

臺灣及琉球群島兩地狹口蛙科之生物地理與親緣關係初探

賴伯琦 呂光洋* 童武夫

國立臺灣師範大學生物學系

摘要

分布於遠東地區(臺灣與琉球群島)的四種狹口蛙科經由10種同功異構酶的電泳比較後發現其於肝臟與肌肉中共有22個基因座。所取樣的223隻,分屬於16個族群:1個巴氏小雨蛙、5個黑蒙西氏小雨蛙、2個史丹吉氏小雨蛙及8個小雨蛙族群。分析結果顯示巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙、和小雨蛙有較近的遺傳關係,史丹吉氏小雨蛙則與它們的關係較遠。四種狹口蛙科的16個族群可由遺傳距離的UPGMA結果分為三群:(1)臺灣的小雨蛙;(2)臺灣的巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙和琉球群島的小雨蛙;(3)臺灣的、史丹吉氏小雨蛙。此外,狹口蛙科之種間及種內皆已呈現高度的基因分化。

關鍵詞: 狹口蛙科、巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙、史丹吉氏小雨蛙、小雨蛙、生物地理、親緣關係

緒言

狹口蛙科(Microhylidae)早在中生代(Mesozoic)的侏羅紀(Jurassic)初期就已分布於Gondwanaland。到白堊紀(Cretaceous)時,因Gondwanaland板塊移動之故,狹口蛙科便廣泛分布於南美及非洲之溫暖潮溼的熱帶地區,並擴展至馬達加斯加島、印度及澳洲。第三紀(Tertiary)的中新世(Miocene)可能擴散至歐洲,在南美洲也有向外擴散的跡象,在新生代(Pliocene)時,各地的狹口蛙科皆向外輻射發展,而原生存於中非、印度、南美與澳洲的狹口蛙科不是勢微便是滅絕(Savage, 1973)。到目前狹口蛙科則分布於南美、北美、非洲的撒哈拉南部、東南亞、日韓、以及澳洲北部等地(Frost, 1985)。

根據Frost(1985)的分類,狹口蛙科共包含9個亞科而Parker將所有的新世界(New World)與大多數分布於亞洲地區的屬歸於Microhylinae亞科(Savage,

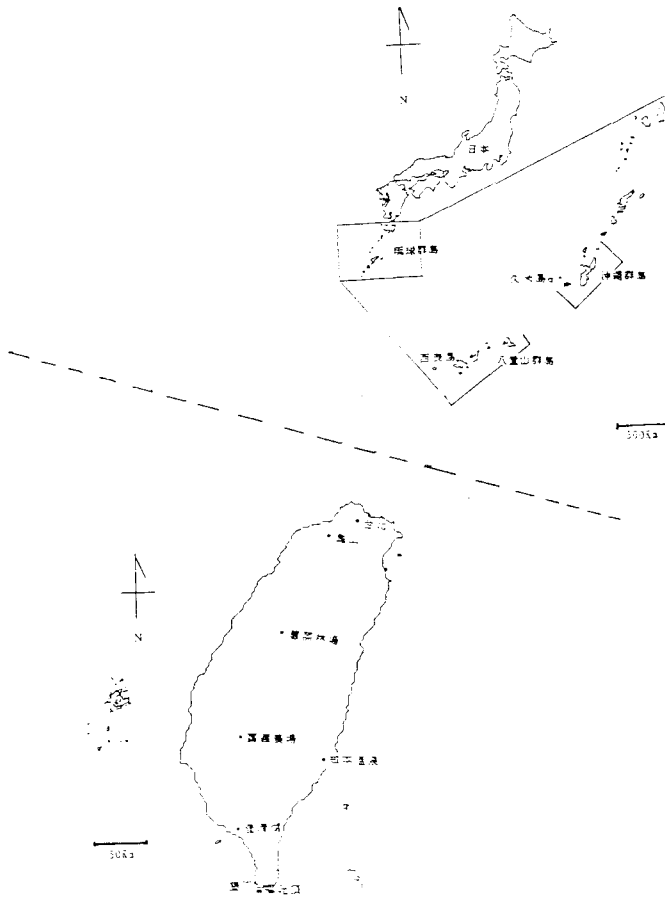
1973)。

姬蛙屬(*Microhyla*),為本科分布於中國與日本的四個屬之一,也是分布於臺灣及琉球唯一的屬,共有4個種,其為巴氏小雨蛙(*M. bulteri*)、黑蒙西氏小雨蛙(*M. heymonsi*)、史丹吉氏小雨蛙(*M. inornata*)和小雨蛙(*M. ornata*)(呂和賴, 1990; 田和江, 1986)。除了小雨蛙的分布遠達琉球群島外,其它三種在日本皆無分布(Parker, 1934)。

近年來研究狹口蛙科則仍處於染色體及外形等基本資料的收集(Zhao, 1989)。我們希望藉由同功異構酶的電泳這種普遍的生化技術所得的數據以瞭解分布於臺灣和日本的4種狹口蛙種間及種內的親緣關係(phylogeny)。

材料與方法

* 通信作者(corresponding author): 呂光洋(Kuang-Yang Luc); FAX: 886-2-9312904



圖一、臺灣及琉球群島採集狹口蛙科的地點。

Figure 1. Localities where specimens were collected from Taiwan and Ryukyus.

標本採集

1992年4月至1993年4月於臺灣北部的台北市及桃園縣龜山鄉，中部的南投縣蕙蓀林場，南部的嘉義縣嘉義農場、高雄市澄清湖、屏東縣墾丁國家公園與社頂，以及東部的臺東縣知本溫泉作為研究的地區。另外，也於日本琉球中部沖繩群島(Okinawa)的久米島(Kumejima Island)及南部八重山群島(Yaeyama)的西表島(Iriomotejima Island)進行採集工作(圖一)。每種每地區至少5隻，共採集數量見(表一)。

研究方法

將野外取得的樣本帶回實驗室取出肝臟及腿部的肌肉，以 0.1 M Tris-Citric pH 7.0 為萃取液，0.02M DL-histidine-HCl, pH 7.0 為緩衝液及 0.4M citric Acid,

表一、臺灣及琉球群島的採集地點與蛙種數量。

Table 1. Species and individuals collected from each locality in Taiwan and Ryukyu Islands.

蛙種	族群編號	採集地點	數量
小雨蛙	MO1	社頂	24
	MO2	墾丁	19
	MO3	澄清湖	5
	MO4	嘉義農場	3
	MO5	龜山	8
	MO6	台北	8
	MO7	西表島	18
	MO8	久米島	5
史丹吉氏 小雨蛙	MI9	墾丁	33
	MI10	嘉義農場	4
黑蒙西氏 小雨蛙		社頂	15
	MH11		
	MH12	墾丁	3
	MH13	嘉義農場	18
	MH14	蕙蓀林場	29
	MH15	知本溫泉	20
巴氏小雨蛙	MB16	嘉義農場	5

pH 7.0 溶液為電泳液進行澱粉膠的電泳實驗，並以組織化學的方法染色染色後以50%的甘油溶液為染色固定液。

測定的同功異構酶如下(Hills and Moritz, 1990)：

- (1) Aspartate aminotransferase (AAT);
- (2) Esterase (EST);
- (3) Glucose phosphate isomerase (GPI);
- (4) Isocitrate dehydrogenase (IDH);
- (5) Lactate dehydrogenase (LDH);
- (6) Malate dehydrogenase(MDH);
- (7) Phosphoglucumutase (PGM);
- (8) Phosphogluconate dehydrogenase (PGDH);
- (9) Superoxide dismutase (SOD);
- (10) Shikimate Dehydrogenase (SKDH)。

將電泳結果輸入 BIOSYS-1(Swofford and Selander, 1989)軟體中計算基因頻率、基因座的多態性、Fst推算種間及種內族群間的基因分化程度，(Wright, 1978)、計算Nei及Rogers的遺傳相似度(In、Ir)及遺傳距離(Dn、Dr) (Buth, 1984; Hillis and Moritz, 1990)。

表二、狹口蛙科種間、族群間之Fst值，與小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙、史丹吉氏小雨蛙種內之Fst值。

Table 2. Fst among 16 examined populations and among 3 species of Microhylidae (*M. ornata*, *M. heymonsi*, *M. inornata*)

基因座	種間	種之族群間			
		小雨蛙	黑蒙西氏小雨蛙	史丹吉氏小雨蛙	
AAT	.565	.339	.198	.095	.138
EST-1	.514	.826	.879	1.000	.086
EST-2	.218	.655	.731	.585	.440
EST-3	.189	.396	.211	.538	.214
EST-4	.302	.486	.443	.358	.068
EST-5	.408	.451	.315	.098	...
IDH-1	.602	.722396	.913
IDH-2	.544	.904	.795	.826	...
LDH	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
MDH-1	.095	.572	.697	.428	.093
MDH-2	.224	.423	.569	.185	.040
PGDH-1	.680	.784	.867	.419	.150
PGDH-2	.142	.301	.281	.300	.004
PGI	.466	.756	.906	.160	.334
PGM-1	.128	.453	.637	.218	.054
PGM-2	.308	.608	.572	.635	.013
PGM-3	.432	.356	.202	.140	.173
PGM-4	.304	.567	.626	.486	.112
SKDH-1	.291	.764	.916	.697	.120
SKDH-2	.283	.701	.866	.201	.519
SOD-1	.605	.878	.895	.462	...
SOD-2	.582	.827	1.000	.395	...
平均值	.404	.626	.648	.411	.221

再將 I、D 值以 UPGMA 的方法進行群集 (clustering)，推測親緣關係和地理分布的演變。並將遺傳距離和地理距離進行迴歸分析，檢視是否遺傳距離和地理距離否有相關。

結 果

同功異構酶的電泳結果顯示有22個基因座，每個基因座包含2或3個對偶基因(2.32 ± 0.48)。22個基

表三、四種小雨蛙種間的遺傳相似度及遺傳距離，右上：Rogers(1972)遺傳距離，Dr (遺傳相似度，Ir)；左下：Nei (1978) 遺傳距離Dn (遺傳相似度，In)

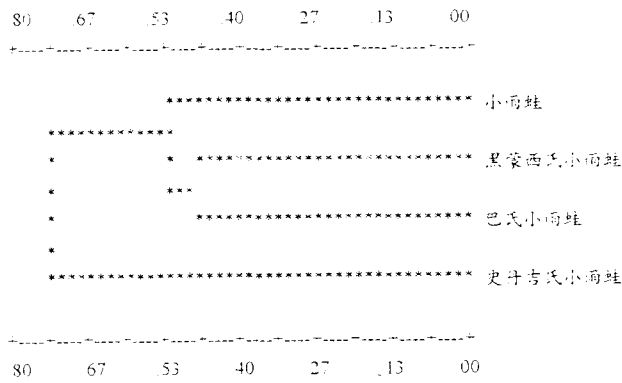
Table 3. Genetic similarity among 4 species of Microhylidae, based on Rogers' (1972) genetic distance, Dr (similarity, Ir) and Nei's genetic distance, Dn (similarity, In)

種 名	小雨蛙	史丹吉氏小雨蛙	黑蒙西氏小雨蛙	巴氏小雨蛙
小雨蛙	*****	.562 (.438)	.423 (.577)	.436 (.537)
史丹吉氏小雨蛙	.864 (.422)	*****	.463 (.537)	.570 (.430)
黑蒙西氏小雨蛙	.497 (.608)	.606 (.545)	*****	.424 (.576)
巴氏小雨蛙	.537 (.585)	.755 (.461)	.459 (.632)	*****

因座中，EST-3、EST-5、GPI、PGM-1、PGDH-1及PGDH-2等6個基因座為三個對偶基因，其餘的基因座皆為兩個對偶基因。

Wright(1978)曾指出Fst值可以判斷族群間的分化情形，當 Fst<0.05 時表示基因分化程度低，0.05<Fst<0.15表示分化中度，0.15<Fst<0.25則表示基因高度分化，而Fst>0.25為基因分化非常顯著。

四種小雨蛙種間的基因分化情形，除少數基因座為中度分化(MDH-1)與高度分化外(PGDH-2、PGM-1、MDH-2、EST-2及EST-3)，大部份的基因座皆已非常高度分化。總合起來，種間之所有同功異構酶的Fst 平均值(0.424)已有明顯的基因分化；黑蒙西氏小雨蛙族群間的基因分化情形，基因座呈現中度分化者(AAT、PGM-3及EST-5)及高度分化者(GPI、PGM-1、MDH-2、SKDH-2)較多，其餘的基因座皆已非常高度分化，因此種內分化顯著(Fst平均值=0.416)；小雨蛙族群間除少數的基因座為高度分化(AAT、PGM-3及EST-3)，其餘的基因座皆已非常高度分化，種內也已有明顯的分化(Fst平均值=0.649)；而嘉義農場和墾丁兩地的史丹吉氏小雨蛙只有少數的基因座為非常高度分化(GPI、IDH-1、SKDH-2及

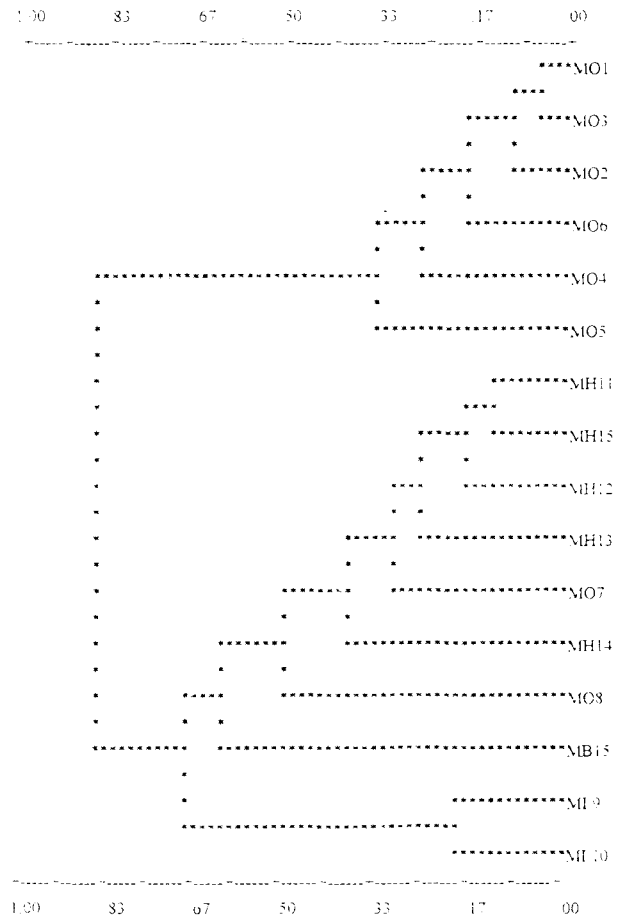


圖二、狹口蛙科種間的Nei氏遺傳距離群集圖。
 Figure 2. The phenogram among 4 microhylid species examined based on Nei's (1978) genetic distance.

EST-2)，其餘的基因座分化程度都較低，因此，嘉義農場和墾丁兩地亦有高度基因分化(Fst平均值=0.221)(表二)。

Dn的結果以巴氏小雨蛙和黑蒙西氏小雨蛙的遺傳距離最近(Dn=0.459)，黑蒙西氏小雨蛙和小雨蛙次之(Dn=0.497)，史丹吉氏小雨蛙和小雨蛙間的遺傳距離最遠(Dn=0.864)；但Dr計算結果顯示四種小雨蛙種間的遺傳相似度以小雨蛙和黑蒙西氏小雨蛙，遺傳距離最近(Dr=0.423)，黑蒙西氏小雨蛙和巴氏小雨蛙次之(Dr=0.424)，而史丹吉氏小雨蛙和巴氏小雨蛙仍是遺傳距離最遠(Dr=0.864)(表三)。

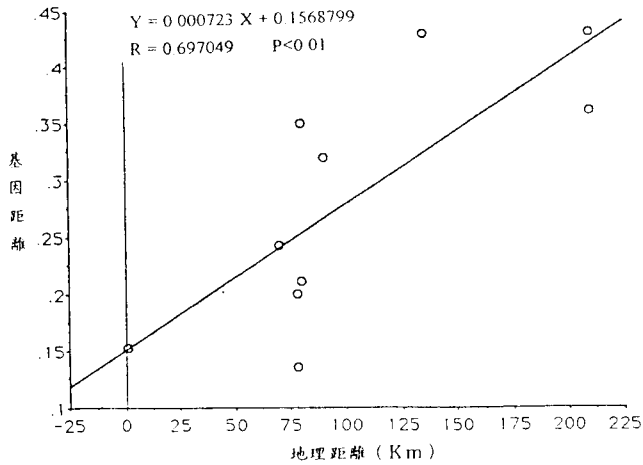
臺灣四種小雨蛙族群間的遺傳距離，基本上仍以種內較近。其中社頂和澄清湖的小雨蛙間的遺傳距離最近(Dn=0.046, Dr=0.314)，知本溫泉的黑蒙西氏小雨蛙和澄清湖的小雨蛙遺傳距離最遠(Dn=1.423, Dr=0.756)，但是琉球群島的久米島和西表島的小雨蛙與臺灣的小雨蛙之遺傳相似度不大，反而是與臺灣的黑蒙西氏小雨蛙有較高的遺傳相似度，遺傳距離較近；琉球與臺灣地區的小雨蛙間以久米島和西表島的小雨蛙間之遺傳相似度最高(In=0.577, Ir=0.557)，遺傳距離最近(Dn=0.549, Dr=0.443)，而久米島和西表島的小雨蛙和臺灣的黑蒙西氏小雨蛙(社頂與蔥蓀林場除外)的遺傳相似度更高(In皆高於0.581，



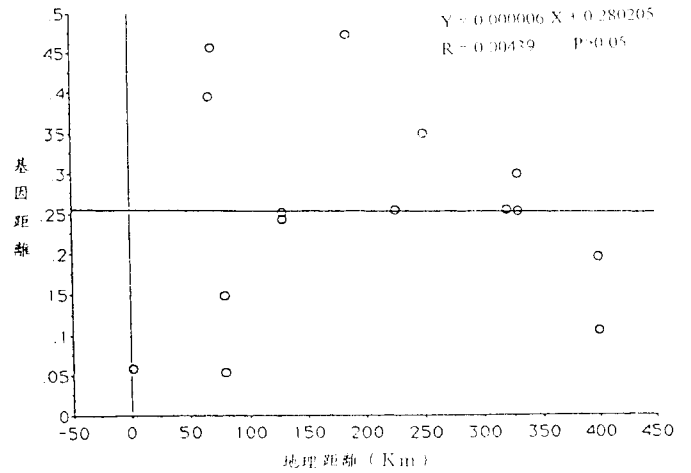
圖三、四種小雨蛙族群間的Nei氏遺傳距離群集圖。
 Figure 3. The phenogram among 16 populations of 4 species examined based on Nei's (1978) genetic distance.

Ir皆高於0.566)，遺傳距離更近(Dn皆小於0.543, Dr皆小於0.434)，其中又以西表島的小雨蛙和墾丁的黑蒙西氏小雨蛙遺傳相似度最高(In=0.796, Ir=0.686)，遺傳距離最近(Dn=0.229, Dr=0.314)；臺灣小雨蛙族群間的遺傳距離以社頂和墾丁最近(Dn=0.052, Dr=0.144)；嘉義農場和琉球西表島間的遺傳距離最遠(Dn=0.951, Dr=0.626)；黑蒙西氏小雨蛙族群間的遺傳距離以社頂和知本溫泉最近(Dn=0.135, Dr=0.234)；墾丁和蔥蓀林場間的遺傳距離最遠(Dn=0.431, Dr=0.413)。

以Dn及Dr進行群集(Clustering)的結果，基本上相同，只有種間的群集結果因Nei氏和Rogers氏的計算結果不同而有差異。



圖四、黑蒙西氏小雨蛙的地理距離(Km)和基因距離(Nei)的迴歸關係。
Figure 4. The regression between geographical distance (Km) and genetic distance (Nei) of *Microhyla heymonsi*.



圖五、小雨蛙的地理距離(Km)和基因距離(Nei)的迴歸關係。
Figure 5. The regression between geographical distance (Km) and genetic distance (Nei) of *Microhyla ornata*.

種間的群集結果，以Dn的計算結果顯示黑蒙西氏小雨蛙和巴氏小雨蛙屬於最近的一群，其次是小雨蛙，史丹吉氏小雨蛙最遠(圖二)。但以Dr的結果黑蒙西氏小雨蛙和小雨蛙屬於最近的一群，其次是巴氏小雨蛙，史丹吉氏小雨蛙最遠。

臺灣四種小雨蛙族群間Dn(圖三)和Dr的群集結果相同，臺灣地區的小雨蛙明顯的成爲一群，巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙、史丹吉氏小雨蛙和琉球群島之久米島、西表島的小雨蛙成爲另外一群；在巴氏、黑蒙西氏、史丹吉氏等小雨蛙的一群中史丹吉氏小雨蛙又成另一群，巴氏小雨蛙、琉球群島的小雨蛙和臺灣地區的黑蒙西氏小雨蛙爲另一群；在巴氏、黑蒙西氏和琉球小雨蛙的一群中，西表島的小雨蛙較蕙蓀林場的黑蒙西氏小雨蛙更接近臺灣其它地區的黑蒙西氏小雨蛙，久米島的小雨蛙則較巴氏小雨蛙更接近黑蒙西氏小雨蛙；黑蒙西氏小雨蛙族群間Nei氏和Rogers氏的群集結果相同，以社頂和知本溫泉最近，其次是墾丁，再其次是嘉義農場，蕙蓀林場最遠；小雨蛙分布間Nei氏和Rogers氏的群集結果相同，臺灣地區的小雨蛙明顯的成爲一群，其中以社頂和澄清湖最近，其次是墾丁，再其次是臺北，再其次是嘉義農場，龜山最遠；琉球的兩個小島的小雨蛙成另一群，但由於

遺傳相似度偏低(In=0.577, Dr=0.577)，可能是琉球群島的兩個群。

狹口蛙科的地理分布由上述的遺傳相似度、遺傳距離和群集的情形，臺灣的狹口蛙科種間差異以史丹吉氏小雨蛙和其它三種較大，琉球的小雨蛙和臺灣的小雨蛙因長期的地理分離，已有明顯的分化。

以臺灣的黑蒙西氏小雨蛙及小雨蛙的Dn和地理距離進行迴歸分析，發現黑蒙西氏小雨蛙在臺灣的地理分布主要分布於中南部和東部，其遺傳距離遠近和地理距離的遠近相關性較高(R=0.697, p<0.01, 圖四)。小雨蛙在臺灣爲泛島性分部，往北分布至琉球群島，但分布於臺灣的小雨蛙之遺傳距離遠近與地理距離遠近無明顯相關(R=0.004, p>0.05, 圖五)。

討 論

一、電泳結果

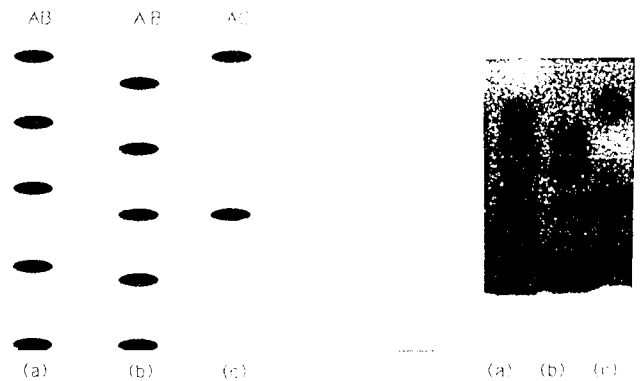
酵素具有保持基因變化的潛力(Rollinson, 1980)當基因發生突變便可能造成爲酵素的變異，這些變異是子代演化的來源(Scandalios, 1975)，故可利用電泳探討酵素分化，以瞭解血緣關係。10種同功異構酶電

泳的結果顯示狹口蛙科種間及種內的酵素分化皆已經非常明顯(大部份的Fst值大於0.25)，其中LDH圖譜差異更是極為明顯(Fst=1.0)，巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙和琉球群島之西表島的小雨蛙是基因型A'B；其餘的小雨蛙是AB；史丹吉氏小雨蛙為另外的AC(圖六)。對此現象，Salthe(1969)在探討*Rana pipiens*及*R. palustris*的LDH之地理變異時，曾提出*R. pipiens*之LDH有顯著的地理變異。因此，即使不能以LDH作為狹口蛙科演化上的依據，至少測試的四種小雨蛙之LDH有如此顯著的不同，不僅表示臺灣與琉球的小雨蛙有極明顯的地理變異，也表示四種小雨蛙已有極大的分化。在未來推測姬蛙屬之親緣關係時，LDH應是一個重要的線索。

有些物種的酵素蛋白在進行電泳後，所得的結果會有很大的差異，可能種間比種內族群間的差異小，即相同的外形，酵素蛋白的差異卻極大，或外形雖然不同，但酵素蛋白卻無太大的差異(Rollinson, 1980)。故即使臺灣的黑蒙西氏小雨蛙和琉球群島的小雨蛙在外型上有種間的差異，在酵素蛋白上卻有相似的情形。

二、遺傳距離

將電泳結果轉換為基因頻率後，再計算遺傳相似度及遺傳距離有許多不同的方程式，但一般最常用的仍是Nei氏與Rogers氏(Hillis and Moritz, 1990; Buth, 1884)，雖然Farris批評Nei的方法在推測親緣關係時缺乏演化轉變的說明(Hillis and Moritz, 1990)，但是，Nei(1978)認為其計算方式適用於任何取樣大小，因此大部份的文獻仍然沿用；Rogers的方法則被認為是較便利且具有數學基礎的說明。雖然，Nei及Rogers的方法都容易受到分類群間取樣數量之異基因合子多寡的影響而有誤差(Hillis and Moritz, 1990)，是指當取樣個體的異基因合子偏高(超過0.1)時，便需更大的取樣數，但在推論親緣關係時測試的基因座數量遠較取樣大小更重要。實驗結果顯示，在Nei氏和Rogers氏計算結果中，僅在巴氏小雨蛙、黑蒙西氏小雨蛙和小雨蛙三種間有些不同，其它的計算結果顯示



圖六、LDH之基因分析圖(對偶基因包括A、A'、B及C)(a)為臺灣地區小雨蛙的電泳結果。(b)為臺灣地區巴氏小雨蛙、黑蒙氏小雨蛙及琉球群島之久米島與西表島的小雨蛙的電泳結果。(c)為臺灣地區史丹吉氏小雨蛙的電泳結果。

Figure 6. The electrophoresis of LDH (allelic genes include A, A', B, and C) from various species. (a) *Microhyla ornata* (Taiwan) (b) *M. bulteri*, *M. heymonsi* (Taiwan), *M. ornata* (Ryukyus) (c) *M. inornata* (Taiwan).

Rogers的值小於Nei的值，但親緣關係的分析則相同。

臺灣與琉球群島兩地的狹口蛙科種間的In值皆高於0.4，黑蒙西氏小雨蛙、巴氏小雨蛙和小雨蛙三種種間的In值更高達0.6以上(表三)，相當符合Thorpe(1982)所指出：屬間的In約小於0.35，種間的In值則大於0.35而小於0.85，種內的In值則是大於0.85而小於0.95。但臺灣與琉球群島兩地的四種小雨蛙之地區間及種內差異情形則不然(黑蒙西氏小雨蛙種內的In為0.650到0.858，較接近種間的幅度；小雨蛙種內的In為0.386到0.955，臺灣本島種內的In較高(0.639到0.955)，而琉球群島與臺灣族群間的In皆偏低(0.386到0.596)，已是種間甚至是屬間的幅度；琉球群島的久米島和西表島的小雨蛙之間的In(=0.577)則已為種間的分別；四種小雨蛙區域間則以史丹吉氏小雨蛙和臺灣的小雨蛙的In最低(0.249到0.386)，且已

達屬間的幅度。

Awise and Smith(1977)探討Centrarchidae魚的9個屬、20個種及 *L. m. macrochirus*、*L. m. purpurescens* 兩個亞種的10個族群間演化分化的情形時發現，族群在地理分化之Dn值約為0.024，亞種之Dn為0.171，種間之Dn為0.626，這與Hedgecock and Ayala(1974)對蝾螈科*Taricha*與*Notophthalmus*兩個屬的分析情形相近(族群間約為0.017，亞種間約為0.181，種間約為0.296)，而臺灣狹口蛙科種間遺傳距離的分布情形則界於其間。臺灣的小雨蛙種內的遺傳距離顯示，除了墾丁與社頂(D=0.052)及社頂與澄清湖(D=0.046)的遺傳距離接近族群間的現象外，其餘族群間則近乎亞種的程度(D=0.141--0.447)；臺灣的黑蒙西氏小雨蛙種內的遺傳距離則顯示皆趨於亞種或種間的程度(墾丁與社頂的族群間最近，D=0.153；蕙蓀林場與墾丁的族群間為D=0.431、蕙蓀林場與知本溫泉的族群間為D=0.429兩者最遠)；臺灣的史丹吉氏小雨蛙只有兩個族群：墾丁與嘉義農場，其遺傳距離已接達亞種的程度(D=0.193)；琉球群島的小雨蛙有兩個族群：久米島和西表島，其遺傳距離已達於種間的程度(D=0.549)。由此可知，臺灣的黑蒙西氏小雨蛙及琉球群島的小雨蛙在演化上應有相當大的歧異程度，而琉球群島的小雨蛙族群間分子演化的現象更是明顯，在群集的結果應是分屬兩個群。另外由基因頻率求得的Fst值，可以說明族群間基因交流(gene flow)的情形以及基因分化程度的大小(Wright, 1978)。分析結果顯示臺灣的小雨蛙、琉球群島的小雨蛙及臺灣的黑蒙西氏小雨蛙、不論是種間或種內，其基因皆已高度分化(Fst平均值>0.25)，臺灣的史丹吉氏小雨蛙基因分化的情形亦頗為明顯(Fst平均值=0.221)；而LDH(Fst=1.0)與SOD-2(Fst=1.0)顯示臺灣的小雨蛙和琉球群島的小雨蛙有顯著的地理變異，EST-1(Fst=1.0)顯示臺灣的黑蒙西氏小雨蛙族群間亦有顯著的地理變異，臺灣的史丹吉氏小雨蛙PGM的Fst也達到0.913的程度，這種高度的基因分化情形，可能是地理隔離造成區域性的適應結果(Futuyma, 1986)。

這些與Thorpe(1982)、Awise and Smith(1977)、

Hedgecock and Ayala(1974)結論不符的結果，可能是來自基因座取樣數小的誤差，雖然除了嘉義農場、蕙蓀林場、知本溫泉的黑蒙西氏小雨蛙，墾丁的史丹吉氏小雨蛙，墾丁、社頂、琉球西表島的小雨蛙外，其它地區的取樣數都較少，但取樣大小通常影響的是族群遺傳的訊息，而對分類或親緣關係等探討的結論則較無影響，因為Gorman and Renzi(1979)利用22種蜥蜴探討取樣大小對遺傳距離的影響，發現基因座的多寡對估算遺傳距離的影響比取樣個體的多寡更大，Nei(1978)也同意此種看法，但當取樣族群的異基因合子偏低時，則需更大的取樣數，亦即探討目前族群內的基因結構時，取樣大小是造成誤差的關鍵；而在親緣關係方面，乃一長時間基因結構變化的累積，因此基因座測定的數量多寡可以反應變化累積的程度。

演化生物學家認為酵素蛋白的電泳結果有差異是來自遺傳的變異(Hillis and Moritz, 1990)，而對造成酵素蛋白差異的遺傳變異有兩種不同的假說：中性假說(neutral hypothesis)--認為大部份的變異與生理適應無關，而是隨機變異的結果，於自然中與選汰無關(Kimura, 1968; Nevo, 1983)；另一種為天擇假說(selection hypothesis)--主張變異是天擇(natural selection)的結果(Lewontin, 1973)。由於臺灣島的地型起伏劇烈，南北氣候又不同：北部夏冬溫差較大，冬季又受東北季風影響，常有寒流出現；南部溫度較高，沒有明顯的冬季，且東部及南臺灣半島每年夏季常受颱風侵襲，因此棲地的不同造成臺灣四種小雨蛙種間及種內皆有高度的基因分化(Fst平均值>0.25)，黑蒙西氏小雨蛙的族群間之遺傳距離與地理距離有相關(R=0.697)顯示儘管相同生態背景的物種或族群，在經適應與演化後，會具有相似的遺傳歧異(genetic diversity)之特質，但種間及種內常因適應不同環境(Nevo, 1983)，而在酵素蛋白的層次有非隨機的變異，顯示基因分化與環境有部份相關，亦即天擇扮演某種程度的角色，並由於地理差異的選汰效應所造成(Varvio-Aho, 1983)。對在臺灣分布為泛島性的小雨蛙而言，南北的族群若受選汰效應的影響，應有明顯的差異，但群集及以遺傳距離及地理距離的迴歸分析

結果顯示小雨蛙南北族群並無明顯差異($R=0.004$)，故臺灣的小雨蛙之醇素變異可能是區域的選汰效應(Huang, 1992)，或雖與棲地有高度相關，但基因座在地域上的分布是隨機的變化(Hamrick and Allard, 1972)，但需作詳細的棲地分析才能有進一步的推論。

三、親緣關係

群集的原則是區分“甲是和乙較接近，還是和丙較接近”，並將較接近的一群集結且區分開來(Williams, 1971)，以推測親緣關係。由於使用UPGMA對Nei氏的遺傳係數進行群集是建立於生物物種之演化速率一致的假設(Buth, 1984)，故此次實驗使用UPGMA對Nei氏的計算結果進行分析。另外，以Rogers的計算結果進行UPGMA的群集分析，也顯示與Nei氏的群集分析有相同的情形(除種間的群集分析因Rogers和Nei的計算結果不同而有差異外)。

由遺傳距離進行群集的結果顯示，琉球群島的小雨蛙和臺灣的黑蒙西氏小雨蛙親緣關係較近，反而與臺灣的小雨蛙親緣關係較遠，這與Nishioka(1987)等人研究日本的三個樹蛙屬(*Buergeria*、*Rhacophorus*和*Polypedates*)和臺灣的台北樹蛙(*Rh. taipeianus*)的情形相類似，發現台北樹蛙和日本同屬的遺傳距離相近，其和日本*Rh. viridis*的兩個亞種*Rh. v. viridis*、*Rh. v. amamiensis*的遺傳距離較近，*Rh. v. owstoni*與*Rh. viridis*兩個亞種的遺傳距離反而較遠，但僅依電泳的結果顯示差異較大。故雖然親緣關係的分析結果顯示臺灣的黑蒙西氏小雨蛙和琉球小雨蛙的遺傳距離較近，也僅表示其電泳差異較小，若要確定臺灣的黑蒙西氏小雨蛙和臺灣及琉球的小雨蛙之間的演化關係，則需要更大的取樣數、測定更多的同功異構酶(Hillis and Moritz, 1990)，以及進一步的形態及生態分析加以說明。

四、型態

雖然電泳的技術已廣泛地運用於演化上的許多研究，但醇素蛋白在研究親緣關係方面的效力是種或

相近屬的層次(Hillis and Moritz, 1990)，所以，需要整合外形、生態、行為和染色體的相關資料才足以推測生物地理的關係。

Zhao(1989)曾比較臺灣和雲南的史丹吉氏小雨蛙，發現雖然兩地史丹吉氏小雨蛙背部的花紋相似，但外型已有很大的差異：臺灣史丹吉氏小雨蛙的指長順序為III>IV>II>I，雲南史丹吉氏小雨蛙的指長順序則為III>IV>I>II；臺灣史丹吉氏小雨蛙的趾基部有蹼；雲南史丹吉氏小雨蛙的趾則無蹼。這些外型的差異顯示，史丹吉氏小雨蛙在雲南與臺灣兩地已有地域間的分化，有待進一步的生化分析與數值分析推測演化的關係。

誌 謝

本研究部份經費來自國科會NSC 84FA03B21 支持。

參 考 文 獻

- Awise, J. C. and M. H. Smith. 1977. Gene frequency comparisons between sunfish (*Centrarchidae*) populations at various stages of evolutionary divergence. *Syst. Zool.* 26: 319-335.
- Buth, D. G. 1984. The application of electrophoretic data in systematic studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 501-522.
- Frost, D. R. (ed.) 1985. Amphibian species of the world: A taxonomic and geographical reference. The Association of Systematic Collections, Lawrence, Kansas, U.S.A. pp. 375-395.
- Futuyma, D. J. 1986. *Evolutionary Biology*. Sinauer Assoc. Sunderland, Massachusetts.
- Gorman, G. C. and J. Renzi, Jr. 1979. Genetic distance and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: effects of sample size. *Copeia* 2: 242-249.
- Hedges, S. B. 1989. Evolution and biogeography of West Indian frogs of the genus *Eleutherodactylus*: slow-evolving loci and the major group. pp.: 305-370. In Woods, C.(ed.) "Biogeography of the West Indies: Past, Present, and Future." Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida.
- Highton, R. and T. P. Webster. 1976. *Geographic*

- protein variation and divergence in populations of the salamander *Plethodon cinereus*. *Evolution* 30: 33-45.
- Highton, T. 1977. Comparison of microgeographic variation in morphological and electrophoretic trait. *Evol. Biol.* 10: 397-463.
- Hillis, D. M. and C. Moritz. 1990. Molecular systematic. Sinauer Associates. InC. Publishers. Sunderland, Massachusetts. U.S.A.
- Huang, S. 1992. Pattern of genetic variation in northern red oak (*Quercus Rubra* L.) population in midwestern United States. Ph.D. requirement of the University of Missouri St. Louis.
- Kimura, M. 1968. Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nearly neutral isoalles. *Genet. Res.* 11: 247-269.
- Lewontin, R. C. 1973. Population genetics. *Ann. Rev. Genet.* 7: 1-17.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nevo, E. 1983. Adaptive significance of protein variation. pp.: 239-282. In G. S. Oxford. and D. Rollinson(ed.) "Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic Significance." Academic Press Inc., London.
- Nishioka, M., M. Sumida, S. Ohta and H. Suzuki 1987. Speciation of three allied genera, *Buergeria*, *Rhacophorus* and *Polypedates*, elucidated by the method of eletrophoresis analyses. *Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. Hiroshima Univ.*
- Parker, H. W. 1934. A monograph of the frog of the Family *Microhylidae*. The British Museum. London. pp.: 123-150.
- Rogers, J. S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. pp.: 145-154. In M. R. Wheeler (ed.) "Study in Genetics VII." The University of Texas. Austin.
- Rollinson, D. 1980. Enzymes as a taxonomic tool: a zoologist's view. pp.: 124-166. In F. A. Bisby., J. G. Vaughan and C. A. Wright. (ed.) "Chemo-systematics: Principle and Practice." Academic Press Inc. London.
- Salthe, S. N. 1969. Geographic variation of the lactate dehydrogenate of *Rana pipiens* and *Rana palustris*. *Biochem. Genet.* 2: 271-303.
- Savage, J. M. 1973. The geographic distribution of frogs: patterns and predictions. pp.: 351-445. In J. L. Vial.(ed.) "Evolutionary Biology of the Anurans"--Contemporary Research on Major Problem. University of Missouri Press. Columbia.
- Scandalios, J. G. 1975. Genes, isozyme, and evolution. pp.: 1-26. In C. L. Markert. (ed.) "Isozyme IV--Genetic and Evolution." Academic Press. Inc. New York.
- Swofford, D. L. and R. B. Selander. 1989. Biosys-1. University of Illinois Urbana-Champaign.
- Thrope, J. P. 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13: 139-168.
- Varvio-Aho, S. -L. 1983. Genetic variation in relation to dispersal efficiency. pp.: 325-339. In G. S. Oxford. and D. Rollinson(ed.) "Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic Significance." Academic Press Inc. London.
- Williams, W. T. 1971. Principles of clustering. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 2: 303-326.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetic of populations, vol. 4. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press. Chicago.
- Zhao, E. 1989. *Microhyla inornata* Boulenger, 1890 found in mainland China, with its karyotypic report. *Current Herpetology in East Asia*: 168-173
- 田婉淑和江耀明 1986 · 中國兩棲爬行動物鑑定手冊，科學出版社，66頁。
- 李春生 1989 · 臺灣與大陸的地理淵源，臺灣動物地理淵源研討專集，台北市立動物園保育組，台北，1-10頁。
- 呂光洋和賴俊祥 1990 · 臺灣的兩棲動物，臺灣省政府教育廳，58-67頁。

(接受日期：1996. 5. 15)

Preliminary Study on Biogeography and Phylogeny of Microhylidae between Taiwan and Ryukyu Islands

Bo-Chi G. Lai, Kuang-Yang Lue, Wu-Fu Tong
Department of Biology, National Taiwan Normal University
Taipei, Taiwan 117, Republic of China

ABSTRACT

Four species of *Microhylidae* distributed in Far East (Taiwan and Ryukyu Is.) were compared by horizontal starch gel electrophoresis. Electrophoretic patterns of 22 locus for 10 enzymes extracted from the skeletal muscle and liver were analyzed in 223 frogs, of 16 populations including one of *M. bulteri*, five of *M. heymonsi*, two of *M. inornata* and eight of *M. ornata*. Results indicated that *M. bulteri*, *M. heymonsi* and *M. ornata* were closely related in genetic. While *M. inornata* was far away from these three species. These 16 populations of four species were divided into three groups by the result from UPGMA of genetic distance: (1) *M. ornata* in Taiwan. (2) *M. bulteri*, *M. heymonsi* in Taiwan and *M. ornata* in Ryukyu Is. (3) *M. inornata* in Taiwan. Moreover, the level of interspecific and intrapopulation genetic differentiations seemed to be very high.

Key words: Microhylidae, *Microhyla bulteri*, *Microhyla heymonsi*, *Microhyla inornata*, *Microhyla ornata*, Biogeography, Phylogeny.