

中華民國第 58 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

佳作

030316

酸溜溜的滋味

-探討酸鹼度對封閉水域莫氏樹蛙蝌蚪的影響

學校名稱：苗栗縣私立建臺高級中學(附設國中)

作者： 國一 謝昕穎 國一 魏子鈞 國一 羅心妤	指導老師： 汪克仁
---	------------------

關鍵詞：環境劣化、動物保育、兩棲類

摘要

本文以山林間利用蓄水池或小池塘等封閉水體繁殖的莫氏樹蛙為對象，探討酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪的影響。發現：(1)在野外被莫氏樹蛙使用的水池酸鹼值範圍很廣，可從 pH 4~10；(2)蝌蚪在中性水體中的上浮呼吸次數最少，顯示此時代謝最慢，鹼性水體中蝌蚪上浮呼吸明顯增加；(3)蝌蚪在中性水體中的移動次數最少，偏離中性時活動次數增加，造成無謂的能量消耗；(4)使用酸鹼值梯度之水槽來檢視，發現在可選擇時，蝌蚪偏好中性，即使活動範圍可從 pH3~10；最後(5)當蝌蚪生活在不同酸鹼值下，成長發育並沒有負面影響，甚至在些微偏離中性時表現得更好，顯示 pH 5~9 是可忍受的範圍。故本研究推測莫氏樹蛙的酸鹼容忍範圍在 pH 4~10，且在 pH 5~9 仍維持成長及發育的最佳表現。

壹、研究動機及目的

當初想研究這個生物問題，其實是想去追究因人類活動產生的空氣污染物到哪裡去了？最後來逐漸聚焦在探討酸雨對封閉水體中動物的影響。近年來空氣污染問題逐漸引起重視，連出門都要注意空氣中 PM2.5 的霧霾問題影響健康。看到這些新聞讓我們心裡很生氣，為什麼我們會如此對待我們所居住的環境，甚至連喝的水和呼吸的空氣是否安全都令人憂心。某次課堂上提到污染問題，於是與老師開始討論空氣污染，過程中有人提到下雨過後空氣會變乾淨有助於降低空氣污染。但是我心裡卻很擔心，下雨雖然可以帶走空氣中的污染，可是那些污染去了哪裡？會不會造成另外一種危害？

原來，下雨雖然可以是空氣污染暫時的結束，卻也是另外一種污染的開始。當空氣中的化學物質被沖刷到地面時，會造成水污染以及土地污染等問題，所以一開始所產生污染空氣的物質並非消失了，而是轉移到其他地方造成不同型式的污染，但是這些看不見的污染所造成的影響很容易被忽略，因此我們想探討空氣中的污染在降雨過後的影響。酸雨影響是空氣污染所衍生的一種污染形式，會直接傷害生物本身，或是改變環境因子而間接影響生物的生存，尤其在承接雨水的封閉水體，隨著雨水沉降的污染物將被蓄積在封閉水體中，影響其中的生物生存表現。

過去我們曾做過多次兩棲類蝌蚪的研究，馬上聯想到有許多蛙類會利用積水容器當作繁殖地點，像是莫氏樹蛙常常會在人類的蓄水池中繁殖，這些生活在封閉水體的蝌蚪，**酸雨影響直到變態成青蛙離開水體之前都沒有躲避的機會，水體酸化會對他們造成怎麼樣的影響我們卻一無所知。**因此我們希望以莫氏樹蛙的蝌蚪作為研究動物，透過一連串有系統的設計研究來探討水體酸化對封閉水域中蝌蚪的影響，期望對物種保育有所貢獻。

貳、文獻探討

一、酸雨是人類活動造成的環境惡化

人類社會工業化之後，大量化學物質的使用導致了酸雨的形成。化石燃料包括煤及石油，經過燃燒後會產生硫氧化物(SO_x)或氮氧化物(NO_x)，會在大氣中形成硫酸或硝酸氣懸膠，當被空氣中的水氣所捕捉吸收後，之後隨著雨水落下成為酸雨。一般未被污染的雨水約 pH5.6，呈弱酸性，**低於 5.0 便為酸雨**；如今卻頻頻出現 pH 值小於 3 的強酸雨，不禁令人憂心忡忡。

酸雨的產生也對生物本身以及生態環境造成危害，影響層面廣布各種生態系統。酸雨降在生物體表面時會對生物體造成**直接傷害**，如造成植物葉片或嫩芽的損傷，或是對動物產生腐蝕皮膚或毛髮的傷害。也會改變環境的品質而**間接影響**生活在其中的生物，尤其是在封閉型的棲地類型，例如池塘、湖泊等，可能不易被稀釋，對其中的生物造成很大的傷害。舉例來說，酸雨會融化存在於地表的金屬元素，之後流入河川或湖泊等水體造成魚類大量死亡，並使水生植物及農作物等植物累積有毒金屬，這可能會經由食物鏈進入人體，影響人類的健康。因此，即使酸雨通常不會直接殺死動物，但環境酸化也會對棲息在其間的動物也造成間接的衝擊。

二、為什麼要研究兩棲動物？

兩棲類有許多特點，使他們成為良好的環境指標，另外兩棲類也已經面臨全球性的滅絕，因此探討兩棲類在環境下的脆弱度以及各項環境因子的影響是相當重要的事。兩棲類具有複雜的生活史與生理構造特徵，對於環境因子變動較其他脊椎動物來的敏感與脆弱(Dunson, Wyman, & Corbett, 1992)，是面對氣候暖化時，受到最嚴重威脅的主要物群之一(Beebee & Griffiths, 2005; Brühl, Schmidt, Pieper, & Alscher, 2013a; Wake & Vredenburg, 2008)。這些特徵包括：(1) 在食物網中扮演著初級或次級消費者的角色，而且也是陸域及水

域間**能量流動的重要連結**(Wells, 2007)。(2)兩棲類是良好的**環境品質指標物種**，皮膚良好的通透性對環境因子變化十分敏感(Dunson et al., 1992)，複雜的生活史也反映出水域與陸域環境的變化(Olson, Anderson, Frissell, Welsh, & Bradford, 2007; Paton & Crouch, 2002)。(3)兩棲類相較於其他外溫脊椎動物而言在氣候暖化下是更為脆弱的類群(Hoffmann et al., 2010)。造成兩棲類滅絕的因素已經被發現是具有多面向，包括氣候變遷(如全球暖化、臭氧層稀薄)、蛙壺菌的感染及有毒化學物質的使用等因素及其之間的交互作用(Brühl, Schmidt, Pieper, & Alscher, 2013b; Hof, Araújo, Jetz, & Rahbek, 2011; Whiles et al., 2013)。成體階段或許可以透過選擇不同的微棲地類型，來降低環境因子變動的衝擊(Scheffers, Edwards, Diesmos, Williams, & Evans, 2014)，但**蝌蚪被侷限於水體中**，當水中環境因子發生變動時無法選擇性的避開，因此受到環境因子改變的影響甚大(Viertel, 1999)。過去文獻以及研究已經報導許多證實有酸雨的案例，顯示酸雨已經是一項重要的環境議題，但酸雨對生物所造成的影響往往集中在酸雨本身所產生的立即傷害，像是對植物葉片的破壞。相對地，卻**比較少有研究去探討酸雨所造成的環境酸化對當地棲息生物的影響**，尤其是那些被限制在水中環境的動物遭遇酸雨時會有什麼影響更是缺乏相關的了解。

三、兩棲類在各個生活史階段都會受環境酸化的影響

回顧過去探討酸化的環境對兩棲類的影響(Pierce, 1985)，從文獻上可以知道水體酸化對兩棲類蝌蚪有許多不同層面的影響。水體酸化會影響了胚胎的存活率，酸化的水體會使胚胎的存活率降低，而且在水體偏酸環境的族群，其胚胎可以耐受較酸的水體。水體酸化也會影響蝌蚪的體重以及變態成青蛙時的體重(楊育昌 & 陳俊宏, 1996)，大部分的物種會有體重較低的情形，推測是因為在酸化的水體中蝌蚪的酸鹼平衡失衡，使特定的離子流失，動物的生理上需要耗費能量來抵抗離子流失，因此體重降低。但有一種樹蟾很適應偏酸性的水體，在稍微偏酸的水體可以有比較高的成長、發育以及存活率，推測是偏酸的水體會降低水中掠食者的活動並抑制病菌的孳生。即使如此，大部分水體酸化對蝌蚪是具有負面影響的，但我們對大部分會面臨酸化危機物種的蝌蚪會有怎樣的酸化影響卻仍未知，像是在酸化狀況下成長發育會受到影響，但這種影響是否會影響到變態成小蛙之後的表現嗎?另外蝌蚪是否有其偏好的酸鹼更是從未有人探討過。因此本研究期望可以填補生物學上的未知空缺，進而在對動物的管理與保育上有所貢獻。

叁、研究目的

本研究將從不同的角度來探討環境酸化對蝌蚪的影響，包括

- 一、檢視在野外有莫氏樹蛙蝌蚪水池的酸鹼值分布範圍
- 二、探討酸鹼值對蝌蚪上浮呼吸行為的影響
- 三、探討酸鹼值對蝌蚪活動力的影響
- 四、使用酸鹼值梯度之水槽來檢視蝌蚪對水中酸鹼值的偏好
- 五、探討在不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵差異。

透過實驗探討，本研究將可以進一步了解當水質酸化時對封閉水體的蝌蚪可能造成的影響，也可以對兩棲類的保育研究做出貢獻。

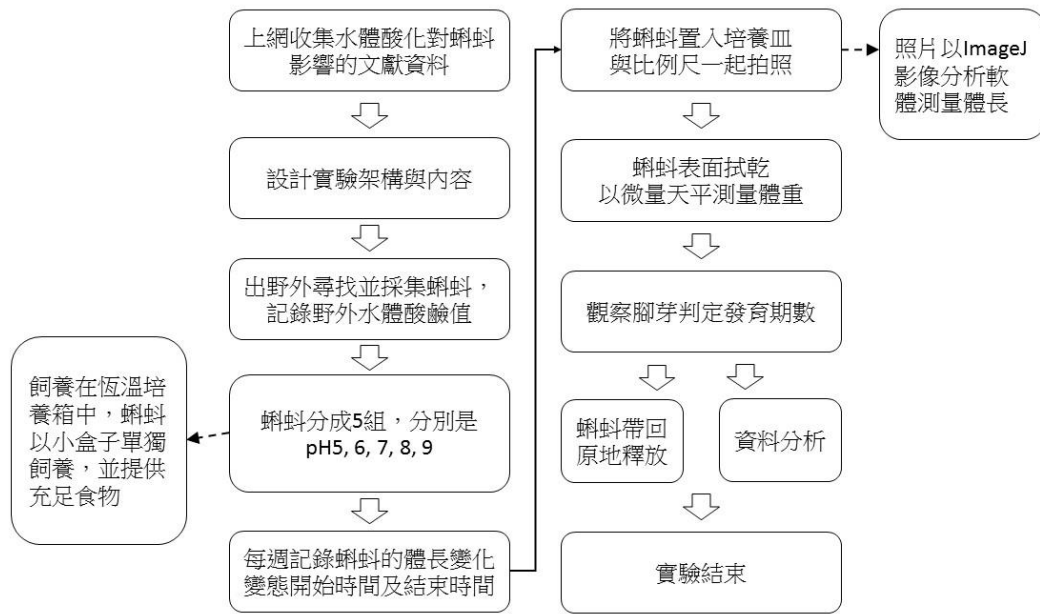
肆、研究設備與器材

表一、實驗器材和藥品

品名	數量	用途及配製方法
酸鹼度計	1	測量環境水體以及室內實驗水體的酸鹼值
溫度計	1	測量水溫
飼養箱	5	飼養未分組或不需分組之蝌蚪
小飼養盒(6*7*4.5公分)	60	飼養分組實驗之蝌蚪
Image J 圖形測量軟體	1	測量蝌蚪體長
菠菜或杏菜	若干	以沸騰水煮 10 分鐘以上直到糜爛狀態以餵食蝌蚪
相機	1	拍攝環境照片及蝌蚪照片
培養皿	若干	拍攝蝌蚪及小蛙時的容器
電子微量天秤	1	測量藥劑重量、蝌蚪體重
逆滲透純水機	1	取得去離子的純水
1000ml 燒杯	5	進行蝌蚪上浮呼吸實驗
酸鹼選擇水槽	1	進行蝌蚪酸鹼偏好實驗
硫酸溶液 (約 pH 2.6)	適量	1 公升水中加入 0.27 ml 18M 硫酸，調節溶液酸鹼度
飽和 NaOH 溶液 (約 pH 12.8)	適量	調節溶液酸鹼度
儲備用培養原液	適量	1 公升水中加入 480mg NaHCO ₃ 、240mg CaSO ₄ 、300mg MgSO ₄ 、20mg KCl，於研究四中稀釋 1000 倍來飼養蝌蚪，以提供適當的滲透壓。

※ 溶液的配製皆在指導老師的陪同下。

伍、研究過程與方法



一、物種介紹

莫氏樹蛙(*Rhacophorus moltrechti*) 是中型的綠色樹蛙，體長大約 5 公分。個體背部大致上為墨綠色，有時候帶有一些小白點，腹面及側面為亮白色且散有黑斑點，有人說這是牠們的老人斑，而且年紀越大，斑點越多。大腿內側呈鮮豔的橘紅色或淡橘色，據說大腿內側的鮮豔顏色有禦敵的效果，當遇到危險要逃跑的時候兩腿一伸，會露出鮮紅的大腿內側來驚嚇敵人。眼睛虹膜也是橘紅色的，有人說好似感染了結膜炎。又有人形容莫氏樹蛙的外型其實是西瓜，綠皮、紅肉、黑籽三項都有了。

莫氏樹蛙的分布很廣，從低海拔的樹林、果園、開墾地到兩千多公尺高山針葉林，都可找得到牠們的蹤跡。過去曾經因為是特有種被列為保育類，但後來在 2008 年因族群穩定，所以降為一般類。一般來說莫氏樹蛙的繁殖期隨地區而有所不同，但以春天比較多，叫聲是一長串的呱~呱~呱~，配對後的莫氏樹蛙會在水面上方的枝條或固著物上產下卵泡，卵泡中的蝌蚪孵化後會在下雨或潮濕的狀態下滴入水中(向高世, 李鵬翔, & 楊懿如, 2009)。



圖一、左-鳴叫中的莫氏樹蛙；右-莫氏樹蛙蝌蚪

二、蝌蚪的取得與飼養

(一) 蝌蚪的取得：

在 2017 年底以及 2018 年初於苗栗大湖山區的果園邊小水池取得莫氏樹蛙的蝌蚪，隨機取得足夠的實驗用量，研究蝌蚪在不同酸鹼值之下的(1)上浮呼吸次數、(2)蝌蚪對不同酸鹼值偏好，及(3)活動力。另外我們在 2017 年底取得一窩完整的卵泡，帶回到學校等待孵化之後，將蝌蚪分組飼養，探討(4)酸鹼值對蝌蚪成長及發育的影響。



圖二、撈取蝌蚪的水池邊上還有卵泡(左圖)，以及所撈取出來的蝌蚪(右圖)

(二) 蝌蚪的飼養：

每隻蝌蚪單獨養在透明塑膠盒(長 10 cm；寬 6 cm；高 4 cm)，依照不同處理飼養在不同的酸鹼度水體中，並每天以煮熟的菠菜或 A 菜糜餵養蝌蚪。



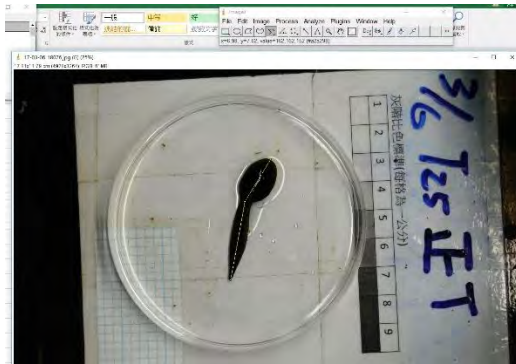
圖三、蝌蚪以煮熟的菠菜飼養

三、蝌蚪體長測量：

測量時將蝌蚪從水中撈至培養皿中，並放置在有比例尺的地方拍照，從拍攝的照片量取體長。體長量化是以 Image J 影像分析軟體來測量，在該程式中以比例尺設定單位，在照片上拉取代表蝌蚪體長的折線，以軟體計算折線長度。此方式在測量體長相當方便，不僅減少蝌蚪被捉出來測量的時間，也可以測量尾巴沒擺直的個體。

四、蝌蚪體重測量：

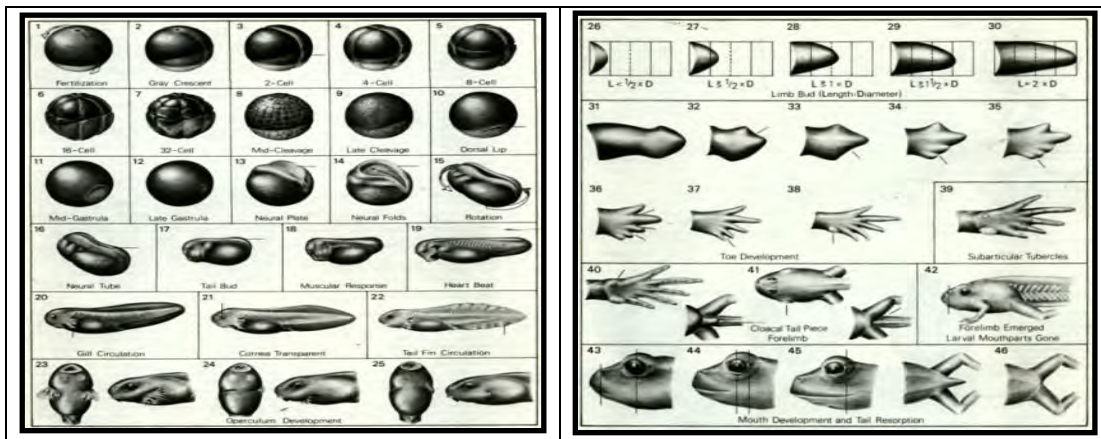
事先放置空培養皿在微量天平中並歸零，蝌蚪拍完照片以後以棉布吸取表面上多餘的水分之後，以微量天平秤重，秤完後的蝌蚪立即放回水中。



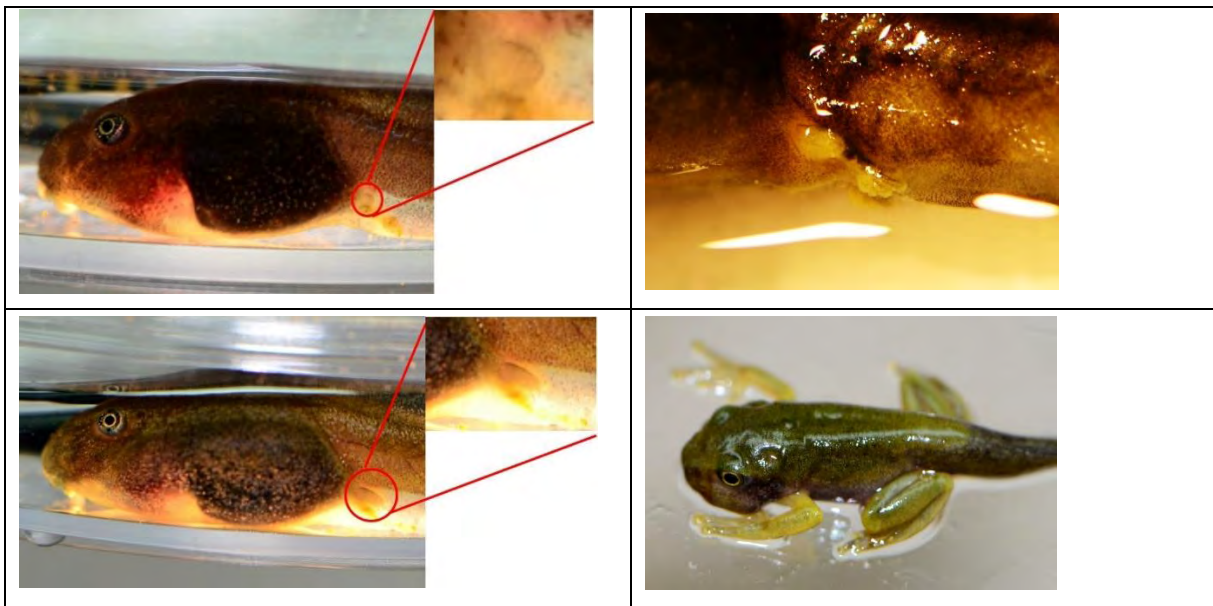
圖四：以拍照方式測量蝌蚪(左圖)，蝌蚪以微量天平秤重(右圖)

五、蝌蚪發育期數判定：

依據 Gosner 在 1960 年所發表的卵及蝌蚪發育期數作為比對標準，在燈光照射下觀察蝌蚪的後腳芽，藉此判定蝌蚪的發育期數。



圖五、Gosner 制定的蝌蚪發育期數判定對照表



圖六、蝌蚪發育期數判定。蝌蚪腳芽以燈光照射會比較明顯，另根據對照表，這幾隻蝌蚪分別是發育 28 期(左上)、30 期(左下)、36 期(右上)，以及 43 期(右下小蛙)

陸、研究結果與分析討論

研究一：莫氏樹蛙蝌蚪棲息之水體的酸鹼值

(一)研究目的：瞭解在野外莫氏樹蛙所利用來繁殖的水池的特性，包括水體酸鹼值及溫度。

(二)提出疑問：莫氏樹蛙選擇生殖場所時，對不同酸鹼度會有偏好嗎？

(三)提出假設：預期莫氏樹蛙偏好選擇中性水體來繁殖，水質偏酸或偏鹼比較不會被利用。

(四)研究方法設計

- 1.在苗栗大湖山區尋找可能有莫氏樹蛙蝌蚪的水域(如下圖所示)，並以溫度計和酸鹼度計來量取水中的溫度以及酸鹼值。
- 2.檢查水池中有無莫氏樹蛙繁殖，記錄是否有成蛙、卵泡或是蝌蚪。
- 3.將所得到的莫氏樹蛙繁殖水域酸鹼度資料繪製成酸鹼值分布圖。

(五)研究結果與討論

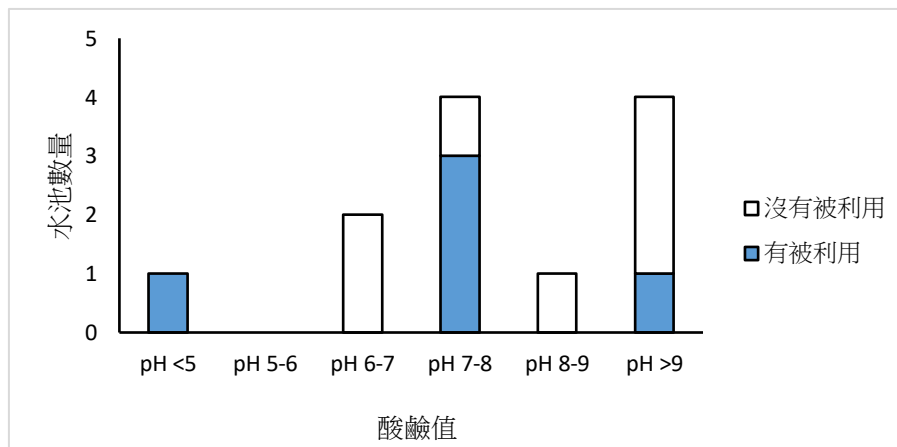
在實驗期間共記錄了 12 個水池，其中有莫氏樹蛙蝌蚪的水池有 5 個，水體的酸鹼度、溫度、有無莫氏樹蛙成蛙、卵或蝌蚪的出現請見(表二)。

表二、野外水池酸鹼度及水溫

水池編號	酸鹼度	水溫	成蛙	卵	蝌蚪	有無被利用	備註
蓮華池 1	7.46	19.6		V		Y	果園樹蔭下甕缸
蓮華池 2	4.83	19.1	V	V		Y	檳榔園曝曬塑膠
馬拉邦 1	7.53	15.8			V	Y	樹蔭下水泥桶
馬拉邦 2	9.64	20.7	V		V	Y	果園曝曬水泥，優養化
馬拉邦 3	6.71	22.4				N	果園曝曬塑膠桶
馬拉邦 4	9.56	22.9				N	果園曝曬水泥，優養化
馬拉邦 5	9.17	23.1				N	果園曝曬塑膠桶
馬拉邦 6	7.3	24.2				N	果園曝曬水泥
馬拉邦 7	7.08	22.2	V	V		Y	果園曝曬水泥
馬拉邦 8	8.88	23.2				N	果園曝曬水泥，優養化
馬拉邦 9	6.43	22.7				N	果園曝曬塑膠桶
馬拉邦 10	9.46	21.9				N	果園曝曬塑膠桶，優養化



圖七、野外水池照片



圖八、野外水池酸鹼值分布圖

野外水池資料發現水體酸鹼值分布很廣，但會因為水質優養化而偏鹼。從野外水池酸鹼值分布圖來看，野外水池酸鹼值的分布可以從 pH 4.83 到 pH 9.64，其中較多水池偏鹼性，我們觀察到這些水池通常伴隨著優養化(表二、圖七)，過去研究顯示優養化使水中酸鹼度升高(蔡大偉&陳鴻烈, 2006)，原因與水中碳酸根的消耗有關(李季眉,張怡塘&邱應志, 2012)。

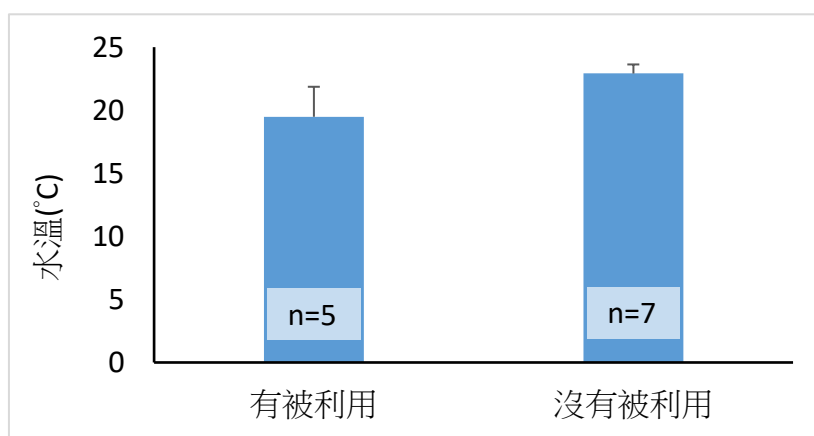
從有被莫氏樹蛙利用的水池酸鹼度來看，酸鹼值不是莫氏樹蛙利用水池的限制因子，但莫氏樹蛙仍偏好(有 60%)使用中性水體。12 個水池中有 5 個水池被莫氏樹蛙利用來生殖，在這些水池中至少有發現卵或是蝌蚪的存在(表二)。我們發現水池有無被利用的比例在各個酸

鹼值中的表現不盡相同，莫氏樹蛙有利用的水池其酸鹼值分布可以從 pH 4.83 到 pH 9.64 之間，也就是說酸鹼值可能不會是莫氏樹蛙利用水池生殖的限制因子，但從莫氏樹蛙利用水池的酸鹼度來看，大多數有被利用的水池是 pH 7-8 (3 個水池)，而偏酸(pH 5)以及偏鹼(pH 9)的使用頻度各只有一次，因此可以推測莫氏樹蛙會偏好水質偏向中性的水池來生殖，也與我們的預期相符合。

表三、有無被利用的水體中酸鹼度與水溫之比較

	全部(N=12)	有被利用(n=5)	沒有被利用(n=7)	t	p-value
酸鹼度(pH)	7.84±1.51	7.31±1.71	8.22±1.35	-1.03	0.328
水溫(°C)	21.48±2.34	19.48±2.38	22.91±0.72	-3.66	0.004

再進一步分析有無被利用的水池中的酸鹼度及水溫的差別，從 t-test 的檢定結果來看，有無被利用的酸鹼度並沒有顯著差別(表)，這可能是因為莫氏樹蛙偏好中性而不是單方面偏好酸或是鹼。水溫則在有無被利用的水池之間有顯著差異，有被利用的水體的溫度較低，這可能是因為莫氏樹蛙在選擇生殖地點時會偏好有遮蔽的場所，可能可以降低被捕食的風險或是降低白天陽光曝曬的灼熱。



圖九、有被莫氏樹蛙利用來繁殖的水體溫度較低。

(六) 結論

野外水池資料發現水體酸鹼值分布很廣，水池酸鹼值的分布可以從 pH 5 一直到 pH 9，從有被莫氏樹蛙利用的水池酸鹼度也是從 pH 5 一直到 pH 9，顯示酸鹼值不是莫氏樹蛙利用水池的限制因子。莫氏樹蛙使用來繁殖的水池顯著有較低的溫度，可能是因為莫氏樹蛙在選擇生殖地點時會偏好有遮蔽的場所，這可能可以降低被捕食的風險或是講降低白天陽光曝曬的灼熱。

研究二、酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪上浮呼吸的影響

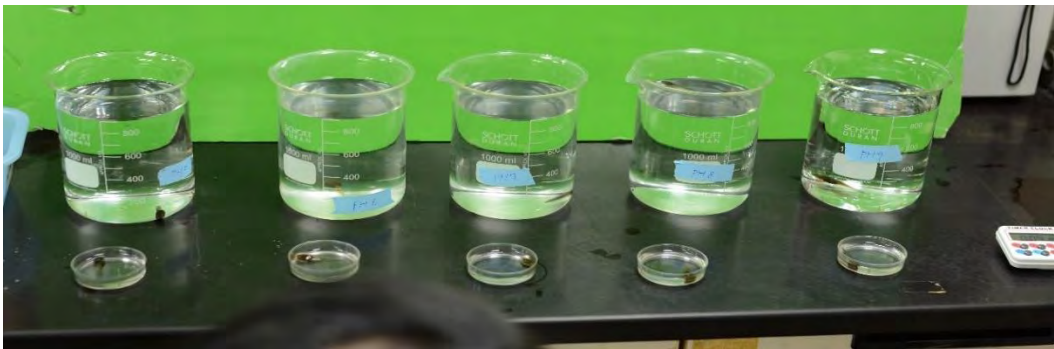
(一)研究目的：在不同酸鹼值之下，可能會影響蝌蚪的生理代謝，透過觀察蝌蚪的上浮呼吸行為，可間接了解在不同酸鹼值之下蝌蚪的耗氧程度。

(二)提出疑問：不同酸鹼值的水質會影響蝌蚪上浮呼吸行為嗎？

(三)提出假設：當水體酸鹼值偏離中性愈遠，蝌蚪會因代謝增加而有較多上浮呼吸次數。

(四)研究方法設計：

1. 首先配製不同酸鹼值的溶液各 1000mL，分別是酸化(pH 5)、微酸化(pH 6)、中性(pH 7)、微鹼化(pH 8)、鹼化(pH 9)五組，並以硫酸溶液 (約 pH 2.6)及飽和 NaOH 溶液 (約 pH 12.8) 調整溶液酸鹼值。



圖十、觀察蝌蚪在不同酸鹼值下的上浮呼吸次數

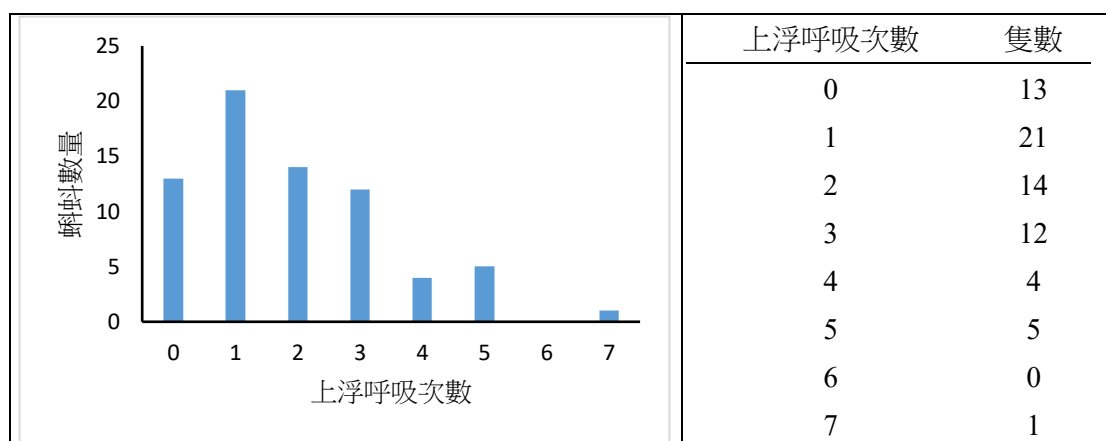
2. 進行上浮呼吸行為觀察時，每組隨機選取 14 隻從野外帶回的蝌蚪，先放置 5 分鐘以上使其適應新環境，之後進行 15 分鐘的觀察，記錄在觀察期間蝌蚪的上浮呼吸次數，每次蝌蚪到水面吞嚥空氣便記為一次(圖十)。
3. 觀察結束後量取蝌蚪的體長、體重、以及發育期數。

(五)結果分析和討論

這個實驗共記錄了 70 隻蝌蚪，每一酸鹼值各進行 14 隻蝌蚪的觀察，蝌蚪的上浮呼吸次數平均約 1.93 次，在 15 分鐘內最少為 0 次，最多有 7 次(表四、圖十一)。過去前人研究莫氏樹蛙蝌蚪的上浮呼吸會受到溫度影響，在 18°C 之下平均是 2.1 次，而在 25°C 之下平均是 5.3 次(2017 苗栗縣科展作品)。本實驗進行時水溫平均是 17.4°C，結果比較接近前人在 18°C 之下的實驗結果。

表四、進行上浮呼吸實驗蝌蚪的體長、體重、發育期數、以及 15 分鐘內的上浮呼吸次數 (每組 14 隻，五組的樣本數=70)。

項目	平均	標準偏差	最小值-最大值
體長(cm)	3.64	0.20	3.06-4.10
體重(g)	0.44	0.07	0.30-0.77
發育期數	28.91	1.19	27-31
15 分鐘上浮呼吸次數	1.90	1.57	0-7



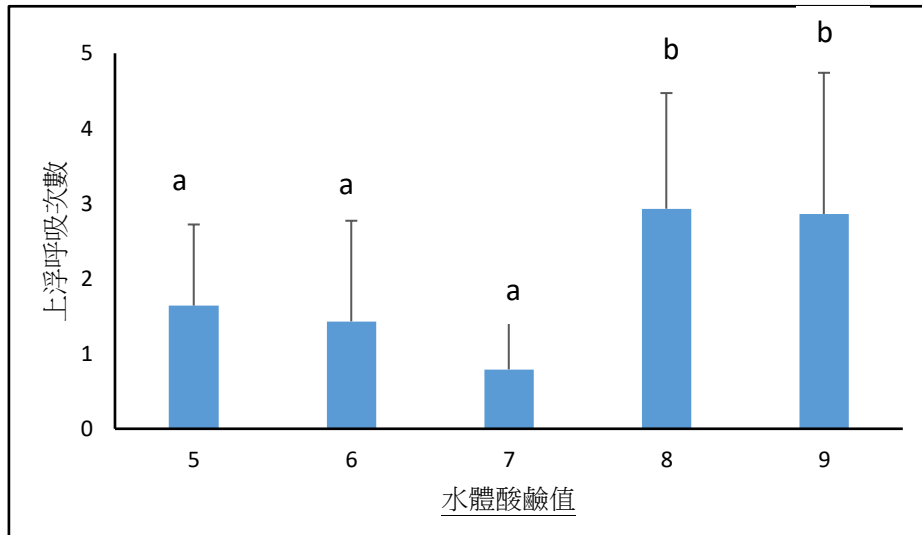
圖十一、莫氏樹蛙蝌蚪上浮呼吸次數

我們另外發現，在不同酸鹼水樣的處理之下，蝌蚪的上浮呼吸次數在不同組之間有顯著的差異(表五、圖十二)，其餘因子包括體長、體重以及發育期數則在組間沒有顯著差異。在 pH 5、pH 6、pH 7 之下蝌蚪的上浮呼吸次數，顯著低於在 pH 8、pH 9 的次數。過去研究顯示，蝌蚪的上浮呼吸行為會受到溫度、體型大小，以及發育期數的影響，且推測是與耗氧量有關(2017 苗栗縣科展作品)。本實驗結果發現蝌蚪在 pH 較高的組別會有較多的上浮呼吸次數，可能是在鹼性環境中的氧氣消耗比較高，因此增加上浮呼吸的次數。在 pH 7 的處理中，蝌蚪有最低的上浮呼吸次數，可能代表著蝌蚪在此時有最低的代謝消耗，推測對蝌蚪來說是合宜的酸鹼值。我們也發現，雖然在偏酸性的狀態下蝌蚪也增加上浮呼吸的次數，但增加量並不多，在統計上沒有顯著差異，暗示著當水體酸鹼值改變時，鹼性會比酸性更影響蝌蚪的代謝速率。

蝌蚪用鰓呼吸，為何仍需上浮呼吸呢？推測在水域微環境中，上層水與空氣接觸，溶氧較多，蝌蚪多停留在下層，會消耗氧氣，所以可見其上浮到水面。再加上將變態成蛙時，前腳腳芽出現後，鰓的功能漸弱，也需要進行上浮呼吸。

表五、不同酸鹼值處理之下，蝌蚪的體長、體重、發育期數、以及上浮呼吸次數。結果顯示蝌蚪的上浮呼吸次數在不同酸鹼值得處理下有顯著差異。

	酸鹼值分組						ANOVA	
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	全部	F _{4,65}	p
體長(cm)	3.62±0.23	3.63±0.18	3.55±0.20	3.74±0.19	3.63±0.16	3.64±0.19	1.94	0.114
體重(g)	0.44±0.09	0.45±0.05	0.42±0.05	0.49±0.10	0.40±0.05	0.40±0.07	2.05	0.073
發育期數	28.86±1.23	1.23±1.27	28.50±1.16	29.29±1.07	29.00±1.24	28.91±1.19	0.78	0.540
上浮呼吸次數	1.64±1.08	1.43±1.34	0.79±0.80	2.93±1.54	2.86±1.88	1.93±1.58	6.44	<0.001



圖十二、不同酸鹼值之組別蝌蚪的上浮呼吸次數。

(六)結論

這個實驗結果發現，蝌蚪在中性環境時上浮次數最少，代表有最低的代謝消耗。當水體酸鹼值改變時，尤其是偏鹼的狀態之下，會明顯的增加上浮呼吸的次數。這可能是當酸鹼值改變時，蝌蚪提高其代謝以及能量消耗來維持其生理機能，因此在比較耗能的狀態之下也提高耗氧量，因此增加上浮呼吸來增加氧氣的攝取。

研究三、酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪活動力的影響

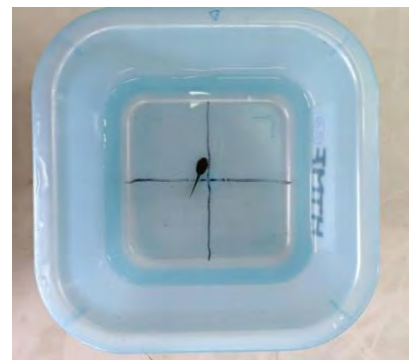
(一)研究目的： 探討在不同酸鹼度之中的水體中，蝌蚪的活動力是否會受到影響？

(二)提出疑問： 不同酸鹼值的水質會影響蝌蚪活動力嗎？

(三)提出假設： 莫氏樹蛙蝌蚪常在水裡靜止不動，當水體酸鹼值偏離中性愈遠，我們預期蝌蚪會因為不合適的酸鹼值而焦躁地增加移動次數代謝，也就是在比較酸或比較鹼的實驗處理之中，蝌蚪會有較高的移動次數。

(四)研究方法設計

1. 將五個不透明的小水盆底部(長寬各 10cm)畫分成 4 個象限，加入水到水位高 2 公分，用硫酸溶液 (約 pH 2.6)及飽和 NaOH 溶液 (約 pH 12.8)調節溶液酸鹼度為 pH5, 6, 7, 8, 9 (圖十三)。
2. 將蝌蚪放入水盆中，等待 5 分鐘的安定期之後，記



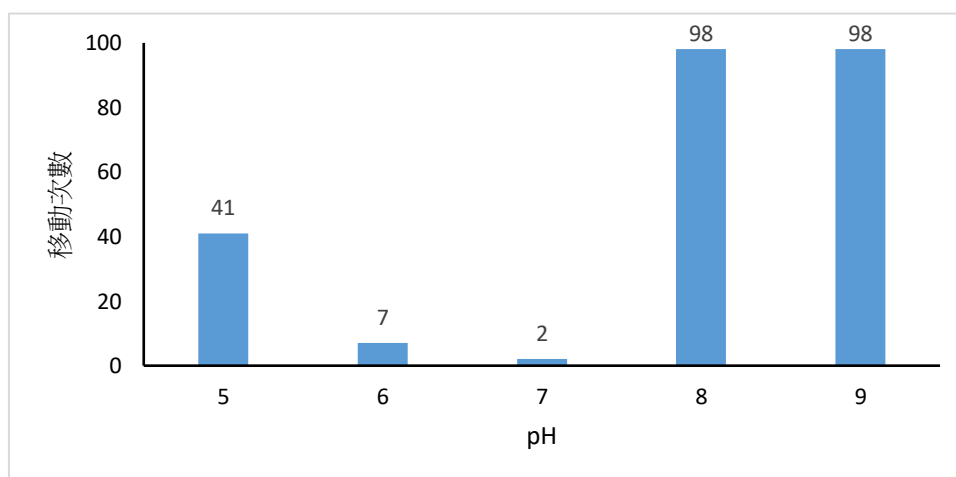
圖十三、蝌蚪被放入裝有不同酸鹼值水體的不透明水盆中，記錄在 10 分鐘之內通過十字線的次數。

錄蝌蚪在 10 分鐘之內通過十字線的次數，每次移動有通過直線一次則記錄為移動一次。

(五)結果分析和討論

我們共觀察了 5 隻蝌蚪在不同酸鹼值之下的移動次數，結果與預期相符。在 pH 8 及 pH 9 處理下的蝌蚪相當焦躁，在十分鐘內各移動了 98 次之多；pH 5 組則移動了 41 次；接近中性的 pH 6 及 pH 7 組中，蝌蚪移動次數最少，分別為 7 次及 2 次，表現相當安定(圖十四)。

本研究中，蝌蚪在中性水體的表現最為安定，與自然狀況下的行為類似，大部分時間安靜地待在水體底部。但在水體酸鹼值偏離中性時，蝌蚪移動次數增加得相當明顯，尤其是偏向鹼性時。在偏離中性的水中其移動次數增加，可能是為了要尋找合適的水體酸鹼值位置。在封閉水體中，蝌蚪的活動範圍受到侷限，偏酸或偏鹼的環境使蝌蚪移動次數增加，而耗費了大量能量，仍無法脫離不適宜酸鹼值的水體。



圖十四、不同酸鹼值之下莫氏樹蛙蝌蚪的移動次數。

(六)結論

這個實驗結果發現，蝌蚪在偏離中性環境中的移動次數會增加，這可能會增加蝌蚪的能量消耗，最終對蝌蚪產生不良的影響。

研究四、蝌蚪酸鹼值偏好選擇實驗

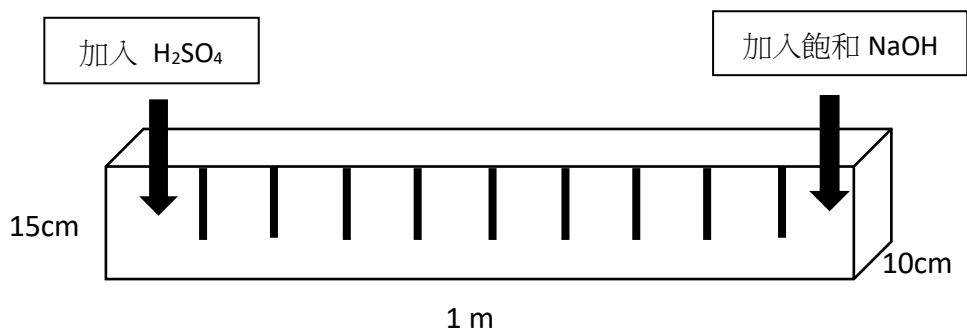
(一)研究目的：為了瞭解莫氏樹蛙蝌蚪偏好的酸鹼值，我們設計了可供蝌蚪自由選擇的水槽，並創造不同酸鹼值梯度供蝌蚪選擇。即使野外的自然狀態下蝌蚪可能沒有選擇水體酸鹼值的機會，但透過蝌蚪酸鹼值偏好的實驗，可以讓我們推測最適合蝌蚪生存的水體酸鹼值。

(二)提出疑問：使用酸鹼值梯度之水槽來檢視蝌蚪對水中酸鹼值的偏好選擇有差異嗎？

(三)提出假設：推測蝌蚪會偏好中性的水體。

(四)研究方法設計：在酸鹼度選擇槽中，裝入曝氣後的自來水使水位到達 3 公分，高於隔板之間的空隙，在兩端分別以硫酸溶液 (約 pH 2.6)及飽和 NaOH 溶液 (約 pH 12.8)以每兩秒 1 滴的速率滴入水槽，約 10 分鐘之後會得到穩定的酸鹼度梯度。

1. 以將格子依序編號，並在實驗開始前以及實驗完成之後，量取每一間格的酸鹼值，寫在記錄表中。



圖十三、蝌蚪酸鹼度選擇水槽示意圖

2. 實驗開始時，在水槽中央放置 5 隻蝌蚪，並以隔板限制蝌蚪在中央 1 分鐘使其安定。
3. 蝌蚪若還在躁動狀態(毫無間斷持續不停的遊動)則再繼續限制蝌蚪 1 分鐘。若蝌蚪有靜止休息，即使繼續游動也是游游停停，即可將隔板輕輕一開。
4. 將隔板輕輕移開避免干擾到蝌蚪，使蝌蚪可以自由在酸鹼梯度選擇槽中自由游動，每 1 分鐘記錄每個格子的蝌蚪數量，實驗進行 10 分鐘並取得 10 次蝌蚪分布資料。
5. 實驗結束後將蝌蚪釋放回另一個飼養箱，與尚未進行實驗的蝌蚪區隔開。
6. 再一次測量每一個格子中的酸鹼值，若與實驗開始所量的酸鹼值差距小於 1 個 pH 值，則歸類為有效樣本，並以事前事後兩次平均量取為準。若同一間格的酸鹼值變化超過 1 個 pH 值的變化，則認定實驗失敗。
7. 分析每隻蝌蚪選擇最多次格子的酸鹼值，記錄為**偏好酸鹼值**。並將蝌蚪有選擇的最低值以及最高值定義為**活動酸鹼範圍**。

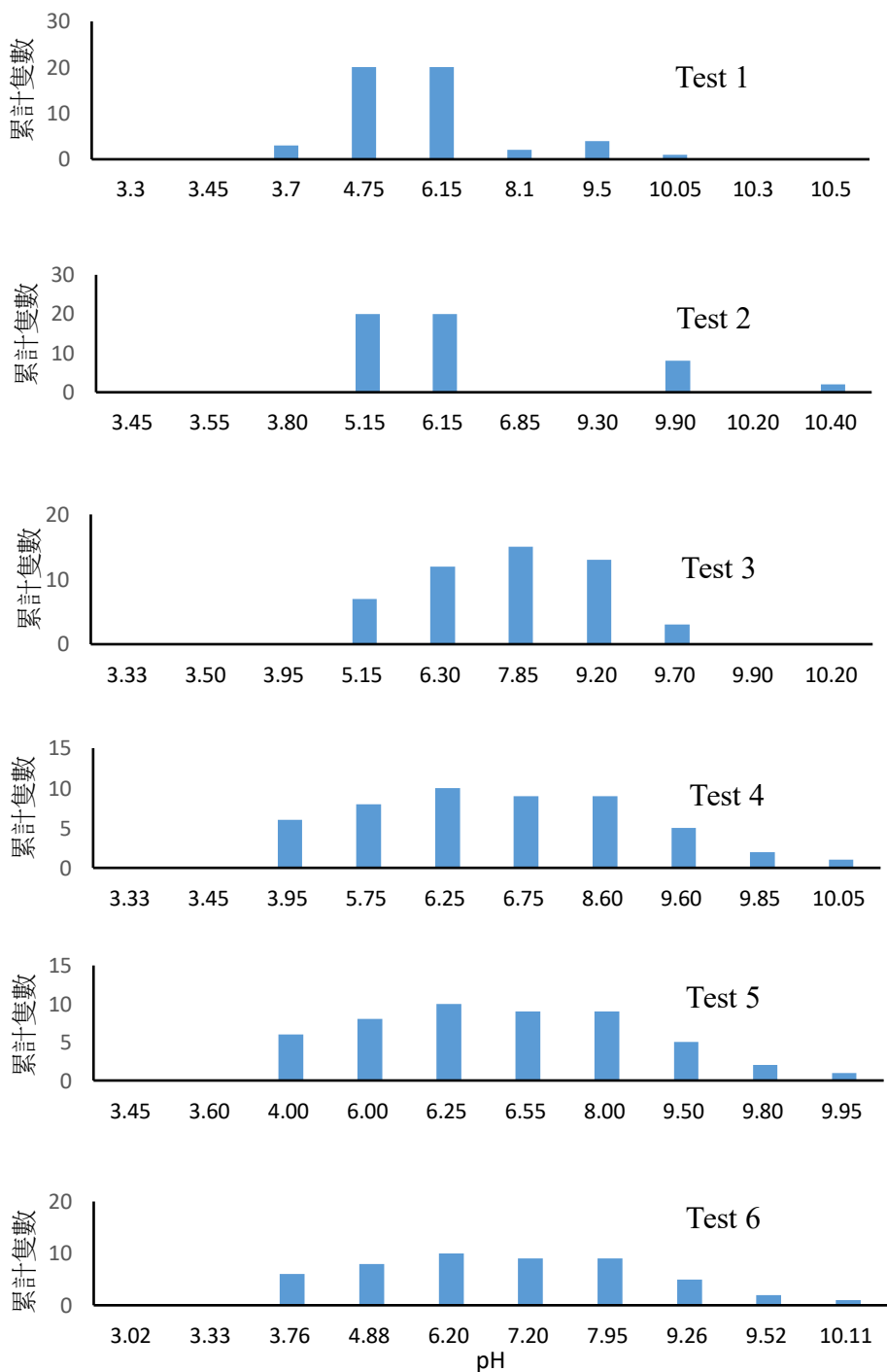
(五)研究結果與討論

在 6 次的蝌蚪酸鹼值偏好選擇實驗中，累計最多蝌蚪停留的酸鹼值分別是 pH 4.75, pH 6.15, pH 7.85, pH 6.25, pH 6.25, pH 6.20，六次平均是 pH 6.24±0.73。蝌蚪停留地點酸鹼值最低

是 pH 3.7，最高是 pH 10.4，顯示蝌蚪可以在很大範圍的活動酸鹼範圍之中活動，但是並不會停留太久。

(六)結論

結果顯示莫氏樹蛙蝌蚪具有相當大的酸鹼活動範圍，且似乎偏好酸鹼值較為中性的水體。即使野外自然狀態下鮮少有讓蝌蚪選擇水體酸鹼值的機會，但這種偏好選擇的結果暗示著在中性酸鹼值之下，莫氏樹蛙蝌蚪可能會有較佳的生存表現。



圖十四、莫氏樹蛙蝌蚪對水體酸鹼值的偏好選擇

研究五、不同酸鹼值對蝌蚪成長、發育、變態特徵的影響

(一)研究目的:探討不同酸鹼水值對蝌蚪成長發育及變態特徵的影響

(二)提出疑問:不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵是否有差異?

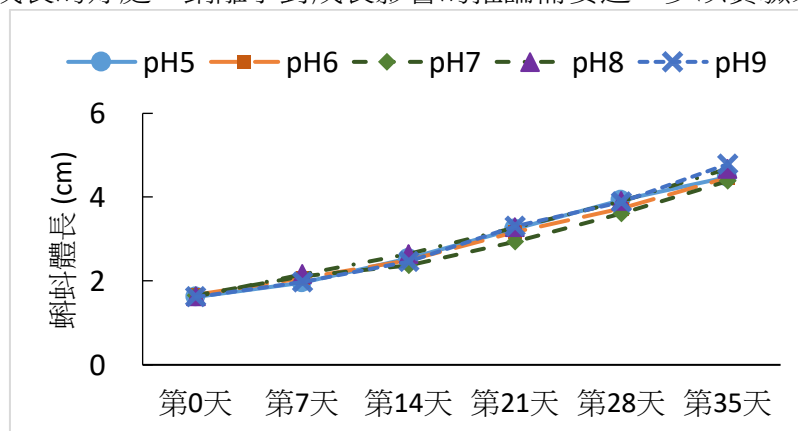
(三)提出假設: 在不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵不同。

(四)研究方法設計

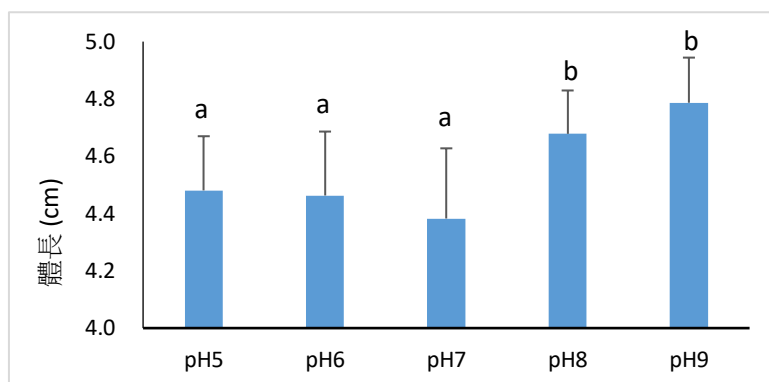
1. 實驗分組：分成酸化(pH5)、微酸化(pH 6)、中性(pH 7)、微鹼化(pH 8)、鹼化(pH 9)這五組，探討不同程度酸化的影響。
2. 飼養用溶液的配製：根據文獻上進行酸鹼度實驗的標準方法(Pierce & Wooten, 1992)，將儲備用培養原液以逆滲透水稀釋 1000 倍，提供蝌蚪滲透調節所需的離子，再用硫酸溶液 (約 pH 2.6)或飽和 NaOH 溶液 (約 pH 12.8)調整各組酸鹼度。
3. 動物採集與準備：我們在野外採集莫氏樹蛙的卵泡，在裝有 3 公分水位高的飼養箱中等蝌蚪孵化，待蝌蚪孵化 3 天後，腹部殘餘卵黃消失且已經會自己覓食之後，隨機將蝌蚪分成五組，每組取 12 隻開始實驗。
4. 蝌蚪體長測量：在實驗開始先將每隻蝌蚪放在有比例尺的培養皿中拍照以記錄體長，之後每週定期測量一次體長、體重以及發育期數的變化，直到蝌蚪開始進入變態階段。

(五)實驗結果與討論

從實驗結果來看，各組起始的體型並沒有顯著差異(ANOVA test, $F_{4,52}=0.86$, $p=0.497$)，飼養在不同酸鹼值之下的莫氏樹蛙蝌蚪的體長皆穩定地增加(圖十五)，但比較最最後一天組間的體長發現組間有顯著的差異(ANOVA test, $F_{4,52}=8.21$, $p=0.003$)。進一步以 Tukey HSD test 進行組間比較，發現飼養在 pH 8 以及 pH 9 兩組的蝌蚪的體長顯著比 pH 5、H 6、pH 7 這三組的體長還要大(圖十六)。結果無法支持我們的預期，推測實驗設計所處理的水體酸鹼值都是在蝌蚪的忍受範圍內，因此對成長沒有負面影響。而在偏鹼性處理之中蝌蚪體型比較大，我們討論後推測可能是水中的鈉離子比較充足，而鈉離子是維持體內滲透壓調節的重要離子，或許有提升體型成長的好處，鈉離子對成長影響的推論需要進一步以實驗來證實。

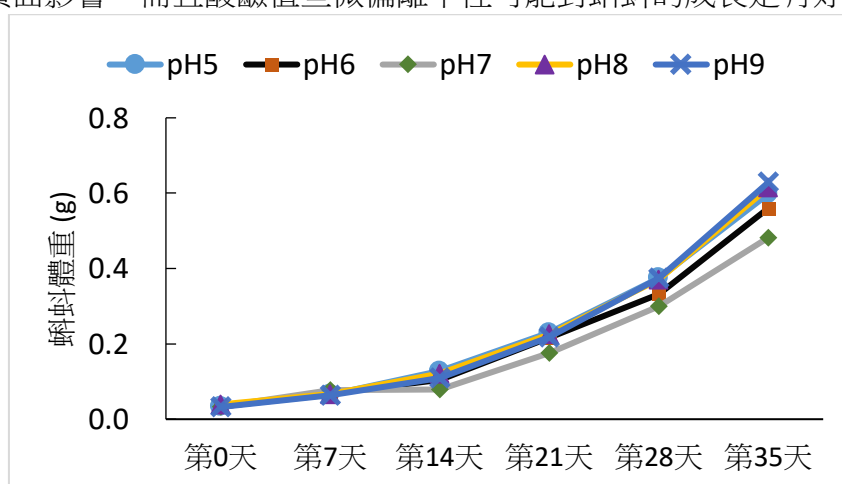


圖十五:蝌蚪體長天數觀察表

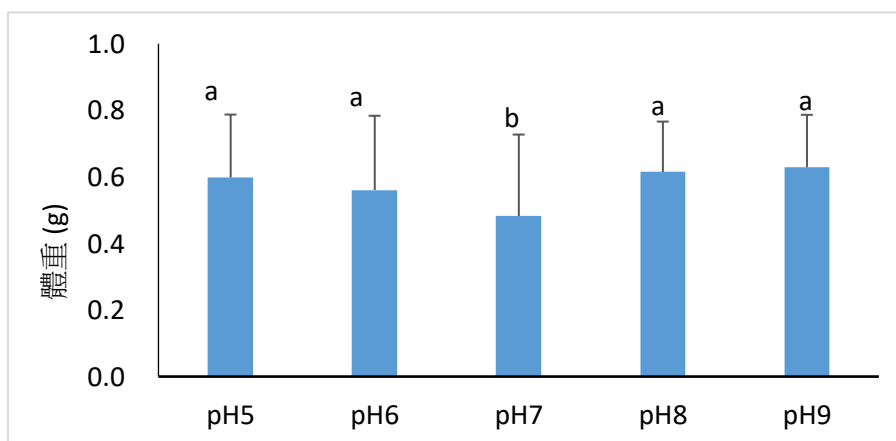


圖十六、第 35 天蝌蚪的體長

體重的結果與體長類似，各組的起始值並沒有顯著差異(ANOVA test, $F_{4,52}=1.41$, $p=0.243$)(圖十七)，但飼養在不同酸鹼值的蝌蚪在第 35 天的體重有組間的差異(ANOVA test, $F_{4,52}=9.94$, $p<0.001$)(圖十八)，顯示酸鹼值對體重的成長具有顯著的影響。以 Tukey HSD test 進一步比較，發現在 pH 7 的組別體重顯著比其他各組來的輕。這結果無法支持我們的預期，甚至與我們的預期相反。原本我們認為飼養在中性環境中的蝌蚪會有較好的成長表現，也就是預期在 pH 7 的蝌蚪會是最大隻的，但顯然地結果並非如此。我們推測實驗的酸鹼值範圍尚不會對蝌蚪有負面影響，而且酸鹼值些微偏離中性可能對蝌蚪的成長是有好處的。

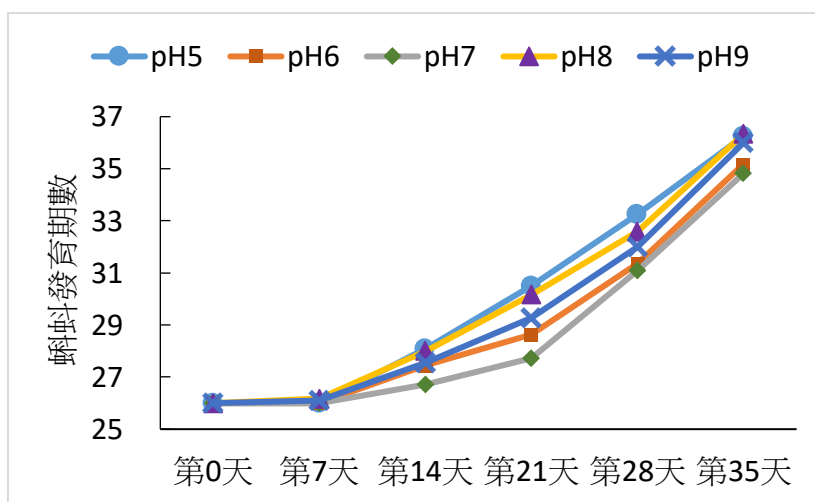


圖十七、蝌蚪體重天數觀察表

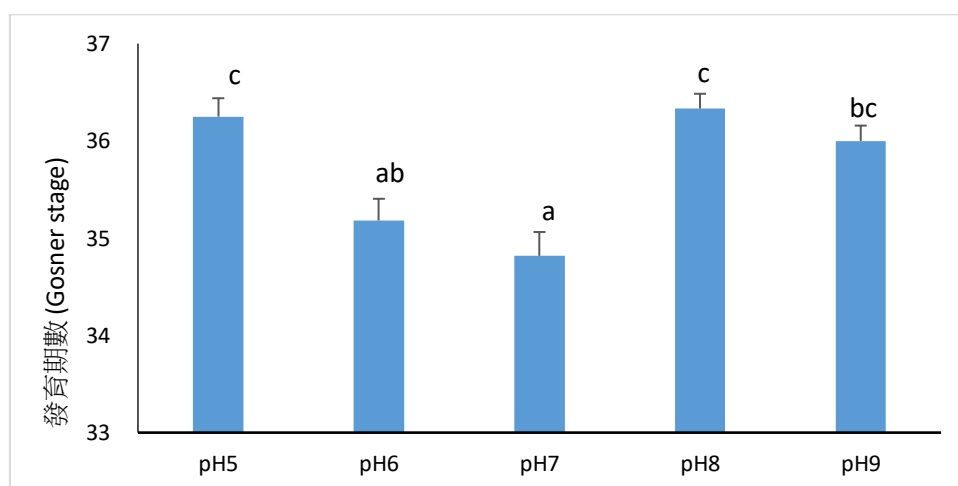


圖十八、第 35 天蝌蚪的體重

最後，比較各組織間蝌蚪的發育期數，起始值在各組之間也是沒有顯著的差異(全部都是 Gosner 26 期)(圖十九)，但在飼養到第 35 天時，各組織間的發育期數有顯著的組間差異 (ANOVA test, $F_{4,52}=98.98$, $p<0.001$)(圖二十)，顯示水體的酸鹼值對蝌蚪的發育也具有影響。依 Tukey HSD test 進行事後比較，發現飼養在 pH 6 以及 pH 7 兩組的蝌蚪的發育顯著較其他組別慢，尤其是 pH 7 那一組的蝌蚪發育特別緩慢。這結果亦無法支持我們原本認為在中性水體中會有最佳表現的預期，推測是實驗所設置的酸鹼值範圍並不會對蝌蚪有負面影響，而在酸鹼值些微偏離中性的環境中蝌蚪會有較佳的表現。



圖十九、蝌蚪體重天數觀察表

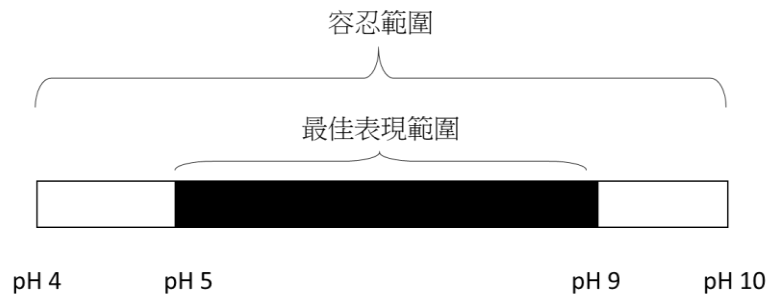


圖二十、第 35 天蝌蚪的發育期數

(六)結論

在不同酸鹼值處理下的蝌蚪，其成長發育的體長、體重以及發育期數皆在酸鹼值些微偏離中性時有最佳的表現。此結果顯示在酸鹼度 pH 5-pH 9 之間，應該都是在蝌蚪的耐受範圍之中，蝌蚪皆可以表現出正常的成長及發育，這也與我們在野外發現莫氏樹蛙可以利用 pH 5- pH 9 之間的水體有一致的發現。

柒、討論



圖二十一、莫氏樹蛙蝌蚪的酸鹼值容受範圍及最佳表現範圍

- 一、從實驗的結果來推測，莫氏樹蛙蝌蚪的酸鹼值容忍耐受範圍相當廣，在野外可利用 pH 4~10 之間的水體，在實驗室選擇實驗會避開 pH 3 以及 pH 11，野外及實驗室的結果顯示其容忍範圍就在 pH 4~10 之間，有利於動物利用自然狀態中有限的水體數量，充分利用作為繁殖場所。
- 二、從研究二觀察蝌蚪行為上來看，蝌蚪在有提供選擇的狀態之下會偏好酸鹼度比較中性的水體；而在研究三發現蝌蚪待在中性的水中是比較安定的；最後在實驗五的結果顯示 pH 5~9 之間蝌蚪仍可以維持最佳的成長及發育表現，因此推測 pH 5~9 即是莫氏樹蛙蝌蚪的最佳表現範圍。
- 三、從研究二及研究三的蝌蚪行為及研究五成長發育的結果來看，偏離中性的水體或許會增加代謝率，並增加能量消耗，但長遠之下對成長以及發育的影響並不是很明顯。
- 四、在研究五在成長發育上觀察測量發現，飼養在 pH 5~9 之間不同酸鹼值水體中的蝌蚪並不會造成負面的影響，顯示蝌蚪具有一定的能力來克服酸鹼的影響。
- 五、在實驗過程發現，封閉性水體雖然會有酸化的問題，但同時我們也發現許多水體因為優養化使水體的酸鹼度提高，在封閉水體中生活的水中生物面臨的優養化問題可能是更迫切的問題。
- 六、實驗一在野外發現優養化會使水質變鹼，且推測會大量消耗水中溶氧，影響水中動物的呼吸。除此之外，優養化孳生大量藻類，壓迫了封閉水體中動物的活動空間，影響覓食或躲避等生活所需的活動範圍，是未來值得探討的問題。

捌、結論

酸鹼值是水生動植物所需面對的重要課題，尤其是在封閉式水體之中，水體的條件一旦惡化，對水中生物像是蝌蚪來說無疑是幾乎無處可逃。本研究以水體酸化為主題，設計了四個不同的實驗，有系統地探討野外水體酸鹼變化以及蝌蚪的酸鹼偏好，另外以水質酸鹼值進行對蝌蚪上浮呼吸以及對成長發育的影響，更從實驗結果推估出莫氏樹蛙蝌蚪對酸鹼值的容忍範圍以及最佳表現範圍。研究結果可以回答莫氏樹蛙蝌蚪偏好、生理表現、成長發育等諸多酸鹼影響的問題，並給予動物保育管理上的參考。

玖、參考文獻

- Beebee, T. J., & Griffiths, R. A. (2005). The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? *Biological Conservation*, 125(3), 271-285.
- Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., & Alscher, A. (2013a). Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline? *Scientific reports*, 3, Article number: 1135.
- Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., & Alscher, A. (2013b). Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline? *Scientific Reports*, 3.
- Dunson, W. A., Wyman, R. L., & Corbett, E. S. (1992). A symposium on amphibian declines and habitat acidification. *Journal of herpetology*, 26, 349-352.
- Hof, C., Araújo, M. B., Jetz, W., & Rahbek, C. (2011). Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. *Nature*, 480(7378), 516-519.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T. M., Butchart, S. H., . . . Cox, N. A. (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *science*, 330(6010), 1503-1509.
- Olson, D. H., Anderson, P. D., Frissell, C. A., Welsh, H. H., & Bradford, D. F. (2007). Biodiversity management approaches for stream-riparian areas: perspectives for Pacific Northwest headwater forests, microclimates, and amphibians. *Forest Ecology and management*, 246(1), 81-107.
- Paton, P. W., & Crouch, W. B. (2002). Using the Phenology of Pond-Breeding Amphibians to Develop Conservation Strategies. *Conservation Biology*, 16(1), 194-204.
- Pierce, B. A. (1985). Acid tolerance in amphibians. *BioScience*, 35(4), 239-243.
- Pierce, B. A., & Wooten, D. K. (1992). Acid tolerance of *Ambystoma texanum* from central Texas. *Journal of herpetology*, 26(2), 230-232.
- Scheffers, B. R., Edwards, D. P., Diesmos, A., Williams, S. E., & Evans, T. A. (2014). Microhabitats reduce animal's exposure to climate extremes. *global change biology*, 20(2), 495-503.
- Viertel, B. (1999). Salt tolerance of *Rana temporaria*: spawning site selection and survival during embryonic development (Amphibia, Anura). *Amphibia-Reptilia*, 20(2), 161-171.
- Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11466-11473.
- Wells, K. D. (2007). *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago and London: University of Chicago Press.
- Whiles, M. R., Hall, R., Dodds, W. K., Verburg, P., Huryn, A. D., Pringle, C. M., . . . Rugenski, A. T. (2013). Disease-driven amphibian declines alter ecosystem processes in a tropical stream. *Ecosystems*, 16(1), 146-157.
- 向高世, 李鵬翔, & 楊懿如. (2009). *台灣兩棲爬行類圖鑑*. 台北: 貓頭鷹出版社.
- 李季眉, 張怡塘, & 邱應志. (2012). *環境微生物*. 中華民國環境工程學會.
- 楊育昌, & 陳俊宏. (1996). 酸性對陽明山拉都希氏赤蛙蝌蚪的影響. *內政部營建署陽明山國家公園管理處計畫報告書*.
- 蔡大偉, & 陳鴻烈. (2006). 德基水庫優養水質因子之研究.

附錄一、實驗二蝌蚪上浮呼吸次數之原始記錄，包含測試時的水溫、蝌蚪體長、體重、發育期數，以及在不同水體酸鹼值之下 15 分鐘內的上浮呼吸次數。

編號	水溫(°C)	體長(cm)	體重(g)	發育期數	水體酸鹼值	15 分鐘上浮呼吸次數
RMT-01	17.3	3.628	0.46	29	5	1
RMT-02	17.3	3.385	0.403	29	6	4
RMT-03	17.3	3.058	0.3831	27	7	0
RMT-04	17.3	3.628	0.412	28	8	3
RMT-05	17.3	3.501	0.426	30	9	3
RMT-06	17.3	3.812	0.672	30	5	1
RMT-07	17.3	3.78	0.438	30	6	1
RMT-08	17.3	3.602	0.4	28	7	0
RMT-09	17.3	3.642	0.403	29	8	3
RMT-10	17.3	3.549	0.383	28	9	3
RMT-11	17.3	3.366	0.337	27	5	3
RMT-12	17.3	3.585	0.529	27	6	1
RMT-13	17.3	3.397	0.399	28	7	1
RMT-14	17.3	3.567	0.434	29	8	4
RMT-15	17.3	3.979	0.424	31	9	1
RMT-16	17.1	3.637	0.458	30	5	1
RMT-17	17.1	3.566	0.495	28	6	0
RMT-18	17.1	3.756	0.503	28	7	0
RMT-19	17.1	3.733	0.665	30	8	0
RMT-20	17.1	3.591	0.383	28	9	0
RMT-21	17.1	3.868	0.484	28	5	1
RMT-22	17.1	3.675	0.454	29	6	2
RMT-23	17.1	3.65	0.5	29	7	2
RMT-24	17.1	4.095	0.566	31	8	2
RMT-25	17.1	3.518	0.353	28	9	1
RMT-26	17.1	3.406	0.408	28	5	1
RMT-27	17.1	3.421	0.411	27	6	4
RMT-28	17.1	3.522	0.425	28	7	2
RMT-29	17.1	4.032	0.543	30	8	2
RMT-30	17.1	3.503	0.419	30	9	2
RMT-31	17.1	3.585	0.433	29	5	3
RMT-32	17.1	3.859	0.503	31	6	1
RMT-33	17.1	3.463	0.377	30	7	1
RMT-34	17.1	3.667	0.357	28	8	4
RMT-35	17.1	3.59	0.42	30	9	2
RMT-36	17.1	3.832	0.471	30	5	2

RMT-37	17.1	3.923	0.492	30	6	1
RMT-38	17.1	3.506	0.395	28	7	0
RMT-39	17.1	3.816	0.589	30	8	1
RMT-40	17.1	3.673	0.427	28	9	5
RMT-41	17.9	4.083	0.529	29	5	0
RMT-42	17.9	3.53	0.416	28	6	3
RMT-43	17.9	3.533	0.399	27	7	2
RMT-44	17.9	3.827	0.507	31	8	5
RMT-45	17.9	3.648	0.427	29	9	3
RMT-46	17.9	3.733	0.469	30	5	2
RMT-47	17.9	3.868	0.473	30	6	1
RMT-48	17.9	3.416	0.391	28	7	1
RMT-49	17.9	3.725	0.485	30	8	5
RMT-50	17.9	3.394	0.299	27	9	7
RMT-51	17.9	3.385	0.358	28	5	0
RMT-52	17.9	3.696	0.47	30	6	1
RMT-53	17.9	3.427	0.347	28	7	0
RMT-54	17.9	3.736	0.431	29	8	2
RMT-55	17.9	3.821	0.447	29	9	5
RMT-56	17.7	3.617	0.437	31	5	2
RMT-57	17.7	3.478	0.352	30	6	1
RMT-58	17.7	3.799	0.456	30	7	1
RMT-59	17.7	3.405	0.351	29	8	5
RMT-60	17.7	3.682	0.37	29	9	4
RMT-61	17.7	3.294	0.366	28	5	3
RMT-62	17.7	3.577	0.429	28	6	0
RMT-63	17.7	3.837	0.435	31	7	1
RMT-64	17.7	3.959	0.461	28	8	3
RMT-65	17.7	3.551	0.381	28	9	2
RMT-66	17.7	3.468	0.332	27	5	3
RMT-67	17.7	3.455	0.397	28	6	0
RMT-68	17.7	3.704	0.45	29	7	0
RMT-69	17.7	3.633	0.434	28	8	2
RMT-70	17.7	3.886	0.484	31	9	2

附錄二、蝌蚪酸鹼值選擇結果

Test 1 中蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.1	3.2	3.5	4.9	6.1	8.5	9.8	10.2	10.4	10.6
測試後 pH	3.5	3.7	3.9	4.6	6.2	7.7	9.2	9.9	10.2	10.4
平均 pH	3.3	3.45	3.7	4.75	6.15	8.1	9.5	10.05	10.3	10.5
1 min				3	1			1		
2 min					4		1			
3 min			1	2	1	1				
4 min				1	4					
5 min				4	1					
6 min				3	2					
7 min			1	2	2					
8 min			1	1	2		1			
9 min				1	3		1			
10 min				3		1	1			
勝利次數				5.5	4.5					
累計隻次	0	0	3	20	20	2	4	1	0	0

Test 2_小蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.5	3.7	3.9	4.9	6.2	6.7	9.2	9.9	10.2	10.4
測試後 pH	3.4	3.4	3.7	5.4	6.1	7	9.4	9.9	10.2	10.4
平均 pH	3.45	3.55	3.8	5.15	6.15	6.85	9.3	9.9	10.2	10.4
1 min				2	2			1		
2 min				2	2			1		
3 min				2	2			1		
4 min				2	2			1		
5 min				2	2			1		
6 min				2	2			1		
7 min				2	2			1		
8 min				2	2			1		
9 min				2	2					1
10 min				2	2					1
勝利次數				5	5					
累計隻次	0	0	0	20	20	0	0	8	0	2

Test 3 中蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.4	3.59	4	4.5	6.3	8.7	9.4	9.8	9.9	10.3
測試後 pH	3.25	3.4	3.9	5.8	6.3	7	9	9.6	9.9	10.1
平均 pH	3.325	3.495	3.95	5.15	6.3	7.85	9.2	9.7	9.9	10.2
1 min				1	2	1		1		
2 min				1	2		2			
3 min				1	2	1	1			
4 min				1	2		2			
5 min				2		1	1	1		
6 min					1	2	1	1		
7 min					1	2	2			
8 min					2	2	1			
9 min				1		3	1			
10 min						3	2			
勝利次數				1	3.5	4	1.5			
累計隻次	0	0	0	7	12	15	13	3	0	0

Test 4 中蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.25	3.4	3.9	5.8	6.3	7	9	9.6	9.9	10.1
測試後 pH	3.4	3.5	4	5.7	6.2	6.5	8.2	9.6	9.8	10
平均 pH	3.325	3.45	3.95	5.75	6.25	6.75	8.6	9.6	9.85	10.05
1 min			2		2					1
2 min			1		2	2				
3 min				2	1	1	1			
4 min				2	2	1				
5 min			1	1	1	1			1	
6 min			2	1		1	1			
7 min				1	1	2	1			
8 min				1		1		3		
9 min							2	2	1	
10 min					1		4			
勝利次數			1.7	1.7	1.7	1.7	1.5	1.5	0.2	
累計隻次	0	0	6	8	10	9	9	5	2	1

Test 5 中蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.4	3.5	4	5.7	6.2	6.5	8.2	9.6	9.8	10
測試後 pH	3.5	3.7	4	6.3	6.3	6.6	7.8	9.4	9.8	9.9
平均 pH	3.45	3.6	4	6	6.25	6.55	8	9.5	9.8	9.95
1 min			2		2					1
2 min			1		2	2				
3 min				2	1	1	1			
4 min				2	2	1				
5 min			1	1	1	1			1	
6 min			2	1		1	1			
7 min				1	1	2	1			
8 min				1		1		3		
9 min							2	2	1	
10 min					1		4			
勝利次數			1.7	1.7	1.7	1.7	1.5	1.5	0.2	
累計隻次	0	0	6	8	10	9	9	5	2	1

2018/3/4

Test 6_大蝌蚪	格子 1	格子 2	格子 3	格子 4	格子 5	格子 6	格子 7	格子 8	格子 9	格子 10
測試前 pH	3.14	3.26	3.62	5.06	6.2	6.7	7.6	9.21	9.44	9.72
測試後 pH	2.9	3.4	3.9	4.7	6.2	7.7	8.3	9.3	9.6	10.5
平均 pH	3.02	3.33	3.76	4.88	6.20	7.20	7.95	9.26	9.52	10.11
1 min			2		2					1
2 min			1		2	2				
3 min				2	1	1	1			
4 min				2	2	1				
5 min			1	1	1	1			1	
6 min			2	1		1	1			
7 min				1	1	2	1			
8 min				1		1		3		
9 min							2	2	1	
10 min					1		4			
累計隻次	0	0	6	8	10	9	9	5	2	1

附錄三、蝌蚪的體長變化

體長 編號	第 0 天 2018/2/5	第 7 天 2018/2/12	第 14 天 2018/2/19	第 21 天 2018/2/26	第 28 天 2018/3/5	第 35 天 2018/3/12
pH5-01	1.561	1.644	2.23	2.865	4.01	3.984
pH5-02	1.615	1.956	2.668	3.196	3.976	4.688
pH5-03	1.711	2.011	2.65	3.315	3.947	4.682
pH5-04	1.567	1.991	2.464	3.034	3.882	4.515
pH5-05	1.515	2.018	2.403	3.065	3.815	4.399
pH5-06	1.629	1.967	2.516	3.174	3.689	4.544
pH5-07	1.763	2.046	2.741	3.597	4.245	4.643
pH5-08	1.536	1.913	2.468	3.154	3.747	4.556
pH5-09	1.751	2.01	2.467	3.32	3.901	4.393
pH5-10	1.621	2.034	2.584	3.489	4.123	4.393
pH5-11	1.651	1.928	2.617	3.394	3.854	4.528
pH5-12	1.513	1.918	2.656	3.302	3.901	4.443
pH6-01	1.63	2.066	2.416	3.315	3.813	4.466
pH6-02	1.589	1.814	2.354	3.137	3.747	4.549
pH6-03	1.617	2.113	2.639	3.227	3.635	4.503
pH6-04	1.739	2.071	2.537	3.136	3.875	4.699
pH6-05	1.666	2.101	2.478	3.149	3.693	4.382
pH6-06	1.693	2.119	2.419	3.159	3.819	4.485
pH6-07	1.736	2.139	2.613	3.098	3.632	4.565
pH6-08	1.706	2.197	2.498	3.034	3.483	4.08
pH6-09	1.62	2.019	2.437	3.36	4.092	4.801
pH6-11	1.718	1.97	2.472	3.001	3.622	4.07
pH6-12	1.672	2.099	2.513	3.171	3.709	4.491
pH7-02	1.696	2.135	2.309	2.922	3.623	4.382
pH7-03	1.623	2.053	2.375	2.653	3.48	4.322
pH7-04	1.74	2.039	2.337	2.997	3.414	4.068
pH7-05	1.667	2.149	2.372	2.963	3.42	4.065
pH7-06	1.693	2.107	2.367	2.918	3.553	4.394
pH7-07	1.612	2.074	2.316	2.978	3.696	4.231
pH7-08	1.682	2.249	2.363	2.947	3.633	4.287
pH7-09	1.691	2.163	2.47	3.026	3.697	4.569
pH7-10	1.664	2.17	2.298	2.851	3.416	4.63
pH7-11	1.769	2.151	2.463	2.908	3.778	4.36
pH7-12	1.429	1.907	2.357	3.077	4.048	4.9
pH8-01	1.648	1.888	2.524	3.049	3.727	4.641
pH8-02	1.641	2.046	2.522	2.974	3.51	4.475
pH8-03	1.691	2.192	2.668	3.434	4.139	4.841
pH8-04	1.688	2.345	2.666	3.238	3.962	4.572
pH8-05	1.688	2.202	2.717	3.365	3.843	4.659
pH8-06	1.398	2.039	2.72	3.218	3.802	4.532
pH8-07	1.675	2.186	2.498	3.284	3.957	4.757
pH8-08	1.701	2.289	2.741	3.394	4.08	5.035
pH8-09	1.67	2.262	2.853	3.426	4.11	4.747
pH8-10	1.526	2.054	2.659	3.264	3.902	4.66

pH8-11	1.614	2.184	2.535	3.23	3.918	4.578
pH8-12	1.603	2.241	2.627	3.425	3.862	4.639
pH9-01	1.662	2.111	2.463	3.36	3.778	4.899
pH9-02	1.582	1.923	2.384	3.098	3.601	4.63
pH9-03	1.379	1.758	2.49	3.341	3.964	4.919
pH9-04	1.766	2.118	2.56	3.438	4.048	4.754
pH9-05	1.603	1.541	2.11	3.009	3.713	4.582
pH9-06	1.444	1.871	2.444	3.329	3.842	4.889
pH9-07	1.674	2.144	2.476	3.369	4.054	4.744
pH9-08	1.691	2.087	2.536	3.28	3.853	4.881
pH9-09	1.699	2.192	2.554	3.487	4.102	5.023
pH9-10	1.696	1.985	2.455	3.333	3.896	4.815
pH9-12	1.617	1.985	2.565	3.333	3.842	4.517

附錄四、蝌蚪的體重變化

體重 編號	第 0 天 2018/2/5	第 7 天 2018/2/12	第 14 天 2018/2/19	第 21 天 2018/2/26	第 28 天 2018/3/5	第 35 天 2018/3/12
pH5-01	0.0345	0.0546	0.1069	0.1982	0.3821	0.6038
pH5-02	0.0347	0.0762	0.1205	0.2091	0.3782	0.6218
pH5-03	0.0332	0.065	0.1248	0.2136	0.3524	0.5792
pH5-04	0.0456	0.0609	0.1225	0.2777	0.3892	0.6009
pH5-05	0.0331	0.0636	0.1186	0.2003	0.352	0.5329
pH5-06	0.036	0.0601	0.1343	0.2066	0.3613	0.659
pH5-07	0.0341	0.0704	0.1428	0.2853	0.4144	0.6444
pH5-08	0.0433	0.0859	0.1353	0.2246	0.3367	0.565
pH5-09	0.0317	0.0624	0.1088	0.218	0.3583	0.5966
pH5-10	0.0256	0.0615	0.1301	0.2449	0.4142	0.6078
pH5-11	0.0291	0.0751	0.1455	0.2452	0.413	0.6149
pH5-12	0.0269	0.0571	0.1388	0.2355	0.35	0.5508
pH6-01	0.0309	0.0712	0.1147	0.2414	0.3617	0.6134
pH6-02	0.0316	0.0527	0.0954	0.2241	0.3678	0.5815
pH6-03	0.0371	0.0736	0.1285	0.2479	0.3313	0.6151
pH6-04	0.0366	0.0685	0.0998	0.209	0.3275	0.554
pH6-05	0.0365	0.0706	0.0909	0.2071	0.3405	0.509
pH6-06	0.0266	0.0778	0.093	0.2048	0.3105	0.5525
pH6-07	0.037	0.0809	0.1019	0.2108	0.3205	0.538
pH6-08	0.0304	0.0763	0.1083	0.1825	0.26	0.4985
pH6-09	0.0313	0.0545	0.1072	0.2534	0.3635	0.6394
pH6-11	0.0342	0.0558	0.1179	0.1759	0.271	0.4287
pH6-12	0.0343	0.0732	0.0952	0.2235	0.3944	0.6338
pH7-02	0.0297	0.0809	0.0796	0.1777	0.3005	0.4764
pH7-03	0.0303	0.0704	0.0784	0.1777	0.2855	0.4306
pH7-04	0.0334	0.0861	0.0829	0.1653	0.2508	0.3907
pH7-05	0.0331	0.0791	0.0707	0.1516	0.2365	0.3514
pH7-06	0.0321	0.0768	0.0709	0.168	0.2742	0.4793
pH7-07	0.0314	0.0593	0.0685	0.1449	0.2734	0.4139

pH7-08	0.0333	0.0741	0.084	0.1881	0.3295	0.4861
pH7-09	0.0483	0.0926	0.0842	0.1839	0.3021	0.4948
pH7-10	0.0269	0.0753	0.0808	0.1747	0.311	0.5696
pH7-11	0.049	0.0849	0.0958	0.1957	0.3322	0.5334
pH7-12	0.0232	0.0766	0.0787	0.2093	0.4033	0.6775
pH8-01	0.0538	0.0798	0.1243	0.1918	0.3417	0.6155
pH8-02	0.0391	0.0583	0.0968	0.1517	0.247	0.4874
pH8-03	0.0445	0.0721	0.1302	0.2656	0.4157	0.6331
pH8-04	0.0359	0.0767	0.1268	0.2335	0.39	0.6526
pH8-05	0.0644	0.0638	0.1075	0.2093	0.3415	0.5787
pH8-06	0.0482	0.0734	0.1304	0.2733	0.4056	0.6684
pH8-07	0.0337	0.0534	0.1118	0.2357	0.377	0.6243
pH8-08	0.0295	0.0689	0.1551	0.2618	0.4591	0.7237
pH8-09	0.0412	0.0769	0.1266	0.2529	0.3831	0.5995
pH8-10	0.032	0.0511	0.1386	0.2303	0.3747	0.5881
pH8-11	0.024	0.0563	0.0936	0.1805	0.3595	0.604
pH8-12	0.0256	0.0662	0.1067	0.2206	0.3537	0.6007
pH9-01	0.0385	0.076	0.1144	0.2167	0.3267	0.5939
pH9-02	0.0496	0.0508	0.0861	0.1887	0.3132	0.5299
pH9-03	0.0315	0.0489	0.1061	0.2372	0.3783	0.6626
pH9-04	0.0347	0.0723	0.1172	0.215	0.4081	0.6027
pH9-05	0.0247	0.0498	0.0933	0.222	0.3623	0.6536
pH9-06	0.0218	0.059	0.1184	0.1946	0.3354	0.62
pH9-07	0.027	0.073	0.1051	0.2244	0.382	0.6166
pH9-08	0.0372	0.0618	0.1067	0.2023	0.3744	0.6512
pH9-09	0.0304	0.0794	0.1191	0.2325	0.4417	0.7167
pH9-10	0.0314	0.0617	0.1266	0.2433	0.387	0.6871
pH9-12	0.0289	0.0592	0.1182	0.2264	0.4041	0.583

附錄五、蝌蚪的發育期數變化

期數	第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天
編號	2018/2/5	2018/2/12	2018/2/19	2018/2/26	2018/3/5	2018/3/12
pH5-01	26	26	28	30	34	37
pH5-02	26	26	28	31	33	37
pH5-03	26	26	28	31	31	36
pH5-04	26	26	27	31	33	36
pH5-05	26	26	28	30	34	37
pH5-06	26	26	28	30	33	36
pH5-07	26	26	29	31	35	36
pH5-08	26	26	28	31	32	36
pH5-09	26	26	28	30	34	36
pH5-10	26	26	28	30	33	36
pH5-11	26	26	28	30	33	35
pH5-12	26	26	29	31	34	37
pH6-01	26	26	27	29	32	36
pH6-02	26	26	27	29	31	35

pH6-03	26	26	28	28	31	36
pH6-04	26	26	28	28	33	35
pH6-05	26	26	27	29	31	35
pH6-06	26	26	27	28	31	35
pH6-07	26	26	28	28	31	35
pH6-08	26	26	28	29	31	35
pH6-09	26	26	28	30	31	36
pH6-11	26	26	27	29	31	34
pH6-12	26	26	27	28	32	35
pH7-02	26	26	26	27	31	35
pH7-03	26	26	27	27	31	34
pH7-04	26	26	27	28	31	35
pH7-05	26	26	27	28	30	34
pH7-06	26	26	27	28	31	36
pH7-07	26	26	26	28	31	35
pH7-08	26	26	27	28	32	35
pH7-09	26	26	27	27	31	34
pH7-10	26	26	27	28	31	35
pH7-11	26	26	27	29	32	35
pH7-12	26	26	26	27	31	35
pH8-01	26	26	28	30	31	37
pH8-02	26	27	27	29	31	35
pH8-03	26	26	29	31	35	37
pH8-04	26	27	28	30	34	38
pH8-05	26	26	28	30	35	38
pH8-06	26	26	28	31	34	35
pH8-07	26	26	28	30	33	36
pH8-08	26	26	29	29	33	37
pH8-09	26	26	28	31	31	36
pH8-10	26	26	28	31	32	35
pH8-11	26	26	28	30	31	36
pH8-12	26	26	27	30	31	36
pH9-01	26	26	27	31	32	37
pH9-02	26	26	27	29	31	37
pH9-03	26	26	27	28	31	35
pH9-04	26	26	28	30	33	36
pH9-05	26	27	28	30	33	37
pH9-06	26	26	28	30	35	35
pH9-07	26	26	29	29	32	36
pH9-08	26	26	28	29	32	36
pH9-09	26	26	27	28	31	36
pH9-10	26	26	27	28	31	35
pH9-12	26	26	27	30	31	36

【評語】 030316

1. 子標題未依規定撰寫，內容整理可以再聚焦些，有些發想創意器材若能附上真實相片，會更有說力。
2. 本研究研究主題清楚，科學研究的方法適切，有系統地收集觀察數據並加以統計分析。
3. 蝌蚪成長發育的體長與體重皆在酸鹼值些微偏離中性時有最佳的表現，此研究時間最長觀察到第 35 天，未來研究對於酸鹼值是否會影響蝌蚪的變態應該也是有趣的課題。
4. 針對莫氏樹蛙的幼體，在水中酸鹼值的適應問題做探討，希望瞭解酸雨所帶來的環境改變對樹蛙的影響。作者在野外一些地點，調查莫氏樹蛙在這些水體的 pH 值及生長狀況。結果顯示樹蛙對 pH 值的忍受度是相當大的，而室內試驗結果也是如此。活動量的增加，可以解釋為適合的酸鹼值環境，活動量大，但也可能是不適當環境會增加活動量，以逃離此場所。作者也提及水中優氧化會使有機質增加，也勢必影響水體 pH 值的改變，因此也必須考慮水溫、優氧化、酸雨等因素，才能真正瞭解水質對樹蛙的影響。
5. 表達有條理，可見其科學精神之處。

摘要

本文以山林間利用蓄水池或小池塘等封閉水體繁殖的莫氏樹蛙為對象，探討酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪的影響。發現：(1)在野外被莫氏樹蛙使用的水池酸鹼值範圍很廣，可從pH4~10；(2)蝌蚪在中性水體中的上浮呼吸次數最少，顯示此時代謝最慢，鹼性水體中蝌蚪上浮呼吸明顯增加；(3)蝌蚪在中性水體中的移動次數最少，偏離中性時活動次數增加，造成無謂的能量消耗；(4)使用酸鹼值梯度之水槽來檢視，發現在可選擇時，蝌蚪偏好中性，即使活動範圍可從pH3~10；最後(5)當蝌蚪生活在不同酸鹼值下，成長發育並沒有負面影響，甚至在些微偏離中性時表現得更好，顯示pH5~9是可忍受的範圍，故本研究推測莫氏樹蛙的酸鹼容忍範圍在pH4~10，且在pH5~9仍維持成長及發育的最佳表現。

壹、研究動機及目的

研究之初，其實是想追究因人類活動產生的空氣汙染物到哪裡去了？最後逐漸聚焦在探討酸雨對封閉水體中動物的影響。某次課堂上提到汙染問題，有人提到下雨過後空氣會變乾淨，但是我們心裡卻很擔心，下雨雖可以帶走空氣中的汙染，但那些汙染去了哪裡？會不會造成另外一種危害？

原來，下雨雖然可以是空氣汙染暫時的結束，卻也是另外一種汙染的開始。當空氣中的汙染物被沖刷到地面時，會造成水以及土地汙染，而容易被忽略，因此我們想探討空氣汙染在降雨過後的影響。酸雨是空氣汙染所衍生的一種汙染形式，會直接傷害生物本身，或是改變環境因子而間接影響生物的生存，尤其在承接雨水的封閉水體，隨著雨水沉澱的汙染物將被蓄積在封閉水體中，影響其中的生物生存。

我們聯想到蛙類利用積水容器當作繁殖地點，莫氏樹蛙常在人們的蓄水池中繁殖，蝌蚪直到變成青蛙離開水體之前，沒有機會躲避酸雨的影響。水體酸化會對它們的影響，我們卻一無所知，因此我們以莫氏樹蛙的蝌蚪作為研究對象，透過一連串有系統的設計研究來探討水體酸化對封閉水域中蝌蚪的影響，期望對物種保育有所貢獻。

貳、文獻探討

一、酸雨是人類活動造成的環境惡化

工業化後，人類大量使用煤及石油等化石燃料，燃燒後產生硫氧化物(SO_x)或氮氧化物(NO_x)，再形成硫酸或硝酸氣態膠，被水氣捕捉吸收後，隨著雨水落下成為酸雨。未被汙染的雨水pH約5.6，若低於5.0便為酸雨。

酸雨對生物本身以及生態環境造成危害，影響層面廣布各種生態系統。酸雨可對生物體造成直接傷害，如造成植物葉片或嫩芽的損傷，或腐蝕動物皮膚或毛髮。也會改變環境品質而間接影響生活在其中的生物，尤其是在封閉的池塘、湖泊。舉例來說，酸雨會溶解土壤中的金屬元素，流入河川或湖泊造成魚類生病或死亡，並累積在水生植物及農作物中，可能經由食物鏈進入人體，影響人類的健康。因此，即使酸雨不會直接殺死動物，也會對棲息在其間的動物造成間接衝擊。

二、為什麼要研究兩棲動物？

兩棲類有許多特點，可作為良好的環境指標，另外兩棲類也面臨全球性的滅絕，因此探討兩棲類在劣境下的敏感或脆弱度及所受影響相當重要。

兩棲類的生活史和生理構造特徵複雜，對於環境變動敏感而脆弱(Dunson et al., 1992)。這些特徵包括：(1)在食物網中扮演著初級或次級消費者，也是陸域及水域間能量流動的重要連結(Wells, 2007)。(2)是良好的環境品質指標物種，皮膚通透性大對環境變化十分敏感(Dunson et al., 1992)。(3)相較於其他外溫脊椎動物，在氣候暖化下是更為脆弱的類群(Hoffmann et al., 2010)。

兩棲類滅絕的因素有許多面向，包括氣候變遷(如全球暖化、臭氧層稀薄)、蛙菌菌的感染及有毒化學物質的使用等及其交互作用(Brühl et al., 2013b; Hof et al., 2011; Whiles et al., 2013)。成體或可選擇不同的微棲地，來降低衝擊(Schiffers et al., 2014)，但蝌蚪被侷限於水體中，無法逃脫避開，影響甚大(Viertel, 1999)。

酸雨是一項重要的環境議題，但酸雨影響生物的相關研究往往集中在酸雨對生物的立即傷害，少有研究去探討酸雨造成的環境酸化後對當地棲息生物的影響，尤其是對那些被限制在水中的動物更是缺乏相關的了解。

三、兩棲類在各個生活史階段都會受環境酸化的影響

水體酸化對兩棲類有許多不同層面的影響。水體酸化會使胚胎的存活率降低，在偏酸水體中胚胎可以耐受較酸的水體。水體酸化也會影響蝌蚪體重以及變成青蛙時的體重(楊育昌 & 陳後宏, 1996)，推測是因蝌蚪的酸鹼失衡，使特定離子流失，需要耗費能量來抵抗離子流失。但有一種樹蟾很適應偏酸水體，成長發育及存活率皆較高，推測是偏酸水體會降低水中掠食者的活動並抑制病菌孳生。即使如此，水體酸化對蝌蚪多具有負面影響，但會有怎樣的影響卻仍未知，如酸化影響成長發育，但是否會影響到變成青蛙之後的表現？蝌蚪是否有其偏好的酸鹼值更是從未有過人探討過。本研究期望可以填補這些未知空缺，對動物的管理與保育上有所貢獻。

參、研究目的

- 從不同的角度探討酸鹼值對蝌蚪的影響，包括
- 一、檢視在野外有莫氏樹蛙蝌蚪水池的酸鹼值分布範圍
- 二、探討酸鹼值對蝌蚪上浮呼吸行為的影響
- 三、探討酸鹼值對蝌蚪活動力的影響
- 四、使用酸鹼值梯度之水槽來檢視蝌蚪對水中酸鹼值的偏好
- 五、探討在不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵差異。

肆、研究設備與器材

表一、實驗器材和藥品

品名	數量	用途及配置方法
酸鹼計	1	測量環境水體以及室內實驗水體的酸鹼值
溫度計	1	測量水溫
照度計	1	測量水槽中不同pH之蝌蚪之照度
小水體(高30cm*40cm*20cm)	60	飼養不同pH實驗之蝌蚪
Image J 影像分析軟體	1	測量蝌蚪體長
生活史記錄表	若干	記錄蝌蚪之生活史
飼料	若干	以備備用
培養皿	若干	以備備用
電子秤(量程 100g)	5	進行蝌蚪上浮呼吸實驗
電子秤(量程 200g)	5	進行蝌蚪活動力實驗
照度計	1	進行蝌蚪活動力實驗
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 8.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g HCl 調成pH 3.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 5.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 6.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 7.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 8.5
玻璃缸(1.5L*4.5L)	1	1.2L水中加入1.2g NaOH 調成pH 9.5

● 玻璃缸的配置在實驗初期時間前完成。

伍、研究過程與方法



一、物種介紹

莫氏樹蛙 (*Rhacophorus molitrechti*) 是中型綠色樹蛙，體長約5公分。背部多為墨綠色，有時帶有一些小白點，腹面及側面亮白且散有黑斑點，且年紀越大斑點越多。大腿內側呈鮮豔的橘紅色或淡橘色，據說有禦敵效果。眼睛虹膜也是橘紅色的。

莫氏樹蛙分布廣泛，從低海拔的樹林、果園、開墾地到兩千多公尺高山針葉林都有其蹤跡。過去曾因為特有種被列為保育類，但在2008年因族群穩定降為一般類。莫氏樹蛙的繁殖期隨地區而不同，多在春天，叫聲是一長串的呱~呱~呱~，配對後的莫氏樹蛙會在水面上方的枝條或固著物上產下卵泡，蝌蚪孵化後會在下雨或潮濕狀態下滴入水中(向高世等, 2009)。



圖一、左—鳴叫中的莫氏樹蛙；右—莫氏樹蛙蝌蚪

二、蝌蚪的取得與飼養

(一) 蝌蚪的取得：

2017年底及2018年初於苗栗大湖山區果園邊小水池取得莫氏樹蛙的蝌蚪，隨機取得足夠的實驗用量。另外在2017年底取得一窩完整的卵泡，帶回學校等待孵化之後將蝌蚪分組飼養，探討酸鹼值對蝌蚪成長及發育的影響。



圖二、撈取蝌蚪的水池邊上還有卵泡(左圖)，以及所撈取出來的蝌蚪(右圖)

(二) 蝌蚪的飼養：

每隻蝌蚪單獨養在透明塑膠盒(10cm*6cm*4cm)，依照不同處理飼養在不同酸鹼度水體中，每天以煮熟的菠菜或A菜磨成漿。



圖三、蝌蚪以煮熟的菠菜飼養

三、蝌蚪體長測量：

將蝌蚪擄至培養皿，下視比例尺拍照，再以 Image J 影像分析軟體計算體長。該程式以比例尺設定單位，在照片上拉取代表蝌蚪體長的折線，以軟體計算折線長度。



圖四、以拍照方式測量蝌蚪(上圖)，蝌蚪以微量天平秤重(下圖)

四、蝌蚪體重測量：

先在微量天平中放入培養皿並歸零，蝌蚪拍完照片後以棉布吸取表面多餘水分再秤重。

五、蝌蚪發育期數判定：

依 Gosner 的卵及蝌蚪發育期數(1960)作為比對標準，在燈光照射下觀察蝌蚪的後腳芽，以判定蝌蚪的發育期數。



圖五、Gosner 制定的蝌蚪發育期數判定對照表



圖六、蝌蚪發育期數判定。蝌蚪腳芽以燈光照射會比較明顯，另根據對照表，這幾隻蝌蚪分別是發育28期(左上)、30期(左下)、36期(右上)，以及43期(右下)小蛙

陸、研究結果與分析討論

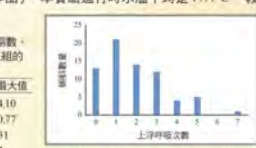
研究一：莫氏樹蛙蝌蚪棲息之水體的酸鹼值

- (一) 研究目的：瞭解在野外莫氏樹蛙所利用來繁殖的水池的特性，包括水體酸鹼值及溫度。
- (二) 提出疑問：莫氏樹蛙選擇生殖場所時，對不同酸鹼值會有偏好嗎？
- (三) 提出假設：預期莫氏樹蛙偏好選擇中性水體來繁殖。
- (四) 研究方法設計

1. 在苗栗大湖山區尋找可能有莫氏樹蛙蝌蚪的水域(圖七)，並測量取水溫及酸鹼值。
 2. 檢查水池中是否有莫氏樹蛙繁殖，記錄是否有成蛙、卵泡或是蝌蚪。
 3. 將所得資料繪製成酸鹼值分布圖。
- (五) 研究結果與討論
- 共記錄了12個水池，有莫氏樹蛙蝌蚪的水池有5個，所得資料見表二。

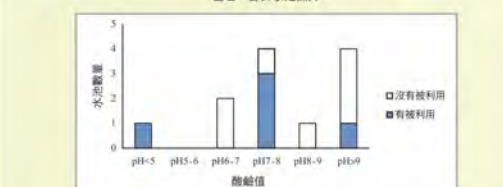
表二、野外水池酸鹼度及水溫

水池編號	酸鹼度	水溫	成蛙	卵	蝌蚪	有被利用	備註
潭草池1	7.46	19.6				Y	靠近樹下溪流
潭草池2	4.83	19.1		Y	Y	Y	靠近樹下溪流
馬拉松1	7.53	15.8			Y	Y	靠近樹下溪流
馬拉松2	9.64	20.7	Y		Y	Y	靠近樹下溪流，灌溉水
馬拉松3	6.71	22.4				N	靠近灌溉水溝
馬拉松4	8.56	22.9				N	靠近灌溉水溝，灌溉水
馬拉松5	9.17	23.1				N	靠近灌溉水溝
馬拉松6	7.3	24.2				N	靠近灌溉水溝
馬拉松7	7.08	23.2	Y	Y	Y	Y	靠近灌溉水溝，灌溉水
馬拉松8	8.88	23.2				N	靠近灌溉水溝，灌溉水
馬拉松9	6.43	23.7				N	靠近灌溉水溝
馬拉松10	9.86	21.9				N	靠近灌溉水溝，灌溉水



圖十一、莫氏樹蛙蝌蚪上浮呼吸次數

蝌蚪的上浮呼吸次數在不同酸鹼組之間有著差異(表五、圖十二)，其餘因子包括體長、體重及發育期數則在相同沒有顯著差異。在 pH5、pH6、pH7 之下蝌蚪的上浮呼吸次數顯著低於在 pH8、pH9 的次數。過去研究顯示，蝌蚪上浮呼吸行為受溫度、體型，及發育期數的影響，且推測與耗氧量有關(2017 苗栗縣科展作品)。本實驗結果發現蝌蚪在 pH 較高的組別上浮呼吸次數較多，可能是在鹼性環境中消耗較多氧氣，因此上浮呼吸次數增加。pH7 時上浮呼吸次數最少，可能代表此時代謝消耗最慢，推測酸鹼值最合宜。另外，雖然偏鹼性下蝌蚪上浮呼吸次數也增加，但增加量並不多，統計上沒有顯著差異，暗示當水體酸鹼值改變時，鹼性會比酸性更影響蝌蚪的代謝速率。



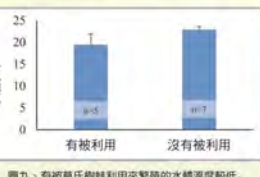
圖八、野外水池酸鹼值分布圖

野外水池資料發現水體酸鹼值分布很廣，從 pH4.83 到 pH9.64 (圖八)，較多水池偏鹼性，且通常伴隨著優養化(表二、圖七)中。由圖八，酸鹼值不是莫氏樹蛙利用水池的限制因子但莫氏樹蛙仍偏好(有 60%) 使用中性水體。12 個水池中有 5 個被莫氏樹蛙利用來生殖，其中至少有發現卵或蝌蚪存在(表二)。水池有無被利用的比例在各酸鹼值不盡相同，有被利用的水池酸鹼值可從 pH4.83 到 pH9.64，因此酸鹼值可能不是莫氏樹蛙利用水池生殖的限制因子，但大多數被利用的水池是 pH7.8 (3 個水池)，而偏酸(pH5) 及偏鹼(pH9) 的使用頻度各只一次，因此推測莫氏樹蛙偏好好水質偏中性的水池來生殖，與預期符合。

表三、有無被利用的水體中酸鹼度與水溫之比較

	全部(N=12)	有被利用(n=5)	沒有被利用(n=7)	t	p-value
酸鹼度(pH)	7.3411.51	7.3113.71	8.2221.35	-1.03	0.528
水溫(°C)	21.4822.34	19.4822.38	22.9130.72	-3.66	0.004

再分析有無被利用的水池中的酸鹼度及水溫的差別，有無被利用的水池酸鹼度沒有顯著差別(表三)，可能是因為莫氏樹蛙偏好中性而非單方面偏好酸或鹼。水溫則有著顯著差異，有被利用的水池的水溫較低，可能是因為莫氏樹蛙選擇生殖地點時偏好有遮蔽的場所，以降低被捕食風險或是降低白天陽光曝曬的灼熱。



圖九、有被莫氏樹蛙利用來繁殖的水體溫度較低。

(六) 結論：

野外水池資料發現水體酸鹼值分布很廣，從 pH5 到 pH9，被莫氏樹蛙利用的水池酸鹼度也是在 pH5 到 pH9，顯示酸鹼值不是莫氏樹蛙利用水池的限制因子。莫氏樹蛙利用來繁殖的水池水溫顯著較低，可能是偏好有遮蔽的場所，降低被捕食的風險或是降低陽光曝曬。

研究二、酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪上浮呼吸的影響

- (一) 研究目的：觀察蝌蚪的上浮呼吸，間接了解不同酸鹼值下的耗氧程度，反映其生理代謝。
- (二) 提出疑問：不同酸鹼值的水質會影響蝌蚪上浮呼吸行為嗎？
- (三) 提出假設：當水體酸鹼值偏離中性愈遠，蝌蚪上浮呼吸次數會較多。
- (四) 研究方法

1. 配製不同酸鹼值的溶液各 1000mL，分別是酸化(pH5)、微酸化(pH6)、中性(pH7)、微鹼化(pH8)、鹼化(pH9)五組，並以硫酸溶液(約 pH2.6)及氫和 NaOH 溶液(約 pH 12.8)調整溶液酸鹼值。



圖十、觀察蝌蚪在不同酸鹼值下的上浮呼吸次數

2. 每組隨機取 14 隻從野外帶回的蝌蚪，先放置 5 分鐘適應新環境，再觀察 15 分鐘，記錄上浮呼吸次數，每次蝌蚪到水面吞嚥空氣便記為一次(圖十)。
3. 觀察結束後量取蝌蚪的體長、體重，以及發育期數。

(五) 結果分析和討論

共觀察 70 隻蝌蚪，上浮呼吸次數平均 1.93 次，最少 0 次，最多 7 次(表四、圖十一)。前人研究莫氏樹蛙蝌蚪的上浮呼吸受溫度影響，18°C 下平均 2.1 次，25°C 下平均 5.3 次(2017 苗栗縣科展作品)。本實驗進行時水溫平均是 17.4°C，較接近前人在 18°C 下的實驗結果。

表四、進行上浮呼吸實驗蝌蚪的體長、體重、發育期數，以及 15 分鐘內的上浮呼吸次數(每組 14 隻，五組的樣本數=70)。

項目	平均	標準偏差	最小值	最大值
體長(cm)	3.64	0.20	3.06-4.10	
體重(g)	0.44	0.07	0.30-0.77	
發育期數	28.91	1.19	27.31	
15分鐘上浮呼吸次數	1.93	1.57	0-7	

表五、不同酸鹼值處理之下，蝌蚪的體長、體重、發育期數，以及上浮呼吸次數。結果顯示蝌蚪的上浮呼吸次數在不同酸鹼值的處理下有顯著差異。

	酸鹼值分組					ANOVA		
	pH5	pH6	pH7	pH8	pH9	F _{adj}	p	
體長(cm)	3.62±0.23	3.63±0.18	3.55±0.20	3.74±0.19	3.63±0.16	3.64±0.19	1.94	0.114
體重(g)	0.44±0.09	0.45±0.05	0.42±0.05	0.49±0.10	0.40±0.05	0.40±0.07	2.05	0.073
發育期數	28.86±1.23	28.93±1.27	28.50±1.16	29.29±1.07	29.00±1.24	28.91±1.19	0.78	0.540
上浮呼吸次數	1.64±1.08	1.43±1.34	0.79±0.80	2.93±1.54	2.36±1.88	1.93±1.58	6.44	<0.001



圖十二、不同酸鹼值之組別蝌蚪的上浮呼吸次數。

(六) 結論：

蝌蚪在中性環境時上浮次數最少，代表代謝消耗最慢。當酸鹼值改變，尤其是偏鹼時，上浮呼吸次數明顯增加，可能是為了維持生理機能而提高代謝、消耗較多能量，使耗氧量增加，故增加上浮呼吸來增加氧氣的攝取。

研究三、酸鹼值對莫氏樹蛙蝌蚪活動力的影響

- (一) 研究目的：探討不同酸鹼度的水體會否影響蝌蚪的活動力。
- (二) 提出疑問：不同酸鹼值的水質會影響蝌蚪活動力嗎？
- (三) 提出假設：莫氏樹蛙蝌蚪在水槽中靜止不動，當酸鹼值偏離中性愈遠，預期蝌蚪會因不合適的酸鹼值而增加移動次數。
- (四) 研究方法：

1. 將五個不透明水盆底部(長寬各 10cm)畫分成 4 個象限，加水 2 公分高，用硫酸溶液(約 pH 2.6)及氫和 NaOH 溶液(約 pH 12.8)調整溶液酸鹼度為 pH5、6、7、8、9(圖十三)。
2. 將蝌蚪放入水盆中，等待 5 分鐘安定期之後，記錄蝌蚪在 10 分鐘內通過十字線次數，每次移動有通過直線一次則記錄為移動一次。



圖十三、蝌蚪被放入裝有不同酸鹼值水體的不透明水盆中，記錄在 10 分鐘內通過十字線的次數。

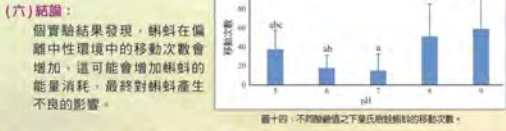
(五) 結果分析和討論

我們共觀察了 45 隻蝌蚪(5 種酸鹼值，各 9 隻)，在 pH8 及 pH9 下的蝌蚪經常移動，游動時尾巴擺動快速且幅度大，相當焦躁，十分鐘內平均各移動了 51 次和 59 次之多；pH5 組則移動了 38 次；接近中性的 pH6 及 pH7 組中，蝌蚪平均移動次數最少，分別為 18 次及 15 次，表現較為安定(圖十四)，與預期相符。研究中，蝌蚪在中性水體的表現最為安定，類似自然狀況，大多安靜地待在水底。但在水體酸鹼值偏離中性時，移動次數增加得相當明顯，尤其是偏鹼鹼性時。移動次數增加，可能是為了要尋找合適的水體酸鹼值位置。在封閉水體中，蝌蚪的活動範圍受到限制，偏酸或偏鹼的環境使蝌蚪移動次數增加，而耗費了大量能量，卻仍無法脫離不適宜酸鹼值的水體。

表六、不同酸鹼值處理之下，蝌蚪的體長、體重、發育期數，以及移動次數。顯示蝌蚪的移動次數在不同酸鹼值的處理下有顯著差異。

	酸鹼值分組					ANOVA		
	pH5	pH6	pH7	pH8	pH9	F _{adj}	p	
體長(cm)	4.4±0.71	4.34±0.69	4.6±0.64	4.57±0.66	4.58±0.79	4.5±0.68	0.27	0.889
體重(g)	0.59±1.24	0.63±0.12	0.64±0.19	0.68±0.28	0.65±0.24	0.64±0.22	0.18	0.949
發育期數	35.11±4.11	35.78±3.8	36.67±3.5	36.78±3.49	36.22±4.12	36.11±3.69	0.29	0.882
移動次數	37.67±20.32	18±13.29	15.11±17.55	51.33±34.32	59.33±37.42	36.29±30.74	5.01	0.002*

*p<0.05 有顯著差異



圖十四、不同酸鹼值之下莫氏樹蛙蝌蚪的移動次數。

研究四、蝌蚪酸鹼值偏好選擇實驗

- (一) 研究目的：瞭解莫氏樹蛙蝌蚪偏好的酸鹼值範圍。
- (二) 提出疑問：使用酸鹼值梯度之水槽來檢視蝌蚪對水中酸鹼值的偏好選擇有差異嗎？
- (三) 提出假設：推測蝌蚪會偏好中性的水體。

(四) 研究方法設計：

我們設計了酸鹼度選擇槽，在其中建立酸鹼值梯度，供蝌蚪自由選擇。先裝入曝氣後的自來水使水位達3公分，高於隔板與底部間隙，在選擇槽兩端分別加硫酸溶液（約pH2.6）及飽和NaOH溶液（約pH12.8），以每兩秒1滴的速率滴入水槽，約10分鐘後會得到穩定的酸鹼度梯度。

1. 將格子依序編號，實驗起始前及完成後量取每一間格的酸鹼值，寫在記錄表中。
2. 實驗開始時，在水槽中央放5隻蝌蚪，以隔板限制蝌蚪在中央1分鐘使其安定。



圖十三、蝌蚪酸鹼度選擇槽示意圖

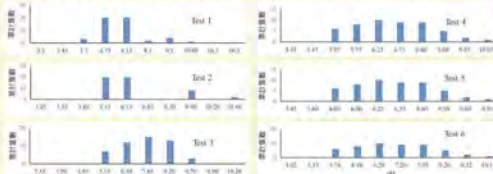
3. 蝌蚪若還不游動，則繼續限制1分鐘。若靜止休息，或游動停滯，則輕輕打開隔板。
4. 蝌蚪在酸鹼度選擇槽中可自由游動，每1分鐘記錄每一格的蝌蚪數量，觀察10分鐘。
5. 實驗結束後將蝌蚪釋放回另一個飼養箱，與尚未進行實驗的蝌蚪區隔開。
6. 再測量每一格的酸鹼值，若與起始酸鹼值差距小於1，則歸類為有效樣本，並以測試前後兩次平均值為準。若同一格的酸鹼值變化超過1，則認定實驗失敗。
7. 分析蝌蚪選擇最多次的酸鹼值，記錄為偏好酸鹼值。並將蝌蚪選擇的最低及最高值定義為活動酸鹼範圍。

(五) 研究結果與討論

6次選擇實驗中，累計最多蝌蚪停留的酸鹼值分別是pH 4.75, pH 6.15, pH 7.85, pH 6.25, pH 6.25, pH 6.20，平均是pH 6.24±0.73。蝌蚪停留地點酸鹼值最低pH 3.7，最高pH 10.4，顯示蝌蚪的活動酸鹼範圍很大，但並不會停留太久。

(六) 結論

莫氏樹蛙蝌蚪的活動酸鹼範圍相當大，且似乎偏好較為中性的水體。即使野外鮮少有讓蝌蚪選擇水體酸鹼值的機會，但這種偏好選擇的結果暗示著在中性酸鹼值下，莫氏樹蛙蝌蚪可能有較佳的生存表現。



圖十四、莫氏樹蛙蝌蚪對水體酸鹼值的偏好選擇。

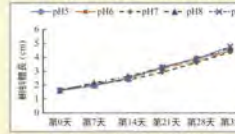
研究五、不同酸鹼值對蝌蚪成長、發育、變態特徵的影響

- (一) 研究目的：探討不同酸鹼值對蝌蚪成長發育及變態特徵的影響。
- (二) 提出疑問：不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵是否有差異？
- (三) 提出假設：在不同酸鹼值之下蝌蚪的成長、發育以及變態特徵不同。
- (四) 研究方法設計：

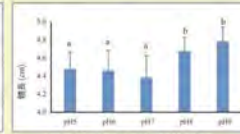
1. 實驗分組：分成酸化(pH5)、微酸化(pH6)、中性(pH7)、微鹼化(pH8)、鹼化(pH9)五組。
2. 飼養用溶液的配製：根據文獻(Pierce et al., 1992)，將儲備用培養原液以逆滲透水稀釋1000倍，提供蝌蚪滲透調節所需的離子，再用硫酸溶液（約pH 2.6）或飽和NaOH溶液（約pH 12.8）調整各組酸鹼度。
3. 動物採集與準備：將野外採集的莫氏樹蛙卵泡放在裝有水3公分高的飼養箱中等待孵化，孵化3天後腹部殘餘卵黃消失且已能自行覓食後，隨機分成五組各12隻開始實驗。
4. 蝌蚪體量測量：實驗開始先測量每隻蝌蚪體長，之後每週定期測量體長、體重及發育期數，直到蝌蚪進入變態階段。

(五) 實驗結果與討論：

各組起始體長沒有顯著差異(ANOVA test, $F_{4,52}=0.86, p=0.497$)；飼養在不同酸鹼值之下的蝌蚪體長皆穩定地增加(圖十五)，但比較最後一天體長，發現組間有顯著差異(ANOVA test, $F_{4,52}=8.21, p=0.003$)。進一步以Tukey HSD test進行組間比較，發現pH 8及pH 9兩組的蝌蚪體長顯著比pH 5、pH 6、pH 7這三組的體長大(圖十六)，不符預期。推測實驗中所用各種酸鹼值都在蝌蚪忍受範圍內，因此對成長沒有負面影響。偏鹼性處理中蝌蚪體型較大，可能是水中的鈉離子較充足，而鈉離子是調節體內滲透壓的重要離子，或許有助於體型成長，鈉離子對成長影響的推論需要進一步以實驗來證實。

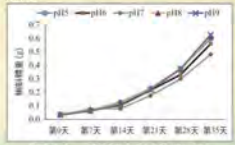


圖十五、蝌蚪體長天數觀察表

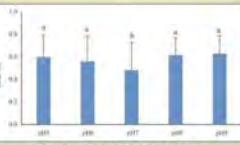


圖十六、第35天蝌蚪的體長

體重的結果與體長類似，各組體重起始值沒有顯著差異(ANOVA test, $F_{4,52}=1.41, p=0.243$ ，圖十七)，但第35天有組間差異(ANOVA test, $F_{4,52}=9.94, p<0.001$ ，圖十八)，顯示酸鹼值對體重有顯著影響。以Tukey HSD test進一步比較，pH7組體重顯著比其他各組輕。這結果與預期相反。我們推測pH5-9尚不會對蝌蚪有負面影響，而且酸鹼值些微偏離中性可能對蝌蚪的成長有好處。

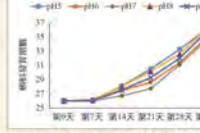


圖十七、蝌蚪體重天數觀察表

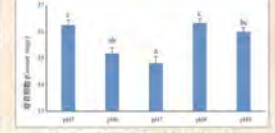


圖十八、第35天蝌蚪的體重

發育期數的觀測中，各組起始值都是Gosner 26期，沒有顯著差異(圖十九)，但第35天時有顯著的組間差異(ANOVA test, $F_{4,52}=98.98, p<0.001$ ，圖二十)，顯示酸鹼值會影響蝌蚪的發育。依Tukey HSD test進行事後比較，發現pH6及pH7兩組蝌蚪的發育顯著較慢，尤其是pH7組。這結果亦出乎預期，推測pH5-9並不會對蝌蚪有負面影響，而在酸鹼值些微偏離中性的環境中蝌蚪會有較佳的表現。



圖十九、蝌蚪體量天數觀察表

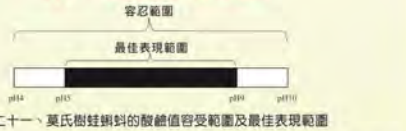


圖二十、第35天蝌蚪的發育期數

(六) 結論：

在不同酸鹼值處理下的蝌蚪，其成長發育的體長、體重以及發育期數皆在酸鹼值些微偏離中性時表現最佳。顯示pH5-9應該都是蝌蚪的耐受範圍，皆可以表現出正常的成長及發育，這也與野外莫氏樹蛙可利用pH 5-9水體是一致的。

柒、討論與結論



圖二十一、莫氏樹蛙蝌蚪的酸鹼值容忍範圍及最佳表現範圍

- 一、莫氏樹蛙蝌蚪的酸鹼值容忍範圍相當寬，在野外可利用pH4-10間的水體，在選擇實驗中會避開pH3以下及pH11，皆顯示其容忍範圍在pH4-10之間，有利於適應自然界中有限的水體作為繁殖場所。
 - 二、蝌蚪在可選擇時，偏好酸鹼度比較中性的水體；在研究三發現蝌蚪待在中性水中比較安定；實驗五顯示pH5-9間蝌蚪仍可維持最佳的成長及發育表現，因此推測pH 5-9即是莫氏樹蛙蝌蚪的最佳表現範圍。
 - 三、研究二及研究三的蝌蚪行為及研究五成長發育的結果來看，偏鹼中性的水體或許會增加代謝率，並增加能量消耗，但長遠之下對成長以及發育的影響並不是很明顯。
 - 四、蝌蚪被飼養在pH5-9水體中未出現負面影響，顯示其具一定的能力來克服酸鹼的影響。
 - 五、封閉水體雖然會有酸化的問題，但同時也發現優養化使水體的酸鹼度提高，水中生物面食的優養化問題可能更為迫切。
 - 六、在野外，優化使水質變鹼，且大量消耗水中溶氧，影響水中動物的呼吸。優養化也使藻類大量孳生，壓迫動物的活動空間，影響覓食或躲避等生活所需的活動範圍，是未來值得探討的問題。
- 如圖二十二，本研究結果可以回答莫氏樹蛙蝌蚪偏好、生理表現、成長發育等諸多酸鹼影響的問題，並期望在動物保育管理上能作為參考。



圖二十二、酸鹼值對封閉水池中莫氏樹蛙蝌蚪在環境偏好、活動行為及成長發育的影響

捌、參考文獻

Beebee, T. J., & Griffiths, R. A. (2005). The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? *Biological Conservation*, 125(3), 271-285.

Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., & Alscher, A. (2013a). Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline? *Scientific Reports*, 3, Article number: 1135.

Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., & Alscher, A. (2013b). Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline? *Scientific Reports*, 3.

Dunson, W. A., Wyman, R. L., & Corbett, E. S. (1992). A symposium on amphibian declines and habitat acidification. *Journal of herpetology*, 26, 349-352.

Hof, C., Araújo, M. B., Jetz, W., & Rabibek, C. (2011). Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. *Nature*, 480(7378), 516-519.

Hoffmann, M., Hiltner-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T. M., Buchhart, S. H., ... Cor, N. A. (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *science*, 330(6010), 1503-1509.

Olson, D. H., Anderson, P. D., Frissell, C. A., Welsh, H. H., & Bradford, D. F. (2007). Biodiversity management approaches for stream-riparian areas: perspectives for Pacific Northwest leadwater forests, microclimates, and amphibians. *Forest Ecology and management*, 246(1), 81-107.

Paton, P. W., & Crocoll, W. B. (2002). Using the Phenology of Pond-Breeding Amphibians to Develop Conservation Strategies. *Conservation Biology*, 16(1), 194-204.

Pierce, B. A. (1985). Acid tolerance in amphibians. *BioScience*, 35(4), 239-243.

Pierce, B. A., & Wootton, D. K. (1992). Acid tolerance of *Ambystoma texanum* from central Texas. *Journal of herpetology*, 26(2), 230-232.

Scheffers, B. R., Edwards, D. P., Diesmos, A., Williams, S. E., & Evans, T. A. (2014). Microhabitats reduce anura's exposure to climate extremes. *global change biology*, 20(2), 495-503.

Viertel, B. (1999). Salt tolerance of *Rana temporaria*: spawning site selection and survival during embryonic development. *Amphibia-Reptilia*, 20(2), 163-171.

Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11466-11473.

Wells, K. D. (2007). *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago and London: University of Chicago Press.

Whites, M. R., Hall, R., Dods, W. K., Verburg, P., Huryn, A. D., Pringle, C. M., ... Ruggenkl, A. T. (2013). Disease-driven amphibian declines alter ecosystem processes in a tropical stream. *Ecosystems*, 16(1), 146-157.

向高世, 李顯翔, & 楊懿如. (2009). 台灣兩棲爬行動物圖鑑. 台北: 貓頭鷹出版社.

李季豐, 張怡梅, & 邱德宏. (2012). 環境微生物學. 中華民國環境工程學會.

權寬吉, & 陳俊宏. (1996). 酸性對陽明山位都希氏赤蛙蝌蚪的影響. 內政部營建署陽明山國家公園管理處計畫報告書.

蔡大偉, & 梁鴻烈. (2006). 德基水庫優養水質因子之研究.