

99-02-01
(1215)

PG9903-0283

099—301020200G1—001

玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳 狀況評估研究(1/4)

The Study of Population Ecology and Genetics for
Formosan Black Bears in Yushan National Park (1/4)

受委託者：國立屏東科技大學

研究主持人：黃美秀

研究助理：林冠甫、何冠助

玉山國家公園管理處委託研究報告

中華民國 99 年 12 月

(本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見)

目次

表次	II
圖次	III
中文摘要	V
英文摘要	IX
第一章 緒論	1
第一節 研究緣起與背景	1
第二節 計畫工作項目	10
第二章 研究方法及過程	11
第一節 研究地區	11
第二節 青剛櫟果實豐富度之監測	11
第三節 監測台灣黑熊豐富度	13
第四節 野外台灣黑熊遺傳資料收集及分析	15
第三章 結果與討論	23
第一節 青剛櫟果實豐富度之監測	23
第二節 台灣黑熊的活動	28
第三節 台灣黑熊遺傳分析	35
第四章 結論及建議	63
謝誌	68
附錄一、2008年2月至2009年1月，台灣黑熊排遺和毛髮樣本遺傳資料分析之實驗流程圖	69
附錄二、玉山國家公園管理處「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫採購案評選會議紀錄	71
附錄三、「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫期中審查會議紀錄	77
附錄四、「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫期末審查會議紀錄	81
參考書目	85

表次

表 3-1.1	2009 年青剛櫟結果季，以 Pearson 相關係數檢視利用兩種目視法所估計的結果情況，分別與該樣樹利用種子陷阱所收集的落果量之關係	25
表 3-1.2	2009 年 9 月至 2010 年 2 月青剛櫟結果季期間，大分青剛櫟森林中，地面區塊和種子陷阱各月所收集青剛櫟完整果實的數量	27
表 3-2.1	2009 年 10 月至 2010 年 10 月大分地區，各月熊毛陷阱收集到熊毛撮數、有熊毛記錄陷阱之比例，以及平均每一陷阱所收集到的熊毛撮數	31
表 3-3.1	2008 年 2 月至 2009 年 1 月利用黑熊毛髮陷阱採集的毛樣本數，以及各月份進行 DNA 分析所篩選的樣本數、成功完成擴大 7 個基因座之有效樣本數和檢定出的基因型	42
表 3-3.2	2008 年 2 月至 2009 年 1 月各月收集黑熊排遺樣本數量、成功擴大 7 個基因座之有效樣本數，以及檢測出的基因型	42
表 3-3.3	2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區台灣黑熊毛髮及排遺樣本之 10 個微衛星基因歧異度	45
表 3-3.4	2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區黑熊於各月出現的情形	59

圖次

圖 2-1.1	大分研究樣區長期調查樣線及樣點的分布，包括青剛櫟調查樣線、年度熊痕跡調查樣線和熊毛陷阱	14
圖 3-1.1	2010 年目視法調查大分地區青剛櫟落果前的結果量(Graves' modified scales)	24
圖 3-1.2	2009 年青剛櫟結果季，平均每個種子陷阱 (0.85*0.85 m ²) 所收集的青剛櫟落果情況	26
圖 3-2.1	大分及賽柯地區調查樣帶，紀錄台灣黑熊於該年青剛櫟結果季的活動狀況，二種黑熊的活動指標分別為 (a) 平均 1 km 內的所有熊爪痕樹的棵數，及 (b) 每 50 m 有無熊痕跡出現的頻度	29
圖 3-2.2	2007 年 2 月至 2010 年 1 月大分地區，熊毛陷阱於青剛櫟結果季與非青剛櫟果季之採樣結果：(a) 平均每月出現熊毛比例；(b) 平均每月每一陷阱收集的熊毛撮數	32
圖 3-2.3	台灣黑熊排遺偵測犬 (德國短毛指示獵犬, Weily)，以及配合專業領犬員於野外的的工作情形	34
圖 3-3.1	台灣黑熊排遺的 DNA 擴大成功率與排遺樣本新鮮程度之關係圖	36
圖 3-3.2A	2008 年 3 月至 2009 年 2 月大分地區利用毛髮陷阱所採集到黑熊毛髮，萃取 DNA 時所使用的毛髮數與萃取 DNA 之 O.D. 值間的關係	37
圖 3-3.2B	2008 年 3 月至 2009 年 2 月大分地區利用毛髮陷阱所採集到黑熊毛髮樣本，萃取 DNA 時所含毛囊數與萃取 DNA 之 O.D. 值間的關係	38
圖 3-3.3	PCR 產物利用洋菜凝膠電泳圖，模板 DNA 萃取自黑熊的白血球細胞。分別利用 SE47/SE48 引子 (A)，以及 Aml-UF/Aml-U 引子 (B) 進行性別鑑定	40
圖 3-3.4	利用 SE47 與 SE48 引子進行黑熊之性別鑑定，其中模板 DNA 皆萃取自毛髮	41
圖 3-3.5	2008 年 2 月至 2009 年 1 月所收集的遺傳樣本分析大分地區各月出現台灣黑熊個體數	57

圖次

圖 3-3.6 2008 年 2 月至 2009 年 1 月所收集的遺傳樣本分析大分地區台灣黑熊個體數之頻度分布圖 58

摘要

關鍵詞：台灣黑熊、青剛櫟、櫟實產量、排遺偵測犬、遺傳、族群監測

一、研究緣起

有鑑於保育瀕危物種的迫切性以及長期生態研究對於野生動物經營管理之重要性，本計畫延續前期於玉山國家公園進行之台灣黑熊 (*Ursus thibetanus formosanus*) 生態研究，持續長期的資料收集及累積，增加我們對於此物種於野外的生態習性、族群遺傳特性的瞭解，並提供具體的經營管理建議，以作為成功保育該物種的依據。園區東側的大分地區為瀕危台灣黑熊重要的棲息地，該地殼斗科植物—青剛櫟 (*Cyclobalanopsis glauca*) 的物候週期及結果變動，影響台灣黑熊時空上的活動模式和族群變動。本研究旨在持續第 5 年監測當地殼斗科森林的結果量變動，以探討與動物活動和豐富之關係，並估計樣區台灣黑熊的族群數量、遺傳多樣性、近親交配指數，以及族群間基因交流程度，並提供相關之經營管理建議，以期確保此物種之族群永續力。

二、研究方法及過程

本研究於大分地區青剛櫟集中分布的區域，設定長期的調查樣點和樣線（總計 5.2 km 長），以測量青剛櫟果實產量。於青剛櫟開始落果前（九月底至十月中旬期間），以目視法估算該季的結果相對豐度指標。同時於結果季期間，每隔 50 m 設置種子陷阱 ($0.85 \times 0.85 \text{ cm}^2$, $n = 195$)，每月定期收集落果，以計算該季青剛櫟果實生產量。

為了解青剛櫟果實豐富度與台灣黑熊活動之關係，於結果季結束後（2 月），沿著調查樣線計數樣線（共約 9.5 km）兩側各 3 m 內的所有黑熊痕跡，作為該季黑熊活動的相對指標。為收集黑熊遺傳樣本，除了每次調查期間在調查樣線和行進路線旁搜尋、採集黑熊排遺之外，同時使用熊排遺偵測犬；另架設及檢視熊毛陷阱，以收集動物毛髮，建構黑熊遺傳樣本資料庫。

分析 2008 年 3 月至 2009 年 2 月每月在樣區收集到的毛髮和排遺樣本。樣本萃取後，以 10 組微衛星基因座擴大，並以至少成功 7 組基因座的樣本進行基因型檢定。鑑定出個體後，利用軟體計算個體鑑別率（probability of identity）、觀測異質度（observed heterozygosity）及理論異質度（expected heterozygosity），並檢測是否偏離哈溫平衡（Hardy-Weinberg equilibrium）後，包括計算 F_{IS} 值。並進一步利用標記再捕捉法（mark-recapture），估計活動於樣區的黑熊族群數量。另為檢視性別引子的適用性，利用圈養的黑熊血液及毛髮樣本，進行兩組性別引子（SE47/SE48 及 Aml-UF/Aml-UR）的測試。

三、重要發現

目視法估計 2010 年青剛櫟結果狀況顯示，Graves' 修正指數平均值和 30 秒內計數青剛櫟果實數量分別為 2.03 ± 1.02 (mean \pm SD) 和 54.1 ± 44.3 顆/棵。今年的結果狀況與前四年相較，僅比 2008 年差。每個種子陷阱 2009 年各月平均所收集的青剛櫟落果以 11 和 12 月最高。該季平均每個種子陷阱收集的完整果實和受損果實分別為 8.2 顆 (11.4 顆/ m^2) 和 6.9 顆 (9.6 顆/ m^2)，為過去四年的結果季中，產量最低的一年，結果與目視法的估算結果一致。地面上堅果每月平均被移除量為 3.7 - 4.8 顆/ m^2 ，亦顯示 11 月和 12 月為動物利用青剛櫟果實的高峰期，動物對於本區青剛櫟落果的掠食壓力非常大。

2009 年青剛櫟結果季樣區的黑熊活動痕跡為每 1 km 樣帶上，紀錄 3.7 ± 4.3 棵 ($n=10$) 的熊爪痕樹；熊痕跡於 50 m 調查長度單位上的出現頻度為 $12.9 \pm 11.7\%$ 。平均各月有熊毛記錄的陷阱比例和每一陷阱所收集的熊毛撮數分別為 $9.9 \pm 9.2\%$ 和 0.20 ± 0.27 撮。上述四種黑熊的活動痕跡指標之年間變動與各年青剛櫟果實豐富度的變化一致。

性別鑑定的引子測試結果中，使用 SE47/SE48 的雌雄血液樣本分別出現 1 條及 3 條亮帶；Aml-UF/Aml-UR 雌雄血液樣本分別出現 2 條及 3 條亮帶。就鑑識清晰度及檢視人為污染的可能性而言，建議 SE47/SE48 是適合的性別

鑑定引子。

分析熊 112 個毛髮及 290 個排遺樣本，7 個基因座以上標定的 PCR 擴大成功率分別為 62% 及 54%，各檢定出 37 及 73 個基因型，總共鑑識出 100 隻不同的個體。各基因座等位基因的數目為 5-19 個 (8.7 ± 4.02)，個體鑑別率為 1.160×10^{-13} ；觀測異質度為 0.762，與理論值 0.761 極接近，顯示族群遺傳異質度偏高。然整體族群偏離哈溫平衡且 F_{IS} 值 0.001，極小幾可忽略的，推測應與取樣偏差及熊的季節性移動行為有關。活動於樣區的個體，其中 90% 皆出現於 2008 年青剛櫟果實盛產的結果季（10 月至隔年 1 月），且停留樣區的時間較非青剛櫟結果季長。以密閉族群所估算的結果為 164 隻（95% CI：130-224），然園區的切確族群密度則需進一步釐清這些個體活動的範圍。

四、主要建議事項

本研究延續過去四年於玉山國家公園東部園區第五年的青剛櫟結果量及黑熊活動之監測，初步研究結果顯示大分地區青剛櫟果實除了提供台灣黑熊重要的季節性食物資源之外，並影響黑熊年間和季節性的活動程度，對於監測園區甚或全島性的台灣黑熊的族群變化及遺傳結構亦扮演著重要角色，為此物種的季節性高密度基準區（High-density benchmark, Steinmetz and Garshelis 2009），適合發展為長期族群監測和生態研究的重點區域。故有必要持續長期監測該地的氣候、青剛櫟果實產量的年間變動，以及影響結果量變動之樹木和環境等各項因子。

本研究黑熊族群之等位基因觀測異質度為 0.762，與其他連續的熊類族群相較，顯示台灣黑熊尚維持著較高的歧異度，值得國人持續加強對此小族群物種的關注和努力。然為有效瞭解樣區台灣黑熊族群和遺傳的代表性，需進一步深入瞭解樣區黑熊個體的空間分布範圍和季節性變動情況。此資訊可藉由人造衛星無線電追蹤系統，以及更大地景範圍的遺傳取樣方式達成。遺傳取樣技術則可考量地區特性而適當調整，以瞭解台灣黑熊之族群及遺傳結構。例如在食物豐盛且密集的地區，可以搭配適當調查樣線的排遺樣本收集為主；反之，則可大範圍應用熊毛陷阱以收集熊毛樣本，加上適當縮減取樣

間隔，以提升收集遺傳樣本的效率。

長期生態研究對於野生動物之永續性經營管理具有十分重要的價值，尤其是針對瀕危物種而言。由於維繫一永續的台灣黑熊族群所需的範圍超過任何單一保護區，故建構跨行政管理單位之保育網（network）為保育此物種之必要手段，以達擴大研究保育範圍及共同合作的保育目標。如此亦將有助於提升整體之研究保育效能，因為台灣黑熊活動主要區域大多地處偏遠，交通及補給困難，如本研究之大分樣區，研究困難度高且環境艱困，故建議相關單位除應積極規劃長期研究保育策略之外，同時能提供充足的經費及人力支援，以利整合型保育研究計畫之執行。

此外，藉由培訓長期志工或保育種子教師，協助黑熊研究調查或教育宣導，更能促進社會參與和關懷，以及研究保育之效益。為了長期監測國家公園境內黑熊的時空活動，適當且及時地經營管理人熊關係，本研究亦建議玉山國家公園積極發展並建立一套「發現黑熊出沒的通報系統」，提供並鼓勵管理處員工及一般民眾隨時登錄園區及附近區域所發現的黑熊蹤跡，以長期累積玉山國家公園黑熊活動分佈之資料，監測人熊關係之變化，同時建立資料庫，提供經營管理所必需的參考資料。

英文摘要

The eastern part of the Yushan National Park (YNP), especially in Dafen, is a critical habitat for locally endangered Formosan black bears (*Ursus thibetanus formosanus*). The phenology and acorn production of the dominant ring-cupped oaks (*Cyclobalanopsis glauca*) potentially influence the temporal and spatial movement, activity and abundance of bears. The objective was to continue to monitor the dynamics of acorn production of ring-cupped oaks, and bear activity and their the relationship in the Dafen oak forest. The study was further designed to estimate the population size and genetic variation of the bears and to provide guidelines for conservation and representative data sampling.

The acorn production estimated by two visual survey methods both indicated that 2010 was just after 2008 among the past 5-yr monitoring. From 2006 to 2009. The results derived from seed traps revealed the same fruiting pattern with the visual surveys. The average amount of intact acorns, damaged acorns and total acorns collected by seed traps (85 cm* 85 cm, n=195), as well as the acorn removal rate on ground, was highest in November and December, followed by October and January, and with an average of 21 acorns/m² in 2009. The damaged acorns were 46% of the total acorns collected, and its monthly proportion decreased with the total amount of acorns. Most (69%-96%) of the monthly fallen acorns were consumed, indicating the very high pressure of acorn predation by wildlife.

Using hair samples snared from baited traps with lures and fecal samples which were collected during February 2008-January 2009, microsatellite DNA analysis was applied to distinguish bear individuals and genetic diversity. We analyzed 112 hair and 290 fecal samples, which yielded 62% and 54% of the successful DNA amplification rates, respectively. The genotyping based on 7

microsatellite primers for individual identification indicated 37 and 73 individuals, from hair and fecal samples, separately. Thus, a total of 100 different individuals were identified and the population estimation was further conducted and discussed. The average number of alleles per locus was 8.7, ranging from 5 to 19. The overall observed heterozygosity was 0.762, which was close to the expected heterozygosity (0.761). The overall F_{IS} value was 0.001. The result revealed the acceptable level of genetic diversity of the YNP population.

Among all bear individuals identified from genetic samples, 7% of them were only detected in the non-acorn season (October up to next January), and 90% were detected only in the acorn season. The masting season of ring-cupped oaks in 2008 likely attracted a highly dense congregation of bears. Considering the wide movement of bears for seeking food and the various performance of different sampling methods, we suggested that hair traps can be technically feasible and suitable for areas with sparsely distributed populations. On the other hand, if a seasonal high-density benchmark like our study area can be identified, scat sampling may tend to provide an appropriate representative of DNA sampling methods.

Key words: *Ursus thibetanus formosanus*, *Cyclobalanopsis glauca*, acorn production, scat detection dogs, genetic, population monitoring

第一章 緒 論

第一節 研究緣起及目的

一、台灣黑熊之研究及保育概況

台灣黑熊 (*Ursus thibetanus formosanus*) 是台灣唯一原產的熊類，屬亞洲黑熊的種群之一。由於近幾十年來台灣自然環境過度開發及人為活動頻繁，使得該物種的分布範圍大幅縮減，目前黑熊多侷限於地形較崎嶇陡峭或高海拔、人為活動較少的山區，其族群也處於受威脅的狀態 (Wang 1999, Hwang and Wang 2006, 黃美秀等 2010)。在台灣，台灣黑熊為「瀕臨絕種」的保育類動物；此物種也被列為世界自然保育聯盟(IUCN)紅皮書上的易危物種(VU, Vulnerable, IUCN 2009)。雖然黑熊為國內保育類野生動物，然而獵殺或販賣黑熊的新聞或消息仍是偶有所聞，凸顯出積極採取保護此物種存續的行動的重要性及迫切性 (Hwang 2003, 黃美秀等 2010)。

保育永續的熊類種群有賴社會大眾和政府機關的認同和持續支持才能成功。成功的黑熊保育不僅依賴人們對於野生動物經營管理上的認識，包括社會、經濟、行政、組織的因素，更有賴研究及經營管理單位對於熊類生基本物學資訊的累積 (Peyton et al. 1999)。此方面資訊更是保育宣導教育的必要手段，也是最有效率、影響最深遠的方式之一。然而，就瀕危的台灣黑熊而言，相關族群及生態習性資訊的不足，也往往造成相關單位及人士於積極推展保育行動時的限制與障礙。這除了台灣黑熊野外的數量稀少、以及動物習性隱蔽且機警有關之外，台灣山區的植群林相複雜、遮蔽度高、地形崎嶇、交通不便，更使得野外研究黑熊的族群及生態習性的作業的困難度提高。

玉山國家公園大分地區為台灣黑熊生態研究的重要根據地，1998 至 2002 年期間，玉山國家公園管理處與研究者 (黃美秀、吳煜慧、王穎等人) 密切合作，在園區進行捕捉繫放和無線電追蹤黑熊等各項相關研究，累積許多的寶貴資料 (Hwang et al. 2002, Hwang 2003, 吳煜慧 2004, Hwang and Garshelis

2007, Hwang et al. 2010)。為接續前期於玉山國家公園東部園區進行台灣黑熊捕捉繫放和無線電追蹤的研究，研究者於 2006-2009 年開始針對同一研究區域(主要核心區為大分地區)長期監測台灣黑熊等大型哺乳動物的豐富度、氣候變化，以及該區殼斗科森林的青剛櫟 (*Cyclobalanopsis glauca*) 物候和結果量變動，並初步瞭解該區環境特色和動植物間之關係(黃美秀等 2006、2007、2008、2009a)。

就瀕危物種的保育及經營管理而論，除了需建構該物種的生態及行為等資訊之外，還需具備其遺傳多樣性及族群遺傳結構等分子遺傳的基礎資料，方可擬定有效的保育單位(Frankham et al. 2002)。對於遺傳多樣性、小族群、地理親源關係，族群遺傳分析已成功地提供了野生動物保育和經營管理上的許多建議(Goossens and Bruford 2009)。因此，有鑑於保育瀕危物種的迫切性，以及長期生態研究之於野生動物經營管理的必要性，本計畫旨在延續過去玉山國家公園進行的台灣黑熊生態研究，持續長期資料的收集及累積，以增加我們對於此物種於野外的生態習性、族群遺傳特性的瞭解，並提供具體的經營管理建議，以作為成功保育該物種的依據。

二、台灣黑熊與櫟實之關係

玉山國家公園東側的重要台灣黑熊棲息地—大分地區，主要的殼斗科植物為青剛櫟，其果實是許多動物的食物來源，包括鳥類、嚙齒類、大型草食動物和黑熊等(Hwang et al. 2002、林冠甫 2009)。殼斗科(Fagaceae)植物的堅果(或稱櫟實, acorn)為熊類以及許多其他野生動物在秋冬季或入冬前的重要食物來源。不同物種對青剛櫟果實的利用方式和程度有雖所差異，櫟樹在森林中的組成和數量，以及季節性的結果和其果實產量的差異，會造成食物資源的可得性和豐富度變動，而影響野生動物群落的組成(Koenig and Knops 2005, McShea et al. 2007)和族群動態(Wentworth et al. 1992, Elkinton et al. 1996, McShea 2000, Greenberg and Parresol 2002)。

櫟實是營養豐富的食物資源，擁有高含量的脂質和碳水化合物，加上容

易消化和高代謝能的特性，故可視為高度濃縮形式的食物能源（Pekins and Mautz 1987, Kirkpatrick and Pekins 2002, 陳亞萱 2009）。櫟實的生產和動物的覓食行為對大型哺乳動物的許多生態層面都有直接或間接的重要影響，包括繁殖、生存、活動和生長（Vaughan 2002）。在北美洲地區，許多研究也發現，美洲黑熊（*U. americanus*）的分布狀況、族群動態、活動範圍、移動距離、活動模式、繁殖速率、繁殖成功率、食性、棲地利用和冬眠等行為皆會受櫟實生產影響（Garshelis and Pelton 1981, Rogers 1987, Eiler et al. 1989, Smith and Pelton 1990, Noyce and Garshelis 1997, Powell et al. 1997, Vander Wall 2001, Vaughan 2002, Garshelis and Noyce 2008）。

在許多有殼斗科植物分布的地理區，森林性的熊類（如美洲黑熊及亞洲黑熊）與殼斗科森林之間，有密不可分的關係（Hwang et al. 2002, Vaughan 2002, McDonald and Fuller 2005, Garshelis and Noyce 2008）。這些地區的黑熊，包括台灣黑熊，於秋冬季值堅果大量結果時，會出現集中於櫟林中且大量覓食堅果的現象（reviewed by Hwang et al. 2002, Kirkpatrick and Pekins 2002）。此時期黑熊的覓食活動和秋季堅果的產量對於熊的移動、活動範圍、食性組成、營養、母熊生殖率、幼熊存活狀況有直接或間接的影響，甚至影響黑熊被人類獵捕或是人熊衝突的程度（Mattson 1998, Vaughan 2002, Costello et al. 2003, Hashimoto et al. 2003）。

過去研究者於玉山國家公園東側園區的長期野外調查發現，大分地區為台灣黑熊於秋冬季出沒較頻繁的地區，該區青剛櫟結果量的變動對於台灣黑熊的活動有決定性的影響，不同種類的殼斗科櫟實於秋冬季的結果量有逐年波動的現象，且黑熊於此季節的食性和活動模式也隨之變動（Hwang et al. 2002, Hwang and Garshelis 2007, 林冠甫 2009, Hwang et al. 2010）。2006-2009年於大分地區進行台灣黑熊族群相對豐富度和青剛櫟果實產量的監測，以及透過自動照相機和痕跡調查的結果皆發現，黑熊的相對豐富度於各年青剛櫟結果季皆顯著大於非青剛櫟結果季，且青剛櫟結果季時，黑熊會增加夜間活動的頻度（黃美秀等 2006、2007、2008、2009a）。此外，該區青剛櫟的結果

狀況呈現明顯的年間差異，而黑熊於結果時期活動於該區的頻度的年間變動亦與青剛櫟結果量的多寡一致；熊毛陷阱記錄黑熊出現該區的相對豐富度亦呈現相同的季節和年間的變化趨勢(Hwang and Garshelis 2007, 林冠甫 2009、黃美秀等 2009a)。然前期的調查方法，卻僅限於台灣黑熊相對豐富度的監測，若進一步透過分子生物學標記技術的應用，則將可協助推估活動該區或園區的台灣黑熊族群數量。

三、分子技術於保育遺傳上的運用

對於瀕危物種的保育及經營管理，有效的保育單位和策略擬定建構於對該物種個體及族群的生態、行為、遺傳多樣性及族群遺傳結構等分子遺傳的基礎資料 (Frankham et al. 2002)。瀕危物種的成功監測及管理更取決於正確的族群結構及數量的資訊 (Sloane et al. 2000、Goossens and Bruford 2009)。但對於野外數量稀少、動物習性隱蔽且機警的動物而言，在台灣山林林相複雜、遮蔽度高、地形崎嶇與交通不便的研究環境下，欲利用傳統的樣本採集技術調查野外研究大型或稀有的哺乳動物族群或生態習性，困難度自不在話下。然近年來分子技術發展快速，利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 為基礎的技術被廣泛開發並應用於區分及鑑定不同的物種、族群和個體層次之研究。這些分子遺傳技術可以輔助傳統的鑑定方法，提供更準確和多項的遺傳資訊，不僅能顯現物種的族群遺傳結構，也可協助回答母系遺傳及父系遺傳、棲地破碎化程度、親緣關係 (phylogeny)、有效族群量、族群結構 (population structure)、基因轉殖 (gene transfer)、基因交流 (gene flow) 等問題 (Goossens and Bruford 2009, Kirmaier et al. 2009)。

這些遺傳技術包含微衛星 (microsatellite) PCR (Baleiras Couto et al. 1996)、粒線體 (mitochondria) PCR (Kohn et al. 1995)、核 DNA PCR (nuclear DNA PCR, Flagstad et al. 1999) 等。微衛星 DNA 又稱短串重複序列 (short tandem repeat, STR)，由 1-6 個鹼基重複組成 (Tautz 1989)，長度約為 60-1000 bp，重複單元的數目及重複的程度，都可以造成微衛星 DNA 片段的長度差異

(Ashley and Dow 1994)。微衛星 DNA 屬父系與母系遺傳，由於這是在基因序列上一段沒有控制任何性狀的片段，故較不受的天擇的篩選，而保留了所有突變的記錄；另因其演化速度較快，相對短的時間內就產生了個體差異，遂可當做辨識個體的標記，通常應用於族群層次及個體辨識之研究(Woodruff 1993)。因此，利用微衛星可視為是捕捉標放再捕捉法(capture-mark-recapture)中的標記，可藉以估計族群量，並能鑑定個體間的親緣關係，估算有效繁殖族群。

微衛星適合用在個體辨識、物種判別，以及親緣的確認，並且具有以下之特色及優點：(1)廣泛存在於真核生物體中。(2)多型性(Polymorphism)：微衛星基因座有高度的遺傳變異，有些基因座可能包含了十多種等位基因(allele, O'Connell et al. 1998)，相對其他 DNA 指紋技術此方法的鑑定力高出數十倍。(3)共顯性遺傳(Codominant)：父、母系的微衛星基因座可以在子代同時被表現，此為共顯性遺傳，遵循孟得爾遺傳定律。(4)中性遺傳(Neutral genetic)：重複片段的 DNA 不會被轉錄或轉譯，不影響生物的表現型，故不受天擇或人擇的影響。(5)保守性：相似的物種具有類似重複片段 DNA 指紋。

微衛星 DNA 技術是用螢光物質標記在核酸引子，利用標記過的引子進行 PCR 增幅 DNA 樣品特定的微衛星基因座片段，之後以毛細管電泳或是其他方式偵測帶有螢光的 PCR 產物，以判定其片段大小與鑑定其基因型(李俊億及謝幸媚 2008)。此技術因所需 DNA 樣本較少，再現性高，容易判定基因型、多態性高、片段短容易複製(Goodwin et al. 2007)，而成為鑑識個體及親子關係，以及微量證據的舉證之最主要工具。因為所需要的 DNA 量不需要很高，因此可以利用個體的毛髮或排遺等低含量的 DNA 樣本，萃取出實驗所需的 DNA 含量，這也是現今研究數量稀少、活動隱蔽的大型食肉動物的族群遺傳學所採用之主要非侵入式方法。

四、非侵入式的遺傳採樣方法 (noninvasive genetic sampling)

在野生動物研究的應用上，近年來學界鼓勵使用替代辦法，因為對於某些目標物種，捕捉和處理程序有時可能具有破壞性，或在某些情況下並不適當或不被允許 (Chu et al. 2006)。這主要是藉由採集動物的排遺、毛髮、蛻皮、尿液、精液等樣本，以獲得到基因資訊來分辨個體，如同透過生理標記來分辨個體的功能，故無需捕捉處理或標記動物，屬於非侵入式的遺傳採樣方法 (Pearse et al. 2001)。非侵入性採樣方式之最大優點為不需直接接觸目標動物，減少了取樣上的各種限制，並降低對動物的可能干擾，採樣時也無取樣數量的顧慮，在保育類的物種研究上提供相當大的幫助 (Chu et al. 2006)。

藉由毛髮陷阱取樣及收集排遺可在不干擾動物行為的情況下，增加遺傳樣本的採集數量 (Taberlet et al. 1999, Waits and Paetkau 2005)。二者也是近年來研究熊類族群遺傳訊息的主要技術。毛髮分析的長處包括：(1) 可取得具有代表性的樣本。(2) 研究範圍可涵蓋廣大地區，並找出稀有且隱密的動物。(3) 可區別近似種、個體或是性別。(4) 基因分析可計算多個族群。(5) 可應用於各種棲地型態。(6) 可同時收集一種以上的物種樣本。(7) 裝置器材較輕也較便宜。(8) 可搭配使用誘餌及其他被動式方法，以增進採樣品質及降低偏差 (Kendall and McKelvey 2008)。

利用排遺進行遺傳研究分析的優點則包括：(1) 可從 DNA 中，可得知此物種的數量，分佈和性別比例。(2) 萃取出 DNA 量較毛髮高。(3) 可以提供食性、內分泌、內寄生蟲等資料 (Wasser et al. 2004)。然而，排遺樣本卻仍存在一些問題，比如對於稀有或移動性大的動物，或在溫暖潮濕的環境下，排遺的收集並不容易；而且排遺的偵測還會受到環境狀況及研究者的經驗影響，另排遺新鮮度也會直接影響 DNA 的品質。許多以 DNA 分析為基礎的研究，如族群數量分析或棲息地利用評估，需要大量排遺樣本，因此為了增加排遺樣本收集的效率，有些研究者自 1990 年代晚期遂開始利用狗的敏銳嗅覺，訓練成專門尋找排遺的「排遺偵測犬 (scat detection dogs)」，有系統的收集各個目標物種的排遺，以進行各項研究分析 (MacKay et al. 2008a)。

偵測犬與研究者相比，可減少找尋樣本的偏差，例如不會受限於步道上，

也可應用於各種不同的棲地類型；牠們也可發現小量而隱蔽的排遺，且可有效率地搜尋遼闊的範圍，故當尋獲的排遺量愈多時，則重複捕捉率也隨之提高 (MacKay et al. 2008b)。偵測犬可同時尋找不同物種之排遺，有人訓練偵測犬成功地同時尋找到美洲黑熊、棕熊 (*Ursus arctos*)、美洲獅 (cougar, *Puma concolor*)、灰狼 (gray wolf, *Canis lupus*) 四種不同動物之排遺 (Beckmann 2006)。其他研究亦發現偵測犬偵測到美洲黑熊和魚貂 (fisher, *Martes pennanti*) 的成功率分別高達 86% 和 95%，且偵測率幾乎不受地形崎嶇度、植被密度、當地氣候 (如溫度和濕度) 等因素左右，故為偵測森林性食肉動物的十分有效方法 (Long et al. 2007)。

為了瞭解動物的出現及地理分布狀況，Harrison (2006) 進一步比較偵測犬及三種傳統調查技術如毛髮陷阱、自動照相機及氣味站，評估偵測大山貓 (Bobcat, *Lynx rufus*) 的效益。他發現雖然偵測犬較為昂貴，也需要較長的野外調查時間，但是在偵測大山貓的出現率上，卻是其他三種方法加總的十倍。另在研究北美洲棕熊的密度時，利用微衛星 DNA 分析所收集樣本以鑑定個體，結果顯示利用偵測犬搜尋排遺所偵測出研究樣區內的熊個體數量為 28 隻，成效是毛髮陷阱結果的五倍 (Wasser et al. 2004)。由於以 DNA 資訊來判定個體可視為重複捕捉，而在捕捉標放再捕捉的方法上，當動物的重複捕捉率愈高時，則可增加估計動物的豐富度之準確性。就此，偵測犬的應用應該有助於這些隱蔽性物種於此方面之研究效益及水準。

五、台灣黑熊遺傳學研究

在當前野外威脅台灣黑熊的因素持續存在之餘，黑熊於台灣全島各地族群的遺傳多樣性、結構現況，以及有效族群究竟為何，則成為擬定全國性有效的保育策略的重要議題。就瀕危物種的經營管理而言，除了有必要發展估計族群豐富度的基礎，以提供未來監測族群變化的規劃之外，也需要建立長期的遺傳資料庫，估計保護區內台灣黑熊的族群數量、遺傳多樣性、近親交配指數、族群結構，以及季節上族群於空間上的變動模式等。人為干擾導致

棲地或族群破碎化 (population fragmentation)，除了會導致物種的族群量和區塊之間基因交流降低之外，也會造成基因多樣性降低、近親交配及滅絕風險提升等不良影響 (Frankham et al. 2002)。

台灣黑熊的活動範圍十分廣大，可超過 100 km² (Hwang et al. 2010)。因此個體的活動領域很容易受人為開發造成的棲地破碎化所阻隔，尤其播遷能力較弱的母熊則可能因受阻於人為干擾，而被侷限在單一保護區範圍內。族群間的基因交流可能會受道路或狩獵等的人為干擾影響，而降低或完全隔離，造成小族群自交、基因同質化等問題。這些潛在議題對於現有族群數量已經稀少的台灣黑熊而言，可能會導造更嚴重的族群破碎化威脅，故族群遺傳資訊則成為檢視保護此物種和保護區效能的關鍵之一。

目前在玉山國家公園以外的地區，針對台灣黑熊進行分子遺傳變異的研究有三，由於野生黑熊組織樣本取得不易，其中的兩項研究的樣本多來自於圈養個體，可確認來源之野生個體樣本太少 (儲瑞華等 2000，陳元龍及楊吉宗 2002)；另一篇雖是利用野外黑熊樣本的研究，但旨在比較台灣與其他地區的黑熊在遺傳的變異性 (Tsai 2009)。此三篇都利用粒線體 DNA 探討黑熊於大尺度空間上的族群差異，對於台灣野生黑熊的族群遺傳結構及個體間的遺傳多樣性，則無法提供充足的資訊。

由於台灣黑熊的活動範圍廣大，採用傳統的個體捕捉繫放的方法需要耗費大量的人力、時間與金錢；相較之下，毛髮和排遺樣本的取得相對地較為容易，且成本較低 (Kohn et al. 1999，Long et al. 2008)。因此，本研究於前期計畫便開始引用非侵入式的毛髮和排遺樣本採集法，包括熊毛陷阱和偵測犬，開始建立台灣黑熊遺傳資料庫。針對野外台灣黑熊的族群遺傳研究，國內目前僅止於玉山國家公園在大分地區的研究，結果顯示利用微衛星 DNA 分析 2008 年的黑熊排遺樣本，檢定出 69 隻個體，且集中出沒在 11、12 月的青剛櫟結果季 (黃美秀等 2009a)。然這些個體在空間上的來源是否涵蓋國家公園以外的範圍，以及這些個體對大分地區的季節性使用情況和其間個體組成上的差異等資訊，則皆仍不清楚。

自 1998 年以來，大分地區已成為台灣黑熊生態研究的重要根據地，加上台灣黑熊季節性聚集此區的特性，此地區可視為台灣黑熊族群的季節性高密度基準區 (High-density benchmark, Steinmetz and Garshelis 2009)，適合發展為長期族群監測和生態研究的重點區域，故對玉山國家公園及全島性的台灣黑熊永續性經營管理皆具有十分重要的價值。本計畫旨在延續前期於玉山國家公園所進行之台灣黑熊生態研究，藉由第五年的生態資料收集及累積，持續監測大分地區殼斗科森林的結果量變動，以探討動物活動和豐富度與重要食物資源變動之關係，並估計玉山國家公園台灣黑熊有效族群量、遺傳多樣性、近親交配指數、族群結構，以及族群間基因交流程度，以探討此物種的族群永續力，並檢視國家公園對於保育此物種的效能。

第二節 第一年（2010 年）計畫工作項目

- (1) 持續監測大分地區永久樣區第 5 年殼斗科堅果的年產量，以及該區台灣黑熊之相對豐富度。
- (2) 利用熊排遺偵測犬和毛髮陷阱，持續收集野外台灣黑熊排遺及毛髮樣本，建立遺傳資料庫；同時利用遺傳分生技術，萃取 2008 年青剛櫟季所收集的全部排遺樣本及毛髮之 DNA 遺傳樣本，並比較不同樣本之 DNA 萃取成功率和 PCR 成功率。
- (3) 開發微衛星引子（microsatellite primer）及性別鑑定引子，以進行遺傳樣本的個體辨識，以及後續之性別辨識。
- (4) 利用適當之分子標誌，分析及估算台灣黑熊於大分地區青剛櫟盛產季節時（2008 年）的個體數量及其遺傳多樣性

第二章 研究方法及過程

第一節 研究地區

大分地區位於花蓮縣卓溪鄉拉庫拉庫溪流域（北緯 23°22' 25" 47，東經 121°05' 21" 49），地處中央山脈，屬於玉山國家公園東側園區，該區海拔約由闊闊斯溪溪床 1,100 m 至大分山 2,000 m。由南安管理站附近的山風登山口入山，單程需步行 40 km，耗費三日。

此區原為布農族南投郡社群東遷的第一個據點，長久來為布農族傳統的活動領域。至日治台期間，也是八通關越嶺道路上的一段，日本政府並在此區設置大分駐在所，爾後因教化撫育和集團移住的政策實施下，將原住民陸續搬遷至平地。因此，大分地區有著相當豐富的人文史蹟（林一宏 2005）。自 1998 年開始，大分地區成為台灣黑熊生態研究的重要根據地（Hwang 2003，吳煜慧 2004）。Hwang（2003）的研究指出，秋冬季時，當大分地區的櫟樹大量結果時，黑熊會聚集到此食用櫟實，顯示大分地區是台灣黑熊非常重要的棲息地。

大分地區優勢林型為細葉饅頭果-青剛櫟型（*Glochidion rubrum*-*C. glauca*），並可細分為台灣肉桂-青剛櫟（*Cinnamomum insulari-montanum*-*C. glauca*）及金毛杜鵑-台灣二葉松（*Rhododendron oldhamii*-*Pinus taiwanensis*）二亞型（黃美秀等 2009b）。青剛櫟為該區非常優勢的喬木層組成樹種，出現頻度和出現密度皆最高，分別為 67% 和 24.7 棵/100 m²；優勢度則是台灣二葉松（33.5 cm²/m²）和青剛櫟（22.7 cm²/m²）最高。喬木樹種的相對重要值（important value index, IVI）以青剛櫟最高（27.5%），台灣二葉松次之（20%），其餘樹種皆小於 11%（黃美秀等 2009b）。

第二節 青剛櫟果實豐富度之監測

一、目視估計 (Visual survey)

延續前期使用的調查樣線，約 5 km (圖 2-1.1)，在每隔 20 m 的兩側，挑選並標記 2 棵胸高直徑大於 10 cm 的青剛櫟樹木，並於開始落果前 (通常十月中旬)，以同樣的目視法 (visual counts) 估算該年青剛櫟結果季的相對結果豐度指標。我們採用兩種目視估計法：Koenig 法 (Koenig et al. 1994) 乃觀測者針對標記的樹木，利用望遠鏡任意選擇樹冠上的枝條，15 秒內所計數到的果實，再移至該樹的另一側，另 15 秒內所記數到的果實。二筆結果相加，即代表該樹於 30 秒內所得的結果豐度指標。另一為 Grave 修正指數 (Graves' modified scale, cited in Koenig et al. 1994)，乃主觀將該樹之整體結果量界定為四種等級：0=沒有觀察到堅果，1=仔細搜尋後可發現少量堅果，2=有一些堅果，3=堅果產量不錯，4=堅果產量十分豐盛。

二、種子陷阱 (Seed trap)

為瞭解每年結果季青剛櫟果實產量的變動，我們將沿樣線每隔 50 m 的兩側，延續前期標記的樣樹，總計 197 棵 (黃美秀等 2009)。於果熟至開始落果前 (約 10 月上半或中旬) 至結果結束 (次年 1 月底或 2 月)，將 0.85 m*0.85 m 的蘭花網作為種子陷阱，置於樹冠下離地面約 1 m 的高度，每月上山調查期間收集陷阱內的掉落櫟實，下山烘乾後，分類、測量及記錄櫟實完好狀況、數量和乾重，以計算不同月份的相對出現量。

依據青剛櫟果實狀況，將櫟實先分為完整果實及受損果實。完整果之計算包括烘乾後的果徑大於 6 mm 者，或果徑大於 5 mm 之所有成熟果實 (外型飽滿者判定之)。受損果乃是櫟實經動物食用後，遺留的破碎的果皮和部分果肉，遂依據每個種子陷阱上破碎果皮之大小及數量，並以 4 等級 (即 0.25、0.5、0.75、1 顆) 為單位估計全部累計的受損櫟實數量。

三、地面落果區塊 (Ground plot)

為了瞭解掉落至地面的櫟實的留存狀況，以及野生動物對地面櫟實的利用程度，研究者監測地面上落果的留存狀況和數量。自 2009 年起，沿穿越線並間隔約 50 m，挑選一棵已標記為種子陷阱的青剛櫟樣樹，於樹冠層下地勢

較平緩的地面上，且避開種子陷阱所投射至地面的範圍，設置並標記 1 m^2 的地面區塊 (ground plot)，總共 100 個。青剛櫟季每月例行調查時，計數殘存於各區塊較飽滿或內果徑大於 8.5 mm 的完整櫟實數量，之後在放回原處。選擇果徑大於 8.5 mm 的原因，乃參考過去研究者採拾成熟、新鮮的青剛櫟餵食圈養黑熊，隨機選取測量 100 顆果實，其中果徑最小者為 8.5 mm (鍾雨岑，私人通訊)，故本研究以此為標準，方便野外現場調查時比對大小。

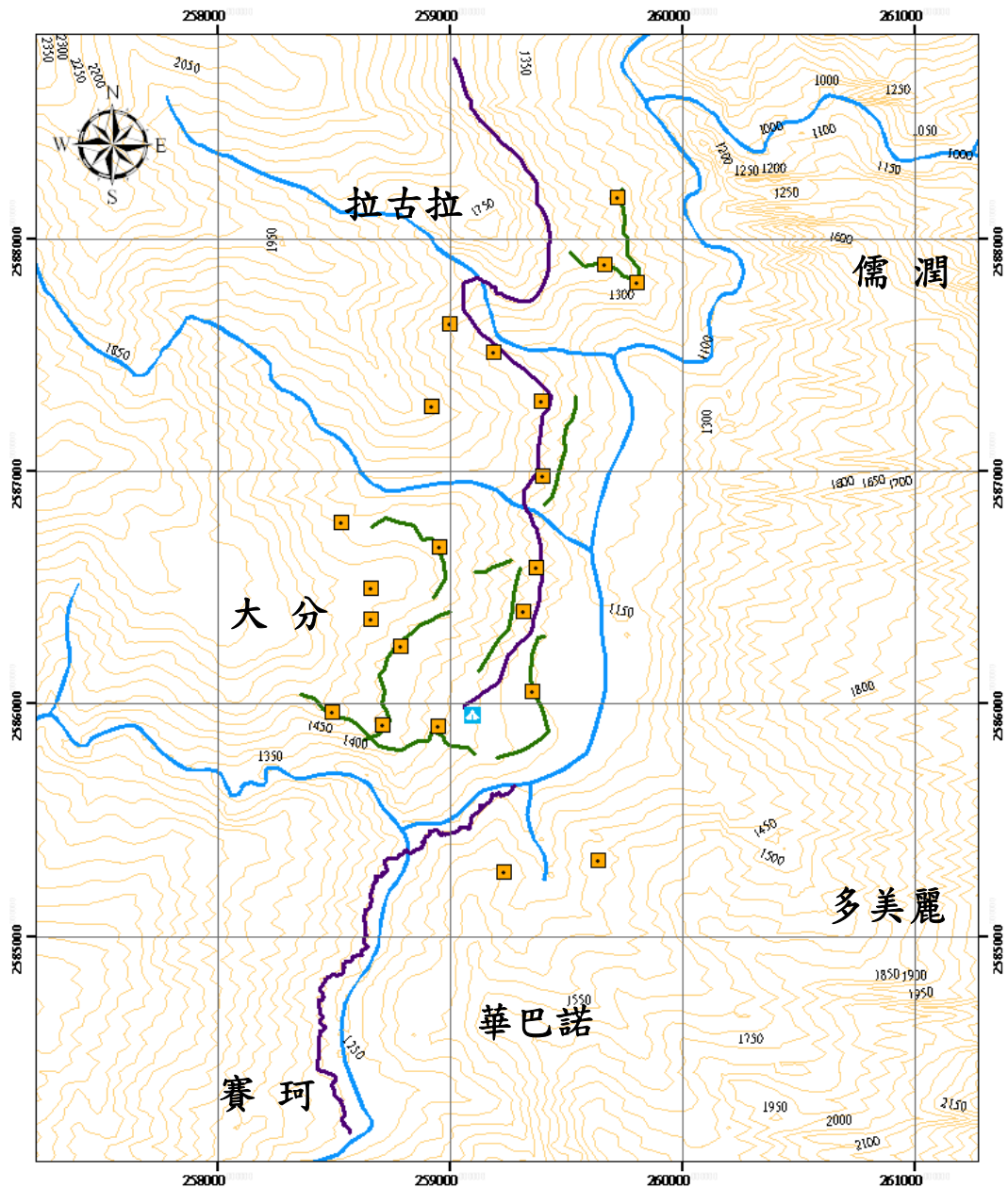
由於每次調查日期大多集中於每個月的月初，故種子陷阱中的掉落物和地面區塊的殘存櫟實皆為上個月的累積量，故在資料呈現上，遂以調查期的上個月份表示，並計算各月的果實累積總量。此外，為瞭解地面上櫟實被移除的數量和速率，我們比較同一月份種子陷阱和地面區塊的果實累積情形，計算 2 種方法於單位面積 (1 m^2) 上所收集之完整果實數量，種子陷阱乃以調查期間各月果實總數除以該月陷阱數量後，再除以 $0.7225\text{ (m}^2)$ ，而地面區塊面積為 1 m^2 ，故直接將累計的果實總數除以 100 (區塊數)。

第三節 監測台灣黑熊豐富度







為了監測台灣黑熊於整個青剛櫟結果期間對於樣區堅果的利用狀況，我們於各年青剛櫟結果季結束後，即次年 2 月，沿著調查青剛櫟果實的 8 條樣線 (T1-T8, 5.2 km)，由 2 位有經驗的調查者分別檢視兩側 3 m 內所有胸高徑大於 10 cm 的青剛櫟樹木，計數樹幹上該季黑熊留下爪痕或折枝痕的樹木。本研究使用三種指標來呈現該結果季黑熊活動的程度，分別為 1 km 內的所有熊爪痕樹的棵數、每 50 m 有無熊痕跡出現的頻度，以及 1 km 內的熊痕跡單位 (5 m 內的所有熊痕跡，皆視為同一筆熊痕跡單位) 數量。

為了增加該季黑熊活動 (痕跡) 指標的調查範圍，我們另加入鄰近區域的二條樣線：一為大分山屋至塔達芬崩壁的日據古道，約 3.25 km (分為兩段：南段長 1.85 km ，編號 DN；北段長 1.4 km ，編號 LG)，另一為大分南側，沿闊闊斯溪西岸至賽柯的古道，長 1.8 km (編號 S，圖 1)。

圖 2-1.1、大分研究樣區長期調查樣線及樣點的分布，包括青剛櫟調查樣線、年度熊痕跡調查樣線和熊毛陷阱（座標系統：TWD-67）。



圖例說明

- | | |
|--|---|
|  大分山屋 |  熊毛陷阱 |
|  溪流 |  年度熊痕跡調查樣線 |
|  等高線 |  青剛櫟調查樣線 |

0 0.25 0.5 1 1.5 2 公里

第四節 野外台灣黑熊遺傳資料收集和分析

一、收集野外台灣黑熊排遺

野外調查期間，研究者逢機收集所發現的黑熊排遺，一般多在調查樣線上，以及其他所經之處，搜尋範圍通常是路徑二側各 1-5 m 處。然若發現附近有黑熊破壞的折枝，研究者亦會主動前往探究，並尋找相關熊痕跡（包括排遺）。發現排遺後，紀錄日期、相對位置，以相機拍照紀錄，以及全球定位系統（Global Positioning system, GPS；機型：GARMIN GPSmap 60CSx）紀錄位置座標。另並編號紀錄大致的排遺內容物和新舊程度，其中新舊程度乃依照排遺當時的色澤、濕度、分解狀況來評估，並將排遺排放至採樣時間分為五級：(1) 新鮮 (0-2 天)；(2) 3-7 天；(3) 1-2 週；(4) 3-4 週；(5) 1 個月以上。

本年度為增加黑熊遺傳樣本的收集效率，並利用非侵入性方法監測台灣黑熊活動的時空變動，本計畫除持續利用前期於大分地區所設置的熊毛陷阱（圖 2-1.1）之外，也於大分以外地區增設熊毛陷阱，每個陷阱相距約 2 km，架設於遠離步道 100 m 以外的位置。熊毛陷阱依 Woods et al. (1999) 研發之方式架設，鐵絲圍籬中央懸掛兩個黑熊構不到的底片盒或寶特瓶，高度至少 2 m，裡面分別裝有沾浸不同氣味劑（如果實、肉類、蜂蜜口味）的棉花球，以吸引黑熊前來。黑熊於跨越或穿過圍籬時，一小撮的毛髮便會留在圍籬上的倒鉤上。

每隔約 1-2 月檢視熊毛陷阱及更新氣味劑，並收集留在鉤刺上的毛髮。毛髮樣本保存於 4 或 5 號夾鍊袋中。在夾鍊袋寫上採集日期、採集人、採集陷阱名稱、毛髮所在的鐵絲編號、物種以及毛髮量的多寡為劃分三個等級：(1) 1 根毛髮；(2) 2~4 根毛髮；(3) 5 根毛髮以上。帶回實驗室的樣本以 -20°C 保存，以待後續分析。

此外，本計畫同時利用黑熊排遺偵測犬（scat detection dog）協助，此法將可能成為研究台灣稀有、隱蔽性動物的突破技術。排遺偵測犬近年來已經

開始被許多野生動物研究者利用，並且被證實是一非常有效且實用的作法 (Wasser et al. 2004)。使用之熊排遺偵測犬，為自紐西蘭輸入之德國短毛指示獵犬，犬隻之訓練及照養則與屏東科技大學偵測犬中心合作，訓練課程由該中心特聘的國際偵測犬訓練師 Rene Gloor 負責。野外搜尋台灣黑熊排遺任務由搭配受過領犬員訓練的領犬員、研究者和犬隻所組成的犬組執行。

偵測犬組之執行搜尋任務時，其方法為至一預定搜尋之區域，由領犬員指示偵測犬搜尋範圍並確認全部都找過。當偵測犬在定點坐下即表示找到目標排遺，領犬員及隨行之研究人員立即上前確認，若確認為台灣黑熊排遺則由領犬員給予偵測犬獎賞；然若確認並非為黑熊排遺，則將狗帶開，並繼續執行搜尋工作。若偵測犬停留在同一地點，並不停聞嗅，領犬員也會上前查看，以確認犬隻是否找到目標排遺。若是，則給予獎賞；若否，則將狗帶開，藉以加強偵測犬對於不同氣味之臺灣黑熊排遺之辨認能力，並與其他取食相似食物之動物（比如野豬）排遺做區別。

採樣黑熊排遺時，將樣本分裝於 A、B 兩管。A 管為內含 10 ml 酒精的 15 ml 離心管，以棉棒刮取排遺表面，目的為了刮取熊腸黏膜細胞，取樣排遺體積約 1 ml，此管後續存放於 -20°C 之環境。B 管則為內含 3 ml 酒精的 5 ml 抗凍管，取樣排遺體積約為 1 ml，後續存放於 -80°C 之冰箱，以為備份之用。

二、黑熊基因型檢定 (genotyping)

(1) 熊毛髮及排遺樣本之 DNA 萃取

進行毛髮 DNA 萃取時，等級 1 (1 根毛髮) 和 2 (2-4 根) 之毛髮樣本，皆以全數毛髮進行萃取；等級 3 (5 根以上) 之毛髮樣本，則僅以 5 根毛髮進行萃取。萃取出之 DNA 稀釋後，以分光光度計 (spectrophotometer) 測量其 O.D. 值 (Optical Density)。O.D. 值的原理，來自光譜分析學一個簡單的原則，即相同化合物會專一性地吸收特定波長的光譜，組成 DNA 的核苷酸 (nucleotide) 就會吸收 260\AA 波長的光，故藉由計算對該波長的吸光值 (absorbance) 即可推算 DNA 的濃度。

我們剪取毛髮樣本含毛囊端的部分進行遺傳分析所需。若遇毛髮無毛囊的情況，則特別紀錄以供日後查證之用。DNA 的萃取採用 proteinase K/ phenol/ chloroform 方法 (Kocher et al. 1989)。此法以滅菌過的 dd H₂O 沖洗去除毛髮表面雜質，取 1 至 5 有毛囊的黑熊毛髮，剩餘熊毛放回封口袋，放回 -20°C 以保存。以剪刀取離毛根 0.5 cm 之毛髮，於加入 500 μ m reaction buffer 及 25 mg/ml proteinase K 於 56°C 下反應一天。之後再加入 500 μ L 之 PCI (phenol:chloroform:isoamyl alcohol = 25:24:1) 高速震盪 5-10 秒，再以 12,500 rpm 離心 10 分鐘。此時上清液中含有 DNA 物質；抽取上清液 300 μ L，至另一新離心管中，加入上清液之 1/10 體積 3 M 的 ammonium acetate，與 99% cold ethanol，加至體積達 1.5 ml。上下輕晃數次，放入 -20°C 冰箱存放 10-20 分鐘或隔夜 (over night)。之後以 4°C，12500 rpm、離心 10 分鐘。以酒精沈澱後，抽去酒精，加 50 μ m 的 TE buffer 在以分光光度計測量其中 DNA 濃度，隨後保存於 -20°C 環境中。

本研究黑熊排遺樣本的 DNA 萃取乃依據 (Hung et al. 2004) 的方法進行。於去除排遺樣本中大顆粒物質與食物殘渣後，以酒精離心 7 分鐘後倒去酒精，刮取最上層排遺泥質至另一離心管。加入 1.8 ml 的兩倍 CTAB buffer 入 2 ml 的離心管中，5 分鐘。之後取 1.5 ml 上清液至另一離心管，加 0.5 ml 氯仿 (chloroform)，混搖均勻離心 5 分鐘。重複以上步驟，但改取上清液 1.3 ml。移至另一離心管，加 0.6 ml 異丙醇，置於 -20°C、10 分鐘下。後以 150 rpm 搖晃 30 分鐘，20°C 下 13,000 rpm 離心 5 分鐘，再倒去液體，並加 1 ml 70% 酒精，於 20°C 下以 13,000 rpm 離心 4 分鐘。吸取或利用乾浴加熱器去除殘存酒精，之後用 QIAGEN DNeasy® Tissue kit 純化 DNA 後，以分光光度計測量其中 DNA 濃度後，存放於 -20°C 環境中。

(2) 聚合酶連鎖反應增幅微衛星 DNA 片段

本研究利用 Shih 等人 (2009) 針對台灣黑熊所篩選之 10 組微衛星基因座 (microsatellite loci) 引子 (UT1、UT3、UT4、UT23、UT25、UT29、UT31、

UT35、UT36、UT38) 進行聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction: PCR) 實驗。在進行聚合反應時，反應總體積為 10 μ L，包含滅菌水 (ddH₂O)、引子 (Forward 端，) 1 μ M、螢光物質 (FAM, HEX 或 TAMRA) 0.18 μ L、引子 (Reversed 端) 10 μ M、dNTP 2.5 mM、10 倍的 PCR 緩衝液 (buffer)，MgCl₂ 25mM、Taq 聚合酶 0.05 μ L，以及排遺或毛髮萃取出 DNA 物質 0.5 μ L。

在溫度循環控制儀 (thermal cycler) 進行 40 次的聚合酶連鎖反應，循環條件如下所示：

- (a) 94°C、30 秒：使雙股 DNA 變性打開 (denaturing)。
- (b) Ta (黏合溫度；不同引子，有著不同的黏合溫度本實驗分別有 64、62、56°C 三種溫度)，30 秒：使打開的雙股片段與引子煉合 (annealing)。
- (c) 72°C、20 秒：此時聚合酶進行延伸聚合反應 (extension)。
- (d) 72°、7 分鐘：讓反應不全的片段繼續反應完成。

(3) 性別鑑定

性別的鑑定則採用兩組性別鑑定引子 (Aml-UF/Aml-UR 與 SE47/SE48，Yamamoto et al. 2002)。本研究使用已知性別的圈養黑熊個體的血液樣本 (一熊二雌，來源屏東科技大學保育類野生動物收容中心) 作為試驗。在進行 PCR 後，以 5 μ L 的 PCR 產物進行 3% 的瓊脂糖凝膠電泳 (agarose gel electrophoresis) 檢視結果。如果電泳後，發現結果難以辨識，則將 PCR 產物進行毛細管電泳，以辨識性別。

(4) 基因型 (genotyping) 測定

聚合酶連鎖反應的產物置於 96 孔盤中，以 ET-400 作為校正標準，並以 Megabase 500 自動定序儀進行毛細管膠體電泳分析。之後利用軟體 Genetic profiler Version 1.5 (Amersham Biosciences) 進行基因型判讀，並將所得結果輸入軟體 Microsoft Excel 匯入成表格。

為了避免等位基因遺漏 (allelic dropout) 及假性等位基因 (false allele)

造成誤判基因型及假性個體的機會，以重複多次 PCR 的方式減少假性等位基因出現 (Taberlet et al. 1996)。每組基因座進行最少二次重複且獨立的聚合酶連鎖反應，最多可達四次。每個基因座判斷基因型依據如下 (Hung et al. 2004)：

- (a) 每個樣本皆利用十個微衛星基因座進行第一次聚合酶連鎖反應。
- (b) 每個樣本在第一次 PCR 之後，出現四個以上的基因座擴增失敗，此樣本即不予繼續分析。
- (c) 在第二次 PCR 中通過的樣本，經過分析，每個基因座可能是異型合子 (heterozygous) 或是同型合子 (homozygous)。異形合子表示了在分析中具有明顯的兩波峰，代表了兩個等位基因。同形合子則可能是另一個等位基因在聚合酶連鎖反應失敗或是本來就是相同基因，必須增加另兩次的 PCR 去驗證此基因座。
- (d) 經過兩次獨立的 PCR 後，皆出現同樣的基因型，則判定為同一合子。如果樣本在異形合子出現一個或多個基因型，需多做幾次 PCR 確認基因型。
- (e) 當樣本經過四次 PCR 後，還有未確認基因型四個以上。此樣本不進行後續分析。
- (f) 經確認有 7 個完整的基因座以上的樣本，進入後續數據分析。

(5) 資料分析

就黑熊毛髮樣本，我們比較萃取所使用的毛髮量、毛囊數量分別與所萃取到的 DNA 濃度及 7 組微衛星基因座之擴增成功率的關係。另分析排遺樣本的 PCR 擴增成功率與採集樣本的新舊狀態，以期建立後續樣本採樣及分析的流程參考。

經過毛細管電泳所得的基因型，使用 GENEAP 軟體 (Wilberg and Dreher 2004) 判讀及計算個體鑑別率 (probability of identity: $P_{(ID)}$)，此為「族群內兩個不同個體進基因座基因分型時，具有同樣的基因型的機率」。一般建議

$P_{(ID)}$ 必須小於 0.01，實驗方具有鑑別力 (Miller et al. 2002)。同時利用此軟體檢視有無重複的基因型，如果出現兩樣本的基因型只有 1-2 個基因座為不同的基因型 (mismatch-pairs)，則再對此基因座進行一次 PCR，確認基因型是否正確。在共顯性遺傳的分子標記上，單一基因座之 $P_{(ID)}$ 計算方式如下 (Waits et al. 2001)：

$$P_{(ID)} = \sum_{i=1}^n p_i^4 + 4 \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{n-1} p_i^2 p_j^2$$

其中的 p_i 與 p_j ，分別為基因座上第 i, j 個交替基因頻率。

除了判讀出之遺傳訊息辨別出個體數及出現的頻率之外，同時使用軟體 CERVUS (Kalinowski et al. 2007) 計算每個基因座的觀測異質度 (Observed heterozygosity, H_O) 與理論異質度 (Expected heterozygosity, H_E)，其中 H_O 常被用為做為族群內遺傳變異分析的依據，而較高的 H_E 值則通常代表族群有較高的遺傳歧異度。

同時以 Genepop (Raymond and Rousset 1995) 分析這些基因座的對偶基因是否符合哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)，並採用費氏精確測驗法 (Fisher's exact test) 來評估有無偏離哈溫平衡。以 FSTAT 軟體計算 F_{IS} 值，再檢定其 95% 信賴區間 (confidence interval) (Goudet 1995)， F_{IS} 值的意義是用來評估族群是否偏離哈溫平衡。當 $F_{IS} > 0$ 時，表示族群可能有近親交配的現象；反之 $F_{IS} < 0$ 時，則表示可能有遠親交配的情況產生。 F_{IS} 的計算定義如下 (Wright 1978)：

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_O}{H_E}$$

在檢視完每個樣本的基因型後，我們亦檢視每個基因型在樣區於不同時間的出現情形，以瞭解個體對於大分地區的時空利用情況。

(6) 族群估算

本研究為估計野外台灣黑熊族群數量的首例，我們進一步以基因型檢定結果做為標識再捕捉法 (mark-recapture) 之歷程，以 MARK 軟體 (White and Burnham 1999) 分析樣區黑熊活動較為頻繁的時期。此法原理乃透過活體捕捉技術將一個族群取樣多次，且於每一次的捕捉過程中，每一被捉到的無標記個體皆會被給予適當且獨特的標記，以鑑識個體差異。我們暫根據封閉族群 (closed population) 的設定，估算活動於此區的黑熊數量，此範圍是以所有在樣區標定個體的整個涵蓋區域，甚至可能包括國家公園外圍區域。使用封閉族群模型的條件為在取樣期間，族群呈穩定狀態，即個體沒有出生、死亡、遷入、遷出，故族群的大小和個體皆都不會改變。除了族群是封閉的前提假設之外，此模型另須符合以下假設：(1) 族群中所有的個體被捕獲的機率相等，且個體行為獨立；(3) 標記不會遺失或紀錄錯誤。

第三章 結果與討論

第一節 青剛櫟果實豐富度之監測

一、目視估計 (visual survey)

本研究於 2010 年 10 月 12 日至 16 日期間，利用望遠鏡目視掃描 346 棵青剛櫟果實監測永久樣樹，以 Graves' 修正指數估算 2010 年青剛櫟結果季的結果量，結果指數平均為 2.03 ± 1.02 (mean \pm SD)，以指數 2 有一些堅果者最多佔 42.2%，其次依序為仔細搜尋後可發現少量堅果者 (指數 1) 佔 23.7%，堅果產量不錯者 (指數 3) 佔 18.5%，堅果產量十分豐盛者 (指數 4) 佔 9.8% 和樹上沒有觀察到果實者 (指數 0) 佔 5.8% (圖 3-1.1)。和前 4 年相比 (2006-2009 年)，2010 年的 Graves' 修正指數平均值則僅次於 2008 年 (2.20 ± 1.15)，而高於 2006、2007 和 2009 年 (1.53-1.69)，且顯示結果產量較好的指數 3 和 4 在各年內所佔之比例也僅次於 2008 年 (黃美秀等, 2009)。

利用 30 秒內計數青剛櫟果實數量，2010 年為 54.1 ± 44.3 顆/棵，與 Graves' 修正指數的估算呈顯著的正相關 (Pearson correlation, $r = 0.897$, $P < 0.001$)，且年間結果量變化之趨勢，與 Graves' 修正指數之估計結果相似，僅次於 2008 年的 56.1 ± 46.9 顆/棵。

二、種子陷阱

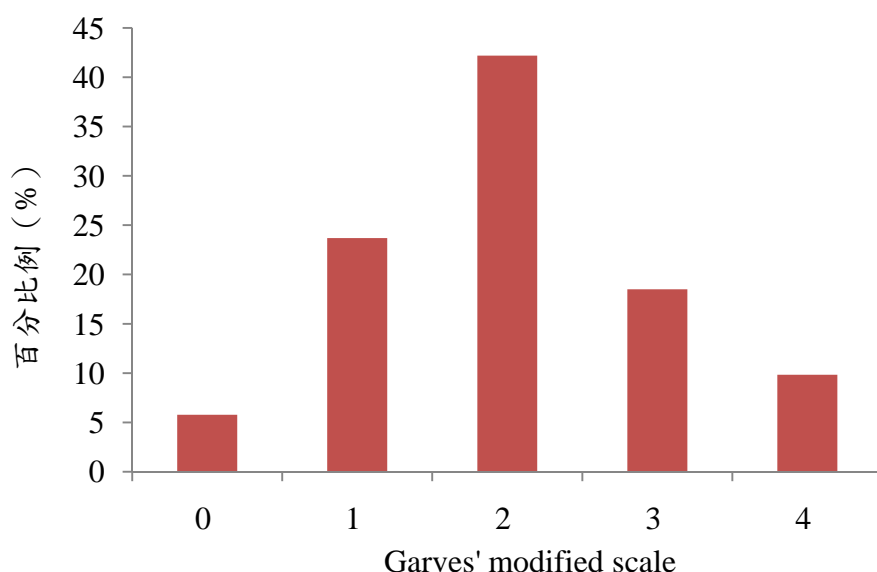
2009 年的青剛櫟結果季，我們自 2009 年 10 月開始約每月收集種子陷阱上的青剛櫟果實共四次，由於最後一次收集為 2010 年 2 月底，故資料累積月份分別為 10 月、11 月、12 月和 1-2 月。每月有效種子陷阱數為 185 至 194 個不等，累計各月平均每個種子陷阱的果實數中，完整果實和受損果實分別為 8.2 顆和 6.9 顆，皆為 2006-2009 年四年結果季中的最低，平均每個種子陷阱的完整果實數甚至不到 2008 年結果季 (29 顆) 的三分之一，平均總果實數 (15 顆) 也不及 2008 年 (44 顆) 的一半，且小於 2006 年 (24 顆) 和 2007

年（26 顆），此情形與兩種利用目視法估算果實豐富度的結果一致，2009 年皆為最低。

將每個陷阱所收集的果實總量轉換為密度，則 2009 年結果季的青剛櫟估計生產量為 21 顆/m²，而陷阱所收集的完整果實量代表為地面活動動物的食物可得度，密度為 11.4 顆/m²。

分析青剛櫟樣樹於 2009 年結果季利用種子陷阱所收集的青剛櫟果實，包括被動物取食破壞的受損果實數量、完整果實數量，以及前二者之總量，分別與 2009 年 10 月利用兩種目視法（即 Graves' 指數及 30 秒計數）值估計該樣樹的結果量指標的相關性檢定，2009 年的所有比較皆呈現顯著相關（Pearson correlation, $r = 0.291-0.413$, $P < 0.01$, $n = 142$ ，表 3-1.1），此情形與過去三年（2006 年-2008 年）的結果相同，但 2009 年的相關係數普遍較前三年為低，且除了受損果實外，兩種目視法與完整果實、落果總量的相關係數，以 Graves' 指數大於 30 秒計數。

圖 3-1.1、2010 年目視法調查大分地區青剛櫟落果前的結果量（Graves' modified scales: 0=沒有觀察到堅果，1=仔細搜尋後可發現少量，2=有一些，3=產量不錯，4=產量極豐盛）。



各月的情形中，平均每個陷阱收集的完整果實數、受損果實數，或前二者的總量皆以 12 月最高，其次為 11 月、10 月和次年 1-2 月（圖 3-1.2），此趨勢與 2007 年和 2008 年一致。12 月的完整果實數有 3 顆/陷阱為高峰，11 月（2.7 顆）僅略少一點，10 月也有將近 2 顆，而 12 月的受損果實數 4 顆達 11 月（1.8 顆）的兩倍以上，10 月則僅 0.7 顆，到了次年 1-2 月，不論是完整果實或受損果實數皆不足其他月份的一半。

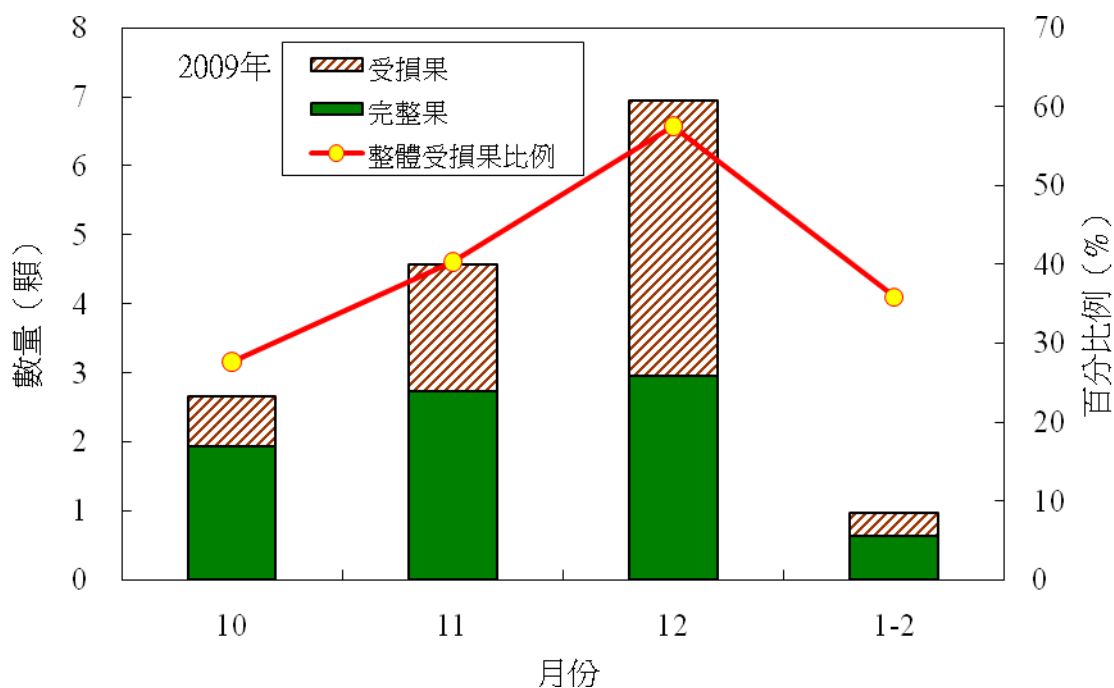
2009 年結果季的受損果實佔總收集量之比例為 46%，綜合過去 3 年的結果，同樣支持此比例隨青剛櫟果實的總收集量而略微遞減的發現。各月變化自 28%-58%，其中以 12 為最高，11 月次之，且在落果高峰的 12 月；2009 年的受損果比例為四年中最高，為該月總果實數量的一半以上。

表 3-1.1、2009 年青剛櫟結果季，以 Pearson 相關係數檢視利用兩種目視法所估計的結果情況，分別與該樣樹利用種子陷阱所收集的落果量之關係（P 皆 < 0.01，n = 142）。

調查方法	年份	完整果實	受損果實	全數果實 ^a
Graves'修正指數	2009	0.413	0.291	0.347
30 秒計數	2009	0.402	0.302	0.350

^a 完整果實和受損果實之總數

圖 3-1.2、2009 年青剛櫟結果季，平均每個種子陷阱(0.85*0.85 m²)所收集的青剛櫟落果情況。



三、地面青剛櫟果實的留存狀況

於 2009 年 10 月至 2010 年 2 月期間，調查地面區塊較飽熟且完整櫟實的數量，以及發現完整櫟實的區塊比例之結果，皆以 11 月為最高 (0.9 顆/m²；35%)，其次為 10 月、12 月，9 月和 1 月則僅有 0.04 顆/m²和 4%的區塊有完整果實。和 2007 年 10 月至 2008 年 2 月的調查結果相比，雖然在篩選果實果徑條件上有些許差異，但平均果實數和區塊比例在月份內仍以 10 月或 11 月為最高或其次，隨之遞減至次年 2 月，且 2009 年 10 月雖在單一區塊內最多可調查達到 11 顆果實，但平均仍只有 0.85±1.92 顆/m² (mean±SD)，11 月也只有 0.89±1.52 顆/m²，顯示地面殘存的完整果實量並不高，而且 11 月在發現有落果區塊之比例 35%為最高，同樣顯示約有三分之二的區塊在落果高峰時，依然沒有發現任何果實。

種子陷阱中的完整果實可視為該月落至地面的青剛櫟果實，也就是地面

活動的動物潛在可利用的食物資源，故比較種子陷阱所收集的完整果實數量與同時期地面區塊所觀察的殘存果實，其差值可視為二次調查之間該期間地面動物移除或利用的數量。2009年11月和12月地面果實被移除量最高，分別為3.7和4.8顆/m²，10月約一半為1.9顆/m²，至1月則減少到1.0顆/m²（表3-1.2）。雖然就果實移除量的結果與2007年青剛櫟結果季的監測結果相較來的少，但這可能是受限於2009年結果季青剛櫟產量較差，果實的可得性即偏低，因為從果實被移除的比例來看，2009年11月至隔年1、2月，每個月有超過80%落至地面的櫟實皆被移除，甚至可達到96%（表3-1.2），兩年監測結果均顯示，動物對於本研究地區青剛櫟落果的掠食壓力非常的大。

表 3-1.2、2009 年 9 月至 2010 年 2 月青剛櫟結果季期間，大分青剛櫟森林中，地面區塊（n = 100）和種子陷阱（n = 197）各月所收集青剛櫟完整果實的數量。

年份	月份	地面區塊*		種子陷阱*	地面果實 被移除量 (顆數 /m ²)	地面果 實被移 除百分 比例
		平均果實數 (顆數/m ²)	出現果實 之百分比 例	平均果實數 (顆數/m ²)		
2009	Sep	0.04	4%			
	Oct	0.9	27%	2.7	1.9	69%
	Nov	0.9	35%	3.8	3.7	81%
	Dec	0.2	17%	4.1	4.8	96%
2010	Jan (-Feb)	0.04	4%	0.9	1.0	96%

*地面區塊大小 1*1 m²；種子陷阱為 0.85*0.85 m²。

第二節 台灣黑熊的活動

一、台灣黑熊於青剛櫟結果季活動痕跡的年度調查

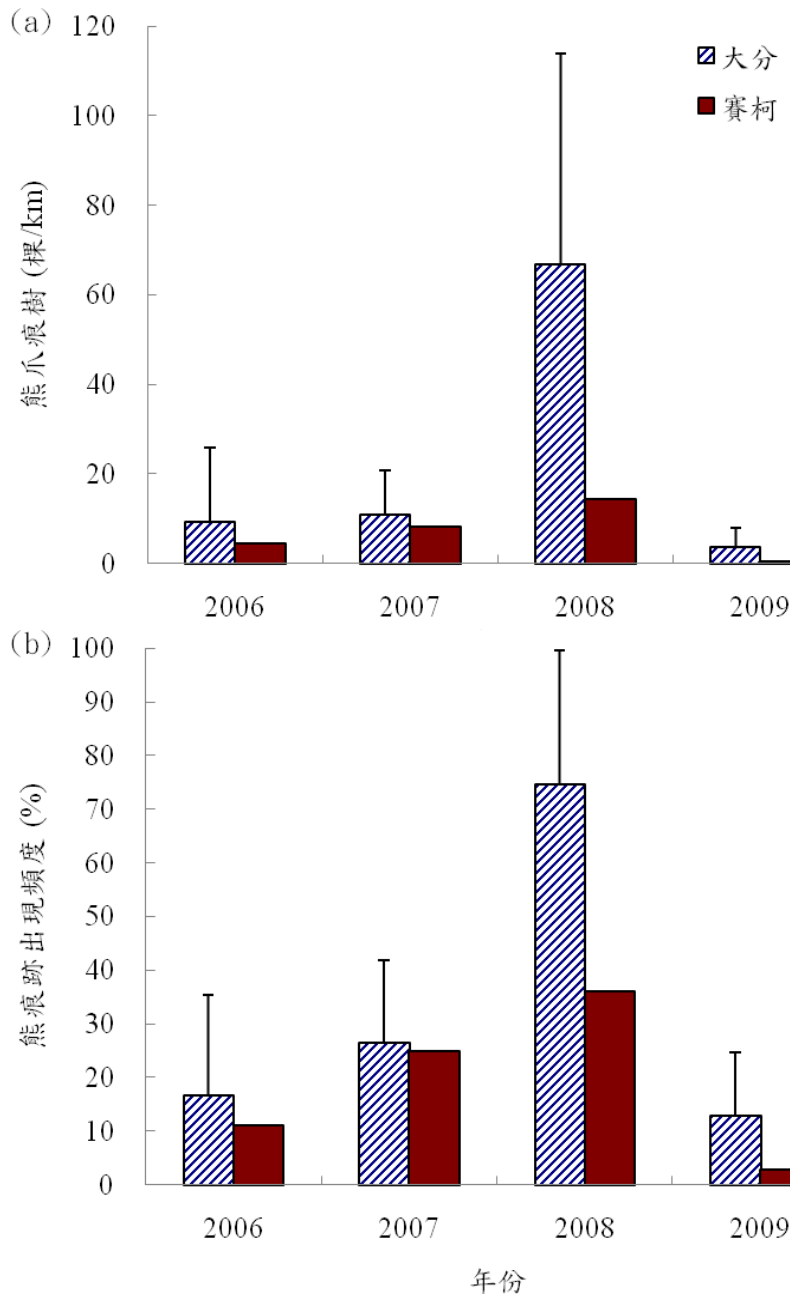
本研究監測青剛櫟結果豐富度區域集中位於大分，為了有效比較青剛櫟果實產量和黑熊活動痕跡之關係，我們除了平均所有穿越線（ $n = 11$ 條）的各項熊活動指標之外，資料分析也將賽柯區域的穿越線資料排除，僅針對大分區域的黑熊活動指標為主。

在大分地區的熊痕跡調查樣帶上，平均 1 km 所紀錄的熊爪痕樹依次為： 66.8 ± 47.1 棵（ $n = 8$ 條，2008 年）、 10.8 ± 10 棵（ $n = 10$ ，2007 年）、 9.1 ± 16.8 棵（ $n = 9$ ，2006 年）、 3.7 ± 4.3 棵（ $n = 10$ ，2009 年）；熊痕跡的出現頻度則依序為： $74.6 \pm 25.1\%$ （2008 年）、 $26.3 \pm 15.6\%$ （2007 年）、 $16.6 \pm 18.8\%$ （2006 年）、 $12.9 \pm 11.7\%$ （2009 年）（圖 3-2.1）。該二種指標皆以 2008 年最高，顯著大於其他三年（ P 皆 = 0.012, Wilcoxon sign rank test），2007 年亦皆顯著大於 2009 年（ $P = 0.022, 0.05$ ），而 2006 年與 2007 年，以及與 2009 年間則皆無顯著差異。此二種指標對於黑熊活動的程度反應出一致的年間變化，即 2008 年明顯地高於其他三年，且 2009 年為最低。

大分南岸的賽柯地區雖僅有一條調查樣帶，二種熊活動指數皆較大分低，尤以 2008 年的差異特別明顯，但四年間的相對變化趨勢仍是與大分地區相同（圖 3-2.1），然而本研究並未同時監測賽柯地區的青剛櫟果實產量，因此無法得知各年青剛櫟結果季的果實豐富度變動情形對賽柯地區黑熊活動之影響，以及兩個不同區域於同一年的差異是否為食物資源可得性所造成。

若就每 km 計數的熊痕跡單位來看，雖然缺乏 2008 年的資料，但 2006 年（ 5.7 ± 8.4 , $n = 9$ ）、2007 年（ 9.0 ± 7.4 , $n = 10$ ）和 2009 年（ 3.2 ± 3.2 , $n = 10$ ）三年的相對變化情形仍與前述兩種指標相似，2009 年為最低，且 2007 年顯著大於 2009 年（ $P = 0.028$ ）。

圖 3-2.1、大分及賽柯地區調查樣帶（左右寬各 3 m），紀錄台灣黑熊於該年青剛櫟結果季的活動狀況，二種黑熊的活動指標分別為（a）平均 1 km 內的所有熊爪痕樹的棵數，及（b）每 50 m 有無熊痕跡出現的頻度（%）。



二、熊毛陷阱

由於陷阱工作時間是上一次採集時間至該月採集時間之間，故採樣的時間比毛髮陷阱實際的工作時間約略晚 1 個月，本研究分析所採用的時間皆是反應出實際的操作時間。2009 年 10 月至 2010 年 10 月，啟用 137 月次的熊毛陷阱，總計收集 33 撮熊毛，其中以 2009 年 12 月為最多有 12 撮，其次為 2010 年 10 月有 10 撮，2010 年 1 月和 4 月則無熊毛記錄。累計各月收集到樣本的陷阱上為 10.2% (= 14/137)，其中以 2010 年 11 月和 12 月較高，分別為 15% 及 20%，各月平均每一陷阱所收集到的熊毛撮數則以 2010 年 10 月為 0.63 撮 ($n=16$) 為最高，其次為 2009 年 12 月為 0.60 撮 ($n=20$ ，表 3-2.1)。

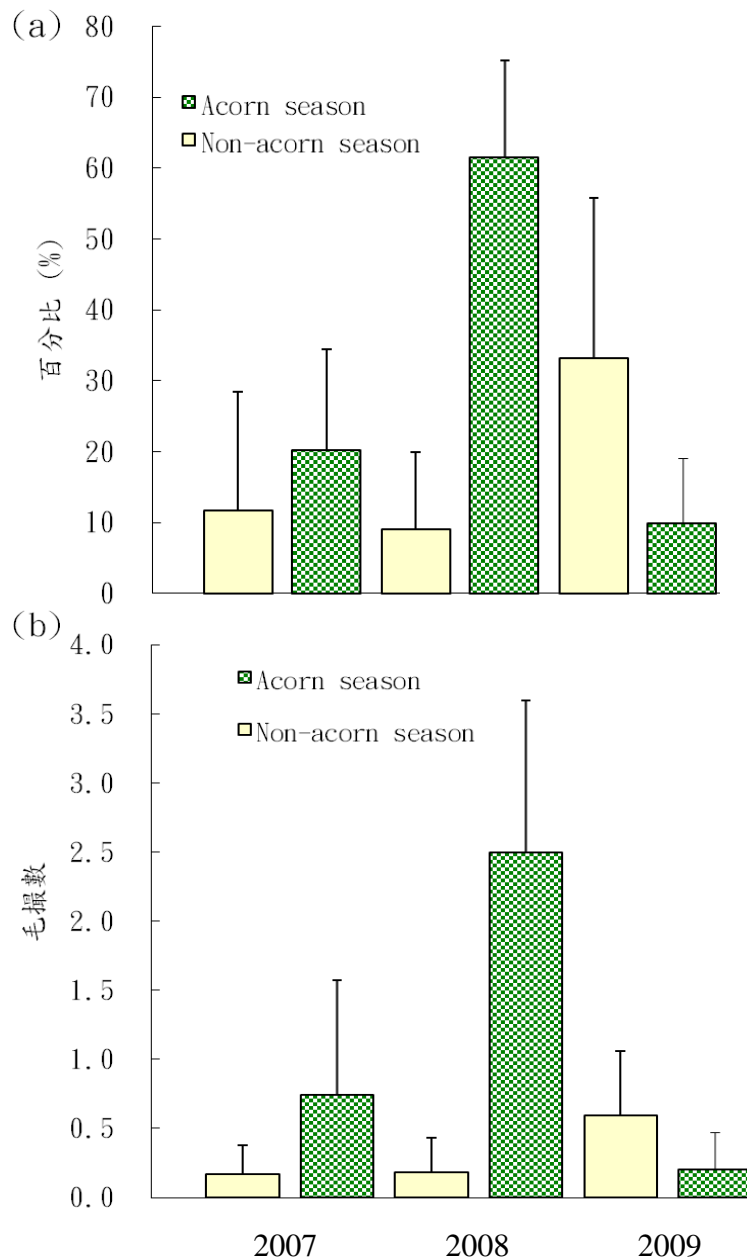
2009 年青剛櫟結果季 (2009 年 10 月至 2010 年 1 月) 的平均各月有熊毛記錄陷阱比例和平均每一陷阱熊毛撮數分別為 $9.9\pm 9.2\%$ (mean \pm SD) 和 0.20 ± 0.27 撮，與過去兩年 (2007 年和 2008 年) 的結果季相比，2009 年結果季的兩個數值都明顯為最小，平均每一陷阱熊毛撮數甚至不及 2008 年的十分之一，且也都小於前一個非結果季 (圖 3-2.2)。

就 2007-2009 年的結果季而言，大分地區熊毛陷阱記錄到熊毛的比例和收集的毛撮數的年間變動趨勢，與黑熊的活動痕跡總量和頻度的年間變化情況相當一致，皆以 2008 年為最高，2007 年其次，2009 年最低，此結果也與三年青剛櫟果實豐富度的變化相同。然熊毛陷阱的熊毛紀錄在非青剛櫟結果季的年間變動情況卻與結果季不盡相同，反之，2009 年的熊毛收集結果普遍較前兩年非結果季好，皆為 3 倍以上 (圖 3-2.2)。可能是受前一個結果季青剛櫟果實豐盛的影響，使得黑熊停留在大分的時間延長。

表 3-2.1、2009 年 10 月至 2010 年 10 月大分地區，各月熊毛陷阱收集到熊毛撮數、有熊毛記錄陷阱之比例，以及平均每一陷阱所收集到的熊毛撮數。

月份	熊毛撮數	有熊毛記錄 陷阱數	啟用陷阱數	有熊毛記錄陷 阱比例 (%)	平均每一陷阱 熊毛撮數
2009 年					
10 月	1	1	21	4.8	0.05
11 月	3	3	20	15	0.15
12 月	12	4	20	20	0.60
2010 年					
1 月	0	0	20	0	0.00
2 月	4	2	20	10	0.20
4 月	0	0	4	0	0.00
6 月	3	2	16	12.5	0.19
10 月	10	2	16	12.5	0.63

圖 3-2.2、2007 年 2 月至 2010 年 1 月大分地區，熊毛陷阱於青剛櫟結果季（10 月至隔年 1 月）與非青剛櫟果季（2 月至 9 月）之採樣結果：(a) 平均每月出現熊毛比例；(b) 平均每月每一陷阱收集的熊毛撮數。



三、台灣黑熊排遺偵測犬

兩隻訓練完成的台灣黑熊排遺偵測犬 Colby 及 Weily 分別於 2010 年 4 月 8-15 日及 10 月 9-17 日隨同領犬員及研究團隊進入大分山區，進行台灣黑熊排遺搜尋任務。自登山口進入步道後，均穿戴工作犬識別背心及配戴電擊項圈，並由領犬員帶領。每次的搜尋範圍通常以領犬員行進之路線為中心線，導引偵測犬在路線兩側約 10-30 m 的範圍進行搜索。

利用偵測犬於野外調查費時總計 18 日，其中約有一半時程用於來回大分的路程上，總共尋獲 8 個排遺。4 月之搜尋地區涵蓋由山風登山口至大分整段步道，以及步道附近地形較平緩地區，包括土多滾、十里、多美麗稜線、莫庫拉蕃和大分地區之長期研究調查樣線，然該次並無找到任何黑熊排遺。10 月之搜尋地區除一般步道外，則以大分地區長期研究調查樣線為主，該次找到共 8 個排遺，分別集中分布於二個地點，其中 2 個位在黑熊剛上樹採食青剛櫟的同一棵樹正下方，內含物皆為青剛櫟(推測 10 月排放)；另 6 個則位在呂宋莢蕨灌叢附近，主要由呂宋莢蕨(推測 9 月排放)組成。

4 月為非青剛櫟結果季，過去資料顯示此時台灣黑熊並沒有集中於大分或某些地區的情況，而會四處找尋食物 (Hwang et al. 2010)。因此，該次之偵測犬的搜尋策略乃考量該區黑熊的行為特性，而擴大搜尋範圍。然可能正因此時黑熊為長距離移動，排遺密度低且分布分散，加上氣候濕暖會提高排遺分解率，而造成排遺搜尋不易。反之，10 月為園區青剛櫟結果季開始，黑熊開始出現較頻繁活動於大分地區的情況，故將搜尋重點著重於大分地區。

本研究發現經過訓練的偵測犬於野外執行搜尋任務時，只要領犬員提供適當的訓練則可達到不主動干擾野生動物的目的。兩隻偵測犬於行進及搜尋過程中，隨行的研究者或領犬員均有多次耳聞或是目擊山羊、水鹿、獼猴等中大型野生動物。對於距離較遠的動物叫聲，犬隻較沒有反應；但是距離較近的叫聲，或可約略看見身影之野生動物，犬隻會顯示興趣而朝來源注視，此時領犬員會適當地安撫並制止犬隻，則可避免犬隻有進一步的行動，並藉此減低偵測犬對於野生動物之敏感度。必要時，領犬員也會配合使用電擊項

圈，同時以口令制止犬隻不適當的行為，以喚回偵測犬。故整個調查期間，未出現犬隻追逐及傷害野生動物的情形。

圖 3-2.3、台灣黑熊排遺偵測犬（德國短毛指示獵犬，Weily），以及配合專業領犬員於野外的的工作情形。



第三節 台灣黑熊遺傳分析

一、黑熊排遺新鮮程度與微衛星擴大成功率

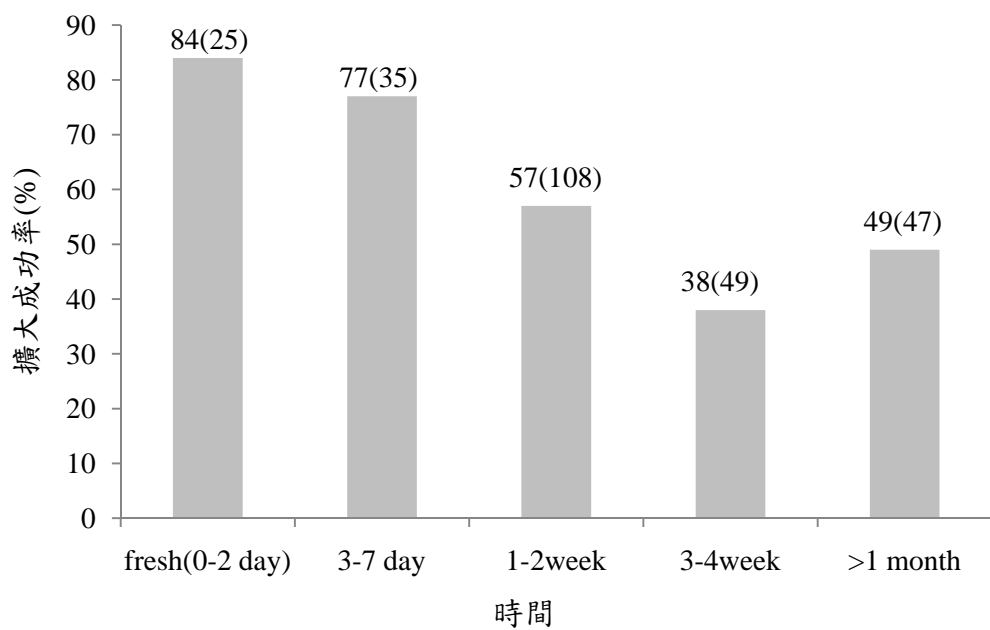
利用 2008 年 2 月 2009 年 1 月所收集的排遺 ($n = 290$)，以 10 組微衛星基因座 (Shih et al. 2009) 進行擴大，每個基因座進行最多四次的增幅，篩選及標定出至少 7 個完整的基因座樣本。所有樣本在擴大 7 個基因座以上的成功率為 54%。2009 年 2 月的排遺樣本因野外作業疏失，26 個排遺樣本沒有新舊程度的紀錄，所以列入分析的樣本為 264 個。樣本微衛星的擴大成功率隨著排遺新鮮程度減少而遞減，二者呈現顯著負相關 (Spearman's rho, $r = -0.254$, $P < 0.001$, $n = 264$)。其中排遺新鮮度在一週內的 PCR 擴大成功率為 77%-84%，1-2 週者則為 57%，但三週以上的排遺樣本的成功率則降至 50% 以下 (38%-49%) (圖 3-3.1)。

我們也發現排遺新鮮等級的判斷有時有因個人或經驗而異的情況，而影響排遺新鮮等級與 DNA 擴大成功率間之關係。例如，分析的 47 個排遺樣本大於一個月者中，有 45 個便源自於某一研究助理於二月 (2009 年) 的收集紀錄。有鑑於在研究室進行微衛星擴大成功率的取樣時，會儘量篩選及使用新鮮的排遺樣本，加上於青剛櫟季的調查間隔為一個月，因此我們事後推測這些被標記為大微衛星擴大成功率，有些事實上應該為一個月以內的新鮮程度。若是如此，則大於一個月的熊排遺樣本微衛星的擴大成功率，理應較樣本新鮮度為 3-4 個星期者為低，亦即不及 38%。

此外，排遺的新鮮程度會影響其內 DNA 樣本之品質，其中排遺排放的環境是影響內含遺傳物質的保存狀況的原因之一，比如日曬、溫度及微生物分解程度，從而影響到擴大成功率。在巴基斯坦，Bellemain et al. (2007) 利用棕熊排遺監測族群指出，新鮮度在一週以上的排遺樣本的擴大成功率小於 40%，故建議減少收集。相較之下，本研究之樣本的擴大成功率偏高，新鮮度在一週以上的排遺樣本的擴大成功率大於 77%，推測某種程度可能與兩地氣候差異有關，因為乾燥高溫會影響排遺內 DNA 的劣解程度。本研究 2 週

以上的樣本的擴大成功率仍高達 57%，甚至新鮮度約一個月的樣本仍有 38% 的擴大成功率，故若考量增加樣本數的情況下，則建議黑熊排遺新鮮程度在一個月以內的樣本都應該列入採集目標之內，以建構 DNA 樣本資料庫；同時建議未來研究可以進一步利用圈養的黑熊個體，搭配戶外環境狀況（如雨季及乾季），檢視切確的排遺新鮮程度與擴大成功率的關係，以提供更明確的採樣依據。

圖 3-3.1、台灣黑熊排遺的 DNA 擴大成功率與排遺樣本新鮮程度之關係圖。長條圖頂端數字為成功率，%（樣本數）（Spearman's rho, $r = -0.254$, $P < 0.001$, $n = 264$ ）。



二、黑熊毛髮採樣及 DNA 萃取

我們分析 2008 年 3 月至 2009 年 2 月在大分地區所收集毛髮的遺傳資訊。該時期總計採集黑熊毛髮樣本 228 撮 (表 3-3.1)。用於萃取 DNA 的熊毛髮數量為 1-5 根不等，萃取所用的毛髮數與萃取出 DNA 量呈現顯著正相關 (Spearman's rho, $r = 0.182$, $P = 0.006$, $n = 228$, 圖 3-3.2A)。由於用於萃取的毛髮樣本有些部份或全部的毛髮無毛囊 ($n=36$ 個樣本)，我們進一步分析萃取樣本所含的毛囊數，發現與 DNA 之 O.D. 值亦呈顯著正相關 (Spearman's rho, $r = 0.163$, $P = 0.014$, $n = 228$, 圖 3-3.2B)。

圖 3-3.2A 2008 年 3 月至 2009 年 2 月大分地區利用毛髮陷阱所採集到黑熊毛髮，萃取 DNA 時所使用的毛髮數與萃取 DNA 之 O.D. 值間的關係 (Spearman's rho, $r = 0.182$, $P = 0.006$)。

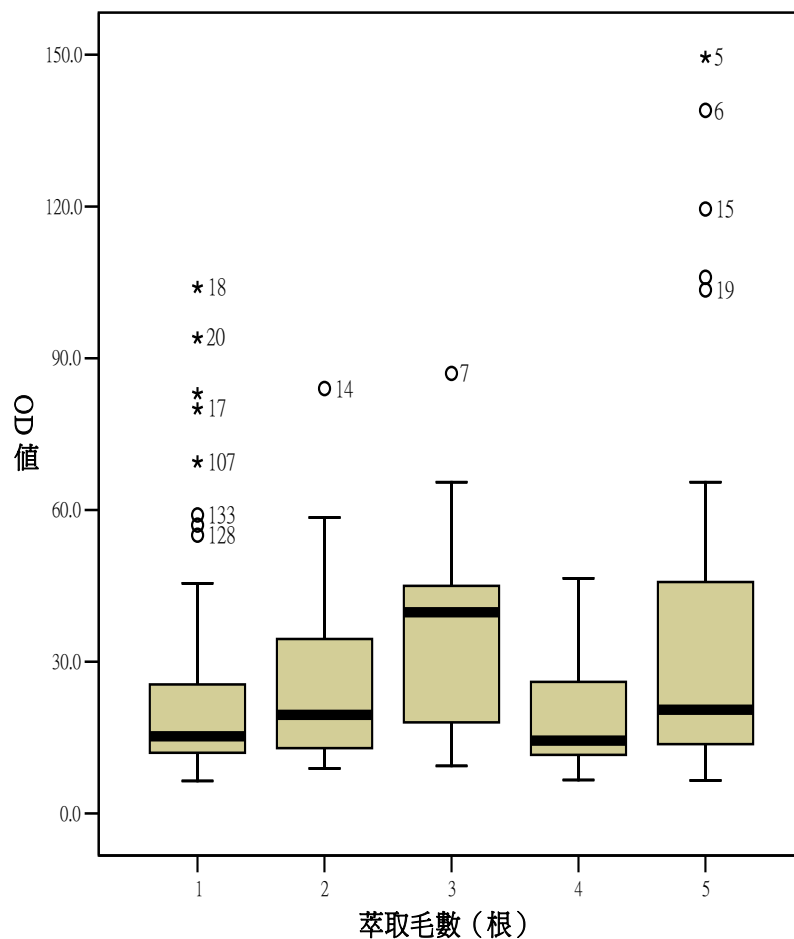
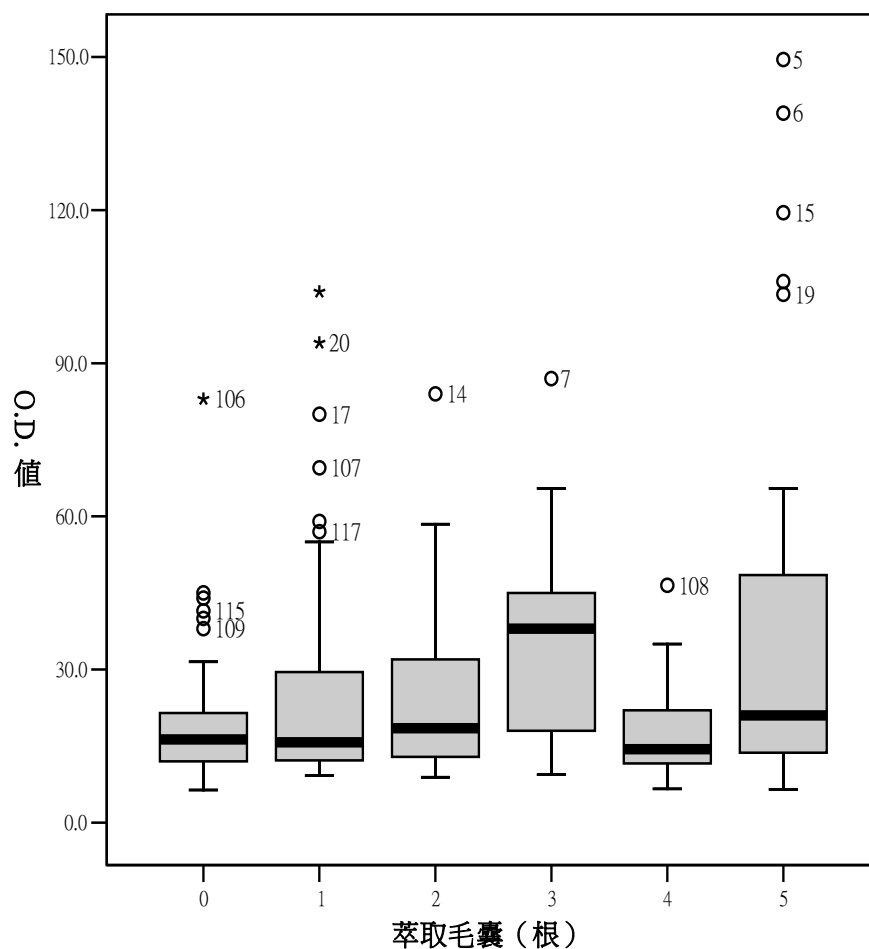


圖 3-3.2B 2008 年 3 月至 2009 年 2 月大分地區利用毛髮陷阱所採集到黑熊毛髮樣本，萃取 DNA 時所含毛囊數與萃取 DNA 之 O.D. 值間的關係 (Spearman's rho, $r = 0.163$, $P = 0.014$)。



雖然用於萃取 DNA 的毛髮和毛囊數量皆與萃取出來的 DNA 含量有關，但兩項分析之相係數皆不及 0.2，此應與無組間資料的高變異程度(圖 3-3.2A)。此結果應該受許多因素影響，包括 (1) 物候環境：鈎留於陷阱上的熊毛髮所暴露環境，如氣溫、濕度、陽光照射，皆可能造成 DNA 的降解而影響 O.D. 值，但降解的情形則進一步的 PCR 實驗方可得知。我們另分別加入樣區密集降雨季 (6-9 月) 或當月雨量 (黃美秀等 2009a) 的二雨量因素進行影響 O.D.

值之變異檢定(two-way ANOVA)，結果顯示雨季($df = 2, F = 0.065, P = 0.937$)或當月雨量($df = 22, F = 0.786, P = 0.74$)皆無顯著的影響。然而除了無法釐清樣本的時間性之外，此分析結果也可能與樣本之季節性分布不均有關，因為在雨季的樣本僅有 11 筆，非雨季樣本則為 277 筆，而可能導致分析上的偏差。

三、性別引子測試初步結果

利用已知的兩組性別引子(Aml-UF/Aml-UR 及 SE47/SE48)，測試應用於已知性別為 1 雄 2 雌的圈養黑熊個體。結果顯示 SE47/SE48 在雌性的血液萃取樣本上，PCR 洋菜凝膠電泳圖呈現單 1 條亮帶(245 bp, base pair)，雄性血液萃取樣本則具有 3 條亮帶(195、245 及 >245 bp；圖 3-3.3A)；Aml-UF/Aml-UR 之 PCR 洋菜凝膠電泳圖則顯示，雌性具有 2 條亮帶(245 及 >245 bp)，雄性血液萃取樣本具有 3 條亮帶(195、245 及 > 245 bp；圖 3-3.3B)。另就電泳圖之清晰度而言，則以 SE47/SE48 較 Aml-UF/Aml-UR 清晰(圖 3-3.3A)。

一般哺乳類雄性於洋菜凝膠電泳圖僅會出現 2 條亮帶(Pelt-Verkuil et al. 2008)，但在本研究卻發現雄性多出一條 >245 bp 的亮帶，但對性別鑑定不受影響，然此亮帶的出現是因亞種間的差異，或可能是台灣黑熊族群間的基因差異所造成，仍須作進一步的分析和定序。Yamamoto et al. (2002) 研究日本的亞洲黑熊之血液樣本指出，SE47/SE48 電泳圖上顯示雄性的兩條亮帶分別為 245 bp 與 191 bp，與本研究結果略有差異，然雌性的結果則與本研究一致，皆為單一條 245 bp。

此外，SE47/SE48 也可以對人類的 DNA 樣本進行擴大，唯其 bp 長度較熊類的短，故可提供研究者檢視是否有人為污染的發生。因此，本實驗結果建議 SE47/SE48 適合作為台灣黑熊性別鑑定之實驗引子。

利用 SE47/SE48 引子進行黑熊性別鑑定，所用的模板 DNA 萃取自毛髮樣本，相較於血液樣本，在跑膠結果出現了亮度較暗的亮帶，其中源自野外的毛髮樣本尤為黯淡(圖 3-3.4)。部份亮則帶具有模糊帶，可能會影響肉眼

辨識度，導致較低的性別辨識度。模糊帶形成的原因可能如下：(1) 野外樣本可能受到許多外在環境因素(如下雨、高溫或太陽直射等)影響，導致 DNA 出現降解的情況，引子所對應到的模板 DNA 遂減少，而導致複製的特定片段 DNA 濃度減低。(2) 毛髮樣本所本身萃取到的 DNA 含量相對於血液樣本較少。因此，為判斷野外黑熊毛髮樣本的個體性別，我們建議在操作技術上，與其使用較多的模板 DNA 量，不如改變 PCR 配方(如加入鎂離子)，以加強引子(primer)黏合，或是增加 PCR 循環次數，以增加 PCR 產物的濃度，或改以毛細管電泳的方式(Saito et al. 2008)。

圖 3-3.3、PCR 產物利用洋菜凝膠電泳圖，模板 DNA 萃取自黑熊的白血球細胞。分別利用 SE47/SE48 引子 (A)，以及 Aml-UF/Aml-U 引子 (B) 進行性別鑑定。M: molecular weight marker. Lane 1: male human; Lane 2-5: male bear; Lane 6-9: female bear.

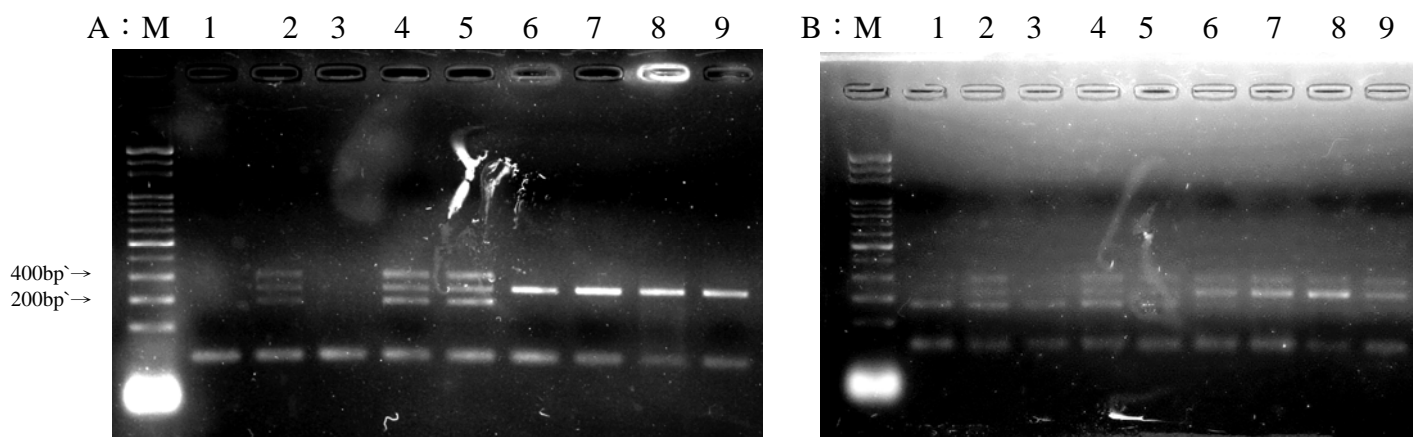
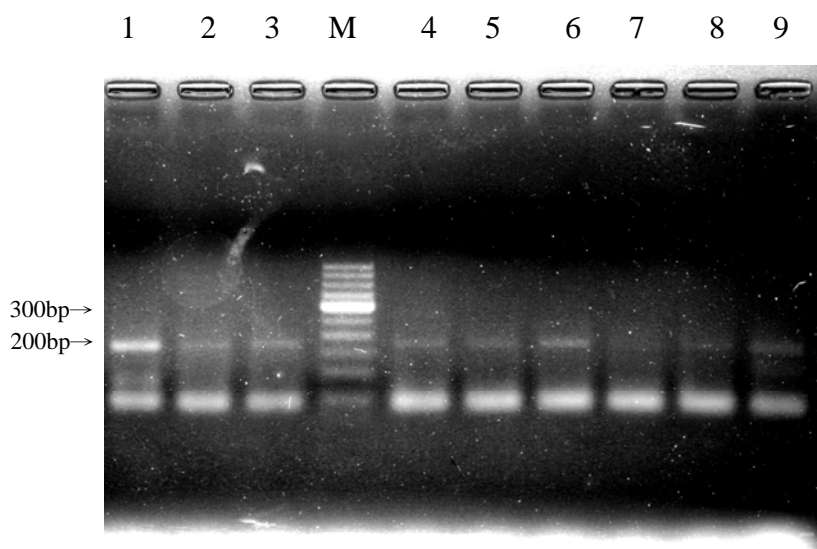


圖 3-3.4、利用 SE47 與 SE48 引子進行黑熊之性別鑑定，其中模板 DNA 皆萃取自毛髮。M: molecular weight marker. Lane 1, captive female bear; Lane 2-9, field samples.



四、PCR 成功率

自 2008 年 3 月至 2009 年 2 月利用毛髮陷阱收集到 228 個黑熊毛髮樣本，除了 2、7、8 月沒有收集到任何樣本之外，各月為 1-68 撮毛不等，尤以 11 月和 12 月最高，皆大於 60，其次為 1 月 (n=47) 及 10 月，非青剛櫟結果季的集毛結果明顯低於結果季，除 5 月較高 (n=13) 之外，其他各月皆不及 10 撮 (表 3-3.1)。

我們篩選篩選出 112 個毛髮樣本 (49%) 進行 10 組微衛星 DNA 引子之 PCR 擴大，其中有 70 個樣本標定了至少 7 個完整的基因座，即 PCR 擴大成功率為 62.5%。各月檢定出的基因型最多為 12 (分別為 11 月及 1 月)，總共辨識出 37 個基因型 (表 3-3.1)。

另我們分析 2009 年 1 月至 2 月採集自大分地區較新鮮台灣黑熊排遺樣本共 135 個，其中 73 個樣本標定了至少 7 個完整的基因座，即 PCR 成功率為 54%。此結果與分析 2008 年 2 月至 12 月所收集的黑熊排遺樣本之結果一致

(表 3-3.2；54%，n = 155，黃美秀等 2009a)。若就標定至少 7 個完整的基因座的標準而言，排遺之 PCR 擴大成功率則低於毛髮樣本 (62.5%)。

表 3-3.1、2008 年 2 月至 2009 年 1 月利用黑熊毛髮陷阱採集的毛樣本數，以及各月份進行 DNA 分析所篩選的樣本數、成功完成擴大 7 個基因座之有效樣本數和檢定出的基因型。

時間 (月份)	非青剛櫟結果季								青剛櫟結果季				總計
	2008-								2009-				
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	
樣本數 (撮)	1	1	3	13	3	0	0	8	20	68	64	47	228
篩選樣本 (個)	1	1	1	6	3	0	0	4	9	32	29	26	112
有效樣本 ^a (個)	0	1	1	5	1	0	0	2	7	14	22	17	70
基因型 (個體)	0	1	1	5	1	0	0	2	7	12	11	12	37

^a 成功擴大 7 個以上之微衛星基因座者

表 3-3.2、2008 年 2 月至 2009 年 1 月各月收集黑熊排遺樣本數量、成功擴大 7 個基因座之有效樣本數，以及檢測出的基因型。

時間 (月份)	非青剛櫟結果季								青剛櫟結果季				總計
	2008								2009				
	-Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	-Jan	
樣本數 (個)	0	0	1	0	0	0	0	0	17	137	62	73	290
有效樣本 (個)	0	0	0	0	0	0	0	0	16	75	36	37	164
基因型 (個體)	0	0	0	0	0	0	0	0	8	62	23	23	86

本研究的毛髮樣本的 PCR 成功率為 62%，略低於 Kendall et al. (2009) 分析 7 個基因座的 PCR 成功率 70%。除了研究環境上氣候條件的差異可能影響 PCR 成功率的結果之外，我們比較兩者於方法學上的差異，推論應該亦與毛髮陷阱的取樣時間，以及萃取時所使用的毛髮數量有關。Kendall et al. (2009) 的取樣時間為 14 天，本研究中毛髮陷阱取樣間隔較久，約為 1-2 個月，故毛髮自台灣黑熊身上脫落之後，游離暴露在外的時間短則 1 天，長則達 2 個月之久，故 DNA 降解的情況相對地也較嚴重。

在使用於萃取時的熊毛髮數量上，Kendall et al. (2009) 採用 10 根毛髮進行萃取，本研究萃取的毛髮數為 1-5 根，故在 DNA 模板的量比其研究少。此差異對於 PCR 的成功率亦應有重要的影響 (Goossens et al. 1998)。話雖如此，考量在台灣黑熊的野外樣本難以取得的情形下，本研究顯示即使少量毛髮數 (≤ 5 根) 的樣本，亦能獲得相當高的 PCR 成功率，故仍具重要的研究價值。

在台灣，石芝菁等人 (2007) 針對亞洲黑熊的研究也指出，毛髮暴露在室外 30 天之後，長度 450 bp 的目標片段之 PCR 擴大成功率為 86.7%，但到了 60 天後，則僅降低至 53.3%。然該研究使用的目標片段為粒線體 DNA (mtDNA) 上的片段，但本研究的目標片段則屬細胞核內 DNA (nDNA)。由於特定片段於核 DNA 含量比粒線體 DNA 為少 (Taylor and Campbell 2001)，故若就同樣長度的 PCR 片段而言，本研究所使用的核內 DNA 的目標片段的 PCR 擴大成功率自然可能會比在粒線體 DNA 者為低。

影響排遺樣本之 PCR 成功率因素眾多，除氣候因素之外，排遺的新舊程度亦會影響 DNA 降解程度 (圖 3-3.1)。本研究利用黑熊排遺樣本之 PCR 成功率為 54%，是已事先經過挑選較新鮮、濕潤的樣本進行分析的結果。相較於本研究所沿用的萃取排遺 DNA 技術之研究 Hung et al. (2004)，金門地區歐亞水獺之排遺 PCR 擴大率成功率為 65%，較本研究為高。此差異可能與該研究的樣本為每天收集的新鮮排遺有關。反之，Wasser et al. (2004) 研究美國黃石公園的棕熊和美洲黑熊發現，排遺 PCR 擴大成功率僅為 40%，低於本

研究結果。

五、基因多樣性

針對成功標定至少7個完整的基因座的毛髮樣本（ $n = 70$ 個有效樣本），GENECAP判讀出37個基因型（個體）。在2009年1-2月收集的排遺樣本中，分析73個有效樣本的基因型，判讀顯示1月和2月分別有23隻個體，其中1隻個體的基因型同時出現在該二個月中，所以總共判讀出45隻個體。

為了更完整顯示黑熊於大分地區整個年度的活動情形，我們將大分地區2008年2月至12月的排遺分析結果（黃美秀等 2009a）併入本次研究結果中，以含括一個連續且完整的青剛櫟結果季，即2008年10月至隔年1月。綜合所有於2008年2月至2009年1月整年的黑熊排遺遺傳分析結果，總共辨別出86隻個體（表3-3.2）。

綜合所有於2008年2月至2009年1月收集的毛髮和排遺的遺傳樣本，GENECAP共辨識出100個基因型（相當於個體）；個體鑑別率（ $P_{(ID)}$ ）為 1.160×10^{-13} ，合乎估算族群數量遺傳標記的 $P_{(ID)}$ 必須小於0.01的標準。十組微衛星基因座中，每個基因座的等位基因數為5-19個，平均等位基因數目為8.7($SD = 4.02$)，其中等位基因數大於10的基因座有4個，依次為UT31、UT38、UT3、UT4（表3-3.3）。

本研究測定野外台灣黑熊DNA的10個基因座中，以UT31微衛星基因座具有最多的等位基因個數（19個），代表此基因座具有較強的區別個體的能力。反之，UT1、UT25及UT36基因座則皆有最少的等位基因個數（5個，表3-3.3），此外，UT23與UT36的判別成功數較低，100個個體樣本中分別僅有51及81個，其他基因座則皆介於92-100之間。因此，如果未來研究需要藉由減少分析基因座的數量，以達降低成本的目的，則在考量基因座判別成功率及等位基因個數的前提下，優先摒除UT23可能是一合適的作法，其次為UT36。

表 3-3.3、2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區台灣黑熊毛髮及排遺樣本之 10 個微衛星基因歧異度 (k: 等位基因數目; H_O : 觀測異質度; H_E : 理論異質度; P-value: 利用費氏精確測驗法估算有無偏離哈溫平衡; $P_{(ID)}$: 個體鑑別率; N: 判別成功基因座數)。

Locus	k	H_O	H_E	P-value ^a	F_{IS}	$P_{(ID)}$	N
UT1	5	0.58	0.65	0***	0.108	0.1869	100
UT3	10	0.737	0.783	0.001**	0.06	0.0616	95
UT4	7	0.869	0.7	0***	-0.242	0.1304	99
UT23	10	0.882	0.862	0.1806	-0.024	0.0025	51
UT25	5	0.722	0.689	0.0671	-0.048	0.1337	97
UT29	8	0.794	0.793	0.0005***	0.013	0.0634	97
UT31	19	0.815	0.902	0***	0.097	0.0129	92
UT35	7	0.778	0.802	0***	0.031	0.0664	99
UT36	5	0.605	0.64	0.064	0.055	0.0798	81
UT38	11	0.837	0.791	0***	-0.059	0.0533	92
Mean	8.7	0.762	0.761	-	-	-	90.3
SD	4.02	0.10	0.08	-	-	-	14.12
Overall	-	-	-	*	0.001	1.160×10^{-13}	-

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

^a 評估族群是否偏離哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)。

軟體 Genepop 測試結果顯示，各基因座之觀測異質度為 0.58-0.882，平均觀測異質度 (H_O) 為 0.762。各基因座之理論異質度為 0.64-0.902，平均理論異質度 (H_E) 為 0.761，略低於平均觀測異質度。有 7 個基因座偏離哈溫平衡 ($P < 0.01$ ，表 3-3.3)，即 UT1、UT3、UT4、UT29、UT31、UT35、UT38。整體 F_{IS} 值為 0.01 ($F_{IS} > 0$)，達顯著差異水準，顯示樣本偏離哈溫平衡。

本研究紀錄的台灣黑熊族群之平均觀測異質度為 0.762，相較於 Paetkau (2003) 使用非入侵性法以 5-7 個基因座分析 21 個三種熊類 (即棕熊、美洲黑熊及懶熊, *Melursus ursinus*) 的族群遺傳資訊，遺傳觀測值異質度為 $0.7 < H_O$

< 0.8 ，則本研究的觀測值介於此範圍值內。就大而連續的族群來看，北美洲黑熊和棕熊的6基因座觀測異質度為0.799及0.758 (Paetkau et al. 1998)；另在日本不同地區的亞洲黑熊族群，使用6基因座檢測所得之觀測異質度為0.66 (本州岩手縣Iwate, Saito et al. 2008)，以及0.702 (Kinki近畿)和0.737(本州Honshu中部, Ohnishi et al. 2007)。然而，就破碎化的小族群來看，在日本四國 (Chugoku) 西部的3個隔離的黑熊族群，其6基因座的觀測異質度則僅為0.229-0.311(Satoh et al. 2001)或0.545-0.630(Ohnishi et al. 2007)。因此，由上述與區域族群屬健全的日本亞洲黑熊或其他地區的熊類族群的基因多樣性的初步比較來看，本研究所紀錄的觀測異質度數值相近於這些連續的不同熊類族群，並皆大於日本不同地區的黑熊族群 (Ohnishi et al. 2007)，顯示台灣黑熊應該仍維持著某種高程度的歧異度。

活動於大分地區的黑熊個體的遺傳異質度分析顯示 H_O 與 H_E 值相近， F_{IS} 值為0.001，較在日本小而破碎化的亞洲黑熊族群的 F_{IS} 值低 (Ohnishi et al. 2007)。正值表示族群有近親交配的傾向，然因 F_{IS} 十分趨近於0，因此我們認為近親交配的效應應該可以忽略。

然異質度的整體P值顯示族群偏離哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)。哈溫平衡是描述一個族群的遺傳平衡狀態，其前提為在一個隨機交配的夠大族群中，可以忽略突變等隨機因素，除非有外力介入，否則對偶基因的出現頻率將維持一常數，且不同基因間的出現比例也是固定。因此，任何違反上述假定的情況皆可能導致偏離哈溫平衡的情況。對此我們推論有以下可能原因。首先，台灣黑熊就台灣島嶼型的地理環境，以及現階段的全島族群狀況而言，可謂是小族群，能否滿足一個個體可隨機交配的夠大族群仍有待驗證。另本研究所偵測到的黑熊個體大部分集中於青剛櫟季節在大分地區活動，並在青剛櫟結果季結束或該區堅果可得度降低之後，黑熊便陸續離開此區域；事實上，大部分的這些黑熊個體一年的大部分時間都不在大分地區 (Hwang et al 2010)。黑熊季節性利用大分地區，就取樣的大分地區而言，表示此族群有明顯遷入及遷出的現象，此則違反哈溫平衡定律之封

閉族群假定。

此外，有學者指出台灣黑熊繁殖期為2-7月（楊吉宗等 2006），然在這段時間，原本可能季節性聚集於大分地區的黑熊則已返回其一般的活動範圍（Hwang et al 2010）。如果這些個體在不同地方繁殖，即使在非繁殖季暫時性地聚集一處，則來自不同地區的個體間仍可能存在著地理上遺傳分化的差異，此現象便符合華倫得效應（Wahlund effect, Hedrick 2009），也就是在組成一個大族群之下有多個亞族群。如果每個亞族群具有不同的等位基因頻度（allele frequencies），即使各亞族群本身遵守哈溫平衡，合併統計後之整體族群的異質度也可能會下降，從而偏離哈溫平衡。雖然早期的無線電追蹤資料顯示熊個體離開大分之後，亦有四散分別往東或往西的趨勢，此二區域的個體活動範圍除大分地區之外並無重疊（Hwang et al 2010），故繁殖季恐鮮有接觸的機會。若是如此，同時可能違反哈溫平衡之隨機交配假定。然而，由於黑熊廣泛的活動範圍、移動能力強，以及無線電追蹤技術在時空上的應用限制和取樣偏差，加上樣區並無天然或人為阻隔效應，我們認為此華倫得效應或非逢機交配存在的可能性應該極低。由於國內目前缺乏多年長期追蹤黑熊個體的資料，個體跨年度的移動資訊不足，因此除非增進此方面資訊的收集，同時增加建構大分以外區域的黑熊遺傳資訊，否則台灣黑熊仍缺乏詳細的資料可提供切確佐證。

六、大分地區黑熊個體之出現頻度

綜合黑熊毛髮及排遺樣本的 7 個微衛星基因座分析結果，分別檢定出 37 隻及 86 隻個體，其中 23 隻為重複個體，故此兩種樣本來源總共發現檢定出 100 個基因型（表 3-3.4）。其中以排遺取樣法所檢定出的個體數為全部個數之 86%，個體檢定成效為毛髮取樣法之 2.3 倍，其中利用毛髮所檢定出的個體數中，62%（= 23/37）亦可由排遺分析法檢定出來。

從每個月於大分地區收集黑熊毛髮及排遺樣本所檢定出的個體來看，於全年各月次的紀錄中，個體最多紀錄 4 次，佔 3%（n = 100）；大部分的個體

皆只出現 1 次，佔 65%，而出現 2 次者為 23%，其次出現 3 次者為 9%（表 3-3.4）。

黑熊出現於大分地區的頻度隨季節而有很大波動，其中皆未記錄到個體的月份為 2008 年 2 月、7 月及 8 月。使用二種樣本於各月檢定出個體的紀錄為 1 隻至 67 隻不等（圖 3-3.5）。其中在非青剛櫟結果季（2-9 月）共記錄 9 隻個體，各月記錄的個體以 5 月紀錄最高為 5 隻之外，其次為 9 月 2 隻，其他月份則皆為 1 隻。在此時期，所有紀錄有熊的樣本，皆源自毛髮陷阱取樣而得（ $n=9$ ），其中 9 月的 2 個體則同時由毛髮和排遺檢定出來（表 3-3.4）。

於青剛櫟結果季，使用二種樣本總共記錄 93 隻個體，是非青剛櫟結果季紀錄個體的 10.3 倍，其中僅有 2 隻個體（M-05 及 M-17）曾於該年非青剛櫟季的 9 月有出現記錄，其餘多數皆未於該年非青剛櫟季有出現在樣區的紀錄（表 3-3.4）。此顯示出現於大分地區青剛櫟森林的黑熊，大部分的個體於青剛櫟結果季以外的時間其實並未活動於該區。於各月檢定出個體的紀錄於十月至次年一月依次為 14、67、29、30 隻不等。青剛櫟季所檢定出的個體中，有 64 隻（68.8%）個體的檢定樣本來源僅限於熊排遺，而僅有 7.5% 的個體之檢定樣本來源僅熊毛髮，其他（23.6%）則二種樣本皆有檢定出來。

黑熊於青剛櫟季出現於大分地區的時間長度不一，就紀錄到的次數來看，1 次者佔 64.5%（ $n=93$ ），2 次者佔 22.6%，3 次者佔 10.8%，4 次者佔 2.2%（表 3-3.4）。個體於青剛櫟季的取樣記錄 ≥ 2 次時，表示於樣區停留超過一個月，此時個體通常會逐月連續被採樣（88% = 29/33），其中僅有 4 筆紀錄是間隔有一個月沒有被取樣到的情況（表 3-3.4）。於青剛櫟季，個體首次出現大分的時間不一，10 月至次年 1 月記錄到新個體的數量分別為 14、56、12、10 隻，這些新加入的個體於下一個月還會被紀錄到的個體數分別為 11、12、6 隻（2 月則無取樣記錄；表 3-3.4）。有趣的是，非青剛櫟季所紀錄的 10 隻個體，在後續的青剛櫟季中僅有 3 隻再被發現到，故若無取樣誤差的話，則顯示平日有利用大分地區的黑熊個體並不全然會出現於該區青剛櫟果實盛產之際。

從大分地區收集黑熊毛髮 ($n = 70$) 及排遺樣本 ($n = 164$) 所檢定出的個體之出現頻度來看,同一個體從排遺樣本中被檢視出來的最高紀錄為7次,但只有1隻,其次為6次有2隻,然大部分的個體皆僅出現為1次 ($n = 48$ 隻,佔全數個體之56%),而2次者為19隻,3-5次依序為5、8、3隻個體。另在毛髮樣本中,檢視次數最多的為10次,只有1隻,其次6次有1隻,大部分個體皆出現為1次 ($n = 23$ 隻,佔全數個體之62%),而2次為8隻,3-5次依序為2、1、1隻個體(圖3-3.6)。

2008年9月至次年1月(即青剛櫟結果季及前期)在樣區紀錄的142個捕捉次(即基因型標定),總共捕獲92隻個體(表3-3.4),則為該期間活動於樣區的最保守個體數。若進一步以標記再捕捉法估計該族群,則估算數量為164隻,95% CI (confidence interval, 信賴區間) 為130-224。

本研究基因型檢測結果顯示,以排遺及毛髮取樣所偵測到於2008年2月至2009年1月期間活動於大分地區的黑熊個體共有100隻,但大部分的個體(90%)僅出現於其間的2008年青剛櫟結果季(10月至隔年1月),少部分個體(8%)則出現於非結果季的3至6月;另有2隻(2%)個體則出現於青剛櫟結果季前期之9月和後續的結果季之11月(表3-3.4)。由此可見活動於大分地區黑熊的密度隨季節而呈現很大的波動變化,此結果與前期捕捉繫放(Hwang 2003),以及利用痕跡和自動照相機的偵測動物季節性豐富度的結果一致(林冠甫 2009)。

黑熊季節性活動於大分的程度應該與該區食物資源的供應狀況有密切相關。上述這些研究(Hwang 2003, 林冠甫 2009),以及前期的長期監測計畫(2006-2009年,黃美秀等 2009a)皆顯示,大分地區青剛櫟結果量呈現年間的變動;當堅果大量結果時,會出現大量黑熊前來覓食的現象,研究捕捉的效益和捕獲個體也較高。因此,我們認為2008年青剛櫟結果季基因型檢測到93隻黑熊個體應屬年度上特殊的狀況。該年青剛櫟結果量為連續監測的五年(自2006年起,黃美秀等 2009a;包括今年)中,堅果產量最豐盛的一年,而且鄰近區域亦無堅果或其他果實大量或集中生產的情況,可能因此吸引到

較多的黑熊個體前來此區覓食，導致單年累積的熊樣本數也是歷年最高的紀錄。

本研究樣區的範圍（不及 10 km^2 ，圖 2-1.1）相較於台灣黑熊的活動範圍可謂很小，故以遺傳基因型檢測出 100 隻個體活動於此範圍，可謂鮮見的高密度，但這些個體並非皆同時出現，而且居留時間也不見相同。此資料並不能推論至整個玉山國家公園的高黑熊密度，因為我們很清楚這其中涉及黑熊季節性的活動，且黑熊對於大分的利用主要侷限於青剛櫟可得度(availability)高的情況。除非我們有足夠資料瞭解這些個體在時間上和空間的分布相對於國家公園範圍和位置的情況，也就是動物的季節性活動範圍涵蓋多廣的面積，以及最遠可活動至國家公園外圍的哪些區域，不然初步的資料尚無法定論玉山國家公園內台灣黑熊的族群密度為多少。

一般雄性熊類的活動範圍為雌性的 2-5 倍；生態習性和體型與台灣黑熊相近的美洲黑熊，其雄性在 1-4 歲時會離開出生地區，進入陌生領域（即所謂的播遷，dispersal），然播遷的距離變化很大，有的少於 10 km，有的則可高達 200 km，有的雄性個體在一周之內甚至遷移了 40 km 的距離；在秋季時，美洲黑熊進行常距離的遷移，從 20 km 到 50 km 都並非罕見，而在某些缺乏食物資源的欠年，甚至會進行更大距離的遷移（Garshelis 2009）。就台灣黑熊的移動能力而言，玉山國家公園一利用人造衛星追蹤的雌性成體的年活動範圍為 117 km^2 ，有近半數追蹤的個體移動至國家公園以外區域（Hwang et al. 2010）。因此，我們認為這些季節性移動至大分的黑熊的活動範圍有些可能來自玉山國家公園以外更廣的地區，但是我們對於其間個體組成和比例尚不得知。

然而，單從這麼多個體出現於大分的紀錄來看，我們起碼可以知道大分地區對於玉山國家公園及鄰近地區的黑熊族群之獨特地位和重要性。目前就台灣黑熊於全島的分布範圍來看，野外及部落訪查的資料目前皆尚未發現有類似大分這般會季節性吸引大量黑熊聚集的棲息環境（黃美秀等 2010）。熊科動物的季節性移動或遷移會受到不斷變化的食物資源條件（包括豐富度及

分布) 影響, 而在不同的海拔高度或不同類型的棲息環境之間移動, 以尋找不同的食物資源, 有時移動會達 50 km 或更遠以上的距離, 遠超出其平常的活動範圍; 甚至在某些年, 也有大批的熊會朝同一食物資源集中的地區聚集, 甚至走出歷史性的熊徑, 長度達數 10 km 遠 (Garshelis 2009)。因此, 深入瞭解活動於大分地區的黑熊個體所包括的實際活動地理範圍, 更能協助我們瞭解大分地區或整個國家公園之於全島黑熊族群的生態角色及可能的保育效能。

由於關鍵食物如殼斗科果實對於熊類秋冬季的移動有重要性的影響, 故若能掌握類似像大分這樣地區的食物資源變動情況, 在堅果結實豐盛的時候, 以非侵入法進行有系統且具代表性的取樣, 配合遺傳基因型檢定技術, 則不僅可以藉由該調查樣點掌握該區域黑熊的族群數量, 也可以藉由針對堅果結實豐盛的年度進行連續且一致性的長期監測, 以達到利用簡易技術而監測族群變動的目標。

全年性的遺傳樣本基因型檢測結果顯示, 在非青剛櫟季節時, 各月在大分地區活動的個體為 0-5 隻不等, 且每一個體皆僅出現於單一個月一次, 顯示這些黑熊可能僅於此區只作短時間停留。此情況迥異於該年青剛櫟結果季, 35% ($n = 93$) 的個體在樣區居留超過 1 個月, 全部個體平均居留 1.51 個月 ($SD = 0.77$)。遺傳樣本的收集紀錄了黑熊於大分逐月活動的有無情況, 資料顯示除了兩種樣本於 7、8 月均無紀錄之外, 排遺僅出現於結果季各月及 4 月, 顯示毛髮樣本對黑熊於非青剛櫟結果季的紀錄較頻繁。僅沒有收集到任何樣本 (表 3-3.1, 表 3-3.2), 此結果與同時期該區自動照相機的紀錄結果 (林冠甫 2009) 相較, 相機於該時期之 2、3、7、8、9 月均沒有拍攝到熊照片, 初步顯示熊毛陷阱為三種方法中最能掌握黑熊全年於樣區有無出沒的狀況, 尤其是非青剛櫟結果季。在非結果季時, 相機的 OI 值於 5 月亦為其他有熊月份 (4 月及 6 月) 之 5 倍, 與基因型檢測出個體的相對變化量一致。

過去密集的無線電追蹤黑熊的活動發現, 當青剛櫟結果豐盛時 (如 1998 年), 多數的追蹤個體會持續停留於大分地區較久的時間 (最晚至隔年一月初),

且侷限活動於很小的範圍內(2個月期間為0.2-0.6 km², Hwang et al. 2010)。由於2008年的青剛櫟結果是呈現廣泛而非局部的盛產狀況,故就研究者一般活動採樣的路線和範圍來看,則可能依然有遺漏採樣到少部分個體的情況,故所檢測的基因型仍有低估該區實際活動熊隻的機會。另一個可能導致大分黑熊個體數估算有偏差的因素則為基因型檢測本身的技術,尤其是當樣本所萃取DNA品質較差或序列不完整的情況,可能導致原本是異型等位基因座誤判為同型等位基因座,此在多型性時則更明顯。本研究所鑑識出的個體所使用遺傳樣本主要來自排遺,一般即被認為所含DNA品質較差(Taberlet et al. 1996),加上我們一個月取樣一次,並非所有排遺皆是新鮮的樣本,類似的新鮮度限制也出現於本研究所收集的熊毛髮樣本上。基於上述理由,我們雖沒有量化基因型檢定誤差(Garshelis et al. 2008),但遺傳分析的技術採對低品質的樣本(如排遺、毛髮)進行重複PCR(Taberlet et al. 1996),以降低檢定誤差,因此儘管取樣及樣本新鮮有導致低估基因型的可能,我們認為本研究之基因型檢定結果應具代表性。

若考量黑熊為長壽型動物,並以一健康的美洲黑熊族群結構的雌雄,以及成體與亞成體之比值皆為1:1(Beecham and Rohlman 1994)來看,1998-2000年在大分青剛櫟結果季所捕獲繫放14隻個體,包括2雌成體、3熊亞成體、9熊成體(Hwang 2003),根據捕捉資料則可推測至少應該有36隻個體。若進一步將在非青剛櫟季(地點為多美麗)所捕獲的另一隻雄性成體列入考量的話,再加上可能活動於國家公園園區外圍附近的個體,則粗估園區可能至少有50隻個體(Hwang 2003)。由於在捕捉繫放的過程中,研究者並未企圖捕獲所有個體,僅是就達到繫掛發報器所需的個體數,便停止捕捉,因此也出現大部分預計捕獲的個體似乎有集中出現於青剛櫟果熟期初期(10月底至11月中旬)的趨勢,故應該僅捕獲活動該區的部分個體而已(Hwang 2003)。此外,樣本基因型檢測結果發現,在青剛櫟結果季10月至隔年1月期間陸續皆有新的黑熊個體加入或被發現,在該年首次被紀錄的個體以11月最多(n=54),為其他月份之4-5倍,其他依次為10月(n=14)、

12月 (n=12)、1月 (n=10) (表 3-3.4)。故若根據上述 1998-2000 年捕捉到黑熊的時間歷程來看，則實際出現於該區的個體應該遠比實際捕獲的隻數高。這或可解釋當時研究者也會目擊其他沒有頸圈標記的個體 (黃美秀 私人觀察)。因此，前期捕捉繫放的熊個體，以及根據此資料所推演出的族群數量應皆屬最保守的狀況。

雖然一般認為欲探究一個地區的動物族群大小，需建構於地理上密閉的系統 (geographic enclosure, Garshelis 2008)，只是在真實的環境中，這樣的前提假設並不容易成立，本研究也屬此例。雖然利用林肯-彼得森指數 (Lincoln-Peterson index) 推算族群量所採用的封閉族群假設，為族群估算的最理想狀態，但實際的族群卻是動態的。故本研究後續亦將進一步以開放族群的前提嘗試其他估算，以尋求可能更適切的族群估算範圍值。然若以封閉族群為基準的模式估算，即以全部標記個體的活動區域視為密閉族群的範圍。若在不考量基因型檢定及取樣誤差的情況下，我們認為 2008 年以基因型檢測出 100 隻個體的最小量結果，以及根據此資料估計的族群數 164 隻應屬合理。其中 2008 年青剛櫟季基因型檢測出 93 隻個體，此結果雖沒有提供個體年齡階層及性別的資料，但黑熊個體數遠較前期捕捉繫放所得的粗略推估值高，這應該與捕捉過程僅是捕捉繫掛發報器所需的有限個體有關。這些不同的數值或估計值皆建構於不同的條件下，然仍可提供我們瞭解活動於園區黑熊的族群數量狀況之部分資訊。

本研究雖然無法得知季節性活動於大分地區的黑熊源自何處，然而無線電追蹤的資料顯示，在大分青剛櫟結果季被捕獲並繫掛無線電追蹤發報器的個體於離開大分後，通常多是青剛櫟果實的可得性變低時，並沒有任一個體繼續長期居留於大分地區，顯示此區域僅為這些黑熊活動範圍的一部份 (Hwang et al. 2010)。這些密集無線電追蹤的 8 隻個體有一半會移動至玉山國家公園以外的範圍，分別往東至拉庫拉庫河流域、往西至荖濃溪下游的區域活動，最遠移動至國家公園疆界以外 6 km 處，唯沒有發現個體向北橫跨玉山-馬博橫斷的記錄；牠們後續並居留該區數月或超過一年以上的時間。因此，

若就保守立場而論，在沒有考量在樣區內未取樣到的或青剛櫟季沒有活動於大分的個體的情況，根據無線電追蹤黑熊的活動範圍資料，以涵蓋整個玉山國家公園外圍 5 km 的整個區域範圍（則總面積為 1,865 km²）來看，則玉山國家公園地區台灣黑熊密度為每 100 km² 可能有 8.8 隻（=164/1865*100）。

利用分子生物技術進行物種、族群、個體間之研究，為當前普遍且快速準確之方法，而利用排遺及毛髮樣本獲取個體或族群的遺傳資訊也已廣被應用於野生動物族群和生態的研究，這些遺傳資訊可辨識個體如同透過生理標記來分辨個體的功能，遂成為有力的族群估算方法（MacKay et al. 2008b）。儘管如此，這些實驗不僅花費較高，且結果也常受操作者技術左右，各項技術亦仍各有需突破之限制，故學者也多建議使用傳統的調查技術或分子生物技術需依據各種狀況做權衡考量，使結果更加可靠（Garshelis 2006，MacKay et al. 2008b）。

本研究在非青剛櫟結果季所取樣到全部的 10 隻個體樣本，成功鑑識基因型的樣本皆源於毛髮陷阱採集的毛髮，雖然在 5 月有檢拾到唯一的排遺樣本，但基因型檢定失敗（黃美秀等 2009a）。

反之，在青剛櫟結果季檢定出的基因型中，僅有 7.5% 的分析樣本為毛髮，且為排遺樣本所無法檢定出的個體。由於毛髮陷阱的設置有氣味劑，可誘引於附近活動的個體前來，因此我們推測一旦有黑熊路過附近，則有很高的機率會被陷阱“捕捉到”，但卻不一定會被人發現排遺。此兩種樣本在不同季節所呈現的調查效能不一，推測應該與黑熊的行為模式有關。在非青剛櫟結果季期間，大分地區於 5 月常有零星區塊分布的山櫻花果實可能吸引少數的黑熊前來此區覓食（黃美秀等 2009a），但由於食物資源分散且量有限，黑熊停留此區的時間應該相對性的短暫。夏季為台灣黑熊的繁殖季節，此時黑熊移動範圍廣泛，較長時期停留大分的機會亦較低。當黑熊停留一地區的時間變少時，該地可以發現黑熊的排遺量也隨之降低，若再加上春、夏季山區的氣候溫暖且多雨，則會加速排遺分解率，導致不易發現黑熊排遺。除非縮短排遺取樣的間隔，從 1 個月縮減為 0.5 個月，以提高排遺採樣效率，但這對於

偏遠的研究樣區而言恐不易執行。而在地形崎嶇且目標物種排遺分布稀疏的情況下，偵測犬的研究效能亦可能受到很大影響，本研究偵測犬的應用成效便多少受到這些條件限制。

另一方面，在結果豐盛的青剛櫟季，黑熊不僅停留該區的時間增加，覓食活動程度也大幅增加 (Hwang et al. 2002, Hwang et al. 2010)。因此，排遺排放量應該也隨之增加，加上該時氣候較為乾燥且溫度較低，排遺分解率較低，皆會有利於在該地發現熊排遺。黑熊爬樹取食堅果的明顯食痕(樹折枝)，也提供引導研究者前往檢視的線索，並得以進一步搜尋散落附近的熊排遺，故研究者本身對於排遺的偵測率也可能有所提高。當然，此時豐盛的野外食物資源或許也可能減少熊毛陷阱上氣味劑對黑熊的吸引力，導致造訪率下降。因此，我們認為在食物豐盛且密集的地區，如在大分青剛櫟盛產的結果季，黑熊排遺樣本的收集若配合可適當涵蓋研究樣區的調查樣線，收集的樣本應可以取樣到活動該區的大多數個體；至於此法所遺漏但由毛髮樣本偵測出的少數個體是否屬過境該區短暫停留的個體（一般多屬雌性或亞成體，Hwang 2003），則有待進一步身份的釐清。反之，當情況並不是在黑熊食物豐盛且密集的地區，比如大分的非青剛櫟結果季，或其他許多台灣島黑熊分布較為零星的區域，則架設熊毛陷阱收集熊毛樣本，則不失為是一可行且簡易的方法。若該地交通可及程度高，則建議適當縮減取樣間隔（<1 個月），以增加遺傳樣本分析的成功率；或是考量搭配偵測犬的應用，以有效增加熊排遺的搜尋效率。

在青剛櫟結果季，台灣黑熊於大分地區的活動情況與活動此區的個體數量及其停留時間有密切關係，二者則與該區青剛櫟結果量，以及玉山國家公園園區其他地區的果實相對豐富程度有關(Hwang 2003, Hwang et al. 2010)。當食物豐富度高且族群密度大時，美洲黑熊活動領域的重疊度會增高，但在大多數的族群中，卻缺乏證據顯示牠們具有領域（territorial）行為；在高密度的地方，大部分的熊就算彼此活動範圍很接近，但也能避免在相同時間使用相同而重覆的活動區域（reviewed by Garshelis 2009）。較有名的案例諸如

棕熊及美洲黑熊會有大量群聚在鮭魚產卵季的溪流中捕捉鮭魚，或者是在容易堆積人為垃圾的地區中找尋食物，或是在野果豐富或玉米成熟期的地區，也都會吸引熊群聚集覓食。因此，每當一地區的食物資源豐富度提高，總會吸引熊群集中覓食，儘管其間總會有一段長期時間不被使用，大分地區之於台灣黑熊的情況似乎也是如此。

另有研究指出每當熊聚集在一起時，雖偶有因爭奪食物而起的小爭執，但熊群通常會保持和諧的關係；一般減少紛爭的方式主要透過承認彼此的位階關係，即體型碩大且優勢的雄性成熊通常會擁有最優渥的覓食地點和最好的覓食時段，並且會排擠雌性個體，雌性個體會明顯的遠離或躲避雄性集中的覓食地點，導致雌雄會有些隔離（sexual segregation）的情形（目前已有五種熊的記錄，Garshelis 2009）。研究者早期在大分地區捕捉繫放和無線電追蹤黑熊也發現，雌性或亞成體在時間上和空間上有與成體雄性有區隔的情況，這樣有助於避免在有限的資源地區產生衝突（Hwang et al. 2010）。唯本研究尚無法鑑定出大量活動於大分地區黑熊的性別及個體間之親源關係，故進一步釐清這些相關資訊應該有助於我們瞭解台灣黑熊之社會行為及資源利用的模式。

圖 3-3.5、2008 年 2 月至 2009 年 1 月所收集的遺傳樣本分析大分地區各月出現台灣黑熊個體數，其中淺灰色及深灰色長條分別表示利用毛髮及排遺樣本所檢測出該月的個體數量；虛線：該月所紀錄的所有個體數 (n = 100)。

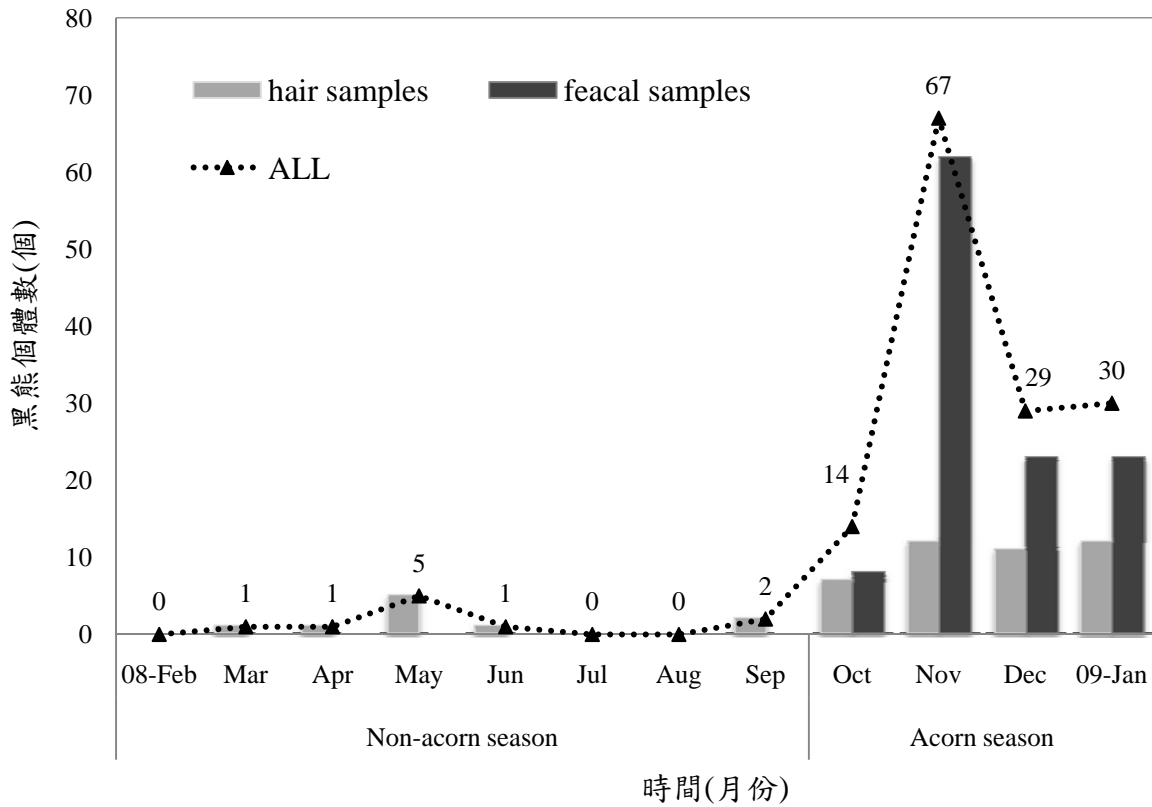


圖 3-3.6、2008 年 2 月至 2009 年 1 月所收集的遺傳樣本分析大分地區台灣黑熊個體數之頻度分布圖，其中淺灰色及深灰色長條分別表示個體以毛髮及排遺樣本檢測出的數量，虛線則為合併兩種樣本所紀錄的所有個體數 (n = 100)。

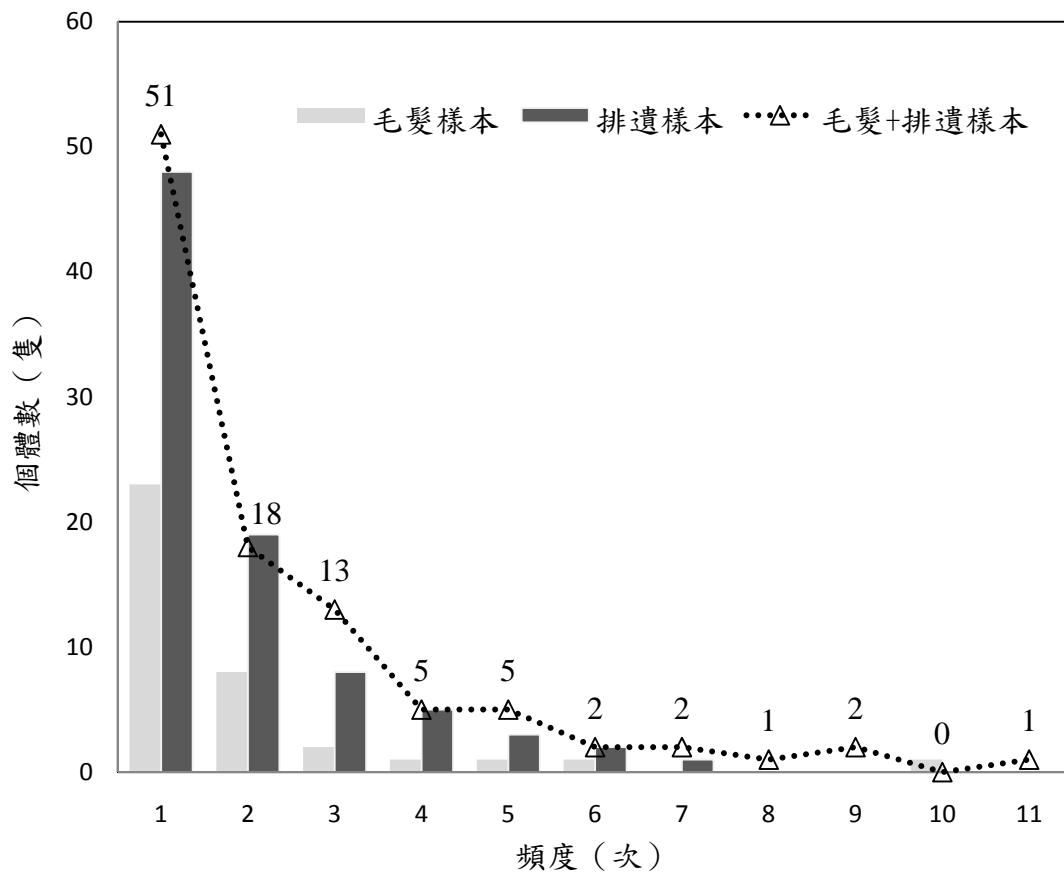


表 3-3.4、2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區黑熊於各月出現的情形。其中個體編號之 F 表示利用排遺樣本所檢測出之個體，H 為毛髮樣本所檢測出之捕獲個體，M 為同時利用兩種取樣方法所檢測出的個體。0 及 1 分別表示該月無及有檢測出個體。

個體 編號	時間 (月份)												累計觀 測次數	
	非青剛櫟結果季								青剛櫟結果季				全年	青剛 櫟季
2008	2009	2008	2009	2008	2009	2008	2009	2008	2009	2008	2009	2009		
-Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	-Jan	全年	青剛 櫟季	
F-01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-06	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
F-07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	3
F-09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1

表 3-3.4 (續)、2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區黑熊於各月出現的情形。其中個體編號之 F 表示利用排遺樣本所檢測出之個體，H 為毛髮樣本所檢測出之捕獲個體，M 為同時利用兩種取樣方法所檢測出的個體。0 及 1 分別表示該月無及有檢測出個體。

個體 編號	時間 (月份)												累計觀 測次數	
	非青剛櫟結果季								青剛櫟結果季				全年	青剛 櫟季
2008	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	2009	Oct	Nov	Dec	-Jan		
F-27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-32	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
F-33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
F-36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	3
F-37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	2
F-39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	2
F-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-42	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
F-43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
F-48	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
F-49	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
F-50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
F-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
F-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1

表 3-3.4 (續)、2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區黑熊於各月出現的情形。其中個體編號之 F 表示利用排遺樣本所檢測出之個體，H 為毛髮樣本所檢測出之捕獲個體，M 為同時利用兩種取樣方法所檢測出的個體。0 及 1 分別表示該月無及有檢測出個體。

個體 編號	時間 (月份)												累計觀 測次數	
	非青剛櫟結果季								青剛櫟結果季				全年	青剛 櫟季
	2008 -Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	2009 -Jan		
F-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
F-54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
F-55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
F-56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
F-57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
F-63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
H-01	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-02	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-03	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-04	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-05	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-06	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-07	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
H-08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
H-09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
H-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
H-11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
H-12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
H-13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
H-14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1

表 3-3.4 (續)、2008 年 2 月至 2009 年 1 月大分地區黑熊於各月出現的情形。其中個體編號之 F 表示利用排遺樣本所檢測出之個體，H 為毛髮樣本所檢測出之捕獲個體，M 為同時利用兩種取樣方法所檢測出的個體。0 及 1 分別表示該月無及有檢測出個體。

個體 編號	時間 (月份)												累計觀測次數	
	非青剛標結果季								青剛標結果季				全年	青剛 標季
	2008 -Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	2009 Oct	Nov	Dec	-Jan		
M-01	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
M-02	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
M-03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	2
M-04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
M-05	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	1
M-06	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	3
M-07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
M-08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
M-09	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	3
M-10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	3	3
M-11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	4	4
M-12	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
M-13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
M-14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	3
M-15	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	4	4
M-16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
M-17	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	4	3
M-18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
M-19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	3
M-20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
M-21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	3
M-22	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1
M-23	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3	3
總計	0	1	1	5	1	0	0	2	14	67	29	30	150	140

第四章 結論及建議

1. 本研究延續過去四年（2006-2009 年）於大分地區進行青剛櫟結果量的監測，發現整體青剛櫟森林的果實產量有明顯的年間變動，然尚無法推測結果週期性。因為 Koenig and Knops（2002）回顧 1900-1998 年許多殼斗科植物結果量的研究中，其驗證結果產量的週期性則是篩選同一地區至少監測 15 年以上的調查資料（豐欠年的間隔約為 2-10 年， $n=14$ ）。本研究目前持續至第五年的研究監測，發現青剛櫟結果量的差異牽動著青剛櫟森林內動植物交互作用的情形和強度，以及森林組成和演替，甚至可能是影響人熊關係的關鍵，因此仍須持續進行長期（至少 15 年）的結果量監測，以期驗證果實產量變動的週期性，以及其他生態交互作用。有鑑於物種間之交互作用複雜，故建議將大分列為園區大型動物之重點生態研究樣區，募集招攬相關研究專才，並提供充分的研究環境（包括經費、人力、研究站等），以積極提升大型野生動物的研究效能及保育水準。
2. 殼斗科植物結果產量的年間變動，除可能受樹種本身獨特的結實行為（masting behavior）影響之外，並有族群間、個體間，以及區域性的差異（Koenig and Knops, 2002; Abrahamson and Layne, 2003）。我們於現場觀察也有發現類似的情況。影響結果量的因素多樣而複雜，包括（1）氣候因子，如溫度、降雨量、濕度、乾早期等；（2）樹木個體因子，如樹高、胸高徑、斷面積、年齡、樹形、樹冠狀態、萌枝等；（3）其他環境因子，如光照、土壤、地形位置、林木密度等；（4）生物因子，如病蟲害和動物覓食情形等（Sharp and Sprague 1967, Goodrum et al. 1971, Wolgast and Stout 1977, Sork et al. 1993, Koenig et al. 1996, Greenberg 2000, Abrahamson and Layne 2002, Peter and Harrington 2002, Abrahamson and Layne 2003, Layne and Abrahamson 2004）。因此，在進行長期青剛櫟結果量的監測時，我們建議應考量擴充研究資源能力及廣

度（如氣候變遷之影響），以期同時調查並收集各項相關因子，達到瞭解影響大分地區青剛櫟果實產量變動的因素，並進一步能預測豐欠年的週期，提供相關野生動物經營管理和保育之建議。

3. 2008年2月至2009年1月的毛髮和排遺樣本的遺傳型檢定結果顯示，台灣黑熊出現於大分地區的頻度隨季節而有很大波動，活動於青剛櫟結果季的個體數為非青剛櫟結果季的10倍。該年青剛櫟結果為過去5年中產量最高者，吸引大量黑熊聚集，遺傳型檢定出100隻個體，其中35.5%停留該處超過一個月以上的時間。本研究台灣黑熊族群之等位基因歧異度的觀測值為0.762，與熊類經營管理尚屬健全的日本亞洲黑熊或北美洲之美洲黑熊的連續族群的基因歧異度相當，顯示台灣黑熊尚維持著較高的歧異度。此結果初步反映出玉山國家公園地區台灣黑熊遺傳保育的樂觀前景，值得國人持續加強對此小族群物種的關注和努力。

4. 大分青剛櫟盛產時，會吸引高密度的黑熊聚集，故在經營管理上需注意或限制遊客於此區的承載量和活動狀況，以確保人員安全，並降低可能造成的干擾。另由於熊科動物的季節性移動會受到不斷變化的食物資源條件（包括豐富度及分布）影響，因此，為更確切估算園區台灣黑熊的族群數量，以及加強族群的存續力，本研究建議應該進一步瞭解活動於大分地區的黑熊個體的實際活動範圍所包括的地理區域，也就是收集這些個體在時間上和空間上相對於國家公園範圍和位置的分布情況，或活動源自國家公園外圍的哪些區域之資料，以期充分瞭解大分地區或整個國家公園的黑熊族群數量，以及之於全島黑熊族群的生態角色及可能的保育效能。此可透過增加黑熊遺傳樣本採樣的範圍，從玉山國家公園較外圍及附近的區域擴展至更遠的區域達成。

由於關鍵食物如殼斗科果實對於熊類移動有重要性的影響，故若能掌握類似像大分這樣地區的食物資源變動情況，在青剛櫟結果季豐盛的時候，以非侵入性的方法進行有系統且具代表性的取樣，並配合遺傳型檢定技術，則不僅可以掌握該區域黑熊的族群數量，也可以藉由針對青

剛櫟結果豐盛的年度進行連續且一致性監測，達到利用最簡便的監測方法以掌握族群變動的目標。此外，有鑑於不同取樣方法在操作執行的限制不一，本研究同時建議在食物豐盛且密集的核心地區，利用黑熊排遺樣本的收集，並配合適當的調查樣線設置，應該足以取樣到活動該區的大多數個體；反之，若非如此，則可大範圍應用熊毛陷阱收集熊毛樣本，搭配適當地縮減取樣間隔，以提升收集台灣黑熊遺傳樣本及遺傳分析的效率。

5. 自 2006 年 7 月至 2010 年 11 月止，玉山國家公園大分地區的黑熊研究計畫共進行 47 次野外的黑熊族群生態及保育研究的調查行程，總計費時及人力共 1,791 人天。隨同研究團隊進出大分山區進行調查的研究助理、研究生和志工至今累計已有 92 位，平均每次野外作業需 38.1 人天。除助理和研究生可能得多次前往收集研究資料外，單就調查志工而言，則以參與 1 次行程居多數，僅有 2 位最多參與 3 次。由於本研究調查日程長，一次行程皆需約 9-11 天，且單是進出大分研究樣區就要背負重裝（一般 25-30 kg）來回步行達 80 km 約 5 天，足見此研究計畫之艱辛程度，花費大量研究資源（經費、人力、時間），故穩定且長期的人力資源難以維繫。

目前野外調查的志工來源以屏東科技大學野生動物保育研究所的研究生或各次行程領隊的友人為主，其他的志工主要透過公告在屏東科技大學野生動物保育研究所網頁的招募訊息報名，或是從其他電子公佈欄、志工或朋友處得知。另由於本研究具有工作量和團隊安全性的考量，故會依志工報名的電子資料或直接與志工聯繫的方式，進行篩選過濾適當的隨行人員。

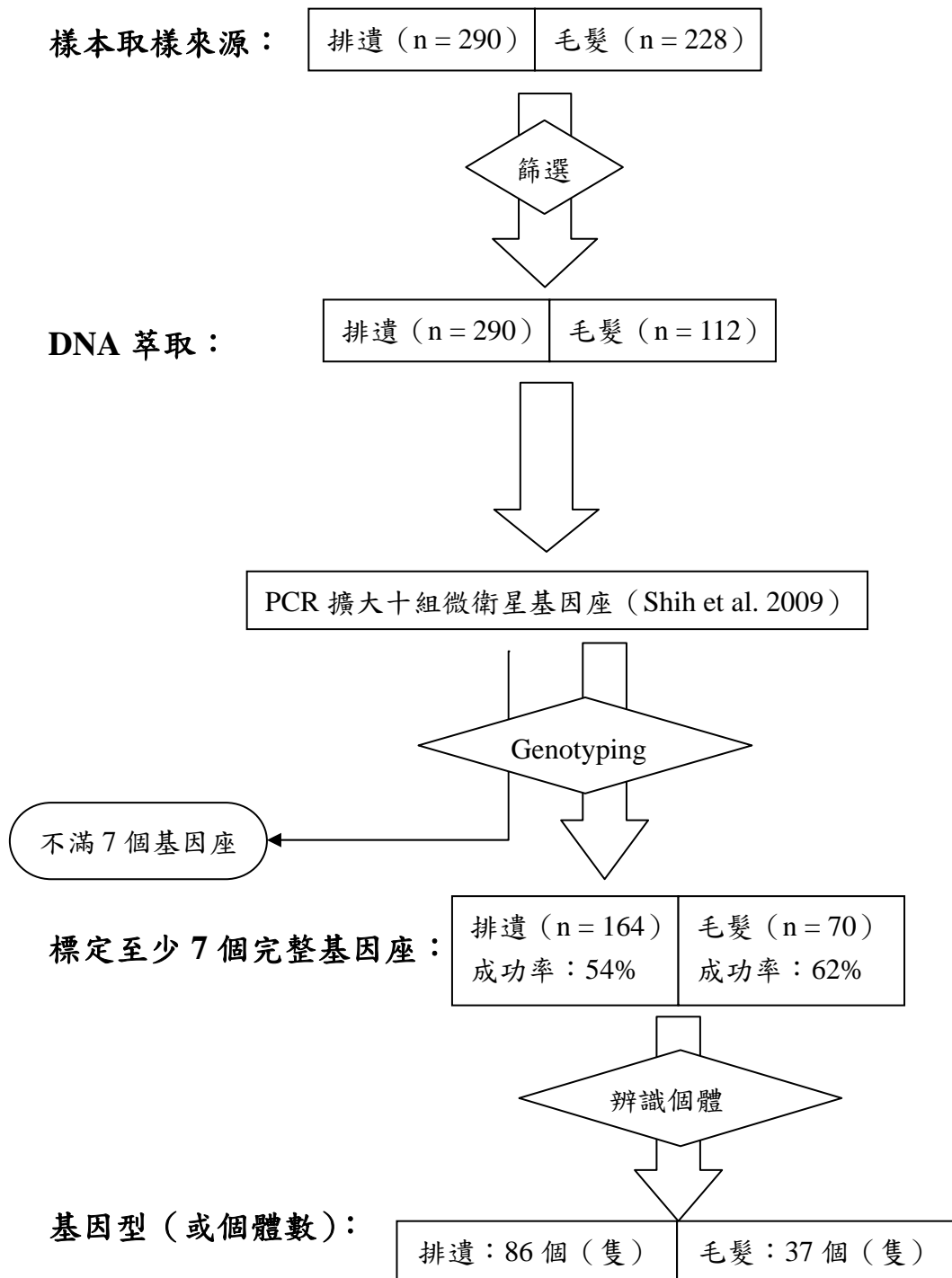
因此，針對瀕臨絕種且活動廣泛的動物如台灣黑熊，為了持續長期深山型野外調查研究的進行，本研究除了建議相關單位應該提供適當充足的研究經費之外，亦建議管理單位可以指派當地的原住民保育巡察員進行長期的合作和支援野外調查工作，同時妥善發展長期志工或保育種

子教師之培訓。如此不僅可以定期且有系統地協助相關的研究調查及監測計畫，助益研究資料的收集，另在藉由研究參與的過程中，更可以提升管理單位本身人力資源的調查研究培力，同時提供社會參與和認識野生動物研究及保育的體驗機會，皆有提升研究及保育台灣黑熊及其他野生動物之整體效能和目標。

謝 誌

本研究承蒙內政部營建署玉山國家公園管理處長期提供經費補助及各項行政上的協助，以及許富雄、楊吉宗委員對於本研究提供諸多寶貴建議，特此感謝野外繁重調查工作特別感謝郭彥仁、段玉祥、林育秀、楊宗憲、林志忠、陳長泉、黃建陸、朱汶偵、高嘉孜、秦庭妮、陳昇衛、王君娣、李彩玉、楊富強、陳進翔、王淑雲等人。台灣黑熊排遺偵測犬承蒙 Rene Gloor、潘怡如、黃俊維等人協助訓練和野外實地工作，特此一併感謝。此外，同時感謝東華大學吳海音教授研究團隊提供野外收集的部分樣本，台北市立動物園石芝菁提供 DNA 萃取技術，並與屏東科技大學野生動物保育研究所翁國精老師合力指導台灣黑熊之相關遺傳分析；另台北市立動物園分生實驗室的侯宣伊、台灣師範大學李壽先教授實驗室葉佳芬，以及屏東科技大學錢曉薇等人協助分析遺傳樣本。

附錄一、2008年2月至2009年1月，台灣黑熊排遺和毛髮樣本遺傳資料分析之實驗流程圖。



附錄二、玉山國家公園管理處「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫採購案評選會議紀錄

一、會議時間：99年3月4日下午15時30分

二、評選地點：本處3樓第1會議室

三、主持人：陳處長隆陞

記錄：楊舜行

四、評選單位及人員：

服務單位/機關	職稱	姓名	出席狀況
玉山國家公園管理處	處長(召集人)	陳隆陞	出席
玉山國家公園管理處	副處長	吳祥堅	缺席
玉山國家公園管理處	秘書	林文和	缺席
玉山國家公園管理處	課長	蘇志峰	出席
行政院農委會特有生物研究保育中心	副主任	楊吉宗	出席
國立嘉義大學生物資源系	教授	許富雄	出席

五、列席單位及人員：

(一) 本處本案工作小組：楊舜行(代表)

(二) 參評廠商：

國立屏東科技大學：黃教授美秀(主持人)

六、評選會議議程報告：本處保育研究課(略)

七、評選委員會之組成、協助評選之人員及其工作事項：

(一) 本案評選委員會計有6人，委員應到人數6人，實到人數4人，符合政府採購法「採購評選委員會審議規則」第9條(略)：「本委員會會議之決議，應有委員總額二分之一以上出席」之規定，另出席委員中之外聘專家、學者實到2人，亦符合同條項(略)：「出席委員中之外聘專家、學者人數應至少二人，且不得少於出

席委員人數三分之一」之規定。準此，本次評選委員出席已符合採購法規定，依法召開評選會會議。

- (二) 本案依「採購評選委員會組織準則」成立評選委員會，由本處保育研究課負責評選會組成、評選方式說明、評選統計、評選紀錄等事宜，行政室負責評選會資格審查、99年1月19日及2月5日辦理第1次及第2次公告限制性招標取得書面報價及服務建議書，99年2月12日截止收件，計1家廠商(國立屏東科技大學)投標，99年2月12日召開開標及資格審查會議。
- (三) 本案投標廠商，經查行政院公共工程委員會網站，非屬拒絕往來廠商。經檢查廠商投標文件，其將證件封及服務建議書乙式10份裝入封套密封，並於封套外部清楚標示採購標的名稱，符合投標須知第貳點第二十一項及甄選須知第捌點之規定。
- (四) 經檢查證件封內證明文件數量、種類及服務建議書份數，廠商資格符合投標須知之甄選須知第參點「應徵廠商資格條件及應檢附之證明文件」，並經與會人員確認。
- (五) 經資格審查結果，國立屏東科技大學資格符合。
- (六) 99年3月2日召開本案評選工作小組會議，就投標廠商之服務建議書擬具初審意見，並於3月4日本案評選委員會議當場執交各委員參考。

八、主持人介紹評選委員：

經會議主持人介紹評選委員，並詢問評選委員有無「採購評選委員會審議規則」第14條情形，參評廠商及會議出(列)席者對全體委員資格無異議。

九、本案評選評比表由主辦單位編號，並請評選委員隨機抽取。

十、評選方式說明：

- (一) 以總評分最高，且經評選委員會過半數之決定者，取得優先議價權。

- (二) 若經評分結果參評廠商所得總分合計未達 80 分者，請評選委員於評選委員意見欄位內敘明評分理由。
- (三) 所得總分之最低標率為 80 分，若參與評選廠商經出席委員半數以上評定為未達最低標準時，不得作為協商及議價對象。若評選結果所有參與評選廠商均不得作為協商及議價對象時，則由評選會主持人宣布廢標，重新辦理招標作業。
- (四) 參照最有利標評選辦法第 10 條第 3 項規定「簡報不得更改廠商投標文件內容。廠商另外提出變更或補充資料者，該資料應不納入評選。」。

十二、確定答詢時間：

召集人徵得所有評選委員及參評廠商同意，簡報時間以 20 分鐘為限，答詢時間以 15 分鐘為限，並採取統問統答方式進行，且委員詢問時間不計入答詢時間。評選過程紀要：

- (一) 檢閱參評廠商出席證明。
- (二) 參評廠商對本案委員資格及評選方式無異議。
- (三) 本案參評廠商抽籤決定簡報順位，僅 1 家參評廠商，直接辦理簡報。
- (四) 參評廠商簡報在 20 分鐘內完成。
- (五) 委員提出問題及建議，廠商答詢在 15 分鐘內完成（廠商答詢後離席）。
- (六) 委員評選。
- (七) 主席宣佈評選結果。

十三、委員要求納入紀錄之意見：

- (一) 利用遺傳分析評估有效族群每年進行，始可達到瞭解殼斗科變化與黑熊數量變化的計畫目標。
- (二) 計畫應分年列述執行方法及量化評估項目，以利日後之計畫審核。
- (三) 本案服務建議書第 15 及 16 頁間之頁數（議程附件之第 38 頁），應為重覆資料建請更換。

- (四) 建議計畫書能提供計畫工作流程圖，說明計畫主要內容。
- (五) 計畫緣起及目的章節中，分五大部分，請標明項次如(一)、(二)……等。而該章節內容過多，看不出計畫目標，建議該章節儘量精簡，可將五大部分之內容融入在工作方法和步驟中，以不超過兩頁為原則，並以前言（說明過往資料資料完整與不足之處）和計畫總目標和年度目標說明即可。
- (六) 計畫緣起及目的章節中，有關 2006 年至 2009 的 4 年成果僅一小部分說明，另見於工作方法及步驟之章節中，建議能於該章節中全面檢討前 4 年所累積的成果，並分析過往資料完整與不足之處，將有助於增強本計畫未來 4 年的工作內容與方向。
- (七) 利用偵測犬協助本計畫台灣黑熊排遺的蒐集一案，經由本次出席委員的意見，建請計畫主持人提供偵測犬檢疫、訓練、測試等證明文件，並有在偵測犬身上戴上明顯標示、有無線電追蹤器以及追回偵測犬等規劃，再由學校出具同意書函文本處備查辦理。
- (八) 本案如獲得標，請依上述評選意見，修正計畫建議書。

十四、評選結果：

- (一) 各出席評選委員所核給參與評選廠商，得總分皆超過 80 分，且經評選委員會過半數之決定，1 號廠商國立屏東科技大學經評選結果，平均得分 85 分最高，取得優先議價權。
- (二) 本案之評選評比表及評選總表密封後併本紀錄存檔。

十五、散會：16 時 40 分

對於審查意見與會議決議回應與辦理情形

- (一) 遵照辦理，為本年度計畫之重點工作項目。
- (二) 遵照辦理。
- (三) 遵照辦理。
- (四) 遵照辦理。

- (五) 遵照辦理，但為兼顧提供研究計畫所需的適當背景資訊，亦將斟酌補充說明，以力求清楚簡要之目的。
- (六) 遵照辦理。
- (七) 遵照辦理。
- (八) 遵照辦理。

附錄三、「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫期中審查會議紀錄

一、時間：中華民國 99 年 7 月 29 日（星期四）下午 14 時整

二、地點：本處 1 樓多功能教室

三、主持人：陳處長隆陞

四、審查委員：

服務單位/機關	職稱	姓名	出席狀況
玉山國家公園管理處	處長	陳隆陞	出席
玉山國家公園管理處	副處長	吳祥堅	缺席
玉山國家公園管理處	秘書	林文和	缺席
玉山國家公園管理處	課長	蘇志峰	出席
行政院農委會特有生物研究保育中心	退休人員	楊吉宗	出席
國立嘉義大學生物資源系	教授	許富雄	出席

五、列席單位及人員：

（一）本案記錄人員：本處楊技士舜行

（二）本案委託單位及人員：國立屏東科技大學黃教授美秀（主持人）、何冠助

六、委託機構（國立屏東科技大學黃教授美秀）簡報：（略）

七、審查意見：

（一）本計畫為延續性，屬第二期計畫的第一年，長期監測方法的建立是需要的，俟第二期計畫結束後可否提出簡易的長期監測方法供玉管處參用。

（二）本研究可否就櫟實對台灣黑熊之食物貢獻度或其它相關貢獻作進一步的評估。

（三）大分與賽柯之青剛櫟結果趨勢相似，只是量上的區別，何以賽柯少

見黑熊出現？請說明。

- (四) 本研究將如何把遺傳變異資訊與黑熊之活動痕跡或族群數量來進行連結，以作為後續族群監測的應用，國外相關研究有無類似的研究可供參考，宜作一探討。
- (五) 排遺的新舊判斷基準為何？是否易受到天候之影響，可否可利用其它較為客觀方式來進行類分。
- (六) 毛髮之類分宜考量是否有毛囊存在。
- (七) 預測黑熊分布之準確度約多少？
- (八) Pearson correlation 分析與資料屬性不符，且其 r 值低，解釋宜小心。
- (九) 本報告未將評選會議之意見列表納入該報告書之附錄中，建請補充修正之。並請將上述審查意見及辦理情形製表納入期末報告書之附錄中。

八、審查結論：

- (一) 審查會議經出席委員之審查及本處業務單位之查核，本計畫之工作進度及項目，與委託研究計畫契約書所訂相符，期中審查通過。請依契約書之規定，函送前期款的經費核銷資料辦理第二期款撥付事宜。
- (二) 請計畫執行單位就審查意見，於契約書工作要求範圍內作必要之補充及修正，並就上述各項意見提出對應之處理情形，列表納入期末報告書之附錄中。

九、散會

對於審查意見與會議決議回應與辦理情形

- (一) 遵照辦理，將於討論及建議中提出簡易的長期監測方法供相關管理單位參用。
- (二) 利用過去四年(2006-2009年)於大分地區收集的排遺進行食性分析，即發現堅果食物類別(特別是青剛櫟)於各年青剛櫟結果季，佔排遺中出現頻度(FO)和相對重要性(RV)皆超過90%(黃美秀等 2009a)，

顯示櫟實是台灣黑熊相當重要的季節性食物。

- (三) 區域性的食物資源可得性的差異可能影響黑熊於同一季節在不同地區的活動程度，雖然本研究並未同時監測賽柯地區青剛櫟果實生產狀況，但若兩區青剛櫟的成熟時間相當，則黑熊可能易受到大分地區較佳的結果狀況所吸引，而較大量出現在大分地區或活動頻度較高。
- (四) 遵照辦理，將於期末成果報告中之討論提出補充說明。
- (五) 現階段排遺新舊程度是以研究人員主觀並依據經驗判斷之，因此可能受調查人員、天候及環境等因素影響，未來將會參酌其他研究是否有較客觀的方式以判斷新舊程度。但本研究結果亦發現排遺的 PCR 擴大成功率隨排遺越舊而隨之遞減，顯示人員主觀所判斷的新舊程度仍具有一定的參考性。此外，即便排遺判斷已超過 3 星期以上，只要排遺不因過度堅硬而無法收集檢測 DNA 樣本的情況下，PCR 的擴大成功率仍可達 38-49%。
- (六) 遵照辦理，將於期末報告中提出成果報告。
- (七) 本研究旨在藉由監控園區黑熊重要棲息地的食物資源和黑熊活動情況，瞭解該地及園區的黑熊族群數量。故目前尚無法瞭解這些黑熊的實際分布範圍，需待後期利用無線電追蹤技術，或大範圍的遺傳樣本取樣方式收集相關資料。有關族群的估算亦將於期末成果報告中提出說明，並提供信賴區間以資參考。
- (八) 遵照辦理，將於期末報告之結果進行修正，並補充說明之。
- (九) 遵照辦理。

附錄四、「玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究(1/4)」委託研究計畫期末審查會議紀錄

一、時間：中華民國 99 年 11 月 29 日（星期一）下午 13 時 30 分

二、地點：本處 3 樓第 1 會議室

三、主持人：陳處長隆陞

四、審查委員：

服務單位/機關	職稱	姓名	出席狀況
玉山國家公園管理處	處長	陳隆陞	出席
玉山國家公園管理處	副處長	吳祥堅	出席
玉山國家公園管理處	秘書	林文和	缺席
玉山國家公園管理處	課長	蘇志峰	出席
行政院農委會特有生物研究保育中心	退休人員	楊吉宗	出席
國立嘉義大學生物資源系	教授	許富雄	出席

五、列席單位及人員：

（一）本案委託單位及人員：國立屏東科技大學黃教授美秀（主持人）、何冠助、林冠甫、陳昇衛、錢曉薇

（二）本處參加人員：黃課長俊銘、吳課長和融、楊技士舜行（記錄）

六、委託機構（國立屏東科技大學黃教授美秀）簡報：（略）

七、審查意見：

（一）本計畫在櫟實監測與台灣黑熊相對數量變化有豐富成果，且本四年的第 1 年計畫期末報告，均有呈現之前未見到的分析，表示承辦單位之努力一直有新的資料與成果，且本報告提出了結論與建議，相當不錯，值得肯定。

（二）建議研究青剛櫟季節變化的原因，除了其果實之高代謝能之外，高消化率的解釋宜擴大其解釋，如高營養分或其為主要的季節性食物

等。

- (三) 非青剛櫟季節 5 月份有較高的出現率，其原因建議比照青剛櫟季節做更多些探討。
- (四) 建議增列各月毛髮樣本數與鑑定個體數的資訊，以評估後續監測方式。另有關氣味劑的使用，考量台灣黑熊對於味道的習慣性，建議要小心使用，並檢討改進。
- (五) 有關排遺成功率之分析方法，宜考量資料屬性。
- (六) 哈溫平衡之涉及遷徙 (migration)、近親交配 (inbreeding) 以及大族群 (big population) 等等問題，非單純近親交配的現象可完成解釋。
- (七) 利用 close population model 估計族群宜再考量其合宜性。
- (八) 建議能結合遺傳族群估計與野外痕跡調查資訊，以利台灣黑熊保育之參考。
- (九) 台灣黑熊從那裡來至大分地區，建議能進一步瞭解其活動範圍，再行擴大區域調查。
- (十) 本報告未將評選會議、期中審查會議之審查意見列表納入該報告書之附錄中，建請補充修正之，並請將上述審查意見及辦理情形製表納入期末報告書之附錄中。

八、審查結論：

- (一) 審查會議經出席委員之審查及本處業務單位之查核，本計畫之工作進度及項目，與委託研究計畫契約書所訂相符，期末審查通過。請依各委員之意見修正報告書，將期末審查會議之審查意見及辦理情形，製表納入報告書之附錄中。
- (二) 依照本處結案報告所提供相關封面及範例等格式內容，製作與撰寫正式報告書，並依契約書之規定，函送正式報告書與全文電腦檔光碟 10 份 (含依「國家公園學報稿約格式」之論文 1 篇)，連同各期款的經費核銷資料 (詳如契約書之附件 1)，送本處審查後辦理結案、撥付餘款相關事宜。

九、臨時動議

- (一) 本處出版的「雲海上的島嶼」，請解說教育課向特有生物中心、姚執善等人洽詢 HD 畫質的台灣黑熊，做為該片的補充導引。
- (二) 本處林志忠保育巡查員即日起調整派駐南安管理站，負責配合與支援本計畫調查。
- (三) 台灣黑熊的生態學習營，請保育研究課研議明年舉辦並與大專院校結合共同舉辦。

十、散會

對於審查意見與會議決議回應與辦理情形

- (一) 遵照辦理。
- (二) 遵照辦理。
- (三) 遵照辦理，將於期末成果報告之討論中提出補充說明。
- (四) 遵照辦理，毛髮樣本數與鑑定個體數，以及氣味劑的使用資訊將於期末成果報告中之結果和討論中，提出補充和說明。
- (五) 遵照辦理，將於期末成果報告中之結果進行修正，改以無母數之相關檢定。
- (六) 遵照辦理，將於期末成果報告中之討論提出補充說明。
- (七) 遵照辦理，將於期末成果報告中之討論提出補充說明。
- (八) 遵照辦理。
- (九) 遵照辦理，本研究團隊預計於大分地區外的其他玉山國家公園園區設置毛髮陷阱，或利用黑熊排遺偵測犬進行其他地區的排遺搜尋，以利擴大遺傳樣本的來源和地區。另亦期望未來能有機會（主要為經費預算）進行第二階段的黑熊捕捉繫放，利用人造衛星無線電技術追蹤台灣黑熊的活動情形，配合過去 1998-2001 年的追蹤資料，更深入瞭解台灣黑熊的活動範圍及模式，已補充遺傳分析技術應用之限制。
- (十) 遵照辦理。

參考書目

- Abrahamson, W. G., and J. N. Layne. 2002. Relation of ramet size to acorn production in five oak species of xeric upland habitats in south-central Florida. *American Journal of Botany* 89:124-131.
- Abrahamson, W. G., and J. N. Layne. 2003. Long-term patterns of acorn production for five oak species in xeric Florida uplands. *Ecology* 84:2476-2492.
- Ashley, M. V., and B. D. Dow. 1994. The use of microsatellite analysis in population biology: background, methods and potential applications. *Molecular Ecology* 69:185-201.
- Baleiras Couto, M. M., B. Eijmsa, H. Hofstra, J. H. J. Huis in't Veld, and J. M. B. M. van der Vossen. 1996. Evaluation of molecular typing techniques to assign genetic diversity among *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 62:41-46.
- Bellemain, E., M. Nawaz, A. Valentini, J. Swenson, and P. Taberlet. 2007. Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation. *Biological Conservation* 134:537-547.
- Chu, J. H., Y. S. Lin, and H. Y. Wu. 2006. Applicability of non-invasive sampling in population genetic study of Taiwanese Macaques (*Macaca cyclopis*). *Taiwania* 51:258-265.
- Costello, C. M., D. E. Jones, R. M. Inman, K. H. Inman, B. C. Thompson, and H. B. Quigley. 2003. Relationship of variable mast production to american black bear reproductive parameters in New Mexico. *Ursus* 14:1-16.
- Eiler, J. H., W. G. Wathen, and M. R. Pelton. 1989. Reproduction in black bears in the Southern Appalachian Mountains. *The Journal of Wildlife Management* 53:353-360.
- Elkinton, J. S., W. M. Healy, J. P. Buonaccorsi, G. H. Boettner, A. M. Hazzard, and H. R. Smith. 1996. Interactions among gypsy moths, white-footed mice, and acorns. *Ecology* 77:2332-2342.
- Flagstad, O., K. Roed, J. E. Stacy, and K. S. Jakobsen. 1999. Reliable noninvasive genotyping based on excremental PCR of nuclear DNA purified with a magnetic bead protocol. *Molecular Ecology* 8:879-883.

- Frankham, R., J. D. Ballou, and D. A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 617pp.
- Garshelis, D. L. 2006. On the allure of noninvasive genetic sampling - putting a face to the name. *Ursus* 17:109-123.
- Garshelis, D. L. 2009. Family Ursidae (bears). Pages 448-497 in D. E. Wilson, and R. A. Mittermeier, eds. *Handbook of the Mammals of the World. Volume 1: Carnivores*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- Garshelis, D. L., and M. R. Pelton. 1981. Movements of black bears in the Great Smoky Mountains National Park. *The Journal of Wildlife Management* 45:912-925.
- Garshelis, D. L., H. Wang, D. J. Wang, X. J. Zhu, S. Li, and W. J. McShea. 2008. Do revised giant panda population estimates aid in their conservation? *Ursus* 19:168-176.
- Goodrum, P. D., V. H. Reid, and C. E. Boyd. 1971. Acorn Yields, Characteristics, and Management Criteria of Oaks for Wildlife. *The Journal of Wildlife Management* 35:520-532.
- Goodwin, W., A. Linacre, and S. Hadi. 2007. *An introduction to forensic genetics*. John Wiley and Sons. 151pp.
- Goossens, B., and M. Bruford. 2009. Non-invasive genetic analysis in conservation. Pages 167-201 in G. Bertorelle, M. W. Bruford, H. C. Hauffe, A. Rizzoli, C. Vernesi, editors. Cambridge University Press, New York, USA.
- Goossens, B., L. Waits, and P. Taberlet. 1998. Plucked hair samples as a source of DNA: reliability of dinucleotide microsatellite genotyping. *Molecular Ecology* 7:1237-1241.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86:485-486.
- Greenberg, C. H. 2000. Individual variation in acorn production by five species of southern Appalachian oaks. *Forest Ecology and Management* 132:199-210.
- Greenberg, C. H., and B. R. Parresol. 2002. Dynamics of acorn production by five species of Southern Appalachian oaks. Pages 149-172 in W. J. McShea, and W. M. Healy, eds. *Oak forest ecosystems: ecology and management for wildlife*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Harrison, R. L. 2006. A comparison of survey methods for detecting bobcats. *Wildlife Society Bulletin* 34:548-552.

- Hashimoto, Y., M. Kaji, H. Sawada, and S. Takatsuki. 2003. Five-year study on the autumn food habits of the Asiatic black bear in relation to nut production. *Ecological Research* 18:485-492.
- Hedrick, P. W. 2009. *Genetics of populations*. Jones & Bartlett Learning.
- Hung, C. M., S. H. Li, and L. L. Lee. 2004. Faecal DNA typing to determine the abundance and spatial organisation of otters (*Lutra lutra*) along two stream systems in Kinmen. *Animal Conservation* 7:301-311.
- Hwang, M. H. 2003. Ecology of Asiatic black bear (*Ursus thibetanus formosanus*) and people-bear interactions in Yushan National Park, Taiwan. Dissertation, University of Minnesota, Twin Cities, Minnesota.
- Hwang, M. H., and D. L. Garshelis. 2007. Activity patterns of Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*) in the Central Mountains of Taiwan. *Journal of Zoology* 271:203-209.
- Hwang, M. H., and Y. Wang. 2006. The status and management of Asiatic black bears in Taiwan. Pages 107-110 in K. e. a. Yamazaki, ed. *Understanding Asian Bears to Secure Their Future*. Japan Bear Network Press, Japan.
- Hwang, M. H., D. L. Garshelis, and Y. Wang. 2002. Diets of Asiatic black bears in Taiwan, with methodological and geographical comparisons. *Ursus* 13:111-125.
- Hwang, M.-H., D. L. Garshelis, Y.-H. Wu, and Y. Wang. 2010. Home ranges of Asiatic black bears in the Central Mountains of Taiwan: Gauging whether a reserve is big enough. *Ursus* 21:81-96.
- IUCN. 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. <www.iucnredlist.org>. Accessed 1 July 2009.
- Kalinowski, S. T., M. L. Taper, and T. C. Marshall. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16:1099-1106.
- Kendall, K. C., and K. S. McKelvey. 2008. Hair collection. Pages 183-222 in R. A. Long, P. MacKay, W. J. Zielinski, and J. C. Ray, eds. *Noninvasive survey methods for carnivores*. Island Press, Washington, DC.
- Kendall, K. C., J. B. Stetz, J. Boulanger, A. C. Macleod, D. Paetkau, and G. C. White. 2009. Demography and Genetic Structure of a Recovering Grizzly Bear Population. *Journal of Wildlife Management* 73:3-17.
- Kirkpatrick, R. L., and P. J. Pekins. 2002. Nutritional value of acorns for wildlife.

- Pages 173-181 in W. J. McShea, and W. M. Healy, eds. Oak forest ecosystems: ecology and management for wildlife. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Kirmaier, A., W. Diehl, and W. E. Johnson. 2009. Acquisition and processing of nonhuman primate samples for genetic and phylogenetic analyses. *Methods* 49:5-10.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca, and A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86:6196-6220.
- Koenig, W. D., and J. M. H. Knops. 2002. The behavioral ecology of masting in oaks. Pages 129-148 in W. J. McShea, and W. M. Healy, eds. Oak forest ecosystems: ecology and management for wildlife. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Koenig, W. D., and J. M. H. Knops. 2005. The mystery of masting in trees. *American Scientist* 93:340-347.
- Koenig, W. D., J. M. H. Knops, W. J. Carmen, M. T. Stanback, and R. L. Mumme. 1994. Estimating acorn crops using visual surveys. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 24:2105-2112.
- Koenig, W. D., J. M. H. Knops, W. J. Carmen, M. T. Stanback, and R. L. Mumme. 1996. Acorn production by oaks in central coastal California: influence of weather at three levels. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 26:1677-1683.
- Kohn, M. H., E. C. York, D. A. Kamradt, G. Haugt, R. M. Sauvajot, and R. K. Wayne. 1999. Estimating population size by genotyping faeces. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 266:657-663.
- Kohn, M., F. Knauer, A. Stoffella, W. Schroder, and S. Paabo. 1995. Conservation genetics of the European brown bear-a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences. *Molecular Ecology* 4:95-103.
- Layne, J. N., and W. G. Abrahamson. 2004. Long-term trends in annual reproductive output of the scrub hickory: Factors influencing variation in size of nut crop. *American Journal of Botany* 91:1378-1386.
- Long, R. A., P. MacKay, W. J. Zielinski, and J. C. Ray. 2008. Noninvasive survey

- methods for carnivores. Island Press, Washington, DC, 385pp.
- MacKay, P., D. A. Smith, R. A. Long, and M. Parker. 2008a. Scat detection dogs. Pages 141-182 in R. A. Long, P. MacKay, W. J. Zielinski, and J. C. Ray, eds. Noninvasive survey methods for carnivores. Island Press, Washington, DC.
- MacKay, P., W. J. Zielinski, R. A. Long, and J. C. Ray. 2008b. Noninvasive research and carnivore conservation. Pages 1-7 in R. A. Long, P. MacKay, W. J. Zielinski, and J. C. Ray, eds. Noninvasive survey methods for carnivores. Island Press, Washington, DC.
- Mattson, D. J. 1998. Diet and morphology of extant and recently extinct northern bears. *Ursus* 10:479-496.
- McDonald, J. E., and T. K. Fuller. 2005. Effects of spring acorn availability on black bear diet, milk composition, and cub survival. *Journal of Mammalogy* 86:1022-1028.
- McShea, W. J. 2000. The influence of acorn crops on annual variation in rodent and bird populations. *Ecology* 81:228-238.
- McShea, W. J., W. M. Healy, P. Devers, T. Fearer, F. H. Koch, D. Stauffer, and J. Waldon. 2007. Forestry matters: Decline of oaks will impact wildlife in hardwood forests. *Journal of Wildlife Management* 71:1717-1728.
- Miller, C. R., P. Joyce, and L. P. Waits. 2002. Assessing allelic dropout and genotype reliability using maximum likelihood. *Genetics* 160:357-366.
- Noyce, K. V., and D. L. Garshelis. 1997. Influence of natural food abundance on black bear harvests in Minnesota. *The Journal of Wildlife Management* 61:1067-1074.
- O'Connell, M., M. Dillon, and J. Wright. 1998. Development of primers for polymorphic microsatellite loci in the Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*). *Molecular Ecology* 7:358-360.
- Ohnishi, N., T. Saitoh, Y. Ishibashi, and T. Oi. 2007. Low genetic diversities in isolated populations of the Asian black bear (*Ursus thibetanus*) in Japan, in comparison with large stable populations. *Conservation Genetics* 8:1331-1337.
- Paetkau, D. 2003. An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories. *Molecular Ecology* 12:1375-1387.
- Paetkau, D., L. P. Waits, P. L. Clarkson, L. Craighead, E. Vyse, R. Ward, and C. Strobeck. 1998. Variation in genetic diversity across the range of North

- American brown bears. *Conservation Biology* 12:418-429.
- Pearse, D. E., C. M. Eckerman, F. J. Janzen, and J. C. Avise. 2001. A genetic analogue of 'mark-recapture' methods for estimating population size: an approach based on molecular parentage assessments. *Molecular Ecology* 10:2711-2718.
- Pekins, P. J., and W. W. Mautz. 1987. Acorn usage by deer: significance of oak management. *Northern Journal of Applied Forestry* 4:124-128.
- Pelt-Verkuil, E. V., A. V. Belkum, and J. Hays. 2008. Principles and technical aspects of PCR amplification. Springer Science, Dordrecht, Netherlands, 332pp.
- Peter, D., and C. Harrington. 2002. Site and tree factors in Oregon white oak acorn production in western Washington and Oregon. *Northwest Science* 76:189-201.
- Peyton, B., C. Servheen, and S. Herrero. 1999. An overview of bear conservation planning and implementation. Pages 8-24 in C. Servheen, S. Herrero, and B. Peyton, eds. Bears: status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups, IUCN, Gland, Switzerland.
- Powell, R. A., J. W. Zimmerman, and D. E. Seaman. 1997. Ecology and behaviour of North American black bears : home ranges, habitat, and social organization. (1st edition). Chapman and Hall, London ; New York. 203pp.
- Raymond, M., and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 3.4) population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248-249.
- Rogers, L. L. 1987. Effects of food-supply and kinship on social-behavior, movements, and population-growth of black bears in northeastern Minnesota. *Wildlife Monographs*:1-72.
- Saito, M., K. Yamauchi, and T. Aoi. 2008. Individual identification of Asiatic black bears using extracted DNA from damaged crops. *Ursus* 19:162-167.
- Saitoh, T., Y. Ishibashi, H. Kanamori, and E. Kitahara. 2001. Genetic status of fragmented populations of the Asian black bear *Ursus thibetanus* in western Japan. *Population Ecology* 43:221-227.
- Sharp, W. M., and V. G. Sprague. 1967. Flowering and Fruiting in the White Oaks. Pistillate Flowering, Acorn Development, Weather, and Yields. *Ecology* 48:243-251.
- Shih, C. C., C. C. Huang, S. H. Li, M. H. Hwang, and L. L. Lee. 2009. Ten novel

- tetranucleotide microsatellite DNA markers from Asiatic black bear, *Ursus thibetanus*. *Conservation Genetics* 10:1845-1847.
- Sloane, M. A., P. Sunnucks, D. Alpers, L. B. Beheregaray, and A. C. Taylor. 2000. Highly reliable genetic identification of individual northern hairy-nosed wombats from single remotely collected hairs: a feasible censusing method. *Molecular Ecology* 9:1233-1240.
- Smith, T. R., and M. R. Pelton. 1990. Home ranges and movements of black bears in a bottomland hardwood forest in Arkansas. Pages 213-218 in *International Conference on Bear Research and Management*.
- Sork, V. L., J. Bramble, and O. Sexton. 1993. Ecology of mast-fruiting in three species of North American deciduous oaks. *Ecology* 74:528-541.
- Steinmetz, R., and D. L. Garshelis. 2010. Creation of a monitoring network for Asiatic black bears. *International Bear News* 19:12.
- Taberlet, P., L. P. Waits, and G. Luikart. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14:323-327.
- Taberlet, P., S. Griffin, B. Goossens, S. Questiau, V. Manceau, N. Escaravage, L. P. Waits, and J. Bouvet. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 24:3189-3194.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17:6463-6471.
- Tsai, C. L., Chou, Y.C., Shih, C.C., Cheng, H.C., Yang, C.C., and Kao, H.W. 2009. The complete mitochondrial genome of the Formosan black bear (*Ursus thibetanus formosanus*). *Zootaxa* 1971:50-58.
- Vander Wall, S. B. 2001. The evolutionary ecology of nut dispersal. *Botanical Review* 67:74-117.
- Vaughan, M. R. 2002. Oak trees, acorns, and bears. Pages 224-240 in W. J. McShea, and W. M. Healy, eds. *Oak forest ecosystems: ecology and management for wildlife*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Waits, L. P., and D. Paetkau. 2005. Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management* 69:1419-1433.
- Waits, L. P., G. Luikart, and P. Taberlet. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines.

- Molecular Ecology 10:249-256.
- Wang, Y. 1999. Status and management of the Asiatic black bear in Taiwan. Pages 213-215 in C. Servheen, C. Herrero, and B. Peyton, eds. Bears: status survey and conservation action plan. IUCN, Gland, Switzerland.
- Wasser, S. K., B. Davenport, E. R. Ramage, K. E. Hunt, M. Parker, C. Clarke, and G. Stenhouse. 2004. Scat detection dogs in wildlife research and management: application to grizzly and black bears in the Yellowhead Ecosystem, Alberta, Canada. Canadian Journal of Zoology 82:475-492.
- Wentworth, J. M., A. S. Johnson, P. E. Hale, and K. E. Kammermeyer. 1992. Relationships of acorn abundance and deer herd characteristics in the Southern Appalachians. Southern Journal of Applied Forestry 16:5-8.
- White, G., and K. Burnham. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. Bird Study 46:120-138.
- Wilberg, M. J., and B. P. Dreher. 2004. GENECAP: a program for analysis of multilocus genotype data for non-invasive sampling and capture-recapture population estimation. Molecular Ecology Notes 4:783-785.
- Wolgast, L. J., and B. B. Stout. 1977. Effects of age, stand density, and fertilizer application on bear oak reproduction. Journal of Wildlife Management 41:685-691.
- Woodruff, D. S. 1993. Non-invasive genotyping of primates. Primates 34:333-346.
- Woods, J. G., D. Paetkau, D. Lewis, B. N. McLellan, M. Proctor, and C. Strobeck. 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin 27:616-627.
- Wright, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. vol. 4. Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Yamamoto, K., T. Tsubota, T. Komatsu, A. Katayama, T. Murase, I. Kita, and T. Kudo. 2002. Sex identification of Japanese black bear, *Ursus thibetanus japonicus*, by PCR based on amelogenin gene. Journal of veterinary medical science 64:505-508.
- 王穎、吳煜慧。2001。玉山國家公園台灣黑熊之生態及人熊關係之研究(三)。內政部營建署玉山國家公園管理處。44頁。

- 王穎、黃美秀。1999。玉山國家公園台灣黑熊之生態及人熊關係之研究(一)。內政部營建署玉山國家公園管理處。50 頁。
- 王穎、黃美秀。2000。玉山國家公園台灣黑熊之生態及人熊關係之研究(二)。內政部營建署玉山國家公園管理處。64 頁。
- 石芝菁、陳慧倫、賴靜怡。2007。臺灣黑熊親緣關係建立與保育遺傳應用。臺北市立動物園。13 頁。
- 吳煜慧。2004。玉山國家公園台灣黑熊之生態學研究。碩士論文。國立東華大學自然資源管理研究所。70 頁。
- 李俊億、謝幸媚。2008。親子鑑定的演算邏輯。臺大出版中心，台北市。第 26 頁。
- 林一宏。2005。八二籽一四五米【八通關越道路東段史話】。內政部營建署玉山國家公園管理處。285 頁。
- 林冠甫。2009。玉山國家公園大分地區櫟實結果對於大型哺乳動物豐富度之影響，國立屏東科技大學碩士論文。115 頁。
- 陳元龍、楊吉宗。2002。台灣地區野生及圈飼黑熊遺傳變異之初探。特有生物研究，4:73-77。
- 陳亞萱。2009。亞洲黑熊之表面消化率及校正係數。國立屏東科技大學碩士論文。75 頁。
- 陳擎霞。1990。宜蘭縣舊金洋地區台灣山羊棲息地之選擇及其植被分析。行政院農業委員會 79 年生態研究 015 號。56 頁。
- 黃美秀、林冠甫、張書德、何冠助、葉炯章。2009a。玉山國家公園台灣黑熊族群生態學及保育研究(4/4)。內政部營建署玉山國公園管理處。133 頁。
- 黃美秀、林冠甫、賴秀芬。2008。玉山國家公園台灣黑熊族群生態學及保育研究(3/4)。內政部營建署玉山國家公園管理處。75 頁。
- 黃美秀、林冠甫。2007。玉山國家公園台灣黑熊族群生態學及保育研究(2/4)。內政部營建署玉山國家公園管理處。48 頁。
- 黃美秀、祈偉廉、吳尹仁。2006。玉山國家公園台灣黑熊族群生態學及保育研究(1/4)。內政部營建署玉山國家公園管理處。53 頁。
- 黃美秀、潘怡如、蔡幸蒨、郭彥仁、林冠甫。2010。臺灣黑熊分布預測模式

及保育行動綱領之建立(1)。行政院農業委員會林務局保育研究系列第98-23號。127頁。

黃美秀、賴秀芬、林冠甫、葉慶龍。2009b。玉山國家公園台灣黑熊重要棲息地-大分地區之植群生態及森林更新。國家公園學報，19:62-82。

儲瑞華、吳海音、林曜松。2000。台灣黑熊(*Selenarctos thibetanus formosanus*)的DNA鑑定初探。動物園學報，12:25-34。