材料與方法

一、實驗動物

本實驗所使用的三種台灣產龜殼花屬 (*Trimeresurus*) 蛇類，分別爲菊池氏龜殼花 (*Trimeresurus gracilis*) 、龜殼花 (*Trimeresurus mucrosquamatus*) 以及赤尾青竹絲 (*Trimeresurus stejnegeri stejnegeri*) 。此三種蛇分類上均屬於爬行綱 (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，英文名稱是 Taiwan mountain pitviper，爲台灣特有種中小型蛇類，具出血毒，頭約略成爲三角形，眼下方有一淺灰色縱帶，軀體粗短，成體最大全長約爲 60 公分，體色從淺褐色至深褐色，背部具斑塊，顏色從亮褐色到黑褐色均有。主要分布的地區爲台灣高海拔地區，棲息於箭竹草原、林緣坡地以及碎石地。以小型哺乳類、蜥蜴與兩生類爲食。繁殖方式爲胎生，於春季交配，夏末及秋季生產，每窩產 3 至 8 隻仔蛇 (Keegan and Matsui, 1964; 呂等, 2002; 李和呂, 1996; 林, 2005; 趙等, 1998) 。

龜殼花，又稱烙鐵頭，英文名稱爲 Pointed-scaled pitviper，中型蛇類，最大全長約爲 150 公分。頭部呈三角形，眼部後方有一黑色的縱帶，體色黃至棕黑，體背具有大型黑褐色斑塊，頭頂顏色具有斑紋。分布於全島中低海拔的丘陵、山區以及開墾地附近，分布海拔約在 1600 公尺以下。具有比較強的攻擊性，以蛙類、鳥類、小型哺乳類爲主食。生殖方式爲卵生，於夏季產卵，且雌性具有護卵行爲 (呂等, 2002; 李和呂, 1996; 趙等, 1998) 。

赤尾青竹絲，又稱赤尾鮐、竹葉青，英文俗名爲 Chinese green tree viper，小型蛇類，最大全長約爲 90 公分。頭呈三角形，全身綠色，

眼睛爲紅色，尾巴後段呈暗紅色。雌蛇的體側通常有一條白色紋路，而雄蛇的體側常在白色紋路下方有另一條紅色紋路，具有雌雄二型性的現象 (蔡和杜, 1998) 。廣泛分布於台灣本島及蘭嶼中低海拔地區。以蛙類、蜥蜴、鳥類、小型哺乳類爲食。生殖方式爲胎生，於夏季生產 (呂等, 2002; 李和呂, 1996; 趙等, 1998) 。

二、實驗動物採集

採用目視的方式尋找位於柏油路上、水溝、草地等開闊地的個體，並翻尋躲藏於掩蔽物之下如石塊的個體。蛇類在捕捉到之後分別檢查其性別（sex）、測量吻肛長 (snout-vent length) 、尾長 (tail length) 以及體重 (weight) 。菊池氏龜殼花的個體採自本省中高海拔的數個地區，分別是宜蘭縣 (太平山地區) 、花蓮縣 (中部橫貫公路大禹嶺～合歡山沿線) 、南投縣 (新中橫塔塔加地區) 、台東縣及高雄縣 (南部橫貫公路檜谷～向陽沿線地區) 。龜殼花採集自全省中低海拔郊區的田野丘陵，赤尾青竹絲的採集地點則以苗栗縣造橋地區爲主。

三、實驗動物馴養

每一隻個體分別馴養在透明壓克力飼養箱內，菊池氏龜殼花及赤尾青竹絲平常飼養在至少 19.5×11.5×16 公分以上的飼養箱中，龜殼花則因爲體型較大，其飼養箱至少爲 33×16×25 公分。箱內以木屑或報紙作爲襯底，並提供水盆與遮蔽物，平均兩個星期餵食一次 (小白鼠、蜥蜴或蛙類) 。平常飼養溫度爲 25℃，冬季則會將菊池氏龜殼花放入 10℃左右的恆溫箱，以模擬冬眠的環境，赤尾青竹絲與龜殼花則不進行冬眠。光週期爲 12 日：12 夜。

四、研究方法

所有的實驗均於特定溫度的恆溫室中進行。實驗開始前先檢查實驗動物的體溫需經多久才會達到恆溫室中特定的溫度；以酒精消毒過並塗抹凡士林的溫度電偶線 (thermocouple) 插入實驗動物的泄殖腔內約 3~5 公分，確立到達實驗溫度所需的時間最長爲八小時，之後便於實驗進行前八小時將實驗動物放入恆溫室，實驗進行過程中不另行以溫度電偶線測量溫度，以免妨礙活動 (Tsai and Tu, 2005; Tu and Hutchison, 1995) 。由於三種龜殼花屬蛇類的臨界低溫 (CTMin) 和高溫 (CTMax) 均分別爲 6℃和 38℃左右 (黃, 2002)，因此設定實驗溫度爲 7℃、12 ℃、17 ℃、22 ℃、27℃、32℃以及 36℃，前六組實驗的溫度以 5℃爲一間隔，但最後一組的間隔則爲 4℃；主要是因爲以 37℃進行實驗的前置測試時導致三隻菊池氏龜殼花死亡，因此便停止另外兩種蛇相同溫度的測試，並且將實驗溫度向下調整爲 36℃。

(一) 不同溫度下的最高攻擊速度

以熱水袋作爲刺激物，測試三種龜殼花屬蛇類在不同溫度下的最高攻擊速度，並於過程中將熱水袋溫度儘量維持在相近的範圍之內。實驗於 122×47×62cm 的玻璃缸中進行，底部鋪以泥土做爲基質，玻璃缸的後方貼上判定距離的格線；格線的間隔爲 1 公分。實驗開始前先將實驗動物放置於透明玻璃缸內 10 分鐘，使實驗動物適應實驗環境，等待其安定之後再將小熱水袋放置於蛇吻端前 3 至 4 公分處，以每秒 3 至 4 次的頻率左右晃動，誘發實驗個體進行攻擊。以油性塗料於實驗蛇的頸部做記號，利用記號作爲距離判定的參考點，減少因參考點選擇差異所產生的誤差。攻擊過程利用 NAC HSV-1000 HIGH SPEED VIDEO 高速攝影機以每秒 500 畫格 (500fps) 的速度進行拍

攝，之後將所拍攝的影像數位化進行分析。

每一隻蛇在每一個實驗溫度下的最高攻擊速度，是由五次完整攻擊中選取最快的一次；本實驗所定義的完整攻擊爲蛇在發動攻擊之後並沒有咬到或是觸碰到目標物，而是蛇的頭部往前衝刺並達到最高點，之後呈現自由落體式的下墜，完成一個類似曲線的攻擊路徑。回顧前人所進行關於攻擊速度的研究 (Alfaro, 2002; Greenwald, 1974; Whitaker et al., 2000) ，其方法均是以頭部明顯移動的時間作爲起始點，蛇的吻端在咬到或是接觸到誘發物體的時間作爲結束，計算兩者之間的時間差和距離求得攻擊速度。但如此所獲得的攻擊速度有可能因爲蛇與誘發物之間的距離差異而導致加速程度上的差異，成爲另外一個影響結果的因子。爲了排除可能因加速距離差異造成的誤差，所以本實驗只採用蛇未咬到或未碰觸到誘發物的完整攻擊。攻擊時間的計算以實驗蛇頭部明顯移動畫格的時間做爲起始點，實驗蛇頭部位於高點且明顯開始下墜的前一畫格作爲結束，計算當中的時間差。移動的距離則以蛇頸部的參考點在背景格線的位移推算，最後利用 V (速度) =D (距離) /T (時間) 的公式計算出在不同溫度下三種蛇類攻擊速度的表現。

爲了防止橫向位移的誤差，偏離背景格線平面的攻擊也不採用 (Alfaro, 2002) 。每攻擊完五次之後，不論是否收集到足夠的完整攻擊，均讓實驗動物休息 15 分鐘之後才繼續下一輪實驗。爲了防止不同溫度的實驗時間過於靠近所造成的影響，每個實驗溫度至少間隔兩天以上，實驗溫度的測試順序爲逢機決定，且實驗前兩個星期不給予食物。另外，在連續以熱水袋誘發攻擊，但是超過 5 分鐘以上還是沒有任何攻擊行爲則定義爲「不攻擊」。除了攻擊速度之外，也同時針對三種蛇在不同的溫度下是否會發動攻擊行爲做紀錄。

(二) 不同溫度下對刺激物的反應行爲表現

利用熱水袋對實驗動物進行無接觸刺激 (non-tactile stimulus) (Herzog and Burghardt, 1986; Herzog et al., 1989; Mori and Tanaka, 2004) ，並以數位攝影機 (Sony TRV-38 或 TRV-900) 記錄所誘發的反應。實驗前先將實驗動物放置於不透明的玻璃缸內 10 分鐘；讓實驗動物適應實驗環境，等待其安定之後便緩緩的將熱水袋放置到預定的測試方位，共有三個方位，分別爲 1.蛇吻端的正前方 2.蛇面頰左側垂直於眼睛的位置以及 3.面頰右側垂直於眼睛的位置。測試方式以熱水袋距離蛇約 3 至 4 公分，以每秒 3 至 4 次的頻率左右晃動誘發蛇的反應，每個方位分別進行 3 次的測試，方位順序由隨機決定。爲了防止不同溫度的實驗時間過於靠近所造成的影響，每個實驗溫度至少間隔兩天以上，測試順序爲逢機決定；當熱水袋刺激蛇 1 分鐘，蛇沒有發動攻擊行爲則定義爲「無反應」。實驗資料的紀錄與分析則是分爲攻擊相關行爲以及對刺激物的反應時間兩個方面。

1. 攻擊相關行爲

根據實際於不同溫度下所觀察到的攻擊反應，詳細定義出 3 項受到溫度影響，且可能影響攻擊成功與否的相關行爲：

1. 未轉頭直接攻擊：當實驗蛇受到非正面的刺激時，一般會先將頭部轉向刺激來源再發動攻擊。但在某些實驗溫度中，有些個體會發生未先轉向便直接攻擊，並於攻擊過程中同時進行轉向與修正方位的行爲。由於此行爲節省了轉向所需耗費的時間，因此認定是有利於蛇類的攻擊行爲表現。
2. 轉向或攻擊方位錯誤：在接近極端高低溫的狀態下，有些實驗蛇無法正確判斷刺激來源的方向。會發生轉錯方位或未

能朝向刺激來源攻擊的行爲。此行爲會影響攻擊成效，顯然不利於蛇類的攻擊行爲表現。

3. 喪失平衡能力：在接近極端高低溫的狀態下，有些實驗蛇會發生喪失平衡能力的行爲，造成無法形成攻擊姿勢或者是攻擊時會出現晃動，無法穩定維持姿勢的現象。此行爲也會影響攻擊成效，不利於蛇類的攻擊行爲表現。

在實驗的過程中，以有或無的方式對上述三種行爲在不同溫度下的表現分別進行記錄。如有其他特殊行爲則另外進行敘述。在本實驗中除了進行正面反應測試，同時也進行側面反應測試的目的便是爲了了解上述未轉頭直接攻擊、轉向或攻擊方位錯誤等行爲的表現能力。

2. 攻擊反應時間

分爲吻端前方與側面的攻擊反應時間，兩個方位的時間範圍皆是刺激開始至第一次攻擊發生的間隔時間，採計方式爲熱水袋出現於畫面內到蛇發動攻擊前畫格的時間差 (Whitaker et al., 2000) 。前方反應時間自每個溫度的三次測試中選出最快的時間；側面反應時間爲了防止蛇因爲方向偏好問題所產生的誤差 (Smith et al., 2002) ，則是選取面頰左右兩側共六次的最快轉頭時間。由於反應時間越短代表反應能力越佳，因此「無攻擊反應」的反應時間理論上應該是趨近於無限大，而這樣的數據在分析上是有困難的；爲此，先行將數據轉換爲倒數，呈現反應時間越短倒數值越大，然後以 0 代表「無攻擊反應」，再進行統計分析。

(三) 不同溫度下的攝食行爲表現

1. 攝食溫度範圍

實驗同樣在 7℃、12 ℃、17 ℃、22 ℃、27℃、32℃以及 36℃的

溫度下進行。爲了維持一定的飢餓程度，實驗蛇在每一次實驗進行前均有一個月的停食控制。實驗開始便將餵食用的小白鼠 (*Mus musculus*) 放入平常飼養實驗蛇的飼養箱內，紀錄進食與否。爲了能夠確定實驗蛇是真的因爲溫度的影響而不攝食，其判斷標準爲，當實驗蛇在 48 小時之內未取食放入其飼養箱的獵物 (Greenwald, 1974; Mehta, 2003; Mori, 1998) ，隨即將蛇移至常溫 (24－25℃) 的環境，24 小時後再次餵食，如果吞食獵物，即認定之前的實驗溫度已經不會進食。

2. 野生老鼠獵食成功率

實驗用的小白鼠對於掠食者攻擊的逃避能力可能遠不如野生的老鼠，因此採用野外的台灣森鼠 (*Apodemus semotus*) 作爲此實驗用的獵物，以較能反映此三種蛇類在野外的實際獵食成功率。實驗分別在 10℃、21℃以及 32℃中進行，而此項實驗的溫度不同於先前其他實驗的主要原因是捕捉體型大小適當的台灣森鼠有一定的困難度，且爲了讓每個溫度的樣本數達到一定的數量，因此只採用三個實驗溫度。選擇這三個溫度的理由是在先前的實驗中已知三種蛇類在 36℃時大部份的個體都已經不會攝食，而 32℃則是攝食率剛好在往下掉的溫度，因此認爲 32℃會是一個好的上限溫度；而溫度的下限則由三種蛇的臨界低溫 (6℃) 再類似的往上推 4℃，故選擇 10℃作爲下限溫度；21℃則是 10℃與 32℃的中間值。爲了維持一定的飢餓程度，實驗蛇在每一次實驗進行前均保持一個月的停食狀況。實驗開始前先將實驗蛇置入實驗用箱子的一端並以不透明蓋子罩住，靜置 10 分鐘待其安定。同樣將台灣森鼠放置於不透明箱子之內然後放入實驗用箱子另一端，以減少人爲放入的影響。實驗開始時同時將罩住實驗蛇以及罩住獵物的不透明蓋子移除，全程以數位攝影機 (Sony TRV-38 或

TRV-900) 拍攝。分析拍攝的影帶得知攻擊的次數，將攻擊次數轉換爲倒數即爲攻擊成功率 (Greenwald, 1974; Himes, 2002; Whitaker et al., 2000; Shivik et al., 2000; Smith et al., 2002)。

五、資料分析

利用最小凸多邊形法 (minimum convex polygon algorithm) (van Berkum, 1986) ，分別計算出每一個實驗個體在最大攻擊速度、反應時間實驗中的 (1) 表現能力達到 95%程度的溫度寬度：B_{95}、 (2) 表現能力達到 80%程度的溫度寬度：B_{80} (圖一) (Hertz et al., 1983; van Berkum, 1986) 。最小凸多邊形法是假設表現能力曲線呈現完美的凸多邊形，且實驗動物在臨界高溫(CTMax)和臨界低溫(CTMin)時已無表現能力爲前提，利用直線連接實驗所得的觀測值，形成凸多邊形。行爲表現曲線的觀測值理論上會呈現隨著溫度上升而增加，然後到達一個高峰點或者是平台 (plateau)，之後則是隨著溫度上升而下降，因此任一特定點的前後觀測值理論上應該分別小於和大於此特定點的值，只有最高的鋒點其前後觀測值會均小於或等於鋒點的值。如果觀測值之間出現不合理的變化模式，例如某一個觀測值低於前後兩觀測值的數值時，則忽略此不符合曲線變化趨勢的數值，直接將旁邊兩側較高的觀測值相連接 (圖二) ；但是每條連接線上最多只能刪除一個觀測值。將實驗所獲得最佳表現值的 95%、80%數值分別帶入以兩觀測值相連的直線方程式，便可分別計算出表現程度達 95% (B_{95}) 、80% (B_{80}) 的高低溫度界線 (van Berkum, 1986) 。相對於其他方法，最小凸多邊形法較適合用於樣本數少的實驗設計 (Bulte and Blouin-Demers, 2006) 。以One-factor ANOVA分別檢測每項實驗的 B_{95}、B_{80}；用以了解三種蛇相同表現程度的溫度寬度是否有差異，以

及B_{95}、B_{80}的高低溫度界線，並以Tukey's test進行事後比較；用以了解三種蛇相同表現程度的溫度位置是否有差異。如數據不符合常態分布 (normal distribution) ，則將資料轉換爲無母數 (nonparametric) ，使用Kruskal-Wallis ANOVA分析，以Mann-whitney test進行事後比較。

使用二次方邏輯迴歸分析 (Quadratic logistic regression) 對未轉頭直接攻擊進行檢測；由於每一種蛇的樣本數不足，無法直接將蛇的種類作爲一項自變數 (independent variable) 直接檢測，因此將針對三個物種進行個別的統計分析。以溫度以及溫度平方作爲自變數 (independent variable) 進行檢測，個體的編號做爲重複試驗 (Repeated measure) 的校正因子，檢測會不會表現未轉頭直接攻擊是否受到溫度的改變所影響，並預測其達到表現高峰的溫度值。

轉向或攻擊方位錯誤、喪失平衡能力、攝食溫度範圍這些行爲都是以「有」或「無」的方式紀錄，數據並不像攻擊速度會因溫度而逐漸變化，而是中間的溫度均有著相同的結果；呈現高原平台式的圖形，在偏向極端高、低溫才會有這些行爲出現。因此，利用邏輯迴歸分析 (logistic regression) 的 likelihood-ratio Chi-square test 分別檢測三種蛇在 7℃、36℃當中，轉向或攻擊方位錯誤表現、喪失平衡能力、喪失攝食能力等項目表現能力的差異。另外，同樣以邏輯迴歸分析 (logistic regression) 的 likelihood-ratio Chi-square test 檢測在攻擊速度實驗中所記錄，三種蛇在 7℃ 、36℃時，是否有攻擊能力的差異。

由於三種蛇的野生老鼠獵食成功率均不符合常態分布，因此以斯皮爾曼等級相關係數 (Spearman's rank correlation coefficient) 分別檢測三種蛇的野生老鼠獵食成功率與溫度之間的相關性，並以 Kruskal-Wallis ANOVA 分析三種蛇在相同溫度下的攻擊成功率有無差異。

爲了維持整體測試的顯著等級 (α level) 於 0.05 的範圍，因此採用 Bonferroni 法將顯著等級調整爲 0.0017 (=0.05/30) 。所有的實驗數據皆以 JMP 5.01 統計軟體 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) 進行分析，以 SigmaPlot 9.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 以及 Excel 2003 (Microsoft®, Cfa., Ltda., Quito.) 繪圖。所有測試的顯著水準皆爲 α=0.05，本論文中的統計序數及圖表均以平均值±標準誤 (Mean±SE) 表示。