

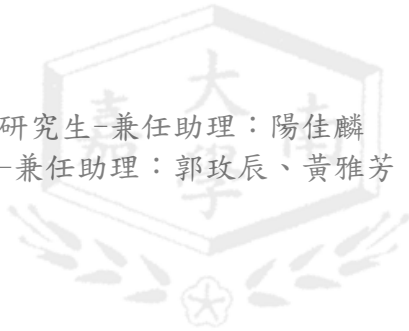
行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

臺灣地區畸形蛙之調查與可能致畸因子之研究 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 95-2621-B-041-001-
執行期間：95年08月01日至96年07月31日
執行單位：嘉南藥理科技大學環境資源管理系

計畫主持人：黃大駿

計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理：陽佳麟
大學生-兼任助理：郭孜辰、黃雅芳



處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

中華民國 96 年 07 月 30 日

臺灣地區畸形蛙之調查與可能致畸因子之研究

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 95-2621-B-041-001-

執行期間：95年08月01日至96年07月31日

計畫主持人：黃大駿

共同主持人：

計畫參與人員：郭玫辰等三人



成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：嘉南藥理科技大學 環境資源管理系

中華民國九十六年七月三十一日

摘要

美國及歐洲近幾年來陸續發現許多外觀奇異的兩生動物。這些奇異的蛙類通常統稱為畸形蛙(malformed frog)。經研究證實，這些畸形蛙多半在發生的階段受到外來因子的影響，造成身體異常。許多人開始關心這些造成蛙類畸形的因子是否也會直接或間階的影響到人類生體健康。為了瞭解臺灣地區是否有存在畸形蛙族群本實驗室於 2006 年 2 月至 2007 年 6 月間初步針對南臺灣高屏溪及東港溪兩流域蛙類進行採集。調查期間共捕獲 10909 隻兩生蛙類，捕獲兩生類中其中以澤蛙(indian rice frog, *Rana limnocharis*)數量最多，虎皮蛙(chinese bullfrog, *Rana rugulosa*)其次。兩流域蛙類主要均分佈於污染較少的上游地區，採集中亦發現 213 隻外觀奇異的蛙類，其種類以澤蛙最多。初步統計高屏溪流流域上游、東港溪流流域上游及中游，蛙類畸形率為 1.7%、2.0%及 3.9%。這些外觀奇異的蛙類大多數以缺掌居多，其次為缺肢，其中也不少外生骨贅或肢體畸形。研究結果發現，高屏溪及東港溪兩流域蛙類畸形比例遠高於人工飼養區及花東地區。初步推測，這類畸形蛙形成原因可能為有機污染及農業用藥污染。至於確切導致蛙類畸形的最主要原因值得我們進一步探討。

前言

兩生類，大多在水中交配和產卵，蝌蚪在水中成長，成體後水陸兩棲(McDiarmid and Altig 1999)。兩生類複雜的生活史造成它們對環境變異極其敏感，使得它們成為一個非常好的環境監測指標。

環境變遷、污染物質增加及棲地減少使得全球蛙類族群數量快速下降。除了蛙類族群數量快速下降外，畸形蛙也是一個受到重視的議題。當青蛙數量大量減少或發生奇異的現象如畸形時，這種現象意味著我們的環境也存在潛在的危機(Loman and Andersson 2007)。

目前對於造成青蛙畸形的假說主要有三種：一個可能是臭氧層在變薄，造成更多的紫外線(UV 光；ultraviolet radiation)到達地球表面，這些輻射能破壞了青蛙控制生長的基因，導致青蛙畸形(Ankley et al. 2004, Ankley et al. 2002, Bruner et al. 2002)。第二個假說可能是水中的污染物質造成畸形蛙的形成(Fort et al. 2001, Fort et al. 2004)。除 UV 光增加及化學物質的影響外，部分學者曾認為可能是吸蟲或細菌感染造成(Johnson et al. 2001)。然而，目前無論是 UV 光、污染物質或是寄生蟲 *Ribeiroia* 感染所造成的畸形情況均無法有研究提出確切證明(Burkhart et al. 2000, Cohen Jr 2001)。無論如何，當畸形蛙出現時，我們可以確定含有一些會造成蛙類畸形的因子存在。

美國及歐洲近幾年來陸續發現許多畸形蛙(malformed frog)，亦有許多報導出現。然而目前沒有報告指出臺灣的野外是否有畸形蛙族群出現的情況。因此，本報告將針對臺灣南部的高屏河流域及東港河流域進行兩生類採集，並探詢是否有畸形蛙存在。

材料方法

本研究主要進行高屏河流域及東港河流域，畸形之兩生動物數量及分佈調查。採樣範圍分別以兩流域上游、中游及下游等 6 個區域作為樣區 (Fig. 1)。採集時段主要於 19:00 至 21:00 進行。兩生類採集主要利用目視遇測法(Visual Encounter Method)為主要調查法式(Lin and Lue 2004)。調查中以每小時 1.5 公里之步行速度於樣區中水稻田、水圳及香蕉園等各種兩生動物活動棲地進行捕捉。發現兩生動物後隨即利用強力燈光照射並以肉眼尋找兩棲動物經強光照射後反光的眼點後，以戴有皮手套之雙手突手捕獲。

捕獲之兩生類隨即記錄其種類、性別及體長(snout-vent length)，並之觀察其四肢、身體是否有特異之處。正常兩生類於野捕獲後隨即放回野地中，外形特異或是不正常之兩生動物即帶回進行進一步畸形類型判定(Meteyer 2000)。

收集之數據均利用 Microcal™ vers. 6.0. (Northampton, USA, 1999)及 SPSS 12.0(SPSS Inc, USA, 2003)進行統計分析，了解正常蛙與畸形蛙之間的差異。

結果討論

2006 年 2 月至 2007 年 6 月期間，於高屏溪與東港溪兩流域之上游、中游及下游 6 區域共計捕獲 10909 隻兩生類，其中以澤蛙(indian rice frog, *Rana limnocharis*)數量最多(佔捕獲比例 95%以上)，虎皮蛙(chinese bullfrog, *Rana rugulosa*)其次。高屏河流域中，兩生類在夏季(五、六、七月)數量最多，秋季(八、九、十)及春季(二、三、四月)次之；東港河流域中，以 2006 年春季(二、三、四月)捕獲兩生類的數量最高，2007 年夏季(五、六、七月)及 2006 年秋季(八、九、十)次之(table 1)。澤蛙的主要繁殖季節為每年 3 到 10 月，兩生類通常在繁殖季後是數量最多的季節(Wu et al. 2006)。因此在我們的調查結果中也出現相同的趨勢。比較台灣東北部的Lanyang river(3~13 individual/100m²)(Wu and Liu 2004)、台灣中部山區(Lin and Lue 2004)、台灣南部一帶(2.5~18.0 individual/100m²)(Huang and Hou 2004)與中國大陸Zhoushan archipelago(Wu et al. 2006)的兩生類族群資料顯示，高屏溪與東港溪兩流域之上游兩生類族群數量略低於Zhoushan archipelago外，在台灣本島中並不算太少。

在六個樣區中，又以高屏溪上游蛙類數量最高，東港溪上游次之，兩溪流中游數量均偏低，下游樣區完全每有捕獲任何的兩生動物(table 1)。大多種類的兩生動物需要在水中交配和產卵，蝌蚪在水中成長，成體後須要一定數量的藏匿區域及潮濕的環境才有辦法順利生存下去直到成熟再進行交配(Loman and Andersson 2007, McDiarmid and Altig 1999)。因此人為過度開導致兩生類棲地減少，以及蛙類的成長過程所接觸到的海陸空的任何物質均可能影響它們，造成族群數量改變(Green 2003, Loman and Andersson 2007)。因此許多環境監測的研究上常利用蛙類族群數量的變動來評估環境狀況(Ankley et al. 2004,

Burkhart et al. 2000, Kiesecler et al. 2001, Ouellet et al. 1997, Venturino et al. 2003)。兩流域的水質與四周環境狀態的確也是由上游向下游逐漸變差(Jen et al. 2004, Liao et al. 2006)。畜牧廢水及農業用藥為高屏溪上游及東港溪上游一帶最主要的污染來源，兩溪到中游一帶時人口密度漸漸增加，除了畜牧廢水及農業用藥外在此區域亦匯入許多家庭廢水，河流漫延至下游時，高屏溪下游主要污染源為工業區，東港溪下游要污染源為輕工業廢水及畜牧廢水(Jen et al. 2004, Liao et al. 2006)。由本試驗結果我們可以推測，高屏溪及東港溪兩流域上游環境最適合兩生類生存亦是環境較好的區域，其次為中游，下游最差。

調查中共捕獲 213 隻外觀奇異的蛙類(之後簡稱 畸形蛙)，其畸形率大致 2% (malformation/normal, 213/10909)。捕獲之畸形兩生類以澤蛙數量最多(211 隻)，虎皮蛙(2 隻)其次。畸形蛙捕獲地區，以高屏溪上游最多，東港溪上游次之(table 2)。所有畸形蛙中，公畸形蛙數量略高於母畸形蛙(table 3)，平均體長(吻尾長，42.62mm)小於正常蛙 (45.16mm, $p < 0.01$)，這種現象在高屏溪上游特別明顯(fig 2)。高屏溪上游及東港溪上游，畸形蛙數量與蛙類族群數量有成正比的趨勢($r = 0.77$, $p = 0.124$)。中下游一帶，由於環境已經不適合兩生類在這些區域生活，導致畸形蛙發現的數量較少(Loeffler et al. 2001, Rodriguez-Prieto and Fernandez-Juricic 2005)。環境中正常的兩生類畸形比例通常界於 2~3%之間(Stocum 2000)，在我們調查結果中顯示高屏溪上游及東港溪上游的兩生類畸形百分比分別界於 0.67%~3.15%及 0%~7.5%(table 1)，其數值雖然不及 Northern California(0.6%~9%)(Bettaso 2004)與 Minnesota(0.3%~22.8%)(Canfield et al. 2000)等地區。但是，由此區的畸形百分比依然有偏高的情況，這意味著高屏溪上游及東港溪上游擁有造成兩生類畸形的因子。

發現外型特異的蛙類，多數僅有一種畸形的症狀，其中以缺掌及不完整掌(no foot/ partial foot, fig 3.)為最多的畸形類型，另外四肢不全(ectromeila, fig. 4)及全肢缺失(Amelia, fig. 5)分別占第二及第三。經卡方分析後發現，高屏溪上游及東港溪上由畸形的種類並不會因地區差異有所不同(table 2)。調查中有 65 隻畸形蛙有多於一種畸形的症狀，其中外生骨贅(exostosis)的症狀是最常伴隨著其他症狀出現的種類。外生骨贅係指非腫瘤性的向外方突出呈不規則形狀的骨增生，原因在於骨受損傷引起慢性炎症反應並有骨組織的增生，也可由於先天性或遺傳性的原因造成(Smithuis 1964)。畸形蛙中外生骨贅大多伴隨四肢不全(ectromeila)及缺掌及不完整掌(no foot/ partial foot)出現，這種現象可能是畸形蛙在肢體不完整的情況下活動，引起慢性炎症反應並有骨組織的增生。缺掌及不完整掌(no foot/ partial foot, fig 3.)有雌雄差異外，其餘畸形的種類均無明顯的雌雄差異(table 3)。

除了外力造成損傷而產生的畸形外，造成畸形原因可分成遺傳因子的影響，其次是胚胎分化期受到外來因子影響，以及胚胎發育時的受外來因子或是營養失調造成異常發育(Ankley et al. 2004, Klaassen 2001, Song et al. 2003)。紫外線(ultraviolet ration) (Bilski et al. 2003)、污染物質(Goh and Neff 2003, Saka

2004)及吸蟲或細菌感染(Johnson et al. 2001, Kiesecker et al. 2001)是目前造成青蛙畸形的三種假說(Geer and Krest 2000)。本試驗結果顯示高屏溪上游與東港溪上游擁有大量的兩生類族群，這兩地區又同時發現大量的畸形蛙。造成該區域蛙類畸形的原因目前推測可能是有機污染增加及農業用藥。

許多研究顯示環境中的 ambient UV-B 與 artificial UV 會造成兩生類胚胎畸形(Bruner et al. 2002, La Clair et al. 1998)。跟據臺灣大學環境變遷資料顯示，1999 年至 2006 年屏東地區 UVI 並沒有提高的趨勢(Liu 2007)。因此高屏溪上游與東港溪上游造成兩生類畸形因素中，我們暫時排除紫外線(ultraviolet radiation)為造成該區致畸的主要因子。

Ribeiroia ondatrae 等寄生蟲會影響正常的胚胎發育造成兩生類畸。這種寄生蟲的宿主是蝸牛，是當環境中有過多的畜牧廢水時造成營養物質時，蝸牛數量也會跟著攀升，也使得兩生類畸形發生率將會有明顯的增加(Johnson et al. 2001)。除了寄生蟲外 cyanobacterial 中的 purified microcystins 也會造成兩生類畸形(Dvorakova et al. 2002)。農業活動及畜牧活動旺盛的高屏溪上游及東港溪上游一帶水質呈現高度優養化的現象(Jen et al. 2004, Liao et al. 2006)，因此極有可能造成 *R. ondatrae* 等寄生蟲及 cyanobacterial 數量增加，以致造成兩生類畸形。

Ouellet 等人(Ouellet et al. 1997)發現農也用地中有較高的畸形率。其中殺蟲劑與除草劑等農業用藥，是眾多會造成環境生物的畸形的污染物質中最常被提及的物質(Clements et al. 1997, El-Merhibi et al. 2004, Gilliland et al. 2001)。許多毒性試驗中發現少數的農藥具類雌性素的功能，影響骨骼正常發育(Pickford and Morris 2003)。再加上，研究結果中發現，當高度農業活動後的 1~2 個月即可發現大量的畸形蛙。因此我們也不排除農業用藥亦為蛙類可能畸形的原因。Kiesecker(2002)研究中發現，比起不含殺蟲劑的池塘，被檢出含有殺蟲劑的池塘中的畸形蛙更多。因此高屏溪及東港溪流域由上游蛙類，亦有可能在寄生蟲與殺蟲劑的共同作用造成蛙類的畸形(Johnson et al. 2001)。

本研究結果顯示顯示，高屏溪及東港溪流域由上游至下游人為活動所產生的污染漸趨嚴重，同時也使得蛙類族群由上游至下游遞減。蛙類數量最多的上游又有導致蛙類畸形的潛在因子存在。目前初步推測該區域蛙類畸形的原因為高量的有機廢棄物及農業活動中施灑的化學藥劑。

Reference

- Ankley, G. T., S. T. Degitz, S. A. Diamond, and J. E. Tietge. 2004. Assessment of environmental stressors potentially responsible for malformations in North American anuran amphibians. *Ecotoxicology and environmental safety* 58: 7-16.
- Ankley, G. T., S. A. Diamond, J. E. Tietge, G. W. Holcombe, K. M. Jensen, D. L. DeFoe, and R. Peterson. 2002. Assessment of the risk of solar ultraviolet radiation to amphibians. I. Dose-dependent induction of hindlimb malformations in the Northern leopard frog (*Rana pipiens*). *Environmental Science & Technology* 36: 2853-2858.
- Bettaso, J. B. 2004. *Humboldt bay national wildlife refuge 2004 Northern red-legged frog malformation report*. U.S. Fish and Wildlife Service, Environmental Contaminants Program.
- Bilski, P., J. G. Burkhart, and C. F. Chignell. 2003. Photochemical characterization of water samples from Minnesota and Vermont sites with malformed frogs: potential influence of photosensitization by singlet molecular oxygen (O-1(2)) and free radicals on aquatic toxicity. *Aquatic Toxicology* 65: 229-241.
- Bruner, M. A., P. A. Shipman, M. Rao, and J. A. Bantle. 2002. Developmental effects of ambient UV-B light and landfill leachate in *Rana blairi* and *Hyla chrysoscelis*. *Ecotoxicology And Environmental Safety* 53: 73-80.
- Burkhart, J. G., G. Ankley, H. Bell, H. Carpenter, D. Fort, D. Gardiner, H. Gardner, R. Hale, J. C. Helgen, P. Jepson, D. Johnson, M. Lannoo, D. Lee, J. Lary, R. Levey, J. Magner, C. Meteyer, M. D. Shelby, and G. Lucier. 2000. Strategies for Assessing the Implications of Malformed Frogs for Environmental Health. *Environmental Health Perspectives* 108: 83-90.
- Canfield, J. T., S. M. Kersten, and P. Vanselow. 2000. 1997–1999 field season report--Minnesota malformed frog investigation. Pages 72 in MPCA, ed. Minnesota Pollution Control Agency, Minnesota.
- Clements, C., S. Ralph, and M. Petras. 1997. Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* Tadpoes using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (Comet) assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 29: 277-288.
- Cohen Jr, M. M. 2001. Frog decline, frog malformations, and a comparison of frog and human health. *American Journal of Medical Genetics A* 104: 101-109.
- Dvorakova, D., K. Dvorakova, L. Blaha, B. Marsalek, and Z. Knotkova. 2002.

- Effects of cyanobacterial biomass and purified microcystins on malformations in *Xenopus laevis*: teratogenesis assay (FETAX). *Environmental Toxicology* 17: 547-555.
- El-Merhibi, A. Kumar, and T. Smeaton. 2004. Role of piperonyl butoxide in the toxicity of chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia* and *Xenopus laevis*. *Ecotoxicology and environmental safety* 57: 202-212.
- Fort, D. J., E. L. Stover, J. A. Bantle, J. N. Dumont, and R. A. Finch. 2001. Evaluation of a reproductive toxicity assay using *Xenopus laevis*: boric acid, cadmium and ethylene glycol monomethyl ether. *Journal of Applied Toxicology* 21.
- Fort, D. J., J. H. Thomas, R. L. Rogers, A. Noll, C. D. Spaulding, P. D. Guiney, and J. A. Weeks. 2004. Evaluation of the developmental and reproductive toxicity of methoxychlor using an anuran (*Xenopus tropicalis*) chronic exposure model. *Toxicological Sciences* 81: 443-453.
- Geer, K., and S. Krest. 2000. A new threat to frogs. *Endangered Species Bulletin* 25: 12-13.
- Gilliland, C. D., C. L. Summer, M. Gilliland, K. Kannan, D. L. Villeneuve, K. K. Coady, P. Muzzall, C. Mehne, and J. P. Giesy. 2001. Organochlorine insecticides, polychlorinated biphenyls, and metals in water, sediment, and green frogs from southwestern Michigan. *Chemosphere* 44: 327-339.
- Goh, E. H., and A. W. Neff. 2003. Effects of fluoride on *Xenopus* embryo development. *Food And Chemical Toxicology* 41: 1501-1508.
- Green, D. M. 2003. The ecology of extinction: population fluctuation and decline in amphibians. *Biological Conservation* 111: 331-343.
- Huang, C.-Y., and P.-C. L. Hou. 2004. Density and diversity of Litter amphibians in a Monsoon forest of southern Taiwan. *Zoological Studies* 43: 795-802.
- Jen, C.-H., J.-C. Lin, W.-K. Chao, and M.-L. Hsu. 2004. Changing water resources, quality and pollution in Kao-Ping watershed. *Journal of geographical science* 37: 139-160.
- Johnson, P. T. J., K. B. Lunde, E. G. Ritchie, J. K. Reaser, and A. E. Launer. 2001. Morphological abnormality patterns in a California amphibian community. *Herpetologica* 57: 336-352.
- Kiesecker, J. M. 2002. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: A link to amphibian limb deformities in nature? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 9900-9904.

- Kiesecler, J. M., A. R. Blaustein, and L. K. Belden. 2001. Complex cause of amphibian population decline. *Nature* 410: 681-684.
- Klaassen, C. D. 2001. *Casarett and Doull's Toxicology*. McGraw-Hill, New York.
- La Clair, J. J., J. A. Bantle, and J. Dumont. 1998. Photoproducts and metabolites of a common insect growth regulator produce developmental deformities in *Xenopus*. *Environmental Science & Technology* 32: 1453-1461.
- Liao, S.-W., W.-L. Lai, J.-J. Chen, J.-Y. Sheu, and C.-G. Lee. 2006. Water quality during development and apportionment of pollution from rivers in Tapeng Lagoon, Taiwan. *Environmental Monitoring and Assessment* 122: 81-100.
- Lin, C.-F., and K.-Y. Lue. 2004. Altitudinal differences in temporal distribution, spatial preference and timing of breeding climax of frogs and toads in the central Taiwan. *Endemic Species Research* 6: 39-50.
- Liu, C.-M. 2007. Database of UVI in Taiwan. Global Change Research Center in NTU & National Taiwan University Atmospheric Sciences.
- Loeffler, I. K., D. L. Stocum, J. F. Fallon, and C. U. Meteyer. 2001. Leaping lopsided: a review of the current hypotheses regarding etiologies of limb malformations in frogs. *The Anatomical Record* 265: 228-245.
- Loman, J., and G. Andersson. 2007. Monitoring brown frogs *Rana arvalis* and *Rana temporaria* in 120 south Swedish ponds 1989–2005. Mixed trends in different habitats. *Biological Conservation* 135: 46-56.
- McDiarmid, R. W., and R. Altig. 1999. *Tadpoles- The biology of anuran larvae*. The University of Chicago Press.
- Meteyer, C. U. 2000. Field guide to malformations of frogs and toads. Pages 16 in USGS, ed. National Wildlife Health Center.
- Ouellet, M., J. Bonin, J. Rodrigue, J.-L. DesGranges, and S. Lair. 1997. Hindlimb deformities (Ectromelia, Ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal Of Wildlife Diseases* 33: 95-104.
- Pickford, D. B., and I. D. Morris. 2003. Inhibition of gonadotropin-induced oviposition and ovarian steroidogenesis in the African clawed frog (*Xenopus laevis*) by the pesticide methoxychlor. *Aquatic Toxicology* 62: 179-194.
- Rodriguez-Prieto, I., and E. Fernandez-Juricic. 2005. Effects of direct human disturbance on the endemic Iberian frog *Rana iberica* at individual and population levels. *Biological Conservation* 123: 1-9.
- Saka, M. 2004. Developmental toxicity of p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane,

- 2,4,6-trinitrotoluene, their metabolites, and benzo[a]pyrene in *Xenopus laevis* embryos. *Environmental Toxicology And Chemistry* 23: 1065-1073.
- Smithuis, T. 1964. Exostosis bursata. *The Journal of Bone and Joint Surglry* 46.
- Song, M. O., D. J. Fort, D. L. McLaughlin, R. L. Rogers, J. H. Thomas, B. O. Buzzard, A. M. Noll, and N. K. Myers. 2003. Evaluation of *Xenopus tropicalis* as an alternative test organism for frog embryo teratogenesis assay—*Xenopus* (FETAX). *Drug And Chemical Toxicology* 26: 177-189.
- Stocum, D. L. 2000. Frog limb deformities: An “Eco-Devo” riddle wrapped in multiple hypotheses surrounded by insufficient data. *Teratology* 62: 147-150.
- Venturino, A., E. Rosenbaum, A. C. De Castro, O. L. Anguiano, L. Gauna, T. F. De Schroeder, and A. M. P. De D'Angelo. 2003. Biomarkers of effect in toads and frogs. *Biomarkers* 8: 167-186.
- Wu, S.-H., and Y.-C. Liu. 2004. Anuran appecies. Pages 236-255 in H.-C. Lin and K.-C. Shao, eds. *Catchment-estuary linkages of food web dynamics in the Lanyang river, Taipei*. In Chinese with English abstract.
- Wu, Z., Y. Li, and B. R. Murray. 2006. Insular shifts in body size of rice frogs in the Zhoushan Archipelago, China. *Journal of Animal Ecology* 75: 1071-1080.

Table 1. Density (D, individual/100 m²) and percentage of malformed frogs (m%) in Kaoping basin and Tungkang basin during February, 2006 to June, 2007

season	Kaoping river						Tungkang river					
	Upstream		Midstream		Downstream		Upstream		Midstream		Downstream	
	D	m%	D	m%	D	m%	D	m%	D	m%	D	m%
Spring/2006	8.0	1.56	0.3	0	0	0	9.1	1.56	--	--	--	--
Summer/2006	13.9	3.15	0	0	0	0	0.9	7.50	2.9	4	0	0
Autumn/2006	8.7	0.97	0.1	0	--	--	5.9	2.67	1.3	0	--	--
Winter/2006	0.9	1.27	0	0	--	--	4.2	0.77	0	0	--	--
Spring/2007	6.1	2.93	0	0	0	0	2.2	0	0	0	0	0
Summer/2007	18.7	0.67	0	0	0	0	6.6	2.93	0	0	0	0

--: not sampled

Table 2. The frequency of symptom in abnormal frogs that caught in Kaoping basin, Tungkang basin and other area observed during 2006 to 2007.

	Kaoping river		Tungkang river		Other area	total
	Upstream	Midstream	Upstream	Midstream		
1. Amelia	8	0	6	2	8	24
2. Ectromeila	26	0	9	0	20	55
3. No foot/ Partial foot	43	0	16	6	19	84
4. Entire toe missing	7	0	0	0	8	15
5. Exostosis	15	0	6	1	7	29
6. Multiple toes	7	0	3	1	6	17
7. Short toes	1	0	1	0	0	2
Bone bridge/						
8. Bone Rotation/ Proportionately short limb	3	0	2	1	6	12
9. Other	3	0	1	2	5	11

Table 3. The frequency of symptom in male and female abnormal frogs.

	Male	Female	total
1. Amelia	16	13	29
2. Ectromeila	46	30	76
3. No foot/ Partial foot*	75	44	119
4. Entire toe missing	13	6	19
5. Exostosis	17	12	29
6. Multiple toes	13	10	23
7. Short toes	1	2	3
8. Bone bridge/ Bone Rotation/ Proportionately short limb	4	8	12
9. Other	5	6	11

An asterisk (*) indicates that a difference between the male and female group was significant at $p < 0.05$ by Chi-square assays.





Fig 1. 高屏河流域與東港河流域上中下游採樣區域。

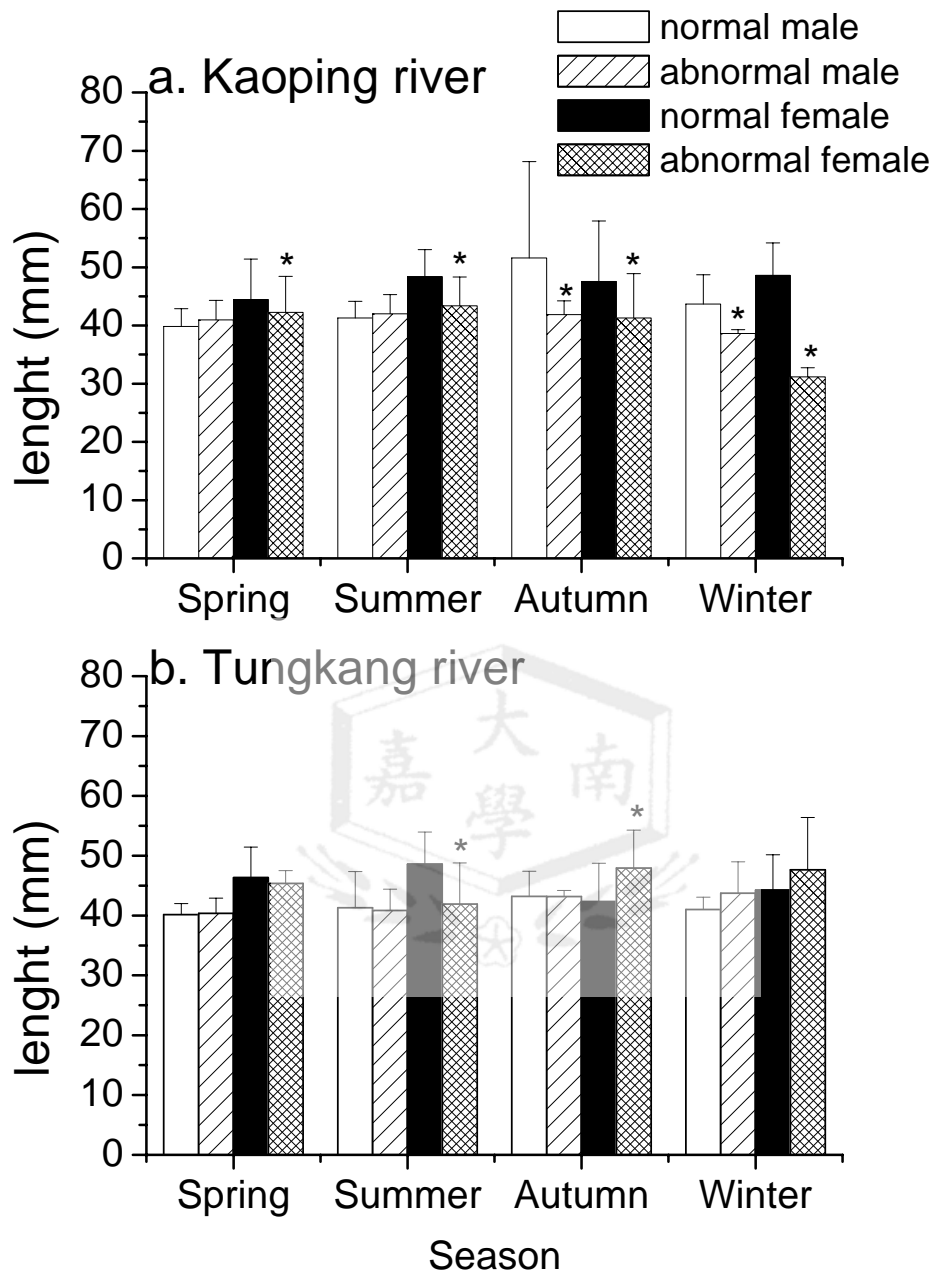


Fig 2. Body length of normal frogs and abnormal frogs sampled during February, 2006 to June, 2007. An asterisk (*) indicates that a difference between the normal frogs and abnormal frogs group was significant at $p < 0.05$