

## 材料與方法

### 一、實驗動物的形態與分佈

本實驗所採用的蛇種為菊池氏龜殼花 (*Trimeresurus gracilis* Oshima 1920)，分類上屬於爬行綱 (Repetilia)、有鱗目 (Squamata)、蛇亞目 (Serpentes)、蝮蛇科 (*Viperidae*)、響尾蛇亞科 (*Crotalinae*)、龜殼花屬 (*Trimeresurus*)。

菊池氏龜殼花，又稱台灣烙鐵頭，英文俗名為 Taiwan mountain pit viper，中國大陸又稱為台灣竹葉青，是台灣特有種小型毒蛇，具出血毒，最大全長約 60 公分，頭部成三角形且成暗褐色，眼下有一上下鑲黃邊的黑色縱帶經口角延伸至頸部，其體色變化多樣，具方形斑塊，從棕灰到紫褐色皆有發現。中段體鱗 19-21 列，其外型特徵似阿里山龜殼花 (*Trimeresurus makazayazaya*)，但阿里山龜殼花體鱗數較多，為 23-27 列 (Keegan and Matsui 1964, 趙等 1998)。菊池氏龜殼花分佈在台灣高海拔地區，曾在鞍馬山、有勝溪、南湖溪、中央間溪、雲稜山莊、畢祿山、大禹嶺、合歡山、奇萊山、南投仁愛、天池、對觀、觀高、八通關、玉山、阿里山、南橫天池、啞口、庫哈諾辛山、進逕橋、觀霧一帶等地發現。多棲息於箭竹草原或山徑附近的碎石堆內，以小型哺乳動物、蜥蜴、兩棲類為食；胎生，於春夏交配，夏末至秋季生產，每窩產 2-8 條仔蛇 (Keegan and Matsui 1964, Wang and Wang 1956, 呂等 1989, 李和呂 1996, 趙等 1998, 呂等 2002, 杜 2004)。

### 二、實驗動物的採集和飼養

從 2002 年 8 月到 2005 年 5 月，分別在宜蘭縣的太平山地區 (翠峰林道)、花蓮與台中縣交界的思源埡口地區 (710 林道)、花蓮縣的合歡山地區 (中橫大禹嶺-合歡山沿線)、南投縣的塔塔加地區、台東縣及高雄縣的南橫地區 (南橫檜谷-向陽沿線地區)、台中縣的大雪山地區 (230 林道) 等中高海拔山區 (見附錄一)，在公路或林道沿線，搜尋石頭下或正在野外活動的菊池氏龜殼花。蛇捕捉之後以

性別辨識棒 (sex probe) 辨認性別，並測量其吻肛長 (snout-vent length)、尾長 (tail length)、頭長 (head-length)、頭寬 (head width) 及體重 (weight)。

菊池氏龜殼花個體分別飼養在透明壓克力飼養箱內 (成體的箱子大小為 27\*18\*16 cm，幼體的箱子為 20\*17\*11 cm)，箱內鋪以木屑為底質，並提供飲水及躲藏之瓦片；飼養溫度為 20~25°C，光週期 (12 光：12 暗)。實驗結束後每兩週餵食小白鼠或蛙類，並在冬季前野放回原採集地。

### 三、研究方法

#### (一) 食性

##### 1. 室內餵養法

分別測試菊池氏龜殼花成蛇 (N = 8)，及新生幼蛇 (N = 11) 是否會捕食小型哺乳類、蜥蜴類、兩生類、環節動物、節肢動物、軟體動物等六類食物，所測試的食物分別是小白鼠 (*Mus musculus*)、台灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*)、日本樹蛙 (*Buergeria japonicus*)、紅蚯蚓 (*perionyx excavatus*)、台灣大蟋蟀 (*Brachytrupes Portentosus*)、雙線蛞蝓 (*Philomycus bilineata*)。成蛇從野外採集回來，不予以餵食，至第 30 天後進行測試，幼蛇則是在實驗室剛出生且無攝食經驗的個體，並於出生後第 20 天進行測試。每次測試時隨機放入一種食物，並記錄菊池氏龜殼花是否有捕食獵物，若有捕食則等待同一個體飢餓，即成蛇等待 30 天，幼蛇等待 20 天後，再繼續測試下一獵物，若三天內未捕食則換另一種食物，待測試完六種食物即停止實驗；實驗溫度為 23-26°C。

##### 2. 胃內含物分析

###### (1) 消化道解剖法

蒐集野外死亡個體 (N = 5) 或博物館標本 (N = 4)，沿腹腔剪開標本並檢視消化道，將取出之獵物或排遺浸泡在 75% 的酒精裡，以進一步辨識種類。

###### (2) 催吐法

將野外剛採集到的菊池氏龜殼花 (N = 143)，予以擠壓其胃部，使之吐出獵物，並將獵物浸泡在 75% 的酒精裡，以進一步辨識種類。

消化道解剖及催吐法取出之獵物皆測量其重量，並視完整性測量以下形值，若為小型哺乳類則測量其體重、頭寬、耳長、吻肛長、尾長及後足長，蜥蜴類則測量體重、腰帶寬、尾長及後足長，山椒魚類則測量其體重、頭長、頭寬、腰帶寬、尾長及後足長等形值。

### 3. 排遺分析

野外採集到的菊池氏龜殼花 (N = 159)，於實驗室飼養約一個月且不給予食物，待其排便後，蒐集新鮮排遺並浸泡在 75% 的酒精裡，此外，用消化道解剖法檢查後的個體若有排遺也併入分析。使用複式光學顯微鏡或解剖顯微鏡觀察排遺中較不易被消化的毛髮、牙齒、鱗片、基丁質碎片等，以辨識物種。

以毛髓形態將排遺中的小型哺乳類毛髮辨別至“目”的分類階層 (侯 1996, Teerink 1991)；排遺中齧齒目的齒則參考自然科學博物館標本及 Aoki (1941) 的文獻加以辨識，食蟲目的齒則請嘉義大學生物資源系方引平老師鑑定。蜥蜴鱗片鑑定則蒐集雪山草蜥、台灣蜓蜥、麗紋石龍子被蛇消化後餘留的鱗片，製作一檢索表 (表二，圖版一~三)，以辨識之。

食性分析當中會記錄每隻蛇胃內出現的獵物數量，及獵物由頭或尾部被吃的比例，當攝食內溫動物的蛇其體長明顯大於攝食外溫動物的蛇，就認為有食性轉變 (Rodriguez-Robles et al. 1999b)。我另以生態區位重疊度 (niche overlap) (Pianka 1973) 的計算方式，來瞭解成體與幼體食性的重疊程度，重疊度指標值由 0~1，0 表示沒有重疊，1 表示完全重疊，此重疊性指標已被其他蛇類及小型哺乳類的研究廣泛使用 (Churchfield 1994, Green et al. 1994, Luiselli 1996, Lee 1997)；以出現頻度百分比 (percentage of occurrence frequency) 表示某獵物在蛇的食性中的普遍性；以體重比 (mass ratio) 來瞭解獵物佔蛇的相對重量及大小 (Greene 1983, Pough and Grove 1983)，由於獵物會被部分消化而低估其重量，因此我從自然科學博物館或野外捕捉個體蒐集各種獵物的完整形值資料(每種獵物

≥ 17 筆資料), 使用簡單線性迴歸 (simple linear regression) 去推估獵物之原本體重 (Perrin and Bodbjil 2001), 各形值為X變項, 體重為Y變項, 我會找出一最能預測體重的形值變項, 若此形值用來解釋體重的變異程度太低 ( $R^2 < 0.7$ ), 就採用比較保守的估計值, 以 95% 平均值的信賴區間中之最低值, 作為牠們的估計體重。

各指標計算方式如下:

$$(1) \text{ 生態區位重疊度: } Oab = \frac{\sum PiaPib}{\sqrt{\sum Pia^2 \sum Pib^2}}$$

(Oab = a 與 b 互相重疊的程度, Pia = a 類群使用 i 資源比例, Pib = b 類群使用 i 資源比例)

(2) 出現頻度百分比:  $(ni/N) * 100\%$

(ni: 獵物 i 的數目, N 獵物總數)

(3) 體重比: 獵物的重量/蛇的重量。

## (二) 菊池氏龜殼花對獵物氣味偏好之行為

### 1. 以棉花棒測試法檢驗菊池氏龜殼花新生幼蛇是否會辨別獵物氣味

使用棉花棒測試法檢視新生幼蛇 ( $N = 19$ , clutch size = 5) 對台灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*)、雙線蛞蝓 (*Philomycus bilineata*) 及對照組的反應, 其中台灣蜓蜥為菊池氏龜殼花幼蛇的天然獵物, 雙線蛞蝓則是不與其共域的非獵物物種。每次測試前用固定方式將棉花棒塗抹上述動物的全身以沾取氣味 (Cooper 1998b), 並且在 2 分鐘內完成測試, 每種測試氣味至少間隔 2 小時, 測試的獵物氣味順序為隨機決定, 實驗溫度為 23-26°C, 測試時間為 07:30~19:00, 新生幼蛇是剛出生尚未進食 15~20 天的個體。我將沾有氣味之棉花棒固定在支架上以防止震動或擺動, 並擺在待測動物吻端前 1 公分處, 以攝影機 (Sony TRV-38 或 TRV-900) 記錄此蛇在 60 秒內的吐信或攻擊行為, 若蛇在 30 秒時仍

無反應，則用棉花棒輕碰觸其吻端，再持續記錄其行為。蛇將舌頭伸出，上下擺動後縮回稱為吐信一次 (Ulinski 1972)，我計算蛇信頻率 (Tongue-Flicking Rate or TFR) 或蛇信攻擊分數 (Tongue-Flicking Attack Score or TFAS) 表示蛇對獵物氣味的反應強度 (Cooper and Burdhardt 1990)；蛇信頻率是蛇未攻擊棉花棒時在 60 秒內的吐信次數，而蛇信攻擊分數是當蛇有攻擊棉花棒時的計算法，即  $TFAS = (60 \text{ 秒} - \text{蛇延遲攻擊的秒數}) + (\text{每次實驗中最高的 TFR 值})$ 。

## 2. 以棉花棒測試法檢驗新生幼蛇對獵物氣味的偏好

使用棉花棒測試法檢視新生幼蛇 ( $N = 51$ , clutch size = 12) 對七種獵物氣味的反應，獵物氣味分別為台灣森鼠 (*Apodemus semotus*)、台灣長尾鼯 (*Soriculus fumidus*) 梭德氏赤蛙 (*Rana sauteri*)、阿里山山椒魚 (*Hynobius arisanensis*)、雪山草蜥 (*Takydromus hsueshanensis*)、台灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*) 和麗紋石龍子 (*Eumeces elegans*)，這些獵物都是蛇胃內含物已鑑定的種類或與蛇共域的生物種，對照組則是沒有任何氣味之棉花棒，新生幼蛇是剛出生尚未進食 15~20 天的個體。實驗方法及計分方式如同上述。

## 3. 靜止與擺動棉花棒測試法的比較

分別用靜止與擺動的棉花棒測試菊池氏龜殼花新生幼蛇 ( $N = 12$ ) 及成蛇 ( $N = 17$ ) 及對二種氣味的反應；實驗中所使用的獵物氣味分別是台灣森鼠 (*Apodemus semotus*) 及台灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*)，這兩者都是其胃內含物已發現的種類，對照組則是沒有任何氣味之棉花棒。幼蛇與成蛇所使用的棉花棒大小不同 (Cooper 1998a)；新生幼蛇是剛出生尚未進食 15~20 天的個體，成蛇則是從野外採集回來飼養半年內的個體，在測試前先停止進食 30~35 天。靜止的棉花棒測試法是將棉花棒固定在支架上以防止震動或擺動，類似前人所用的棉花棒測試法；擺動的棉花棒則是手持棉花棒，放在蛇吻端 1 公分前，以每秒兩次的擺動頻率及與頭寬相等的振幅擺動。其它實驗狀態及計分方式則如同上述。

## 4. 菊池氏龜殼花成蛇、亞成蛇及新生幼蛇對獵物氣味的偏好

使用動態棉花棒測試法分別檢驗新生幼蛇 (N = 22, clutch size = 4)、亞成蛇 (N = 14) 與成蛇 (N = 53) 對七種獵物氣味的反應，獵物氣味分別為台灣森鼠 (*Apodemus semotus*)、台灣長尾鼩 (*Soriculus fumidus*) 梭德氏赤蛙 (*Rana sauteri*)、阿里山山椒魚 (*Hynobius arisanensis*)、雪山草蜥 (*Takydromus hsueshanensis*)、台灣蜓蜥 (*Sphenomorphus taiwanensis*) 和麗紋石龍子 (*Eumeces elegans*)，這些獵物都是蛇胃內含物已鑑定的種類或與蛇共域的物種，對照組則是沒有任何氣味之棉花棒，進行測試的新生幼蛇是剛出生尚未進食 15~20 天的個體，亞成蛇及成蛇則是剛從野外採集回來的個體，在測試前先停止進食 30~35 天。實驗方法及計分方式如同上述。

實驗分析中，將菊池氏龜殼花分為性成熟個體或成體 (adult)、一年以上到性成熟間的亞成體 (subadult) 及一年內的幼體 (juvenile) 三種年齡層，皆以吻肛長判定之，雌性吻肛長大於 37 公分，雄性大於 30 公分為成體，小於 22 公分為一年內的幼體，介於兩者間為亞成體 (表三)(實驗室累積資料)。

#### 四、實驗設計與統計分析

所有的資料以 JMP 5.01 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) 套裝統計軟體分析，以 SigmaPlot 9.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 繪圖。食性分析中，使用費氏精確檢測法 (Fisher's exact test) 檢驗室內餵養法、胃內含物分析及排遺分析中成蛇與幼蛇的差異、成體及幼體含有獵物比例的差異及雌雄個體的胃內含物與排遺在嚙齒目、食蟲目的比例是否有差異；以 Kruskal-Wallis test 檢測胃內含物分析中攝食不同類型獵物的個體其吻肛長之差異；以 T-test 檢測排遺中有小型哺乳類及蜥蜴類之個體吻肛長的差異，與雌雄蛇的體重和吻肛長之差異；以 One-factor ANCOVA 檢測雌雄蛇的頭長、頭寬及尾長之差異；以卡方檢定 (Pearson chi-square test) 並使用葉氏校正 (Yate's correction) 分析獵物由頭部或尾部被消化之比例是否有不同。使用簡單線性迴歸 (Simple linear regression) 預測胃內含物中各類獵物的原始重量；檢測相關性有無達顯著時均使用 Spearman rank correlation。使用邏輯斯迴歸 (Logistic regression) 分別檢驗頭長及性別是否會影響成體攝食不同哺乳類。

靜態棉花棒與動態棉花棒的比較，採用 ANOVA for two-factor experiments with repeated measure on both factors (Neter et al. 1999)；以棉花棒測試法檢驗菊池氏龜殼花新生幼蛇是否會辨別獵物氣味及對獵物氣味的偏好，及動態棉花棒測試法檢驗新生幼蛇、亞成蛇與成蛇對獵物氣味的偏好，皆採用 One-factor ANOVA with repeated measure；為了減少變異數異質性 (Heteroscedasticity) 所有資料皆經過平方根 (Square root) 轉換再進行分析 (Zar 1999, Waters and Burdhardt 2005)，ANOVA 事後比較均使用 Tukey's test。使用 Cochran's Q test 檢測成蛇、亞成蛇及新生幼蛇對不同氣味的攻擊次數是否有差異，並以 pairwise comparisons 做事後比較 (Zar 1999)。所有測試的顯著水準皆定為  $\alpha = 0.05$ ，本文中的統計敘述及圖表以平均值  $\pm$  標準誤 (Mean  $\pm$  SE) 表示之。