *Physalaemus cuvieri*)蝌蚪有較佳的馴化能力(Simon et al. 2015)。歐洲龍蝨科(Dytiscidae)的水棲昆蟲也有相似的發現(Calosi et al. 2008)。然而，所有外溫動物其高溫馴化能力是有限制的，未來氣候暖化下，都容易有滅絕的風險(Gunderson and Stillman 2015)。

四、 暖化對兩棲類的影響

兩棲類具有複雜的生活史與生理構造，對於環境的溫度變化比較敏感(Dunson et al. 1992)，相較其他外溫動物是更為脆弱容易受威脅的物種，也是面對全球暖化時生物受威脅的主要目標物種之一(Wake and Vredenburg 2008)。暖化會造成兩棲類的棲地分布改變(McMenamin 2008)，及棲地溫度的增加更直接影響牠們的生理、行為、適應性(Feder 1992, Collins et al. 2009)。

亞熱帶與熱帶兩棲類的幼體比成體是對環境變化更加敏感。具有水生與陸生的生活史階段的兩棲類，成體可以選擇不同微棲地類型，來降低暖化所造成的棲地溫度升高的衝擊(Scheffers et al. 2014)。然而，幼體則被侷限於有限的水體，可能因棲地受限而無法避開高溫，因此特別容易受到暖化的威脅(Duarte et al. 2012, Ng 2013, Scheffers et al. 2013)。研究發現，亞熱帶與熱帶區域的蝌蚪有較小的暖化耐受度，受到暖化潛在威脅比溫帶區域的較大(Deutsch 2008, Duarte et al. 2012)。但是目前對亞熱帶蛙類相關的研究，仍然缺少同時使用暖化耐受度與馴化能力，去評估氣候暖化對兩棲類潛在的威脅。

材料與方法

一、 實驗物種、採集地點與棲地劃分

從 2013 – 2015 年間總共採集 19 種常見的蛙類蝌蚪，每一物種採集 10~30 隻測量高溫耐受度和暖化耐受度(表一)，並將物種各保留 5 隻放置 95%酒精保存，以便日後需做 DNA 萃取與基因定序使用。北部區域採集 7 種蛙類蝌蚪，分別為長腳赤蛙(*Rana longicrus*)採集於新北市金山區八煙水田中；翡翠樹蛙(*Rhacophorus prasinatus*)、台北樹蛙(*Rhacophorus taipeianus*)、小雨蛙(*Microhyla fissipes*)與福建大頭蛙(*Limnonectes fujianensis*)採集自於新北市烏來文化大學華林林場；日本樹蛙(*Buergeria japonica*)、澤蛙(*Fejervarya limnocharis*)採自新北市烏來溫泉區。中部區域採集 12 種蛙類蝌蚪，分別為黑眶蟾蜍(*Duttaphrynus melanostictus*)採集於東海大學東海湖；斯文豪氏赤蛙(*Odorrana swinhoana*)採集於南投縣霧社鄉投 83 縣道旁溪流；黑蒙西氏小雨蛙(*Microhyla heymonsi*)和盤古蟾蜍(*Bufo bankorensis*)皆採集自南投縣魚池鄉蓮華池研究中心木屋教室旁的水池；面天樹蛙(*Kurixalus idiotocus*)採集於魚池鄉檳榔園臨時性積水；梭德氏赤蛙(*Rana sauteri*)採集於南投縣魚池鄉合坑溪；腹斑蛙(*Babina adenopleura*)、拉都西氏赤蛙(*Hylarana latouchii*)採集於南投

縣魚池鄉五城國小水池；莫氏樹蛙(*Rhacophorus moltrechti*)和布氏樹蛙(*Polypedates braueri*)採集於魚池鄉龍華巷人工集水槽水域；褐樹蛙(*Buergeria robusta*)採集於南投縣魚池鄉水社水尾溪溪邊；艾氏樹蛙(*Kurixalus eiffingeri*)採集於南頭縣鹿谷鄉溪頭。所有採集的物種約海拔 1500 公尺以下的低中高海拔族群。詳細的採集點經緯度與海拔在附錄表一。棲地類型依據採集的水域有無植被陰影遮蔽，分為無陰影遮蔽開闊型棲地(Open Country Habitat)與有陰影遮蔽的森林型棲地(Forest Habitat)(Duarte et al.2012; Ng 2013)。

二、 蝌蚪的高溫耐受度(Critical Thermal Maximum, CT_{max})測量

高溫耐受度為生物失去平衡或無逃開等正常反應的臨界溫度高溫，此方法被廣泛使用在其他外溫動物上(Lutterschmidt and Hutchison 1997a, b)。本研究以蝌蚪無法平衡身體自由游動的溫度為高溫耐受度。每一種蝌蚪採集大約 10~30 隻，期數為 Gosner 26-30 期，該期數間蝌蚪的高溫耐受度較穩定(Cupp Jr 1980, Sherman 1980)。採集回來的蝌蚪會先放置在室溫中靜置一晚，並在採集後三天內測量完高溫耐受度，測量前都無餵食。測試過程是先將蝌蚪放置裝有 200 ml 清水的燒杯中，再放置至恆溫水浴槽，以採集時的棲地溫度為起始溫度，以 0.25°C/分鐘的緩慢上升速率加熱(Wu and

Kam 2005)，緩慢的加熱速率對較期數小的蝌蚪比較好(Heatwole et al. 1968)。當蝌蚪無法平衡身體游動或以溫度探棒刺激無法應時，記錄此時的溫度為蝌蚪的高溫耐受度(Cupp Jr 1980, Sunday et al. 2011, Terblanche et al. 2011, Duarte et al. 2012, Ng 2013)。判定完高耐受溫度之後，立即將蝌蚪撈出放置於室溫的清水中來消除熱衝擊，若蝌蚪無清醒則該結果不採用。每隻蝌蚪僅進行一次高耐受溫度實驗。

三、棲地高溫(Environmental Temperature Maximum, T_{max})與暖化耐受度(Warming Tolerance, WT)

本實驗在有蝌蚪的水域的最深處放置一支電子溫度計(ONSET-HOBO-water temp pro v2, USA)長時間記錄水域溫度，每一小時記錄一次水域的溫度。棲地高溫為從長期水溫資料中選取該物種繁殖季內(約3個月)水域溫度的最高值(Duarte et al., 2011; Ng, 2013)。暖化耐受度，是指物種的高溫耐受與棲地高溫度的差值，廣泛用於評估氣候暖化對生物的威脅指標(Deutsch et al. 2008; Duarte et al. 2012; Ng 2013)。

$$\text{公式： } WT = CT_{max} - T_{max}$$

四、 蝌蚪的馴化能力(Acclimation Capacity, AC)：

馴化能力是指物種能提高多少高溫耐受度，是用於評估物種面對暖化潛在威脅的指標之一(Stillman 2003; Calosi et al. 2008; Gunderson et al. 2015)。本實驗採集 19 種中常見的 11 種測量馴化能力(表二)，每一種總共採集 40 隻，將採集回來的蝌蚪分成兩組，一組馴化在原棲地的均溫(T_i)，另一組以原棲地的均溫再增加 8°C (T_{i+8}) 作為高溫組馴養的溫度(Stillman and Somero 2000; Stillman 2003)。本實驗因馴養多種物種，高溫組的馴養溫度考慮有些實驗物種的高溫耐受度較低(e.g. 艾氏樹蛙)，無法承受長時間在高溫度下馴養，所以選取的提高溫度為實驗物種都可馴養存活的溫度範圍。每一隻蝌蚪個別馴養，每日定量餵食與換水，個別馴養七天。馴化時間結束後，若個體超過 Gosner 38 期則不測量高溫耐受度，其餘個體皆測量。測量過程個別同時測量兩組中每一隻蝌蚪的高溫耐受度，水溫起始溫度為兩組飼養溫度的平均溫度。最後計算每物種的馴化能力計算公式如下：

$$\text{馴化能力 AC(\%)} = (\text{CT}_{\max T_{i+8}} - \text{CT}_{\max T_i}) / (T_{i+8} - T_i) * 100\%$$

表二為馴化能力實驗中均溫組的高溫耐受度結果，翡翠樹蛙、台北樹蛙、莫氏樹蛙與梭德氏赤蛙的高溫耐受度比高溫耐受度實驗

(表一)的結果較低，可能是高溫耐受度實驗所採集物種有經歷過比馴養溫度較高的棲地溫度，導致物種有較高的高溫耐受度。

五、 親緣演化樹的建立：

本實驗將個別建立所進行研究之 19 種台灣(亞熱帶)原生種與加入 10 種新加坡(熱帶)物種的親緣演化樹。將從 NCBI GenBank 下載各物種的 12S、16S、Cytochrome b 這三個粒線體的 DNA(附錄表 2 和附錄表 3)。台灣的物種若有無法取得以上需要的資料，則進行 DNA 萃取與基因定序得知(附錄表 2)。先以 MUSECL 軟體進行序列整理(Alignment)，再用 Bioedit 進行序列編輯，最後以 MEGA 演化軟體以 Maximum-Likelihood 計算每個物種親緣關係與做出親緣關係樹。本研究使用的親緣關係樹為非等距演化樹(Non-Ultrametric tree)(附錄圖 1、附錄圖 2)

六、 基因增幅與定序

將保存於 95%的蝌蚪利用 Classic™ Genomic DNA isolation kit(Lamda Biotech)萃取蝌蚪的 DNA。並將乾燥的 DNA 容於於 60 μ l 的 0.1X TE buffer (10Mm tris, 1mMEDTA, pH 8.0)中放置 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存。本研究選用 3 個常用的粒線體基因座(附錄表 1、附錄表 2)，分

別是 12S、16S 與 Cytochrome b (簡稱 CYTB) (Duarte et al. 2012; Ng 2013)。

PCR(Polymerase chain reaction)反應的三個基因座反應各別總樣本體積為 25 μ l，12S 與 16S 反應的內含物有 2 μ l 的 DNA 樣本、5 μ l 5X Colorless GoTag® Flexi buffer (Promega)、1.5 μ l 2.5mM each dNTP、2 μ l 25mM MgCl、1 μ l 10 μ M forward 和 reverse 的引子 (Primer: 12SA-L, 12SB-H, 16SaL, 16SbH)、0.2 μ l Cololess GoTag® Flexi DNA polymeras (Promega)，12S 的 PCR 反應流程為 95 $^{\circ}$ C 5 分鐘，重複下列步驟 30 個循環，95 $^{\circ}$ C 30 秒，各組引子黏合溫度為 54 $^{\circ}$ C 30 秒，72 $^{\circ}$ C 30 秒，最後是 72 $^{\circ}$ C 10 分鐘。16S 的為 touchdown PCR 方式，其黏合溫度不同，其餘步驟與 12S 的相同。16S 的起始黏合溫度是 56 度 30 秒，再以每個循環降 0.5 $^{\circ}$ C 的速率降至 48 $^{\circ}$ C，再以 48 度重複 20 個循環。CYTB 的內含物為 1 μ l 的 DNA 樣本、5 μ l 5X Colorless GoTag® Flexi buffer (Promega)、1.5 μ l 2.5mM each dNTP、4 μ l 25mM MgCl、0.5 μ l 10 μ M forward 和 reverse 的引子 (Primer: Cytb-Rana-F1, Cytb-Rana-R1)、0.2 μ l Cololess GoTag® Flexi DNA polymeras (Promega)、12.3 μ l H₂O。PCR 反應流成為 95 $^{\circ}$ C 5 分鐘，下列步驟重複 35 個循環，95 $^{\circ}$ C 40 秒，引子黏合溫度為 52 $^{\circ}$ C 60 秒，72 $^{\circ}$ C 90 秒，最後 72 $^{\circ}$ C 10 分鐘。三個基因座的 PCR 產物加

入 DNA loading dye 混合，並進行膠質電泳以及使用 UV 儀器判讀，若有出現條帶及表示有抓到該基因座，進一步送去生技公司(源資生物科技股份有限公司)定序以得到 DNA 序列。

七、 親緣比較分析：

資料在比較之前並不完全符合相互獨立的前提假設，需在進行物種間分析比較時整合演化樹的親緣資訊(Martins and Hansen 1997)。這裡將使用 CAPER 套件(Orme et al. 2012)，以親緣廣義最小平方法(Phylogenetic generalised least square : PGLS)及演化特徵的布朗運動模型來探討環境高溫及高溫度耐受之間的關係(Duarte et al. 2012)。親緣廣義最小平方法的概念為利用物種的親緣關係樹的距離，來校正最小平方法模型中每個物種點之間的距離。其中計算出的參數(Lambda or Kappa)為表示親緣關係影響兩特徵的相似程度(Kamilar and Cooper 2016)。根據模型的預測，當參數值趨近或等於 1 的時候代表兩個表徵會隨著物種演化而改變，表示該特徵受親緣關係影響較大，而參數值趨近於 0 時則代表兩特徵之間是比較是隨機改變，受到親緣關係的影響較小(Kamilar and Cooper 2016)。另外，樣本數大小會影響參數的準確性，樣本數最少 30 以上則是 lambda 有較好的準確性，而 Kappa 則需要最少 20 以上才會有較好的準確性(Kamilar and Cooper 2016)。不同棲地類型的比較，則使用

Geiger 套件(Harmon et al. 2009)進行親緣 ANOVA(Phylogenetic ANOVA)來比較不同棲地類型蝌蚪高耐受溫度、環境高溫、暖化耐受及馴化能力是否會有差異(Duarte et al. 2012)。親緣分析的比較以 R 統計軟體(R_Development_Core_Team 2009)來進行統計分析(Paradis et al. 2004)。



結果

一、 在亞熱帶區域物種的高溫耐受度與棲地高溫度是否有相關？

親緣關係最小平方法分析物種的高溫耐受度與棲地高溫的關係顯示，兩因子有顯著的正相關(Phylogenetic generalised least square, $CT_{max} = 0.29 T_{max} + 30.8$, $R^2 = 0.258$, $Kappa=0.143$, $P = 0.015$) (圖一)。

二、 森林型的物種是否比開闊型的有較低的高溫耐受與較大的暖化耐受度？

1. 森林與開闊型棲地物種的高溫耐受度與暖化耐受度

森林型($36.9 \pm 2.6^\circ\text{C}$)與開闊型($38.5 \pm 2.7^\circ\text{C}$)棲地物種的高溫耐受度沒有顯著的差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=1.52$, $P=0.324$) (圖二)。棲地高溫方面，森林型($24.2 \pm 3.2^\circ\text{C}$)與開闊型($27.9 \pm 4.8^\circ\text{C}$)沒有顯著不同(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=3.68$, $P=0.113$) (圖三)。暖化耐受度方面，森林型($12.6 \pm 3.5^\circ\text{C}$)與開闊型($10.5 \pm 3.8^\circ\text{C}$)也沒有顯著不同(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=1.61$, $P=0.283$) (圖四)。

三、 森林型的物種是否比開闊型的有較大的馴化能力？

森林型的($20.2 \pm 8.0\%$)高溫馴化能力顯著大於開闊型(8.3 ± 4.1

%) (Phylogenetic ANOVA, $F_{1,10}=10.37$, $P=0.04$) (圖五)。森林型物種中，翡翠樹蛙的馴化能力是最高，而盤古蟾蜍是最低；開闊型物種中，梭德氏赤蛙的是最高，而腹斑蛙則是最低(表二)。

四、 亞熱帶的物種是否比熱帶有較低的高溫耐受度和較大的暖化耐受度？

1. 亞熱帶與熱帶物種高溫耐受度與暖化耐受度

亞熱帶物種高溫耐受度($37.7\pm 2.7^{\circ}\text{C}$)與熱帶的新加坡 10 種蛙類的高溫耐受度(Ng 2013)($38.1\pm 1.6^{\circ}\text{C}$)沒有顯著差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,27}=0.14$, $P=0.755$) (圖六 a)。棲地高溫方面，亞熱帶物種($26.2\pm 4.4^{\circ}\text{C}$)顯著低於熱帶($30.4\pm 3.8^{\circ}\text{C}$) (Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=6.29$, $P=0.032$) (圖七 a)。暖化耐受度方面，亞熱帶物種(11.5 ± 3.7)顯著高於熱帶($7.7\pm 2.5^{\circ}\text{C}$) (Phylogenetic ANOVA, $F_{1,27}=8.29$, $P=0.009$) (圖八 a)。

2. 亞熱帶與熱帶不同棲地類型物種的高溫度耐受與暖化耐受度

個別將亞熱帶森林型、開闊型，和熱帶森林型、開闊型相互比較高溫耐受、棲地高溫與暖化耐受度。高溫耐受度方面，亞熱帶森林型($36.9\pm 2.5^{\circ}\text{C}$)分別和熱帶森林型($37.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$)與亞熱帶開闊型($38.5\pm 2.7^{\circ}\text{C}$)比較，結果都沒有顯著差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,13}=0.0006$, $P=0.983$; phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=1.51$, $P=0.326$)，但

亞熱帶森林型($36.9\pm 2.5^{\circ}\text{C}$)顯著低於熱帶開闊型($39.8\pm 1.2^{\circ}\text{C}$)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,11}=4.43$, $P=0.041$)(圖六 b)。熱帶森林型($37.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$)和亞熱帶開闊型($38.5\pm 2.7^{\circ}\text{C}$)沒有顯著性上的差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,14}=0.041$, $P=0.843$)，但顯著比熱帶開闊型($39.8\pm 1.2^{\circ}\text{C}$)低(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,8}=30.76$, $P<0.001$)(圖六 b)。亞熱帶開闊型($38.5\pm 2.7^{\circ}\text{C}$)與熱帶開闊型的($39.8\pm 1.2^{\circ}\text{C}$)沒有顯著的差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,12}=0.82$, $P=0.39$)(圖六 b)。

棲地高溫方面，亞熱帶森林型($24.2\pm 3.2^{\circ}\text{C}$)顯著低於熱帶森林型($27.9\pm 4.8^{\circ}\text{C}$)與熱帶開闊型($34.7\pm 0.05^{\circ}\text{C}$)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,13}=5.53$, $P=0.033$; Phylogenetic ANOVA, $F_{1,11}=30.77$, $P<0.001$)(圖十 b)。熱帶森林($27.9\pm 3.2^{\circ}\text{C}$)顯著低於熱帶開闊型($34.7\pm 0.05^{\circ}\text{C}$)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,8}=127.54$, $P<0.001$)(圖七 b)。亞熱帶開闊型($27.5\pm 1.2^{\circ}\text{C}$)分別與亞熱帶森林型($24.2\pm 3.2^{\circ}\text{C}$)和熱帶森林型($27.9\pm 4.8^{\circ}\text{C}$)比較，結果為沒有顯著性上的差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=3.67$, $P=0.106$; Phylogenetic ANOVA, $F_{1,14}=0.04$, $P=0.843$)，但亞熱帶開闊型顯著低於熱帶開闊型($34.7\pm 0.05^{\circ}\text{C}$)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,12}=7.15$, $P=0.020$)(圖七 b)。

暖化耐受度方面，亞熱帶森林($12.6\pm 3.5^{\circ}\text{C}$)分別和熱帶森林($10.5\pm 3.8^{\circ}\text{C}$)與亞熱帶開闊型($9.4\pm 1.4^{\circ}\text{C}$)比較，結果為都沒有顯著的

差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,13}=4.49$, $P=0.056$; Phylogenetic ANOVA, $F_{1,17}=1.61$, $P=0.319$)，但亞熱帶森林顯著比熱帶開闊型高(5.17 ± 1.2 °C)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,11}=14.61$, $P<0.001$)(圖八 b)。熱帶森林型(10.5 ± 3.8 °C)與亞熱帶開闊型(9.45 ± 1.4 °C)沒有顯著差異(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,14}=0.44$, $P=0.544$)，但熱帶森林型顯著高於熱帶開闊型(5.1 ± 1.2 °C)(Phylogenetic ANOVA, $F_{1,8}=$, $P=0.002$)(圖八 b)。



討論

一、 棲地溫度對高溫耐受度、暖化耐受度與馴化能力之影響

生活在棲地高溫較高的蝌蚪，有較高的高溫耐受度，暗示物種的高溫耐受度會受到棲地溫度影響，可能為了適應不同棲地溫度而演化出不同的高溫耐受度。過去研究有相似的發現，蝌蚪的高溫耐受度，可能會受到經歷不同的歷史棲地溫度而有所不同(Brown 1969, Cupp Jr 1980)。張(2002)研究顯示，將不同海拔的盤古蟾蜍蝌蚪馴養在同一個溫度下，其高溫耐受度沒有差異，而馴養溫度越高時，蝌蚪的高溫耐受度則會越高，意味著高溫耐受度主要是受到棲地溫度的因子影響。Duarte et al. (2012)研究報導，加入親緣關係跨種分析南美洲亞熱帶與歐洲溫帶共 47 種蛙類的高溫耐受度與棲地溫度之關係，結果顯示物種的高溫耐受度會受到親緣關係影響且隨著不同棲地高溫而演化。熱帶蛙類研究中也有相似的發現(Simon et al. 2015)。此外，在雙殼綱(Compton et al. 2007)、陶瓷蟹屬(*Petrolisthes*)(Stillman and Somero 2000, Stillman 2003)、歐洲青蟹(*Carcinus maenas*)(Kelley et al. 2011)等無脊椎動物分類群的種間與族群間都有相似的發現。例如 Compton et al. (2007)研究 12 個港灣所採集的雙殼綱(大約 46 種)結果顯示，棲地高溫與雙殼類的高溫耐受度

是成正比。

物種的高溫耐受度不會受到親緣關係的影響與 Duarte et al. (2012)的研究結果不同，可能是樣本數較少導致影響參數的準確性。親緣關係最小平方法(PGLS)的參數(Lambda or Kappa)準確性會受到樣本數大小的影響，樣本數最少 30 以上則是 lambda 有較好的準確性，而 Kappa 則需要最少 20 以上才會有較好的準確性(Kamilar and Cooper 2016)。Duarte et al. (2012)47 種蛙類研究顯示，Lambda = 0.89 表示高溫耐度受到強烈的親緣關係影響。但本研究 19 種蛙類研究顯示，Kappa = 0.143 表示高溫耐受度並未受到親緣關係影響，其可能是蛙類種數較少而影響，未來須更進一步探討。

本研究並不支持開闊型棲地物種會有較小的暖化耐受度與前人 (Duerate et al. 2012)研究不同，可能是各地理區氣候類型與棲地溫度差異而導致。台灣屬於濕潤亞熱帶氣候(Humid Subtropical climate)(Kottek et al. 2006)，在本研究顯示，台灣亞熱帶開闊型棲地蝌蚪的棲地高溫的範圍 24.9 - 35.1°C，平均 27.9°C，而森林型的範圍 18.8 - 29.8°C，平均為 24.2°C，兩者沒有顯著的差異(圖三)，推測物種也有相似的高溫耐受度與暖化耐受度(圖二; 圖四)。相反的，Duarte et al.(2012)南美洲亞熱帶研究顯示，開闊型採集於半乾旱氣候(Semi-arid Climate)(Kottek et al. 2006)，屬於炎熱高溫與半乾旱的大

峽谷群(Gran Chaco Region community)棲地，棲地高溫範圍 34.2 – 42.4°C，平均為 38.9°C；森林型棲地採集於濕潤亞熱帶氣候(Humid Subtropical Climate)潮濕的阿根廷森林(Atlantic Forest)，棲地高溫範圍為 21.3 – 30.4°C，兩者的棲地高溫有顯著的差異，開闊型棲地蝌蚪的高溫耐受度顯著高於森林型，暖化耐受度則反之(Duarte et al. 2012)。

開闊型的蝌蚪比森林型的有顯著較小的馴化能力，可能和棲地溫度有關。過去研究發現，棲地溫度較高的物種比在棲地溫度低的經高溫馴化後，在高溫棲地物種的高溫耐受度提高較少(Stillman and Somero 2000, Stillman 2003, Bilyk and Devries 2011)。例如 Chen et al. (2001)研究顯示，冷水族群的日本樹蛙蝌蚪的高溫耐受度會隨著馴化溫度上升而提高，但溫泉族群的則不會受到影響；Bilyk and Devries (2011)研究 11 種不同屬的南極魚類發現，在棲地溫度較高的南極魚比棲地溫度低的有較高的高溫耐受度，但卻有較小的馴化能力的現象。本研究也有相似的發現，開闊型的棲地高溫有較高的趨勢，且開闊型的馴化能力比森林型的小。然而，也有些研究沒有發現相似現象(Calosi et al. 2008, Gunderson and Stillman 2015, Simon et al. 2015)，譬如 Simon et al. (2015)測量七種蝌蚪的高溫耐受度、棲地高溫與馴化能力，結果顯示，在高溫開闊棲地的蝌蚪有較高的高溫

耐受度，也有較大馴化能力，而棲地高溫與馴化能力之間是無關係；在水棲昆蟲中也有相似的發現，龍蝨科(Dytiscidae)的物種馴化能力與高溫耐受度是正向關係(Calosi et al. 2008)。總而言之，馴化能力是否與棲地溫度有關係，未來可能須更進一步探討。

二、 開闊與森林型蛙類受暖化潛在威脅程度

雖然開闊型的與森林型的物種有相似的暖化耐受度，但馴化能力較小，開闊型的可能受到暖化的威脅比森林型的大，此結果與 Simon et al.(2015)研究並不完全相同。Simon et al (2015)南美洲七種熱帶蛙類研究顯示，在高溫開闊棲地的三種蝌蚪(e.g. *Rhinella granulosa*)比森林型的(e.g. *Pleurodema diplolistris*)有較小的暖化耐受度(開闊型：4.7°C和森林型：9.0°C)，但有較大的馴化能力(開闊型：0.15°C；森林型：0.10°C)。而 Simon 等人推測雖然開闊型棲地的蛙類雖有比較大的馴化能力，但因暖化耐受度遠小於森林型的，未來受到暖化的威脅可能還是比森林型的大(Simon et al. 2015)。Simon et al. (2015)暖化耐受度的研究結果與本研究不同，可能是不同氣候類型與棲地高溫差異而導致。Simon et al. (2015)採集的棲地類型、氣候類型與 Duarte et al.(2012)採集的相同，開闊棲地屬於半乾旱氣候(Kottek et al. 2006)，森林型的棲地屬於濕潤亞熱帶氣候，兩者棲地

高溫有顯著差異，導致暖化耐受度有所差異。本研究採集棲地皆屬於濕潤亞熱帶氣候，開闊與森林型棲地類型的棲地高溫沒有差異，因此物種的暖化耐受度也無差異。總而言之，目前研究顯示，在開闊型的蛙類在未來是比較容易受到氣候暖化的威脅(Duarte et al. 2012, Ng 2013, Simon et al. 2015)。

三、 亞熱帶與熱帶蛙類受暖化潛在威脅程度

熱帶與部分區域亞熱帶區域的外溫動物會因為棲地溫度較高而有較小的暖化耐受度，因此物種面臨棲地溫度上升會較脆弱。目前研究發現，在低緯度區域的陸域外溫動物(青蛙、爬行動物、昆蟲)受氣候威脅較大 (Deutsch 2008, Tewksbury et al. 2008, Paaijmans 2013)。Huey et al. (2009)研究發現，大多數低緯度的蜥蜴有較小的溫度安全範圍值，意味著容易受到較暖化威脅較大。本研究與 Ng (2013)研究比較顯示，亞洲熱帶區域物種的暖化耐受度 7.7°C 比亞洲亞熱帶物種的 11.5°C 小，暗示說亞洲熱帶區域的兩棲類比亞洲亞熱帶的更容易受到威脅。但 Ng (2013)與 Duarte et al. (2012)研究結果比較顯示，亞洲熱帶區域(新加坡)的蛙類與南美洲亞熱帶區域的有相似的暖化耐受度。總和以上結果敘述，意味著在不同亞熱帶區域，可能因氣候類型不同(Kottek et al. 2006)，受到威脅程度不同，但亞

熱帶與熱帶區域未來暖化下可能是受威脅程度較大。

從棲地角度來看，熱帶與亞熱帶開闊型的物種可能在氣候暖化下將是更受威脅的類群。本研究與 Ng(2013)研究比較結果顯示，亞洲熱帶開闊型的蛙類暖化耐受度是比亞洲亞熱帶開闊、森林與亞洲熱帶森林棲地物種的最小(圖十)。但 Ng (2013)研究與 Duarte et al (2012)南美洲亞熱帶研究比較發現，南美洲亞熱帶開闊型的蛙類蝌蚪比南美洲亞熱帶森林、亞洲熱帶開闊和森林型的蛙類蝌蚪有最小的暖化耐受度。總而言之，在不同區域不同棲地類型受到的威脅程度不同，部份區域亞熱帶開闊棲地的物種與熱帶開闊型棲地的，可能比其他森林型的物種在未來暖化下是更脆弱的類群。

總結

本研究透過測量蛙類的高溫耐受度和棲地高溫，來評估個物種蝌蚪的暖化耐受度和馴化能力，利用這兩項指標可用來比較不同棲地類型與種間物種在未來暖化下的脆弱度。此外，微棲地可能是需列入評估氣候暖化對動物潛在威脅的重要棲地分群之一。從不同角度去評估兩棲類可能受到的潛在威脅程度，對於台灣兩棲類生態保育上可以更全面的了解和更準確的評估蛙類所面臨的暖化潛在的威脅程度，並提供未來保育政策與方針上所需的研究資料。



參考文獻

- Bilyk, K. T. and A. L. Devries. 2011. Heat tolerance and its plasticity in Antarctic fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **158**:382-390.
- Brown, H. A. 1969. The heat resistance of some anuran tadpoles (Hylidae and Pelobatidae). *Copeia* **1969**:138-147.
- Calosi, P., D. T. Bilton, and J. I. Spicer. 2008. Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. *Biology Letters* **4**:99-102.
- Chen, T.-C., Y.-C. Kam, and Y.-S. Lin. 2001. Thermal physiology and reproductive phenology of *Buergeria japonica* (Rhacophoridae) breeding in a stream and a geothermal hot spring in Taiwan. *Zoological Science* **18**:591-596.
- Clusella-Trullas, S., T. M. Blackburn, and S. L. Chown. 2011. Climatic predictors of temperature performance curve parameters in ectotherms imply complex responses to climate change. *The American Naturalist* **177**:738-751.
- Collins, J. P., M. L. Crump, and T. E. Lovejoy III. 2009. *Extinction in our times: global amphibian decline*. Oxford University Press, New York. USA.
- Compton, T. J., M. J. Rijkenberg, J. Drent, and T. Piersma. 2007. Thermal tolerance ranges and climate variability: a comparison between bivalves from differing climates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **352**:200-211.
- Cupp Jr, P. V. 1980. Thermal tolerance of five salientian amphibians during development and metamorphosis. *Herpetologica* **36**:234-244.
- Deutsch, C. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms

- across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**:6668-6672.
- Duarte, H., M. Tejado, M. Katzenberger, F. Marangoni, D. Baldo, J. F. Beltrán, D. A. Martí, A. Richter-Boix, and A. Gonzalez-Voyer. 2012. Can amphibian take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Global Change Biology* **18**:412-421.
- Dunson, W. A., R. L. Wyman, and E. S. Corbett. 1992. A symposium on amphibian declines and habitat acidification. *Journal of Herpetology* **26**:349-352.
- Feder, M. E. W. B. 1992. *Environmental physiology of the amphibians*. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Floyd, R. B. 1983. Ontogenetic change in the temperature tolerance of larval *Bufo marinus* (Anura: bufonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **75**:267-271.
- Gunderson, A. R. and J. H. Stillman. 2015. Plasticity in thermal tolerance has limited potential to buffer ectotherms from global warming. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **282**:1-8.
- Heatwole, H., S. B. De Austin, and R. Herrero. 1968. Heat tolerances of tadpoles of two species of tropical anurans. *Comparative Biochemistry and Physiology* **27**:807-815.
- Huey, R. B., C. A. Deutsch, J. J. Tewksbury, L. J. Vitt, P. E. Hertz, H. J. Á. Pérez, and T. Garland. 2009. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**:1939-1948.
- Hughes, L. 2000. Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution* **15**:56-61.

- Janzen, F. J. 1994. Climate change and temperature-dependent sex determination in reptiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**:7487-7490.
- Kam, Y.-C., C.-F. Yen, H.-C. Chen, P.-Y. Lin, J.-R. Wang, and C.-T. Chiu. 2001. The thermal environment of arboreal pools and its effects on the metabolism of the arboreal, oophagous tadpoles of a Taiwanese tree frog, *Chirixalus eiffingeri* (Anura: Rhacophoridae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **129**:519-525.
- Kamilar, J. M. and N. Cooper. 2016. Phylogenetic signal in primate behaviour, ecology and life history. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **368**:20120341.
- Kearney, M., R. Shine, and W. P. Porter. 2009. The potential for behavioral thermoregulation to buffer “cold-blooded” animals against climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**:3835-3840.
- Kelley, A. L., C. E. de Rivera, and B. A. Buckley. 2011. Intraspecific variation in thermotolerance and morphology of the invasive European green crab, *Carcinus maenas*, on the west coast of North America. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **409**:70-78.
- Kottek, M., J. Grieser, C. Beck, B. Rudolf, and F. Rubel. 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* **15**:259-263.
- Lutterschmidt, W. I. and V. H. Hutchison. 1997a. The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Canadian Journal of Zoology* **75**:1553-1560.

- Lutterschmidt, W. I. and V. H. Hutchison. 1997b. The critical thermal maximum: history and critique. *Canadian Journal of Zoology* **75**:1561-1574.
- Madeira, D., L. Narciso, H. N. Cabral, and C. Vinagre. 2012. Thermal tolerance and potential impacts of climate change on coastal and estuarine organisms. *Journal of Sea Research* **70**:32-41.
- McDiarmid, R. W. and R. Altig. 1999. Tadpoles: the biology of anuran larvae. University of Chicago Press, Chicago and London.
- McMenamin, S. K., Hadly, E. A., & Wright, C. K. 2008. Climatic change and wetland desiccation cause amphibian decline in Yellowstone National Park. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**:16988-16993.
- Moyes, C. D. and P. M. Schulte. 2008. Principles of animal physiology. Benjamin Cummings, San Francisco. USA.
- Ng, J. J. 2013. Impacts of climate change on singapore amphibians P.H.D thesis. National University of Singapore, Singapore.
- Orme, D., R. Freckleton, G. Thomas, T. Petzoldt, S. Fritz, N. Isaac & W. Pearse, 2012. Caper: Comparative Analyses of Phylogenetics and Evolution in R. R package version 1.3-1. Available at: <http://cran.r-project.org/web/packages/caper/index.html>.
- Paaijmans, K. P., Heinig, R. L., Seliga, R. A., Blanford, J. I., Blanford, S., Murdock, C. C., & Thomas, M. B. 2013. Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. *Global Change Biology* **19**:1~8.
- Parmesan, C., N. Ryrholm, C. Stefanescu, J. K. Hill, C. D. Thomas, H. Descimon, B. Huntley, L. Kaila, J. Kullberg, and T. Tammaru. 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* **399**:579-583.

- Parmesan, C. and G. Yohe. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421**:37-42.
- Root, T. L., J. T. Price, K. R. Hall, S. H. Schneider, C. Rosenzweig, and J. A. Pounds. 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* **421**:57-60.
- Scheffers, B. R., R. M. Brunner, S. D. Ramirez, L. P. Shoo, A. Diesmos, and S. E. Williams. 2013. Thermal buffering of microhabitats is a critical factor mediating warming vulnerability of frogs in the Philippine biodiversity hotspot. *Biotropica* **45**:628-635.
- Scheffers, B. R., D. P. Edwards, A. Diesmos, S. E. Williams, and T. A. Evans. 2014. Microhabitats reduce animal's exposure to climate extremes. *Global Change Biology* **20**:495-503.
- Sherman, E. 1980. Ontogenetic change in thermal tolerance of the toad *Bufo woodhousii fowleri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **65**:227-230.
- Simon, M. N., P. L. Ribeiro, and C. A. Navas. 2015. Upper thermal tolerance plasticity in tropical amphibian species from contrasting habitats: Implications for warming impact prediction. *Journal of Thermal Biology* **48**:36-44.
- Stillman, J. H. 2003. Acclimation Capacity Underlies Susceptibility to Climate Change. *Science* **301**:65.
- Stillman, J. H. and G. N. Somero. 2000. A comparative analysis of the upper thermal tolerance limits of eastern Pacific porcelain crabs, genus *Petrolisthes*: influences of latitude, vertical zonation, acclimation, and phylogeny. *Physiological and Biochemical Zoology* **73**:200-208.
- Stocker, T. F., Q. Dahe, and G.-K. Plattner. 2013. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis Working Group I Contribution to the*

- Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Summary for Policymakers (IPCC, 2013)
- Tewksbury, J. J., R. B. Huey, and C. A. Deutsch. 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science* **320**:1296.
- Wake, D. B. and V. T. Vredenburg. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**:11466-11473.
- Walther, G. R., E. Post, P. Convey, A. Menzel, C. Parmesan, T. J. C. Beebee, F. Jean-Marc, O. Hoegh-Guldberg, F. Bairlein. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**:389-395.
- Wells, K. D. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Wu, C.-S. and Y.-C. Kam. 2005. Thermal tolerance and thermoregulation by Taiwanese rhacophorid tadpoles (*Buergeria japonica*) living in geothermal hot springs and streams. *Herpetologica* **61**:35-46.
- 向高世、李鵬翔、楊懿如。2009。台灣兩棲爬行類圖鑑。貓頭鷹出版社。台北。
- 張麗文。2002。不同海拔盤古蟾蜍蝌蚪高溫耐受度與其可塑性隻比較。國立成功大學生物學研究所碩士論文。

表一、各物種的高溫耐受度(CT_{max})、棲地高溫度(T_{max})、暖化耐受度(WT)與棲地分類。

物種	樣本數	$CT_{max}(^{\circ}C)$	$T_{max}(^{\circ}C)$	WT($^{\circ}C$)	棲地類型
<i>Polypedates braueri</i>	24	40.2±0.3	26.8	13.4±0.3	森林
<i>Rhacophorus prasinatus</i>	16	39.9±0.6	29.8	10.1±0.6	森林
<i>Bufo bankorensis</i>	15	37.5±0.4	18.8	18.7±0.4	森林
<i>Microhyla heymonsi</i>	15	37.4±0.6	23.9	13.5±0.6	森林
<i>Rhacophorus moltrechti</i>	15	37.4±0.5	24.2	13.2±0.5	森林
<i>Limnonectes fujianensis</i>	15	37.0±0.3	25.7	11.3±0.3	森林
<i>Rhacophorus taipeianus</i>	10	36.4±0.4	20.8	15.6±0.4	森林
<i>Odorrana swinhoana</i>	30	35.9±0.5	23.6	12.3±0.5	森林
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	15	31.0±1.6	25.0	6.1±1.6	森林
<i>Fejervarya limnocharis</i>	20	41.5±0.9	30.1	11.4±0.9	開闊
<i>Buergeria japonica</i>	20	41.4±1.0	30.1	11.3±1.0	開闊
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	15	41.4±0.2	35.1	6.3±0.2	開闊
<i>Microhyla fissipes</i>	19	39.7±0.8	34.0	5.7±0.8	開闊
<i>Babina adenopleura</i>	16	38.5±0.8	28.2	10.3±0.8	開闊
<i>Buergeria robusta</i>	13	37.6±1.2	25.3	13.2±1.2	開闊
<i>Hylarana latouchii</i>	12	37.5±0.4	21.3	16.2±0.4	開闊
<i>Kurixalus idiootocus</i>	10	37.4±1.4	30.0	7.4±1.4	開闊
<i>Rana longicrus</i>	10	35.8±0.5	20.6	16.0±0.5	開闊
<i>Rana sauteri</i>	14	32.4±1.1	24.9	7.9±1.1	開闊

備註：高溫耐受度和暖化耐受度數值以 mean±SD 呈現

表二、馴養物種之馴養溫度、均溫組的高溫耐受度、高溫組的高溫耐受度(CT_{max}H)與馴化能力(AC)。

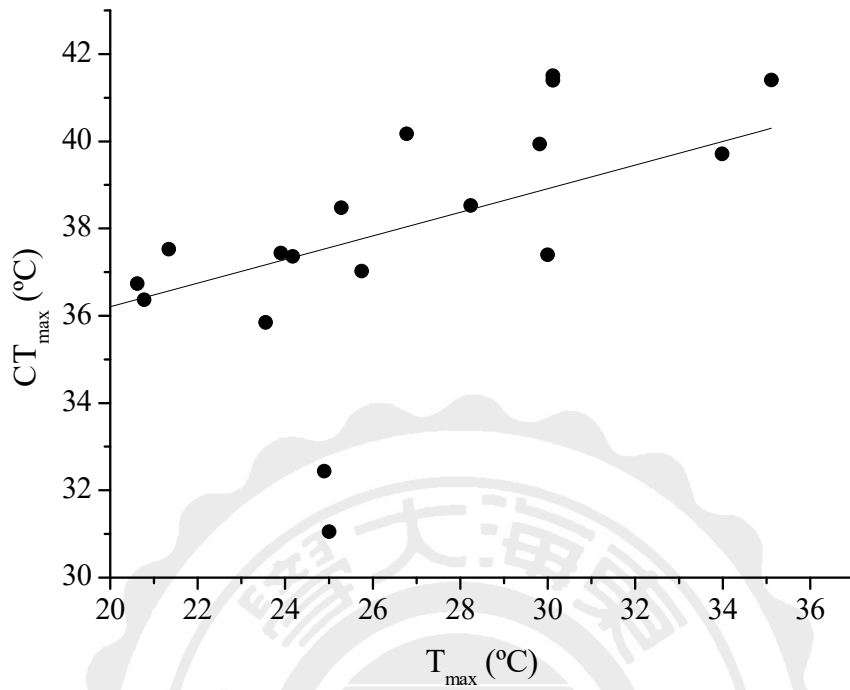
物種	樣本數		馴養溫度(°C)		CT _{max} M(°C)	CT _{max} H(°C)	AC(%)	棲地類型
	均溫組	高溫組	均溫組	高溫組				
<i>Rhacophorus prasinatus</i>	9	8	20	28	35.2±1.53	37.6±0.59	30	森林
<i>Odorrana swinhoana</i>	14	9	20	28	34.7±0.40	37.0±0.59	29	森林
<i>Rhacophorus taipeianus</i>	10	10	13	21	34.9±0.46	36.5±0.32	21	森林
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	15	20	20	28	32.8±1.63	34.0±0.55	16	森林
<i>Rhacophorus moltrechti</i>	14	10	16	24	35.6±1.22	36.8±0.63	15	森林
<i>Bufo bankorensis</i>	12	12	17	25	37.7±0.62	38.5±0.48	10	森林
<i>Rana sauteri</i>	15	15	16	24	34.0±0.79	35.1±1.03	14	開闊
<i>Fejervarya limnocharis</i>	12	10	27	35	40.4±0.25	41.3±0.28	11	開闊
<i>Rana longicrus</i>	10	10	15	23	35.5±0.31	36.4±0.25	11	開闊
<i>Buergeria japonica</i>	5	5	27	35	42.2±0.10	42.7±0.16	6	開闊
<i>Hylarana latouchii</i>	18	15	17	25	37.8±0.28	38.2±0.28	5	開闊
<i>Babina adenopleura</i>	23	14	22	30	38.0±1.10	38.3±0.86	4	開闊

備註：高溫耐受度以 mean±SD 呈現

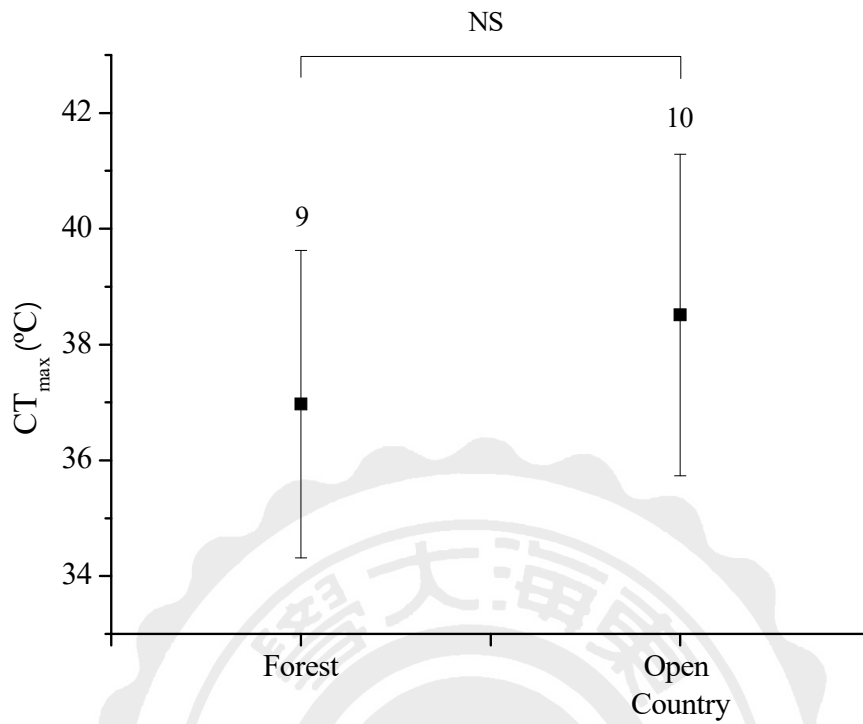
表三、熱帶物種的高溫耐受度(CT_{max})、棲地高溫(T_{max})、暖化耐受度(WT)與棲地分群。

物種	CT _{max}	T _{max}	WT	棲地類型
<i>Nyctixalus pictus</i>	37.4	26.9	10.5	森林
<i>Limnonectes malesiana</i>	37.2	26.3	10.9	森林
<i>Microhyla mantheyi</i>	37.0	27.2	9.8	森林
<i>Hydrophylax labialis</i>	36.9	27.5	9.4	森林
<i>Kalophrynus limbooliati</i>	36.8	29.9	6.9	森林
<i>Limnonectes blythii</i>	36.7	27.5	9.2	森林
<i>Fejervarya cancrivorus</i>	41.6	34.7	6.9	開闊
<i>Polypedates leucomystax</i>	39.9	34.7	5.2	開闊
<i>Kaloula pulchra</i>	39.2	34.6	4.5	開闊
<i>Microhyla butleri</i>	38.8	34.7	4.1	開闊

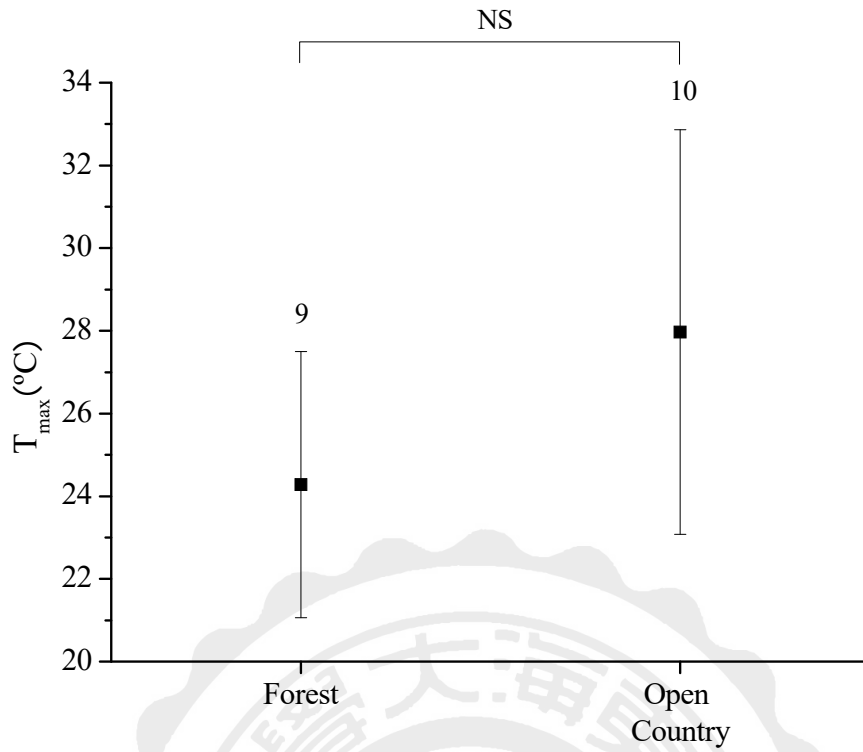
備註：資料來源為 Ng 2013，暖化耐受度與高溫耐受度皆為論文內的平均值，棲地高溫是兩者的差值所得。



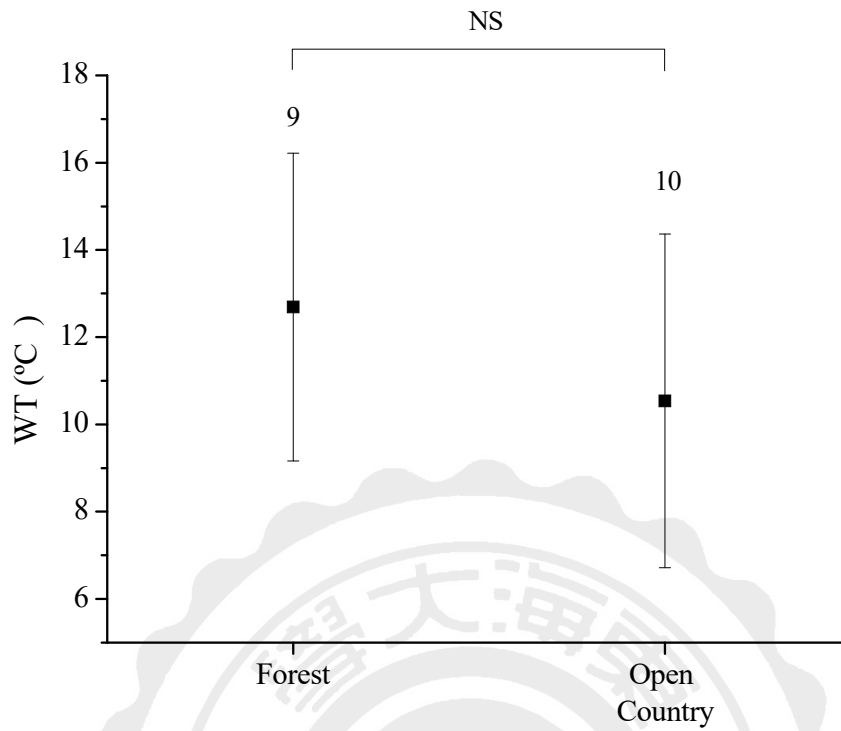
圖一、高溫耐受度(CT_{max})與環境高溫(T_{max})之關係。每一點代表一個物種。實線為趨勢線(Phylogenetic generalized least square, $CT_{max} = 0.29 T_{max} + 30.8$, $R^2 = 0.258$, $Kappa=0.143$, $P = 0.015$)



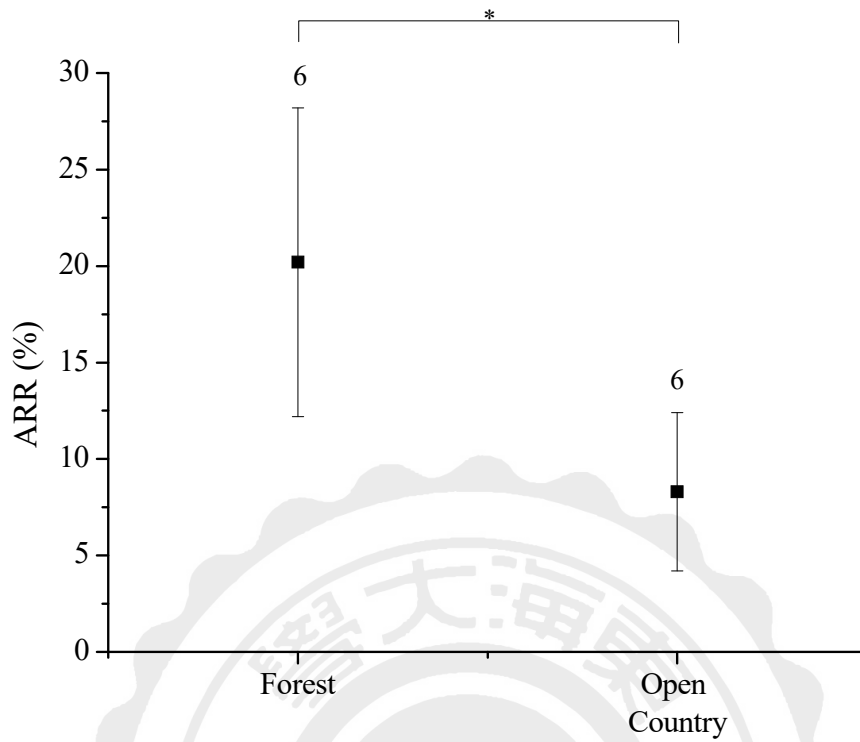
圖二、不同棲地類型蝌蚪的高溫耐受度(CT_{max})比較。NS 表示未達顯著差異。數值以 $mean \pm SD$ 呈現。數字為樣本數。Forest 為森林型，Open Country 是開闊型。



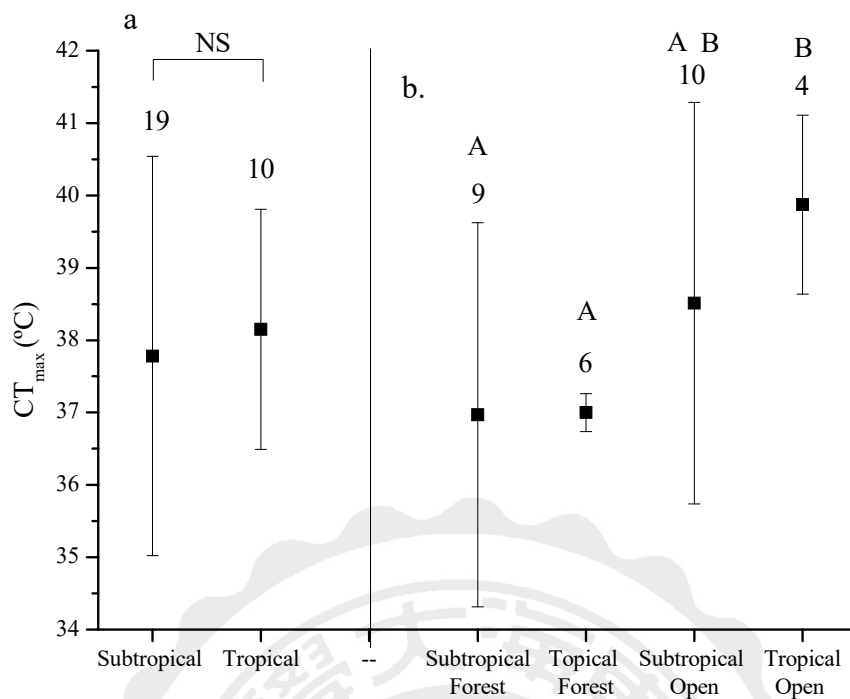
圖三、不同棲地類型的棲地高溫度(T_{max})比較。NS 表示未達顯著差異。數值以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 呈現。數字表示樣本數。Forest 為森林型，Open Country 表示為開闊型。



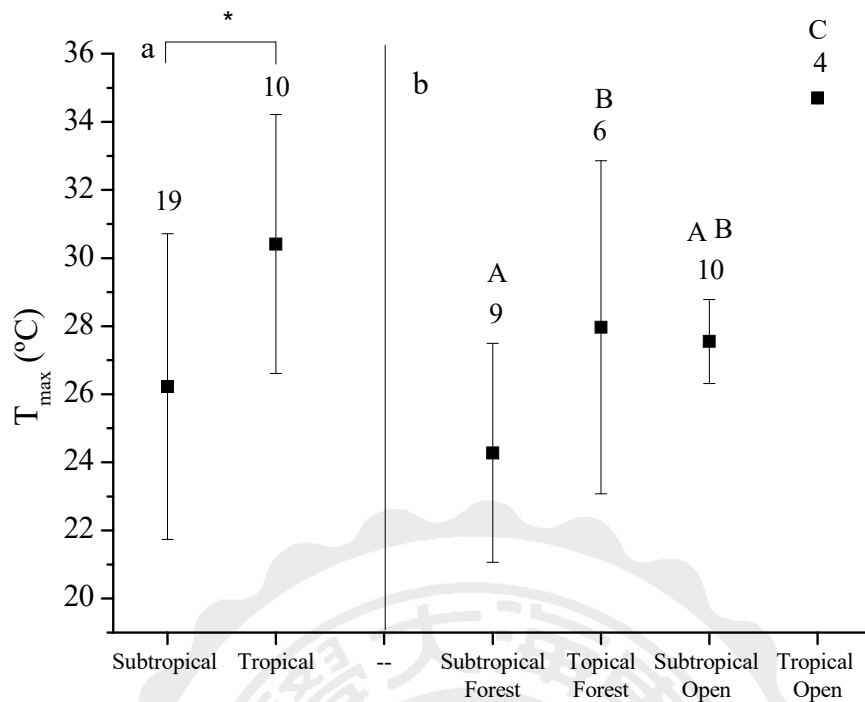
圖四、不同棲地類型蝌蚪的暖化耐受度(WT)比較。NS 表示未達顯著差異。數值以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 呈現。數字表示樣本數。Forest 為森林型，Open Country 表示為開闊型。



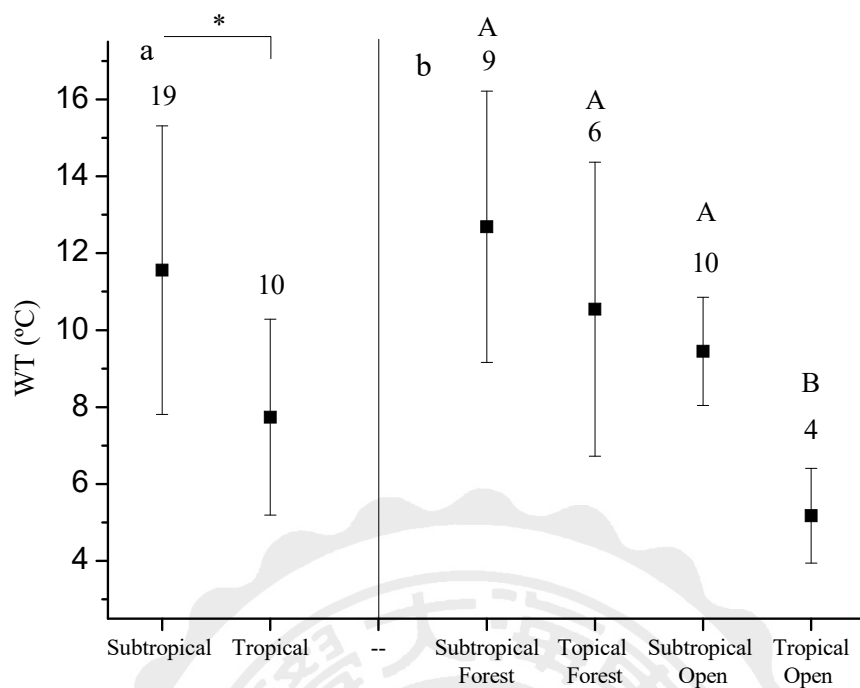
圖五、不同棲地類型蝌蚪的馴化能力(ARR)比較。*號表示 $p < 0.05$ 。數值以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 呈現。數值表示樣本數。Forest 為森林型，Open Country 表示為開闊型。



圖六、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域物種的高溫耐受度 (CT_{max})比較。Subtropical Forest 表示亞洲森林型，Tropical Forest 表示熱帶森林型，Subtropical Open 表示亞熱帶開闊型，Tropical Open 表示熱帶開闊型。NS 表示沒有顯著差異。事後比較以大寫字母來表示，不同英文字母為有顯著差異。數值以 $mean \pm SD$ 顯示。數字為樣本數。



圖七、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域之環境最高溫(T_{max})比較。Subtropical Forest 表示亞洲森林型，Tropical Forest 表示熱帶森林型，Subtropical Open 表示亞熱帶開闊型，Tropical Open 表示熱帶開闊型。*號表示有達顯著差異。事後比較以大寫字母來表示，不同英文字母為有顯著差差異。數值以 $mean \pm SD$ 顯示。數字為樣本數。



圖八、亞熱帶(Subtropical)與熱帶(Tropical)區域之物種暖化耐受度(WT)比較。Subtropical Forest 表示亞洲森林型，Tropical Forest 表示熱帶森林型，Subtropical Open 表示亞熱帶開闊型，Tropical Open 表示熱帶開闊型。*號表示有達顯著差異。事後比較以大寫字母來表示，不同英文字母為有顯著差差異。數值以 mean±SD 顯示。數字為樣本數。

附錄表 1、各物種採集點的經緯度與海拔高度

物種	緯度	經度	海拔(公尺)
<i>Rana longicrus</i>	25°11' 28.04"	121°35' 22.89"	297
<i>Rhacophorus prasinatus</i>	24°53' 24.90"	121°34' 01.80"	400
<i>Rhacophorus taipeianus</i>	24°53' 24.90"	121°34' 01.80"	400
<i>Microhyla fissipes</i>	24°53' 24.90"	121°34' 01.80"	400
<i>Limnonectes fujianensis</i>	24°53' 24.90"	121°34' 01.80"	400
<i>Buergeria japonica</i>	24°51' 47.53"	121°33' 01.14"	136
<i>Fejervarya limnocharis</i>	24°51' 47.53"	121°33' 01.14"	136
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	24°10' 53.00"	120°36' 31.8"	138
<i>Odorrana swinhoana</i>	23°59' 16.37"	121°07' 46.17"	1108
<i>Microhyla heymonsi</i>	23°55' 07.80"	120°52' 57.70"	726
<i>Bufo bankorensis</i>	23°55' 07.80"	120°52' 57.70"	726
<i>Kurixalus idiotocus</i>	23°54' 51.98"	120°53' 45.42"	615
<i>Rana sauteri</i>	23°54' 08.30"	120°53' 27.20"	571
<i>Babina adenopleura</i>	23°53' 26.80"	120°53' 23.00"	550
<i>Hylarana latouchii</i>	23°53' 26.80"	120°53' 23.00"	550
<i>Rhacophorus moltrechti</i>	25°53' 19.34"	120°53' 28.33"	560
<i>Polypedates braueri</i>	25°53' 19.34"	120°53' 28.33"	560
<i>Buergeria robusta</i>	23°52' 45.86"	120°53' 11.87"	618
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	23°41' 22.72"	120°47' 27.09"	952

附錄表 2、亞熱帶物種三個粒線體基因序號(GENEBANK)

物種	12S	16S	CYTB
<i>Bufo bankorensis</i>	AF160768	AF160786	AB159260
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	AY458592.12S	AY458592.16s	AY458592.CYTB
<i>Microhyla fissipes</i>	AB201175	AB201185	AB201219
<i>Microhyla heymonsi</i>	AY458596.12S	AY458596.16s	AY458596.CYTB
<i>Fejervarya limnocharis</i>	AY158705.12S	AY158705.16S	AY158705.CYTB
<i>Limnonectes fujianensis</i>	AY974191.12S	AY974191.16S	NC007440.CYTB
<i>Babina adenopleura</i>	NC018771.12S	NC18771.16S	NC018771.CYTB
<i>Hylarana latouchii</i>	KF771284.12S	AB058880	EU034751
<i>Odorrana swinhoana</i>	AB200929	KF185045	OS.CYTB
<i>Rana longicrus</i>	RL.12S	AB058881	JF939130
<i>Rana sauteri</i>	AB685767	AB211495	EU034956
<i>Buergeria japonica</i>	DQ283055	LC002885	KC151119
<i>Buergeria robusta</i>	AB530075	AF026370	JF802879
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	AB933305	AF026363	KE.CYTB
<i>Kurixalus idiotocus</i>	AB933306	DQ468674	GQ204503
<i>Polypedates braueri</i>	AB728016	AB728003.16S	PB.CYTB
<i>Rhacophorus moltrechti</i>	AF458145	DQ468676	U00710
<i>Rhacophorus prasinatus</i>	RhP.12S	RhP.16S	RhP.CYTB
<i>Rhacophorus taipeianus</i>	RhT.12S	RhT.16S	U00727
<i>Salamandra salamandra</i>	AY928619	EF017949	.AY035819
<i>Pleurodeles waltl</i>	AY522565	JF803793	EU880330
<i>Triturus cristatus</i>	DQ283441	EF422224	NC015791.CYTB

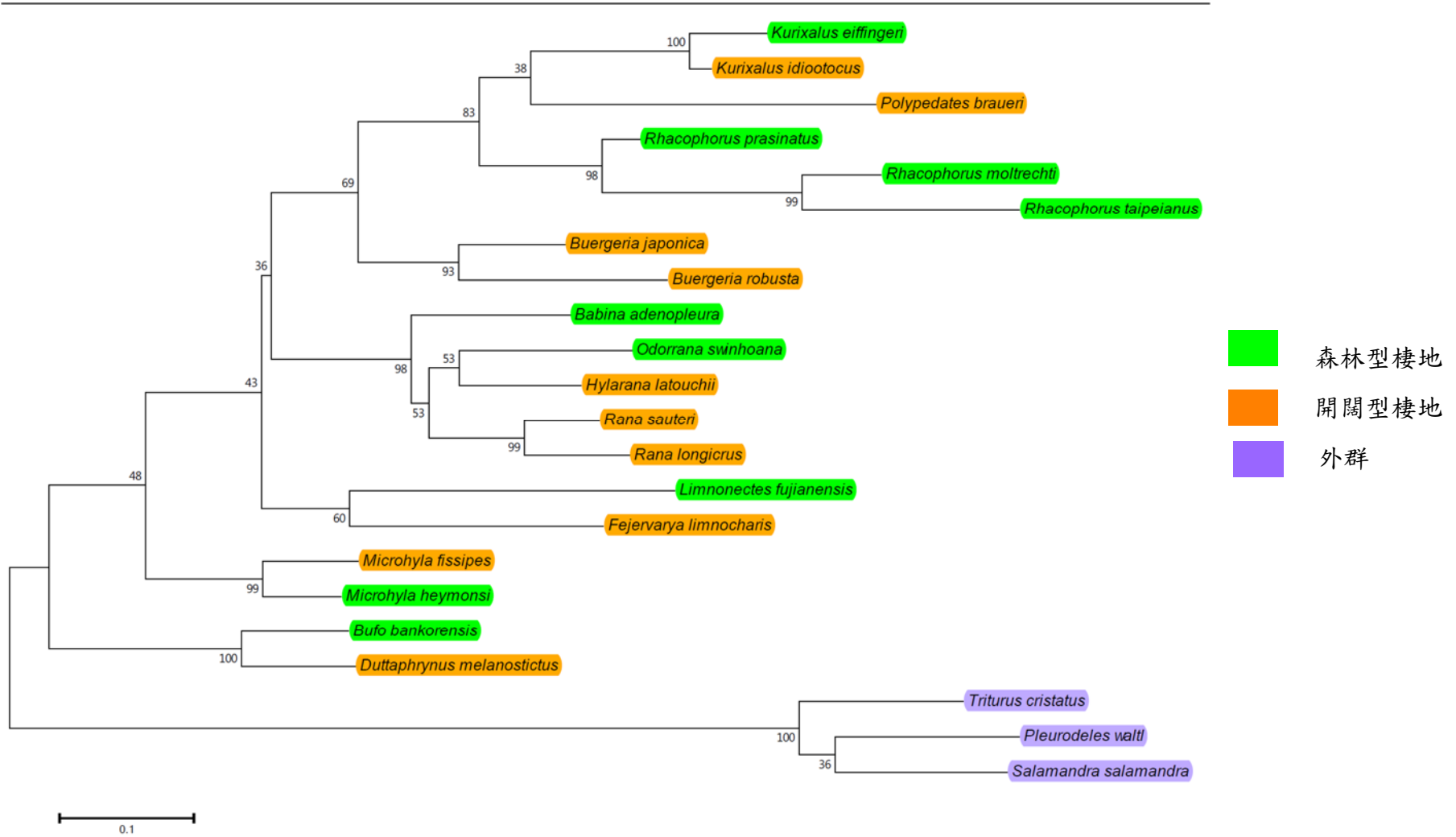
備註：粗體為本研究定序出的物種

附錄表 3、熱帶物種三個粒線體基因序號(GENE BANK)

Species	12S	16S	CYTB
<i>Kalophrynus</i>			
<i>limbooliati</i>	AB634642	AB634700	-
<i>Kaloula pulchra</i>	JX678890	JX678902	-
<i>Microhyla butleri</i>	AB634606	AB634664	-
<i>Microhyla mantheyi</i>	AB598310	AB598334	-
<i>Fejervarya cancrivora</i>	NC_012647.12S	NC_012647.16S	NC_012647.CYTB
<i>Limnonectes malesiana</i>	U66128	U66129	-
<i>Limnonectes blythii</i>	AF206082	AY880438	JQ287722
<i>Hydrophylax labialis</i>	-	EU604174	-
<i>Nyctixalus pictus</i>	GQ204783	JN377342	GQ204549
<i>Polypedates</i>			
<i>leucomystax</i>	JN541325	HM770163	AB451718

備註：資料來源 Ng 2013

附錄圖 1、台灣蛙類的親緣關係樹與棲地分類



附錄圖 2、亞熱帶與熱帶物種親緣關係

