

國立屏東科技大學野生動物保育研究所

碩士學位論文

玉山國家公園大分地區臺灣黑熊

(*Ursus thibetanus formosanus*)之個體鑑別與族群遺傳結構

Individual Identification and Population Genetic Structure of  
Formosan Black Bears (*Ursus thibetanus formosanus*) in Dafen  
of  
Yu-Shan National Park

指導教授：黃美秀 博士  
朱有田 博士

研究生：蔡蕙雯

中華民國104年1月20日

## 摘要

學號：M10017012

論文題目：玉山國家公園大分地區臺灣黑熊  
(*Ursus thibetanus formosanus*) 之個體鑑別與族群遺傳結構

總頁數：82

學校名稱：國立屏東科技大學 系(所)別：野生動物保育研究所

畢業時間及摘要別：103學年度第 1 學期碩士學位論文摘要

研究生：蔡蕙雯

指導教授：黃美秀 博士

朱有田 博士

論文摘要內容：

臺灣黑熊(*Ursus thibetanus formosanus*)為臺灣瀕臨絕種保育類動物，然野外族群之數量與遺傳結構研究卻極匱乏。玉山國家公園的大分地區於每年 10 月至隔年 2 月季青剛櫟果實盛產時，會吸引臺灣黑熊聚集覓食，大分地區遂成為研究野外黑熊族群的最佳地點。本研究目的為利用自 2009 年至 2013 年，青剛櫟結果季於該區收集之排遺樣本進行個體鑑別、遺傳多樣性與遺傳結構分析。2009 年至 2013 年在大分地區共收集 385 份排遺樣本，經增幅粒線體 DNA 確認 DNA 品質後，篩選出 185 個有效 DNA 樣本，以 8 組微衛星基因座進行遺傳分析，另外以 ZF、SRY 與 Amelogenin 基因進行公母鑑別。8 組微衛星基因座之個體鑑別率 (P(ID)) $<0.01$ ，經由 GeneCap 軟體辨識出公熊 51 隻與母熊 26 隻，共 77 頭不同個體；有 19.5% (15/77) 的個體有重複回到樣區的情況，其中包括有 1 個體連續 5 季皆重複出現。遺傳多樣性部分，8 組微衛星基因座之對偶基因數量從 3-14 個，平均對偶基因座數目為 7.6 個；多態信息含量 (polymorphism information content; PIC) 為 0.693，顯示此 8 組微衛星基因座保有高多態性。觀測異質度 (observed heterozygosity)；

$H_0$ )為 0.714；平均近親交配指數  $F_{IS}$  值為 0.0243，顯示此 77 頭個體還保有一定異型合子數量。以 STRUCTURE 軟體將對偶基因型與其頻率進行歸納分析，顯示 77 頭個體依基因型特徵與遺傳距離皆可分為三個遺傳類群。另由 Colony 軟體估算個體間親屬關係，得到此 77 頭個體中有 11 對父子/父女對與 14 對母子/母女對。本研究建立經由排遺進行臺灣黑熊個體鑑別，鑑別出 2009 至 2013 年大分地區青剛櫟結果季 77 頭個體與 3 個遺傳分群。另外青剛櫟結果季聚集黑熊公母比例為何不同，仍待更多台灣黑熊生活史的資料始得了解其原因。

關鍵字：臺灣黑熊、微衛星標記、個體鑑別、族群遺傳結構

## Abstract

Student ID: M10017012

Title of Thesis: Individual Identification and Population Genetic Structure  
of Formosa Black Bears (*Ursus thibetanus formosanus*) in  
Dafen of Yu-shan National Park

Total Page: 82

Name of Institute: Institute of Wildlife Conservation, National Pingtung  
University of Science and Technology

Graduate Date: January 2015

Degree Conferred: Master

Name of Student: Hui-Wen Tsai

Adviser: Dr. Mei-Hsiu Hwang

Dr. Yu-Ten Ju

The Contents of Abstract in This Thesis:

The wild population size and genetic structure of Formosan black bear (*Ursus thibetanus formosanus*) are lack of research even it has been listed as a locally endangered species during past decades in Taiwan. Every autumn, when acorns are production, many bears attracted to Dafen area of Yu-Shan National park, this area have also been the best point to research of wild bear population. From Oct, 2009 to Feb, 2014, 385 feces sample were collected from Dafen area. 185 samples were amplified with D-loop sequence and 8 microsatellite loci and also amplified with ZF, SRY and Amelogenin gene to confirm gender of bears. There are 77 individuals (51 males and 26 females) identified by GeneCap. 19.5% individual repeat appeared in study area, 1 individual come back to Dafen in 5 acorn seasons. Number of alleles of the 8 microsatellites loci analyzed in this study ranged from 3 to 14 (mean =7.6). The mean observed heterozygosity ( $H_o$ ) and

expected heterozygosity ( $H_E$ ) was 0.714 and 0.737, respectively. The mean  $F_{IS}$  was 0.0243, suggested possible no obvious inbreeding and a certain heterozygosity in 77 individuals. There are 3 genetic population analyzed with Structure program. The program Colony was used to assess kinship among these individuals. 14 mother/son and mother/daughter pairs and 11 father/son and father/daughter pairs were found. Our research identified 77 individuals and 3 genetic populations from feces samples during five acorn seasons. We still need more lifehistory information to realize the reason of different bear sex ratio in acorn season.

Key words: Formosan black bear, microsatellite loci, individual identification, population genetic structure

## 謝誌

這本論文的完成需要感謝許許多多的人們，有我認識的也有我不認識的，那些多年來默默負重走在來往大分山屋路上的屏科大「熊窟」研究室的許多研究者與志工，是這本論文的背後無名功臣。而指導這本論文的兩位教授：黃美秀老師與朱有田老師則是最大的幕前推手，僅在此致上我最大的感謝之意。也感謝林思民老師與于宏燦老師不吝給予建議，使我的論文能更完整。

本研究感謝玉山國家公園管理處以及台北動物園動物認養計畫提供研究經費支持，以利本研究順利進行。同時，在此感謝熊窟的諸位學長姐：怡如學姊、阿布、郭熊、蔡鴨、阿助、容安、庭妮、嘉孜、昇衛；跟一路上互相陪伴加油打氣講垃圾話的同學靜芬與彩玉；幫了我好多大忙的學弟妹：李班、杰安、龍龍、宛青跟最棒的小助理莉婷，還有野保所諸多學長姊、同學和學弟妹這幾年來的幫助與加油打氣。謝謝郗筠跟大郭幫忙我處理繁瑣的學校事務；跟我一樣做分生題目的小胖跟凱婷，提供我分析軟體上的協助和討論；不時來台北找我吃早餐的仁真，能在台北看到同學真是分外的親切。另外還要感謝台大動科 305 實驗室的各位，這裡可以說是我的另一個家。謝謝叮嚀與明祥學長給予的諸多指導，憶涵不管在哪邊都給我非常中肯的建議，小毛、王翎、郁茹、世欣、迎晨、千千、郁琦、琇茗跟小輪子的幫忙與聊天陪伴都是讓我能一路撐下來的原因，非常感謝你們。

另外要謝謝我的朋友們 Mamie、紫翎、蕭蕭、小恩、力元跟 Ryan，在這幾年中的鼓勵與幫助，讓我在灰心的時候不至於一蹶不振，在我生病跟身體不舒服的時候提供各種協助，讓我能很快的重新爬起來面對難關。還有感謝我不離不棄的男友祺詠和一家子的毛孩子們，你們是我最大的心靈支柱。最後要感謝我的爸媽跟妹妹，雖然心裡很急(我知道)也從來不給我壓力，始終支持著我。

這一路上受到的幫助太多，無法一一具名致謝，只能在此對所有幫助過我的人說聲：謝謝你，這一路上幸好有你。

蔡蕙雯 2015/2/5

## 目錄

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 摘要 .....                      | I   |
| Abstract .....                | III |
| 謝誌 .....                      | V   |
| 目錄 .....                      | VI  |
| 圖表目錄 .....                    | IX  |
| 壹、前言 .....                    | 1   |
| 一、遺傳多樣性與保育 .....              | 2   |
| 二、族群遺傳結構與親屬關係.....            | 2   |
| 三、非侵入性採樣法之應用.....             | 3   |
| 四、研究目的 .....                  | 3   |
| 貳、文獻回顧 .....                  | 4   |
| 一、亞洲黑熊分布情況與遺傳研究現況 .....       | 4   |
| 二、微衛星標記簡介.....                | 5   |
| 三、臺灣黑熊之分布狀況與生態習性 .....        | 6   |
| 四、臺灣黑熊遺傳研究現況 .....            | 7   |
| 參、材料與方法 .....                 | 10  |
| 一、研究樣區 .....                  | 10  |
| 二、野外臺灣黑熊排遺收集與青剛櫟果實豐富度之監測..... | 10  |

|  |    |
|--|----|
| 三、大分以外地區之樣本採集 .....                      | 11 |
| 四、排遺 DNA 萃取流程 .....                      | 11 |
| 五、血液 DNA 萃取流程 .....                      | 12 |
| 六、組織 DNA 萃取流程 .....                      | 13 |
| 七、台灣黑熊個體鑑別之流程 .....                      | 13 |
| 八、粒線體 D-loop 序列聚合酶連鎖反應增幅 D-loop 片段 ..... | 13 |
| 九、聚合酶連鎖反應增幅性別鑑定引子片段 .....                | 14 |
| 十、聚合酶連鎖反應增幅微衛星基因座片段.....                 | 14 |
| 十一、基因型判定 .....                           | 15 |
| 十二、微衛星基因座遺傳資訊評估 .....                    | 16 |
| 十三、臺灣黑熊族群遺傳結構 .....                      | 17 |
| 十四、臺灣黑熊個體間親屬關係之判定 .....                  | 18 |
| 十五、玉山國家公園青剛櫟季大分地區之臺灣黑熊數量估算.....          | 18 |
| 肆、結果 .....                               | 19 |
| 一、大分地區臺灣黑熊個體鑑別與性別辨識.....                 | 19 |
| 二、大分地區臺灣黑熊遺傳多樣性.....                     | 20 |
| 三、臺灣黑熊之遺傳結構.....                         | 21 |
| 四、玉山國家公園大分地區臺灣黑熊之親屬關係.....               | 22 |
| 五、玉山國家公園 2010-2012 年青剛櫟季大分地區之個體數.....    | 22 |

|   |    |
|---|----|
| 伍、討論 .....  | 24 |
| 一、大分地區黑熊個體數量與食物資源之相關性 .....                       | 24 |
| 二、大分地區臺灣黑熊性別數量與其活動.....                           | 26 |
| 三、臺灣黑熊遺傳多樣性 .....                                 | 29 |
| 四、大分地區青剛櫟結果季之臺灣黑熊族群結構.....                        | 31 |
| 五、大分地區臺灣黑熊個體間之親屬關係.....                           | 33 |
| 六、大分地區臺灣黑熊數量估算 .....                              | 34 |
| 七、研究限制及技術探討 .....                                 | 35 |
| 陸、結論 .....  | 37 |
| 參考文獻 .....  | 38 |
| 附錄 1、2012 年 12 月份臺灣黑熊排遺樣本之 D-loop 序列電泳膠圖.....     | 72 |
| 附錄 2、不同性別之臺灣黑熊個體血液 DNA 擴增性之結果.....                | 73 |
| 附錄 3、大分地區 77 頭黑熊個體合併其他地區黑熊個體之 delta K 值...74      |    |
| 附錄 4、大分地區 77 頭黑熊個體合併其他黑熊個體之遺傳結構分群..               | 75 |
| 附錄 5、檢測 8 個微衛星基因座中無效對偶基因有/無之結果.....               | 76 |
| 附錄 6、以 8 組微衛星基因座鑑別之 77 頭野外臺灣黑熊個體基因型... 77         |    |
| 附錄 7、以 8 組微衛星基因座鑑別出玉山以外地區野外臺灣黑熊與圈養<br>個體基因型 ..... | 81 |
| 作者簡介 .....  | 82 |

## 圖表目錄

|  |    |
|--|----|
| 圖1、玉山國家公園大分研究樣區黑熊研究調查樣線之地理資訊 .....                                     | 53 |
| 圖2、大分地區2009-2013年青剛櫟結果季，利用台灣黑熊排遺鑑定個體數量，以及該區研究者利用種子陷阱計算該年青剛櫟落果量....     | 54 |
| 圖3、大分地區臺灣黑熊族群遺傳結構分析之delta K值 .....                                     | 55 |
| 圖4、大分地區臺灣黑熊族群遺傳結構分析之77頭個體遺傳結構.....                                     | 56 |
| 圖5、玉山國家公園大分地區，利用2010-2013年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 .....               | 57 |
| 圖6、玉山國家公園大分地區，利用2010年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 .....                    | 58 |
| 圖7、玉山國家公園大分地區，利用2011年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 .....                    | 59 |
| 表1、8組臺灣黑熊微衛星基因座與3組性別鑑定基因座之螢光引子序列、螢光團種類、Tm值與對偶基座長度資訊.....               | 60 |
| 表2、本研究進行遺傳分析所使用的台灣黑熊排遺樣本來源除玉山國家公園大分之外，其他五個樣本來源之相關資訊.....               | 61 |
| 表3、玉山國家公園2009 - 2013年大分地區青剛櫟結果季(10月至次年2月)，利用臺灣黑熊野外排遺DNA分析出之個體與性別數..... | 62 |
| 表4、玉山國家公園大分地區於2009-2013年檢定出的77隻臺灣黑熊之微衛星遺傳多樣性.....                      | 63 |
| 表5、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，檢定出的 77 隻臺灣黑熊個體之性別與出現季別總表.....           | 64 |

|  |    |
|--|----|
| 表 6、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，以黑熊排遺檢定<br>出的個體之配對與繁殖狀況 .....         | 67 |
| 表 7、使用 MARK 考慮不同參數模型之族群估算模式選擇結果.....                                 | 69 |
| 表 8、2010-2013 年各青剛櫟季以黑熊排遺鑑別之個體標記-捕捉再標記<br>之數量與再捕獲率.....              | 70 |
| 表 9、以 Jolly-Seber model 估算 2010-2013 年在大分地區青剛櫟結果季<br>臺灣黑熊數量之結果 ..... | 71 |

## 壹、前言

臺灣黑熊 (*Ursus thibetanus formosanus*) 是臺灣唯一原生的熊科動物，為亞洲黑熊亞種。由於臺灣自然環境的開發與人為獵捕，使得臺灣黑熊的分布與棲地大幅縮減，目前黑熊分布侷限於地形較崎嶇陡峭或人為活動較少的山區。由於族群數量稀少，已被列入「瀕臨絕種」的一級保育類動物。目前臺灣黑熊之遺傳多樣性、族群動態、野外族群數量與長期族群遺傳監控至今尚缺乏有系統的研究，因此無法提供黑熊於族群保育所需的基礎資料。也由於缺乏個體遺傳資料庫，無論是野生或圈養黑熊仍受到獵殺或違法販賣的壓力威脅。因此，臺灣黑熊野外族群遺傳資料庫的建立與開發個體遺傳鑑別方法，是解決現今臺灣黑熊保育問題的基礎，也是最重要的工具。

過去研究於玉山國家公園東側的長期野外調查發現，大分地區為臺灣黑熊出沒較頻繁的地區。長期監測的結果發現，臺灣黑熊的相對豐富度於青剛櫟結果季時顯著大於非青剛櫟結果季，青剛櫟結果量的變動對臺灣黑熊的活動與豐富度有顯著的影響 (Hwang, 2003; 林冠甫, 2009; Hwang and Garshelis, 2007; 黃美秀等, 2009a)。然調查僅限於臺灣黑熊相對豐富度的監測，無法推算出每年青剛櫟季時來到大分地區黑熊的數量與性別組成。現今分子遺傳技術可應用在野外物種排遺分析，進而進行族群結構分析。先前研究對亞洲黑熊與臺灣黑熊粒線體的差異研究顯示野外臺灣黑熊之粒線體單套型偏少，無法有效區分個體 (儲瑞華等, 2000; 陳與楊, 2002; 蔡奇立等, 2007; 石芝菁等, 2012)。石芝菁等人 (2009) 遂利用圈養臺灣黑熊之 DNA 開發出 10 組微衛星基因座。陳昇衛 (2014) 以其中 8 組微衛星基因座建立一套野外臺灣黑熊的個體鑑別流程，並應用於 2010 年青剛櫟季收集之野外台灣黑熊排遺樣本分析。目前未有進行多年野外黑熊族群之研究。

本研究欲利用已建立之臺灣黑熊個體鑑別技術，將各年所收集之樣本遺傳資訊加以整合，以獲得野外黑熊多年間之遺傳多樣性、族群遺傳結構等資訊。

## 一、遺傳多樣性與保育

野生動物族群的遺傳多樣性 (genetic diversity)，在制訂保育策略時是十分重要的基礎資訊。遺傳多樣性是由國際自然保護聯盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 於保育建議上提出的三大多樣性之一 (Miller et al., 1990)。一般認為族群中的遺傳變異與適應度、遺傳力 (heritability) 和演化潛力 (evolutionary potential) 皆有相關 (Frankham, 1995; Lande, 1995)。透過估算遺傳多樣性，有助於了解瀕危物種族群之現況。而遺傳變異的程度也被認為是野外族群在適應性和長期穩定性方面的重要指標之一 (Kim et al., 2011)。臺灣黑熊在野外所需要的活動範圍十分廣大，可超過 100 km<sup>2</sup> (Hwang, 2003)，因此個體的活動領域容易受到人為開發造成的棲地破碎化影響，使族群間的基因交流降低或完全隔離，進而產生小族群或基因同質化等問題。因此，野外臺灣黑熊之遺傳多樣性與遺傳結構之現況，成為擬定有效保育策略的重要議題。

## 二、族群遺傳結構與親屬關係

活動範圍廣大並且分布廣泛的物種通常沒有明顯的小族群界線 (Cegelski et al., 2003)，具有較高播遷能力的物種也被預期具有較高的基因交流程度和較少的小族群結構 (Brown et al., 1996)。在族群遺傳學上，被證實為移動能力較高的物種包含灰狼、美洲豹、棕熊與美洲黑熊。對於這些具有高度播遷能力的物種來說，使用行政地理上的分界並不具有生物學上的意義 (Cegelski et al., 2003)。此時便可經由檢測其遺傳變異情形與變異分布狀態，得知族群內的遺傳結構。動物在族群間遷徙的行為，能確保基因交流，抵銷可能導致基因消耗的基因漂移 (Kopatz et al., 2012)。因此，族群遺傳結構與分布情形對野生動物的管理與保育為十分重要的訊息 (Itoh et al., 2012)。

除了遺傳結構受播遷能力影響，動物的親屬關係通常也決定於個體的地域性與播遷模式 (Gompper et al., 1998)。野生動物族群的系譜/血統資訊在很多方面都深具價值，如社會行為、配對系統、播遷行為與地理隔離和空間族群結構的研究 (Wang et al., 2009)。分子標記的快速發展與應用，提供了評估難以收集野外觀察資料的族群個體之間系譜關係的可

能 (Blouin, 2003 ; Pemberton, 2008)。特別是微衛星標記的技術，促進了許多關於野外族群個體間遺傳距離、親緣鑑定與家族關係的研究 (Lunn et al., 2000)。

### 三、非侵入性採樣法之應用

藉由採集動物的排遺、毛髮、蛻皮等樣本以獲得遺傳資訊來鑑別個體，無需捕捉或處理動物，稱為非侵入性採樣 (non-invasive genetic sampling) (Pearse et al. 2001)。一般也建議採集瀕危物種的排遺為代替方法，以避免在採集血液或活體組織時傷及動物或操作者本身 (Hung et al., 2004)。在研究較難捕捉的物種時，經由排遺中萃取出 DNA 除了可以用來進行個體的辨識，也可提供研究族群遺傳資訊的其他參數 (Reed et al., 1997 ; Lucchini et al., 2002)。非侵入性採樣樣本較容易獲得，也可在一定時間內收集到較多的樣本數 (Chu et al., 2006)。運用排遺 DNA 研究的分子遺傳技術已經成功地應用於幾種肉食動物，如棕熊 (Kohn et al., 1995)、山獅 (Ernest et al., 2000)、歐亞水獺 (Dallas et al., 2000 ; Hung et al., 2004) 和灰狼 (Lucchini et al., 2002)。由於臺灣黑熊分布範圍多侷限於地形崎嶇陡峭或較高海拔、人為活動較少的山區 (Wang, 1994; Hwang et al., 2010b)，捕捉活體需耗費大量人力與資金，因此非侵入性採樣法可說是獲取野外臺灣黑熊族群遺傳資訊最有效率的方式。

### 四、研究目的

本研究以 8 個微衛星基因座進行野外臺灣黑熊排遺 DNA 分析，探討 2009 至 2013 年間玉山國家公園大分地區臺灣黑熊之個體、性別數量、遺傳多樣性、族群遺傳結構與親屬關係，更進一步討論個體與性別的角度探討黑熊與資源 (棲地、食物) 之關聯，並估算青剛櫟結果季進出大分地區之黑熊數量。

## 貳、文獻回顧

### 一、亞洲黑熊分布情況與遺傳研究現況

世界上現有的熊科 (Ursidae) 動物分布於北半球與南美洲，亞洲黑熊為目前尚存的 8 種熊科動物之一。主要分布於亞洲大陸及其鄰近島嶼，目前有七個亞種 (Wozencraft, 2005)：1. 西藏黑熊 (*U. t. thibetanus*)，分布於尼泊爾東北部、印度、不丹、孟加拉國、緬甸、寮國、泰國、柬埔寨、越南 (Cuvier, 1823)；2. 臺灣黑熊 (*U. t. formosanus*)，分布於臺灣島 (Swinhoe, 1864)；3. 巴基斯坦黑熊 (*U. t. gedrosianus*)，分布於伊朗東南部與巴基斯坦中南部 (Blanford, 1877)；4. 日本黑熊 (*U. t. japonicas*)，分布於日本本州與九州地區 (Schlegel, 1857)；5. 長毛黑熊 (*U. t. laniger*)，分布於喜馬拉雅山脈、阿富汗到印度北部 (查謨和克什米爾、喜馬偕爾邦與烏塔拉卡漢德) (Pocock, 1932)；6. 西南黑熊 (*U. t. mupinensis*)，分布於中國西南與中南部 (Heude, 1901)；7. 東北黑熊 (*U. t. ussuricus*)，分布於俄羅斯遠東地區，中國東北，朝鮮半島 (Heude, 1901)。現存亞洲黑熊的數量正在下降當中，主要面臨的威脅為棲息地消失、非法貿易 (如熊膽、熊掌)與盜獵、人熊衝突與小族群分隔 (small isolated populations)的現象 (Garshelis and Steinmetz, 2008)。而親緣地理學研究顯示在日本本州被隔離的亞洲黑熊小族群當中有顯著的遺傳變異存在 (Ishibashi and Saitoh 2004)。

由於亞洲黑熊的分布範圍涵蓋了極大的區域，在不同緯度及氣候下型態及外型有些許差異 (Garshelis, 2009)，故不同亞種的表型區別常以描述性質為主，少有量化的數據 (Hwang et al., 2012)。利用分子生物技術進行分析成為亞種鑑定方法的另一選擇。Hwang 等人 (2008) 分析三個不同亞洲黑熊亞種 (東北、西南、臺灣)完整粒線體 DNA 序列約 17,000 鹼基對，發現亞洲黑熊粒線體 DNA 控制區的第二區域 (domain II)中，存在不同長度的鹼基串聯重複 (tandem repeat)，每個亞種有不同形式的長度與鹼基之串聯重複序列，推測此長度與鹼基之串聯重複序列可做為亞種在遺傳分類的依據與探討大尺度空間上的遺傳差異 (Choi et al., 2010)。然探討特定地區亞洲黑熊族群內遺傳結構與個體間遺傳多樣性則需要更精細的

分子標記，如微衛星標記（或微衛星基因座）。日本於 2000 年率先開發出以日本黑熊為主的 8 組微衛星 (microsatellite) 基因座 (Kitahara et al., 2000)，石芝菁等人於 2009 年發表以臺灣黑熊為主的 10 組微衛星基因座 (Shin et al., 2009)，中國也在 2010 年發表 12 組以西南黑熊為主的衛星基因座 (Wu et al., 2010)。

## 二、微衛星標記簡介

微衛星是一種遺傳標記，廣泛分布於生物的基因組 (genome) 中 (Tautz and Renz, 1984)，並具有高度的變異性 (Paetkau et al., 1997)，通常為重複的短片段串聯重複 (2-6 個鹼基) 序列 (Paetkau and Strobeck, 1998)，並重複 5-50 次所組成。配合共價結合標定螢光團的引子 (primer) 與毛細管電泳，可提高分析微衛星基因座對偶基因型判別的靈敏度與正確性，並將偵測出的基因型量化，經過分析後可用於進行個體辨識、親緣關係與族群遺傳組成分析 (Xu et al., 2001)。相較於粒線體 DNA 遺傳標記，微衛星遺傳標記具有以下優點：

1. 數量豐富且分布廣泛：一般認為微衛星標記廣泛分布於生物基因體中 (Dib et al., 1996)。經由檢測 X 染色體中的 5 個微衛星基因座出現頻率，發現每 300~500 Kb 就會出現一段重複的序列 (Edwards et al., 1991)。

2. 具有高多型性 (polymorphism)：微衛星標記不管在動物或植物基因體中，超過 70% 具有基因多型性。高程度的變異使得微衛星基因座十分適用於族群內的個體間遺傳變異研究，同時也更容易讓研究者偵測到近期的族群遺傳結構變動 (Baker, 2009)。

3. 較無選汰壓力：微衛星基因座大部分座落於於基因體的非轉譯區 (non-coding region)，較不影響生物的功能，故較不受自然選汰影響 (Woodruff, 1993)。

4. 為共顯性遺傳 (codominant)：微衛星標記對偶基因座可同時顯現來自父系與母系的遺傳訊息，為親子鑑定上經常採用的分子標記，並且也利於族群基因交流的研究 (Marshall et al., 1998)。

5. 大部分基因座適用於遺傳親緣相近物種：過去的研究中發現微衛星基因座兩側的序列，在遺傳親緣相近物種之間仍具保留 (conserved) 性，因此已發表的微衛星標記有很高的機率可適用於相近物種 (O' Reilly and Wright, 1995)。如以牛的微衛星基因座進行索艾綿羊 (Soay sheep)、紅鹿與梅花鹿之族群分析 (Slate et al., 1998)。

6. 實驗操作不困難：微衛星標記可經由 PCR 進行擴增分析，並可從 polyacrylamide gel 或毛細管電泳上得到精確的片段 (Budowle et al., 1991)。

### 三、臺灣黑熊之分布狀況與生態習性

臺灣黑熊為臺灣唯一的熊科動物，屬於亞洲黑熊其中一個亞種。如同亞洲黑熊面臨的困境，臺灣黑熊也受到環境開發與人為活動的干擾。2012 年完成的「臺灣黑熊保育行動綱領」(Hwang et al., 2012b) 中，從歷年相關文獻資料的回顧指出：臺灣黑熊整體密度跟國外健康黑熊族群相比為偏低的狀態，且在北部地區受到人為干擾威脅的情況更為明顯，如非法狩獵和道路開發等活動。林務局在 2006 - 2011 年進行臺灣全島調查的結果顯示，臺灣黑熊的分布從海拔 270 公尺的拉庫拉庫溪鹿鳴橋下至玉山圓峰 (>3,500 公尺) 皆有紀錄，但近年來的有熊紀錄主要出現於 1,000 - 3,000 的中海拔山區 (Hwang et al., 2010b)。蔡幸蒨 (2011) 與黃美秀等人利用從 1990 年開始收集共 1,017 筆發現黑熊及其痕跡的紀錄，加上實地進行痕跡調查 20 個調查樣區，總共畫出 565 個 1\*1 公里的網格 (亦稱有熊格)。有熊格主要分布於中央山脈與鄰近山系，包括雪山、玉山、阿里山；而中央山脈北部從太平山經太魯閣國家公園至丹大野生動物重要棲息環境的有熊格則較稀少。另外再根據近十年的有熊紀錄資料 (n=715)，以 Maxent 預測模式建構臺灣黑熊分布預測圖，由北到南可大略分為五個大面積的臺灣黑熊分布區域：1. 北迴公路以北之插天山自然保留區；2. 中北部雪霸 - 太魯閣國家公園；3. 丹大野生動物重要棲息環境；4. 玉山國家公園及以南至大武山自然保留區；5. 東部海岸山脈 (蔡幸蒨, 2011)。

臺灣黑熊並不冬眠，四季皆可活動，根據玉山國家公園的無線電追

蹤結果顯示，臺灣黑熊在冬季時會持續停留於中海拔的山區，推測應該與當地食物資源的可獲得度有關 (Hwang et al., 2010)。玉山國家公園大分地區現為臺灣黑熊生態研究的主要根據地，自 1998 年起，玉山國家公園管理處及研究者 (黃美秀、吳煜慧、王穎) 合作進行捕捉繫放與無線電追蹤黑熊等相關研究，之後更進一步監測大分地區殼斗科青剛櫟森林之結果量與黑熊數量的變動。青剛櫟為大分地區的主要樹種，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., 2012)。2006 – 2009 年間於大分地區透過自動照相機與痕跡調查，進行臺灣黑熊族群相對豐富度和青剛櫟果實結果量的監測，發現臺灣黑熊的痕跡與自動相機 OI 值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。此外，青剛櫟的結果狀況有明顯的年間差異，而黑熊豐富度同樣呈現相同的季節和年間趨勢 (黃美秀等, 2009a、2010a；林冠甫, 2009)。

#### 四、臺灣黑熊遺傳研究現況

有關臺灣黑熊遺傳的研究從 2000 年開始，儲瑞華等人 (2000) 為了釐清圈養的黑熊個體是否為原生臺灣黑熊或是其他地區引入的亞種，針對台北市立動物園的黑熊個體 (n=11) 與玉山國家公園的黑熊個體 (n=4) 進行粒線體 DNA 序列分析，發現粒線體中控制區 (control region) 的變異性比細胞色素 b (Cytochrome b) 要來得高。但此結果僅可判斷出動物園內部份黑熊個體粒線體 DNA 可能來自本島玉山地區，其他多數個體來源仍不明確。之後特有生物中心陳元龍與楊吉宗 (2002) 利用亞洲黑熊粒線體基因組中的 12S rRNA (391 個鹼基) 與 16S rRNA (425 個鹼基) 序列進行 1 隻馬來熊 (*Ursus malayanus Raffles*) 與 11 隻亞洲黑熊間的遺傳變異比較，發現亞洲黑熊間此兩基因核苷酸取代比例僅有 0.77% 及 0.71%，故此兩基因依舊無法做為亞洲黑熊亞種間遺傳分類的依據。

之後蔡奇立等人 (2007) 完成臺灣黑熊粒線體全基因組 DNA 定序，全長為 17,044bp，其中包含 13 個 protein coding 基因、22 個 tRNA 基因與 2 個 rRNA 基因。另外則發現臺灣黑熊 (*U. t. formosanus*) 與西藏黑熊 (*U. t. tibetanus*) 在遺傳上較相近 (Tsai et al., 2009)，粒線體 DNA 相似度達

98.7%；而在 Choi 等人 (2010)的文獻中也有相似的結果，此篇文獻中提到，在粒線體的控制區中可以利用串聯重複辨識出亞洲黑熊亞種間的差異，其中臺灣黑熊的串聯重複為 5'-ACGCACGTGT-3' 重複 56 次；西藏黑熊為 5'-ACGCACGTGT-3' 重複 55 次，較臺灣黑熊多出一種重複序列為 5'-ACATGCGTGC-3' 重複 3 次。故可利用此點差異辨識出此兩個亞種。

石芝菁等人 (2009)利用圈養臺灣黑熊之 DNA，開發出 10 組微衛星基因座，並同時利用這 10 組微衛星基因座與粒線體 DNA 中的 cytochrome b、tRNA-Thr、tRNA-Pro 和控制區序列進行臺灣黑熊與其他地區亞洲黑熊的親緣分析。由結果得出圈養臺灣黑熊每個微衛星基因座具有 5 至 15 個對偶基因(Allele)，觀測異質度 (Observed heterozygosity, Ho) 從 0.556 至 0.889。推測這 10 組微衛星基因座應可以做為台灣黑熊與亞洲黑熊的遺傳特徵評估。石芝菁等人 (2012) 繼續以粒線體控制區 DNA 部分序列 (共 700 個鹼基) 分析 77 個確定來源亞洲黑熊樣本 (46 個臺灣黑熊、9 個西藏黑熊、17 個西南黑熊、8 個東北黑熊)，發現 46 個臺灣黑樣本僅分析出 5 個基因單套型，且臺灣黑熊樣本在 Neighbor-joining 親緣關係樹形成單一支系群 (1000 bootstrap value 為 88)，其遺傳特徵明顯與其他亞洲黑熊不同。值得注意的是，在玉山國家公園中採集到的 30 個排遺樣本，結果僅有 2 個基因單套型。若 30 個野外樣本全為不同個體，則顯示玉山國家公園境內台灣黑熊之粒線體遺傳多樣性有偏低之虞。另外，由 10 組微衛星基因座之結果檢測圈養臺灣黑熊 DNA 樣本之結果，發現似有分群之現象，惟地理分布位置不清楚 (石芝菁等，2012)。

何冠助 (2012)利用石芝菁等人 (2009)開發的其中 6 組微衛星，以 2008 年 10 月至 2009 年 2 月收集的野外黑熊毛髮與排遺進行玉山國家公園大分地區之黑熊遺傳多樣性初探。結果分別從黑熊毛髮(n=112)及排遺樣本 (n=290)檢定出 30 及 48 個體，兩種樣本重複判定出 13 隻個體，共辨識出 65 隻不同的個體。陳昇衛 (2014)則從 10 組微衛星基因座中進行篩選，最終以 8 組微衛星基因座，併以粒線體之 D-loop 序列與性別鑑定引子，建構野外臺灣黑熊個體鑑別之標準流程。並以此個體鑑別平臺分析 2010 年 10 月至 2011 年 2 月之排遺樣本，由 83 個排遺 DNA 樣本中鑑別出 35 頭個體，其中包含 24 頭公熊與 11 頭母熊。

至目前為止，已可從野外之黑熊排遺樣本經由微衛星基因座鑑別出個體與性別，然而野外族群之多年性遺傳資料庫、遺傳多樣性、遺傳結構分群與個體間關係，以及其他地區樣本之資訊都還處於缺乏的狀態。這些遺傳資訊都需要多年的累積才能獲得，無法從單一年度的遺傳分析得到答案。因此，將多年性的資料進行建構與整合，從中得知目前野外臺灣黑熊之遺傳多樣性與分群概況，若輔以已知之臺灣黑熊生態習性，對解開臺灣黑熊的眾多謎團將有所幫助。

## 參、材料與方法

### 一、 研究樣區

本研究樣區位於臺灣中央山脈，玉山國家公園境內東側之大分地區 (23°22' 25" 47 N, 121°05' 21" 49 E；圖 1)，該區海拔約由闊闊斯溪溪床 1,100 公尺至大分山 2,000 公尺。由花蓮縣南安管理站附近的山風登山口進入，單程步行 40 公里，需花費三天到達目的地。

大分地區自 1998 年開始成為臺灣黑熊生態研究之主要地區 (Hwang, 2003)，Hwang (2003) 的研究指出，秋冬季時大分地區的櫟樹大量結果，會吸引臺灣黑熊聚集至此處覓食。此地區優勢林為細葉饅頭果-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。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 m<sup>2</sup>。研究主要在青剛櫟分布的主要區域進行 (258000E, 2585500N, 260000E, 2588500N, TWD67)，樣區海拔 1,100 - 1,700 m，範圍約 5 平方公里 (黃美秀等，2009b)。

### 二、 野外臺灣黑熊排遺收集與青剛櫟果實豐富度之監測

黃美秀等人收集野外黑熊排遺的方法以何冠助 (2012) 敘述之步驟進行。每年青剛櫟季 (10 月至隔年 2 月為一季) 時，每個月分別於大分地區進行採樣 5 天，每季共採樣 5 次。採樣方式為：沿著 8 條青剛櫟調查樣線 (圖 1) 兩側以目視的方法搜尋排遺，發現後即紀錄其位置並以相機拍照。再以全球定位系統 (Global Positioning system, GPS；機型：GPSmap 60CSx) 定位。編號後將點位、內容物、新舊程度與採集日期紀錄至紙上。新舊程度依照排遺採集當時的色澤、軟硬、濕度，以採集者之主觀認定黑熊排遺之天數，並分為 5 級 (何冠助，2012)：第 1 級：新鮮：0~2 天；第 2 級：3~7 天；第 3 級：1-2 週；第 4 級：3-4 週；第 5 級：1 個月以上。回到山屋後將排遺分裝至 2 管 15 ml 離心管內，並加入 95% 酒精保存。攜至山下後保存於 -20°C 冰箱內，並盡速進行排遺 DNA 之萃

取。從 2009 年之青剛櫟季開始持續收集五個青剛櫟季，共收集 385 個排遺樣本。

青剛櫟果實豐富度監測由黃美秀等人進行 (黃美秀等, 2009a)，採用目視估計法 (visual survey)：1. Graves's 修正指數與 2. 30 秒計數法和種子陷阱 (seed trap) 進行監測。

### 三、大分以外地區之樣本採集

為瞭解大分以外地區的臺灣黑熊個體遺傳資訊與整體族群遺傳結構概況，另外將從不同地區收集到的排遺/組織/血液樣本一起加入分析。排遺樣本主要為偶發事件所得。分別為 2011 年 7 月於台東縣海端鄉之黑熊出沒鐵路事件，與 2011 年 12 月苗栗縣大安部落黑熊進入柿園事件，經民眾通報後由黃美秀於當地所採集，分別編號為 FBHD 與 FBDA (表 2)。2014 年 5 月研究人員郭彥仁於台東縣內本鹿林道調查所採集之排遺樣本 (編號 FBNL)。餘為 2014 年 10 月於台東縣向陽山屋旁死亡之公熊肌肉組織 (編號 FBSY) 樣本；和特有生物研究保育中心低海拔試驗站所圈養之雪霸國家公園救傷個體，於 2011 年進行健康檢查獲得之血液樣本，編號為 TE6。

### 四、排遺 DNA 萃取流程

本研究黑熊排遺樣本的 DNA 萃取主要依據 Hung 等人 (2004) 的方法進行排遺 DNA 萃取。在取樣本處理方法部分略做修改後進行。

萃取方法為：取 2 g 排遺樣本裝入 15 ml 離心管中，加入 95% 酒精至 8 ml 處，充分混勻後靜置冰上 5 分鐘，離心 3300 rpm、4°C、10 分鐘。用滅菌滴管吸取上清液與上層灰白色泥質裝入新的 15 ml 離心管，於 4°C 離心 3500 rpm、20 分鐘。再用滅菌滴管吸去上清液丟棄，留下沉澱物。

在含有沉澱物的離心管中加入 1.8 ml 之 2 X CTAB 緩衝液 (2% Hexadecyltrimethylammonium bromide, 1.4M NaCl, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl, Parsons et al. 1999) 沖洗及懸浮沉澱物，於室溫搖晃兩小時後，以 3500 rpm 離心 20 分鐘、4°C。取 1.8 ml 上清液，加入同體積之氯仿

(Chloroform)，均勻搖晃後以 13000 rpm 離心 5 分鐘、24°C。取 1.6 ml 上清液，加入同體積之氯仿，均勻搖晃後以 13000 rpm 離心 5 分鐘、24°C。取 1.4 ml 上清液，加入同體積之異丙醇 (Isopropanol)，放入 -20°C 10 分鐘，取出後室溫搖晃 30 分鐘。以 13000 rpm 離心 5 分鐘、4°C。倒去液體，加入 1ml 70% 酒精，以 13000 rpm 離心 4 分鐘、4°C。將殘餘酒精吸去後倒置風乾，依照 QIAGEN DNeasy® Tissue kit 之說明書，以此套組進行 DNA 純化(Purification)步驟，最後以套組所附之 AE buffer(QIAGEN) 回溶 100 $\mu$ l 之 DNA，存放於 -20°C。

## 五、 血液 DNA 萃取流程

血液與組織樣本 DNA 均採用 Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit，依照說明書步驟進行萃取。從健檢之黑熊個體抽取約 10 ml 血液，裝入含有 EDTA 之採血管中並搖晃均勻。於 4°C 以 3,000 rpm 離心 5 分鐘。吸取白血球層至 15 ml 離心管，加入 5 ml 的 cell lysis solution，上下搖晃 10 分鐘後以 3,000 rpm 離心 10 分鐘。此時可見白血球層沉澱，將上清液吸除。若還有紅血球未溶解，重複上述步驟 2 - 3 次。加入 5ml Nuclei lysis solution，dropping 數次(使白血球沉澱完全懸浮)，此時樣本會變黏稠。(若樣本無法溶解可放至 37°C 烘箱直到樣本溶解)。

在每一樣本中加入 25  $\mu$ l 的 4 mg/ml RNase A (kit 內的 RNase A 原始濃度為 4 mg/ml，使最後濃度為 20  $\mu$ g/ml)，震盪混合後置 37°C 旋轉 15 分鐘，再於室溫回溫旋轉 15 分鐘。加入 1.65 ml Protein precipitation solution，震盪混合 10-20 秒，以 3,000 rpm 離心 10 分鐘。可見到咖啡色蛋白質沉澱，將上清液移至新的 15 ml 離心管。若樣本黏稠會吸到咖啡色沉澱則重複步驟 10-11 一到二次。加入 5 ml Isopropanol，旋轉 3 分鐘混勻，可見白色絲狀物出現，以 3,000 rpm 離心 5 分鐘，去除上清液。加入 1 ml 70% EtOH，上下抽吸懸浮沉澱物，再吸取全部液體至 1.5 ml 離心管。以 14,000 rpm 離心 5 分鐘，去上清液後打開離心管蓋倒置晾乾 10-15 分鐘。最後加入 200  $\mu$ l 預熱 65°C ddH<sub>2</sub>O 回溶(視沉澱物大小而定，若 pellet 很小建議用 100  $\mu$ l 回溶)，以 65°C 加熱 1 小時後，存

放於-20℃。

## 六、組織 DNA 萃取流程

從死亡的黑熊個體獲取約 10 g 的肌肉組織，切取約 100 mg 的組織進行 DNA 萃取。將肌肉組織切碎後，裝入 1.5 ml 離心管中。將 500  $\mu$ l 的 Nuclei Lysis Solution 與 120  $\mu$ l 的 0.5 M EDTA 混合均勻，取出 600  $\mu$ l 加入切碎的肌肉組織中，再加入 17.5  $\mu$ l 的 Proteinase K (20 mg/ml)，於 55  $^{\circ}$ C 中上下搖晃 16 小時。加入 3  $\mu$ l 的 RNase Solution，於 37  $^{\circ}$ C 中上下搖晃 30 分鐘。加入 200  $\mu$ l 的 Protein Precipitation Solution 後搖晃均勻，於室溫中以 14,000 rpm 離心 4 分鐘。吸取上清液至新的 1.5 ml 離心管中，加入 600  $\mu$ l Isopropanol，上下搖晃 3 分鐘後於室溫中以 14,000 rpm 離心 2 分鐘。倒去上清液，加入 600  $\mu$ l 的 70 % 酒精後，於室溫中以 14,000 rpm 離心 1 分鐘，再重複此步驟一次。吸去上清液後以 14,000 rpm 離心 3 分鐘，再倒去上清液，將離心管倒置自然風乾。最後加入適量的 65  $^{\circ}$ C 二次水回溶 DNA 至完全溶解，存放於-20  $^{\circ}$ C。

## 七、台灣黑熊個體鑑別之流程

個體鑑別流程遵循陳昇衛 (2014)發表之論文所建議：

1. 先以粒線體 D-loop 序列增幅確認物種與 DNA 品質。
2. 擴增性別鑑定引子確認性別，同時也可作為個體鑑別的分標記之一。
3. 經過兩次篩選後再進行微衛星基因座的擴增，得到樣本遺傳資訊。

## 八、粒線體 D-loop 序列聚合酶連鎖反應增幅 D-loop 片段

本研究利用針對臺灣黑熊所設計之 D-loop 序列引子(陳昇衛, 2014)進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)以確認物種與 DNA 品質。反應總體積為 25  $\mu$ l，包含滅菌去離子水 15  $\mu$ l，forward 引子 (10 $\mu$ M)1  $\mu$ l，reversed 引子 (10  $\mu$ M)1  $\mu$ l，dNTP (2.5 mM each)2  $\mu$ l，10 倍的 PCR 緩

衝液 2.5  $\mu\text{l}$ ，Taq 聚合酶 0.5  $\mu\text{l}$ ，與排遺萃取出 DNA 3 $\mu\text{l}$ 。

在溫度循環機 (Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler) 中進行 40 次的聚合酶連鎖反應，反應條件為：步驟一，94°C、5 分鐘；步驟二、94°C、30 秒，56°C-63°C、30 秒，68°C、2 分鐘，步驟二進行 40 cycle。步驟三，72°C、10 分鐘。

反應完畢後，將標準液 (Thermo 100 bp DNA ladder) 加入瓊脂膠片最左邊的孔，取 PCR 產物 2  $\mu\text{l}$ ，以 0.5 倍 TBE 緩衝液進行 1% 的瓊脂糖凝膠電泳 (Agarose gel electrophoresis)，條件為電壓 100 伏特、時間 35 分鐘，檢視結果。實驗中使用的正控制組) 為一雌性圈養黑熊個體的組織樣本 (來源自屏東科技大學野生動物收容中心)。與一個負控制組以 ddH<sub>2</sub>O 替代 DNA template，確保實驗過程無污染的疑慮。未成功增幅 D-loop 片段之樣本，即不繼續進行微衛星基因座分析之實驗，重新由排遺萃取 DNA 與 D-loop 片段擴增。

#### 九、聚合酶連鎖反應增幅性別鑑定引子片段

利用 Pagès (2009) 與 Yamamoto (2002) 等人分別針對熊科與哺乳類動物所篩選之三組性別決定引子 (ZF/SRY、Amelogenin) 進行聚合酶連鎖反應。3 條 Forward 引子，分別標定帶有 FAM (藍)、VIC (綠)、PET (紅色) 三種不同螢光的引子 (表 1)。反應總體積為 10  $\mu\text{l}$ ，包含滅菌去離子水 5.7  $\mu\text{l}$ ，forward 引子 (10  $\mu\text{M}$ ) 0.4  $\mu\text{l}$ ，reversed 引子 (10  $\mu\text{M}$ ) 0.4  $\mu\text{l}$ ，dNTP (2.5 mM each) 0.8  $\mu\text{l}$ ，10 倍的 PCR 緩衝液 1  $\mu\text{l}$ ，Taq 聚合酶 0.2  $\mu\text{l}$ ，與排遺 DNA 模板 1.5  $\mu\text{l}$ 。

性別判定方法與原則如下：以 ZF/SRY 與 Amelogenin 序列所設計合成之 3 條帶有螢光團引子進行性別鑑定，ZF 之擴增片段大小為 144bp；SRY 之擴增片段大小為 115bp；Amelogenin (Amel) 於公熊的擴增片段大小為 191 與 245bp，母熊之片段大小為 245bp。

#### 十、聚合酶連鎖反應增幅微衛星基因座 (microsatellite loci) 片段

本研究利用石芝菁等人 (Shih et al. 2009) 針對臺灣黑熊所篩選出之 8

組微衛星基因座 (microsatellite loci) 引子 (UT1、UT3、UT4、UT25、UT29、UT31、UT35、UT38) (表 1) 進行聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction: PCR)。8 條 Forward 引子，為配合使用之毛細管電泳機器 (ABI 3730 DNA Analyzer)，皆由 ABI 公司合成，分別標定帶有藍、綠、紅色三種不同螢光的引子。反應總體積為 10  $\mu$ l，包含滅菌水 5.2  $\mu$ l，引子 (forward 端，10  $\mu$ M) 0.4  $\mu$ l，引子 (reversed 端，10  $\mu$ M) 0.4  $\mu$ l，dNTP (2.5 mM each) 0.8  $\mu$ l，10 倍的 PCR 緩衝液 1  $\mu$ l，Taq 聚合酶 0.2  $\mu$ l，與排遺 DNA 模板 2  $\mu$ l。

在溫度循環機 (Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler) 中進行 42 次的聚合酶連鎖反應，反應條件為：步驟一，94°C、5 分鐘；步驟二、94°C、30 秒，60°C、30 秒，68°C、25 秒，步驟二進行 42 cycle。步驟三，68°C、7 分鐘。反應完畢後，將標準液 (Thermo 100 bp DNA ladder) 加入膠片最左邊的孔，取 PCR 產物 2  $\mu$ l，以 0.5 倍 TBE 緩衝液進行 2% 的瓊脂糖凝膠電泳 (agarose gel electrophoresis)。實驗中擴增微衛星基因座使用的正控制組為一雌性圈養黑熊個體的血液樣本 (來源自屏東科技大學野生動物收容中心)；負控制組以滅菌去離子水替代 DNA template，確保實驗無污染的疑慮。

## 十一、基因型判定

聚合酶連鎖反應的產物置於 96 孔盤中，以 LIS-500 作為校正標準，並以 ABI PRISM 3730 DNA Analyzer 自動定序儀及 Peak Scanner Software v1.0 軟體進行基因型 (genotyping) 判讀。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)。每組基因座進行重複且獨立的聚合酶連鎖反應。

基因型判定流程，採用陳昇衛 (2014) 所建立之流程，以 Hung 等人於 2004 發表的方法做修改與調整

1. 各 DNA 樣本經過一次所有基因座的擴增。若超過一半的基因作擴增失敗的樣本，則重新從排遺樣本抽取 DNA，重新進行實驗。若有一半以上的基因型擴增成功，則進到下一個判定步驟。

2. 判定樣本各基因座的基因型分為 3 類：

- (1) 異型合子，且波型清楚明確，則可判定基因型。
- (2) 同型合子，且波型清楚明確，則需要再進行 2 至 5 次的序列擴增，進到下一個判定步驟。
- (3) 擴增失敗或是波型不清楚明確，則需要再進行 3 至 5 次的序列擴增，進到下一個判定步驟。

3. 經過 2 至 5 次的序列擴增，判定樣本各基因座的基因型分成 3 類：

- (1) 其中一次基因型判定中，判定為異型合子，且波型清楚明確，則可判定基因型。
- (2) 有 3 次基因型判定中，判定為同型合子，且波型清楚明確，則可判定基因型。
- (3) 經過 5 次基因型判定，依然無法判定其基因型，則此樣本的基因座設為缺值，若此樣本超過一半的基因座為缺值，則捨棄該樣本，不予分析。

## 十二、微衛星基因座遺傳資訊評估

經由毛細管電泳所得到的基因型，使用 GENECAP 軟體 (Wilberg and Dreher 2004) 判斷個體及計算個體鑑別率 (probability of identity:  $P_{(ID)}$ )， $P_{(ID)}$  值定義為：從一族群中隨機挑選出 2 個個體，其擁有相同基因座 (multiple loci) 之基因型的機率 (Waits et al. 2001)。一般建議該數值必須小於 0.01，此遺傳標記方具有鑑別力 (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，則為不同的基因型 (mismatch-pairs)，且若原始數據難以判別，則再對兩樣本此基因座進行一次微衛星基因座擴增 PCR，確認基因型是否正確。在共顯性遺傳的分子標記中，單一基因座之  $P_{(ID)}$  計算方式如下 (Waits et al. 2001)，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。

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

除了利用判讀出的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,  $H_E$ )。在假設每一青剛櫟季 (每年 10 月至隔年 2 月) 在玉山國家公園大分地區所採集之臺灣黑熊為同一族群下，另以 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。另以 POPGENE 軟體計算有效對偶基因數與 FIS 值，FIS 值的意義為評估族群是否偏離哈溫平衡。當  $FIS > 0$  時，表示族群可能有近親交配的現象；反之， $FIS < 0$  時，則表示可能有遠親交配的情況產生。FIS 的計算公式定義如下 (Wright 1978)：

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

最後以 Micro-checker 軟體 (Van Oosterhout et al., 2004) 評估每個基因座是否具有無效之等位對偶基因 (null allele)。

### 十三、臺灣黑熊族群遺傳結構

利用已獲得之 2010 年 (2010 年 10 月- 2011 年 2 月) 之遺傳資料 (陳昇衛, 2014)，與 2009 年 (2009 年 10 月- 2010 年 2 月)、2010 年至 2013 年於大分地區青剛櫟季所收集的臺灣黑熊基因型資料結合，進行彙整分析。將五個不同青剛櫟季出現於玉山國家公園內大分地區的臺灣黑熊視為一個大族群或不同族群，以 Structure 2.3.3 軟體 (Pritchard et al. 2000) 進行分析。此軟體分析之前提為同一分群中各基因座的基因型頻度符合哈溫平衡，且處於連鎖平衡狀態 (Linkage equilibrium)。軟體分析原理為：先以貝氏統計法 (Bayesian methods) 將個體以預設的分群數 ( $k$ ) 分群，再以馬可夫鏈法 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) 進行亂數隨機抽樣重複分群，統計每一個體分配到各群的機率後，再由演算結果推估最可能的分群數。推估方式為利用 Structure harvester 找出最適合的分群模式，以探討大分地區不同年份之青剛櫟季活動的臺灣黑熊是否有數個小族群的遺傳結構關係存在。預設分群數為 1-6，每一群重複運算 10 次，參數設定以貝氏統計進行 10,000 次計算，再以 MCMC 法進行 500,000 次隨機抽樣演算。再將演算的結果以 Structure harvester 軟體分析決定最佳  $k$  值。

#### 十四、臺灣黑熊個體間親屬關係之判定

將鑑別出的個體基因型以 Colony 2 軟體進行親屬關係模擬分析。此軟體可採用單一取樣，以最大似然法 (maximum likelihood assignment) 推算個體間的親屬概率，由 Wang 等人於 2009 年發表。參數設定參考國外棕熊族群之估算 (Skrbinsek et al., 2012) 方法，於兩性配對模式中分別選擇一夫多妻與一妻多夫 (polygamy) 制，並採用全似然法 (full likelihood model) 估算，基因型類型選擇共顯性，基因頻率以系統預設值設定，並將全部個體同時預設為子代、雄性個體預設為可能父親、雌性個體預設為可能母親，以上述設定進行計算。

#### 十五、玉山國家公園青剛櫟季大分地區之臺灣黑熊數量估算

利用 5 個青剛櫟季中鑑定出的個體，以 MARK 軟體 (White and Burnham, 1999) 進行大分地區臺灣黑熊之數量估算。由於 2009 年僅鑑定出 3 隻熊個體，因此僅利用 2010 年至 2013 年檢定出的個體資料。將 2010 年所有鑑別出的個體定義為「已標記」(Mark) 之個體，之後每一年重複被辨識出的個體為「再捕捉」(Recaptured) 個體，新鑑定出的未標記個體於下一年中視為已標記個體計算。估算方式為使用軟體中適合開放式族群的 Jolly-Seber Model (Seber, 1962) 模式，進行適合度檢測模式後進行估算。估算族群大小  $N$  所使用的參數有：表面生存率  $\Phi$  (apparent survival rate)，同時考慮真實生存率以及遷入遷出率，整體捕捉率為  $P$  (probability)。並使用 (t) 和 (.) 代表模型隨時間變異或是一致的參數 (Reisinger and Karczmarski, 2010)。使用 MARK 進行適合度檢定後，再以 Akaike Information Criterion (AIC) 比較不同模式的優劣，以挑選最合適的模式，AIC 值越小，代表模式適合度越高 (Anderson et al., 1994)。

Jolly-Seber Model 的假設為：(1) 每一青剛櫟季每隻黑熊排遺被撿拾 (捕捉) 到的機率 (captured probability) 是相同的；(2) 從第一次到第  $n$  次排遺撿拾 (捕捉) 的期間內，每隻黑熊的存活率 (survival rate) 都相同，不受到排遺被撿拾與否的影響；(3) 用來辨識不同個體的特徵 (微衛星基因座) 在調查期間中不會消失或發生誤認；(4) 每次的捕捉及釋放都在短時間內立刻完成；(5) 調查的區域範圍是不變的 (Pollock et al., 1990)。

## 肆、結果

### 一、大分地區臺灣黑熊個體鑑別與性別辨識

自 2009 到 2013 年 12 月已收集 385 個排遺樣本，經新鮮度判定同時篩選較新鮮的排遺，進行基因組 DNA 純化。本研究所蒐集遺傳樣本之時期共分成五年度，分別為 2009 年，時間從 2009 年 10 月至 2010 年 2 月，有 4 個樣本成功擴增 D-loop；2010 年，從 2010 年 10 月至 2011 年 2 月，有 83 個樣本成功擴增 D-loop；2011 年，從 2011 年 10 月至 2012 年 2 月，有 59 個樣本成功擴增 D-loop 序列；2012 年，從 2012 年 10 月至 2013 年 2 月，有 20 個樣本成功擴增 D-loop；2013 年，從 2012 年 10 月至 2013 年 2 月，有 19 個樣本成功擴增 D-loop 序列。從 385 個 DNA 樣本中，成功增幅粒線體 DNA 之 D-loop 序列的樣本為 185 個。確定這 185 個排遺樣本有抽取到基因組 DNA，可以進行後續實驗 (表 3)。

以 8 組微衛星基因座進行 PCR 增幅基因座之對偶基因片段，後進行毛細管電泳分析，獲得每個基因座之對偶基因長度，經由 GeneCap 分析其所獲得的對偶基因型與頻率，自 2009 到 2013 年大分地區總共辨識出 77 頭不同個體 (表 3)。其中有 38 個個體的排遺樣本在當季青剛櫟結果季在不同 GPS 點位被重複拾獲記錄。各青剛櫟季所採集的排遺樣本經 8 個微衛星基因座判別出的個體數分別為 2009 年 3 頭，2010 年 35 頭、2011 年 34 頭、2012 年 13 頭與 2013 年 12 頭。

為了瞭解每年個體數是否與青剛櫟結果之豐富度有關，利用臺灣黑熊排遺鑑定出的個體數量，以及該區研究者利用種子陷阱計算該年青剛櫟落果量(含受損果及完整果，顆/平方公尺)的豐富度變化進行比對(圖 2)。發現在落果量最多的 2010 年(2010 年 10 月-2011 年 2 月)，鑑別出的個體數也最多；其次分別為 2011 年 (2011 年 10 月-2012 年 2 月)、2012 年 (2012 年 10 月-2013 年 2 月)、2013 年 (2013 年 10 月-2014 年 2 月)、2009 年 (2009 年 10 月-2010 年 2 月)。鑑別出的個體數與計算出的落果量趨勢相符。

為了解大分地區臺灣黑熊性別比例，藉由 SRY、ZF 與 Amel 基因座之對偶基因型分析，77 頭黑熊個體包括 51 頭公熊與 26 頭母熊，性別比

為 1.96 (表 3)。各年度雄雌性別比，除了 2012 年 (0.625) 之外，皆以雄性居多；除 2009 年皆為雄性之外，各年雌雄性別比為 2.0 - 3.86。2009 年紀錄 3 頭公熊；2010 年 24 頭公熊、11 頭母熊；2011 年 27 頭公熊、7 頭母熊；2012 年 5 頭公熊、8 頭母熊以及 2013 年 8 頭公熊和 4 頭母熊，五年的青剛櫟結果季當中雄性明顯多於雌性。

這些透過遺傳檢定出的個體中，有些個體會於重複不同年青剛櫟季重複出現於樣區的情況，所有重覆於不同青剛櫟季出現於樣區的個體共 15 頭，佔全數之 19.5%，包括 4 頭雌性及 11 頭雄性，顯示有些黑熊會於不同年之青剛櫟結果季回到大分地區。其中 1 頭公熊個體 (個體編號 YNP28) 連續五年重複出現於大分地區、2 頭個體 (YNP04, 公熊、YNP18, 公熊) 於 2010、2011 與 2013 年重複出現、3 頭個體 (YNP15, 母熊、YNP20, 母熊、YNP37, 公熊) 於 2010 與 2013 年重複出現、2 頭個體 (YNP42, 公熊、YNP53, 母熊) 於 2011 與 2013 年重複出現。每年青剛櫟季重複出現的黑熊個體數採逐年記錄方式，其中紀錄最多個體數的 2010 年 (n=35 隻) 僅有一隻於 2009 年出現過的個體，後續 2011 及 2012 年則陸續分別記錄 9 (26%, n=34) 和 2 (15.4%, n=13) 隻重複出現過的，2013 年則紀錄 8 隻重複個體，佔該年之 66.6% (n=12)。

## 二、大分地區臺灣黑熊遺傳多樣性

以成功鑑別的 77 頭個體獲得的 8 個微衛星基因座之對偶基因多樣性進行遺傳多樣性分析。各基因座的對偶基因型為 3 至 14 個，平均為 7.75 (SD = ±3) 個，其中又以 UT31 基因座有最多的對偶基因型，為 14 個，而 UT1 基因座則僅有 3 個對偶基因型 (表 4)。有效對偶基因型平均為 4.6 (SD = ±2.2)，其中最少者為 UT1 基因座 1.8 個，最多為 UT31 基因座 8.9 個對偶基因 (表 4)。各基因座的多態信息量 (PIC) 為 0.349-0.878，平均為 0.693。整體的個體鑑別度 (P(ID)) 為  $4.56 \times 10^{-9}$ ，遠小於 0.01，代表此 8 組微衛星基因座具一定的鑑別度。

在期望異質度 ( $H_E$ ) 的部分，除了 UT1、UT4 及 UT25 基因座 (分別為 0.444、0.661、0.683) 之外，其他 5 個微衛星基因座的期望異質度為 0.745 (UT3)、0.803 (UT29)、0.893 (UT31)、0.822 (UT35)、0.842 (UT38)，皆

大於 0.7，平均為 0.737 (SD =  $\pm 0.142$ )。代表此 8 個微衛星基因座平均期望異質度於合理範圍之內。各微衛星基因座之觀測異質度皆與期望異質度相差不遠，平均觀測異質度為 0.714，代表檢測出的 77 頭個體基因座中雜合子比例與符合哈溫平衡之理想族群相近。近親指數於本研究中的各微衛星基因座  $F_{IS}$  值均偏低且接近 0，以平均 0.0243 來看也屬接近 0 的範圍。顯示 2009 至 2013 年於玉山國家公園青剛櫟季聚集在大分地區的 77 頭個體，所分析的微衛星基因座具有遺傳多樣性。哈溫平衡測試結果顯示 UT29 屬輕度偏離 ( $P < 0.5$ )，UT35 為中度偏離 ( $P < 0.01$ )，顯示此 2 個基因座受到選拔壓力的影響。

### 三、臺灣黑熊之遺傳結構

為了分析獲得的 77 頭個體之遺傳結構，以 Structure 2.3.3 軟體針對將所鑑別出的 77 頭個體進行分析，再以 Structure harvester 檢測最加分群數。得到結果為遺傳分群數 (K) 為 3 群時，每分群間擁有最大遺傳變異 (圖 3)。因此以 3 群進行分群選派分析 (assignment test)，分別命名為 cluster A ( $n=21$ )、cluster B ( $n=28$ ) 與 cluster C ( $n=28$ ) (圖 4)。

為釐清相同遺傳分群之個體是否傾向回到大分地區，將 2009 至 2013 年於不同年度重複出現於大分地區之個體 (表 5) 對照遺傳分群結果，A 群有 1 頭個體 (6 號公熊)，出現於第二與第三季。

B 群有 7 頭個體重複出現：4 號公熊 (第二、第三與第五季)、5 號公熊 (第二與第三季)、15 號母熊 (第二與第五季)、19 號公熊 (第二與第三季)、20 號母熊 (第二與第五季)、27 號母熊 (第二與第四季) 與 42 號公熊 (第三與第五季)。

C 群有 7 頭個體重複出現：16 號公熊 (第二與第三季)、18 號公熊 (第二、第三與第五季)、28 號公熊 (連續五季)、35 號公熊 (第二與第三季)、36 號公熊 (第二與第三季)、37 號公熊 (第二與第五季) 與 53 號母熊 (第三與第五季)。結果顯示 A 群之個體於大分地區出現的重複性較低，B 群與 C 群有較多個體重複回到大分地區。

進行 2009 至 2013 年於不同季別重複出現於大分地區之個體之性別比例分析。結果總共有 8 隻雄的個體累計出現 2 次，2 隻雄的個體累計出現 3 次，1 隻雄的個體累計出現 5 次；4 隻雌的個體累計出現 2 次。顯示雄性在五個青剛櫟結果季中回到大分地區的個體數較雌性高。

#### 四、玉山國家公園大分地區臺灣黑熊之親屬關係

為了解 2009 至 2013 年大分地區鑑別出的 77 頭黑熊個體間，是否具有親屬關係。將 77 頭黑熊個體之 8 個微衛星基因座之對偶基因多樣性資料，以 Colony 2 軟體進行親子關係分析，結果如表 6 所示。在 77 頭個體中共鑑識出可能之 25 對親子（含父子、父女、母子、母女）配對、44 對全同胞配對，2 個完整家族（完整家族定義為父親母親與子代皆在 77 頭個體之中），沒有上述任何親緣關係的有 31 頭個體。其中編號 YNP39 之公熊分別與編號 YNP10、YNP15，以及未被檢驗出的 77 頭個體以外的其他 3 頭母熊配對（表 6），並分別繁殖了共 8 頭後代。編號 YNP10 之母熊除了和編號 YNP39 公熊，也和未被檢驗出的其他兩頭公熊配對，分別繁殖了 4 頭後代（表 6）。編號 YNP28 之公熊則和未被檢驗出的其他兩隻母熊分別繁殖了 3 頭後代。編號 YNP15 之母熊除了和 YNP39 公熊，也和另一頭未被檢驗出的公熊配對，分別繁殖共 3 頭後代。編號 YNP43 之母熊則和未被檢驗出的 2 頭公熊分別繁殖 5 頭後代。編號 YNP65 之母熊和未被檢驗出的之公熊分別繁殖共 2 頭後代。上述 6 頭個體之配偶數量分別為 5 頭、3 頭、2 頭、2 頭、2 頭、2 頭。

#### 五、玉山國家公園 2010-2012 年青剛櫟季大分地區之個體數量

使用 MARK 軟體進行模式適合度檢測，結果如表 7 所示，將全部不同變因組合的模式依照 AIC 值大小排序，得到(1).  $\{\Phi(.) P(t)\}$  (生存率一致、捕捉率隨時間改變) 與(2).  $\{\Phi(t) P(t)\}$  (生存率與捕捉率隨時間改變)皆為適合使用的模式 (delta AIC 值 0-2，即每個模式的 AIC 值減去最小 AIC 值的差值) 前人研究認為 delta AIC 值 0-2 皆可為適合的模式 (Posada, 2009)。兩個模式的 AIC 權重分別為 0.7 與 0.22，表示  $\{\Phi(.) P(t)\}$  (生存率一致、捕捉率隨時間改變)的模式受生存率變因影響較大，而  $\{\Phi(t) P(t)\}$  (生存率與捕捉率隨時間改變)模式則略受變因影響 (Anderson and Burnham,

1994)。考慮到大分地區黑熊之存活率非固定（不能確認個體在五季間是否存活），且排遺檢拾機率並非一致（排遺樣本檢拾點集中在 8 條樣線上）的情況下，最後選擇與實際情況較相符的  $\{\Phi(t) P(t)\}$  模式。

另外以 Jolly - Seber 模式進行實際估算，其適合度檢定 (Goodness-of-fit test) 也顯示符合 A 模式 (Full model)，此模式之設定為開放式族群，其存活率及捕獲率因時而異 (Schwarz and Arnason, 1996)。模式估算顯示，2011 與 2012 年大分地區黑熊族群數量分別約為 113 隻與 238 隻，平均為 176 隻 (表 9)。每年之再捕獲率如表 8 所示：2011 年 0.26 ( $n = 9$ ，標記個體總數 35)、2012 年 0.03 ( $n = 2$ ，標記個體累積總數 60)、2013 年 0.11 ( $n = 8$ ，標記個體累積總數 71)，估算出的平均族群量之 95% 信賴區間下限為 -110，上限為 461。

## 伍、討論

### 一、大分地區黑熊個體數量與食物資源之相關性

根據從 2006 年至 2013 年共 8 個青剛櫟季的調查資料顯示，大分地區臺灣黑熊爬樹留下爪痕的數量與該年青剛櫟季結果狀況，無論是利用種子陷阱估計或是利用兩種目視法 (30 秒計數法與 Grave's 修正指數) 估計所得，皆呈現黑熊痕跡與青剛櫟季落果量 (顆/平方公尺) 有正相關 (黃美秀等, 2013)。雖然藉由痕跡調查可以推估相對黑熊的豐富度，但仍是缺乏黑熊個體數量的直接證據。本研究遺傳樣本收集的 5 年期間，大分地區的青剛櫟結果季青剛櫟實落果量以 2010 年 (2010 年 10 月- 2011 年 2 月, 51.2 顆/平方公尺) 最高，其次分別為 2011 年 (2011 年 10 月- 2012 年 2 月, 30.5 顆/平方公尺)、2012 年 (2012 年 10 月- 2013 年 2 月, 30 顆/平方公尺)、2009 年 (2009 年 10 月- 2010 年 2 月, 21 顆/平方公尺) 與 2013 年 (2013 年 10 月- 2014 年 2 月, 18.4 顆/平方公尺) (黃美秀等, 2013)。樣區黑熊相對豐富度的調查結果與本研究利用排遺 DNA 進行個體鑑別，各年間所鑑定出的個體總數變化趨勢相近 (圖 2)。然 2011 年以種子陷阱估計之結果量並不若 2010 年的好，由平均 51.2 顆下降至 30.5 顆，臺灣黑熊的數量卻依然與前一年相近。推測可能有以下。第一，臺灣黑熊對於大分地區上一年的食物豐富度尚存有印象，因在 2010 年出現於大分地區的 35 頭臺灣黑熊當中，即有 8 頭 (23%) 於 2011 年重覆回到該地區 (表 3)，為 5 個青剛櫟季中重複出現個體數比例最高的年度。

此外，除了樣區所屬的優勢樹種青剛櫟的堅果之外，臺灣黑熊還會取食其他的食物種類如野核桃 (*Juglans cathayensis*)、狹葉櫟 (*Cyclobalanopsis stenophylloides*)、森氏櫟 (*Cyclobalanopsis morii*)、山柿 (*Diospyros japonica*) 等其他種類果實 (Hwang et al., 2002, 黃美秀等, 2014)。也就是說，雜食性的臺灣黑熊並不侷限於取食青剛櫟，也會廣泛利用青剛櫟以外的其他食物。在日本，對栃木縣日光國立公園 (Nikko National Park) 中亞洲黑熊糞便食性分析中的發現，黑熊在櫟實產量較差的年份，糞便中山葡萄、李屬與其他果實類的比例會提高至 32.6%，而在櫟實產量較佳的年份，此類食物只占 11.8-15.3% 左右 (Koike et al., 2012)。另於日

本秩父多摩甲斐國立公園 (Chichibu Tama Kai National Park)，秩父地區共有四種不同樹種的果實為黑熊所食用：蒙古櫟 (*Quercus crispula*)、山毛櫟屬 (*Fagus sp.*)、楓楊屬 (*Pterocarya sp.*)和日本栗 (*Castanea crenata*)，然當黑熊於秋天取食的主要櫟實樹種結果量不佳時，會轉而找尋其他種類的櫟實 (Hashimoto et al. 2003)。根據野外研究團隊的長期觀察紀錄 (黃美秀、蔡幸蓓，私人通訊)，於 2011 年，大分地區青剛櫟以外的樹種結果狀況較佳的有野核桃與山柿，另外於鄰近山區多美麗稜線則有森氏櫟與鬼櫟結果，這些都是臺灣黑熊經常會取食的種類。因此雖然 2011 年青剛櫟結果量不如上一季，停留在大分地區遺傳鑑定出的黑熊個體仍可能因取食樣區或鄰近地區的樹上果實，而有停留大分的機會。

2012 年的青剛櫟結果量與 2011 年相近，然遺傳鑑別出的黑熊數量則下降至 13 頭，推測此季除了青剛櫟結果量不佳，其他食物種類除了瓦拉米至多美麗之鬼櫟結果量較好 (黃美秀，私人通訊) 之外，並無其他果實產量豐富的紀錄，且鬼櫟於當季 11 月時已幾乎都落光。加上，2012 年該區 11-12 月時大分山屋進行整修，或許也因人為干擾導致黑熊不停留於大分地區。2013 年的青剛櫟結果量持續低產量，鑑別出的黑熊個體數維持在 12 頭。

不同食物資源之豐富度會影響黑熊活動與覓食的行為，一地區的食物量會影響熊類的生理活動、行為與其生態 (Vaughan, 2002)。每年的櫟實產量變動也會影響熊類對棲地的選擇偏好與覓食行為 (Hazumi and Marumaya, 1986; Hwang and Garshelis, 2007; Kozakai et al., 2011)。Ohnishi 等人 (2011) 於 2004 年到 2006 年對日本富山縣地區的櫟實結果量與居民通報黑熊出沒的件數進行調查，發現在櫟實產量較低的年間，居民通報黑熊干擾的案件遽增，因而造成大量黑熊被撲殺的結果 (例如，2004 年撲殺 2,485 頭熊，2006 年撲殺 4,340 頭熊)。日本野生動物局與學者一致認為，這是主要是因為山區自然食物資源缺乏所導致的結果 (Izumiyama et al., 2008)。在美國黃石國家公園，棕熊秋季的主食白皮松 (White bark pine) 毬果產量降低的年間，棕熊會離開原先覓食的地區，甚或跑出保護區外覓食，人熊衝突的事件在這些年間也有顯著的增加 (Schwartz et al., 2010)。另在日本，日光國立公園的黑熊在結果量較低的 2006 年，平均活

動範圍較結果量較高的 2007 年大 (Yamazaki et al, 2009)。這些結果與美洲黑熊的研究類似，亦即當食物資源受限時，黑熊會改變其覓食模式，如以增加活動範圍，來因應食物短缺的現象 (Vaughan, 2002)。

由每季的青剛櫟結果量、根據排遺 DNA 鑑別之黑熊個體數與過去研究之熊類覓食行為模式推測：每年青剛櫟的結果豐富度應該為影響於青剛櫟結果季進出大分地區的黑熊數量的重要因素之一，但應該非絕對因素。考量黑熊的廣大活動範圍，以及玉山國家公園地區複雜的地景和植被狀況，各項自然資源的變動、人為干擾（甚或可能包括無意的人為食物提供），以及黑熊季節性的生理和行為需求等，皆可能影響一地區某一特定時期黑熊族群的相對數量變化。

## 二、大分地區臺灣黑熊性別數量與其活動

在大分地區 5 個青剛櫟結果季中，黑熊個體性別鑑定雄/雌比例為 1.96，偏離美洲黑熊一般野外族群的 1:1 (Garshelis, 2009)。就 2010 與 2011 年中，出現於大分地區黑熊個體數較多，分別為 35、34 隻，其中的公熊數量皆為母熊的兩倍以上。於 1998-2000 年在大分地區捕捉繫放並追蹤 15 隻臺灣黑熊的初步觀察結果顯示，在青剛櫟產量頗豐的季別，母熊與尚未成年的小熊似乎有在空間上迴避青剛櫟結果最多的地區；或是選擇在較冷僻的活動時段覓食以避開成年公熊 (Hwang 2003; Hwang et al., 2010)。以後其連續 4 年記錄的不同個體排遺點位搭配大分地區之地理資訊顯示，可看出雌性排遺拾獲之 GPS 點位較為集中於特定幾條樣線，如 T4 與 T6；而雄性排遺拾獲之 GPS 點位較為分散，雄性分布於 T1 至 T5 樣線間皆有密集的拾取點位紀錄 (圖 5)。T4 樣線同時也為 5 年以來黑熊痕跡比例較高的一條樣線，推測可能因其為稜線地形較常被動物所利用，以及其地理位置位於河流旁，可能為熊往來不同山系稜線的途徑 (Hwang et al., 2013)。若將 2010 與 2011 年不同性別排遺拾取點位搭配地圖 (圖 6、圖 7)，可看出兩季間除了性別數量的差距，雄性與雌性黑熊出沒在不同樣線的差異更為明顯：2010 年結果量較為豐富，公熊與母熊分散於大分地區；2011 年結果量較差，各樣線種子陷阱集果量以 T3 和 T4 最高 (Hwang et al., 2012)，由圖 7 可看出 2011 年時公熊主要分布於 T3 與 T4

樣線，母熊則少數分布在 T4、T6 和 T8 樣線上，顯示公熊似有集中於結果量較高樣線的趨勢，母熊分布則較為分散，無明顯集中於特定樣線的現象。

國外其他地區熊類的研究顯示，成年公熊有獨佔資源的現象，除了垃圾堆 (Bunnell and Tait, 1981) 之外，橡樹林 (Garshelis and Pelton, 1981)、藍莓叢 (Jonkel and Cowan, 1971; Rogers, 1976) 等熊類偏好的食物地區皆有此現象。棕熊與美洲黑熊的研究指出，熊雖然是獨行動物，但在有食物資源豐富 (如腐肉、垃圾、鮭魚潮) 的情況下，能夠短暫的忍受同屬動物在附近出現並共享資源。另在個體性別分布上，則以公熊佔多數的情況 (Egbert et al., 1976; Rogers et al., 1976)。以聚集在垃圾堆周邊的美洲黑熊為例，出沒在垃圾堆附近的公熊數量幾乎為母熊的 2 倍或以上，二個研究資料顯示分別為 85 隻公熊與 41 隻母熊 (Rogers et al., 1976)，以及 35 隻公熊與 6 隻母熊 (Beckmann et al., 2003)。

Beckmann (2003) 等人試圖以理想等級分布模式 (ideal- despotic distribution models, IDD) 來解釋此種現象，預測優勢個體會佔據優質 (或較大面積) 的棲地或資源；反之，非優勢的個體對棲地或資源的選擇，則受限於優勢個體 (Fretwell, 1972)。當熊因食物資源聚集在一起時，儘管彼此之間會因爭奪食物而短暫衝突，但通常會相安無事。減少紛爭的方法主要是透過位階關係的建立，即具有體型優勢的成年公熊通常會占有較佳的覓食地點與時段，並將母熊排除在外，母熊則會遠離或躲避公熊集中的覓食地點，因而導致性別隔離 (sexual segregation) 的情形 (Garshelis 2009)。

除了理想等級分布模式，Beckmann 等人 (2003) 也提出另一種造成取食熱點性別數量不平均的推測，即並非公熊主動佔據資源，驅逐母熊，而是母熊選擇迴避公熊聚集之處。母熊不願靠近有許多公熊出現的地區，可能是為了避免自己或幼熊被攻擊。北極熊與美洲黑熊公熊皆有攻擊並殺害同種的紀錄 (Taylor et al., 1985; Tietje et al., 1986; Davis and Harstad, 1996)。帶著幼熊的美洲黑熊母熊也曾被記錄到主動避開成年公熊 (Powell et al. 1997)。Egbert (1976) 等人觀察棕熊之間的互動發現，帶著幼

熊的母棕熊通常會主動避開公熊，顯示母熊可能本身即有選擇主動迴避公熊的傾向。

此外，Rogers (1976)與 Beckmann (2003) 也推論雄性偏差播遷(male-biased dispersal)也可能是造成性別數量差異的因素之一。因公熊一般比母熊更有長距離移動的能力，活動範圍也較大(Garshelis 2009)。Hwang (2010) 等人於 1998-2000 年於大分地區以無線電追蹤臺灣黑熊，結果顯示-雌性台灣黑熊的活動範圍為 117 平方公里，但公熊的活動範圍可能超過 200 平方公里。Beckmann 等人 (2003)認為，正由於公熊有較大的移動距離與活動範圍，所以更容易發現食物豐盛的地區進而佔據資源。大分地區在青剛櫟季時，公熊數量皆為母熊的 2 倍以上，除了 2012 年 (公母比為 0.625) 之外。然而，若大分地區正值青剛櫟果實生產缺乏的季節，該區資源對黑熊所扮演的角色，則會受到外圍其他地區食物資源的豐富度和分布影響。因此，若遇到大分地區的食物資源重要性不如其他地區的季節，可預期大分地區的黑熊雌雄性別比的偏離程度應該較低。

食物資源的多寡對不同性別黑熊的活動也可能造成不同程度的影響。Koike 等人 (2012)於日光國立公園的對 13 隻黑熊 (7 公 6 母)進行為期 3 年的無線電追蹤，結果發現雖然公熊的移動距離皆大於母熊 (公熊 2006 年平均最小移動距離 1912 公尺；2007 年：789 公尺；2008 年：811 公尺；母熊 2006 年平均最小移動距離 1733 公尺；2007 年：304 公尺；2008 年：213 公尺)，但在櫟實結果量較差的 2006 年，母熊的累積移動距離超過了公熊 (母熊累積移動距離 20,000 公尺；公熊累積移動距離 19,900 公尺)。若比較不同年間的同性別追蹤結果，母熊在結果量豐年與欠年的遷徙變化程度大於公熊，作者則認為櫟實的結果量多寡 (或指食物資源多寡)對母熊的覓食行為影響較公熊來得大。類似的情形也出現在黃石國家公園的棕熊族群中，Bjornlie 等人 (2014)在白皮松毬果產量較差的六年 (2007-2012)間對 56 隻母熊與 45 隻公熊進行無線電追蹤，並和毬果產量較佳的 1989-1999 共十年間追蹤的棕熊活動範圍相比，作者觀察到母熊的平均活動範圍有縮小的跡象，同時進入白皮松林區的頻率也有降低的趨勢，而活動範圍中出現其他熊的密度則有增加的現象；公熊卻僅有降低進入白皮松林區頻率的情形發生。上述其他研究的結果顯示，食物資源

缺乏可能對母熊的行為模式造成較大的影響。以大分地區的臺灣黑熊來看，2013 與 2012 年的青剛櫟結果量皆不佳，然 2013 年的 8 筆目擊記錄中，有 4 筆紀錄為母熊帶小熊的情形 (黃美秀等，私人通訊)，這是否是因目擊資料的偏差，抑或與母熊對重要食物資源的變動較為敏感，則需更多資料與統計分析來確定。

在大分地區季節性重要食物資源 (青剛櫟) 的集中分部，以及結果量的年間和季節間變動明顯，再加上熊類普遍存有性別區隔的現象，因此推測本研究的黑熊性別比雖偏離 1:1，應該屬於大分地區青剛櫟結果季特有的性別結構。然就臺灣黑熊於本島或於整個玉山國家公園地區，整體臺灣黑熊族群的性別比建議需進一步的研究。

### 三、臺灣黑熊遺傳多樣性

本研究使用的 8 組微衛星基因座每個基因座的對偶基因數目 ( $k$ ) 為 3-14 個，以 UT1 對偶基因數 3 個最少，UT31 對偶基因數 14 個最多，平均為 7.75 個。所檢驗 77 頭臺灣黑熊個體中的有效對偶基因 ( $N_e$ ，即在族群遺傳親緣分析時具有影響力的對偶基因數目) 數目，從 1.8 至 8.6 個，也是 UT1 最少，UT31 最多，平均 4.6 個。平均實際對偶基因數高於有效對偶基因數，顯示每個基因座的實際對偶基因數足夠來分析 2009-2012 年大分青剛櫟結果季黑熊族群的遺傳結構。另外，8 組微衛星基因座各基因座的多態信息量 (PIC) 皆大於 0.25，平均 PIC 值為 0.691，表示各基因座的遺傳訊息多型性足夠分析 2009-2013 年大分青剛櫟結果季臺灣黑熊的遺傳多樣性、親緣關係與遺傳結構 (表 4)。

就本研究的黑熊的遺傳多樣性的期望異質度 ( $H_E$ ) 來看，除了 UT1 (0.444)、UT4 (0.661) 及 UT25 (0.683) 基因座之期望異質度小於 0.7 之外，其餘微衛星基因座的期望異質度皆大於 0.7，平均為 0.737。Paetkau 等人 (2003) 利用 5-7 個基因座調查 21 個熊科族群 (包含棕熊、美洲黑熊與懶熊) 所得到的遺傳資訊指出，為了避免遺傳資料錯估，平均期望異質度的範圍最好落在 0.7 至 0.8 之間，本研究的期望異質度平均正好介於這個範圍之內。

若從大而連續分布的熊類族群來看，Paetkau 等人 (1998) 以 8 個微衛星基因座，分別針對北美洲不同地區的美洲黑熊、棕熊與北極熊族群檢測出的理論異質度範圍分別為 0.428-0.819、0.265-0.762 與 0.61-0.643。該作者指出，同一物種的期望異質度範圍正好反映了不同地區遺傳多樣性與遺傳交流程度的差異性。例如，居住在科達克島 (Koidak island) 上的棕熊族群，其理論異質度只有 0.265；不同地區的北極熊族群平均期望異質度皆略低，但差異不像美洲黑熊和棕熊一般大(如棕熊最小 0.265、最高 0.762)；美洲黑熊族群中出現較多偏高的期望異質度，反映出其相對的較大族群。以期望異質度的整體結果來說，遂可推測美洲黑熊的族群數量為三種熊之冠，其次為棕熊，最後為北極熊 (Paetkau et al., 1998)。

以亞洲黑熊的遺傳資訊來看，研究者針對日本不同地區的黑熊族群，使用 6 組微衛星基因座檢測所得期望異質度為 0.66 (Iwate, 本州岩手縣, Saito et al. 2008)、0.702 (Kinki, 近畿) 和 0.737 (Honshu, 本州中部, Ohnishi et al. 2007)。在南韓，智異山國家公園 (Jirisan National Park) 於 2004 年進行再引入計畫，24 隻黑熊分別來自北韓與俄羅斯，16 組微衛星基因座檢測出的期望異質度分別為 0.676 與 0.648。若以被隔離的族群來看，日本四國 (Chugoku) 西部的 3 個黑熊族群，以 6 個微衛星基因座檢測出的期望異質度為 0.229-0.311 (Saitoh et al. 2001)，或 0.545-0.630 (Ohnishi et al. 2007)。因此，若是能獲得大分以外地區的臺灣黑熊族群遺傳樣本進行進一步深入分析，並進行族群間的異質度比較，對於臺灣黑熊於本島之族群分隔現象將可提供重要資訊。

此外，本研究黑熊之平均近親指數  $F_{IS}$  值為 0.0243，接近 0。 $F_{IS}$  若數值大於 0 則代表有近親交配的可能，數值小於 0 則代表遠親交配的可能，等於或接近 0 時，表示趨向隨機交配的可能 (Wright, 1978)。因此，玉山國家公園大分地區 77 頭個體應無近親衰退問題。但有兩個基因座，分別為 UT31 與 UT35 其  $F_{IS}$  值大於 0.1，UT1  $F_{IS}$  值小於 -0.1，顯示二者的同型合子比例偏高，其觀測異質度 ( $H_o$ ) 分別為 0.729 與 0.697，相較於期望異質度有偏低的情況。而 UT1 雖期望異質度不高 (0.444)，但其觀測異質度 (0.5) 略高於期望異質度，表示 77 頭個體中此基因座的異型合子比例是偏高的。UT31 與 UT35 之近親指數則還需要持續的監測與評估。哈溫平衡

檢測則顯示 UT29 與 UT35 可能受到選拔壓力的影響。以 Micro-checker 軟體 (Van Oosterhout et al., 2004) 評估每個基因座是否具有無效之對偶基因 (null allele)的結果則顯示 UT31 與 UT35 有較高比例的無效對偶基因 (附錄 5)，分別為 0.05 與 0.07。然是否因此而導致此 2 個基因座之近親指數偏高，則有待進一步釐清。

#### 四、大分地區青剛櫟結果季之臺灣黑熊族群結構

本研究利用遺傳技術檢定並確認 77 隻黑熊個體後，以 Structure 軟體分析大分地區青剛櫟結果季台灣黑熊之遺傳分群狀況。Structure 的分群原理為分派檢定法 (assignment test)，依每一個體基因型與基因型頻率進行 delta K 值計算，估算哪種分群之每個分群間遺傳差異最大，做為分群數目依據。本研究結果顯示 77 頭個體分成三群時 delta K 值為最大 (圖 3)，遂將 2009-2013 年玉山國家公園大分青剛櫟結果季臺灣黑熊族群分成 3 群，並進行分派檢定，分別為 A、B 與 C 群 (圖 4)。

在遺傳分群於應用上，意義為能從分群結果釐清小族群間是否有基因交流的情形。分群結果不僅是反映遺傳分化的小族群，並且能夠從中得知小族群之間是否存有實際觀測上不易察覺的基因交流，也可由此推測動物的遷移模式 (Paetkau et al., 1995)。Itoh 等人 (2012)、Straka (2012) 等人與 Kopatz 等人 (2012) 分別針對分布於日本北海道東部、喀爾巴阡山脈與西北歐 (瑞典、挪威與俄羅斯) 的棕熊族群以 structure 軟體進行分群檢測，所得出之最佳分群數皆小於實際的地理分區結果。在北海道東部，因天然與人為障礙將此地區劃分為 6 個區塊，而以 Structure 檢測得出的最佳分群數為 3 群，此分群結果可證實不同區域 (天然或人為劃分) 間的熊並不受地理限制的影響，而有基因交流的現象 (Itoh et al., 2012)。在喀爾巴阡山脈的棕熊族群分為東、西 2 群，但卻與原先認定以地理區隔出的 4 群有所差異 (Straka, 2012)。在西北歐 4 個分散的地區收集到的棕熊個體樣本，在遺傳上被分為 3 群，且其中一小族群顯示出高度的遺傳隔離現象 (Kopatz et al., 2012)。該作者認為是因為該地區同時為馴鹿的放牧地，大片牧草地將森林隔開，減少了當地棕熊與其他地區族群的交流，另兩個小族群則顯示少量的基因交流。作者同時認為，因棕熊分布的地

區非常廣泛，因此在大而連續分布的族群與族群之間有可能出現距離隔離 (isolation-by-distance, IBD) 的現象。由於公熊一般會進行長距離播遷，雌熊則偏向留在原棲地 (Garshelis, 2009)。故若利用 Structure 檢測的結果，再搭配地理區上的觀測，則就可以看出及解釋基因交流的模式。因此，若將大分地區的臺灣黑熊之基因型資訊加入以下資料，包括 (1) 來自其他地區的樣本資訊，以及 (2) 野外臺灣黑熊移動模式資料，則將有助於建構臺灣黑熊於全島更完整的族群分群模式與地理分布間的關係。

基於上述理由，將來自其他地區的有限個體樣本 (表 2) 基因型與 77 頭個體之基因型合併後，以 Structure 軟體進行初步分析。儘管玉山以外的樣本累積數量十分有限 ( $n = 5$ )，但樣本分別來自四個不同地區 (雪霸國家公園、台東海端、向陽山屋、內本鹿林道)，皆位於本島目前此物種的預測分布範圍 (蔡幸蒨, 2011)，尚可成為南北不同地區之代表，期盼初步的分析結果可以對此議題提供參考性價值。經過分析後得出最佳分群之  $\Delta K$  值為 4 群 (附錄 3)，合併後新出現之分群命名為 B' (附錄 4)，此分群內包含新加入的 5 個樣本與 11 頭原 A 群之個體，2 頭原 B 群個體與 6 頭原 C 群個體。來自南北不同地區之樣本皆被歸納在同一遺傳分群中。若根據這樣的結果，推測臺灣黑熊可能如同北極熊 (Zeyl et al., 2009) 與棕熊 (Stoen et al., 2006)，可以在中央山脈區域進行長距離的移動，並藉著這樣的移動方式進行繁殖交流，而讓臺灣黑熊保持著一定的基因多樣性。

Zeyl 等人 (2009) 於北極熊的研究中提到，有些公熊一生都在改變居住地，公北極熊對於原生與居住地區的忠誠度通常比母北極熊來得小 (Lentfer, 1983)。Stoen 等人 (2006) 彙整於 1984 年至 2001 年於北歐 (瑞典與挪威) 南北兩地區以無線電追蹤的 326 頭棕熊移動資料，發現南北兩地區的公熊與母熊離開原生地區的比例分別為：北部公熊 81%、母熊 32%；南部公熊 92%、母熊 42%，且公熊的初次遷移年齡高峰為 2 歲，母熊為 3 歲之後。該作者認為驅使公熊遷徙的主因可能為原棲地的個體密度過高與有尋找配偶的需求，而母熊主要為拓展自己的領域需求 (覓食區域) 而進行遷移。公熊與母熊的最長遷移距離分別為 467 公里與 90 公里，顯見公熊確實具有長距離移動的能力。然其播遷模式是否能影響族群間的基

因交流，則需以遺傳分析之方法加以驗證。

在額外加入大分以外地區的分群分析的樣本當中，78 號與 81 號個體分別來自海端與內本鹿林道，經過性別鑑定後確認為公熊；80 號樣本為黃美秀等人於 2000 年在大分繫放過的公熊個體「Lon」，此個體於 2000 年繫放後，於當年 12 月 4 日之後，便離開大分地區(Hwang, 2003)。該熊在 2014 年 10 月，被發現死於台東縣海端鄉之向陽山屋旁。根據 2009-2013 年 5 個青剛櫟季的遺傳資料，本研究並未檢定出此個體。上述 3 頭公熊經由遺傳分群的檢測結果，與來自北部區域雪霸國家公園與苗栗縣泰安鄉大安部落的 2 頭母熊皆被歸納在同一分群 B' 當中，故推測雄性臺灣黑熊或許有在中央山脈南北遷徙的能力存在。過去無線電追蹤大分地區捕獲繫放的黑熊的結果顯示，密集追蹤的個體有一半會至國家公園邊界以外（最遠達 6 公里）的地區活動，且停留在國家公園外的時間從 2 個月到超過一年 (Hwang et al., 2010)。然雄性與雌性黑熊一生的活動區域究竟可以涵蓋多大的範圍，還有賴更詳盡的研究。

##### 五、大分地區臺灣黑熊個體間之親屬關係

熊科動物的配對系統為多夫多妻 (polygynandrous)，亞洲黑熊亦不例外 (Yamamoto et al., 1998)。母熊在繁殖季中可與多隻不同的公熊配對，並產下 1-3 隻小熊，同胎幼熊的父親可能大於一隻 (Kovach and Powell, 2003)。根據本研究所發現的配對模式資料驗證此繁殖系統。另根據熊科動物的紀錄，一隻公熊若從性成熟年齡的 4-5 歲算起，至 25 歲停止生育為止 (Garshelis, 2009) 若每年都可成功交配產生後代，到 25 歲便可累積最少 10 頭後代。就此，本研究編號 YNP 39 的公熊分別曾與 6 頭母熊繁殖，並生產共 8 頭後代 (大分地區檢定出的)，則屬相當合理的紀錄。

熊科動物以雌性為主要育幼者，美洲黑熊則約在 17 個月左右出現家族分離的現象 (Ternent et al, 1998)。美洲黑熊家族的分離時間約在五月底至六月上旬。在 77 頭黑熊當中即有 14 對母子/母女，大於父子/父女對 (n=11) (Ternent et al., 1998)、Lee and Vaughan, 2004)。野外臺灣黑熊的家族分離 (family break-up) 時間則尚無明確記錄。重複回到大分地區的母女對為 YNP15 (母) 與 YNP20 (女)，皆在 2010 和 2013 年出現。重複回到

大分地區的還有三頭子代，分別是 YNP27 (2010 與 2012 年)、YNP35 (2010 與 2011 年)和 YNP42 (2011 與 2013 年)。除了 YNP35 無母親之樣本紀錄，其餘 4 隻熊第一次排遺被拾取的紀錄都跟母親在同年的同一月份，第二次出現的紀錄則分別相隔 3 年、2 年和 1 年，以時間看來即使有第一次排遺紀錄的青剛櫟季時這些子代尚為幼熊，在下一年也已達到與母親分離的年紀，而 YNP20 在三年後依然與母親在同一年的同月份一起出現在大分地區。成年的北極熊通常會和母親停留在同一區域一段時間，子代可能會依循親代的遷徙模式回到海冰上，對於空間的利用也可能以家族承傳相連結，其導航的方式可能是學習自母親 (Taylor et al, 2001; Derocher and Stirling, 1990)。若臺灣黑熊如 Izumiyama 等人 (2004)所研究和日本亞洲黑熊一樣會依季節與食物資源而有遷徙的現象，或許子代也會承襲母親的移動路線，經由向母親學習的方式重複回到大分地區。

## 六、大分地區臺灣黑熊數量估算

因大分地區的青剛櫟屬季節性 (每年 10 月至隔年 2 月) (重要食物資源)，臺灣黑熊活動此區的個體數量不僅呈現年間變化，也呈現月間的波動。但在使用捕捉-標記-再捕捉法估算族群數量時，不論是封閉型族群 (close)或是開放型族群 (open)，均需符合估算模式的假設。以 Jolly-Seber model 的 5 點假設而言，由於本研究用來辨識不同個體的特徵 (微衛星基因座)在調查期間中不會消失或發生誤認，此點不違反假設；每次的排遺檢拾都在短時間內立刻完成，與調查的區域範圍不變，均無違反此模式的假設。

然而，因檢拾排遺的地點固定於調查樣線上，每一季每隻黑熊排遺被檢拾 (捕獲)到的機率 (captured probability) 並不相同，此點違反了第一點假設。此外，另有其他的因素恐會影響本研究之估算結果。Sargeant 與 Ruff (2001)提到關於捕捉-標記-再捕捉法的限制為：樣本數量通常很小，捕捉率通常很低，以及估算模式的假設不容易完全符合。Kendall (1999)則提出 Jolly-Seber model 估算法在某些情況下會出現誤差：(1)捕捉率與再捕捉率相差很大時；(2)研究樣區的個體不符合一進一出的情況時；(3)研究樣區的個體不符合無暫時性遷移的假設時。除去個體數最少的第一

季 (n=3) 資料，四個青剛櫟季中，臺灣黑熊個體再捕捉率均很低 (0.26, 0.03 與 0.11)，且大分地區的個體遷入/遷出情況與時機皆無明確資訊，所以儘管未嚴重違反模式的假設，但估算出的個體數量與實際進出大分地區的個體數量還是可能有誤差的情況。且每一年的相同個體不同排遺再捕獲率很低，估算出的個體數也可能有偏低的情況，信賴區間則因此而拉大，導致 95% 信賴區間下限出現負數的情形。Haroldson 等人 (2005) 於 1997-2000 年在美國黃石國家公園 25 條有虹鱒 (cutthroat trout) 出現的河流流域，以放置熊毛陷阱的方式監測此地區棕熊的數量。結果發現由於鑑識出的個體數少 (n =68) 與再捕捉率偏低 (31%)，其研究之 95% 信賴區間也非常大 (30-105)。

有鑑於個體再捕捉率很低 (即有效排遺的重複撿拾) 的情況，加上個體出現於大分的情況不一，未來若要持續監測大分地區青剛櫟季出現的臺灣黑熊數量，除了在 8 條調查樣線上收集排遺，或許可在樣線未及之處設置熊毛陷阱，將個體捕捉 (被取樣) 的機率盡量達到一致，也可增加樣本數量。另可透過提升排遺或毛髮樣本的 DNA 萃取的成效達成，或可透過減少野外樣本收集的時間間隔，非一個月一次，如國外標準二星期間隔的標準流程，則可減少樣本 DNA 的劣化情況。

## 七、研究限制及技術探討

玉山國家公園大分地區因其特殊的環境優勢 (食物、地理位置)，某些特定時節會吸引眾多臺灣黑熊到此覓食，但也因為有時間性與地理環境的限制，使得野外調查 (需重裝步行費時三日) 和相關的樣本採集十分困難。本研究採集排遺樣本時間集中於青剛櫟季，每個月初的其中五天，且大多數排遺樣本採集於調查樣線上。然黑熊排遺新鮮度在 2 週以內，DNA 微衛星擴增效果較佳，其中排遺新鮮度在 0 至 2 天的 PCR 擴增成功率為 50%，1 週內為 38%，1-2 週者則為 27%，但 3 週以上的排遺樣本的成功率則降至 20% 以下 (何冠助，2012)。本研究中所使用的排遺，事先已先排除老舊的樣本，之後 DNA 通過 D-loop PCR 之平均擴增成功率為 48%。因此，在有限時間內所收集的樣本與成功進入微衛星擴增的樣本數是否能確實代表當季所出現的黑熊數量，則是本研究面臨的第一項限制。

因此，在考量樣本的 DNA 品質和樣區的搜尋成效，若不考量遺傳分析技術本身，則遺傳檢定出的個體將是低估的數值。

此外，使用非侵入法取得的樣本 (如排遺、毛髮或羽毛) DNA，進行個體鑑別、遺傳多樣性與後續分析時，經常會面臨 3 個問題，即樣本 DNA 萃取成功率、基因型的判讀正確率與分子標記的專一性問題 (Lukacs et al., 2005)。針對台灣黑熊排遺樣本 DNA 之萃取與基因型判讀技術，已由陳昇衛 (2014) 建立標準流程與標準波形圖。然所使用的分子標記專一性，則還有待改善，如有效對偶基因型較少的 UT1 與 UT4 基因座、擴增效率較低的 UT25 基因座 (陳昇衛，2014)。另鑑別出的個體數可能有高估的現象，此亦為本研究面臨的第二項限制。因此，若能持續開發以臺灣黑熊為主，增加具有較高多型性、高專一性與鑑別度的微衛星分子標記，將有助於提升個體鑑別的正确性，並且對評估遺傳多樣性上產生高度的貢獻與價值。

## 陸、結論

玉山國家公園大分地區於 2009-2013 年，共 5 個青剛櫟結果季中，利用 8 個微衛星基因座與 3 個性別鑑定引子分析野外臺灣黑熊的排遺 DNA 樣本，共鑑別出 77 頭臺灣黑熊個體，其中有 51 頭公熊與 26 頭母熊。遺傳多樣性分析顯示 8 個微衛星基因座多型性平均在 0.5 以上，觀測異質度與期望異質度十分相近且大於 0.7，顯示樣區臺灣黑熊個體的雜合子比例接近符合哈溫平衡的理想族群，並尚保有遺傳多樣性。遺傳分群結果顯示 77 頭個體可分為三群，加入玉山以外樣本分析後可分為四群，顯示臺灣黑熊之族群遺傳結構尚有待更多其他地區樣本加入，建議未來可配合野外黑熊個體之移動模式和地景分析，以了解台灣黑熊族群的遺傳分群狀況，並探討其影響因素。大分地區黑熊族群量估算結果雖為 176 頭，然因考量時空及資源的變動因素，以及再捕獲率偏低等不符族群估算模式的假設前提，故建議僅作為參考之用。至於未來的族群估算則建議擴大取樣的範圍、加入熊毛陷阱採樣，以及提升相關樣本的 DNA 萃取技術成效，並篩選出最適合估算黑熊族群數量的模式，以提升台灣黑熊族群估算的水準。

## 參考文獻

- 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。
- 石芝菁、黃美秀、李壽先、李玲玲 (2012) 台灣黑熊之親緣探究及遺傳多樣性。台灣黑熊保育回顧與展望研討會。
- 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。
- 何冠助 (2012) 玉山國家公園大分地區臺灣黑熊遺傳多樣性之初探。國立屏東科技大學碩士論文。
- 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.
- 陳昇衛 (2014) 利用分子標記建立臺灣黑熊 (*Ursus thibetanus formosanus*) 個體鑑別流程與應用。國立屏東科技大學碩士論文。
- 黃美秀、林冠甫、何冠助 (2010a) 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)。內政部營建署玉山國公園管理處。
- 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家公園管理處。
- 黃美秀、朱有田、蔡幸蒨、陳昇衛、蔡蕙雯 (2012) 玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究 (3/4)。內政部營建署玉山國公園管理處。
- 黃美秀、朱有田、蔡幸蒨、陳昇衛、蔡蕙雯 (2013) 玉山國家公園台灣黑熊族群生態及遺傳狀況評估研究 (4/4)。內政部營建署玉山國公園管理處。
- 黃美秀、朱有田、潘姿麟、蔡蕙雯 (2014) 國家公園臺灣黑熊保育監測及推廣 (1/1)。玉山國家公園管理處。

- 黃美秀、潘怡如、蔡幸蒨、郭彥仁、林冠甫 (2010b) 臺灣黑熊分布預測模式及保育行動綱領之建立(1)。行政院農委會林務局保育研究系列第 98-23 號。
- 黃美秀、潘怡如、林容安 (2012b) 臺灣黑熊分布預測模式及保育行動綱領之建立(2)。行政院農委會林務局保育研究系列第 100-4 號。
- 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。
- 蔡奇立、周以正、石芝菁、鄭錫奇、楊吉宗、高孝偉 (2007) 臺灣黑熊整體粒腺體核酸序列解飢與其他熊類親緣關係之比較。臺灣黑熊研究與保育研討會 p.8。台北。
- 蔡幸蒨 (2011) 臺灣黑熊(*Ursus thibetanus formosanus*) 族群相對豐富度與分布預測模式。國立屏東科技大學碩士論文。
- 儲瑞華、吳海音、林曜松 (2000) 臺灣黑熊(*Selenarctos thibetanus formosanus*) 的 DNA 鑑定初探。動物園學報 12: 25-34.
- 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.
- Anderson, D. R., Burnham, K. P. and G. C. White (1994) AIC model selection in overdispersed capture-recapture data. *Ecology* 75(6): 1780-1793.
- Baleiras Couto, M. M., B. Eijmsa, H. Hofstra, J. H. J. Huis in't Veld and J. 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.
- Baker, A. (Ed.) (2009) *Molecular methods in ecology*. John Wiley and Sons.
- Beckmann, J. P. and J. Berger (2003) Using black bears to test ideal-free distribution models experimentally. *Journal of Mammalogy* 84:

594-606.

- Bjornlie D. D, Van Manen F. T, Ebinger M. R, Haroldson M. A, Thompson D. J. and C. M. Costello (2014) Whitebark Pine, Population Density, and Home-Range Size of Grizzly Bears in the Greater Yellowstone Ecosystem. PLoS ONE 9(2): e88160. doi:10.1371/journal.pone.0088160
- Blanford, W. T. (1877) Note on two species of Asiatic bears, the "mamh" of Baluchistan (*Ursus gedrosianus*) and *Ursus pruinosus* of Tibet, and on an apparently undescribed fox (*Vulpes canus*) from Baluchistan. Journal of the Asiatic Society of Bengal 46: 315-322.
- Blouin, M. S. (2003) DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. Trends in Ecology & Evolution 18: 503-511.
- Brown, J. H., Stevens, G. C. and D. M. Kaufman (1996). The geographic range: size, shape, boundaries, and internal structure. Annual review of ecology and systematics 597-623.
- Budowle, B., Chakraborty, R., Giusti, A. M., Eisenberg, A. J. and R.C. Allen (1991) Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. American Journal of Human Genetics 48(1): 137.
- Bunnell, FL, and Den Tait (1981) Population dynamics of bears-implications. In Dynamics of large mammal populations. Edited by CW Fowler and TD Smith. John Wiley and Sons, New York. pp. 75-98.
- Cegelski, C. C., Waits, L. P. and N. J. Anderson (2003). Assessing population structure and gene flow in Montana wolverines (*Gulo gulo*) using assignment-based approaches. Molecular Ecology 12: 2907-2918.
- Choi, E.H., S.K. Kim, S.H. Ryu, K.H. Jang and U.W. Hwang (2010) Mitochondrial genome phylogeny among Asiatic black bear *Ursus*

thibetanus subspecies and comprehensive analysis of their control regions. *Mitochondrial DNA* 21: 105-114.

Chu, J., Lin, Y. and H. Wu (2006) Applicability of non-invasive sampling in population genetic study of Taiwanese macaques (*Macaca cyclopis*). *TAIWANIA-TAIPEI*- 51: 258.

Dallas, J. F., Carss, D. N., Marshall, F., Koepfli, K. P., Kruuk, H., Bacon, P. J. and S. B. Pieltney (2000) Sex identification of the Eurasian otter *Lutra lutra* by PCR typing of spraints. *Conservation Genetics* 1: 181-183.

Davis, H. and A. S. Harstad (1996) Cannibalism by black bears in the Nimpkish Valley, British Columbia. *Northwest Science* 70:88–91.

Derocher, A. E. and I. Stirling (1990) Distribution of polar bears (*Ursus maritimus*) during the ice-free period in western Hudson Bay. *Canadian Journal of Zoology* 68(7): 1395-1403.

Dib, C., Fauré, S., Fizames, C., Samson, D., Drouot, N., Vignal, A. and J. Weissenbach (1996) A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature* 380: 152-154.

Edwards, A. L., Civitello, A., Hammond, H. A. and C. T. Caskey (1991) DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American journal of human genetics* 49:746.

Egbert, A. L. and A. W. Stokes (1976) The social behaviour of brown bear on an Alaskan salmon stream. *Bears: Their Biology and Management* 3:41-56.

Ernest, H. B., Penedo, M. C. T., May, B. P., Syvanen, M. and W. M Boyce (2000) Molecular tracking of mountain lions in the Yosemite Valley region in California: genetic analysis using microsatellites and faecal DNA. *Molecular Ecology* 9: 433-441.

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. (1995). Inbreeding and extinction: a threshold effect. *Conservation Biology* 9: 792-799.
- Fretwell, S. D. (1972) Populations in a seasonal environment (No. 5). Princeton University Press.
- Garshelis, D. L. (2009) Family Ursidae (bears). p.448-497. In Wilson, D. E., and R. A. Mittermeier (eds.) *Handbook of the Mammals of the World*. 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.
- Gompper, M. E., Gittleman, J. L. and R. K. Wayne (1998) Dispersal, philopatry, and genetic relatedness in a social carnivore: comparing males and females. *Molecular Ecology* 7: 157-163.
- Gompper M. E., and R. K. Wayne (1996) Genetic relatedness among individuals within carnivore societies. p.429–452 In: Gittleman, J. L. (ed.) *Carnivore behavior, ecology, and evolution*, Vol. 2. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Haroldson, M. A., Gunther, K. A., Reinhart, D. P., Podruzny, S. R., Cegelski, C., Waits, L. and J. Smith (2005) Changing numbers of spawning cutthroat trout in tributary streams of Yellowstone Lake and estimates of grizzly bears visiting streams from DNA. *Ursus* 16(2): 167-180.
- Hashimoto, Y., Kaji, M., Sawada, H. 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(5): 485-492.
- Hazumi, T. and N. Maruyama (1986) Movements and home ranges of Japanese black bears in Nikko. *Bears: Their Biology and Management*

99-101.

- Hwang, D.S., J.S. Ki, D.H. Jeong, B.H. Kim, B.K. Lee, S.H. Han and J.S. Lee (2008) A comprehensive analysis of three Asiatic black bear mitochondrial genomes (*subspecies ussuricus, formosanus and mupinensis*), with emphasis on the complete mtDNA sequence of *Ursus thibetanus ussuricus* (Ursidae). *Mitochondrial DNA* 19:418-429.
- Hwang, M. H. (2003) Ecology of Asiatic black bears and people-bear interactions in Yushan National Park, Taiwan. Doctoral dissertation, University of Minnesota, Twin Cities, Minnesota.
- 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.
- Hwang, M. H., D. L. Garshelis, and Y. Wang (2002) Diet of Formosan black bears with methodological and graphical comparison. *Ursus* 13:153-167.
- Hung, C. M., S. H. Li, and L. L. Lee (2004) Fecal DNA typing to determine the abundance and spatial organization of otters (*Lutra lutra*) along two stream systems in Kinmen. *Animal Conservation* 7: 301-311.
- Ishibashi Y. and T. Saitoh (2004) Phylogenetic relationships among fragmented Asian black bear (*Ursus thibetanus*) populations in western Japan. *Conservation Genetics* 5:311–323.
- Itoh, T., Sato, Y., Mano, T. and R. Iwata (2009) Estimating a suitable microsatellite marker set for individual identification and parentage tests of brown bear (*Ursus arctos*) in the Akan–Shiranuka Region, eastern Hokkaido, Japan. *Journal of Forest research* 14(2), 117-122.
- Itoh, T., Sato, Y., Kobayashi, K., Mano, T. and R. Iwata (2012) Effective dispersal of brown bears (*Ursus arctos*) in eastern Hokkaido, inferred

from analyses of mitochondrial DNA and microsatellites. *Mammal study* 37: 29-41.

Izumiyama, S., T. Mochizuki, R. Kishimoto, M. Gotoh and H. Hayashi (2008) Elucidation of massive haunt factor to Asiatic black bear depend to rural area capture time and age assessment in the Nagano Prefecture. *Bulletin of the Shinshu University Alpine Field Center* 6: 19–24. Education and Research Center of Alpine Field Science, Nagano, Japan.

Jonkel, C. J. and I. M. Cowan (1971) The black bear in the spruce-fir forest. *Wildlife Monographs* 3-57.

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, W. L. (1999) Robustness of closed capture-recapture methods to violations of the closure assumption. *Ecology* 80(8): 2517-2525.

Kim, Y. K., Hong, Y. J., Min, M. S., Kim, K. S., Kim, Y. J., Voloshina I and H. Lee (2011) Genetic status of Asiatic black bear (*Ursus thibetanus*) reintroduced into South Korea based on mitochondrial DNA and microsatellite loci analysis. *Journal of Heredity* 102(2): 165-174.

Kitahara, E., Isagi, Y., Ishibashi, Y and T. Saitoh (2000) Polymorphic microsatellite DNA markers in the Asiatic black bear *Ursus thibetanus*. *Molecular Ecology* 9(10): 1661-1662.

Koike, S., Kozakai, C., Nemoto, Y., Masaki, T., Yamazaki, K., Abe, S. and K. Kaji (2012) Effect of hard mast production on foraging and sex-specific behavior of the Asiatic black bear (*Ursus thibetanus*). *Mammal Study* 37(1): 21-28.

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.
- Kopatz, A., Eiken, H. G., Hagen, S. B., Ruokonen, M., Esparza-Salas, R., Schregel, J. and J. Aspi (2012). Connectivity and population subdivision at the fringe of a large brown bear (*Ursus arctos*) population in North Western Europe. *Conservation Genetics* 13: 681-692.
- Kovach, A. I. and R. A. Powell (2003) Effects of body size on male mating tactics and paternity in black bears. *Ursus americanus*. *Canadian Journal of Zoology* 81(7): 1257-1268.
- Kozakai, C., Yamazaki, K., Nemoto, Y., Nakajima, A., Koike, S., Abe, S. and K. Kaji (2011) Effect of mast production on home range use of Japanese black bears. *The Journal of Wildlife Management* 75(4): 867-875.
- Lande, R. (1995). Mutation and conservation. *Conservation Biology* 9: 782-791.
- Lee, D. J. and M. R. Vaughan (2004) Black bear family breakup in western Virginia. *Northeastern Naturalist* 11(2): 111-122.
- Lentfer, J. W. (1983) Alaskan polar bear movements from mark and recovery. *Arctic* 282-288.
- Lucchini, V., Fabbri, E., Marucco, F., Ricci, S., Boitani, L. and E. Randi (2002) Noninvasive molecular tracking of colonizing wolf (*Canis lupus*) packs in the western Italian Alps. *Molecular Ecology* 11: 857-868.
- Lunn, N. J., Paetkau, D., Calvert, W., Atkinson, S., Taylor, M. and C. Strobeck (2000) Cub adoption by polar bears (*Ursus maritimus*): determining relatedness with microsatellite markers. *Journal of Zoology* 251: 23-30.

- Marshall, T. C., Slate, J. B. K. E., Kruuk, L. E. B. and J.M. Pemberton (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular ecology* 7:639-655.
- Miller, C. R., P. Joyce and L. P. Waits (2002) Assessing allelic dropout and genotype reliability using maximum likelihood. *Genetics* 160:357-366.
- Miller, K. R., W. V. Reid, R. A. Mittermeier, and T. B. Werner (1990) *Conserving the world's biological diversity*. p.193. Gland: IUCN.
- 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.
- Ohnishi, N., Yuasa, T., Morimitsu, Y. and T. Oi (2011) Mass-intrusion-induced temporary shift in the genetic structure of an Asian black bear population. *Mammal study* 36(2): 67-71.
- Onorato, D., Desimone, R., White, C. and L.P. Waits (2011) Genetic assessment of paternity and relatedness in a managed population of cougars. *The Journal of Wildlife Management* 75: 378-384.
- O'reilly, P. and J.M. Wright (1995) The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *Journal of Fish Biology* 47: 29-55.
- Pagès, M., C. Maudet, E. Bellemain, P. Taberlet, S. Hughes and C. Hänni (2009) A system for sex determination from degraded DNA: a useful tool for palaeogenetics and conservation genetics of ursids. *Conservation Genetics* 10:897-907.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and C. Strobeck (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4(3): 347-354.

- Paetkau, D., Waits, L. P., Clarkson, P. L., Craighead, L. and C. Strobeck (1997) An empirical evaluation of genetic distance statistics using microsatellite data from bear (Ursidae) populations. *Genetics* 147: 1943-1957.
- Paetkau, D. and C. Strobeck (1998) Ecological genetic studies of bears using microsatellite analysis. *Ursus*: 299-306.
- Paetkau, D. ( 2003) An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories. *Molecular Ecology* 12:1375-1387.
- Pemberton, J. M (2008) Wild pedigrees: the way forward. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275: 613-621.
- Pearse, D. E., Eckerman, C. M., Janzen, F. J. 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* 2711-2718.
- Pollock, K. H., Nichols, J. D., Brownie, C. and J.E. Hines (1990) Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wildlife Monograph* 107:1-97.
- Posada, D. (2009) Selection of models of DNA evolution with jModelTest. In *Bioinformatics for DNA sequence analysis* (pp. 93-112). Humana Press.
- 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 Vol. 4. Springer Science and Business Media.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and P. Donnelly (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.
- Raymond, M. and F. Rousset (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.

- Reed, D. H. and R. Frankham (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* 17: 230-237.
- Reed, J. Z., Tollit, D. J., Thompson, P. M. and W. Amos (1997) Molecular scatology: the use of molecular genetic analysis to assign species, sex and individual identity to seal faeces. *Molecular ecology* 6: 225-234.
- Reisinger, R.R. and L. Karczmarski (2010) Population size estimate of Indo-Pacific bottlenose dolphins in the Algoa Bay region, South Africa. *Marine Mammal Science* 26(1): 86-97.
- Rogers, L. L., Kuehn, D. W., Erickson, A. W., Harger, E. M., Verme, L. J., and J.J. Ozoga (1976) Characteristics and management of black bears that feed in garbage dumps, campgrounds or residential areas. *Bears: Their Biology and Management* 3: 169-175.
- Saito, M., Yamauchi, K. and T. Aoi (2008) Individual identification of Asiatic black bears using extracted DNA from damaged crops. *Ursus* 19(2): 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.
- Sargeant, G. A. and R. L. Ruff (2001) Demographic response of black bears at Cold Lake, Alberta, to the removal of adult males. *Ursus* 12: 59-67.
- Schwartz, C. C., Haroldson, M. A. and G. C. White (2010) Hazards affecting grizzly bear survival in the Greater Yellowstone Ecosystem. *The Journal of Wildlife Management* 74(4): 654-667.
- Schwarz, C. J. and A. N. Arnason (1996) A general methodology for the analysis of capture-recapture experiments in open populations. *Biometrics* 860-873.
- Seber, G. A. F. (1962) The multi-sample single recapture census. *Biometrika*

339-350.

- 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.
- Skrbínsek, T., Jelencic, M., Waits, L., Kos, I., Jerina, K and P. Trontelj (2012) Monitoring the effective population size of a brown bear (*Ursus arctos*) population using new single-sample approaches. *Molecular ecology* 21(4): 862-875.
- Slate, J., D. W. Coltman, S. J. Goodman, I. MacLean, J. M. Pemberton, and J. L. Williams (1998) Bovine microsatellite loci are highly conserved in red deer (*Cervus elaphus*), sika deer (*Cervus nippon*) and Soay sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics* 29(4): 307-315.
- Smuts, B. B., Cheney, D. L., Seyfarth, R. M., Wrangham, R. W. and T. T. Struhsaker (1987) *Primate societies*. University of Chicago Press, Chicago.
- Støen, O. G., Zedrosser, A., Sæbø, S. and J.E. Swenson (2006) Inversely density-dependent natal dispersal in brown bears *Ursus arctos*. *Oecologia* 148(2): 356-364.
- Straka, M., Paule, L., Ionescu, O., Štofik, J. and M. Adamec (2012) Microsatellite diversity and structure of Carpathian brown bears (*Ursus arctos*): consequences of human caused fragmentation. *Conservation genetics* 13(1): 153-164.
- Suen, T. C. and M. C. Hung (1990) Multiple cis-and trans-acting elements involved in regulation of the neu gene. *Molecular and Cellular Biology* 10(12): 6306-6315.
- Swinhoe, R. (1984) Descriptions of four new species of Formosan birds: with further notes on the ornithology of the island. *Ibis* 6: 361-370.

- Taberlet, P., Griffin, S., Goossens, B., Questiau, S., Manceau, V., Escaravage, N. and J. Bouvet (1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 24: 3189-3194.
- Taberlet, P., Mattock, H., Dubois-Paganon, C and J. Bouvet (1993) Sexing free-ranging brown bears *Ursus arctos* using hairs found in the field. *Molecular Ecology* 2: 399-403.
- Taylor, M., Larsen, T. and R. E. Schweinsburg (1985) Observations of intraspecific aggression and cannibalism in polar bears (*Ursus maritimus*). *Arctic* 38(4): 303-309.
- Tautz, D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17:6463-6471.
- Tautz, D. and M. Renz (1984) Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic acids research* 12: 4127-4138.
- Tautz, D. and C. Schlötterer (1994) Simple sequences. *Current opinion in genetics & development* 4: 832-837.
- Ternent, M. A and D. L. Garshelis (1998) Male-instigated break-up of a family of black bears. *Ursus* 575-578.
- Thomas, J. T., Lin, K., Nandedkar, M., Camargo, M., Cervenka, J. and F.P. Luyten (1996) A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. *Nature genetics* 12(3): 315-7.
- Tietje, W. D., Pelchat, B. O. and R. L. Ruff (1986) Cannibalism of denuded black bears. *Journal of Mammalogy* 67: 762-766.
- Tsai, C.-L., Y.-C. Chou, C.-C. Shih, H.-C. Cheng, C.-C. Yang, and H.-W. Kao (2009) The complete mitochondrial genome of the Formosan black bear (*Ursus thibetanus formosanus*). *Zootaxa* 1971:50-58.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. and P. Shipley (2004)

- MICRO - CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4(3): 535-538.
- Vaughan, M. R., McShea, W. J. and W. M. Healy (2002) Oak trees, acorns, and bears. *Oak forest ecosystems: ecology and management for wildlife* 224-240.
- Waits, L. P., Luikart, G. and P. Taberlet (2001) Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular ecology* 10: 249-256.
- Wang, J. and A.W. Santure (2009) Parentage and sibship inference from multilocus genotype data under polygamy. *Genetics* 181: 1579-1594.
- White, G. C. and K. P. Burnham (1999) Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird study* 46(S1):120-S139.
- Wright, S. (1978) *Evolution and the Genetics of Populations. vol. 4. Variability Within and Among Natural Populations.* University of Chicago Press, Chicago.
- 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.
- Woodruff, D. S. (1993) Non-invasive genotyping of primates. *Primates* 34(3): 333-346.
- Wozencraft, W. C., Wilson, D. E. and D.M. Reeder (2005) *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference.* Smithsonian Institution Press, Washington. DC.
- Wu, H., Zhang, S. N. and F.W. Wei (2010) Twelve novel polymorphic microsatellite loci developed from the Asiatic black bear (*Ursus*

- thibetanus*). Conservation genetics 11(3): 1215-1217.
- Xu, Y. C., Pan, Z. C., Xu, Z. R., Yang, S. H., Jin, Y. and S.Y. Bai (2001) Status of microsatellites as genetic markers in cervids. Journal of Forestry Research 12(1): 55-58.
- Yamamoto, K., Tsubota, T., Komatsu, T., Katayama, A., Murase, T., Kita, I. and T. Kudo (2002) Sex identification of Japanese black bear, *Ursus thibetanus japonicus*, by PCR based on amelogenin gene. The Journal of veterinary medical science/the Japanese Society of Veterinary Science 64: 505-508.
- Yamamoto, T., Tamatani, H., Tanaka, J., Kamiike, K., Yokoyama, S., Koyama, M and M. Kajiwara (2013) Multiple paternity in Asian black bear *Ursus thibetanus* (Ursidae, Carnivora) determined by microsatellite analysis. Mammalia 77(2): 215-217.
- Yamazaki, K., S. Koike, C. Kozakai, Y. Nemoto, A. Nakajima, and T. Masaki (2009) Behavioral study of free ranging Japanese black bears I: Does food abundance affect the habitat use of bears?.p.60. Biology of Bear Intrusions.
- Zeyl, E., Aars, J., Ehrich, D. and Ø. Wiig (2009) Families in space: relatedness in the Barents Sea population of polar bears (*Ursus maritimus*). Molecular Ecology 18(4): 735-749.

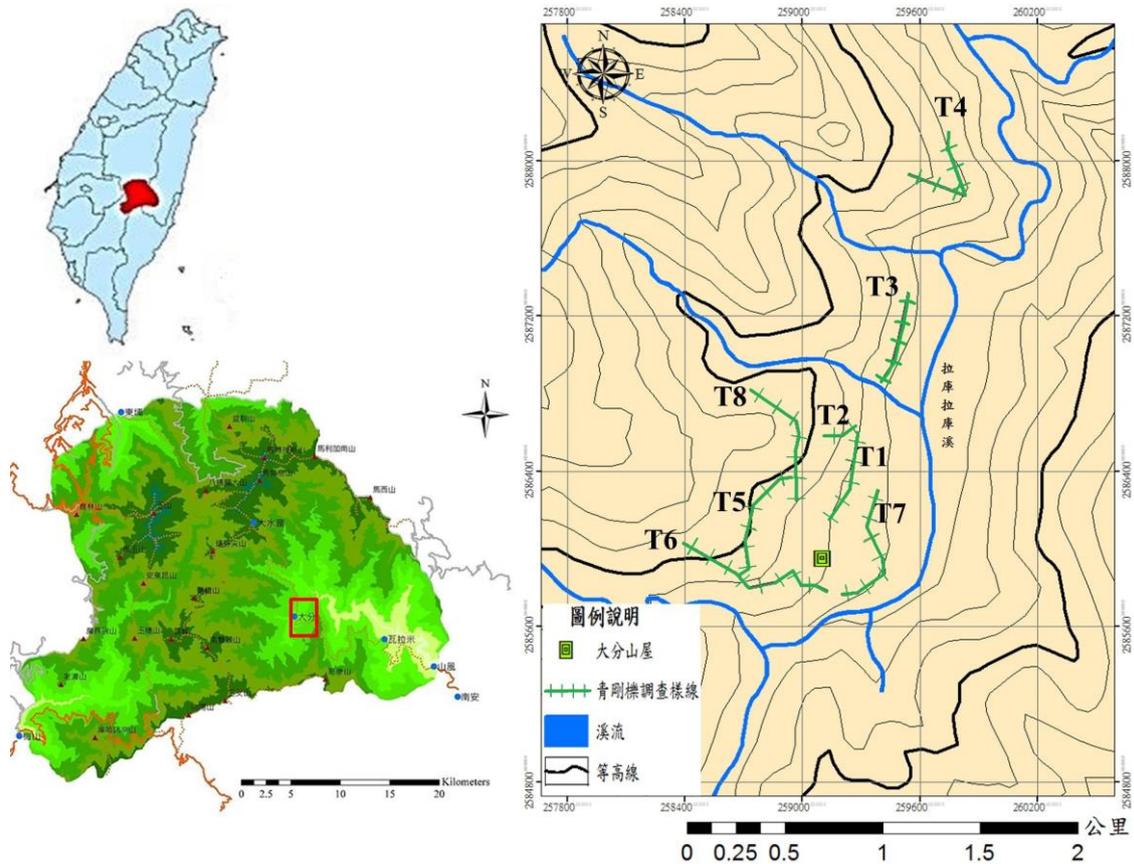


圖 1、玉山國家公園大分研究樣區黑熊研究調查樣線之地理資訊。調查樣線 (T1~T8) 總長約 5.2 公里。每年青剛櫟結果季 (10 月至次年 2 月初)，野外研究團隊每月收集台灣黑熊排遺主要依此 8 條黑熊研究調查樣線進行沿線調查，收集黑熊排遺與調查青剛櫟結果量 (黃美秀等，2014)。

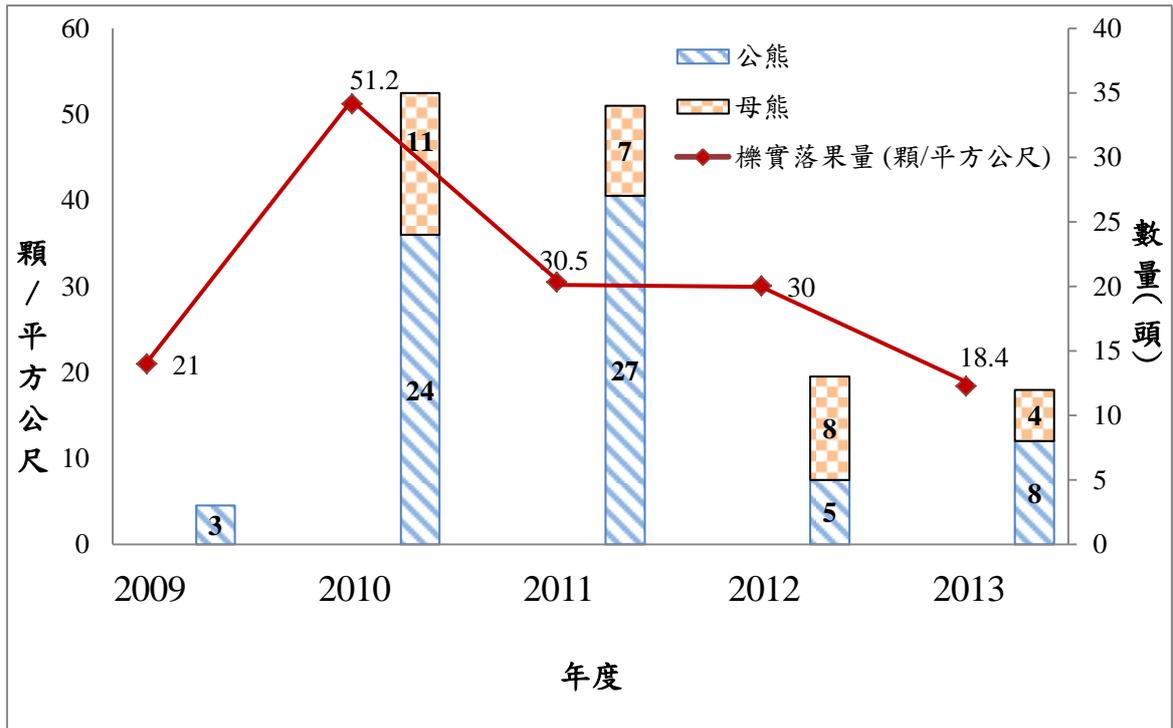


圖 2、大分地區 2009-2013 年青剛櫟結果季 (10 月至次年 2 月初)，利用台灣黑熊排遺鑑定個體數量，以及該區研究者利用種子陷阱計算該年青剛櫟落果量 (含受損果及完整果, 顆/平方公尺) 的豐富度變化 (黃美秀等, 2014)。

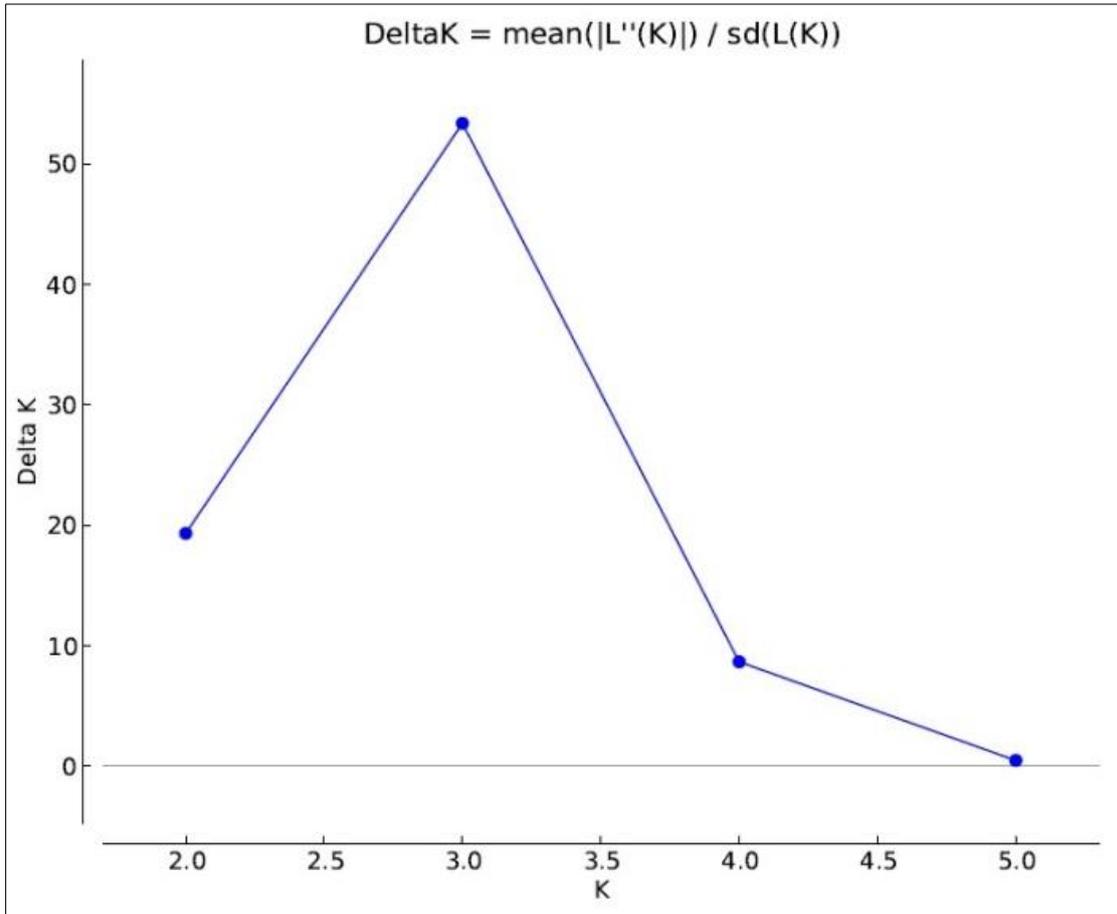


圖 3、大分地區臺灣黑熊族群結構分析。利用 8 組微衛星基因座之基因型與基因型頻率，以 Structure harvester 軟體進行 77 頭個體遺傳結構 delta K 值分析。圖中橫軸為預設分群數 (K)，縱軸為群間差異值，代表當分群數為 3 群時，群與群間的差異達到最大。

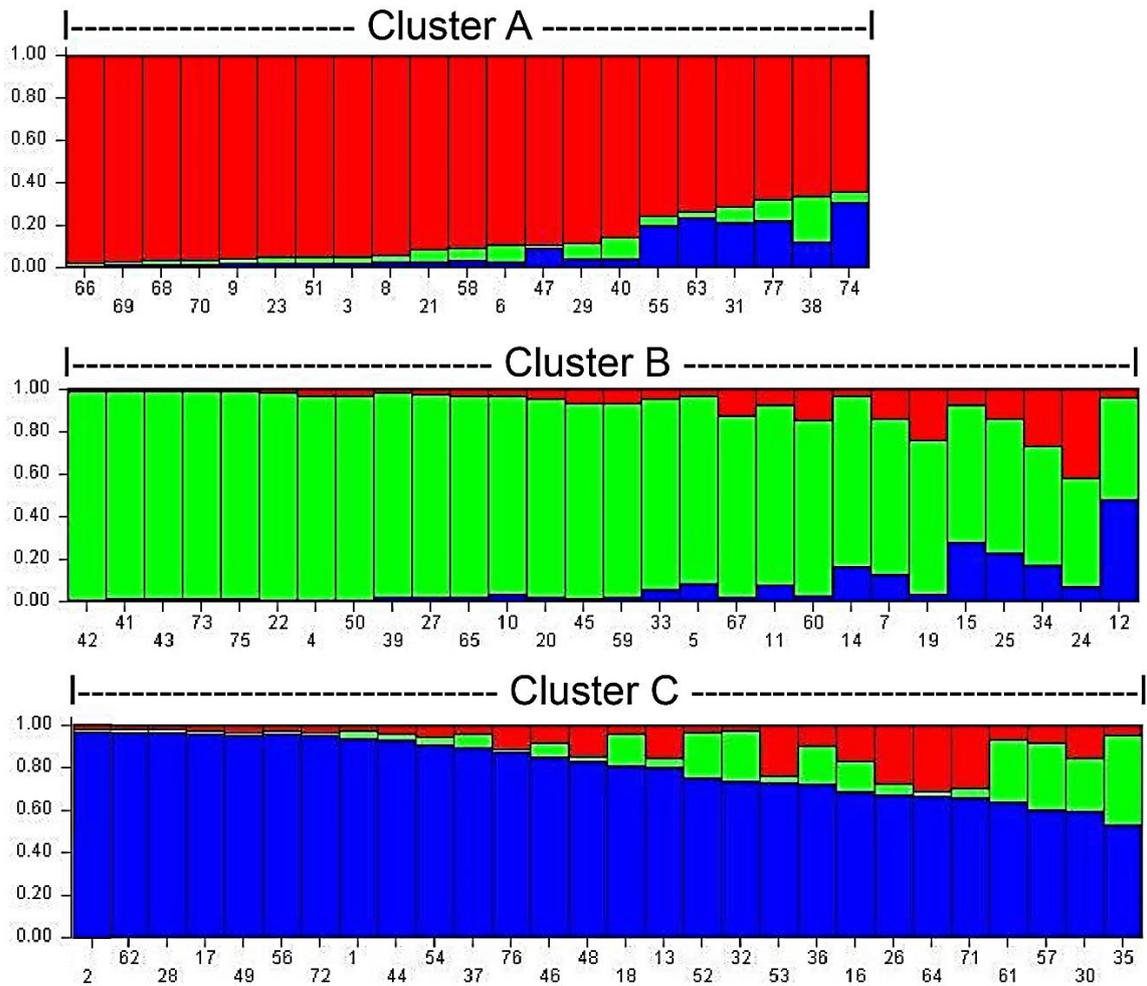


圖 4、大分地區臺灣黑熊族群結構分析。利用 8 組為衛星基因座之基因型與基因型頻率，以 Structure 軟體進行 77 頭個體遺傳結構分派檢定分群。橫軸數字為個體編號，每一長方條代表一個體，縱軸代表每個體最可能被分配至每個遺傳分群的或然率。

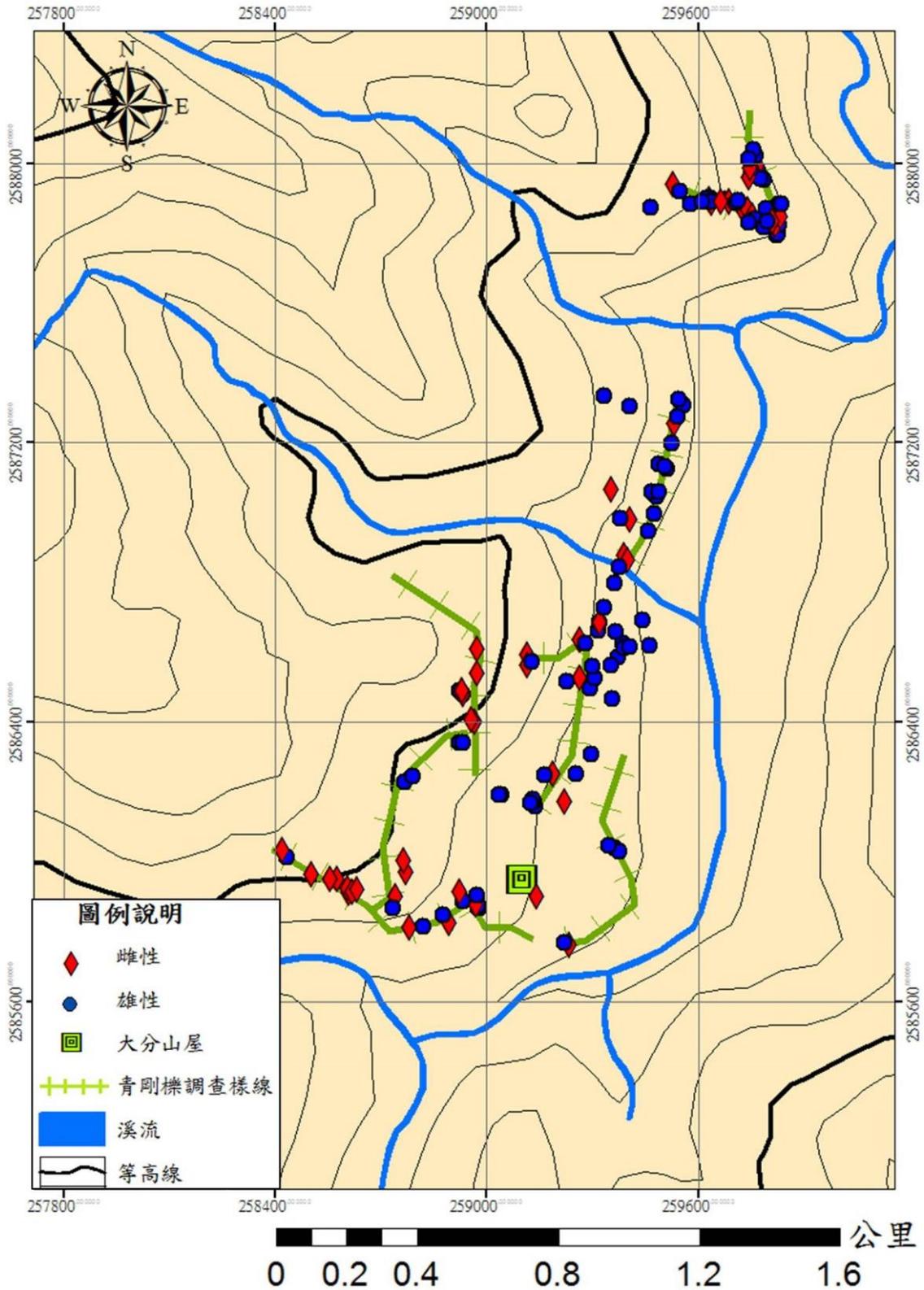


圖 5、玉山國家公園大分地區，利用 2010-2013 年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 (n=162)。資料扣除有問題之點位 (n=6) 與無點位記錄之排遺樣本 (n=19)。

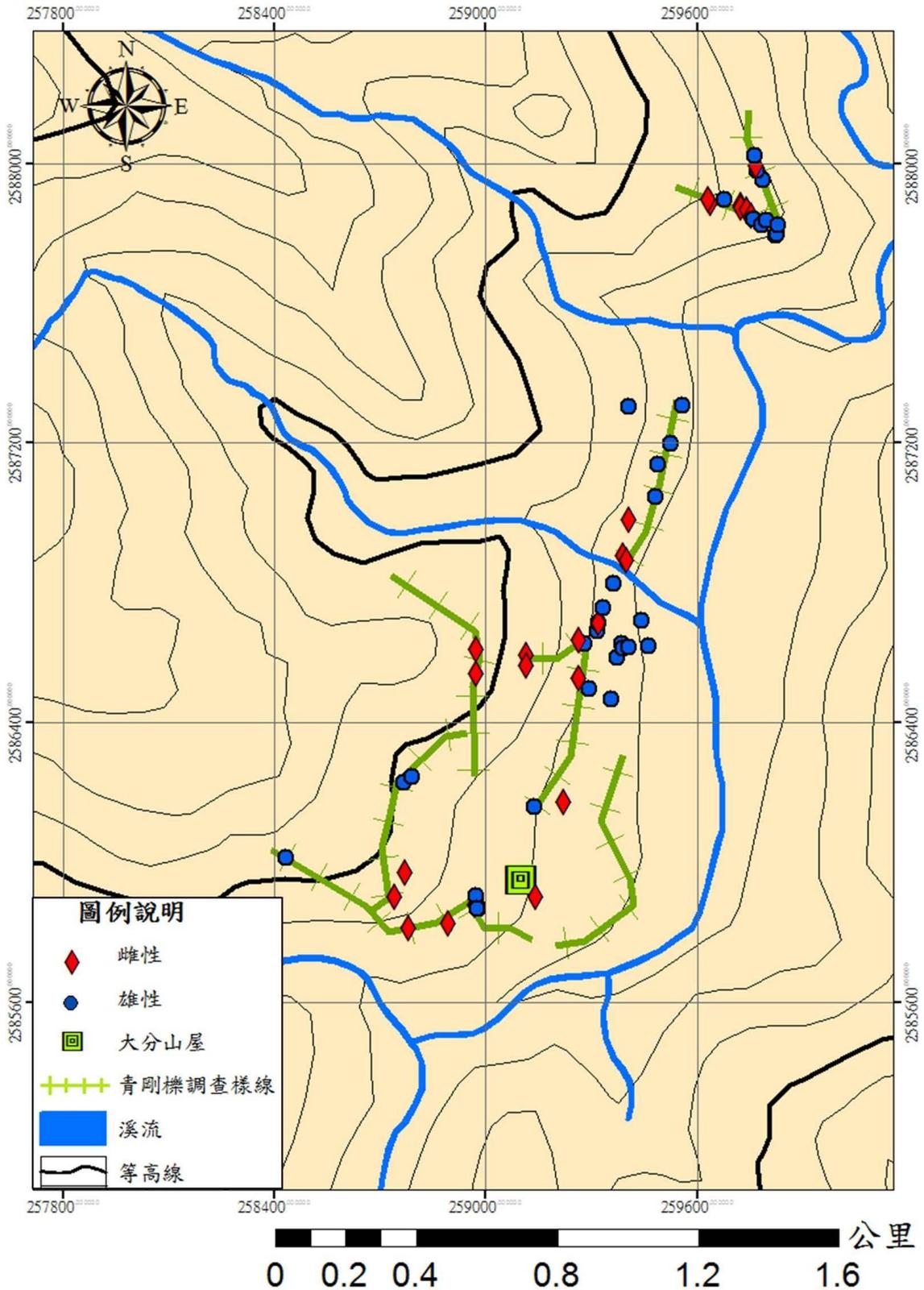


圖 6、玉山國家公園大分地區，利用 2010 年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 (n=70)。資料扣除有問題之點位 (n=2)與無點位記錄之排遺樣本 (n=11)。

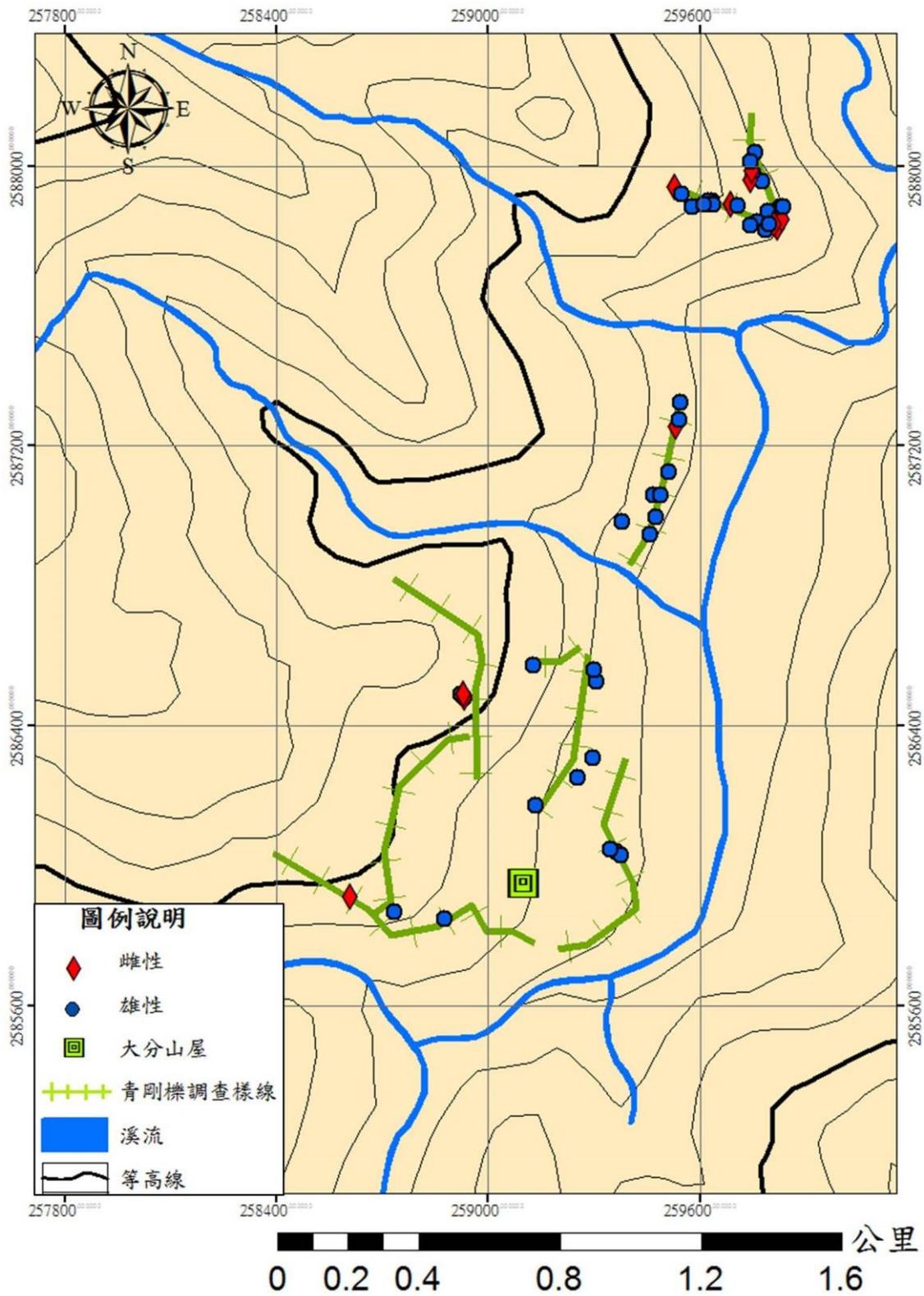


圖 7、玉山國家公園大分地區，利用 2011 年收集的臺灣黑熊排遺成功鑑定出不同性別個體之分布圖 (n=59)。

表 1-8 組臺灣黑熊微衛星基因座與 3 組性別鑑定基因座之螢光引子序列、螢光團種類、T<sub>m</sub> 值與對偶基座長度資訊。

| 基因座         | 引子序列 (Forward 端, 5'-3')                    | T <sub>m</sub><br>(°C) <sup>a</sup> | <sup>b</sup> Allele size<br>(bp) |
|-------------|--|-------------------------------------|----------------------------------|
| <b>UT1</b>  | <sup>c</sup> PET-AGCAACTCTTCTCAGATGTTACAAA | 62                                  | 160 ~ 176                        |
| <b>UT3</b>  | <sup>d</sup> VIC-AAGACATACAGAAGCCAAGACTAG  | 56                                  | 240 ~ 266                        |
| <b>UT4</b>  | PET-GAGTTATTGGCACTAAAATCTAATG              | 60                                  | 139 ~ 164                        |
| <b>UT25</b> | <sup>d</sup> 6-FAM-GCTCAGGGCGTGATCCCAGAG   | 62                                  | 296 ~ 315                        |
| <b>UT29</b> | VIC- GACATTGCCTTTTACAGAGCAG                | 60                                  | 188 ~ 220                        |
| <b>UT31</b> | PET-AATAAACTGATGCAGCCATACTAG               | 62                                  | 299 ~ 353                        |
| <b>UT35</b> | 6-FAM-ACTCCCTAGTAAGTAGAAAGCACAC            | 60                                  | 202~231                          |
| <b>UT38</b> | VIC- ATTATTGATGAGCAGGGACAG                 | 62                                  | 178~214                          |
| <b>SRY</b>  | PET-TGGTCTCGTGATCAAAGGCGC                  | 65                                  | 115                              |
| <b>ZF</b>   | VIC-GACAGCTGAACAAGGGTTG                    | 65                                  | 144                              |
| <b>Amel</b> | 6-FAM-CAGCCAAACCYCCCTCTGC                  | 62                                  | 191 ~ 245                        |

<sup>a</sup> T<sub>m</sub> 值表黏合溫度 (annealing temperature)。

<sup>b</sup> 對偶基因序列長度 (bp)。

<sup>c</sup>PET 螢光標記的一種，被雷射激發後發出紅色螢光。

<sup>d</sup>VIC 螢光標記的一種，被雷射激發後發出藍色螢光。

<sup>e</sup>FAM 標記的一種，被雷射激發後發出綠色螢光。

表 2、本研究進行遺傳分析所使用的台灣黑熊排遺樣本來源，除玉山國家公園大分之外，其他五個樣本來源之相關資訊。

| 樣本編號 | 地點及時間   | 樣本類型 | 數量 <sup>a</sup> | 來源              |
|------|---|------|-----------------|-----------------|
| FBDF | 玉山國家公園大分地區 (2009-2013)，本研究                        | 排遺   | 185             | 大分              |
| FBHD | 台東縣海端鄉海端橋 (2011)<br>(23°06'14.9"N, 121°10'38.1"E) | 排遺   | 1               | 黃美秀             |
| FBDA | 苗栗縣泰安鄉大安部落(2011)<br>(24°21'57.8"N, 120°58'02.1"E) | 排遺   | 1               | 黃美秀             |
| FBSY | 台東縣海端鄉向陽山屋(2014)<br>(23°06'10.1"N, 121°02'00.4"E) | 組織   | 1               | 黃美秀             |
| FBNL | 台東縣延平鄉內本鹿林道 (2014)                                | 排遺   | 1               | 黃美秀             |
| TE6  | 雪霸國家公園救傷個體，2011年                                  | 血液   | 1               | 特生 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup> 成功萃取 DNA 之排遺樣本數量。

<sup>b</sup> 特有生物保育研究中心。

表 3、玉山國家公園 2009 - 2013 年大分地區青剛櫟結果季 (10 月至次年 2 月)，利用臺灣黑熊野外排遺 DNA 分析出之個體與性別數量。

|                         | 2009 | 2010 <sup>f</sup> | 2011                            | 2012   | 2013  | 總計     |
|-------------------------|------|-------------------|---------------------------------|--|---|--------|
| 已萃取 DNA 樣本數             | 17   | 176               | 120                             | 30   | 42  | 385    |
| D-loop 序列增幅<br>成功樣本數    | 4    | 83                | 59                              | 20   | 19  | 185    |
| 微衛星基因座增幅<br>成功樣本數       | 4    | 83                | 59                              | 20   | 19  | 185    |
| 判別個體數 (RI) <sup>a</sup> | 3(1) | 35(19)            | 34(12)                          | 13(4)  | 12(4)   | 77(38) |
| 逐季重複出現之個體               | --   | 1 <sup>b</sup>    | 1 <sup>b</sup> , 9 <sup>c</sup> | 1 <sup>b</sup> , 2 <sup>c</sup> , 1 <sup>d</sup> | 1 <sup>b</sup> , 6 <sup>c</sup> , 5 <sup>d</sup> , 1 <sup>e</sup> | --     |
| 雄/雌熊個體數                 | 3/0  | 24/11             | 27/7                            | 5/8  | 8/4   | 51/26  |
| 雄/雌熊性別比                 | --   | 2.18              | 3.86                            | 0.625  | 2.0   | 1.96   |

<sup>a</sup> 重複採樣之個體；repeated sampling individual.

<sup>b</sup> 於 2009 年 (2009 年 10 月-2010 年 2 月) 出現之個體數

<sup>c</sup> 於 2010 年 (2010 年 10 月-2011 年 2 月) 出現之個體數

<sup>d</sup> 於 2011 年 (2011 年 10 月-2012 年 2 月) 出現之個體數

<sup>e</sup> 於 2012 年 (2012 年 10 月-2013 年 2 月) 出現之個體數

<sup>f</sup> 資料來源：陳昇衛 (2014)

表 4、玉山國家公園大分地區於 2009-2013 年利用排遺 DNA 檢定出的 77 隻臺灣黑熊之微衛星遺傳多樣性。

| 基因座  | N    | k    | Ne  | Ho    | H <sub>E</sub> | PIC   | P(ID) | F <sub>IS</sub> | HW                    |
|------|------|------|-----|-------|----------------|-------|-------|-----------------|-----------------------|
| UT1  | 76   | 3    | 1.8 | 0.5   | 0.444          | 0.349 | 0.404 | -0.134          | NS                    |
| UT3  | 77   | 8    | 3.9 | 0.7   | 0.745          | 0.703 | 0.105 | 0.053           | NS                    |
| UT4  | 77   | 7    | 2.9 | 0.688 | 0.661          | 0.605 | 0.17  | -0.048          | NS                    |
| UT25 | 76   | 7    | 3.1 | 0.658 | 0.683          | 0.635 | 0.146 | 0.03            | NS                    |
| UT29 | 77   | 8    | 4.9 | 0.805 | 0.803          | 0.77  | 0.068 | -0.0098         | *                     |
| UT31 | 77   | 14   | 8.9 | 0.792 | 0.893          | 0.878 | 0.022 | 0.1             | NS                    |
| UT35 | 76   | 7    | 5.4 | 0.697 | 0.822          | 0.79  | 0.06  | 0.146           | **                    |
| UT38 | 77   | 8    | 6.1 | 0.87  | 0.842          | 0.816 | 0.047 | -0.04           | NS                    |
| 平均   | 76.6 | 7.75 | 4.6 | 0.714 | 0.737          | 0.693 |       | 0.0243          |                       |
| 加總   |      |      |     |       |                |       |       |                 | 4.56x10 <sup>-9</sup> |

\*\*P-Value < 0.01    \*P-Value < 0.05

N：判別成功樣本數；k：對偶基因數目；Ne：有效對偶基因數；Ho：觀測異質度；H<sub>E</sub>：理論異質度；PIC：多態信息量；P(ID)：個體鑑別率；F<sub>IS</sub>：近親交配指數，Inbreeding coefficient

表 5、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，利用黑熊排遺 DNA 檢定出的 77 隻臺灣黑熊個體之性別與出現季別。

| 個體 ID               | 性別             | 2009           | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 累計出現季數 |
|---------------------|----------------|----------------|------|------|------|------|--------|
| YNP <sup>a</sup> 01 | M <sup>b</sup> | 1 <sup>c</sup> |      |      |      |      | 1      |
| YNP02               | M              | 1              |      |      |      |      | 1      |
| YNP03               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP04               | M              |                | 1    | 1    |      | 1    | 3      |
| YNP05               | M              |                | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP06               | M              |                | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP07               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP08               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP09               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP10               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP11               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP12               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP13               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP14               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP15               | F              |                | 1    |      |      | 1    | 2      |
| YNP16               | M              |                | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP17               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP18               | M              |                | 1    | 1    |      | 1    | 3      |
| YNP19               | M              |                | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP20               | F              |                | 1    |      |      | 1    | 2      |
| YNP21               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP22               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP23               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP24               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP25               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP26               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP27               | F              |                | 1    |      | 1    |      | 2      |
| YNP28               | M              | 1              | 1    | 1    | 1    | 1    | 5      |
| YNP29               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP30               | M              |                | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP31               | F              |                | 1    |      |      |      | 1      |

表 5(續)、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，利用黑熊排遺 DNA 檢定出的 77 隻臺灣黑熊個體之性別與出現季別。

| 個體 ID | 性別 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 累計出現季數 |
|-------|----|------|------|------|------|------|--------|
| YNP32 | M  |      | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP33 | M  |      | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP34 | M  |      | 1    |      |      |      | 1      |
| YNP35 | M  |      | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP36 | M  |      | 1    | 1    |      |      | 2      |
| YNP37 | M  |      | 1    |      |      | 1    | 2      |
| YNP38 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP39 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP40 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP41 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP42 | M  |      |      | 1    |      | 1    | 2      |
| YNP43 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP44 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP45 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP46 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP47 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP48 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP49 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP50 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP51 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP52 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP53 | F  |      |      | 1    |      | 1    | 2      |
| YNP54 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP55 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP56 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP57 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP58 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP59 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP60 | F  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP61 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP62 | M  |      |      | 1    |      |      | 1      |
| YNP63 | M  |      |      |      | 1    |      | 1      |

表 5(續)、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，利用黑熊排遺 DNA 檢定出的 77 隻臺灣黑熊個體之性別與出現季別。

| 個體 ID | 性別 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 累計出現季數 |
|-------|----|------|------|------|------|------|--------|
| YNP64 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP65 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP66 | M  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP67 | M  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP68 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP69 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP70 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP71 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP72 | F  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP73 | M  |      |      |      | 1    |      | 1      |
| YNP74 | F  |      |      |      |      | 1    | 1      |
| YNP75 | M  |      |      |      |      | 1    | 1      |
| YNP76 | M  |      |      |      |      | 1    | 1      |
| YNP77 | M  |      |      |      |      | 1    | 1      |
| 判別個體數 | -- | 3    | 35   | 34   | 13   | 12   | --     |

<sup>a</sup>YNP 為玉山國家公園縮寫

<sup>b</sup>M：公熊；F：母熊

<sup>c</sup>表示該年度青剛櫟季鑑別出此個體

表 6、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，以黑熊排遺檢定的個體之配對與繁殖狀況。

| 個體編號*     | 配對個體      | 子代數 | 子代個體編號與性別                  |
|-----------|-----------|-----|----------------------------|
| YNP39 (M) | YNP10 (F) | 2   | YNP27 (F) / YNP65 (F)      |
|           | YNP15 (F) | 2   | YNP12 (F) / YNP20 (F)      |
|           | OF1       | 2   | YNP35 (M) / YNP37 (M)      |
|           | OF2       | 1   | YNP32 (M)                  |
|           | OF3       | 1   | YNP43 (F)                  |
| YNP28 (M) | OF4       | 2   | YNP01 (M) / YNP44 (M)      |
|           | OF5       | 1   | YNP17 (M)                  |
| YNP15 (F) | OM1       | 1   | YNP77 (M)                  |
| YNP10 (F) | OM2       | 1   | YNP33 (M)                  |
|           | OM3       | 1   | YNP60 (F)                  |
| YNP65 (F) | OM4       | 1   | YNP05 (M)                  |
|           | OM5       | 1   | YNP34 (M)                  |
| YNP43 (F) | OM6       | 4   | YNP22 (F) / YNP41 (M)      |
|           |           |     | YNP42 (M) / YNP73 (M)      |
|           | OM7       | 1   | YNP10 (F)                  |
| OF6       | OM8       | 3   | YNP02(M) / YNP28 (M)       |
|           |           |     | YNP62(M)                   |
| OF7       | OM9       | 5   | YNP03(F)/YNP08(F)/YNP51(F) |
|           |           |     | YNP68 (F) / YNP69 (F)      |
| OF8       | OM10      | 2   | YNP04 (M) / YNP50 (M)      |
| OF9       | OM11      | 3   | YNP16 (M) / YNP46 (M)      |
|           |           |     | YNP61 (M)                  |

\*M 表公熊，F 表母熊。個體代碼 YNP 表在玉山大分樣區內遺傳檢驗出的個體。OM(群外公熊)，OF(群外母熊)分別指在大分樣區所鑑定出的 77 頭個體以外的其他熊。

表 6 (續)、玉山國家公園大分地區 2009-2013 年青剛櫟季，以黑熊排遺檢定出的個體之配對與繁殖狀況。

| 個體編號 | 配對個體 | 子代數 | 子代個體編號與性別             |
|------|------|-----|-----------------------|
| OF10 | OM12 | 2   | YNP45 (M) / YNP67 (M) |
| OF11 | OM13 | 2   | YNP49 (F) / YNP72 (F) |
| OF12 | OM14 | 2   | YNP53 (F) / YNP54 (F) |
| OF13 | OM15 | 2   | YNP59 (M) / YNP75 (M) |
| OF14 | OM16 | 2   | YNP66 (M) / YNP70 (F) |

\*M 表公熊，F 表母熊。個體代碼 YNP 表在玉山大分樣區內遺傳檢驗出的個體。OM(群外公熊)，OF(群外母熊)分別指在大分樣區所鑑定出的 77 頭個體以外的其他熊。

表 7、使用 MARK 考慮不同參數模型之族群估算模式選擇結果。

| 模式                   | AIC 值   | $\Delta$ AIC | AIC 權重 | 變因數量 |
|----------------------|---------|--------------|--------|------|
| $\{\Phi(.) P(t)\}^a$ | 115.955 | 0            | 0.7063 | 4    |
| $\{\Phi(t) P(t)\}^b$ | 118.225 | 2.2699       | 0.227  | 5    |
| $\{\Phi(.) P(.)\}^c$ | 122.03  | 6.0752       | 0.0339 | 2    |
| $\{\Phi(t) P(.)\}^d$ | 122.092 | 6.1368       | 0.0328 | 4    |

<sup>a</sup> 生存率不變，捕捉率隨時間變化

<sup>b</sup> 生存率與捕捉率隨時間變化

<sup>c</sup> 生存率與捕捉率皆不變

<sup>d</sup> 生存率隨時間變化，捕捉率不變

AIC：Akaike information criterion

$\Phi$ :生存率，P:捕捉率。

表 8、於大分地區 2010-2013 年，各青剛櫟季以黑熊排遺鑑別之個體標記-捕捉再標記之數量與再捕獲率。

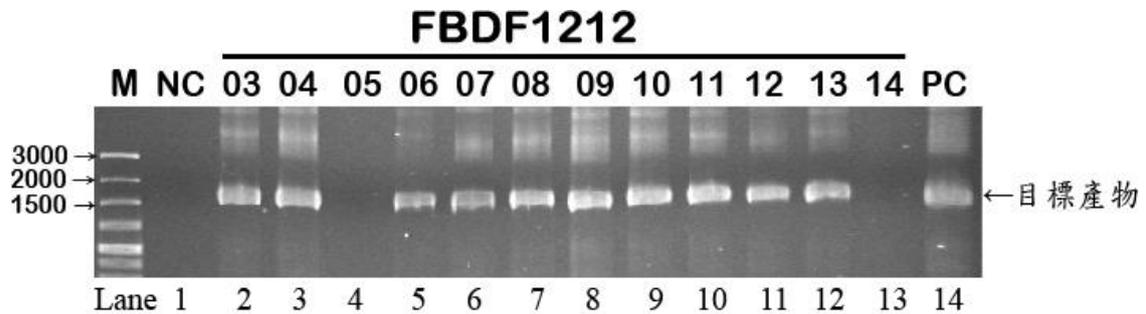
| 年度       | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
|----------|------|------|------|------|
| 已標記個體數   | 35   | 34   | 13   | 12   |
| 未標記個體數   | 0    | 25   | 11   | 4    |
| 累計已標記個體數 | 35   | 60   | 71   | 75   |
| 重複捕捉個體數  | --   | 9    | 2    | 8    |
| 再捕獲率     | --   | 0.26 | 0.03 | 0.11 |

表 9、以 Jolly-Seber model 估算 2010-2013 年在大分地區青剛櫟結果季的臺灣黑熊數量。

| 年度   | 參數     | 估計值                 | 標準誤差   | 95% CI<br>下限 | 95% CI<br>上限 |
|------|--------|---------------------|--------|--------------|--------------|
| 2011 | $\Phi$ | 0.9238              | 0.4339 | 0.0733       | 1.7743       |
|      | P      | 0.2784              | 0.1465 | -0.0087      | -0.5654      |
|      | N      | 113.17 $\doteq$ 114 | 58.56  | -1.61        | 227.94       |
| 2012 | $\Phi$ | 0.8333              | 0.894  | -0.9189      | 2.5855       |
|      | P      | 0.0392              | 0.0471 | -0.0532      | 0.1316       |
|      | N      | 238                 | 284.87 | -320.35      | 796.35       |
| 平均   | $\Phi$ | 0.8786              | 0.4466 | 0.0031       | 1.754        |
|      | P      | 0.1588              | 0.1539 | -0.2624      | 0.3408       |
|      | N      | 175.58 $\doteq$ 176 | 145.42 | -109.45      | 460.62       |

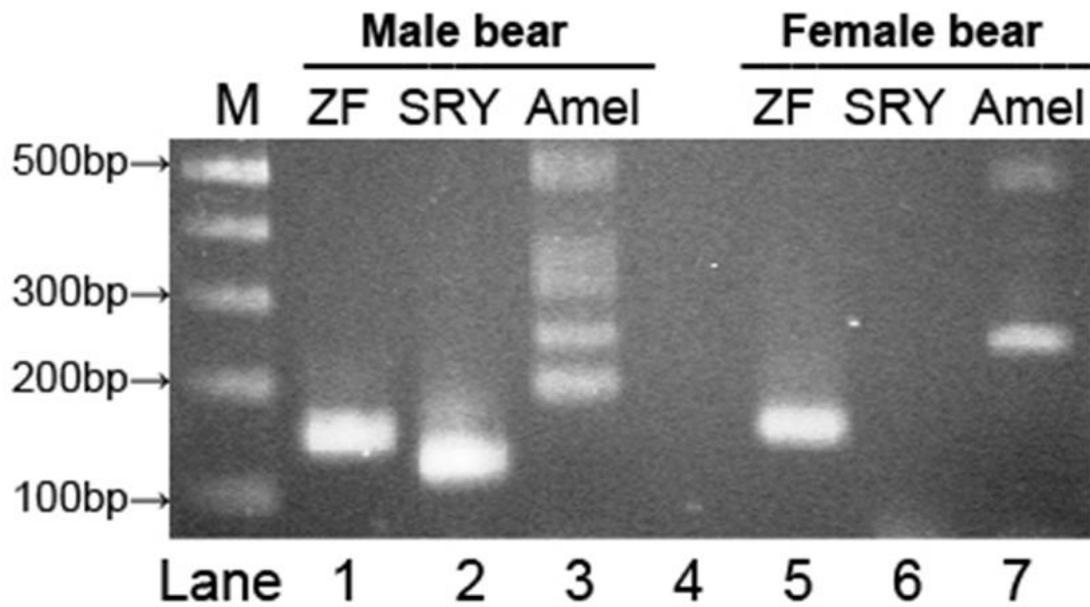
$\Phi$ :生存率，P:捕捉率，N：研究樣區之個體數量

附錄 1、2012 年 12 月編號 03-14 號之臺灣黑熊排遺 D-loop 序列電泳  
膠圖



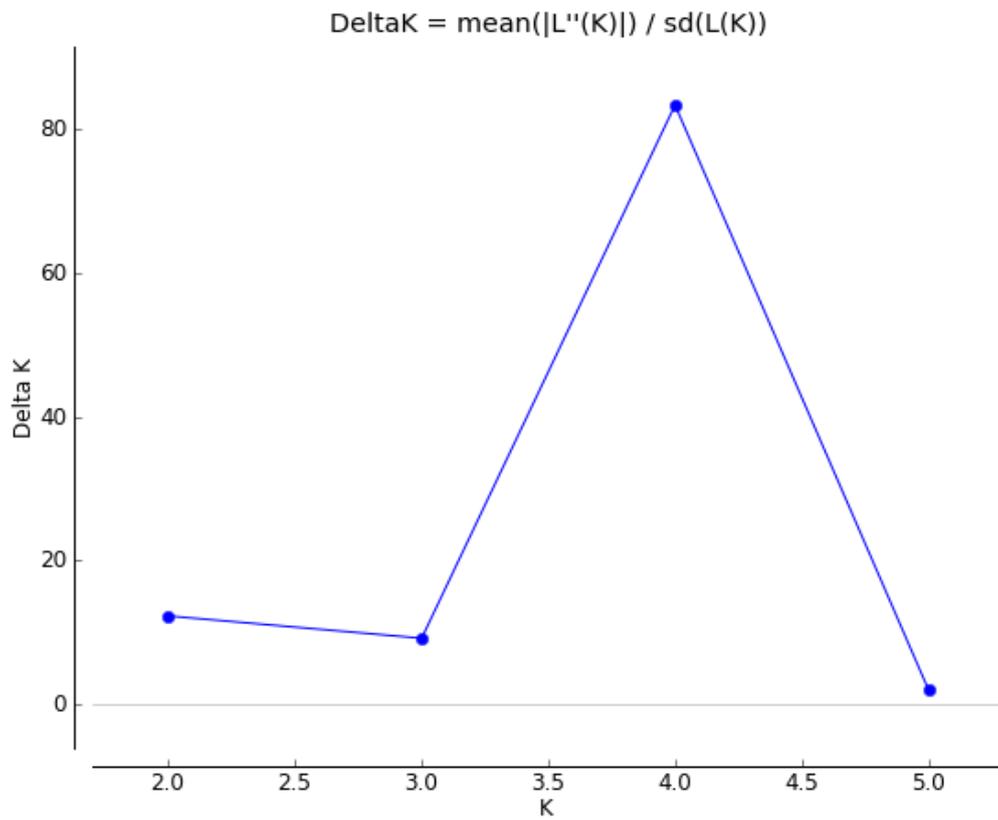
Lane M : 100bp marker ; Lane 1 : 負控制組 (NC) ; Lane 2-13 : 2012 年 12 月份大分地區 (FBDF1212) 之野外黑熊排遺擴增後 PCR 產物 ; Lane 14 : 以圈養個體血樣萃取 DNA 為模板之正控制組 (PC) 。瓊脂膠體電泳圖號碼表不同樣本編號。

附錄 2、不同性別之臺灣黑熊個體血液 DNA，以 ZF/SRY/Amel 三條引子進行擴增後不同性別之結果。

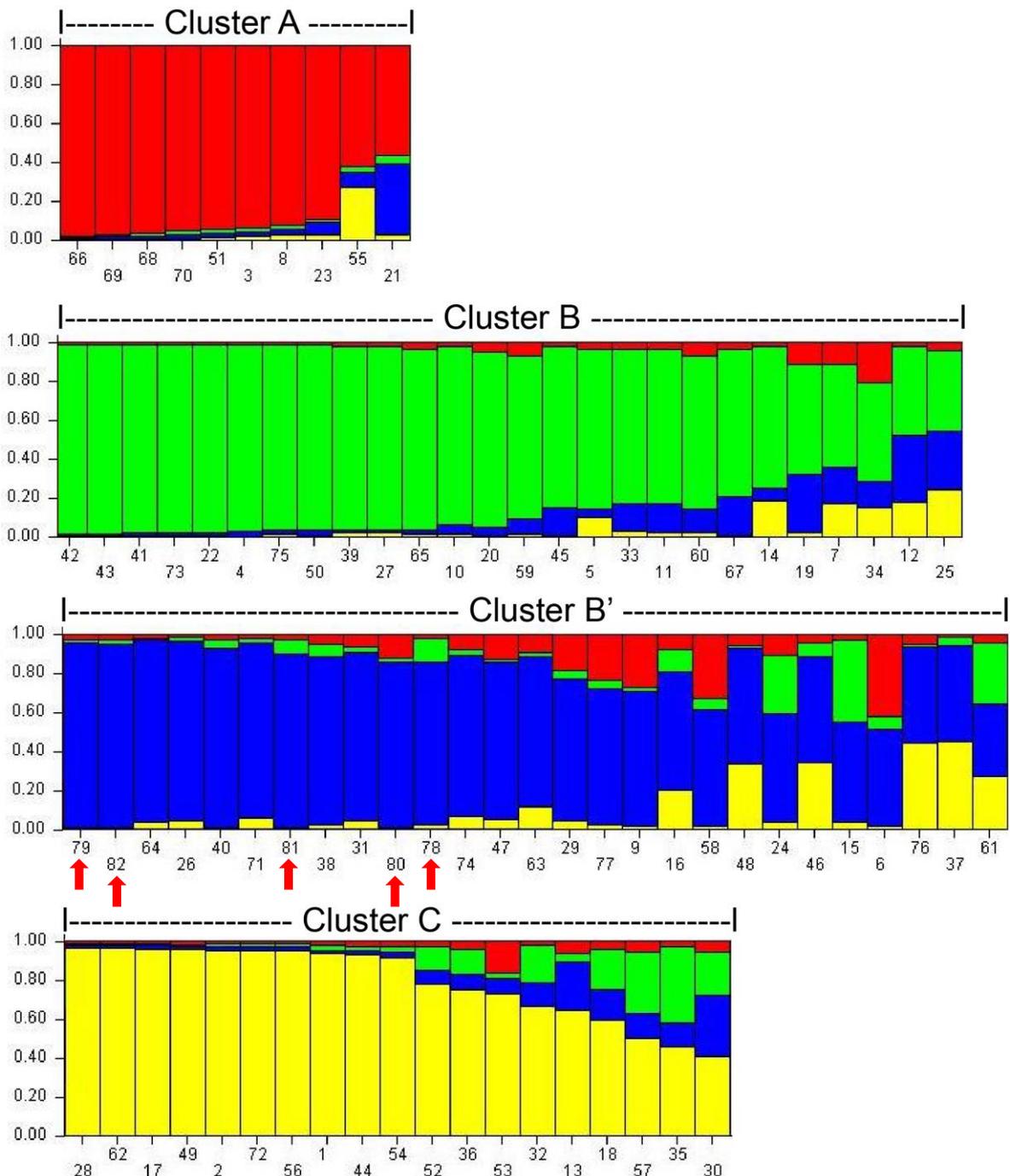


M 為 marker。Lane 1 與 5 為 ZF 基因片段(144bp)，lane 2 與 6 為 SRY 基因片段(115bp)，雌熊無 Y 染色體，故無法增幅 SRY 基因序列。Lane 3 與 7 為 Amelogenin 基因片段(雄性：191、245bp，雌性：245bp)。

附錄 3、大分地區 77 頭黑熊個體合併其他地區 5 頭黑熊個體，共 82 頭個體之分群 delta K 值。圖中之橫軸為預設分群數 (K)，縱軸為群間差異值。代表當分群數為 4 群時，群與群間的差異達到最大。



附錄 4、大分地區 77 頭黑熊個體合併其他地區 5 頭黑熊個體 (箭頭處) 之遺傳結構分群圖。橫軸數字為個體編號，每一長條代表一個體，縱軸代表每個體最可能被分配至每遺傳分群的可能性。78 號為台東海端鄉個體、79 號為苗栗縣泰安鄉大安部落個體、80 號為台東縣海端鄉向陽山屋死亡公熊、81 號為台東縣延平鄉內本鹿林道個體 (上 4 筆資料來源:黃美秀)，82 號為雪霸國家公園救傷之圈養個體 (樣本來源: 特有生物保育研究中心)。



附錄 5、利用 Micro-checker 檢測 8 個微衛星基因座中無效對偶基因有/無之結果，頻率高於 0.05 即為含無效對偶基因。

| 基因座  | 無效對偶基因 (有/無) | 頻率      |
|------|--------------|---------|
| UT1  | 無            | -0.0667 |
| UT3  | 無            | 0.0237  |
| UT4  | 無            | -0.0309 |
| UT25 | 無            | 0.0071  |
| UT29 | 無            | -0.0044 |
| UT31 | 有            | 0.0511  |
| UT35 | 有            | 0.0737  |
| UT38 | 無            | -0.0217 |

附錄 6、以 8 組微衛星基因座鑑別出之 77 頭野外臺灣黑熊個體基因型

| 個體編號  | UT1 | UT3 | UT4 | UT25 | UT29 | UT31 | UT35 | UT38 |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| YNP01 | 170 | 174 | 249 | 253  | 153  | 153  | 298  | 306  | 197 | 197 | 304 | 312 | 212 | 212 | 191 | 195 |
| YNP02 | 170 | 170 | 249 | 253  | 153  | 153  | 298  | 310  | 189 | 197 | 304 | 304 | 212 | 212 | 191 | 199 |
| YNP03 | 170 | 174 | 245 | 253  | 149  | 153  | 298  | 302  | 189 | 217 | 312 | 332 | 220 | 220 | 191 | 191 |
| YNP04 | 170 | 174 | 253 | 269  | 149  | 157  | 302  | 302  | 193 | 205 | 312 | 336 | 216 | 224 | 207 | 211 |
| YNP05 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 153  | 298  | 298  | 193 | 201 | 336 | 348 | 212 | 228 | 191 | 195 |
| YNP06 | 170 | 174 | 245 | 245  | 139  | 153  | 298  | 306  | 201 | 205 | 332 | 332 | 220 | 220 | 191 | 211 |
| YNP07 | 170 | 174 | 253 | 265  | 149  | 149  | 298  | 302  | 193 | 201 | 316 | 332 | 212 | 220 | 191 | 195 |
| YNP08 | 170 | 174 | 245 | 253  | 149  | 153  | 298  | 302  | 189 | 217 | 312 | 332 | 220 | 220 | 191 | 195 |
| YNP09 | 170 | 174 | 245 | 265  | 145  | 157  | 294  | 302  | 189 | 205 | 312 | 312 | 204 | 220 | 191 | 211 |
| YNP10 | 170 | 170 | 253 | 257  | 149  | 149  | 298  | 306  | 189 | 193 | 348 | 352 | 216 | 224 | 191 | 207 |
| YNP11 | 170 | 170 | 249 | 253  | 149  | 149  | 298  | 298  | 193 | 201 | 312 | 340 | 224 | 228 | 183 | 211 |
| YNP12 | 174 | 174 | 241 | 249  | 149  | 153  | 298  | 298  | 193 | 201 | 312 | 340 | 212 | 224 | 199 | 207 |
| YNP13 | 170 | 170 | 249 | 253  | 145  | 153  | 298  | 302  | 189 | 205 | 320 | 340 | 212 | 216 | 195 | 195 |
| YNP14 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 153  | 302  | 306  | 193 | 197 | 312 | 352 | 212 | 228 | 195 | 203 |
| YNP15 | 170 | 174 | 241 | 253  | 149  | 153  | 298  | 306  | 193 | 201 | 340 | 348 | 220 | 224 | 183 | 199 |
| YNP16 | 170 | 174 | 253 | 257  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 201 | 328 | 340 | 212 | 224 | 187 | 191 |
| YNP17 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 153  | 294  | 298  | 189 | 197 | 304 | 324 | 204 | 212 | 195 | 199 |
| YNP18 | 170 | 170 | 241 | 253  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 197 | 336 | 336 | 212 | 224 | 187 | 195 |
| YNP19 | 170 | 174 | 245 | 249  | 149  | 161  | 298  | 302  | 201 | 205 | 328 | 348 | 224 | 224 | 195 | 207 |

附錄 6 (續)、以 8 組微衛星基因座鑑別出之 77 頭野外臺灣黑熊個體基因型。

| 個體編號  | UT1 | UT3 | UT4 | UT25 | UT29 | UT31 | UT35 | UT38 |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| YNP20 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 149  | 306  | 306  | 193 | 193 | 312 | 348 | 220 | 228 | 183 | 191 |
| YNP21 | 170 | 170 | 245 | 249  | 145  | 165  | 298  | 302  | 189 | 217 | 312 | 348 | 216 | 220 | 191 | 195 |
| YNP22 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 157  | 298  | 302  | 193 | 205 | 332 | 336 | 216 | 224 | 207 | 207 |
| YNP23 | 170 | 170 | 245 | 253  | 149  | 149  | 294  | 298  | 189 | 205 | 312 | 328 | 220 | 220 | 191 | 195 |
| YNP24 | 170 | 174 | 245 | 249  | 153  | 153  | 302  | 302  | 193 | 201 | 312 | 312 | 216 | 216 | 195 | 203 |
| YNP25 | 170 | 170 | 249 | 253  | 145  | 149  | 298  | 306  | 189 | 201 | 316 | 348 | 216 | 228 | 191 | 195 |
| YNP26 | 170 | 174 | 237 | 253  | 149  | 153  | 294  | 302  | 197 | 209 | 340 | 340 | 204 | 216 | 191 | 203 |
| YNP27 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 149  | 298  | 306  | 193 | 193 | 312 | 352 | 212 | 216 | 191 | 191 |
| YNP28 | 170 | 170 | 249 | 253  | 153  | 153  | 298  | 314  | 189 | 197 | 304 | 324 | 212 | 212 | 191 | 199 |
| YNP29 | 170 | 170 | 245 | 245  | 149  | 153  | 298  | 302  | 189 | 189 | 324 | 352 | 204 | 228 | 191 | 211 |
| YNP30 | 170 | 170 | 249 | 253  | 149  | 153  | 294  | 298  | 189 | 201 | 336 | 348 | 204 | 224 | 187 | 195 |
| YNP31 | 174 | 174 | 245 | 253  | 145  | 149  | 302  | 306  | 189 | 189 | 324 | 340 | 204 | 220 | 187 | 207 |
| YNP32 | 170 | 174 | 253 | 257  | 149  | 153  | 298  | 302  | 193 | 197 | 316 | 332 | 204 | 212 | 191 | 199 |
| YNP33 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 153  | 290  | 298  | 189 | 201 | 336 | 352 | 224 | 224 | 191 | 207 |
| YNP34 | 170 | 170 | 249 | 253  | 139  | 149  | 298  | 298  | 193 | 205 | 332 | 332 | 212 | 228 | 187 | 191 |
| YNP35 | 170 | 174 | 249 | 249  | 149  | 149  | 306  | 314  | 197 | 201 | 312 | 332 | 212 | 224 | 187 | 207 |
| YNP36 | 170 | 170 | 249 | 265  | 145  | 149  | 298  | 302  | 189 | 193 | 320 | 332 | 212 | 212 | 195 | 195 |
| YNP37 | 170 | 174 | 241 | 253  | 149  | 153  | 302  | 314  | 189 | 197 | 304 | 344 | 204 | 216 | 199 | 207 |
| YNP38 | 170 | 174 | 245 | 253  | 145  | 149  | 302  | 314  | 201 | 205 | 308 | 312 | 204 | 216 | 191 | 207 |
| YNP39 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 149  | 298  | 306  | 193 | 201 | 312 | 332 | 212 | 228 | 191 | 207 |

附錄 6(續)、以 8 組微衛星基因座鑑別出之 77 頭野外臺灣黑熊個體基因型。

| 個體編號  | UT1 | UT3 | UT4 | UT25 | UT29 | UT31 | UT35 | UT38 |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| YNP40 | 174 | 178 | 249 | 265  | 157  | 157  | 298  | 302  | 189 | 205 | 312 | 324 | 204 | 216 | 203 | 211 |
| YNP41 | 170 | 170 | 253 | 269  | 149  | 161  | 298  | 302  | 193 | 193 | 332 | 332 | 212 | 224 | 207 | 207 |
| YNP42 | 170 | 170 | 253 | 269  | 149  | 157  | 298  | 302  | 193 | 193 | 332 | 336 | 212 | 224 | 207 | 207 |
| YNP43 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 149  | 298  | 306  | 193 | 193 | 332 | 352 | 212 | 216 | 207 | 207 |
| YNP44 | 170 | 170 | 253 | 253  | 153  | 153  | 298  | 302  | 197 | 197 | 312 | 324 | 212 | 212 | 195 | 199 |
| YNP45 | 170 | 174 | 253 | 265  | 149  | 157  | 302  | 302  | 189 | 201 | 312 | 352 | 216 | 224 | 203 | 207 |
| YNP46 | 170 | 174 | 241 | 253  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 197 | 328 | 340 | 212 | 224 | 183 | 191 |
| YNP47 | 170 | 170 | 245 | 245  | 149  | 149  | 294  | 298  | 189 | 209 | 324 | 324 | 204 | 224 | 195 | 211 |
| YNP48 | 170 | 174 | 241 | 241  | 149  | 153  | 302  | 314  | 189 | 197 | 300 | 300 | 204 | 204 | 195 | 207 |
| YNP49 | 170 | 174 | 249 | 249  | 145  | 153  | 298  | 298  | 189 | 197 | 320 | 332 | 204 | 212 | 187 | 195 |
| YNP50 | 174 | 174 | 253 | 253  | 149  | 157  | 302  | 302  | 193 | 205 | 312 | 336 | 216 | 224 | 207 | 211 |
| YNP51 | 170 | 170 | 245 | 249  | 149  | 153  | 298  | 298  | 205 | 217 | 300 | 312 | 220 | 224 | 187 | 191 |
| YNP52 | --  | --  | 253 | 253  | 149  | 153  | 302  | 302  | 197 | 197 | 316 | 316 | --  | --  | 191 | 199 |
| YNP53 | 170 | 174 | 245 | 249  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 197 | 320 | 332 | 204 | 224 | 187 | 191 |
| YNP54 | 170 | 174 | 249 | 249  | 149  | 153  | 294  | 298  | 189 | 197 | 320 | 332 | 204 | 228 | 191 | 195 |
| YNP55 | 170 | 170 | 245 | 249  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 205 | 320 | 332 | 220 | 228 | 191 | 195 |
| YNP56 | 174 | 174 | 249 | 249  | 149  | 149  | 294  | 294  | 189 | 197 | 304 | 332 | 204 | 204 | 195 | 195 |
| YNP57 | 170 | 174 | 249 | 249  | 149  | 149  | 294  | 298  | 197 | 201 | 312 | 332 | 212 | 224 | 187 | 207 |
| YNP58 | 170 | 174 | 253 | 253  | 145  | 157  | 298  | 302  | 189 | 205 | 328 | 328 | 220 | 220 | 187 | 203 |
| YNP59 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 161  | 302  | 302  | 193 | 201 | 348 | 348 | 220 | 220 | 199 | 207 |

附錄 6 (續)、以 8 組微衛星基因座鑑別出之 77 頭野外臺灣黑熊個體基因型。

| 個體編號  | UT1 | UT3 | UT4 | UT25 | UT29 | UT31 | UT35 | UT38 |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| YNP60 | 170 | 174 | 245 | 253  | 149  | 153  | 298  | 306  | 193 | 205 | 348 | 352 | 212 | 224 | 191 | 211 |
| YNP61 | 174 | 174 | 253 | 253  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 197 | 328 | 336 | 224 | 224 | 183 | 191 |
| YNP62 | 170 | 170 | 253 | 253  | 153  | 153  | 314  | 314  | 189 | 189 | 304 | 320 | 212 | 212 | 191 | 199 |
| YNP63 | 170 | 170 | 245 | 253  | 153  | 153  | 294  | 298  | 189 | 207 | 312 | 324 | 204 | 224 | 195 | 211 |
| YNP64 | 170 | 174 | 237 | 241  | 139  | 153  | 294  | 298  | 189 | 207 | 300 | 340 | 208 | 212 | 195 | 203 |
| YNP65 | 170 | 170 | 253 | 253  | 149  | 149  | 298  | 298  | 189 | 193 | 332 | 348 | 224 | 228 | 191 | 207 |
| YNP66 | 170 | 170 | 245 | 245  | 149  | 149  | 298  | 298  | 189 | 217 | 300 | 312 | 220 | 220 | 187 | 191 |
| YNP67 | 170 | 174 | 253 | 265  | 149  | 157  | --   | --   | 189 | 201 | 312 | 312 | 216 | 224 | 203 | 207 |
| YNP68 | 170 | 170 | 245 | 249  | 149  | 149  | 298  | 302  | 189 | 217 | 300 | 312 | 220 | 220 | 187 | 195 |
| YNP69 | 170 | 170 | 245 | 249  | 149  | 153  | 298  | 298  | 205 | 217 | 300 | 312 | 220 | 220 | 187 | 191 |
| YNP70 | 170 | 170 | 253 | 265  | 149  | 149  | 298  | 302  | 189 | 217 | 300 | 312 | 220 | 220 | 187 | 187 |
| YNP71 | 170 | 170 | 249 | 257  | 153  | 157  | 294  | 314  | 189 | 189 | 340 | 340 | 204 | 220 | 183 | 207 |
| YNP72 | 170 | 174 | 249 | 249  | 145  | 153  | 298  | 306  | 189 | 197 | 320 | 332 | 204 | 212 | 187 | 195 |
| YNP73 | 170 | 170 | 253 | 269  | 149  | 157  | 298  | 302  | 193 | 193 | 332 | 336 | 212 | 224 | 203 | 207 |
| YNP74 | 170 | 174 | 241 | 249  | 139  | 149  | 298  | 314  | 189 | 189 | 312 | 332 | 204 | 220 | 207 | 211 |
| YNP75 | 170 | 174 | 249 | 253  | 149  | 161  | 302  | 306  | 193 | 201 | 348 | 348 | 224 | 228 | 199 | 207 |
| YNP76 | 170 | 174 | 241 | 249  | 145  | 153  | 298  | 298  | 189 | 189 | 300 | 340 | 204 | 212 | 183 | 195 |
| YNP77 | 170 | 174 | 241 | 245  | 149  | 153  | 298  | 298  | 189 | 201 | 340 | 348 | 220 | 220 | 183 | 191 |

附錄 7、以 8 組微衛星基因座鑑別出玉山以外地區野外臺灣黑熊與圈養個體基因型。

| 個體編號 | UT1 |     | UT3 |     | UT4 |     | UT25 |     | UT29 |     | UT31 |     | UT35 |     | UT38 |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| FBHD | 174 | 174 | 237 | 241 | 145 | 149 | 302  | 302 | 193  | 197 | 332  | 352 | 220  | 232 | 191  | 207 |
| FBDA | 170 | 170 | 241 | 245 | 139 | 153 | 306  | 310 | 201  | 221 | 340  | 340 | 220  | 224 | 179  | 187 |
| FBSY | 170 | 174 | 241 | 245 | 149 | 153 | 290  | 290 | 189  | 201 | 340  | 348 | 220  | 220 | 187  | 211 |
| FBNL | 174 | 174 | 237 | 253 | 139 | 139 | --   | --  | 193  | 193 | 328  | 332 | 220  | 232 | 211  | 211 |
| TE6  | 170 | 170 | 245 | 245 | 153 | 157 | 298  | 298 | 201  | 201 | 324  | 340 | 216  | 216 | 175  | 179 |