

國立臺灣大學生命科學院生態學與演化生物學研究所



碩士論文

Institute of Ecology and Evolutionary Biology

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

區域性氣候條件決定埋葬蟲族群滯育的時程

Local climate condition determines diapause timing in  
burying beetle populations

陳濤

Hao Chen

指導教授：沈聖峰 博士

Advisor: Sheng-Feng Shen, Ph.D.

中華民國 111 年 9 月

September 2022

國立臺灣大學（碩）博士學位論文  
口試委員會審定書

區域性氣候條件決定埋葬蟲族群滯育的時程

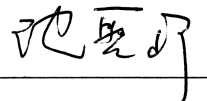
Local climate condition determines diapause timing in  
burying beetle populations

本論文係 陳浩 君（學號R08B44027）在國立臺灣大學生態學與  
演化生物學研究所完成之碩（博）士學位論文，於民國111年8月26日  
承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

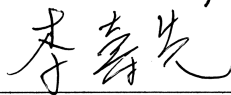
臺灣大學生態學與演化生物學研究所

沈聖峰 博士



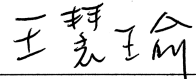
臺灣師範大學生命科學系

李壽先 博士



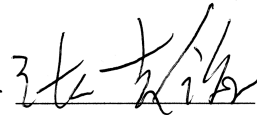
臺灣大學海洋研究所

王慧瑜 博士



中央研究院生物多樣性研究中心

洪志銘 博士



所長



（簽名）

## 誌謝



首先，我要感謝我的指導教授 沈聖峰博士，他發想了這個研究最初的雛形，並且在研究過程中隨時把關我實驗的步調，適時地在關鍵的時刻導航整個故事的走向。再者，我也要感謝我的口試委員：李壽先博士、王慧瑜博士與洪志銘博士，謝謝他們撥冗前來給予我指教並提供許多珍貴的意見。

在本研究中，麥館碩建立最初版本的機器學習模型。詹仕凡博士候選人協助確認統計分析、並在論文架構與順序上的調整提供關鍵性的建議。陳伯飛博士與蔡祥瑜博士候選人在研究初期協助我確認繁殖實驗的方法與流程，並多次提供實驗上的諮詢、傳承過去的研究經驗。此外，我要感謝吳邦漢在機器學習部分與我多次的討論並主動協助排解我在特徵工程步驟所遇到的疑難雜症。感謝梁瑋恩協助潤飾與編修英文摘要，也謝謝好友古語婷協助繪製埋葬蟲與活動量監測儀（LAM25）的卡通圖供圖三使用。

在昆蟲採集的部分，感謝袁子能、林宇恆和謝宗佑多次協助採集烏來族群的埋葬蟲。也謝謝張琬瑜協助採集沖繩族群的埋葬蟲、劉彥廷博士協助採集奄美族群的埋葬蟲。另外，有關實驗室內的工作，我要感謝藍永懿在我實驗前期完成了活動量實驗前測與裝置的加工；林彥成、張崇凡、詹勳承與黃詩蘋提供實驗與技術支持，包括：實驗耗材的採買、生長箱的維修、繁殖與活動量實驗材料的製備。也謝謝鄭欣如、黃加汝、呂其、郭柏亨和李鈞協助每週的動物照養。在論文考試當天，感謝李宜軒和許君咏主動協助我張羅點心和茶水、並支援口試記錄；也謝謝王鵬幫忙錄音。

## 中文摘要



氣候變遷已對全球的生態系造成衝擊；動植物的物候逐年改變，也加劇了各物種間的物候不匹配。研究同種不同族群的物候適應性，將有助於預測其在環境變遷下的生態後果。許多生物的物候時程隨緯度漸變；然而，此通則運用在局部地理尺度的鄰近族群時卻有其侷限性。儘管部分研究嘗試提出解釋，說明區域性氣候條件可能也會影響族群的物候時程，但卻未曾有實證研究探討其生理適應機制。因此，本研究以相鄰的尼泊爾埋葬蟲 (*Nicrophorus nepalensis*) 島鏈族群：日本的奄美大島、沖繩和臺灣的烏來，來瞭解當地溫度條件如何決定夏季滯育物候的啟動時程。我們發現，不同族群的埋葬蟲演化出顯著的滯育時程差異，且不隨緯度漸變。反而與滯育時間生態區位分化的預測一致：受春季高溫影響，沖繩族群較高緯的奄美與低緯的烏來族群更早開始休眠。本研究彰顯區域性的氣候條件對物候的適應至關重要，此結果可用於後續評估不同族群在暖化下的脆弱程度。

**關鍵字：**尼泊爾埋葬蟲、物候、滯育時程、緯度漸變、區域性氣候條件

# ABSTRACT



Anthropogenic climate change has been threatening the global ecosystem by inducing shift of circannual rhythms and thus exacerbates phenological mismatch between interactive species or between species and environment. Studying phenological adaptations of different populations helps to predict the ecological consequences of environmental changes. The phenological timing of many organisms varies along the latitudinal gradient; however, this general rule has limitations when applied to neighboring populations at regional geographic scales. Although some studies have proposed a tentative explanation that local climatic conditions may also affect the phenological timing of populations, no empirical study has ever been conducted to investigate the physiological mechanisms underlying the adaptive pattern. Here, we used burying beetle (*Nicrophorus nepalensis*) populations from three neighboring islands (Amami Oshima and Okinawa in Japan, and Wulai in Taiwan) to examine how local temperature conditions induce their summer diapause. Results showed that the three burying beetle populations had significantly different diapause induction timing without latitudinally clinal variation. Instead, it was consistent with the prediction of temporal niche partition: the Okinawa population entered reproductive diapause earlier than the Amami and Wulai populations due to higher spring temperature in Okinawa than that in Amami and Wulai. This study highlights the important role of local climatic conditions in phenological adaptation, and the results lay the foundation for future evaluation of bury beetle population vulnerability under a changing world.

**Keywords:** burying beetle (*Nicrophorus nepalensis*), phenology, diapause timing, latitudinal cline, local climate condition

# 目錄



|                                |      |
|--------------------------------|------|
| 口試委員會審定書.....                  | i    |
| 誌謝.....                        | ii   |
| 中文摘要.....                      | iii  |
| 英文摘要.....                      | iv   |
| 目錄.....                        | v    |
| 圖目錄.....                       | vii  |
| 表目錄.....                       | viii |
| 第一章 前言.....                    | 1    |
| 1.1 物候節律隨緯度漸變：通則的侷限性.....      | 1    |
| 1.2 區域性氣候條件對滯育物候的影響.....       | 2    |
| 1.3 埋葬蟲族群滯育時程的分化：棲地溫度的重要性..... | 3    |
| 第二章 材料與方法.....                 | 5    |
| 2.1 研究物種.....                  | 5    |
| 2.1.1 尼泊爾埋葬蟲的生活史與繁植物候.....     | 5    |
| 2.1.2 實驗室族群的建立與維持.....         | 6    |
| 2.2 實驗設計與處理.....               | 6    |
| 2.3 日周活動量實驗.....               | 7    |
| 2.3.1 活動量的測量.....              | 7    |

|       |                              |    |
|-------|------------------------------|----|
| 2.3.2 | 活動量資料的特徵提取與隨機森林模型的生成.....    | 8  |
| 2.4   | 共園繁殖實驗.....                  | 9  |
| 2.5   | 滯育狀態的評估.....                 | 10 |
| 2.6   | 氣候資料.....                    | 11 |
| 2.7   | 統計分析.....                    | 11 |
| 第三章   | 研究結果.....                    | 13 |
| 3.1   | 從棲地環境差異預測時間生態區位的分化.....      | 13 |
| 3.2   | 日照長度對埋葬蟲配對繁殖光週期的影響.....      | 13 |
| 3.3   | 日照長度對埋葬蟲個體日周活動的影響.....       | 14 |
| 3.4   | 以埋葬蟲個體的日周活動預測其年周滯育表現.....    | 15 |
| 3.5   | 區域性的氣候條件驅動不隨緯度漸變的滯育時程.....   | 16 |
| 第四章   | 討論.....                      | 17 |
| 4.1   | 棲地溫度條件對埋葬蟲滯育時程的重要性.....      | 17 |
| 4.2   | 埋葬蟲滯育時程的地理差異源自遺傳上的分化.....    | 17 |
| 4.3   | 區域性氣候特徵決定族群的物候節律.....        | 18 |
| 4.4   | 族群物候的地區性適應在氣候變遷下的生態後果.....   | 19 |
| 4.5   | 季節性的滯育表現與日周活動之間的關係.....      | 19 |
| 4.6   | 研究族群間功能性狀的差異是評估物種脆弱度的關鍵..... | 20 |
| 第五章   | 結論.....                      | 22 |
|       | 參考文獻.....                    | 23 |

## 圖目錄



|     |                                 |    |
|-----|---------------------------------|----|
| 圖一  | 研究架構示意圖.....                    | 30 |
| 圖二  | 實驗室族群建立與維持示意圖.....              | 31 |
| 圖三  | 實驗流程圖.....                      | 32 |
| 圖四  | 活動量測量實驗裝置.....                  | 33 |
| 圖五  | 活動量資料的特徵提取與隨機森林模型建立.....        | 34 |
| 圖六  | 個體滯育狀態的評估流程.....                | 35 |
| 圖七  | 從棲地山脈溫度預測上半年的時間生態區位分化.....      | 36 |
| 圖八  | 光週期對三個族群繁殖成功率的影响.....           | 37 |
| 圖九  | 光週期對三個族群日周活動量的影响.....           | 38 |
| 圖十  | 以活動量特徵與滯育狀態建構的隨機森林模型.....       | 39 |
| 圖十一 | tsfresh 選擇的時間特徵對預測滯育的重要度排序..... | 40 |
| 圖十二 | 不同族群間滯育與活躍個體的日周活動量比較.....       | 41 |
| 圖十三 | 三個族群的光週期反應曲線.....               | 42 |



## 表目錄



|    |                          |    |
|----|--------------------------|----|
| 表一 | 光週期對不同族群之間配對繁殖成功的影響..... | 43 |
| 表二 | 光週期對不同族群之間個體日周活動的影響..... | 45 |
| 表三 | 不同族群之間滯育與活躍個體的活動量比較..... | 47 |
| 表四 | 實驗日照處理使用之生長箱相關設定.....    | 48 |

# 第一章 前言




## 1.1 物候節律隨緯度漸變：通則的侷限性

在自然界中，「時程 (timing)」是至關重要的。灰熊必須在寒冬來臨之前進入冬眠，北極狐必須在融雪的期間完成褪毛，大山雀的雛鳥必須在春天毛蟲族群達到高峰時孵化，牛羚必須在旱季食物資源枯竭之前大規模遷徙。這些關鍵的生活史往往都有其最適當的時程；若能與合適的環境條件同步、抑或是種間交互作用能保持和諧，不僅能最佳化個體的適存度，更能維持生態系統的穩定 (Visser 2022)。

許多生物會感應各種環境的訊號 (例如：溫度，Higaki 2005、濕度 Nahrung and Merritt 1999 和光週期，Velarde *et al.* 2002) 以確保能在適當的時機啟動或終止各種生活史事件。當溫暖的春天提早到來，蟲媒植物開花期提前，蜜蜂也隨之提早開始授粉 (Bartomeus *et al.* 2011)。由此可知，溫度上升對物候時程有莫大的影響。然而，人類活動導致的暖化與極端氣候已經對全球生物多樣性造成許多不可逆轉的衝擊 (Pereira *et al.* 2010)；動植物生命現象的季節週期 (亦即：物候，phenology) 變得紊亂，並隨著暖化加劇而日漸提前或延遲。物候改變 (phenological shift) 儼然成為氣候變遷對生物最顯著的影響之一 (Parmesan *et al.* 2022)。

但溫度並不是影響物候的唯一因子。對許多物種來說，相較於直接偵測溫度的變化，不會逐年浮動的光週期 (亦即：日照長度) 為四季更迭提供了更可靠的線索 (Bradshaw & Holzapfel 2008)。隨著日照時數的縮短代表冬天將至，日照漸長則預告炎熱的夏天即將到來。由於地軸傾斜的緣故，光週期的年周律動會隨著緯度而改變；許多物候特徵也都存在著沿緯度漸變的趨勢 (latitudinal cline, Hut *et al.* 2013)，比如說，Hopkins' bioclimatic law 估算緯度每增加 1 度，植物嫩葉萌芽的時程會延遲 4 天 (Hopkins 1920)。

儘管這些通則能解釋大部分巨觀空間尺度上的物候模式 (phenological pattern)，當聚焦在區域性的局部地理範圍時，緯度漸變的通則卻有其侷限性。




加拿大西部的毛果楊 (*Populus trichocarpa*) 族群在春季的發芽物候不隨緯度梯度漸變；最南端與最北端的族群較早萌芽，緯度居中者則較晚 (McKown *et al.* 2018)。另外，在美國中部，騾鹿 (*Odocoileus hemionus*) 族群的生長季開始時間與預期的緯度趨勢相反；低緯的亞利桑那族群比高緯的猶他族群更晚開始 (Stoner *et al.* 2016)。這些不符合緯度趨勢的物候模式往往被認為與當地的氣候驅動因子 (例如：春季的融雪、夏天的季風雨...等) 有關；但是，過去研究針對其機制層面的探討仍然有限。少數研究關注的機制著重於種間交互作用 (例如：動植物的物候關係, Stoner *et al.* 2016)；然而，區域性氣候條件是如何影響族群物候的生理機制仍缺乏瞭解。

## 1.2 區域性氣候條件對滯育物候的影響

在惡劣季節中，許多生物都會透過進入休眠 (dormancy) 的生理調節機制來提升存活率 (Košťál 2006)。動物的休眠泛指發育停滯的狀態，伴隨能量代謝的下降 (Hahn & Denlinger 2011) 與生活史特徵改變 (趨向慢生活史, Turbill *et al.* 2011)。面對多樣的環境挑戰，動物也適應出不同程度的休眠策略 (Wilsterman *et al.* 2020)。比如說，有些昆蟲會長期處於深度的滯育 (diapause) 來度過逆境，有些卻只會進入淺層的不活動期 (quiescence, Diniz *et al.* 2017)；而許多哺乳動物往往有計劃性的冬眠 (hibernation)，然而有些只是感應到環境條件不利而短暫地蟄伏 (torpor) 數日 (Ruf & Geiser 2015)。

由於緯度和氣候條件差異往往影響著一個地區惡劣季節的起迄與持續時間，不同地區族群之間的休眠或繁殖物候時常不會完全地同步 (Moore *et al.* 2005)。Danilevsky 最早在一種劍紋夜蛾 (*Acronicta rumicis*) 中發現，滯育誘發的時程隨緯度漸變：緯度每增加 5 度，啟動滯育的日照會增加 1~1.5h (Danilevsky 1965)。爾後，許多昆蟲也被發現滯育物候符合 Danilevsky's rule 的趨勢；以北半球的渡冬昆蟲為例，越往高緯度族群的滯育啟動時程 (diapause induction timing) 趨於提早 (Tyukmaeva *et al.* 2011; Lankinen *et al.* 2013; Tyukmaeva *et al.* 2020)、滯育持續時間 (diapause duration) 增加 (Lindestad *et al.* 2020)、每年世代數 (voltinism) 減少 (Lindestad *et al.* 2019)。



儘管多數物種的滯育表現都隨緯度梯度漸變，區域性的氣候條件（local climate condition）也可能會影響滯育相關性狀的適應。比如說山脈高度或洋流往往會影響當地的溫度，進而決定生長、繁殖季節的長短與族群進入滯育的時程。日本本州的豆象（*Bruchidius dorsalis*）族群其滯育時程也不隨緯度梯度漸變（亦即：緯度居中的長野族群優先啟動滯育，其次為最北的岩手族群、最後是最南的神奈川族群），這反應了不同族群對當地環境溫度的適應（Kurota & Shimada 2003）。在果蠅（*Drosophila montana*）的研究中發現，俄羅斯堪察加半島的族群（56°N）與高緯度的芬蘭、阿拉斯加族群（60°N~61°N）誘發滯育的日照長度類似（Tyukmaeva *et al.* 2020）。這顯示區域性氣候條件讓堪察加半島的生長季縮短並提早進入惡劣的低溫環境，地區性適應（local adaptation）的結果使得該族群較同緯度的其他族群更早進入滯育。然而，在過去的文獻中，這些違背 Danilevsky's rule 的反例並沒有被提出實驗性的證據，來說明族群之間滯育物候的差異是源自於對區域性氣候因子的生理適應。

### 1.3 埋葬蟲族群滯育時程的分化：棲地溫度的重要性

為了釐清環境條件的差異如何塑造不同族群之間物候時程的分化，我們使用沿緯度梯度的三個尼泊爾埋葬蟲（*Nicrophorus nepalensis*）族群——日本的奄美大島（Amami Ōshima）、沖繩（Okinawa）與臺灣的烏來（Wulai）作為研究對象，闡明除了緯度效應之外，區域性的氣候條件對不同地區族群的滯育啟動時程也扮演重要的影響因子。

與許多昆蟲類似地，尼泊爾埋葬蟲以成蟲的形式滯育（Hwang & Shiao 2011；Tsai *et al.* 2020b）。成蟲滯育（亦即：生殖滯育，reproductive diapause）通常會伴隨一系列抑制生殖表現的生理與行為特徵：生理上，卵巢（Zhai *et al.* 2016）與副性腺（accessory gland, Urbanova *et al.* 2016）等生殖系統發育不全；在行為上，雄性不傾向求偶（Ala-Honkola *et al.* 2020），交配行為也較少出現（Greenfield & Pener 1992）。啟動生殖滯育的時間點關乎成蟲的繁殖與生存之間的權衡（Musolin & Numata 2003）。太早啟動滯育形同在優渥的環境消耗珍貴的能量儲存，而太晚啟動滯育則可能無法順利度過逆境。藉由操作實驗，我們可以

瞭解一個族群中半數個體啟動滯育的日照（亦即：臨界日照，critical day length），這不僅是有效量化族群滯育時程的測量值，更能代表一個族群的物候特徵：在臨界日照之前，有利於個體繁殖；過了臨界日照以後，進入休眠才是較佳的策略（Tyukmaeva *et al.* 2011）。

透過比較三個族群的棲地環境因子（biotope），顯示族群之間的滯育物候在年周時間生態區位（annual temporal niche space）可能已經分化，同時也確認春季（12h 日照）是時間生態區位分歧的關鍵時間點（圖一）。進一步地，我們在實驗室中對不同光週期下飼育的埋葬蟲進行共園繁殖實驗與活動量測試，發現族群之間的功能性狀（functional trait）——滯育時程也展現顯著的差異（圖一），且為遺傳上的分化（並非表型可塑性）。藉由三個島嶼的棲地環境去推測鄰近族群的時間生態區位，我們揭示尼泊爾埋葬蟲的滯育物候並不隨緯度漸變（亦即：緯度越高的族群其夏季滯育啟動的時程則越能夠延遲），而是受到春季區域性溫度條件的影響更甚（亦即：其棲地提供超過溫度生理限制的族群優先啟動滯育）。

研究物候特徵如何受環境因子影響並進而探討其生理適應機制，將會有助於瞭解不同族群在面對氣候暖化下的反應。我們發現區域性的氣候條件顯著地影響不同族群之間的物候節律，此結果可作為評估未來氣候變遷情境下物種脆弱度（vulnerability）的參考。

## 第二章 材料與方法



### 2.1 研究物種

#### 2.1.1 尼泊爾埋葬蟲的生活史與繁植物候

埋葬蟲 (burying beetles)，一般泛指埋葬蟲科 (Silphidae) 底下覆葬甲屬 (*Nicrophorus*) 的物種，它們會使用小型脊椎動物 (約200g以內，Trumbo 1990) 屍體進行繁殖，並作為自己和子代的食物來源 (Scott 1998)。在野外，屍體是營養價值高且不易取得的珍貴資源 (Tallamy & Wood 1986)，當多隻個體遇到屍體會展開種內或種間的競爭 (Wilson *et al.* 1984; Scott 1998)。在實驗室中的研究發現，當一對埋葬蟲找到屍體後會先交配，並開始處理屍體 (包括：除毛，Pukowski 1933、分泌防腐的化學物質並塗抹在屍體上，Hoback *et al.* 2004)；隨後將屍體滾成一顆肉球埋入土中，最終由雌蟲在屍球周圍下蛋。親蟲會持續待在屍球附近，待幼蟲孵化後展現親代照顧 (parental care)，以利子代成長也增加存活率 (Eggert *et al.* 1998)。雄蟲負責保衛巢與屍體資源而雌蟲則反芻餵食幼蟲 (Fetherston *et al.* 1990)。約莫14天後，終齡 (三齡) 的幼蟲會離巢並準備化蛹。經過1.5個月的蛹期後，羽化的成蟲得先進食並度過約2~3週的時間以達到性成熟 (Wilson & Knollenberg 1984)，方可再度交配產生下一個世代。在實驗室內，雌蟲一生會展現多次的繁殖意願 (Creighton *et al.* 2009)；然而，在野外變動的環境，繁殖表現則受溫度 (Tsai *et al.* 2020a) 與高溫伴隨的麗蠅 (family Calliphoridae) 壓力 (Scott 1998; Sun *et al.* 2014) 限制。

尼泊爾埋葬蟲 (*Nicrophorus nepalensis*) 是一種狹溫適寒性 (Hwang & Shiao 2011) 卻又廣泛分佈於亞洲各地 (Sikes *et al.* 2006) 的埋葬蟲。長期的野外族群密度調查顯示，東亞五個高矮山區的尼泊爾埋葬蟲族群出現的溫度範圍接近 (Tsai *et al.* 2020b)。但由於棲地的海拔跨幅不同，山脈可以提供符合此溫度區間對應的月份也不同；也正因為如此，不同族群地區性適應出明顯的繁殖季節差異 (Tsai *et al.* 2020b)。低海拔族群 (日本奄美大島和臺灣烏來) 只在冬天繁

殖、中海拔族群（臺灣拉拉山與合歡山）則可以全年生殖、高海拔（中國夾金山）因為冬天太冷所以族群僅在夏天繁殖（Tsai *et al.* 2020b）。

本研究使用沿緯度梯度的族群取樣設計（latitudinal design）：以日本奄美大島（28°N）、沖繩（26°N）和臺灣烏來（24°N）三個族群作為研究對象；除了緯度差異之外，三個地區的山脈高度及受洋流影響程度等環境條件亦有所不同，這有助於區別緯度本身與區域性氣候條件對族群滯育物候的影響。與其他埋葬蟲相似地（Wilson *et al.* 1984；Nisimura *et al.* 2002），三個族群在夏天長日照的季節會以成蟲的形式進入夏眠（estivation，Masaki 1980），但滯育啟動的先後順序仍未知，因此適合作為瞭解環境因子如何影響族群之間滯育時程差異的研究材料。

### 2.1.2 實驗室族群的建立與維持

我們在實驗室中建立奄美大島、沖繩及烏來三個累代繁殖的尼泊爾埋葬蟲族群供後續活動量測試與繁殖實驗使用。我們自野外樣區以裝有腐爛豬肉作為誘餌的懸掛式陷阱採集個體（wild caught）並將之帶回研究室建立第一代實驗室族群（稱之為wild-type）與後續世代（F1, F2...以此類推）。三個地區的實驗室族群被維持在同樣的溫度（16±3°C的變溫環境）、濕度（83~100%），但不同日照條件（10L:14D；11L:13D；12L:12D；14L:10D）的生長箱中（圖二）。所有個體以單隻飼養於320ml透明塑膠方盒中，以培養土為底材，每週檢查土壤濕度並餵食一隻大麥蟲（*Zophobas morio*）。

進行常態性的累代繁殖時，我們使用10L:14D環境下飼育的雌雄個體，將它們配對於填有10cm厚培養土的透明昆蟲飼養箱（21cm×13cm×13cm）中，並給予75±7.5g的新鮮大鼠屍體作為繁殖資源。14天後，離巢的三齡幼蟲會被安置於各自獨立的分格塑膠盒中準備化蛹，且每個隔間都填入高濕度、緊實的培養土以利幼蟲製造蛹室。每一巢孵化出的幼蟲會被隨機指定至少7隻個體作為實驗個體，在蛹期與成蟲性成熟階段接受四個不同日照長度的刺激（若一巢不滿28隻則均分），該巢的其餘個體則持續飼育於10L:14D日照環境中供下一輪常態性累代繁殖使用（圖二）。

## 2.2 實驗設計與處理

為了釐清不同族群之間繁殖與滯育物候的分化，我們使用3×4多因子實驗設計（factorial experimental design）來檢測（1）三個族群：奄美大島、沖繩及烏來在（2）四個光週期處理：10L:14D；11L:13D；12L:12D；14L:10D 之下，（3）相關的功能性狀：繁殖光週期、日周活動量與滯育啟動時程所展現之差異（圖三）。

如前述所提及，我們的光週期處理主要著重在蛹期（羽化前45天起）與成蟲期的性成熟階段（羽化後30天止），因此每隻個體被用於實驗前至少會經歷共計75天的光週期處理。強調此發育階段的原因在於，許多行生殖滯育的物種決定是否啟動滯育的關鍵期（sensitive period for diapause）大多落在羽化後第一天開始（Danilevsky 1965）並持續數天（例如：豆象（*Bruchidius dorsalis*）持續5天，Kurota and Shimada 2003；果蠅（*Drosophila montana*）持續8天，Salminen and Hoikkala 2013；花椿（*Orius insidiosus*）持續至少14天，Ruberson *et al.* 2000）。因此，我們認為在蛹期加上性成熟階段（理論上囊括該關鍵時期）給予日照刺激的處理已經能有效的決定個體的性成熟或滯育狀態。完成光週期處理的實驗個體會先被用於日周活動量的測量，接著再被配對進行繁殖實驗（圖三）。

為了比較性成熟與滯育個體の日周活動量，我們必須考量到測量當下的日照條件對活動量表現的影響。由於生理時鐘具有可以被外在環境的明暗微幅調整並使其與之同步的特性（entrainment, Roenneberg *et al.* 2003），因此在不同日照長度之下會展現不同的活動持續時間。為了消除這個差異並在同一個基準下進行測量，我們選擇在不會促進發育的長日照14L:10D環境下測量實驗個體の日周活動量，避免已經進入滯育的埋葬蟲因為短日照的刺激而誘發性腺成熟。後續的配對繁殖實驗也在相同環境下進行。所有實驗個體自離巢後起算的平均日齡為106天。

## 2.3 日周活動量實驗

### 2.3.1 活動量的測量

我們以Locomotor Activity Monitor 25 system（LAM25, TriKinetics Inc., Waltham, MA, USA, <http://www.trikinetics.com/>, Pfeiffenberger *et al.* 2010）活動監



測器來測量實驗個體的日周活動量。LAM25的基本原理是計算動物通過紅外線閘門而阻斷接收的次數，來量化動物的活躍程度（圖四A）。

一台監測器包含32個通道（可同時測量32隻個體），每個通道的周圍都設有三對紅外線發射端與接收端所組成的閘門，任一條紅外線光束被阻斷即算作一次活動。實驗個體會被置入一個直徑25mm、長125mm的透明玻璃管（PGT25 × 125, TriKinetics Inc.），玻璃管的一端連接一個320ml且內含培養土的透明塑膠方盒、另一端提供半條大麥蟲作為食物資源（圖四A）。測量開始前，內有埋葬蟲的透明玻璃管會被水平地安裝在附有紅外線閘門的通道上（圖四B）；而玻璃管兩端的設計，使得活躍的個體傾向通過閘門、阻斷紅外線去進食（圖四C），滯育的個體則傾向躲藏在方盒的培養土裡（圖四D）。組裝完成的活動監測器會先連接電腦，使用DAMSystem3軟體設定資料讀取頻率為一分鐘（亦即，每一分鐘內的活動次數會加總整合成一筆資料匯出），並確認資料傳輸無誤後即可開始記錄。實驗為期四天，包括第一天的環境適應和後三天的活動量資料收集。實驗開始的時間為設置當天環境日照（14L:10D）所設定的入夜時間（19:01pm），並持續記錄至四天後的入夜時間為止。

TriKinetics系列的活動監測器提供一個快速量化動物活躍程度的方法，且已經被使用於埋葬蟲（Keller *et al.* 2019）及其他類似體型的昆蟲上（Kaniewska *et al.* 2020）。雖然使用此類的活動監測器所獲得的數據不像錄影能描述動物的詳細行為模式，但有研究透過比對活動監測器所記錄到的活動次數與測量時的錄影紀錄，表明活動次數對於瞭解個體大致上的活躍程度是可信的指標（Thyselius & Nordstrom 2016）。

### 2.3.2 活動量資料的特徵提取與隨機森林模型的生成

對於單純比較滯育與活躍（非滯育，non-diapause）個體的活動量而言，計算樣本平均是一個方便的統計方法；然而，若要從活動量隨時間變化的趨勢反過來預測個體的滯育狀態，則可能需要產生除了平均值之外更多可以描述時間序列的特徵，來建立一個有效的預測模型。因此，在取得埋葬蟲的活動量資料之後，我們先進行資料前處理（preprocessing），接著提取並選擇重要的時間序列特徵，最後再利用這些篩選過的特徵來訓練一個高精準度的預測模型（圖五）。



為了更清楚的瞭解活動量隨時間變化的模式 (pattern)，我們對活動量原始資料以滑動視窗的方法 (sliding window approach) 獲得移動平均，進而達到平滑化 (smoothing) 與去除雜訊的效果 (Hota *et al.* 2017)。接著，我們使用python的tsfresh套件 (Christ *et al.* 2018) 對平滑化的活動量資料以「extract\_features」函式提取出787個時間序列特徵，隨後使用「select\_features」函式篩選出398個重要特徵用於模型建立。最後，我們將可以透過行為判斷滯育狀態 (圖六) 的558隻個體資料集劃分為70%訓練集 (training sets) 與30%測試集 (test sets)。我們以訓練集建立一個有200棵決策樹共同投票的隨機森林分類器 (random forest classifier, Breiman 2001)；此模型以 (1) 滯育狀態作為標籤 (labels)，並以 (2) 篩選過後398個時間序列特徵 (features) 來進行預測 (圖五)。所有資料處理與模型建立均以Python 3.9.12在jupyter lab 3.0.14環境中執行。

tsfresh套件能自動化地提取與選擇重要的時間序列特徵，因此已經廣為各領域使用。在生態學上，有研究採用此套件來提取鈎吻鮭 (*Oncorhynchus keta*) 洄游的移動軌跡特徵，並加以推測哪些特徵對它們前往目的地 (出生的河川) 的決策是重要的 (Tian *et al.* 2021)。而隨機森林模型不僅有高精準度、不容易過度擬合 (overfitting) 等優點；一份探討如何以環境因子預測外來種植物入侵的研究顯示：相較於其他分類模型，隨機森林對於模型預測的特徵重要性 (feature importance) 與基於文獻的預期更為吻合 (Cutler *et al.* 2007)。儘管在過去，動物的日夜活動模式不容易以肉眼來界定該個體是否表現生殖滯育。本研究透過時間序列的特徵提取加上隨機森林分類器的預測，將提供一個更客觀、更精準的方法，以動物日周的活動模式推測其年周的滯育表現。

## 2.4 共園繁殖實驗

我們以共園繁殖實驗來瞭解族群之間繁殖光週期 (reproductive photoperiodism) 的差異；亦即，在不同日照處理 (10L:14D；11L:13D；12L:12D；14L:10D) 的刺激下，族群之間繁殖成功率如何展現差異。透過共園實驗的實驗設計 (亦即：僅操縱「日照長度」並控制其餘因子)，我們可以明確的測試光週期對繁殖成功的影響。再者，透過比較同個日照處理中，不同族群繁殖

成功率是否展現差異，可以瞭解三個族群之間繁殖光週期的地理差異（geographic variation）是否源自於遺傳上的分化（genetic differentiation）抑或是表現型的可塑性（phenotypic plasticity）。

活動量實驗結束並給予實驗個體至少一天休息之後，配對的雌雄埋葬蟲會繼續在同樣的生長箱（14L:10D； $16\pm 3^{\circ}\text{C}$ ；RH:83~100%；Hipoint走入式生長箱）中進行繁殖實驗。相同光週期處理的雌雄個體會被置於填有10cm厚培養土的透明昆蟲飼養箱（21cm×13cm×13cm）中，並且將作為繁殖資源的 $75\pm 7.5\text{g}$ 新鮮大鼠屍體放置於土表中央。兩週後，詳細記錄每一巢的繁殖成功與親蟲的繁殖行為。繁殖成功定義為三齡幼蟲成功孵化，反之，繁殖失敗則無幼蟲出現。每一巢繁殖均使用不同的雌雄配對，因此視為獨立的樣本。而每隻個體亦不會被重複地配對。

不同日照處理下的繁殖成功率即代表該族群的繁殖光週期；而除了獲得此「成對」的性狀之外，透過記錄一系列能代表親蟲繁殖意願的行為（圖六），可以更高解析度地釐清在不同日照處理下，「個體」的滯育狀態。

## 2.5 滯育狀態的評估

根據生殖滯育的特徵，我們在共園實驗中記錄一系列表現繁殖意願的行為來評估個體的滯育狀態。我們將無繁殖意願的個體定義為滯育個體（diapause individuals），反之，展現繁殖意願的個體則定義為非滯育且性成熟的活躍個體（active individuals）（圖六）。

在繁殖實驗結束時，我們會逐巢記錄以下特徵：首先，我們先記錄該巢（1）是否繁殖成功，若成功則雌雄都定義為活躍個體。對於繁殖失敗的巢，我們則會記錄親蟲（2）是否有埋屍體，若過了兩週的屍體仍位於土表沒有被埋，則雌雄均定義為滯育個體。若屍體有被埋但卻無子代出現，則我們會記錄（3）親蟲是否在屍球附近活動、處理屍體；通常兩隻親蟲至少會有一隻展現此行為，另一隻則會在離屍球相對遠的位置，我們將處理屍體者定義為活躍個體。再者，我們會注意（4）雌蟲是否產蛋，通常未受精的蛋會散佈在屍球附近，下蛋的母蟲也會被定義為活躍個體。根據觀察經驗，滯育個體一般來說會蜷縮、腹部朝上

地躲在飼養箱深處的土中的一個符合身體大小的凹洞中。我們將位於(5)離底部3公分內的個體判定為滯育個體(圖六)。

記錄這些繁殖行為不僅幫助我們判斷個體滯育狀態，也作為訓練2.3.2所提之隨機森林模型的標籤。若實驗個體不符合上述的五項行為特徵，則被歸類為「無法透過行為判斷滯育狀態的個體」。我們將應用建立的隨機森林模型對無法透過行為判斷滯育狀態的65隻個體進行推測(inference)(圖五)，藉此獲得所有實驗個體的滯育狀態，以利後續實驗分析。


## 2.6 氣候資料

我們自WorldClim v2(1970年至2000年的30s空間解像力紀錄，<http://www.worldclim.com/version2>，Fick and Hijmans 2017)上擷取一到五月的奄美大島、沖繩及烏來山脈上下界平均溫度來瞭解三個族群的棲地所能提供的溫度範圍從冬天進入夏天的逐月變化。奄美大島族群的棲地從海拔60m(129°19'10''E, 28°19'50''N)到海拔700m(129°19'16''E, 28°17'46''N)的湯灣岳最高點；沖繩族群的棲地則從海拔60m(128°11'37''E, 26°45'37''N)到海拔500m(128°13'7''E, 26°43'1''N)的與那霸岳最高峰；烏來族群的棲地從山脈上界海拔900m(121°30'30''E, 24°49'44''N)到下界海拔約300m(121°31'29''E, 24°49'51''N)。

## 2.7 統計分析

我們以廣義線性模型(generalized linear model, GLM)來分析日照處理與族群差異等因子對(1)繁殖光週期、(2)日周活動量與(3)滯育啟動時程，三個功能性狀的影響。

由於奄美族群在11-h處理中所有配對均繁殖成功，而沖繩族群在14-h處理下無成功繁殖配對；我們以「bayesglm」函式進行配對繁殖成功率的分析，克服統計上quasi-complete separation所導致之參數估計的信賴度下降。我們以雌雄蟲的平均體重與年齡作為控制因子，擬合二項分布的邏輯回歸，以探討不同日照處理下族群間繁殖成功率(1=繁殖成功，0=繁殖失敗)的差異。再者，個體日周活



動為三天活動量（每分鐘阻斷紅外線接收次數）的平均值，並以 $\log_{10}$ 轉換來改善資料分布狀況。日周活動量的分析則使用「glm」函式來建立統計模型，我們擬合高斯分布的線性回歸、以年齡作為控制因子來比較不同族群之間日照處理對活動量的影響，以及滯育與活躍個體的活動量差異。我們以Tukey's HSD進行事後成對比較（post-hoc pairwise comparisons），來檢定兩兩族群之間是否展現顯著差異。最後，為了比較族群之間的滯育時程，我們以「drc」套件（Ritz *et al.* 2015）中的「mselect」函式來決定最佳的參數估計數量；並以「drm」函式來擬合三條對數成長分布（log-logistic distribution）的劑量－反應曲線（dose-response curve），以代表三個族群的光週期反應曲線（photoperiodic response curves）。一個族群的光週期反應曲線能展現該族群的滯育比例隨日照長度的變化，當族群的滯育比例達50%時所對應到的日照即為該族群的臨界日照。我們以「EDcomp」函式來比較族群之間臨界日照的差異，以檢測一個族群的滯育時程是否顯著地較其他族群提前抑或延後。

所有統計檢定均以R 4.0.2（R Statistics, Vienna, Austria）在RStudio 1.3.1093環境中進行分析。

## 第三章 研究結果



### 3.1 從棲地環境差異預測時間生態區位的分化

為了瞭解環境差異如何影響族群間不同步的滯育時程，我們比較三個地區山脈上下界的平均溫度從冬季進入夏季的變化。從（圖七）可以發現，沖繩上半年均溫大致上都高於奄美與烏來。在圖上標示日照 11h（奄美 2/8；沖繩 2/4；烏來 1/31）與 12h（奄美 3/17；沖繩 3/16；烏來 3/16）的日期，我們發現：在日照 11h 時三個地區的溫度都不超過尼泊爾埋葬蟲的最佳繁殖溫度 16°C（Tsai *et al.* 2020a）；然而，在日照 12h 時沖繩山脈的高溫已經超過 16°C，不適合埋葬蟲繁殖，但是奄美與烏來的山脈卻仍然可以提供適合理葬蟲繁殖的溫度。

基於棲地溫度條件的差異，我們預測三個族群在夏眠季節的時間生態區位已經分化：沖繩族群在春天半日照（12h）的季節已經進入休眠，而奄美與烏來族群仍會活動和繁殖。我們進一步地分別以室內繁殖實驗和活動量測試來檢驗族群之間的功能性狀（繁殖光週期、日周活動量與滯育啟動時程）是否也展現差異。

### 3.2 日照長度對埋葬蟲配對繁殖光週期的影響

為了驗證夏眠時間生態區位的分化，我們在實驗室內測量三個族群在不同日照處理（10-h、11-h、12-h、14-h）下的繁殖成功率，來檢測族群之間繁殖光週期的差異。我們特別關注 12-h 處理，以確認奄美與烏來族群是否在春季有著優於沖繩族群的繁殖表現。

實驗結果顯示，尼泊爾埋葬蟲受光週期調節的繁殖成功率在族群之間展現差異（GLM，族群×日照處理： $\chi^2=16.827$ ,  $P=0.010$ ；表一 A）。其中，奄美與烏來族群在 12-h 光週期環境下羽化、性熟的個體，有著顯著較沖繩族群高的配對繁殖成功率（post-hoc test after GLM，奄美 *versus* 沖繩： $P=0.011$ ；烏來 *versus* 沖繩： $P=0.001$ ；圖八，表一 B）。此結果與時間生態區位分化的預測吻合，在半日照的春季，奄美與烏來的埋葬蟲仍可成功繁殖，但沖繩的埋葬蟲卻大部分都不繁殖。


而在 14-h 光週期處理中，奄美族群的繁殖成功率顯著高於沖繩族群（post-hoc test after GLM,  $P=0.022$ ；圖八，表一 B）、而烏來的繁殖成功率雖然未達顯著但亦高於沖繩族群（post-hoc test after GLM,  $P=0.131$ ；圖八，表一 B）；此結果顯示奄美與烏來族群中有部分的個體是在夏天（14-h）也能成功繁殖的，也就是全年繁殖的個體（year-round breeder），然而沖繩族群中均為只能在冬天生殖的季節性繁殖個體（seasonal breeder）。

最後，三個族群在 10-h 與 11-h 處理的配對繁殖成功率都相當（post-hoc test after GLM, 10-h: 奄美 versus 沖繩： $P=0.770$ ；烏來 versus 沖繩： $P=0.807$ ；奄美 versus 烏來： $P=1.000$ ；11-h: 奄美 versus 沖繩： $P=0.139$ ；烏來 versus 沖繩： $P=0.455$ ；奄美 versus 烏來： $P=0.463$ ；圖八，表一 B），此結果顯示三個族群在冬天短日照的季節都能展現類似的高繁殖成功率（圖八）。其中，奄美與沖繩族群在 11-h 光週期中羽化和性熟後有最佳的繁殖成功表現，顯著優於 12-h 和 14-h（post-hoc test after GLM，奄美：11-h versus 12-h:  $P=0.034$ , 11-h versus 14-h:  $P=0.005$ ；沖繩：11-h versus 12-h:  $P<0.001$ , 11-h versus 14-h:  $P<0.001$ ；表一 C），而烏來族群的 11-h 處理組繁殖成功則是顯著高於 14-h（post-hoc test after GLM, 11-h versus 14-h:  $P<0.001$ ；表一 C）此結果說明，三個族群的埋葬蟲在 11-h 環境下羽化、性熟後有最佳的繁殖成功率。

### 3.3 日照長度對埋葬蟲個體日周活動的影響

除了配對的繁殖表現之外，我們也想瞭解單隻個體的活動量是否也符合夏眠時間生態區位分化的預測：奄美與烏來的埋葬蟲在春季比沖繩族群更為活躍。我們在實驗室中測量了四個日照處理（10-h、11-h、12-h、14-h）個體的活動量，來檢測 12-h 處理的奄美與烏來個體是否比沖繩個體有更高的活動量。

結果顯示，尼泊爾埋葬蟲的日周活動也受光週期調控，且不同族群對日照的反應不同（GLM，族群×日照處理： $F=3.291$ ,  $P=0.003$ ；表二 A）。其中，奄美與烏來族群在 12-h 環境下羽化、性熟的個體，比沖繩個體有顯著較高的活動量（post-hoc test after GLM，奄美 versus 沖繩： $P<0.001$ ；烏來 versus 沖繩： $P=0.012$ ；圖九，表二 B）。此結果說明，在半日照的春季，奄美與烏來的埋葬蟲



仍活躍，但沖繩的埋葬蟲卻相對不活動。另外，三個族群在代表夏天的 14-h 處理中均展現最低的活動量（post-hoc test after GLM，奄美：10-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ , 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ , 12-h *versus* 14-h:  $P = 0.001$ ；沖繩：10-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ , 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ , 12-h *versus* 14-h:  $P = 0.021$ ；烏來：10-h *versus* 14-h:  $P = 0.003$ , 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ , 12-h *versus* 14-h:  $P = 0.073$ ；圖九，表二 C）；然而，奄美與烏來仍較沖繩有更高的活動量（post-hoc test after GLM，奄美 *versus* 沖繩:  $P = 0.001$ ；烏來 *versus* 沖繩:  $P = 0.019$ ；圖九，表二 B）。此結果顯示，夏天為三個地區埋葬蟲最不活躍的季節，但是擁有部分為全年繁殖個體的奄美與烏來族群仍比只能在冬季季節性繁殖的沖繩族群展現更高的活躍程度。

反之，在冬天短日照的季節中，三個族群都較活躍；在奄美與沖繩族群中，11-h 處理組的活動量顯著高於 12-h 和 14-h（post-hoc test after GLM，奄美：11-h *versus* 12-h:  $P = 0.004$ , 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ ；沖繩：11-h *versus* 12-h:  $P < 0.001$ , 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ ；表二 C），而烏來族群的 11-h 處理組活動量則是顯著高於 14-h（post-hoc test after GLM, 11-h *versus* 14-h:  $P < 0.001$ ；表二 C）。此結果說明，三個族群的埋葬蟲在 11-h 環境下羽化、性熟後有最佳的活動表現；另外，回顧共園繁殖實驗的結果（圖八），我們發現光週期對個體日周活動量與配對繁殖有類似的影響趨勢，都在 11-h 表現最高、14-h 表現最低。而族群之間功能性狀的差異則符合時間生態區位分化的預測，在春季的沖繩，高溫的影響讓個體較不活躍、繁殖成功率也較低。而奄美與烏來的春天仍可以提供適合的溫度讓埋葬蟲表現較高的活動量和生殖成功。

### 3.4 以埋葬蟲個體的日周活動預測其年周滯育表現

為了瞭解族群之間的滯育時程如何受環境影響，確認個體的滯育狀態是很重要的步驟。我們從繁殖實驗中擷取一系列的行為（圖六）來評估個體為活躍（性成熟）或滯育，利用這些已知滯育狀態的個體活動量資料來建立模型，幫助我們預測部分無法判斷滯育狀態的個體，最終獲得所有個體的滯育性狀。

我們發現：以活動量的時間序列特徵所訓練生成的隨機森林分類器（圖十）能夠精準地（accuracy: 90.4%, F1-score: 88.5%）預測個體的滯育狀態，這驗證了



埋葬蟲每日活動週期與其年周的滯育狀態確實為兩個高度相關的性狀。另外，我們的結果也顯示，活躍和滯育個體的活動表現在族群間有所不同（GLM，族群×滯育與否： $F=10.851, P<0.001$ ）；比如說，沖繩的滯育個體比奄美與烏來的滯育個體有更低的活動量（post-hoc test after GLM，沖繩 *versus* 奄美： $P=0.005$ ；沖繩 *versus* 烏來： $P=0.027$ ，圖十一，表三 B）。然而，三個族群的共通點為：性成熟的活躍個體都有顯著高於滯育個體的平均活動頻度（post-hoc test after GLM，奄美： $P<0.001$ ；沖繩： $P<0.001$ ；烏來： $P<0.001$ ；圖十一，表三 C）。這顯示了有生殖力的埋葬蟲比休眠個體在行為上展現更高的活躍程度。

### 3.5 區域性的氣候條件驅動不隨緯度漸變的滯育時程

為了檢測不同族群的滯育時程是隨緯度漸變、抑或是受區域性的溫度影響更甚；我們以四個日照處理的個體其滯育狀態來繪製族群的光週期反應曲線（圖十二），揭示從冬季（短日照，10h）到夏季（長日照，14h）這段期間，三個的族群啟動滯育的先後順序。根據圖十二可知，緯度居中的沖繩優先啟動滯育（臨界日照為 11.6h）、再者為緯度最南的烏來（臨界日照為 13.0h）、最後才是緯度最北的奄美（臨界日照為 13.9h）；此結果顯示：沿緯度分布的島鏈族群，其滯育啟動時程並不隨緯度漸變。

而我們的實驗結果表明，地理上距離臨近的埋葬蟲族群，區域性氣候條件對族群間滯育啟動時程有更顯著的影響。在代表春天的 12-h 光週期處理中，奄美與烏來分別有 100%與 76%的個體是活躍；反之，沖繩族群卻僅剩下 22%的活躍個體，絕大多數（78%）都已進入滯育狀態。這反應了春季沖繩的高溫讓該族群提早進入滯育，多數個體處於不活動也不繁殖的休眠狀態；然而同樣季節的奄美與烏來卻因為溫度的允許，個體仍會活動和生殖，滯育則較晚才啟動（圖十二）。

我們的結果揭示，單純以緯度為依據並無法完全解釋生物族群的滯育物候。透過瞭解族群之間的時間生態區位如何分化，可以有效的反應不同族群在功能性狀上展現的差異：沖繩族群的滯育時程高度顯著地較奄美（test for relative potencies； $t=7.937, P<0.001$ ）與烏來（ $t=6.082, P<0.001$ ）提前，而烏來族群也早於奄美（ $t=2.524, P=0.012$ ）（圖十二）。

## 第四章 討論



### 4.1 棲地溫度條件對埋葬蟲滯育時程的重要性

本研究發現：緯度居中的沖繩族群其滯育時程顯著地較高緯的奄美族群與低緯的烏來族群提早，而這可能歸因於沖繩的春季高溫已經不利埋葬蟲繁殖與活動。在東亞這三個鄰近島嶼的埋葬蟲族群中，滯育時程的差異受當地溫度影響更勝過緯度效應，符合區域性氣候條件的假說。此結果彰顯出：在評估不同地區族群之間的物候適應時，不應該只考慮巨觀的物理條件（例如：緯度）；區域性的氣候特徵可能造成族群在時間或空間生態區位的分化，進而影響其物候時程。

### 4.2 埋葬蟲滯育時程的地理差異源自遺傳上的分化

操縱光週期的共園實驗結果顯示：在 12-h 處理中，沖繩族群表現出比奄美和烏來族群顯著更低的繁殖成功、活躍程度，與較高的滯育比例。這揭示了：在奄美、沖繩與烏來的三個埋葬蟲族群之間，與繁殖、滯育相關功能性狀（繁殖光週期、日週活動與滯育啟動時程）所展現的差異是源於遺傳上的分化，而非表現型的可塑性。同種不同族群間的遺傳分化時常與地區之間不等的天擇壓力有關；不同族群在趨異選汰（*divergent selection*）的驅動下，適應性的性狀會傾向在族群中被篩選、固定，從而導致一個族群的地區適應（亦即：該族群在其原生棲地的適存度（*fitness*）會表現得比播遷移入的其他族群還要更高，Williams 1966）。


族群之間功能性狀的變異是否為地區適應性可以藉由在野外進行互換移植（*reciprocal transplant*）實驗直接偵測（Savolainen *et al.* 2013）；例如，在夏天的合歡山上，當地的埋葬蟲族群（全年繁殖）展現出比移入的烏來族群（僅冬天繁殖）更高的繁殖意願及繁殖成功率，這證明了臺灣北部與中部兩個埋葬蟲族群之間繁植物候的差異為地區適應的結果（Tsai *et al.* 2020b）。由於部分動物在野外移地實驗有技術上的困難及其侷限性，許多研究則在實驗室中進行共園實驗

(Kawecki & Ebert 2004)；透過操縱關鍵的環境因子（並控制其餘因子）來檢測族群間性狀的差異是否歸因於遺傳上的分歧。我們的結果揭示了埋葬蟲族群不同步的滯育時程是遺傳分化的結果；儘管共園實驗無法直接驗證當地族群的最大適存度，在不同環境條件下的基因型與表現型分化仍然可以說明地區的適應性 (Conover *et al.* 2009)。

### 4.3 區域性氣候特徵決定族群的物候節律

儘管許多昆蟲的滯育物候都沿緯度漸變 (Masaki 1999)，本研究結果強調了生物對區域性溫度條件的適應，讓島鏈的三個埋葬蟲族群展現不隨緯度梯度漸變的滯育時程。而區域性的環境條件除了溫度等非生物因子之外，生物因子（例如：食草的品質，Takagi and Miyashita 2008）也被認為可能影響滯育物候，造成緯度接近的族群有了不同的生命週期。在日本瀨戶內海東部海域的群島中，幾乎生長在相同緯度（34.6°N）的密紋波眼蝶 (*Ypthima multistriata*) 族群卻表現兩種不同化性：男鹿島 (Tangashima) 為較乾燥的草原、食草品質不佳，因此幼蟲發育較慢 (Hasegawa *et al.* 2019)，一年只能有一世代；家島 (Ieshima) 則靠近森林邊緣、食草豐盛，一年可以繁殖兩世代 (Noriyuki *et al.* 2011)。

本研究以區域性環境條件對應出不同族群的時間生態區位，能有效的預測族群之間物候時程的差異。類似的概念被使用在一個北美洲雪靴兔 (*Lepus americanus*) 換毛物候 (molt phenology；毛色隨季節變換，夏天為棕毛，冬天轉變為可以融入雪地背景的白毛) 的案例 (Zimova *et al.* 2019)。該研究透過擷取不同棲地融雪後的水層高度 (雪水當量，water equivalent of snow) 來估算積雪期起迄與持續時間，也就是該地族群適合表現雪白毛色的時間生態區位。由此可釐清不同地區時間生態區位分化的情形：在春季時節，北部的加拿大比南部的科羅拉多還更早結束積雪期。而實驗也證實族群間的功能性狀符合時間生態區位的預測：高緯度的加拿大族群比低緯度科羅拉多族群更早褪為棕毛 (Zimova *et al.* 2019)。這違反普遍基於緯度梯度漸變的預期 (亦即：寒冷的高緯度地區應該比低緯地區更晚結束雪季)，反而彰顯區域性環境條件 (海拔與長期的最低溫) 對換毛物候有著決定性的影響。



而我們的研究顯示東亞三個尼泊爾埋葬蟲族群之間展現不同步的滯育時程。與前述雪兔的例子相似地，兩個案例的物候表現都並非隨緯度變化，而是受區域性的氣候條件影響較多（Zimova *et al.* 2019）；相異地，雪兔族群之間換毛物候的啟動與速率差異為表型可塑性（Kumar *et al.* 2020），而埋葬蟲不管是繁殖季節（Tsai *et al.* 2020b）或是滯育時程差異則是源於族群之間的遺傳分化。由於在遺傳上適應當地環境的特徵較不具有改變的彈性，因此一般認為更容易受到氣候變遷的影響（Phillimore *et al.* 2010）。

#### 4.4 族群物候的地區性適應在氣候變遷下的生態後果

氣候變遷造成的物候變化可能導致有些物種無法短時間內適應環境的改變（Visser 2008），又或者由於物候改變幅度不同造成種間交互作用的不和諧（Kharouba *et al.* 2018），形成所謂的物候不匹配（phenological mismatch）。這些不匹配往往造成繁殖失敗或產生額外的能量消耗而導致物種的適存度下降（Thomas *et al.* 2001）。然而，多數研究仍以物種為單位探討物候不匹配的生態後果，卻忽略族群之間物候特徵的差異可能導致不等的 mismatch 程度，進而使它們在暖化下的脆弱性也不同。在暖化下，融雪導致科羅拉多與新英格蘭的雪靴兔族群比加拿大族群更加頻繁地暴露在無雪的深色背景（亦即：保護色不匹配，camouflage mismatch），因而提升這兩個族群被捕食的機率（Zimova *et al.* 2016），使其更為脆弱（Zimova *et al.* 2019）。

我們的研究顯示，不同族群的尼泊爾埋葬蟲表現不同步的滯育啟動時程，這也暗示著滯育物候的地區性適應。我們推測：暖化下的春季高溫若超過子代成功發育的耐受溫度，對仍有繁殖意願的奄美與烏來族群來說，它們的生殖努力量很有可能被浪費，因此對這兩個族群來說是不利的（maladaptive）。反之，沖繩族群因為已經提早進入滯育，暖化造成的春季繁植物候不匹配則對該族群的衝擊較小。

#### 4.5 季節性的滯育表現與日周活動之間的關係

本研究除了揭示埋葬蟲族群滯育物候的年周律動不隨緯度漸變以外，也發現另一項有趣的結果：埋葬蟲的日周活動可以預測其年周滯育表現。這顯示了晝夜節律（circadian rhythm）與季節性的光週期反應（photoperiodism）在行為上高度相關。

1936年，Bünning最先提出晝夜節律涉及光週期反應中衡量日夜長度機制的假說（Bünning 1937），表明了這兩個週期律動的關聯性且有著共同的調控基礎。近年來，許多研究利用RNA干擾（RNA interference）的方法，造成日夜節律基因（circadian clock gene）的突變或是基因減弱（gene knockdown），來彰顯這些基因對滯育的重要性（Ikeno *et al.* 2010；Meuti *et al.* 2015）。儘管有許多證據支持，部分學者仍質疑晝夜生理時鐘參與調節光週期反應並非必要的因果關係（Bradshaw & Holzapfel 2010）。更精確地說，到底是整個晝夜節律系統還是僅只於系統中的某些日夜節律基因涉及調控季節光週期反應仍有待商榷（Emerson *et al.* 2009）。此外，也有部分研究未觀察到日夜節律基因突變對光週期反應的影響（Bradshaw & Holzapfel 2007）。

至今，多數實證研究關注在兩個生物節律的遺傳基礎。本研究則提供行為證據說明動物一天的活動週期與季節性的滯育表現不僅高度相關，還具可預測性。與其他物種（例如：紅椿，Socha and Zemek 2008、果蠅，Matsunaga *et al.* 1995）相同地，性成熟的尼泊爾埋葬蟲平均活躍程度高於滯育個體；然而，過去儘管明白滯育與否在活動量上的差異，仍然無法做到以活動量預測個體滯育狀態。時至今日，隨著人工智慧的發展，機器學習能較肉眼更全面地擷取和處理各式複雜的表現型特徵，因而在動物行為研究的應用與日俱增（Valletta *et al.* 2017）。我們的研究顯示：透過量化、提取日周的活動特徵，並搭配個體的繁殖行為所建立的隨機森林模型，已經能夠精準地預測昆蟲的滯育。

#### 4.6 研究族群間功能性狀的差異是評估物種脆弱度的關鍵

我們的研究揭示區域性的氣候條件讓不同族群的埋葬蟲各自演化出不同步的滯育物候。此結果凸顯出同種但不同地區的族群時常展現功能性狀（例如：物候節律）的差異，這也暗示著「族群」才是適應的單位。在研究上、乃至於制定保

育政策時，不應該把一個物種視為均質的組成，來評估其在環境變遷下的影響（Foden *et al.* 2018；Krabbenhoft *et al.* 2020）。

越來越多證據顯示，不同特徵的類群（Macgregor *et al.* 2019；Wang *et al.* 2020）、不同地區的族群（Tsai *et al.* 2020b；Bailey *et al.* 2022），或甚至單一區域的數個關聯族群（metapopulation, Buchinger *et al.* 2022）受到環境變遷的影響程度並不相同。比如說，暖化效應所引起的物候提前（phenological advance）擴展了多化性（一年多世代）鱗翅目昆蟲的分佈範圍，對單化性（一年一世代）物種的影響卻是中性或是負面的（Macgregor *et al.* 2019）；在印太海域，海水升溫促進慢生活史步調（slow life-history）魚種的族群成長，但卻對快生活史步調（fast life-history）的魚種較不利（Wang *et al.* 2020）。而氣候變遷也對同種不同族群造成不等的影響。東亞不同地區的尼泊爾埋葬蟲會因為棲地海拔跨幅的差異而適應不同的繁植物候；在暖化的情境下，全年生殖的中海拔族群仍會嘗試在過熱的夏天繁殖，因此相較於高、低海拔的族群更為脆弱（Tsai *et al.* 2020b）。對橫跨歐洲的大山雀（*Parus major*）與藍山雀（*Cyanistes caeruleus*）來說，棲息在落葉林的族群比棲息於常綠林者對物候變化有更高的敏感度，但由於落葉林在過去幾十年中沒有經歷快速的環境變化，因此該棲地族群並沒有展現顯著的物候提前（Bailey *et al.* 2022）。

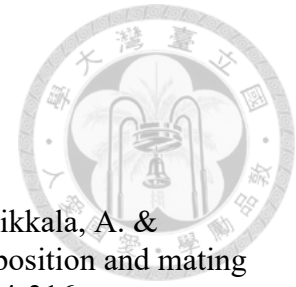
以「族群」的層級評估物種脆弱性能夠更高解析度地量化各個族群所遭受到的衝擊程度，在物種保育上也能更有效率地將有限的資源優先投入最脆弱的族群（Hampe & Petit 2005）。因此我們認為，瞭解同種但不同族群之間重要的功能性狀如何適應截然不同的環境，將會是預測氣候變遷下物種脆弱度的關鍵（Oneill *et al.* 2008）。

## 第五章 結論



本研究透過時間生態區位與功能性狀的相互對應，揭示相鄰島嶼的尼泊爾埋葬蟲族群展現不同步的滯育時程，且此表現型的差異是源自於遺傳上的分化。由於春季沖繩的高溫已經不適合埋葬蟲繁殖，我們預測適應的結果讓該族群的滯育時程比奄美與烏來還更提前啟動。在實驗室中，沖繩族群無論是配對的繁殖成功或個體的日周活動都在半日照的飼育環境下（12-h 處理）表現最差。三個族群的光週期反應曲線也顯示沖繩族群在 11.5h 日照的季節下有半數個體啟動滯育，顯著較奄美與烏來提早。我們證實了鄰近的族群之間表現不隨緯度漸變的滯育啟動時程，反而是受到當地溫度影響較多，符合區域性氣候條件的假說。我們的結果表明：僅靠緯度無法預測一個物種分布範圍內各個族群的繁植物候，顯然同時考量區域性的氣候因子對繁植物候的影響是必須的。

## 參考文獻

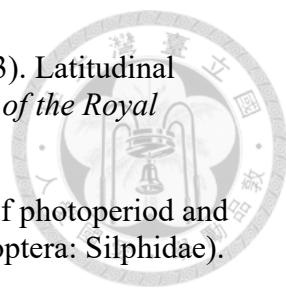


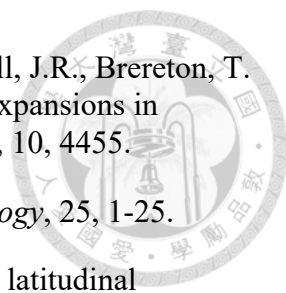
1. Ala-Honkola, O., Kauranen, H., Tyukmaeva, V., Boetzi, F.A., Hoikkala, A. & Schmitt, T. (2020). Diapause affects cuticular hydrocarbon composition and mating behavior of both sexes in *Drosophila montana*. *Insect Sci*, 27, 304-316.
2. Bailey, L.D., van de Pol, M., Adriaensen, F., Arct, A., Barba, E., Bellamy, P.E. *et al.* (2022). Bird populations most exposed to climate change are less sensitive to climatic variation. *Nat Commun*, 13, 2112.
3. Bartomeus, I., Ascher, J.S., Wagner, D., Danforth, B.N., Colla, S., Kornbluth, S. *et al.* (2011). Climate-associated phenological advances in bee pollinators and bee-pollinated plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108, 20645-20649.
4. Bradshaw, W.E. & Holzapfel, C.M. (2007). Tantalizing timeless. *Science*, 316, 1851-1852.
5. Bradshaw, W.E. & Holzapfel, C.M. (2008). Genetic response to rapid climate change: it's seasonal timing that matters. *Mol Ecol*, 17, 157-166.
6. Bradshaw, W.E. & Holzapfel, C.M. (2010). What season is it anyway? Circadian tracking vs. photoperiodic anticipation in insects. *J Biol Rhythms*, 25, 155-165.
7. Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine learning*, 45, 5-32.
8. Buchinger, T.J., Hondorp, D.W. & Krueger, C.C. (2022). Local diversity in phenological responses of migratory lake sturgeon to warm winters. *Oikos*, 2022.
9. Bünning, E. (1937). Die endonome Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 54, 590-607.
10. Christ, M., Braun, N., Neuffer, J. & Kempa-Liehr, A.W. (2018). Time Series Feature Extraction on basis of Scalable Hypothesis tests (tsfresh – A Python package). *Neurocomputing*, 307, 72-77.
11. Conover, D.O., Duffy, T.A. & Hice, L.A. (2009). The Covariance between Genetic and Environmental Influences across Ecological Gradients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1168, 100-129.
12. Creighton, J.C., Heflin, N.D. & Belk, M.C. (2009). Cost of reproduction, resource quality, and terminal investment in a burying beetle. *Am Nat*, 174, 673-684.
13. Cutler, D.R., Edwards, T.C., Jr., Beard, K.H., Cutler, A., Hess, K.T., Gibson, J. *et al.* (2007). Random forests for classification in ecology. *Ecology*, 88, 2783-2792.
14. Danilevsky, A. (1965). Photoperiodism and seasonal development of insects (English translation) Oliver and Boyd publishers. *London 282pp*.
15. Diniz, D.F.A., de Albuquerque, C.M.R., Oliva, L.O., de Melo-Santos, M.A.V. & Ayres, C.F.J. (2017). Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that

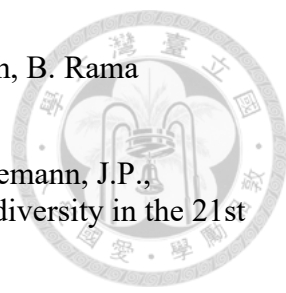


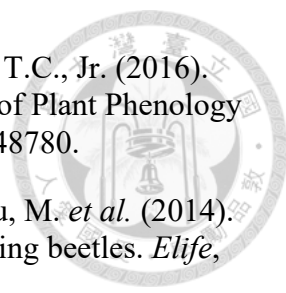
contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. *Parasit Vectors*, 10, 310.

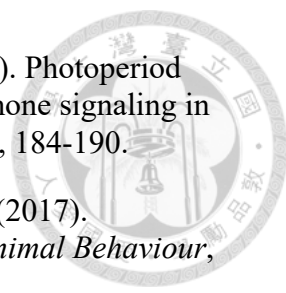
16. Eggert, A., Reinking, M. & Muller, J.K. (1998). Parental care improves offspring survival and growth in burying beetles. *Anim Behav*, 55, 97-107.
17. Emerson, K.J., Bradshaw, W.E. & Holzapfel, C.M. (2009). Complications of complexity: integrating environmental, genetic and hormonal control of insect diapause. *Trends in Genetics*, 25, 217-225.
18. Fetherston, I.A., Scott, M.P. & Traniello, J.F. (1990). Parental care in burying beetles: the organization of male and female brood-care behavior. *Ethology*, 85, 177-190.
19. Fick, S.E. & Hijmans, R.J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37, 4302-4315.
20. Foden, W.B., Young, B.E., Akçakaya, H.R., Garcia, R.A., Hoffmann, A.A., Stein, B.A. *et al.* (2018). Climate change vulnerability assessment of species. *WIREs Climate Change*, 10.
21. Greenfield, M.D. & Pener, M.P. (1992). Alternative schedules of male reproductive diapause in the grasshopper *Anacridium aegyptium* (L.): Effects of the corpora allata on sexual behavior (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Insect Behavior*, 5, 245-261.
22. Hahn, D.A. & Denlinger, D.L. (2011). Energetics of insect diapause. *Annu Rev Entomol*, 56, 103-121.
23. Hampe, A. & Petit, R.J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecol Lett*, 8, 461-467.
24. Hasegawa, Y., Takeuchi, T. & Hirai, N. (2019). Variability of photosensitive period and voltinism among populations of a butterfly, *Ypthima multistriata*, inhabiting similar latitudes and altitudes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167, 467-475.
25. Higaki, M. (2005). Effect of temperature on the termination of prolonged larval diapause in the chestnut weevil *Curculio sikkimensis* (Coleoptera: Curculionidae). *J Insect Physiol*, 51, 1352-1358.
26. Hoback, W.W., Bishop, A.A., Kroemer, J., Scalzitti, J. & Shaffer, J.J. (2004). Differences among antimicrobial properties of carrion beetle secretions reflect phylogeny and ecology. *J Chem Ecol*, 30, 719-729.
27. Hopkins, A.D. (1920). The bioclimatic law. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 10, 34-40.
28. Hota, H., Handa, R. & Shrivastava, A. (2017). Time series data prediction using sliding window based RBF neural network. *International Journal of Computational Intelligence Research*, 13, 1145-1156.

- 
29. Hut, R.A., Paolucci, S., Dor, R., Kyriacou, C.P. & Daan, S. (2013). Latitudinal clines: an evolutionary view on biological rhythms. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280, 20130433.
30. Hwang, W. & Shiao, S.-F. (2011). Dormancy and the influence of photoperiod and temperature on sexual maturity in *Nicrophorus nepalensis* (Coleoptera: Silphidae). *Insect Science*, 18, 225-233.
31. Ikeno, T., Tanaka, S.I., Numata, H. & Goto, S.G. (2010). Photoperiodic diapause under the control of circadian clock genes in an insect. *BMC Biol*, 8, 116.
32. Kaniewska, M.M., Vaneckova, H., Dolezel, D. & Kotwica-Rolinska, J. (2020). Light and Temperature Synchronizes Locomotor Activity in the Linden Bug, *Pyrhocoris apterus*. *Front Physiol*, 11, 242.
33. Kawecki, T.J. & Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7, 1225-1241.
34. Keller, M.L., Howard, D.R. & Hall, C.L. (2019). Spatiotemporal niche partitioning in a specious silphid community (Coleoptera: Silphidae *Nicrophorus*). *Naturwissenschaften*, 106, 57.
35. Kharouba, H.M., Ehrlen, J., Gelman, A., Bolmgren, K., Allen, J.M., Travers, S.E. *et al.* (2018). Global shifts in the phenological synchrony of species interactions over recent decades. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115, 5211-5216.
36. Košťál, V. (2006). Eco-physiological phases of insect diapause. *J Insect Physiol*, 52, 113-127.
37. Krabbenhoft, T.J., Myers, B.J.E., Wong, J.P., Chu, C., Tingley, R.W., 3rd, Falke, J.A. *et al.* (2020). FiCli, the Fish and Climate Change Database, informs climate adaptation and management for freshwater fishes. *Sci Data*, 7, 124.
38. Kumar, A.V., Zimova, M., Sparks, J.R. & Mills, L.S. (2020). Snow-mediated plasticity does not prevent camouflage mismatch. *Oecologia*, 194, 301-310.
39. Kurota, H. & Shimada, M. (2003). Photoperiod-dependent adult diapause within a geographical cline in the multivoltine bruchid *Bruchidius dorsalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 106, 177-185.
40. Lankinen, P., Tyukmaeva, V.I. & Hoikkala, A. (2013). Northern *Drosophila montana* flies show variation both within and between cline populations in the critical day length evoking reproductive diapause. *J Insect Physiol*, 59, 745-751.
41. Lindestad, O., Schmalensee, L., Lehmann, P., Gotthard, K. & Diamond, S. (2020). Variation in butterfly diapause duration in relation to voltinism suggests adaptation to autumn warmth, not winter cold. *Functional Ecology*, 34, 1029-1040.
42. Lindestad, O., Wheat, C.W., Nylin, S. & Gotthard, K. (2019). Local adaptation of photoperiodic plasticity maintains life cycle variation within latitudes in a butterfly. *Ecology*, 100, e02550.

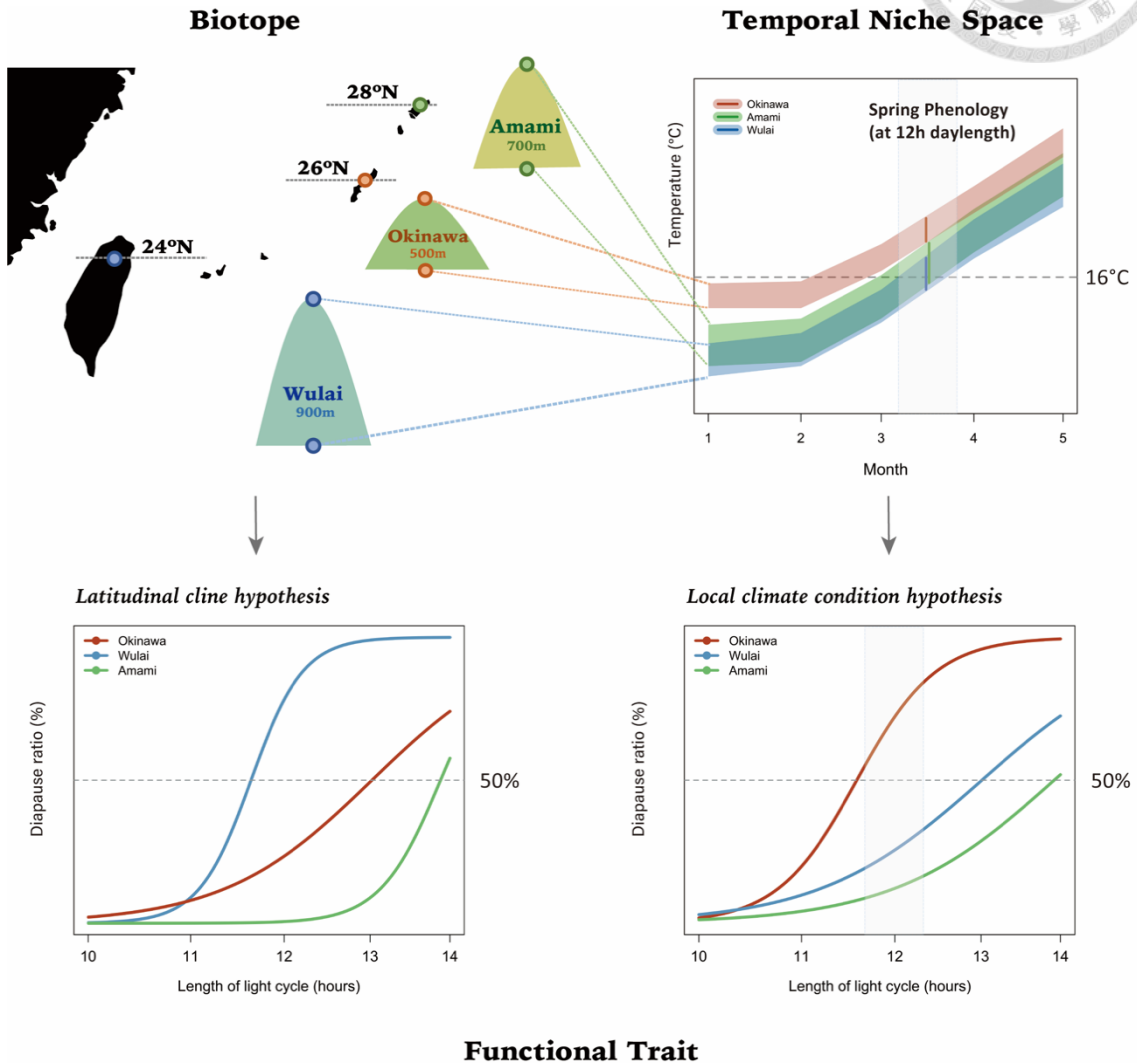
- 
43. Macgregor, C.J., Thomas, C.D., Roy, D.B., Beaumont, M.A., Bell, J.R., Brereton, T. *et al.* (2019). Climate-induced phenology shifts linked to range expansions in species with multiple reproductive cycles per year. *Nat Commun*, 10, 4455.
44. Masaki, S. (1980). Summer diapause. *Annual Review of Entomology*, 25, 1-25.
45. Masaki, S. (1999). Seasonal adaptations of insects as revealed by latitudinal diapause clines. *Entomological Science*, 2, 539-550.
46. Matsunaga, K., Takahashi, H., Yoshida, T. & Kimura, M.T. (1995). Feeding, reproductive and locomotor activities in diapausing and non-diapausing adults of *Drosophila*. *Ecological Research*, 10, 87-93.
47. McKown, A.D., Klapste, J., Guy, R.D., El-Kassaby, Y.A. & Mansfield, S.D. (2018). Ecological genomics of variation in bud-break phenology and mechanisms of response to climate warming in *Populus trichocarpa*. *New Phytol*, 220, 300-316.
48. Meuti, M.E., Stone, M., Ikeno, T. & Denlinger, D.L. (2015). Functional circadian clock genes are essential for the overwintering diapause of the Northern house mosquito, *Culex pipiens*. *J Exp Biol*, 218, 412-422.
49. Moore, I.T., Bonier, F. & Wingfield, J.C. (2005). Reproductive asynchrony and population divergence between two tropical bird populations. *Behavioral Ecology*, 16, 755-762.
50. Musolin, D.L. & Numata, H. (2003). Timing of diapause induction and its life-history consequences in *Nezara viridula* : is it costly to expand the distribution range? *Ecological Entomology*, 28, 694-703.
51. Nahrung, H.F. & Merritt, D. (1999). Moisture is required for the termination of egg diapause in the chrysomelid beetle, *Homichloda barkeri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93, 201-207.
52. Nisimura, T., Kon, M. & Numata, H. (2002). Bimodal life cycle of the burying beetle *Nicrophorus quadripunctatus* in relation to its summer reproductive diapause. *Ecological Entomology*, 27, 220-228.
53. Noriyuki, S., Akiyama, K. & Nishida, T. (2011). Life-history traits related to diapause in univoltine and bivoltine populations of *Ypthima multistriata* (Lepidoptera: Satyridae) inhabiting similar latitudes. *Entomological Science*, 14, 254-261.
54. O'Neill, G.A., Hamann, A. & Wang, T. (2008). Accounting for population variation improves estimates of the impact of climate change on species growth and distribution. *Journal of Applied Ecology*, 45, 1040-1049.
55. Parmesan, C., Morecroft, M., Trisurat, Y., Adrian, R., Anshari, G., Arneth, A. *et al.* (2022). Terrestrial and Freshwater Ecosystems and their Services. *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability*, Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A.

- 
- Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Lösschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. .
56. Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proenca, V., Alkemade, R., Scharlemann, J.P., Fernandez-Manjarres, J.F. *et al.* (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*, 330, 1496-1501.
  57. Pfeiffenberger, C., Lear, B.C., Keegan, K.P. & Allada, R. (2010). Locomotor activity level monitoring using the Drosophila Activity Monitoring (DAM) System. *Cold Spring Harb Protoc*, 2010, pdb prot5518.
  58. Phillimore, A.B., Hadfield, J.D., Jones, O.R. & Smithers, R.J. (2010). Differences in spawning date between populations of common frog reveal local adaptation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 8292-8297.
  59. Pukowski, E. (1933). Ökologische untersuchungen an Necrophorus F. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 518-586.
  60. Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C. & Gerhard, D. (2015). Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One*, 10, e0146021.
  61. Roenneberg, T., Daan, S. & Merrow, M. (2003). The art of entrainment. *J Biol Rhythms*, 18, 183-194.
  62. Ruberson, J.R., Shen, Y.J. & Kring, T.J. (2000). Photoperiodic Sensitivity and Diapause in the Predator Orius insidiosus (Heteroptera: Anthocoridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93, 1123-1130.
  63. Ruf, T. & Geiser, F. (2015). Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 90, 891-926.
  64. Salminen, T.S. & Hoikkala, A. (2013). Effect of temperature on the duration of sensitive period and on the number of photoperiodic cycles required for the induction of reproductive diapause in *Drosophila montana*. *J Insect Physiol*, 59, 450-457.
  65. Savolainen, O., Lascoux, M. & Merila, J. (2013). Ecological genomics of local adaptation. *Nat Rev Genet*, 14, 807-820.
  66. Scott, M.P. (1998). The ecology and behavior of burying beetles. *Annual review of entomology*, 43, 595-618.
  67. Sikes, D.S., Madge, R.B. & Trumbo, S.T. (2006). Revision of *Nicrophorus* in part: new species and inferred phylogeny of the nepalensis-group based on evidence from morphology and mitochondrial DNA (Coleoptera: Silphidae: Nicrophorinae). *Invertebrate Systematics*, 20, 305-365.
  68. Socha, R. & Zemek, R. (2008). Locomotor activity in adult *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) in relation to sex, physiological status and wing dimorphism. *Physiological Entomology*, 25, 383-389.

- 
69. Stoner, D.C., Sexton, J.O., Nagol, J., Bernales, H.H. & Edwards, T.C., Jr. (2016). Ungulate Reproductive Parameters Track Satellite Observations of Plant Phenology across Latitude and Climatological Regimes. *PLoS One*, 11, e0148780.
70. Sun, S.J., Rubenstein, D.R., Chen, B.F., Chan, S.F., Liu, J.N., Liu, M. *et al.* (2014). Climate-mediated cooperation promotes niche expansion in burying beetles. *Elife*, 3, e02440.
71. Takagi, S. & Miyashita, T. (2008). Host Plant Quality Influences Diapause Induction of *Byasa alcinous* (Lepidoptera: Papilionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101, 392-396.
72. Tallamy, D.W. & Wood, T.K. (1986). Convergence patterns in subsocial insects. *Annual review of entomology*, 31, 369-390.
73. Thomas, D.W., Blondel, J., Perret, P., Lambrechts, M.M. & Speakman, J.R. (2001). Energetic and fitness costs of mismatching resource supply and demand in seasonally breeding birds. *Science*, 291, 2598-2600.
74. Thyselius, M. & Nordstrom, K. (2016). Hoverfly locomotor activity is resilient to external influence and intrinsic factors. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 202, 45-54.
75. Tian, Y., Maekawa, T., Hara, T., Yokomori, Y. & Kitagawa, T. (2021). NaviMine: A tool for mining trajectories through behavior prediction. In: *2021 IEEE International Conference on Pervasive Computing and Communications Workshops and other Affiliated Events (PerCom Workshops)*. IEEE, pp. 502-507.
76. Trumbo, S.T. (1990). Regulation of brood size in a burying beetle, *Nicrophorus tomentosus* (Silphidae). *Journal of Insect Behavior*, 3, 491-500.
77. Tsai, H.Y., Rubenstein, D.R., Chen, B.F., Liu, M., Chan, S.F., Chen, D.P. *et al.* (2020a). Antagonistic effects of intraspecific cooperation and interspecific competition on thermal performance. *Elife*, 9.
78. Tsai, H.Y., Rubenstein, D.R., Fan, Y.M., Yuan, T.N., Chen, B.F., Tang, Y. *et al.* (2020b). Locally-adapted reproductive photoperiodism determines population vulnerability to climate change in burying beetles. *Nat Commun*, 11, 1398.
79. Turbill, C., Bieber, C. & Ruf, T. (2011). Hibernation is associated with increased survival and the evolution of slow life histories among mammals. *Proc Biol Sci*, 278, 3355-3363.
80. Tyukmaeva, V., Lankinen, P., Kinnunen, J., Kauranen, H. & Hoikkala, A. (2020). Latitudinal clines in the timing and temperature-sensitivity of photoperiodic reproductive diapause in *Drosophila montana*. *Ecography*, 43, 759-768.
81. Tyukmaeva, V.I., Salminen, T.S., Kankare, M., Knott, K.E. & Hoikkala, A. (2011). Adaptation to a seasonally varying environment: a strong latitudinal cline in reproductive diapause combined with high gene flow in *Drosophila montana*. *Ecol Evol*, 1, 160-168.

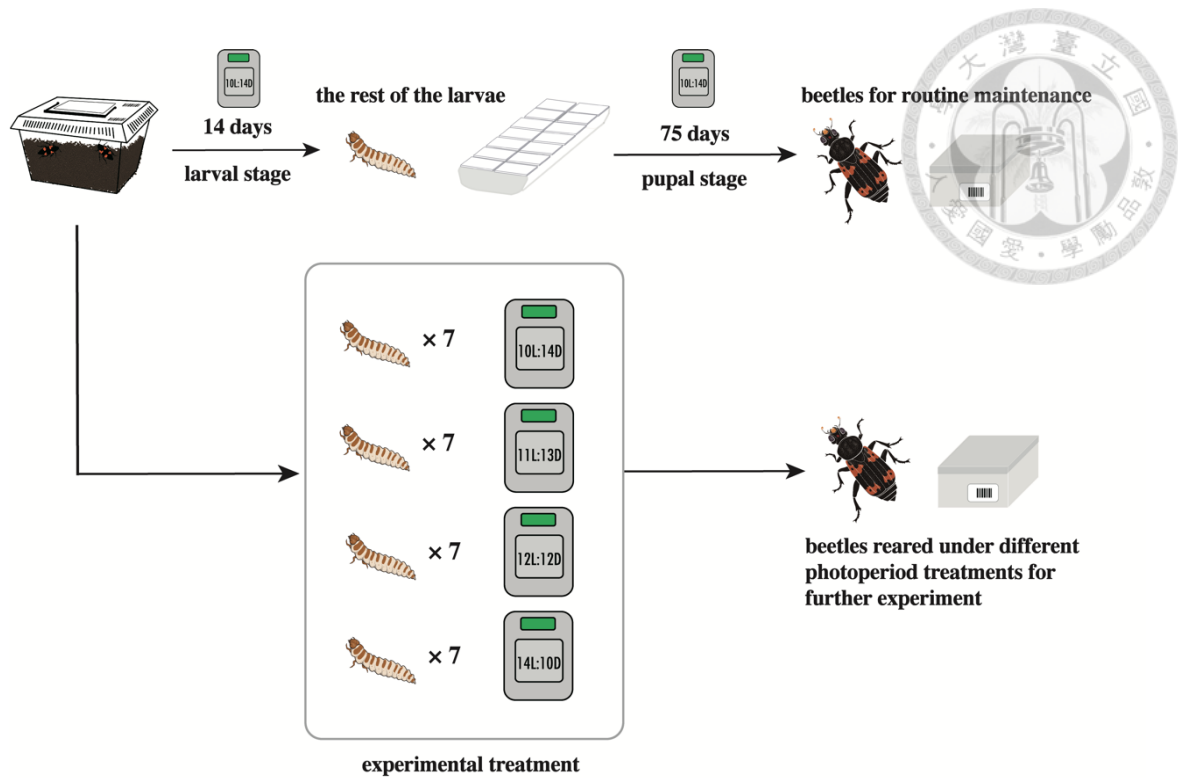
- 
82. Urbanova, V., Bazalova, O., Vaneckova, H. & Dolezel, D. (2016). Photoperiod regulates growth of male accessory glands through juvenile hormone signaling in the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*. *Insect Biochem Mol Biol*, 70, 184-190.
83. Valletta, J.J., Torney, C., Kings, M., Thornton, A. & Madden, J. (2017). Applications of machine learning in animal behaviour studies. *Animal Behaviour*, 124, 203-220.
84. Velarde, R.A., Wiedenmann, R.N. & Voegtlin, D.J. (2002). Influence of photoperiod on the overwintering induction of *Galerucella californiensis* L. *BioControl*, 47, 587-601.
85. Visser, M. (2022). Phenology: Climate change is shifting the rhythm of nature. In: *Frontiers 2022: Noise, Blazes and Mismatches: Emerging Issues of Environmental Concern*. United Nations Environment Programme (UNEP), pp. 41-58.
86. Visser, M.E. (2008). Keeping up with a warming world; assessing the rate of adaptation to climate change. *Proc Biol Sci*, 275, 649-659.
87. Wang, H.Y., Shen, S.F., Chen, Y.S., Kiang, Y.K. & Heino, M. (2020). Life histories determine divergent population trends for fishes under climate warming. *Nat Commun*, 11, 4088.
88. Williams, G. (1966). *Adaptation and natural selection* Princeton University Press. Princeton, NJ.
89. Wilson, D.S. & Knollenberg, W.G. (1984). Food Discrimination and Ovarian Development in Burying Beetles (Coleoptera: Silphidae: Nicrophorus). *Annals of the Entomological Society of America*, 77, 165-170.
90. Wilson, D.S., Knollenberg, W.G. & Fudge, J. (1984). Species packing and temperature dependent competition among burying beetles (Silphidae, Nicrophorus). *Ecological Entomology*, 9, 205-216.
91. Wilsterman, K., Ballinger, M.A., Williams, C.M. & Lemaître, J.F. (2020). A unifying, eco-physiological framework for animal dormancy. *Functional Ecology*, 35, 11-31.
92. Zhai, Y., Lin, Q., Zhang, J., Zhang, F., Zheng, L. & Yu, Y. (2016). Adult reproductive diapause in *Drosophila suzukii* females. *Journal of Pest Science*, 89, 679-688.
93. Zimova, M., Mills, L.S. & Nowak, J.J. (2016). High fitness costs of climate change-induced camouflage mismatch. *Ecol Lett*, 19, 299-307.
94. Zimova, M., Sirén, A.P.K., Nowak, J.J., Bryan, A.M., Ivan, J.S., Morelli, T.L. *et al.* (2019). Local climate determines vulnerability to camouflage mismatch in snowshoe hares. *Global Ecology and Biogeography*, 29, 503-515.

# 附錄



圖一、研究架構示意圖

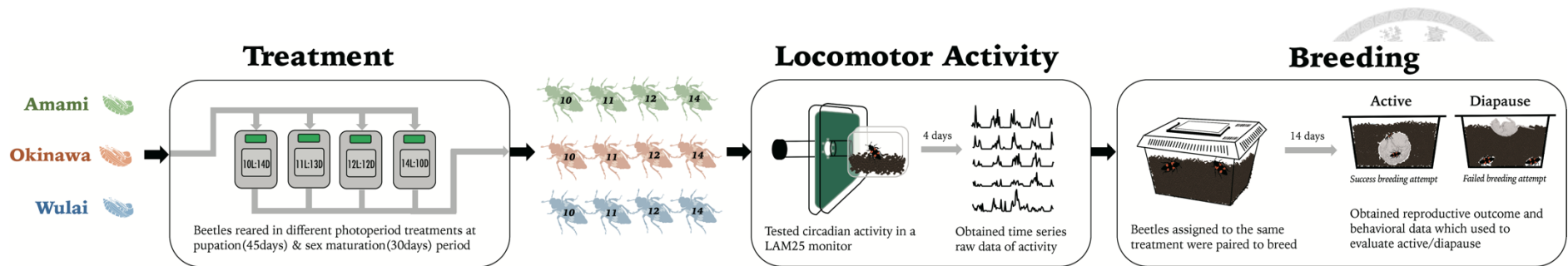
本研究旨在探討區域性環境條件如何影響滯育物候的時程。透過擷取三個沿緯度棲地的環境因子 (Biotope)，揭示不同埋葬蟲族群在上半年的時間生態區位 (Temporal niche space) 分化。而我們分別從 (I) 緯度漸變與 (II) 區域性氣候條件的角度檢測功能性狀 (Functional trait) 的地理差異。若符合緯度漸變假說，則緯度越低的族群越優先啟動滯育；若符合區域性氣候條件假說，則春季高溫超過此蟲生理限制的地區，其族群會優先進入滯育。



圖二、實驗室族群建立與維持示意圖

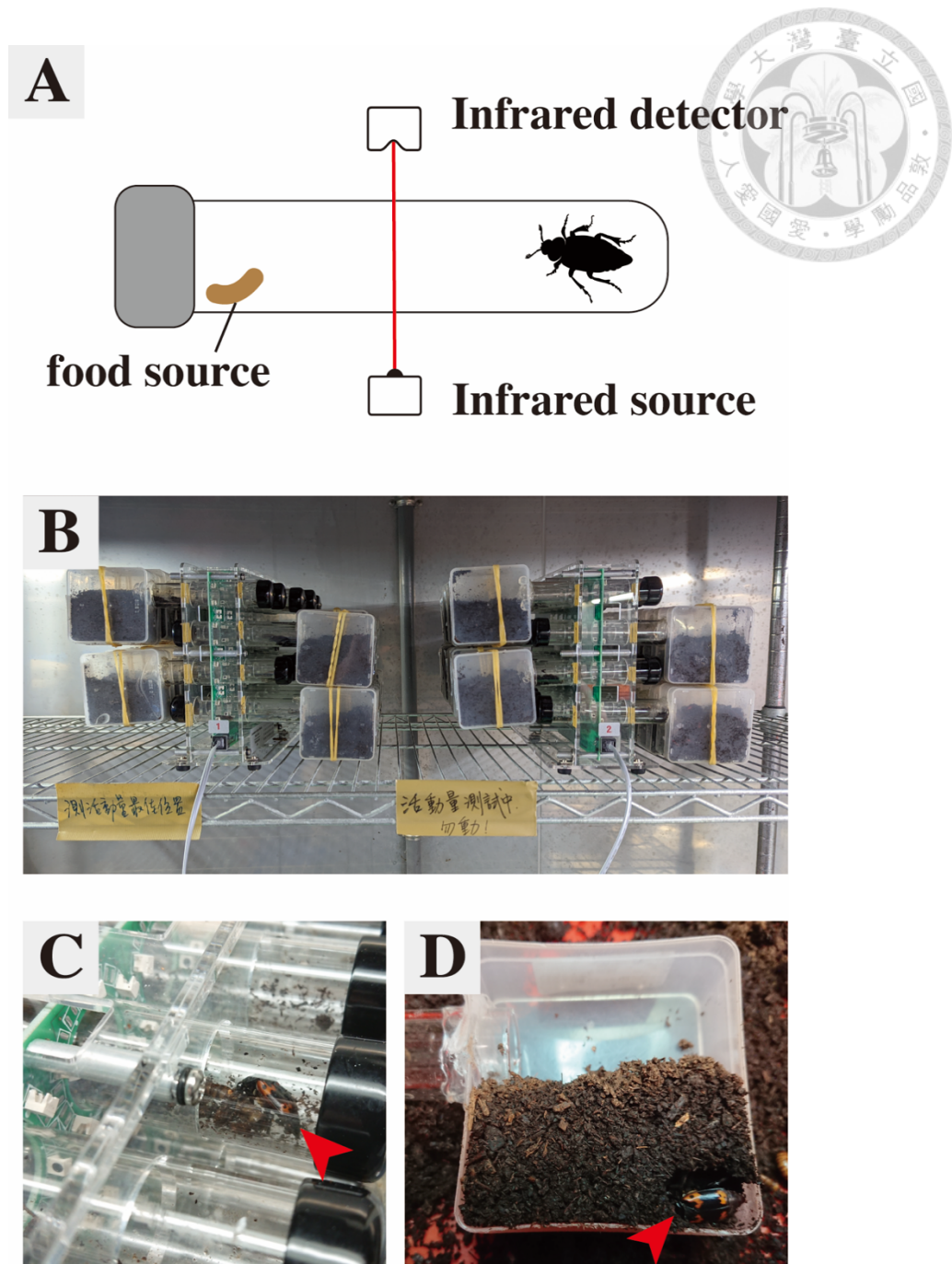
我們在實驗室中以10-h短日照的環境來維持三個目標族群（奄美大島、沖繩與臺灣烏來）的埋葬蟲，並從常態性的累代繁殖中，逐巢隨機挑選部分個體（一巢至少7隻）作為實驗用個體，在其蛹期與性成熟階段（共計至少75天）接受四個日照處理（10-h、11-h、12-h、14-h），進而被用於後續活動量與繁殖實驗。





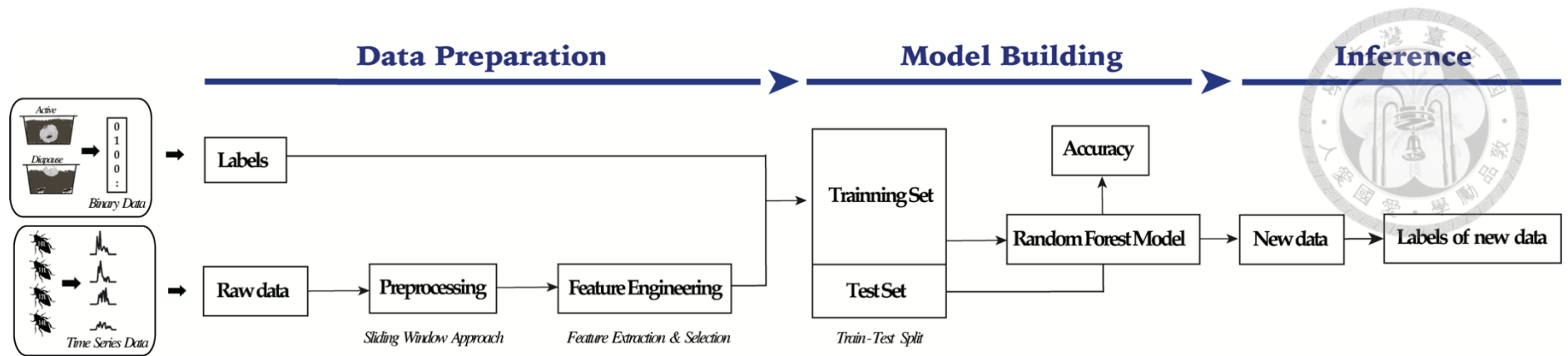
圖三、實驗流程圖

為了瞭解不同族群之間滯育物候的時程差異，我們隨機指定實驗個體接受不同長度的日照刺激，藉此獲得十二個處理組（三個族群 × 四個日照處理）的埋葬蟲（Treatment）；進一步地，我們測量所有實驗個體的活動量（Locomotor Activity）來檢測日照處理對日周活動的影響。最後，我們將處理組內的個體兩兩配對進行繁殖實驗（Breeding）來瞭解族群間繁殖光週期的差異是否源自於遺傳上的分化，同時也從繁殖行為判斷個體滯育狀態。



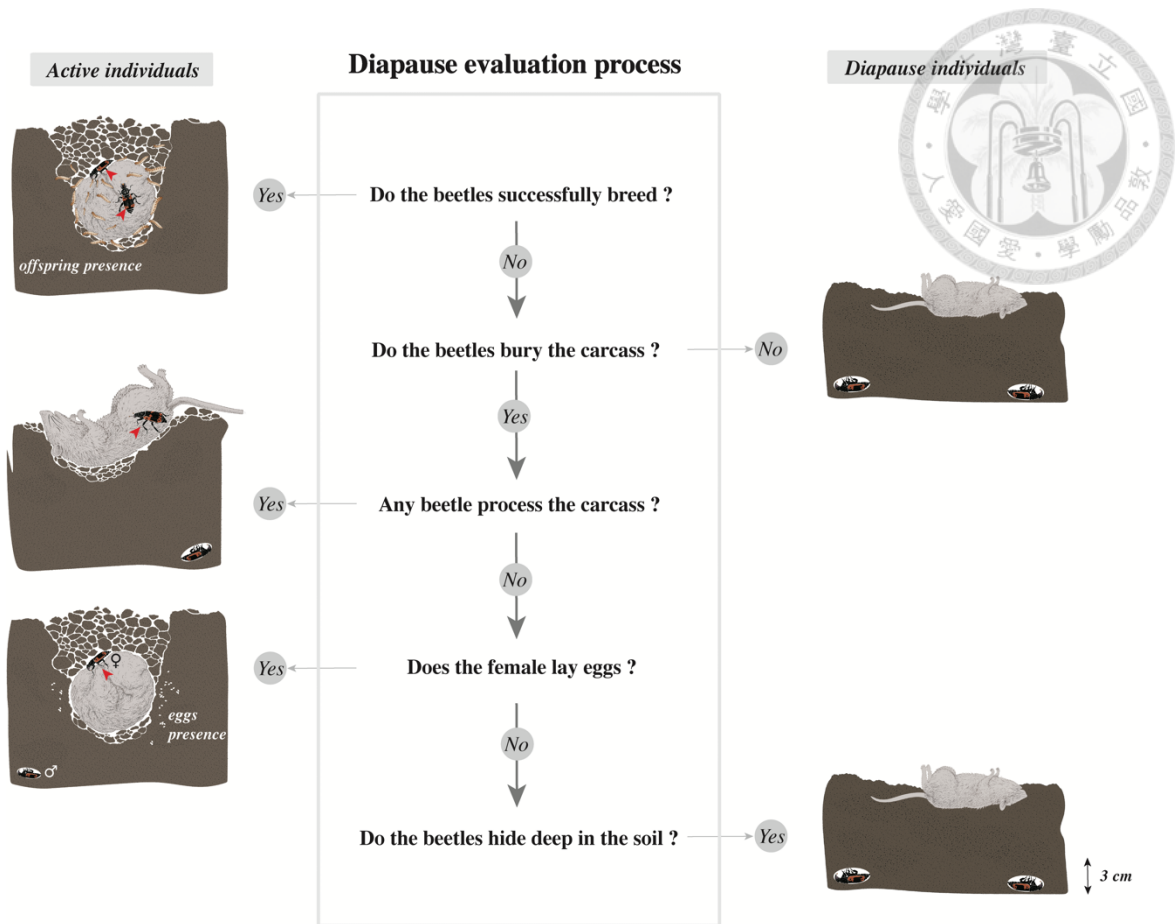
#### 圖四、活動量測量實驗裝置

為了探討活動量如何受光週期影響，我們使用LAM25來測量埋葬蟲連續四天的活動量。實驗期間，(A) 我們提供食物資源並以通過紅外線閘門（阻斷光束）的次數來量化埋葬蟲活動頻率，並 (B) 將儀器置於長日照（14h:10h）內進行測量。透過觀察，我們發現 (C) 活躍的性熟埋葬蟲會在實驗期間持續進食，因此會來回通過閘門而展現更高的活動頻度；反之，(D) 滯育個體則會躲至培養土底部，且不會進食，因此實驗結束時往往觀察到大麥蟲已經發霉。



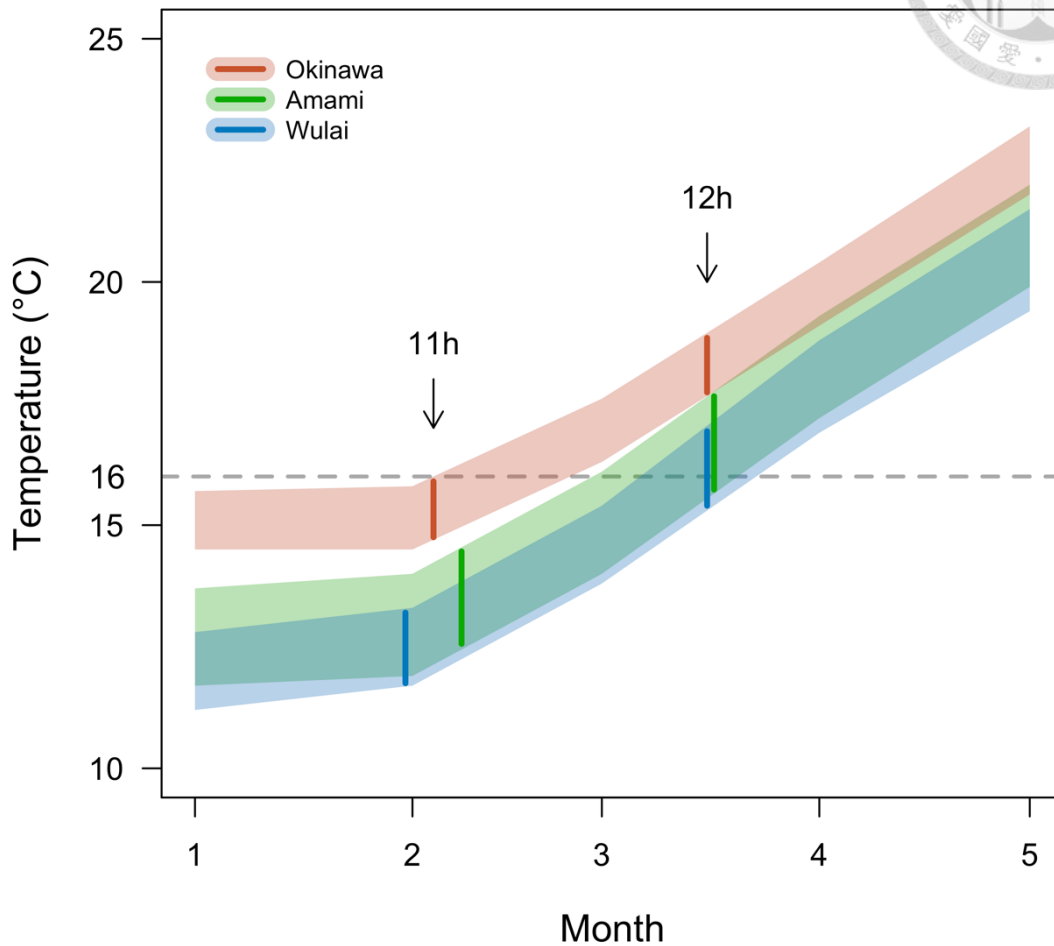
圖五、活動量資料的特徵提取與隨機森林模型建立

大部分的實驗個體在繁殖實驗的行為表現已經足以判斷其滯育狀態；然而，仍有少數個體無法評斷。因此，我們使用已知性狀的個體資料訓練一個隨機森林模型，幫助我們瞭解這些少數未知性狀個體的滯育狀態。我們以滯育與否（二元變數）作為標籤、後三天的活動量（時間序列資料）所擷取出來的特徵，去建立一個擁有高精準度的隨機森林分類器。最後，我們使用此分類器來預測少數未知性狀個體的滯育狀態。



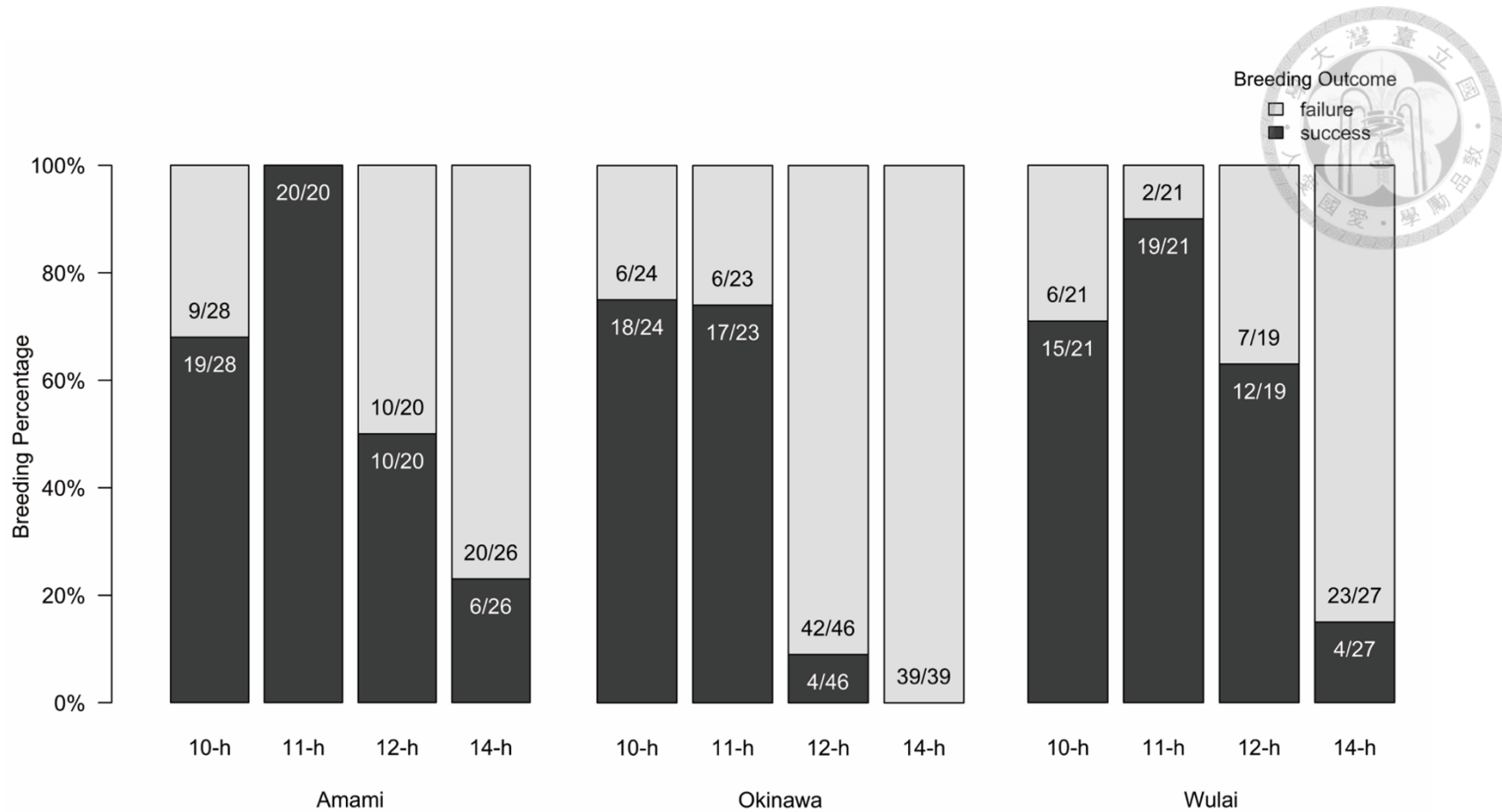
圖六、個體滯育狀態的評估流程

共園繁殖實驗可以偵測不同光週期處理下，展現繁殖意願的活躍個體與無繁殖意願的滯育個體之比例。我們在繁殖實驗結束時，記錄一系列能代表生殖意願的行為（包括：是否有子代、是否有個體來埋或處理屍體、雌蟲是否下蛋與滯育個體是否躲到培養土底部小於3cm處）。我們隨後按照此流程來判斷埋葬蟲的滯育狀態，無法藉由此流程被定義的個體則使用建立的隨機森林模型來預測。



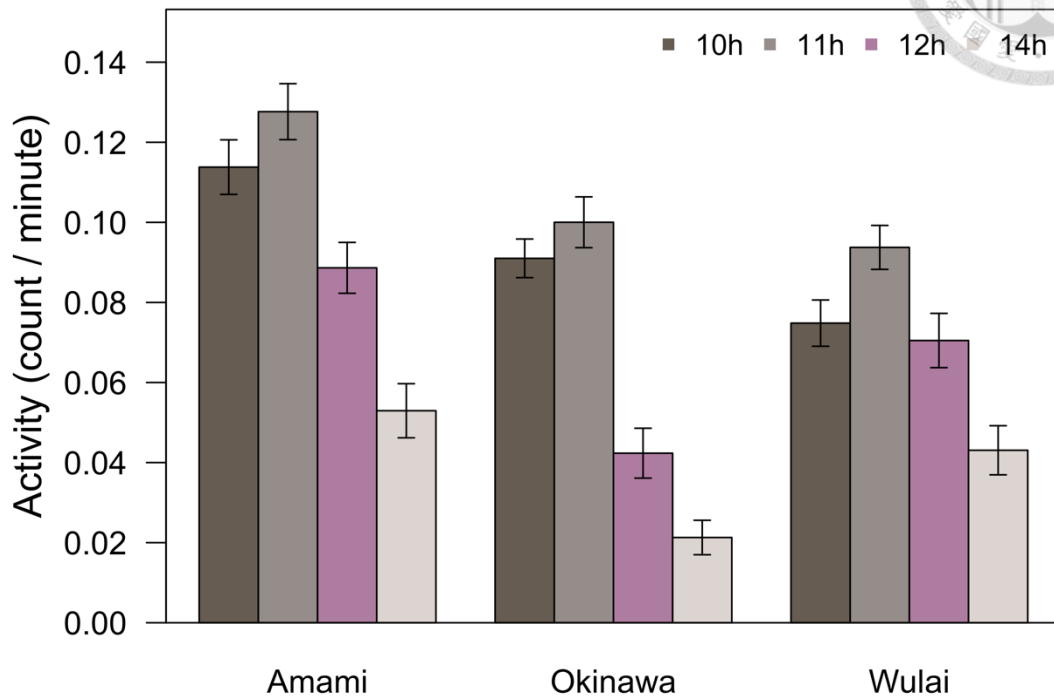
圖七、從棲地山脈溫度預測上半年的時間生態區位分化

為了瞭解環境因子如何影響族群滯育物候的分化，我們從WorldClim v2匯出三個地區海拔上下界的均溫。我們發現，在11h日照的季節，三個地區的山脈所能提供的溫度範圍都適合理葬蟲繁殖；然而，當日照來到12h時，沖繩的山脈已經無法提供適合生殖的環境（超過埋葬蟲最佳繁殖溫度16°C），但是奄美與烏來仍適合繁殖。因此，透過比較三個地區上半年的溫度變化，揭示三個族群的時間生態區位可能已經分化：奄美與烏來族群可以持續繁殖到12h日照時節，但沖繩族群在不到12h日照時多數個體可能已經進入夏眠。



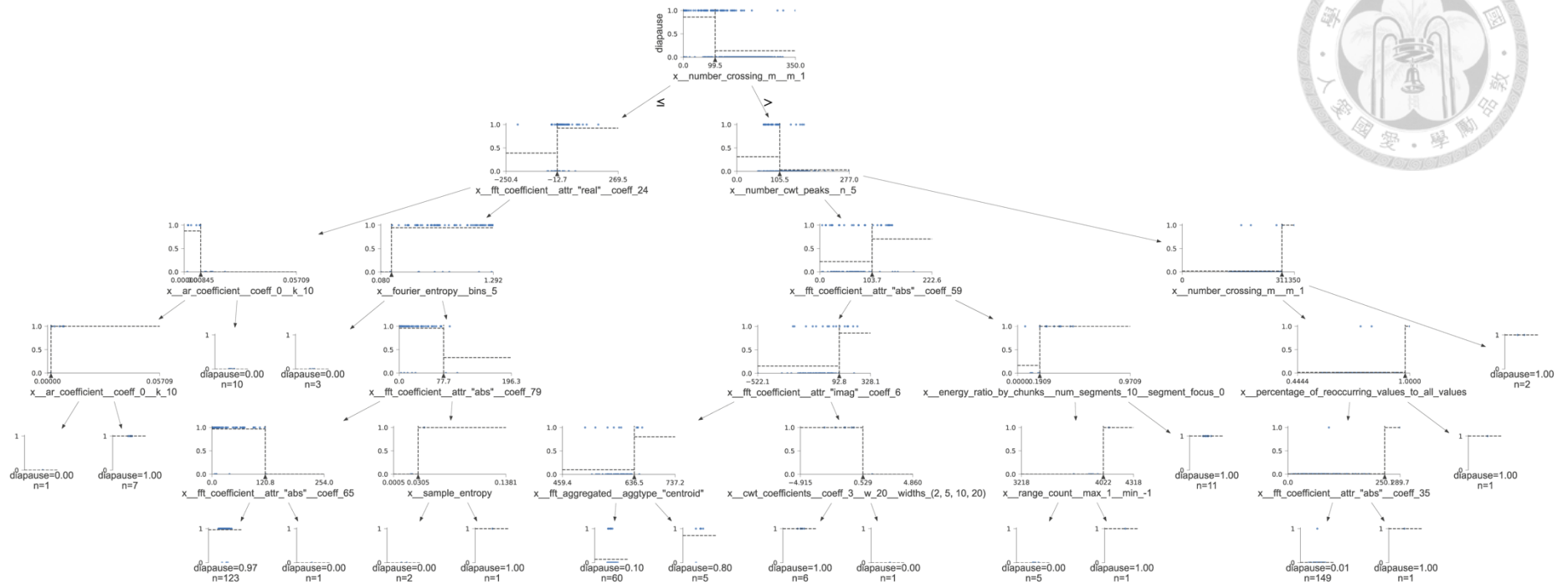
圖八、光週期對三個族群繁殖成功率的影響

為了瞭解日照長度如何影響埋葬蟲族群的繁殖光週期，我們將三個族群、四個日照處理的蟲進行配對繁殖，以獲得其繁殖成功率。我們發現，埋葬蟲繁殖成功率受日照時數調節，並在不同地區有不同的反應。圖中黑色代表繁殖成功、灰色代表繁殖失敗。



圖九、光週期對三個族群日周活動量的影響

為了驗證時間生態區位的分化是否讓三個族群在春季展現不同的活躍程度，我們將不同日照處理的蟲置入活動量偵測儀，使其在透明玻璃管中活動四天（第一天使蟲在儀器中適應，資料不計；後三天的活動量才會用於分析），以計算三天平均的每分鐘活動次數。我們發現：個體活動量也受光週期調節，並在族群之間有不同的反應。在此圖中，日照處理以顏色表示，深棕色代表10-h、深灰代表11-h、紫色代表12-h、淺灰代表14-h；誤差線為標準誤差（standard error）。



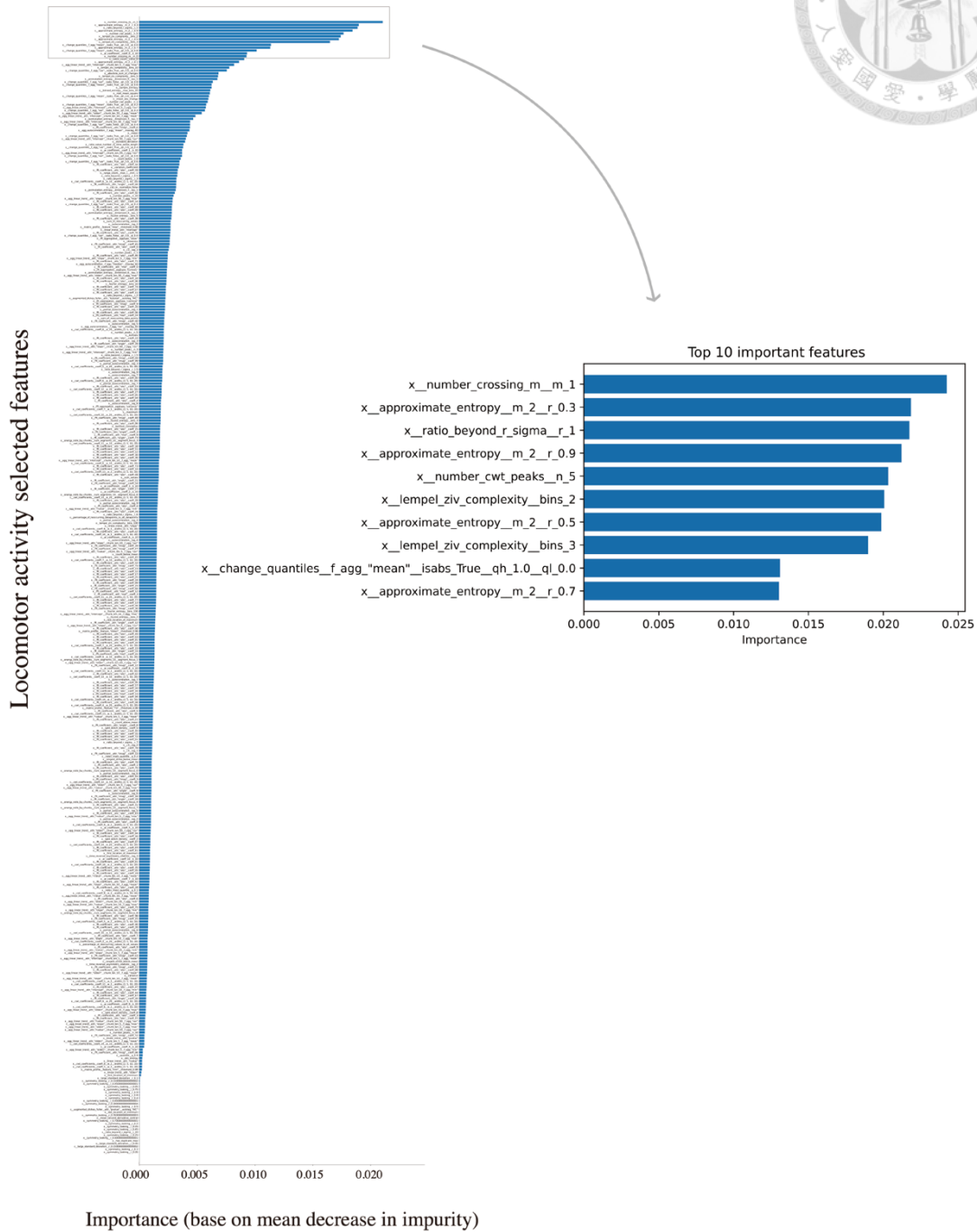
圖十、以活動量特徵與滯育狀態建構的隨機森林模型

為了解決部分個體無法透過行為判斷其滯育狀態，我們以已知滯育狀態個體的活動量時間序列資料（tsfresh擷取）來建立隨機森林模型，協助我們預測未知性狀的個體。我們的隨機森林分類器由200棵決策樹（最大深度為5層）共同投票，此圖為代表這200棵樹的 global surrogate tree，自圖中最上方的樹根開始逐層以選擇的時間序列特徵將資料逐步分割。



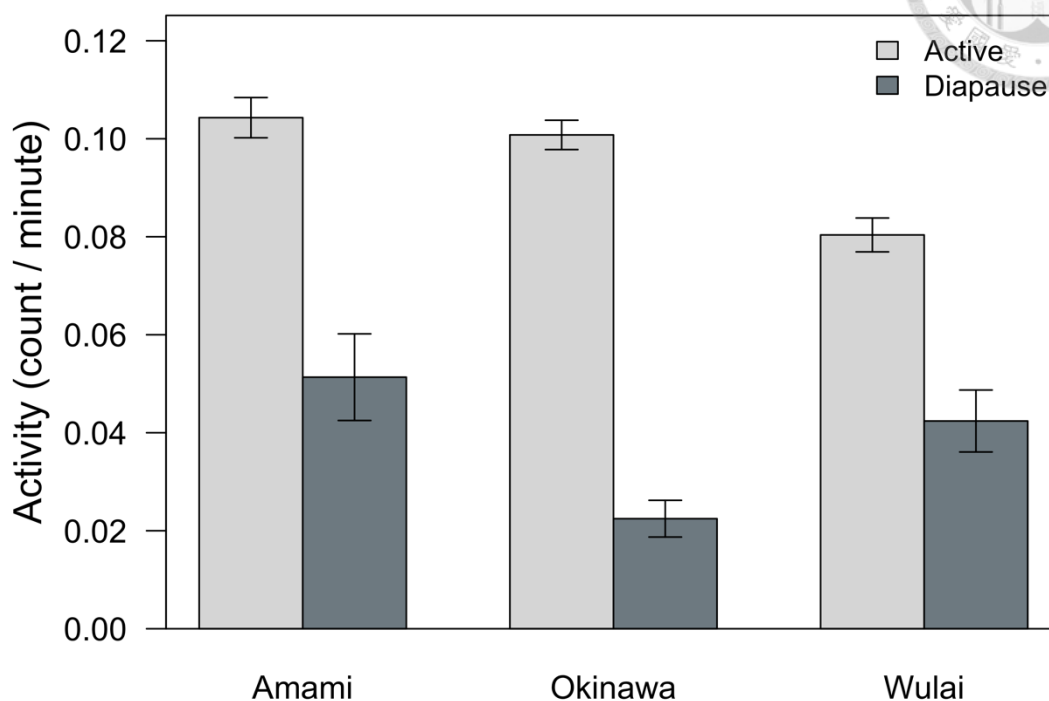


### Importance of locomotor activity features for predicting diapause status



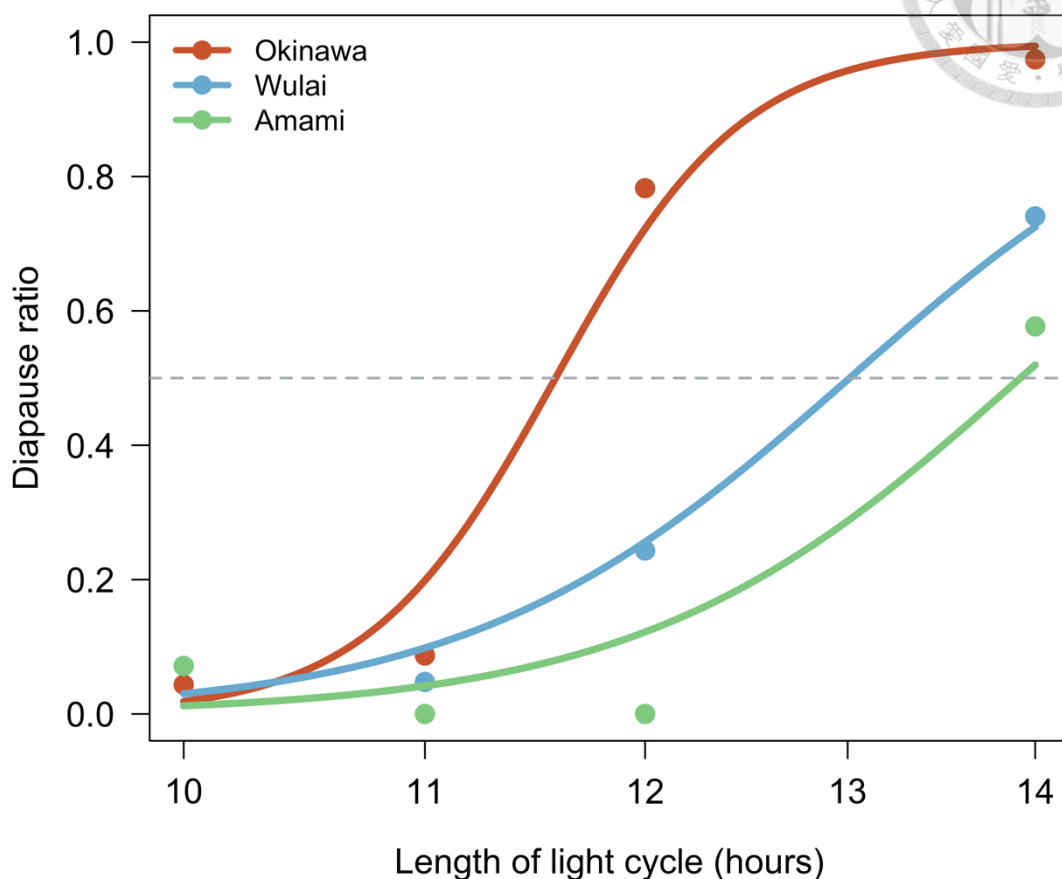
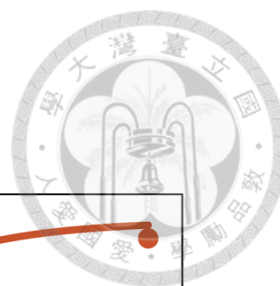
圖十一、tsfresh選擇的時間特徵對預測滯育的重要度排序

為了建立一個能以時間序列特徵預測滯育狀態的模型，我們使用tsfresh進行活動量的特徵提取和選擇。此圖為選擇的398個特徵對預測滯育的重要度排序，放大部分為前十名的特徵。



圖十二、不同族群間滯育與活躍個體的日周活動量比較

為了瞭解昆蟲一日的活動周期與季節性的滯育狀態的關聯性，我們比較滯育和非滯育的性成熟活躍個體其三天平均的每分鐘活動次數。我們發現，三個族群的活躍個體活動量均大於滯育個體。此圖中，顏色表示由繁殖行為搭配隨機森林所判定出來的滯育狀態：淺灰色為活躍個體，深灰色為滯育個體；誤差線為標準誤差（standard error）。



圖十三、三個族群的光週期反應曲線

為了瞭解埋葬蟲族群的滯育啟動時程是符合緯度梯度的漸變模式抑或是取決於區域性的溫度條件，我們將不同日照處理（x軸）的滯育比例（y軸）擬合三條劑量－反應曲線，分別代表三個族群的光週期反應曲線，來反應族群的滯育物候。此圖中，顏色表示不同族群：橘紅色為沖繩族群、藍色為烏來族群，而綠色為奄美族群。灰色虛線代表50%滯育比例，曲線與灰色虛線的交點對應到x軸的日照時數代表該族群中半數個體進入滯育的「臨界日照」：沖繩為11.6h、烏來為13.0h、奄美為13.9h。此結果顯示，族群啟動滯育的順序並不符合緯度漸變的預期（亦即：若為緯度梯度漸變，則最低緯的烏來應該優先啟動滯育、再者為沖繩、最後為高緯的奄美）；反之，在時間生態區位所預測的春季（12-h）物候，由於區域性溫度條件不利於沖繩族群繁殖，因此緯度居中的沖繩反而最優先啟動滯育。



表一、光週期對不同族群之間配對繁殖成功的影響

使用 Bayesian GLM 檢測 (A) 族群、日照處理與兩者交互作用對繁殖成功率的影響。並以 Tukey's HSD 進行 (B) 不同日照處理下的族群之間與 (C) 不同族群下各個日照處理之間的事後成對比較。\*代表 $P < 0.05$ 。

(A)

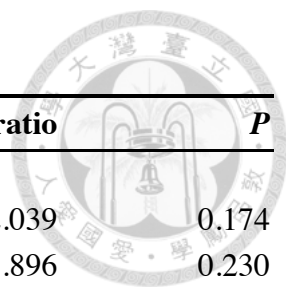
| Variable               | $\chi^2$ | df | P       |
|------------------------|----------|----|---------|
| Population             | 20.794   | 2  | <0.001* |
| Treatment              | 117.330  | 3  | <0.001* |
| Average age            | -4.429   | 1  | 1.000   |
| Average weight         | -1.733   | 1  | 1.000   |
| Population × Treatment | 16.827   | 6  | 0.010*  |

N=314

(B)

| Contrast               | Odds ratio | SE     | Z ratio | P      |
|------------------------|------------|--------|---------|--------|
| <b>10-h treatment:</b> |            |        |         |        |
| Okinawa – Amami        | 0.695      | 0.367  | -0.689  | 0.770  |
| Okinawa – Wulai        | 0.705      | 0.395  | -0.624  | 0.807  |
| Amami – Wulai          | 1.014      | 0.635  | 0.021   | 1.000  |
| <b>11-h treatment:</b> |            |        |         |        |
| Okinawa – Amami        | 0.056      | 0.085  | -1.900  | 0.139  |
| Okinawa – Wulai        | 0.384      | 0.307  | -1.196  | 0.455  |
| Amami – Wulai          | 6.834      | 11.104 | 1.183   | 0.463  |
| <b>12-h treatment:</b> |            |        |         |        |
| Okinawa – Amami        | 0.165      | 0.103  | -2.883  | 0.011* |
| Okinawa – Wulai        | 0.093      | 0.059  | -3.714  | 0.001* |
| Amami – Wulai          | 0.561      | 0.361  | -0.898  | 0.642  |
| <b>14-h treatment:</b> |            |        |         |        |
| Okinawa – Amami        | 0.080      | 0.077  | -2.644  | 0.022* |
| Okinawa – Wulai        | 0.154      | 0.149  | -1.928  | 0.131  |
| Amami – Wulai          | 1.921      | 1.397  | 0.897   | 0.642  |

(C)



| <b>Contrast</b> | <b>Odds ratio</b> | <b>SE</b> | <b>Z ratio</b> | <b>P</b> |
|-----------------|-------------------|-----------|----------------|----------|
| <b>Amami:</b>   |                   |           |                |          |
| 10-h – 11-h     | 0.046             | 0.070     | -2.039         | 0.174    |
| 10-h – 12-h     | 3.077             | 1.825     | 1.896          | 0.230    |
| 10-h – 14-h     | 8.383             | 5.103     | 3.493          | 0.003*   |
| 11-h – 12-h     | 66.438            | 102.844   | 2.711          | 0.034*   |
| 11-h – 14-h     | 180.966           | 281.187   | 3.346          | 0.005*   |
| 12-h – 14-h     | 2.724             | 1.788     | 1.527          | 0.421    |
| <b>Okinawa:</b> |                   |           |                |          |
| 10-h – 11-h     | 0.573             | 0.325     | -0.982         | 0.760    |
| 10-h – 12-h     | 12.950            | 7.319     | 4.532          | <0.001*  |
| 10-h – 14-h     | 72.749            | 64.555    | 4.831          | <0.001*  |
| 11-h – 12-h     | 22.610            | 14.437    | 4.884          | <0.001*  |
| 11-h – 14-h     | 127.010           | 122.297   | 5.031          | <0.001*  |
| 12-h – 14-h     | 5.618             | 5.383     | 1.801          | 0.273    |
| <b>Wulai:</b>   |                   |           |                |          |
| 10-h – 11-h     | 0.312             | 0.257     | -1.413         | 0.491    |
| 10-h – 12-h     | 1.703             | 1.119     | 0.810          | 0.850    |
| 10-h – 14-h     | 15.885            | 11.239    | 3.909          | 0.001*   |
| 11-h – 12-h     | 5.453             | 4.520     | 2.046          | 0.171    |
| 11-h – 14-h     | 50.860            | 45.096    | 4.431          | <0.001*  |
| 12-h – 14-h     | 9.327             | 6.736     | 3.092          | 0.011*   |



表二、光週期對不同族群之間個體日周活動的影響

使用 GLM 檢測 (A) 族群、日照處理與兩者交互作用對活動量的影響。並以 Tukey's HSD 進行 (B) 不同日照處理下的族群之間與 (C) 不同族群下各個日照處理之間的事後成對比較。\*代表 $P < 0.05$ 。

(A)

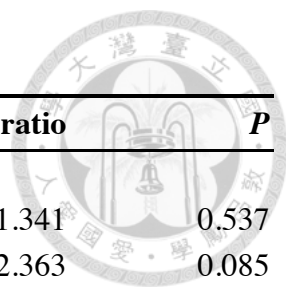
| Variable               | Sum of squares | df | F      | P       |
|------------------------|----------------|----|--------|---------|
| Population             | 0.105          | 2  | 26.480 | <0.001* |
| Treatment              | 0.379          | 3  | 63.944 | <0.001* |
| Average age            | 0.036          | 1  | 18.413 | <0.001* |
| Population × Treatment | 0.039          | 6  | 3.291  | 0.003*  |

N=623

(B)

| Contrast               | Estimate | SE    | t ratio | P       |
|------------------------|----------|-------|---------|---------|
| <b>10-h treatment:</b> |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami        | -0.020   | 0.009 | -2.230  | 0.067   |
| Okinawa – Wulai        | 0.014    | 0.010 | 1.459   | 0.312   |
| Amami – Wulai          | 0.034    | 0.009 | 3.675   | 0.001*  |
| <b>11-h treatment:</b> |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami        | -0.024   | 0.010 | -2.504  | 0.034*  |
| Okinawa – Wulai        | 0.013    | 0.010 | 1.362   | 0.362   |
| Amami – Wulai          | 0.037    | 0.010 | 3.781   | 0.001*  |
| <b>12-h treatment:</b> |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami        | -0.045   | 0.009 | -5.302  | <0.001* |
| Okinawa – Wulai        | -0.025   | 0.009 | -2.855  | 0.012*  |
| Amami – Wulai          | 0.021    | 0.010 | 2.008   | 0.111   |
| <b>14-h treatment:</b> |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami        | -0.028   | 0.008 | -3.501  | 0.001*  |
| Okinawa – Wulai        | -0.021   | 0.008 | -2.714  | 0.019*  |
| Amami – Wulai          | 0.007    | 0.009 | 0.769   | 0.722   |

(C)



| <b>Contrast</b> | <b>Estimate</b> | <b>SE</b> | <b><i>t</i> ratio</b> | <b><i>P</i></b> |
|-----------------|-----------------|-----------|-----------------------|-----------------|
| <b>Amami:</b>   |                 |           |                       |                 |
| 10-h – 11-h     | -0.012          | 0.009     | -1.341                | 0.537           |
| 10-h – 12-h     | 0.022           | 0.009     | 2.363                 | 0.085           |
| 10-h – 14-h     | 0.059           | 0.009     | 6.922                 | <0.001*         |
| 11-h – 12-h     | 0.035           | 0.010     | 3.407                 | 0.004*          |
| 11-h – 14-h     | 0.072           | 0.009     | 7.644                 | <0.001*         |
| 12-h – 14-h     | 0.037           | 0.010     | 3.915                 | 0.001*          |
| <b>Okinawa:</b> |                 |           |                       |                 |
| 10-h – 11-h     | -0.008          | 0.009     | -0.862                | 0.824           |
| 10-h – 12-h     | 0.048           | 0.008     | 5.954                 | <0.001*         |
| 10-h – 14-h     | 0.068           | 0.008     | 8.158                 | <0.001*         |
| 11-h – 12-h     | 0.056           | 0.008     | 6.942                 | <0.001*         |
| 11-h – 14-h     | 0.076           | 0.008     | 9.105                 | <0.001*         |
| 12-h – 14-h     | 0.020           | 0.007     | 2.881                 | 0.021*          |
| <b>Wulai:</b>   |                 |           |                       |                 |
| 10-h – 11-h     | -0.009          | 0.010     | -0.877                | 0.817           |
| 10-h – 12-h     | 0.009           | 0.010     | 0.906                 | 0.802           |
| 10-h – 14-h     | 0.032           | 0.009     | 3.534                 | 0.003*          |
| 11-h – 12-h     | 0.018           | 0.010     | 1.772                 | 0.288           |
| 11-h – 14-h     | 0.041           | 0.009     | 4.364                 | <0.001*         |
| 12-h – 14-h     | 0.023           | 0.010     | 2.431                 | 0.073           |



表三、不同族群之間滯育與活躍個體的活動量比較

使用 GLM 檢測 (A) 族群、滯育狀態與兩者交互作用對活動量的影響。並以 Tukey's HSD 進行 (B) 滯育與活躍狀態下兩兩族群之間、(C) 不同族群中滯育與活躍個體的事後成對比較。\*代表 $P < 0.05$ 。

(A)

| Variable              | Sum of squares | df | F       | P       |
|-----------------------|----------------|----|---------|---------|
| Population            | 0.028          | 2  | 7.529   | <0.001* |
| Diapause              | 0.453          | 1  | 246.426 | <0.001* |
| Average age           | 0.065          | 1  | 35.455  | <0.001* |
| Population × Diapause | 0.040          | 2  | 10.851  | <0.001* |

N=623

(B)

| Contrast         | Estimate | SE    | t ratio | P       |
|------------------|----------|-------|---------|---------|
| <b>Active:</b>   |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami  | 0.000    | 0.005 | -0.082  | 0.996   |
| Okinawa – Wulai  | 0.022    | 0.006 | 3.950   | <0.001* |
| Amami – Wulai    | 0.023    | 0.005 | 4.382   | <0.001* |
| <b>Diapause:</b> |          |       |         |         |
| Okinawa – Amami  | -0.025   | 0.008 | -3.125  | 0.005*  |
| Okinawa – Wulai  | -0.018   | 0.007 | -2.583  | 0.027*  |
| Amami – Wulai    | 0.008    | 0.009 | 0.842   | 0.677   |

(C)

| Contrast          | Estimate | SE    | t ratio | P       |
|-------------------|----------|-------|---------|---------|
| <b>Amami:</b>     |          |       |         |         |
| Active – Diapause | 0.052    | 0.008 | 6.331   | <0.001* |
| <b>Okinawa:</b>   |          |       |         |         |
| Active – Diapause | 0.077    | 0.005 | 14.200  | <0.001* |
| <b>Wulai:</b>     |          |       |         |         |
| Active – Diapause | 0.037    | 0.007 | 5.202   | <0.001* |





表四、實驗日照處理使用之生長箱相關設定  
生長箱的 (A) 光照時間、(B) 溫溼度設定。

**(A)**

| <b>Treatment</b> | <b>Period of illumination</b> | <b>Growth chamber</b>               |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 10-h             | 7:00 AM - 17:00 PM            | Hipoint Walk In Growth Chamber      |
| 11-h             | 6:30 AM - 17:30 PM            | GRT-820HI, Yuh Chuen Chiou Industry |
| 12-h             | 6:00 AM - 18:00 PM            | Hipoint FH-740 Plant Growth Chamber |
| 14-h             | 5:00 AM - 19:00 PM            | Hipoint Walk In Growth Chamber      |

**(B)**

| <b>Time period</b>  | <b>Temperature (°C)</b> | <b>Humidity (%)</b> |
|---------------------|-------------------------|---------------------|
| 06:01 AM - 09:00 AM | 14.9                    | 88.4                |
| 09:01 AM - 12:00 AM | 18.3                    | 78.1                |
| 12:01 PM - 15:00 PM | 19.7                    | 83.6                |
| 15:01 PM - 18:00 PM | 17.1                    | 90.0                |
| 18:01 PM - 21:00 PM | 15.1                    | 90.0                |
| 21:01 PM - 24:00 PM | 13.2                    | 90.0                |
| 00:01 AM - 03:00 AM | 14.0                    | 90.0                |
| 03:01 AM - 06:00 AM | 14.1                    | 90.0                |