

國立臺灣大學生物資源暨農學院昆蟲學系

碩士論文

Department of Entomology
College of Bioresources and Agriculture
National Taiwan University
Master Thesis

台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 之描述、
寄主調查及對其寄主台灣斧螳 (*Hierodula formosana*)

形態之影響

Description of *Chordodes formosanus* n. sp.
(Nematomorpha), its host survey and effects on the
morphology of the host mantid, *Hierodula formosana*

邱名鍾

Ming-Chung Chiu

指導教授：吳文哲 博士

Advisor: Wen-Jer Wu, Ph.D.

中華民國 99 年 6 月

June 2010



宣告

根據國際動物命名規約 (International Code of Zoological Nomenclature (ICZN, 2000)) 第 8 條，本論文中對新種鐵線蟲的命名非遵循正式的命名原則。因此本文中所提及的新種名稱 (*Choedodes formosanus* n. sp.) 將在發表之後始正式生效。

Disclaimer

According to article 8 of International Code of Zoological Nomenclature (ICZN, 2000), the name of horsehair worms (*Choedodes formosanus* n. sp.) in this thesis will only become available by the referring publications.

誌謝

台灣有關鐵線蟲的資料缺乏，起步不易，初期幾乎看不到這項研究的進展，但因為吳文哲老師一直以來的支持，才得以在接近四年後的今天，能初步建構鐵線蟲在台灣的生態，這幾年老師的支持及指導是研究過程中最有力的後盾，不論在實質研究或精神上均是如此。甫踏入這個領域時對學術研究幾乎毫無經驗，感謝周偉瑜學姊的指導及督促，至今仍然提供許多關鍵的討論及建議，雖然直到學姊完成碩士班學位時研究尚未有顯著成果，但日後的研究處處跟這時所打下的基礎脫離不了關係。除了學姊之外，黃旌集學長的指導及協助是研究過程中重要的指引，學長幾乎參與所有的研究，特別是分子生物技術的指導，這項技術在這段研究的後期扮演極為重要的角色。三位前輩的指導是支撐這段時間研究的磐石，所有的成果均建立在此之上。

鐵線蟲遍佈台灣各地但幾乎無調查資料，因此採集方面特別感謝包括林佑安及方棋群學長在五峰旗瀑布的採集協助，本論文的材料幾乎都從當地採集而來；蔡緯毅同學採自太魯閣砂卡礑溪的樣本是比較不同鐵線蟲棲地的重要資訊；林柏彥學長採自台東的樣本是目前該地區的唯一採集紀錄。特別感謝台北市立動物園昆蟲館吳怡欣館長，林伊靜助理，蕭忠義，黃龍椿學長的協助，讓動物園區內的試驗得以順利進行，本文中所有保幼寄主的資料均從該地的採集而來。尚有許多野外採集的夥伴未能列載，但仍衷心感謝各位野外採集的協助。文章中涉及分子生物的操作及分析，感謝李和惠學姊試驗過程中的協助，王弘毅老師及謝佳弘學長對分析及寫作的建議，鄧雅文學姊在英文寫作的協助及吳立心學長在統計分析過程的討論。

因多方的協助，才得以完成本篇報告，封面僅能印一位作者，但這篇報告實際上是匯集了許多人的貢獻。謹在此處感謝各位，並衷心期望所呈現出的報告不會辜負各位曾經提供的幫助及支持。

中文摘要

鐵線蟲隸屬於線形動物門 (phylum Nematomorpha)，這類節肢動物的寄生蟲具有獨特的生活史及特殊的寄主影響。全世界約有 300 餘種鐵線蟲，但在此之前台灣未曾有描述。本文中根據雄蟲尾部特徵、六種表皮結構、體表腹部縱向色素帶及粒線體 DNA 序列的分析，將台灣最普遍的鐵線蟲，台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 視為一新種，並描述了同種間頭部及尾部的形態變異。該種鐵線蟲感染台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 及寬腹螳螂 (*H. patellifera*)，發育為成蟲後離開寄主在水中交配繁殖，幼蟲孵化後感染水棲生物，該水棲生物稱為保幼寄主 (paratenic host)。在台北市立動物園中已觀察到鐵線蟲幼蟲感染搖蚊幼蟲 (*Chironomus* sp.) 的現象，並在搖蚊幼蟲全身包括腸壁、軀幹、尾足、肛管，及腹管中發現感染。鐵線蟲進入水棲昆蟲後，普遍認為能在昆蟲羽化後跟著上岸。這個現象也藉由解剖及聚合酵素鏈索反應 (polymerase chain reaction, PCR) 的偵測而證實：在台北市立動物園中，寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 及一未知種類的搖蚊科 (Chironomidae) 成蟲已確定受鐵線蟲感染。在上岸後，受感染的保幼寄主被捕食的同時也將鐵線蟲帶到最終寄主 (definitive host) 體內，鐵線蟲在最終寄主體內發育至成熟。寄主受鐵線蟲感染後形態出現變化。在比較正常台灣斧螳及受感染個體後發現，受感染的個體翅長縮短、雄蟲觸角變短且鞭節感覺毛密度下降。其中感覺器官的變化是首次在受到鐵線蟲感染的寄主中被發現。而雄蟲觸角感覺毛密度的下降造成該形態特徵趨近若蟲形態，因此有可能是寄生蟲感染後造成幼年化 (Juvenilization) 的結果。另外，感覺毛密度下降的現象也在落水的寬腹螳螂雄蟲身上被發現。

關鍵詞：寄生關係、台灣索鐵線蟲、台灣斧螳、寬腹螳螂、寄主形態變化。

Abstract

Horsehair worms (Nematomorpha) are arthropod parasites. They are famous for their unique life cycles and host manipulations. About 300 extant species have been identified, but none in Taiwan been recorded. Based on the morphology of male's tail, six types of areoles, vertical pigment line, and mitochondrial COI partial sequence, I described a new common horsehair worm species in Taiwan, *Chordodes formosanus* n. sp. and their morphological polymorphisms on the heads and tails. *Chordodes formosanus* parasitized with mantids *Hierodula formosana* and *H. patellifera*. When matured adult worms left their hosts, then mated and laid eggs in water. The hatched larvae infected paratenic hosts such as aquatic animals. The infection was detected in larval midges *Chironomus* sp. from Taipei Zoo. The horsehair worms were found in the host's gut wall, trunk, posterior parapod, anal tubes, and ventral tubules. Logically, the horsehair worms land with aquatic insects' imagoes. This was confirmed by the detection of infection in adult caddisflies (*Chimarra formosana*) and one unknown midge (Chironomidae) by using polymerase chain reaction (PCR). The horsehair worms invaded and developed inside the definitive host after the infected paratenic hosts were preyed. From the morphological comparison, the infected mantids, *H. formosana*, showed shorter wings in both sexes with shorter antennae and a reduction in the numbers of antennal sensilla in the infected males. This is the first discovery of a host's sense organ change in the parasitism of horsehair worms. The reduced antennal sensilla made the infected male look similar to the nymph's antennae. This may be the result of parasite-induced juvenilization. Additionally, the reduction in antennal sensilla was also observed in male *H. patellifera* fallen in water.

Key words: Parasitism, *Chordodes formosanus* n. sp., *Hierodula formosana*, *H. patellifera*, Parasite-induced morphological change.

目錄

誌謝.....	i
中文摘要.....	ii
英文摘要.....	iii
目錄.....	iv
圖次.....	vii
表次.....	x
附錄.....	xi
壹、緒言.....	1
貳、往昔研究.....	3
一、形態與分類.....	3
(一) 分類地位.....	3
(二) 形態.....	4
二、淡水生鐵線蟲生態.....	7
(一) 多寄主生活史.....	7
(二) 淡水鐵線蟲生活史.....	9
參、材料與方法.....	19
一、鐵線蟲分類與形態描述.....	19
(一) 野外樣本採集.....	19

(二) 鐵線蟲飼養及感染.....	19
(三) 形態描述.....	19
(四) 分子序列比較.....	20
二、保幼寄主感染率調查.....	21
(一) 野外樣本採集.....	21
(二) 分子檢測方法.....	24
三、寄主形態影響.....	28
(一) 野外樣本採集.....	28
(二) 台灣斧螳形態測量.....	29
肆、結果.....	32
一、鐵線蟲形態描述.....	32
(一) 分布.....	32
(二) 寄主.....	32
(三) 形態描述.....	32
(四) 遺傳分化.....	44
(五) 採集簡述.....	46
(六) 評論 (Remark).....	46
二、保幼寄主感染率調查.....	48
(一) 分子檢測方法.....	48

(二) 野外調查.....	56
三、台灣斧螳形態測量及比較.....	62
(一) 體型 (翅長、前胸背板長、體長).....	62
(二) 觸角鞭節形態 (長度、感覺毛密度).....	63
伍、 討論.....	70
一、台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 形態.....	70
二、鐵線蟲保幼寄主種類及季節感染頻率.....	71
三、台灣索鐵線蟲對台灣斧螳形態的影響.....	75
陸、 結論.....	78
柒、 參考文獻.....	80
附錄.....	89

圖次

圖一、台北市立動物園試驗樣區	23
圖二、近紫外光誘引器	24
圖三、從 2008 年 7 月所採集到 40 隻寶島缺叉石蛾 (<i>Chimarra formosana</i>) DNA 樣本中隨機抽 5 個相加，並重複 10000 次所預測的 DNA 含量分布	28
圖四、台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>) 形態測量	30
圖五、台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>) 觸角鞭節上的三種感覺毛	31
圖六、雄台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 頭部及尾部構造	33
圖七、雄台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 頭尾不同形式的附屬物	34
圖八、雄台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 腹面及附屬物	35
圖九、雄台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 體中段表皮突起	37
圖十、雌台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 的體表	40
圖十一、台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 卵及幼蟲 ...	43
圖十二、Nm18F 及 Nm18-1R 在不同黏合溫度 (Annealing	

temperature) 下對台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) DNA 的 PCR 反應效率比較	49
圖十三、以三種線蟲 DNA 測試 Nm18F 及 Nm18-1R 引子是否會雜和到鐵線蟲以外的物種	50
圖十四、在不同樣本 DNA (<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.) 含量下 PCR 的反應效率比較	51
圖十五、在不同樣本 DNA 混合比例下 PCR 的反應效率比較	52
圖十六、台北市立動物園中寶島缺叉石蛾 (<i>Chimarra formosana</i>) 成蟲體內感染的鐵線蟲	54
圖十七、台北市立動物園中寶島缺叉石蛾 (<i>Chimarra formosana</i>) 成蟲 PCR 偵測樣本	54
圖十八、多個樣本混合測試	55
圖十九、台北市立動物園 2009 年至 2010 年搖蚊幼蟲 (<i>Chironomus</i> sp.) 季節波動及鐵線蟲感染狀況	57
圖二十、搖蚊 (<i>Chironomus</i> sp.) 幼蟲體內發現鐵線蟲幼蟲的位置	59
圖二十一、搖蚊 (<i>Chironomus</i> sp.) 體內發現的鐵線蟲外殼及受到寄主免疫系統攻擊造成外觀不完整的鐵線蟲幼蟲，研判可能已經死亡	59
圖二十二、搖蚊 (<i>Chironomus</i> sp.) 幼蟲中台灣索鐵線蟲 (<i>Chordodes</i>	

<i>formosanus</i> n. sp.) 從外殼中脫出.....	60
圖二十三、台北市立動物園 2009 年至 2010 年寶島缺叉石蛾	
(<i>Chimarra formosana</i>) 成蟲數量波動及鐵線蟲感染情況	61
圖二十四、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>)	
各部位與體長及前胸背板長的比例比較	63
圖二十五、台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>) 雄若蟲、雌若蟲、雄成	
蟲、受鐵線蟲感染的雄成蟲、雌成蟲，及受鐵線蟲感染的雌成	
蟲的觸角鞭節	66
圖二十六、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>)	
在觸角鞭節感覺毛密度的比較	67
圖二十七、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>)	
在觸角鞭節感覺毛開始生長的鞭節節次	68
圖二十八、室內飼養的寬腹螳螂 (<i>Hierodula patellifera</i>) 和台北市立動	
物園水中的螳螂屍體觸角比較	69

表次

表一、所檢查的 27 隻台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.)
樣本粒線體 COI 基因的遺傳距離 45



附錄

附錄一、所檢查的鐵線蟲標本	88
附錄二、DNA 萃取	91
附錄三、從美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 網站上所選取作為比較 18S rDNA 序列的鐵線蟲及其他水生生物及近水生物	92
附錄四、台灣斧螿形態測量資料	95
附錄五、保幼寄主感染率調查	101



壹、緒言

鐵線蟲 (horsehair worms) 屬於線形動物門 (phylum Nematomorpha)，大多數的種類至少必須經歷一個以上的寄主才能發育成熟，而除了在最終寄主 (definitive host) 體內發育時期是在陸上生活之外，其餘的時期均生活在水中。這個類群的寄生蟲在台灣並不罕見，盛夏的近郊時常能見到受鐵線蟲感染的台灣斧螳 (*Hierodula formosana*)，新店及宜蘭的水池也曾被發現成群的鐵線蟲成體。加上零星的採集報告 (周，2004)，及 2005 年出現的一則人類因為生吞大肚魚而造成的疑似鐵線蟲感染病例，都是鐵線蟲在台灣水陸域活動的證據。任 (1995) 認為，鐵線蟲最常見的代表種為鐵線蟲屬 (*Gordius*) 及擬鐵線蟲屬 (*Paragordius*)。但 Schmidt-Rhaesa and Ehrmann (2001) 認為熱帶及亞熱帶地區鐵線蟲組成應以索鐵線蟲屬 (*Chordodes*) 為優勢，加上初步調查中並沒有找到擬鐵線蟲屬，這些資料上的衝突都顯示出台灣對鐵線蟲類群研究的缺乏。

除了種類的描述之外，牠們複雜的生活史也帶來了許多議題。大多數的鐵線蟲被認為必須在特定的陸生節肢動物體內才能發育成熟 (Hanelt *et al.*, 2005)，但這最終寄主的寄主範圍 (host range) 卻隨種類而異，從限定在單一種類，到跨越幾個屬的寄主範圍均有記載 (Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2005)。而寄主範圍的問題在鐵線蟲和保幼寄主 (paratenic host) 的寄生關係中更為複雜。Schmidt-Rhaesa and Ehrmann (2001) 以鐵線蟲屬的幼蟲為例，認為鐵線蟲的保幼寄主 (paratenic host) 範圍遠遠超過最終寄主，從吸蟲、水生昆蟲，一直到魚類、青蛙，都有被感染的紀錄，但卻少有報告描述寄主在受到感染後所產生的影響。類似的狀況也發生在鐵線蟲陸生的最終寄主中。長久以來寄主跳水的現象被認為是鐵線蟲感染所致，但鐵線蟲感染後寄主對外界訊息接收的改變卻缺乏研究。本文除了對目前鐵線蟲生態的文獻回顧之外，我描述了索鐵線蟲屬的特徵，並視我所採集到的個體為一未曾發表的新種。另外還有飼養經驗、保幼寄主調查以及鐵線蟲和最終寄主 (台灣斧螳) 的寄生關係研究。這三個可以是完全獨立的議題，但在建構完整的鐵線

蟲生態上均不可或缺。

大多的研究都需要經由基礎生物學的建立才得以深入探討，而對一些不常受到注目的生物而言，深入的研究往往受到限制。因此在本文中除了放入我的研究成果之外，在文獻的回顧也盡量做到多方面的敘述，特別是鐵線蟲對寄主行為的影響方面，本文的研究中雖然尚未涉及這個領域，但這個議題在寄生關係的討論特別引人注目，也是目前鐵線蟲研究的重點之一，因此在往昔研究中，也特別花一部分的篇幅來回顧科學家對這個議題的討論。



貳、 往昔研究

鐵線蟲是古老的寄生蟲類群，雖然尚未有報告專門針對台灣鐵線蟲的生態做探討，但國外的研究仍然能給台灣鐵線蟲的生態帶來建設性的參考資料。往昔研究的回顧將分成兩大部分，一開始從鐵線蟲的分類及形態著手，包括成蟲及較少被注意的幼蟲形態，隨後再進入鐵線蟲生態的部份，簡單的討論鐵線蟲在環境中與寄主及其他非寄主生物的交互作用。

一、 形態與分類

(一) 分類地位

鐵線蟲 (horsehair worms) 是線形動物門 (phylum Nematomorpha) 下種類的俗稱，在這個類群之下目前已發表超過 300 個種類。除了 2 個已滅絕的屬之外 (Poinar and Buckley, 2006)，現生的種類共可分成 21 屬，其中 20 屬生活在淡水中 (class Gordioida)，1 屬在海水 (class Nectonematoida) (Hanelt *et al.*, 2005)。線形動物門最早在 1886 年藉由形態從線蟲門 (phylum Nematoda) 之中被獨立分開 (reviewed in Bleidorn *et al.*, 2002)，但在早期的部分報告中仍然能看到將鐵線蟲歸類為線蟲的狀況，如 Wülker (1964) 將感染蠡斯 (*Metrioptera brachyptera*) 的鐵線蟲 (*Gordius* sp.) 歸類在線蟲之下。目前則藉由分子的輔助，將這 2 個類群視為互為姊妹群 (sister group) 的單系群 (monophyletic group)，共同屬於 Nematoida (reviewed in Bleidorn *et al.*, 2002)，也因為這個單系群關係的建立，鐵線蟲的高階分類得以直接參考目前研究較為透徹的線蟲。1997 年，Aguinaldo *et al.* 藉由比較不同後生動物 (metazoan) 的 18s rDNA 的序列，重新描述線蟲、鐵線蟲和其他後生動物的親緣關係，並命名一個新的類群—脫皮動物總門 (Ecdysozoa)，這個總門之下包含線蟲、鐵線蟲、節肢動物等類群，這個結論也受到其他學者的支持並沿用至今 (Petrov and Vladychenskaya, 2005)。

目前線形動物門的分類以形態特徵為主要依據，雖然現今形態描述多經由掃描式電子顯微鏡的觀察，已比早期純粹以光學顯微鏡還來的詳細，但要明確界定

種類仍有困難。這也造成 Schmidt-Rhaesa (2002a) 整理當時的 22 個現生屬，縱使僅更動 *Chordodiolus* 的分類地位 (*Chordodiolus* 之下僅一種，之後被併入 *Beatogordius*)，但也指出目前所接受的 21 屬中，僅 5 屬 (*Chordodes*, *Nectonema*, *Beatogordius*, *Acutogordius*, *Noteochordodes*) 能歸納出較為明確的獨有衍徵 (autapomorphy)，確定為單系群，另外有 5 屬則可能是其他屬的異名 (synonymy)。除了形態之外，DNA 序列的分析帶給親緣關係研究新的依據，目前鐵線蟲門以下較為完整的研究僅 Bleidorn *et al.* (2002) 對 9 屬中 15 個種類的 18s rDNA 分析結果。線蟲與鐵線蟲之間，及海生鐵線蟲 (*Nectonema agile*) 和其它 14 種陸生鐵線蟲之間的姊妹群關係和假說符合，不過在所分析的淡水鐵線蟲中，有部分的種類仍和原先的認知有衝突。

(二) 形態

1. 成蟲

(1) 形態

鐵線蟲這俗名來自於成蟲深褐色細長的外觀，其他的俗名如馬毛蟲、髮形蛇、馬尾毛蟲、銅絲蛇，均來自於鐵線蟲的外形。英文俗名則有 horsehair worm、hairworm、Gordian worm、Gordioid worm、nematomorph 等用法，也都來自於細長的外形。其中 Gordian worm 的用法可能是取自於英文 Gordian knot 的典故，源自於鐵線蟲交纏成結。鐵線蟲這俗名來自於成蟲深褐色細長的外觀，其他的俗名如馬毛蟲、髮形蛇、馬尾毛蟲、銅絲蛇，均來自於鐵線蟲的外形。英文俗名則有 horsehair worm、hairworm、Gordian worm、Gordioid worm、nematomorph 等用法，也都來自於細長的外形。其配時在水中纏繞成一團的形態。普遍上來說，鐵線蟲成蟲外形細長，長度最高可達 2 m (Schmidt-Rhaesa and Ehrmann, 2001)，顏色淺至深褐色，但也存在白色的種類 (Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2003)。鐵線蟲有時會和其他外形相似的生物混淆，特別是親緣關係最接近的線蟲。但已發表的鐵線蟲種類中，也有被修正為線蟲的例子；Schmidt-Rhaesa *et al.* (2003) 在新北區 (Nearctic

region) 的鐵線蟲調查報告中便認為，鐵線蟲成蟲腸道退化，因此該區曾發表的種類 *G. tenuis* Leidy, 1878，在描述中提及腸道的存在，應該屬於索線蟲 (mermithid nematodes) 的一種。而除了腸道之外，鐵線蟲和線蟲的差異在尾端特別明顯，特別是雌線蟲肛門及生殖腺對外開口分開 (Chitwood and Chitwood, 1950)，鐵線蟲則雌雄均具有泄殖腔開口 (cloacal opening)。部分屬的鐵線蟲雄蟲尾端分 2 葉，而未分葉的種類尾部中央常內陷形成溝狀 (median groove)，泄殖腔開口位於尾端腹面，部分種類周圍有刺毛環繞 (circumcloacal spine)；雌蟲尾端膨大或縊縮，僅部分種類分葉 (擬鐵線蟲屬尾端分成 3 葉，*Pseudogordius* 則有 4 個瓣狀附屬物)，泄殖腔開口位於尾部末端。其他的特徵如具有下咽喉腦 (subpharyngeal brain)，而咽喉肌肉 (pharyngeal musculature) 退化 (Bleidorn *et al.*, 2002)，不具有側索 (任，1995)，都是鐵線蟲成蟲獨有的特徵。

(2) 分類特徵

前面有提到線形動物門之下可藉由生活環境分成 2 個綱 (Gordioida 及 Nectonematoida)。這兩類鐵線蟲在外形上也有所差異。海生的 Nectonematoida 有具盲端的消化道 (blindly ending intestine)，用來游泳的剛毛 (natatory bristles) 及在蟲體前端的巨大細胞 (giant cells)；淡水生的 Gordioida 則具有埋在皮層之下的腹面神經索 (subepidermal ventral nerve cord) (Bleidorn *et al.*, 2002)。

2002 年，Schmidt-Rhaesa 對當時已知所有的屬的特徵進行全面的描述。鐵線蟲屬以及種的形態分類多以雄蟲為主，因其尾部的構造較為複雜，部分的屬如 *Acutogordius* 及鐵線蟲屬甚至因雌蟲缺少雄蟲尾部的半月狀皺折 (postcloacal crescent) 而難以進行種類判斷。相較於尾端，蟲體前端的描述偏少。前端通常縊縮，各種類縊縮程度不同，偶而也有筒狀，普遍被認為是一個光滑的結構。許多種類在最前端上有一白色端部 (白帽, white cap)，部分緊接著深褐色或是黑色環狀的暗帶 (暗環, dark collar)。除了前後端之外，軀幹中段的表皮突起 (areole) 和突起間結構 (interareolar structure) 也是分類的重要特徵，特別是一些表皮突起

分化明顯的類群，如索鐵線蟲屬的種類。表皮突起的形狀、分布及表面附屬物均是分類的特徵，如索鐵線蟲特有的冠狀突起 (crowned areole, 突起頂端周圍帶有環狀剛毛)，*Parachordodes* 的 superareoles (突起較高且大，中間有一個孔)，及 *Paragordionus* 成對的 megareole，都是分類的重要依據。但也有部分屬的鐵線蟲表皮是完全平滑的，如鐵線蟲屬大多表皮平滑，僅在少數種類有刺毛分布。

至少從 1978 年起，掃描式電子顯微鏡就被應用於鐵線蟲 (鐵線蟲屬) 外形的描述，*C. morgani* 則在 1989 年以同樣的方法被重新描述 (Chandler and Wells, 1989)。直到現在，新種的發表大多會配合掃描式電子顯微鏡的描述，且許多已發表種類的重新描述也同樣在進行著 (Zanca *et al.*, 2006a, b; De Villalobos *et al.*, 2007, 2009)。但縱使加入電子顯微鏡的觀察，Schmidt-Rhaesa (2001) 認為除了部分的結構，如表皮之下的錐狀結構，僅在光學顯微鏡之下能被觀察到之外，鐵線蟲表皮特徵的分布也時常遭到忽略，特別是體縱軸和其他部分的差異。形態描述的盲點加上採集不易，對種內形態多型性幾乎一無所知，造成至今對鐵線蟲的形態分類許多時候仍然存有疑問 (Schmidt-Rhaesa and Yadav, 2003; Schmidt-Rhaesa and Brune, 2008)。

2. 幼蟲

鐵線蟲成蟲或許容易和其他生物搞混，但幼蟲卻擁有獨特的外形。可惜目前對鐵線蟲幼蟲形態的描述較少，要作為分類的依據並不容易。以下的幼蟲描述在光學顯微鏡部分僅包含 *G. robustus*、*P. varius*、*C. morgani* (Hanelt and Janovy, 2002)，電子顯微鏡則僅 *C. morgani* (Bohall *et al.*, 1997)。

相較於成蟲，幼蟲的體型小，僅約 50 μm ，身體有許多環節，但能粗分成前半部和後半部 (preseptum 及 postseptum)，前半部和後半部的比例隨種類而異。前半部和後半部的中間由一節 ectodermal septum 連接，不過這個構造在光學顯微鏡下較不明顯。前半部的末端有一環狀內彎的鈎狀結構。鈎狀結構在掃描式電子顯微鏡觀察下呈現 6 組平均環繞在前端邊緣，除了腹側的 1 組成對出現之外，

其餘均為單一鈎狀結構。光學顯微鏡下能在前端內部見到明顯的口針 (stylet or proboscis)。後半部末端也有 4 個鈎狀結構環繞在末端，內部在光學顯微鏡之下能觀察到 pseudointestine，不同種類的 pseudointestine 形態差異大。Hanelt and Janovy (2002) 認為該結構在幼蟲侵入保幼寄主 (paratenic host) 後消失，可能主導胞囊 (cyst) 外壁的分泌，但這個說法尚有待商榷。

Hanelt *et al.* (2001) 主張鐵線蟲幼蟲的寄主範圍廣，用來研究鐵線蟲的分佈會比成蟲容易，但幼蟲形態的資料遠遠不及成蟲。Hanelt and Janovy (2002) 藉由形態測量的方法雖然能分辨 *G. robustus*、*P. varius* 及 *C. morgani* 這 3 種的幼蟲，但要將此方法廣泛應用到其他鐵線蟲的幼蟲分類仍需先建立基礎的形態資料。

二、淡水生鐵線蟲生態

鐵線蟲生態的研究多環繞在生活史中不同時期和其他生物的關係。典型的鐵線蟲生活史可被分成自由生活時期 (游離成蟲、卵、幼蟲) 及寄生時期 (保幼寄主時期、最終寄主時期)，並橫跨水、陸 2 個極端差異的環境。目前認為鐵線蟲幼蟲可能利用水生昆蟲的羽化上岸，並且影響最終寄主的行為，使成蟲容易回到水中交配繁殖 (Schmidt-Rhaesa and Ehrmann, 2001)。這種生活史中必須經歷 2 個以上寄主的生活史被稱作多寄主生活史 (multihost complex life cycle，相對於 simple life cycle，生活史中僅經歷 1 個寄主) (Choisy *et al.*, 2003)，在寄生蟲中普遍存在，並且被科學家認為在演化上具有重要的意義，因此在進入鐵線蟲生活史之前，先概略的討論寄生蟲多寄主生活史的演進。

(一) 多寄主生活史 (multihost complex life cycle)

許多生物的生活史過程會同時經歷形態的改變以適應不同的環境，這種生活史被稱作複合生活史 (complex life cycle)，而在寄生蟲中，這意味著它們必須在經歷多個不同的寄主後才具備繁殖的能力 (Choisy *et al.*, 2003)。科學家對這種適應方式的演化過程有眾多說法，只是這些理論模型目前還難以解釋大多數的適應策略。

多寄主複合生活史一般認為從單寄主發展過來，即寄生蟲一開始僅經歷單一寄主的生活史，在演化的過程中加入其他的寄主。除了讓寄生蟲得以成熟的最終寄主之外，其餘的均可統稱為中間寄主。這個現象的發展路徑說法眾多，Trail (1980) 認為寄生蟲的繁殖體 (propagule) 可能突發性的遭到環境中寄主以外的生物大量捕食，使大多數的寄生蟲無法進入寄主內成熟，在這種壓力下篩選出具有營養體轉移 (trophic transmission) 能力的寄生蟲；而 Trail 當時也認為，若反過來說，環境中的寄主若突然受到捕食者大量捕食，也給了寄生蟲一樣的生存壓力而可能篩選出能在新的寄主 (捕食者) 體內成熟的個體。這 2 個假說雖然合理，但均必須建立在突發狀況的發生之下，而這種突發狀況是否能頻繁到造成現今廣泛的寄生蟲使用多寄主生活史卻仍然令人質疑，也因此不同的說法也相繼的被提出。

突發狀況或許是寄生蟲發展出多寄主生活史的原因之一，但不見得是唯一的可能性。Trail (1980) 在提出突發狀況假說的同時，也藉由寄生蟲所引發的寄主自殺來探討。自殺是寄主在受到寄生蟲感染後，改變自身死亡時間或方式的現象。許多寄主在受到寄生蟲感染後會出現異常的形態或行為，使自己暴露在捕食壓力下。類似的行為在某些狀況下被認為能促進寄生蟲在不同寄主之間的轉移 (Thomas *et al.*, 2002)，這在吸蟲 (trematode) 及棘頭蟲 (acanthocephalan) 中都有過例子 (Combes, 1991)。但從寄主的角度來看，死亡率的提高意味著寄生蟲有機會在成熟前因寄主成為捕食者的獵物而死亡，降低寄生蟲在寄主族群之間擴散的機會。受感染個體犧牲自己以提高族群中其他個體的存活，在親屬選擇 (kin selection) 觀點之下能夠提高整體適應度 (inclusive fitness)。Trail 從這個角度切入，認為多寄主生活史的發展也可能是寄主和寄生蟲相互對抗而產生的結果。

除了自殺的討論之外，在最適化模式 (optimality model) 的研究之下，藉由數學模型能比較不同情形之下寄生蟲的適應度來推測演化過程中可能傾向的策略。Brown *et al.* (2001) 推測寄生蟲若能經由捕食從中間寄主進入最終寄主，將

能使最終寄主體內的寄生蟲密度提高而增加異體交配的機會。異體交配能提升基因的多樣性，將使寄生蟲能適應較多樣的環境而獲利。而捕食者除了扮演濃縮者 (concentrator) 的角色之外，Choisy *et al.* (2003) 再度提出另一個假說，認為在中間寄主族群量遠高於最終寄主的情況下，藉由中間寄主進入最終寄主的機會高過最終寄主直接從環境中感染寄生蟲的機會，造成寄生蟲發展出多寄主生活史的策略。

從這麼多種已發表的假說中，要找到 1 個來合理解釋單一種寄生蟲演化過程都不容易，更別說不同寄生蟲的演化過程可能也大不相同。但無論他的發展過程如何，多寄主生活史現今廣泛出現在許多寄生關係中，也挑起寄生蟲在外在環境及各個寄主之間的轉移過程的研究。淡水鐵線蟲的生活史本身就是一個很典型的多寄主生活史，也因此許多的研究都離不開不同寄主間或是生活環境間的轉移議題。在其中，除了包含鐵線蟲最熱門，也最廣為人知的研究議題—寄主跳水自殺現象之外，鐵線蟲如何從水域環境上岸，甚至為何偶然的會出現脊椎動物感染的病例，也是廣泛被討論的重點。

(二) 淡水鐵線蟲生活史

1. 自由生活時期 (free-living stage) 與假寄生 (pseudoparasitism)

自由生活時期的鐵線蟲，均在水中或潮溼的地區存活。鐵線蟲為雌雄異體，必須在寄主體外交配後才能繁殖，交配後的雌鐵線蟲產下卵鍊 (egg string，鐵線蟲的卵相黏而成為長條狀的卵塊)，幼蟲孵化後在水中等待保幼寄主的攝食以進入寄生時期。在鐵線蟲的例子中，保幼寄主就是多寄主生活史中的中間寄主，在後面的篇幅中會簡短提到這個名詞的意義。現今對於卵及幼蟲的報告不多，也未曾見過野外的觀察紀錄，但根據 Hanelt and Janovy (2002) 室內飼養的觀察，鐵線蟲卵鍊形態隨著種類不同，能粗略分成漂浮在水底 (如 *G. robustus* 及 *P. varius*) 及黏附在固著物上 (如 *C. morgani*) 兩種形式。卵鍊肉眼可見，長度能達數公分，但單顆橢圓形的卵卻僅約長 30-50 μm 。幼蟲孵化後在卵的附近活動，

行動能力差，若沒進入寄主體內約 2 週後失去感染力，但目前並不清楚幼蟲在進入寄主前是否能經由攝食來維持生理機能。鐵線蟲的游離成蟲也有一樣的問題。游離成蟲是否能從環境中攝取所需的物質尚無定論，鐵線蟲在幼蟲到成蟲之間會在最終寄主體內經歷一段幼體蠕蟲時期 (wormlike juvenile)。在這時期的幼蟲表皮 (larval cuticle) 具有吸收功能，但這層表皮在成熟後蛻換成主要由多層纖維構成的成蟲表皮 (adult cuticle)，主要為保護及訊息接收作用 (Schmidt-Rhaesa, 2005)。加上部分鐵線蟲的消化道退化 (Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2003)，因此大多數的鐵線蟲成蟲可能不具吸收養分的能力。也因此，一些出現在脊椎動物體內，即那些從節肢動物體內成熟後，又侵入其他脊椎動物的鐵線蟲，格外令人好奇，而這其中也包括少數人類的病例。

假寄生 (pseudoparasitism) 為非寄生物侵入生物體內造成疑似寄生的現象。Hanelt *et al.* (2005) 將鐵線蟲成蟲出現在脊椎動物的案例歸類於此，原因可能是認為游離鐵線蟲不具吸收寄主養分的能力，因此不能歸類為寄生蟲。鐵線蟲成體的體型大，表皮堅硬，無論是直接或跟著寄主被攝食到脊椎動物體內均不容易被消化而有機會存活。也因為體形細長，Ponton *et al.* (2006) 簡短的描述了鐵線蟲游離成體從脊椎動物 (魚及青蛙) 體內逃脫的現象，報告中逃脫的比例最高可達 38%。這種在被捕食後再從消化道逃脫的行為在寄生蟲，甚至是現今已知的生物中尚未被報導過。未能逃脫的鐵線蟲存活在動物體內的少數例子，在人及寵物中變成了鐵線蟲病 (nematomorphosis，該英文名詞筆者未曾在正式報告中看過，僅零星出現在網路的使用中)。鐵線蟲病多指鐵線蟲游離成體出現在人畜消化道或泌尿系統的病例，理論上來說幼蟲也有機會進入人體，但不易發現，且未曾發現重大病徵，因此目前所謂的鐵線蟲病均源自游離成蟲的假寄生。鐵線蟲病的病例不多，多數跟飲食習慣有關，例如食用受感染的昆蟲 (Hanelt *et al.*, 2005)，少部分則是經由泌尿系統的對外開口進入人體 (何，1995)。病例少，且未曾出現重大危害，因此鐵線蟲病受到的重視程度不高，但因蟲體巨大，因此 Hanelt *et al.*

(2005) 仍認為應建立基礎的資料以減少零星感染所造成的恐慌。

卵、幼蟲、游離成蟲是鐵線蟲少數暴露在環境中的時段，大多數的時間鐵線蟲均隱藏在寄主中。但縱使蟲體受到寄主的遮蔽，所造成的寄主包括形態及行為上的影響卻反而使寄生時期的鐵線蟲受到較多的注目。這個寄主包含了保幼寄主及供鐵線蟲幼蟲發育成熟的最終寄主。

2. 保幼寄主時期 (paratenic host phase) 與幼體轉移 (paratenesis)

在水底層活動的鐵線蟲遭到攝食後進入寄主並形成胞囊 (cyst) (Schmidt-Rhaesa and Ehrmann, 2001)，帶著胞囊的寄主則稱為保幼寄主。保幼寄主最早被稱作 *hôtes d'attente*，意思是這種寄主不提供寄生蟲生長及發育的場所，僅為一隱蔽的地點，這個名詞稍晚被改成 *paratenic host* 而沿用至今 (Hanelt and Janovy, 2004a)。從上述的定義能得知，保幼寄主在寄生蟲的生活史中並非必經的路程，有時僅是意外的寄主，但大部分的鐵線蟲卻無法跳過保幼寄主而完成生活史，因此在名詞的使用上可能不夠精確。不過因目前多數的報告均採用該名詞，因此本文中沿此稱呼。鐵線蟲的保幼寄主種類繁多，野外從無脊椎動物的螺 (Hanelt *et al.*, 2001)、水生昆蟲 (Inoue, 1962)、吸蟲 (Cort, 1915; Hanelt, 2009)、到脊椎動物的青蛙及魚 (Schmidt-Rhaesa and Ehrmann, 2001) 均有紀錄。Hanelt and Janovy (2003) 將 12 種水生生物和鐵線蟲幼蟲共同飼養，發現其中 10 種出現感染的現象，而 2 種未受感染的種類 (水螅，渦蟲) 則可能是因攝食方式沒機會吃到鐵線蟲幼蟲。也因此目前科學家認為，鐵線蟲的胞囊有機會出現在大多數將鐵線蟲幼蟲攝食的生物中。但在這麼多種類的寄主中，鐵線蟲引發的寄主影響例子卻不多。較為詳細的僅有感染鐵線蟲 (*P. varius*) 後的蜉蝣 (*Baetis* spp.) 稚蟲翅芽縮短 (White, 1966) 及石蛾 (*Brachycentrus* sp.)、蚋 (*Simulium* spp.) 無法化蛹的現象 (White, 1969)。但因該篇報告對鐵線蟲幼蟲的描述過於粗略，這些形態上的改變是否源自於鐵線蟲感染仍然令人存疑，而扣除這個例子，鐵線蟲幼蟲對保幼寄主的交互關係幾乎僅剩下水生昆蟲被誘發的內部免疫反應 (Hanelt

and Janovy, 2004a), 因此目前普遍認為鐵線蟲幼蟲對保幼寄主的影響微弱。但縱使如此, 保幼寄主和鐵線蟲的關係在鐵線蟲生態上仍然重要, 因為牠是鐵線蟲從水域環境進入到陸生最終寄主潛在的橋樑。

一般認為鐵線蟲經由保幼寄主的被捕食得以進入最終寄主體內, 典型的過程是水生昆蟲羽化後上岸, 再被最終寄主捕食。在一些飼養的報告中雖然證實了這點 (Inoue, 1962; Hanelt and Janovy, 2004a, b), 但在野外的情形除了缺乏直接證據之外, 保幼寄主的寄主範圍極廣, 哪些能將鐵線蟲帶給最終寄主, 而在這之中是否有主要的攜帶者都未有定論。有鑑於此, Hanelt and Janovy (2004a) 將其中一部分的保幼寄主稱為假性保幼寄主 (spurious paratenic host), 這類的保幼寄主擁有攜帶胞囊的能力, 但在自然狀況下無法將胞囊轉移到最終寄主體內。大多數的生物在自然界中都有一定的取食範圍, 放到捕食性動物身上來說, 代表自然狀況下牠們只會捕食特定種類的獵物。Hanelt and Janovy (2004b) 在飼養報告中也認為, 縱使在實驗室中成功得以餵食的方法將鐵線蟲 (*P. varius*) 從打碎的水生螺類 (*Physa gyrina*) 轉移到蟋蟀 (*Gryllus firmus*) 體內, 但在野外蟋蟀卻不會主動捕食這種水生螺, 因此他仍然可能僅扮演著假性保幼寄主的角色。而當鐵線蟲胞囊出現在獵物以外的生物體內時, 便無法完成生活史。或許是在這種壓力下, 許多寄生蟲演化出幼體轉移 (paratenesis) 的能力, 使在假性保幼寄主中的寄生蟲, 藉此有機會轉移到保幼寄主中。幼體轉移是寄生蟲從保幼寄主中轉移到另一個保幼寄主的現象, 這個過程中寄生蟲不伴隨發育或變態, 包含鐵線蟲在內, 吸蟲、條蟲、線蟲的寄生關係中均曾被觀察到類似的現象 (Hanelt and Janovy, 2004a)。藉由不同保幼寄主之間互相捕食或腐食的現象, 鐵線蟲的胞囊得以在不同保幼寄主之間轉移, 而值得注意的是, 幼體轉移的能力使鐵線蟲保幼寄主不僅限定在水生生物, 陸生生物也可能成為鐵線蟲胞囊的帶原者, 使鐵線蟲保幼寄主的寄主範圍比以往的認知更廣。但轉移的發生及目的地純粹是靠機率, 幸好不同於幼蟲, 鐵線蟲的胞囊感染力在保幼寄主中能持續半年以上, 讓鐵線蟲能有較充足的時間

及機會做轉移 (Hanelt and Janovy, 2004a)，這個特性可能是鐵線蟲發展出多寄主生活史的一項推力，而除了維持感染力之外，透過保幼寄主的感染率遠高於直接以卵或幼蟲餵食最終寄主 (Inoue, 1962)，及水生昆蟲拓殖循環 (colonization cycle) (Müller, 1982) 使在其中的胞囊能維持在特定的水域中而抵消水流沖刷的影響，都是保幼寄主可能帶給鐵線蟲在生存上的優勢。

保幼寄主帶來的優勢也許解釋了一些多寄主生活史的鐵線蟲發生，但隨著調查報告的累積，一些潛在的例外也慢慢被發現。從典型的生活史看來，鐵線蟲的最終寄主應為腐生生物或是捕食者，如此才能藉由攝食保幼寄主而感染，但仍有部分的鐵線蟲成蟲在草食動物體內被發現，牠們可能跳過保幼寄主階段直接進到最終寄主體內。如北美的草食性蝨螿 (*Babittistes serricauda*、*Leptophyes punctatissima*) 及部分短角蝗被認為是鐵線蟲 (*Spinichordodes tellinii*) 的最終寄主 (Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2005)。另外目前唯一一例能在水生昆蟲 (石蛾幼蟲，*Potamophylax cingulatus*) 中發育成熟的鐵線蟲 (*G. albopunctatus*) (Schmidt-Rhaesa and Kristensen, 2006)，都可能跳過保幼寄主階段直接成熟，但目前對這幾種最終寄主的生態所知甚少，像野外蝨螿及短角蝗是否完全沒有捕食或腐食的行為沒有科學家敢下定論，這部份還需要更多的報告來支持。幸運的是科學家在越來越多的野外調查報告中慢慢建構起鐵線蟲的保幼寄主生態，並修正了以往很多的迷思。在感染保幼寄主後鐵線蟲能上岸了，在陸域環境中尋找進入最終寄主的機會，也進入另一個目前鐵線蟲研究中，最令人著迷的階段。

3. 最終寄主時期 (definitive host phase) 與寄主影響 (parasite-induced host change)

(1) 發育過程與閹割 (castration)

與保幼寄主不同的是，鐵線蟲的最終寄主的寄主範圍很窄，大多數的鐵線蟲僅能在 1 種寄主體內發育成熟，少數寄主範圍較廣的也限定在特定的類群中 (Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2005)。目前未見到報告研究最終寄主種類的受限的原因，

但有地域的分別，如中歐以步行蟲 (carabid beetles) 為主；北非、熱帶及亞熱帶以螳螂為大宗；北美洲則是蝗蟲。不同的寄主所感染的鐵線蟲種類也多有不同，最為明顯的是螳螂，目前螳螂的鐵線蟲感染紀錄僅 5 例不是由索鐵線蟲所造成 (Schmidt-Rhaesa and Ehrmann, 2001)。

鐵線蟲在最終寄主體內經歷成熟的過程，包含胞囊到幼體蠕蟲及幼體蠕蟲到成體的變態。目前對胞囊到幼體蠕蟲時期幾乎沒有研究報告，可能源自於大多數的最終寄主體型偏大，胞囊尋找不易的關係。幼體蠕蟲到成體的發育過程則藉由穿透式電子顯微鏡的研究下，在 *P. varius* 之中被首次描述。除了上文曾提到表皮的功能轉變外，幼體蠕蟲的消化道比例遠高於成體，而雌性成體消化道萎縮，內部幾乎被卵巢所佔滿，不難看出發育過程中角色的轉變 (Schmidt-Rhaesa, 2005)。在這個過程中，鐵線蟲體型持續增大，佔據的空間極為可觀，並造成寄主體內多種器官萎縮，使受感染的寄主無法性成熟 (Capinera, 1999)。這種造成性腺萎縮的寄生關係，在極端的例子中 (生殖腺徹底破壞) 稱為閹割 (castration)，但大多數的例子僅為性腺受到某種程度的破壞，非完全失去效用 (Wülker, 1964)。性腺的干擾有時會影響寄主的形態，特別是許多第二性徵的發育，因受到性腺分泌物的影響而在感染後有所改變，當這些足以分辨相對性別的內、外部特徵改變時，它被稱作間性現象 (intersexuality)。但間性現象僅在描述形態上的變化，雖然大多跟性腺的干擾相關，但並非絕對。除了鐵線蟲之外，這種寄生關係也時常出現在索線蟲中，加上索線蟲在形態、生態上都類似於鐵線蟲，因此在討論時常常被拿出來做比較。目前已被描述的間性現象在索線蟲 (mermithid nematode) 的寄主有搖蚊 (Chironomidae) (Rempel, 1940; Wülker, 1985)、蠓 (Ceratopogonidae) (McKeever *et al.*, 1997)、蝗蟲 (Acrididae) (Rowell, 2000)、蜉蝣 (Baetidae) (Vance, 1996) 等，鐵線蟲則有螳螂 (Tarachodidae) (Roy, 2003) 及蝥蟴 (Tettigoniidae) (Wülker, 1964)。這些間性現象的例子大多被認為源自於性腺受到干擾，但僅搖蚊的研究較為透徹，因此能確定寄生蟲對性腺的利用，其餘的都尚待證實。而除

了間性之外，鐵線蟲的感染造成寄主成體形態偏幼的現象也曾在報告中被描述 (Biron *et al.*, 2005)。

若撇開寄主因營養缺乏造成的發育不良，寄生蟲對性腺的利用可能是毒性 (virulence) 演化的結果。普遍認為寄生蟲在對寄主充分「剝削」的過程中雖然提升自身的繁殖能力，但也因增高寄主死亡的機會，降低寄生蟲的擴散。因此寄生蟲會在自身繁殖能力及寄主存活之間取得平衡，而非一昧的提高毒性 (Jensen *et al.*, 2006)。在這種情形之下，利用寄主非關存活的器官就不會受到類似的限制，因此閹割在許多不同類群的寄生蟲中發展出來。在這觀點之下，鐵線蟲及線蟲因閹割造成的間性現象中，真正有適應上意義的是閹割而非形態的改變。但在一些寄生關係中，外形、行為等特徵的改變本身就很可能具有適應上的意義，特別是在寄生蟲耗費能量來達成的例子。鐵線蟲引發寄主跳水的例子傳聞已久 (Thomas *et al.*, 2002)。在下一節，將以這個現象為中心，回顧鐵線蟲及相關寄生蟲對寄主行為影響的研究。

(2) 寄主行為影響

鐵線蟲成蟲在水中生活，但大多數卻必須在陸生寄主中成熟，牠們靠著保幼寄主成功登陸之後終究必須回到水裡繁殖。當受到鐵線蟲感染的寄主主動投水現象被描述之後，科學家普遍認為這就是鐵線蟲回到水中的方式。但寄主的「跳水現象」直到 2002 年才被 Thomas *et al.* 以 Y 形管直接在鐵線蟲 (*P. tricuspidatus*) 及蟋蟀 (*Nemobius sylvestris*) 中證實。Thomas *et al.* (2002) 認為鐵線蟲的感染引發寄主離開微棲地漫無方向的移動，在接近水時主動投入水中。水生寄生蟲引導陸生寄主趨向水域環境的例子不僅出現在鐵線蟲中，也見於感染索線蟲的螞蟻 (Maeyama *et al.*, 1994) 及鉤跳蝦 (Talitridae) (Poulin and Latham, 2002) 的寄生關係中。雖然目前僅 1 種鐵線蟲被證實引發寄主跳水，但總算使這個現象脫離「傳聞」的階段。

包含鐵線蟲在內，寄生蟲影響寄主行為的現象 (parasite-induced manipulation)

普遍被認為目的在提高寄生蟲的轉移、繁殖及存活的機會 (Thomas *et al.*, 2002)。在這個觀點之下，寄主的行為改變是適應的結果，而非因寄生蟲單純的感染造成的衰弱 (Poulin, 1995)。鐵線蟲對寄主的行為影響明顯對鐵線蟲繁殖有極大的助益，甚至在鐵線蟲在陸地上微弱的移動能力看來，改變寄主的行為是唯一回到水中的方法。但科學家仍然對這類的現象感到質疑，事實上在許多研究中，科學家對特定現象的推論也確實常常超出證據所能表現的部份，甚至受到當代理論的引導。在「寄生蟲影響寄主的行為以增加自己的適應性」這個理論架構下看似合理的解釋了寄生關係中很多的現象，但 Poulin (2000) 藉由相關文章的回顧對當代寄生蟲研究提出疑慮，認為理論的提出帶動的相關研究源自於科學家主觀的將理論套用至所見到的現象，因此許多寄生蟲影響寄主行為的例子並非適應的結果。Poulin 在提出這個疑慮之前，已注意到類似的問題，並認為寄生蟲影響行為的機制，是作為判斷所觀察到的現象是否為「適應」的參考之一 (Poulin, 1995)。因此在鐵線蟲引發的寄主跳水現象被證實之後，機制便成了下一個問題。

寄主主動跳入水中的現象，一般被認為是「口渴」所引起。在索線蟲和鈎跳蝦的寄生關係中，感染後寄主體內滲透壓的異常已被證實，但是否鐵線蟲也一樣藉由影響寄主滲透壓進而達到使寄主「口渴」尚有疑慮。目前隨著蛋白質體學的發展及資料庫的建立，寄生蟲蛋白質體學 (parasitoproteomics) 給跳水這個現象一些新的方向。Thomas *et al.* (2003) 首先分析出受鐵線蟲 (*P. tricuspidatus*) 感染的蟋蟀 (*Nemobius sylvestris*) 在行為異常的過程中，特殊的氨基酸表現及異常的神經增生 (neurogenesis)。接續在之後的 Biron *et al.* (2006) 分離出數種獨特的蛋白質表現。藉由參考其他昆蟲類似的蛋白質功能，Biron *et al.* 歸類出幾種可能和行為影響有直接相關的物質。第一個是牛磺酸 (taurine)，在昆蟲體內控制興奮及緩和的神經調控 (excitation-reducing neuromodulatory rule) 以及腦部的滲透壓保護作用 (osmoprotection)。特別是滲透壓的保護作用，這個現象的異常被認為和昆蟲口渴可能有直接相關。另外被偵測到異常表現的是 Wnt protein 的含量提高。

這類蛋白質可能影響昆蟲腦部的神經增生。值得一提的是，在寄主體內的 Wnt protein 含量提高是來自於鐵線蟲所分泌的蛋白質擬態寄主體內相同蛋白質的結果。另外有異常表現的尚有 CRAL_TRIO 及 PCI;1 兩類蛋白質，他們和寄主的視覺相關。這些結果都可能造成寄主在行為受影響的過程中對環境的刺激物，如水或濕度，出現異常的反應而使鐵線蟲能有機會回到水域環境中完成生活史。這些結果都給我對「跳水現象」新的觀點，當這些機制越來越明白時，將能進一步增加我對鐵線蟲適應過程的了解。目前鐵線蟲引發的行為影響研究大致朝這個方向走，但有趣的是，這個論證在一開始，其實是不夠完備的。原因在於，上述對於寄主跳水的討論將焦點全放在寄生蟲的適應上，但在寄主和寄生蟲的交互關係中，寄主一樣隨著演化的過程在做適應，因此冒然以單方面的適應來討論當下被觀察到的現象在論證的過程中是危險的。上述文獻的回顧中，我策略性的避開這個討論，因為目前的證據仍然傾向將跳水現象歸類為寄生蟲適應的結果，但這個議題仍然曾經被討論過。在末段，我將以寄主和寄生蟲雙方的交互適應為出發，為往昔研究做個總結。

從寄生蟲的觀點出發，寄主的行為改變增加寄生蟲轉移的機會或基因多樣性。但在寄生蟲造成的壓力下，寄主有時會在演化過程中發展出獨特的行為來對抗寄生蟲。這種行為的改變有時用來抵消寄生蟲傷害，包括存活及繁殖，有時則直接用來殺死寄生蟲或避免感染 (Poulin, 1995)。但可惜演化過程無法被直接觀察，因此所有現象的解釋均是科學家整合各方資訊後推論的結果。舉例來說，Simmons (1994) 發現受簇蟲 (gregarine) 感染的雌蟋蟀 (*Requena vertica*) 生殖力下降，但交配的衝動上升。這種蟋蟀交配的過程中，雄蟲會提供雌蟲精英 (spermatophylax) 以補充繁殖所需的養分。因此 Poulin (1995) 認為雌蟋蟀交配衝動的提高有助於彌補寄生蟲感染所造成的營養耗損及生殖力下降。但換個角度來看，養分的吸收一樣對寄生蟲有利。因此雌蟋蟀交配衝動上升的現象是確定的，但這究竟是寄生蟲，寄主，抑或是兩者的適應，現有的資料無法說明這點。把焦

點轉回鐵線蟲的跳水現象，前面有提到鐵線蟲的感染會造成寄主性腺發育的干擾，這出現在鐵線蟲 (*P. tricuspidatus*) 和蟋蟀 (*Nemobius sylvestris*) 的寄生關係中。然而 Biron *et al.* (2005) 在室內飼養中發現少部分雌蟋蟀將鐵線蟲釋放之後能回復部分的生殖能力。若單就這個現象來看，跳水釋放寄生蟲的現象有可能是寄主為了回復生殖能力所做的適應。但 Biron *et al.* 同時也認為蟋蟀在野外跳入水中除了有機會淹死之外，也將自身暴露在捕食的危險中，加上所回復的生殖能力仍然微弱，因此目前仍傾向將鐵線蟲引發的跳水現象視為寄生蟲方面的適應，生殖力的回復則可能是寄主彌補寄生蟲傷害的方法。不過不管科學家的看法為何，鐵線蟲，甚至是大部分寄生蟲的寄主行為影響，都缺乏足夠的資料來對其適應做討論，這些資料不僅包括機制，寄主及寄生蟲族群在野外互相的影響也能帶來新的觀點。雖然這些基礎研究大部分時間無法直接解決我所關心的議題，但只有在多方基礎資料的累積之下，才能讓科學家充分了解及討論所觀察到的現象。



參、材料與方法

一、鐵線蟲分類與形態描述

(一) 野外樣本採集

根據 2007-2008 年在台北市立動物園的調查，索鐵線蟲的出沒時間高峰約在 6 月底至 8 月初之間，和台灣斧螳的成熟時間大約一致，在 1-2 月則可能有另一批個體成熟 (邱及吳，2008)。但這個現象在不同的鐵線蟲種類身上卻不一定適用。多數鐵線蟲隨著最終寄主一起被採集到，寄主大多出沒在其棲地或棲地周邊，包括螳螂、蟋蟀、螽蟴等。鐵線蟲在寄主死亡後鑽出或在解剖時在體腔中被發現，部分個體能以將寄主浸入水中的方式引誘出來。但也有部分鐵線蟲在採集時已離開寄主進入游離的狀態，這類鐵線蟲多出沒在水池、溪流，或積水的窪地中。所檢查的鐵線蟲種類、採集時間、地點、寄主，及棲地等資料如附錄一。採集到的鐵線蟲及寄主均固定及保存在 75% 酒精中。

(二) 鐵線蟲飼養及感染

部分採集到的雌雄鐵線蟲共同飼養在接有打氣設備的塑膠水盆中，不論是單對或多對飼養，均可在約一週後在水底發現黏貼在塑膠壁或打氣管上的卵鍊及漂浮在容器底部的卵。大約一個月後卵鍊顏色轉深，在顯微鏡下能觀察到脫離卵的幼蟲之後，我先後放入 20 隻白線斑蚊 (*Aedes albopictus*) 及 10 隻搖蚊 (*Chironomus* sp.) 幼蟲於容器中。經過 24 小時後尚存活的 3 隻搖蚊及 20 隻白線斑蚊幼蟲，以鑷子從水中夾起，每隻個別輕觸 1 隻台灣斧螳三齡若蟲的口器，直到完全吃下為止。這些吃下搖蚊或白線斑蚊的 23 隻螳螂若蟲飼養在 $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、60% RH、L:D=12:12 的步入式生長箱中，每隻螳螂每週餵食 3 隻德國蟑螂 (*Blattella germanica*)。約 5 個月後，在其中 2 隻螳螂體內各採集到 1 隻雄鐵線蟲成蟲。這 2 隻鐵線蟲均保存於 75% 酒精中。

(三) 形態描述

鐵線蟲的形態觀察以光學及掃描式電子顯微鏡為主。鐵線蟲體型大，因此觀

察時參考 Schmidt-Rhaesa (2002b) 的方法，取鐵線蟲前端、中段，及尾部進行電子顯微鏡或光學顯微鏡的觀察。所檢查的樣本如附錄一。

1. 光學顯微鏡

光學顯微鏡主要用來觀察中段表皮上的突起結構。中段表皮先以刀片切下蟲體中段約 5 mm 的片段，在側邊以刀片縱向切開（避免傷及腹面或背面，因部分鐵線蟲種類腹面及背面的形態有差異）後，放入 1% KOH 水溶液中浸泡。15 分鐘之內，表皮便開始分離，超過 2 小時後，以鑷子將表皮取下，在 75% 酒精中清洗後放在玻片上，滴一滴 75% 酒精後在光學顯微鏡下觀察。

2. 掃描式電子顯微鏡 (Scanning electron microscope, SEM)

目前對鐵線蟲形態的描述多加入掃描式電子顯微鏡的影像作為輔助，特別是像索鐵線蟲這類表皮突起多樣性高的類群。在以掃描式電子顯微鏡觀察之前，將鐵線蟲前端、中段及尾部各取下適當長度（約 2-10 mm），經由酒精序列脫水（在 75%、95%、100%、100% 酒精各浸泡 15 分鐘）及丙酮置換（在 1:2、2:1、0:1 酒精丙酮混合溶液各浸泡 15 分鐘）後，置放於丙酮中至少超過 10 小時。最後進行臨界點乾燥及鍍金，再於掃描式電子顯微鏡下觀察拍照。

(四) 分子序列比較

目前的研究對鐵線蟲的形態變異著墨不多，但確實有許多的種內變異出現在分類特徵上 (Schmidt-Rhaesa and Geraci, 2006)，因此除了形態的比較之外，我也加入分子的比較。從所有的樣本中，取 27 個個體來分析細胞色素氧化酵素基因 (cytochrome oxidase subunit I gene, COI) 片段序列的分化。所選用的樣本資料如附錄一。在 DNA 萃取前，先取蟲體中段 5-7 mm 以刀片縱向切開後依照 ALSR Watsonplus™ Tissue Genomic DNA Extraction System (Kaohsiung, Taiwan) DNA 萃取試劑的萃取流程進行 DNA 萃取 (附錄二)。萃取出 DNA 水溶液以引子 LCO-1F (5'-GACCAAAAATCAAAAAGATGTTGA-3') 及 HCO-1R (5'-CAGCCTTCTAGGCACC-3') 進行 PCR 放大，理論上的放大產物為 641 bp。

PCR 樣本的反應容積為 50 μ l，內含 0.5 μ l DNA 聚合酶 (5 U) (Stratagene, LaJolla, CA)、1 μ l dNTPs (10 mM)、1 μ l LCO-1F 引子 (10 mM)、1 μ l LCO-1F 引子 (10 mM)、5 μ l PCR 緩衝溶液 (10X) (MgCl₂ included)、1 μ l 樣本 DNA 與 40.5 μ l 二次水。置於 BiometraR TRIO-Thermoblock™ 核酸擴增儀中。PCR 循環操作如下：(1) 預熱 (pre-warming), 95°C, 5 分鐘；(2) 變性 (denaturing), 95°C, 1 分鐘；(3) 黏合 (Annealing), 56°C, 30 秒；(4) 延伸 (extension), 72°C, 1 分 30 秒；(5) 重複 (2)~(4) 步驟, 45 個循環；(6) 最終延伸 (final extension), 72°C, 7 分鐘。反應的產物在 1.5% 的凝膠 (agarose gel) 上進行電泳以確定產物是否被放大，確定之後以 LCO-1F 進行定序，定序後的序列送到 NCBI 的網頁進行 BLAST 以確定增幅出的片段是否屬於鐵線蟲的基因。在確定為目標基因後，先以 CLUSTALX2 將序列取中間品質較好的 564 bp 進行序列比對 (alignment)，再以 MEGA 4.0.2. 分析序列的遺傳距離 (genetic distance) 及以 Kimura 2-parameter model 建構 Neighbor-Joining tree 探討不同個體之間的分化程度以推斷這 27 個個體是否屬於同一個種類。所建構的親緣關係樹藉由 1000 次 bootstrap 法來預測每個支序的信賴度。

二、保幼寄主感染率調查

鐵線蟲的保幼寄主種類多樣，因此要做通盤的了解困難度高，且必須配合長期監測。寄生蟲的檢測多藉由解剖及觀察來進行，但鐵線蟲幼蟲體型小，且在水生昆蟲幼蟲體內的感染位置除了腸道之外，也常游離在血體腔中 (Hanelt and Janovy, 2003)，即可能出現在昆蟲體內的任何位置，加上各種昆蟲解剖方式不同，因此除了對搖蚊幼蟲進行解剖及顯微鏡檢查之外，我也設計一個新的分子檢測方式對野外水生昆蟲成蟲進行鐵線蟲感染的偵測。

(一) 野外樣本採集

初期的調查中，藉由解剖及鏡檢曾在搖蚊幼蟲 (Chiromonidae) 體內發現鐵線蟲胞囊。搖蚊是雙翅目搖蚊科 (Diptera: Chironomidae) 昆蟲的泛稱，生活史完

全變態，成蟲飛行能力強，具趨光性，幼蟲則在水中生活，生活環境橫跨水陸域，是能將鐵線蟲從水中帶往陸地的潛在寄主，室內飼養也有以搖蚊作為鐵線蟲保幼寄主而成功感染螻蛄的例子 (Inoue, 1962)。石蛾跟搖蚊有著類似的生活史，因此也為潛在的保幼寄主之一，加上這兩種寄主體型小，大部分不超過 0.5 cm，適合解剖及分子檢測，因此採集的過程中，特別鎖定搖蚊成、幼蟲及寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 成蟲作為偵測的對象。

1. 搖蚊幼蟲採集

搖蚊幼蟲生活在多樣的水域環境中，受到驚嚇時會潛入水底的底質中，部分種類會在落葉或石頭上以底質或碎屑築巢。動物園昆蟲館後山「蟲蟲探索谷」屬於水陸相鄰的環境，提供多樣的搖蚊幼蟲棲息環境。該區有多處淺水塘在觀察的過程中曾發現搖蚊成幼蟲、石蛾及鐵線蟲的活動，因此在其中選定 2 處進行調查 (圖一)。

藉由直徑 16 cm，網目 1 x 1 mm 的篩網將水中的底質挖起並過濾之後，將剩餘的碎屑敲打使其掉落在淺盤中，挑取其中的搖蚊幼蟲。所採集到的搖蚊幼蟲一隻一隻分別飼養在清水中。每隻幼蟲分別以鑷子及挑針將前胸及腹部末端 2-3 節去除後，將腸道拖出，並置於載玻片上，以蓋玻片覆蓋後在光學顯微鏡下尋找體內的鐵線蟲幼蟲。所有樣本的觀察在 2 天之內結束，這時所解剖的搖蚊幼蟲多為活體，僅少部分在當天採集回來後便死亡。依照此方法，從 2009 年 2 月 8 日至 15 日之間在圖一 B 處 (B 區) 進行 5 次採樣之後，自 2009 年 5 月至 2010 年 4 月止，每個月隔週選定 1 天在圖一 A 處 (A 區) 進行採樣及樣本檢查。

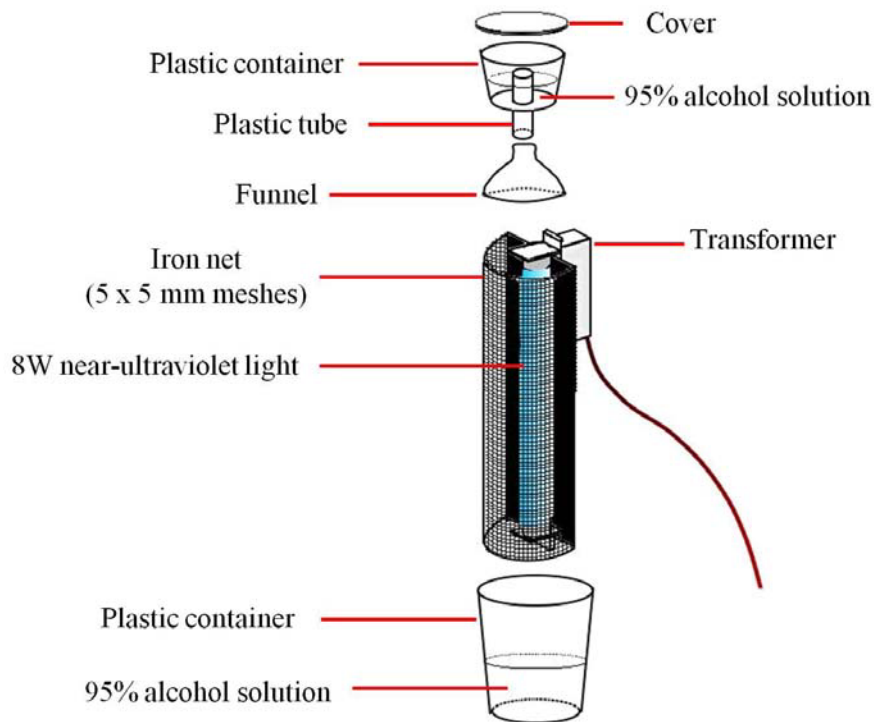


圖一、台北市立動物園試驗樣區。箭頭為曾經發現過游離鐵線蟲的位置。A 及 B 處為近紫外光誘引器擺放位置及採集底層的搖蚊幼蟲的位置。

Fig. 1. Experimental site in Taipei Zoo. Arrows indicate the positions which the horsehair worms were found. We put near-ultraviolet light traps in A and B to collect adult aquatic insects and collected bloodworms in the water nearby.

2. 搖蚊及寶島缺叉石蛾成蟲採集

多數夜間活動的昆蟲具有趨光性，因此許多昆蟲的採集以夜間燈光誘引進行。不同的昆蟲對不同波段的光敏感度也不同，根據 Kokkinn and Williams (1989) 對 *Tanytarsus barbitarsis* 的研究，採集效率最佳的波段落在 370-400 nm 的近紫外光中，因此我選用波長介於 352-370 nm 之間、長 289 mm、直徑 16 mm、功率 8 w 的紫外燈，將紫外燈置於誘引器 (圖二) 中，從 6 pm 起懸吊於離地面約 50 cm，樹叢旁的鐵欄杆上，隔天約 10 am 將陷阱收回。所採集到的搖蚊及寶島缺叉石蛾保存於 95% 酒精中。該方法自 2009 年 5 月至 2010 年 4 月止，每個月隔週選定 1 天在 A 區 及 B 區進行樣本誘集。



圖二、近紫外光誘引器。燈管外圍以網目 5 x 5 mm 的鐵絲網阻隔體，並在其下容器中置入約 300 ml 95% 酒精收集並保存落下的昆蟲，上端多加一個收集瓶，一樣置入約 200 ml 95% 酒精，收集進入誘引器中向上飛的昆蟲。

Fig. 2. The light trap with near-ultraviolet light. The iron net with 5 x 5 mm meshes surrounds the near-ultraviolet light. The container below the light contains 300 ml 95% alcohol solution to collect the falling insects. Insects which fly upward will be caught by the container on the top with 200 ml 95% alcohol solution.

(二) 分子檢測方法

傳統上要確定特定生物體內是否帶有其他生物，多直接以目視來做判定，不論是解剖，或是催吐觀察。但寄生蟲體型小，且時常包埋在寄主組織中，因此我藉由去氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 的偵測，來判斷寄主是否遭受寄生蟲的感染。現在的技術已經能藉由 PCR (polymerase chain reaction) 將 DNA 片段的放大，偵測特定生物體內的外來 DNA，其中包括藉由攝食或寄生 (Garipey *et al.*, 2007) 所攝入。在 PCR 的過程中，一對引子和特定的片段相黏，

接著放大中間的片段，因此只要利用寄生蟲中特有的片段設計引子，便能在 PCR 之後以訊號的有無判定所採集的寄主樣本是否受鐵線蟲感染。試驗的流程參照 Zhu and Williams (2002) 並隨著樣本的特性而稍作修改，包含引子設計、敏感度測試，並在引子最佳反應的條件確定之後對保幼寄主樣本進行檢測。

1. 引子設計

18S rDNA 在生物中的重複數多，因此相較於其他在基因組中重複數少的片段，18S rDNA 能增加 PCR 成功的機率。我以 Bioedit 軟體將 Genbank 中已有的鐵線蟲及其他水生生物序列 (附錄三) 比對 (alignment) 之後，選擇一對僅和鐵線蟲 18S rDNA 序列，特別是索鐵線蟲屬，互補的引子 (Nm18F: 3'-AAA CGT CGA ATC GCG AGG TTC GAC-5'; Nm18-1R: 3'-ACC CGG TGA AGA GCA CCT AGC C-5')，理論上增幅出的鐵線蟲 DNA 片段長度為 544 bp。

為了找出該組引子最佳的反應條件，我比較此引子在不同黏合溫度 (Annealing temperature) (55.0、55.2、55.7、56.6、57.8、59.1、60.5、61.8、63.1、64.2、65.0°C) 下增幅台灣索鐵線蟲成蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) DNA 的效率。樣本的反應容積為 20 µl，內含 0.2 µl DNA 聚合酶 (5 U) (Stratagene, LaJolla, CA)、0.5 µl dNTPs (10 mM)、0.5 µl Nm18F 引子 (10 mM)、0.5 µl Nm18-1R 引子 (10 mM)、2 µl PCR 緩衝溶液 (10 X) (MgCl₂ included)、1 µl 樣本 DNA 與 15.3 µl 二次水。置於 BiometraR TRIO-Thermoblock™ 核酸擴增儀中。PCR 循環操作如下：(1) 預熱 (pre-warming), 95°C, 5 分鐘；(2) 變性 (denaturing), 95°C, 30 秒；(3) 黏合 (Annealing), 55.0、55.2、55.7、56.6、57.8、59.1、60.5、61.8、63.1、64.2、65.0°C 共 11 個溫度，各反應 1 個樣本，20 秒；(4) 延伸 (extension), 72°C, 30 秒；(5) 重複 (2)~(4) 步驟，45 個循環；(6) 最終延伸 (final extension), 72°C, 10 分鐘。反應的產物在 1.5% 的凝膠 (agarose gel) 上進行電泳，並根據產物信號的強度決定不同條件下的反應效率。在最佳的條件下，我也嘗試增幅其他和鐵線蟲親緣關係接近的線蟲 DNA 樣本，包括魚類寄生線蟲海獸胃線蟲

(*Anisakis simplex*)、帶魚針蛔蟲 (*Raphidascaris trichiuri*)，及鈎宮脂線蟲 (*Hysterothylacium aduncum*)，來測試該組引子的專一性。

2. 敏感度測試

野外鐵線蟲幼蟲的感染強度 (intensity) 隨著個體有很大的差異。Hanelt *et al.* (2001) 對 1000 隻野外螺的調查發現，雖然平均感染強度達到 20.4，但單一個體感染的鐵線蟲數量從 1–465 隻均有發現。加上鐵線蟲胞囊的體型小，且和保幼寄主普遍差異大，因此在野外調查之前必須先了解該方法的敏感度。首先要先確定在 20 μ l 的 PCR 反應中，必須的樣本 DNA 含量。經由吸光值的測定，我將台灣索鐵線蟲 DNA 經由二次水的稀釋之後每個樣本中分別放入 1、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} ng 樣本 DNA。並以引子設計中所測試出的最佳條件進行 PCR 及電泳，以同樣的方法重複 3 次。藉此方法測試在低樣本 DNA 濃度下是否仍然能增幅鐵線蟲的 DNA。

然而在偵測的過程中，加入的樣本除了台灣索鐵線蟲的 DNA 之外，也包含寄主的。寄主的體型遠大於鐵線蟲幼蟲，因此在 DNA 比例極端不平衡的狀況下，縱使鐵線蟲 DNA 在低濃度下有辦法被增幅，寄主 DNA 仍可能會影響寄生蟲 PCR 放大的效率。為了模擬實際偵測的情況，PCR 的樣本從僅加入鐵線蟲 DNA 改成加入 1 μ l 鐵線蟲及寶島缺叉石蛾的 DNA 混合水溶液。水溶液中鐵線蟲的濃度為 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ng/ μ l，而石蛾 DNA 的濃度則固定為 20 ng/ μ l。反應物一樣以上述的條件進行 PCR 及電泳，並以同樣的方法重複 3 次。

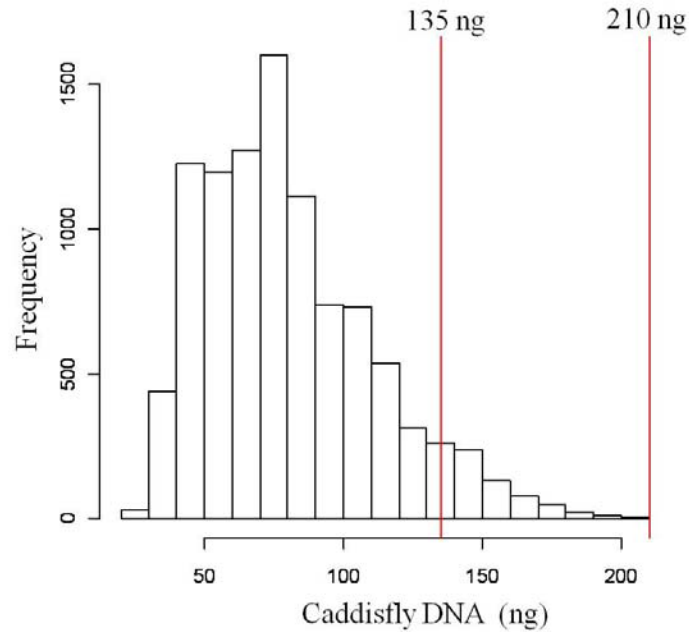
3. 保幼寄主檢測

在確定引子、反應條件及敏感度之後，這套方法將被用來檢測保幼寄主是否受到鐵線蟲感染。在對野外的保幼寄主進行檢測之前，先對實驗室中飼養的樣本進行檢測成功率的測試。我以塑膠滴管將單隻剛孵化的鐵線蟲幼蟲，白線斑蚊成蟲 (*Aedes albopictus*)、2 顆鋼珠、50 μ l 直徑 0.1 mm zirconia/silica beads，及 20

µl TGDE buffer 一同放入均質機 (TissueLyser II, Qiagen) 中以頻率 29.5 HZ (次/秒) 研磨 3 分鐘。之後加入 200 µl TGDE buffer 及 20 µl proteinase K, 依照 ALSR Watsonplus™ Tissue Genomic DNA Extraction System (Kaohsiung, Taiwan) DNA 萃取試劑的萃取流程進行 DNA 萃取 (附錄二) 及 PCR。

為測試該方法在野外樣本的檢測中是否有效, 我參考 Winterbourn (2005) 的方法, 將 2008 年 8 月所採集到的 44 隻寶島缺叉石蛾成蟲浸泡在標本透明液 (Essig's Aphid Fluid, EAF) 中超過 8 小時 直到腹部透明後, 放置於載玻片上, 以蓋玻片擠壓使蟲體扁平後在光學顯微鏡下尋找鐵線蟲胞囊, 以確定該種石蛾有鐵線蟲感染的情形。然後再藉由上述分子檢測的方法檢查同一時間所採集到的 47 隻寶島缺叉石蛾樣本, 看是否會出現鐵線蟲感染的訊號。

考慮到野外需檢測的樣本多, 因此必須將多個 DNA 樣本同時進行 PCR 增幅以提高效率。我從 2008 年 7 月所採集到 40 隻石蛾 DNA 樣本中隨機抽 5 個相加, 並重複 10000 次。根據這 10000 個相加後的 DNA 含量分布推測實際將 5 個樣本混合的濃度, 預測的分布如圖三。分布中小於 135 ng 的比例為 93.33%, 小於 210 ng 的比例則為 100%, 代表若隨機將 5 個樣本混合做 PCR, 大多數的樣本 DNA 含量大多小於 135 ng 且不會超過 210 ng。因此我將所檢測出受到感染的石蛾 DNA 和 78.75 ng、135.13 ng, 及 219.70 ng 未感染的石蛾 DNA 混合進行 PCR, 重複 2 次以模擬多個樣本共同檢測時, 是否仍能放大鐵線蟲的 DNA。另外也取解剖後發現體內僅一個鐵線蟲胞囊的搖蚊幼蟲樣本進行 DNA 萃取, 混合 109.47 ng、133.47 ng, 及 219.47 ng 石蛾 DNA 進行 PCR。藉由這方法測試在 5 個樣本同時作用的情況下, 會不會影響 PCR 增幅的結果。在這些方法均確定之後, 再以此方法對野外所採集到的樣本進行鐵線蟲感染的偵測。



圖三、從 2008 年 7 月所採集到 40 隻寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) DNA 樣本中隨機抽 5 個相加，並重複 10000 次所預測的 DNA 含量分布。分布中小於 135 ng 的比例為 93.33%，小於 210 ng 的比例則為 100%。

Fig. 3. Estimation of the DNA quantity distribution by randomly summing up 5 μ l of DNA samples from 40 caddisflies collected in July, 2008 for 10000 times. According to the distribution, 93.33 percent lower than 135 ng and all of them were lower than 210 ng.

三、寄主形態影響

(一) 野外樣本採集

前文有提到，6 月底到 8 月初是鐵線蟲及台灣斧螳的成熟期，而大部分的螳螂都是在這個時間所採集到。螳螂均以目視採集，受感染寄主的採集地點包括宜蘭縣礁溪鄉五峰旗瀑布、台北縣新店市山區、台北市立動物園，未受感染的寄主則來自於新店市山區及台北市立動物園。大多數的未感染雄蟲為新店市山區所採集到的趨光個體，部分個體採集時為若蟲，飼養在步入式生長箱中，經過 1-2

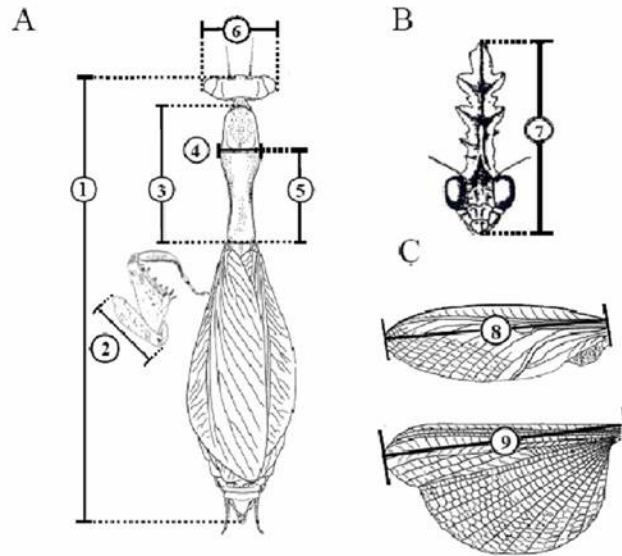
次脫皮後變為成蟲。所採集到的螳螂均保存在 75% 酒精中，在固定超過 1 個月之後進行形態測量。

(二) 台灣斧螳形態測量

所有的螳螂樣本根據性別及體內鐵線蟲的有無分成四類：正常雄蟲 (NM)、正常雌蟲 (NF)、受感染雄蟲 (體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雄蟲，IM)、受感染雌蟲 (體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雌蟲，IF)，以了解在感染後鐵線蟲所造成的形態影響。並加入室內飼養的兩隻末齡若蟲 (雌雄各一) 比較成蟲及若蟲觸角感覺毛的差異。

比較的體型形態數值包括前胸背板長、體長、前翅長、後翅長。另外為了解各部位形態的比例是否有變化，也加入前翅長與體長的比值、前翅長與前胸背板長的比值，後翅長與體長的比值，後翅長與前胸背板長的比值，測量的方法參照(周，2004)(圖四)。

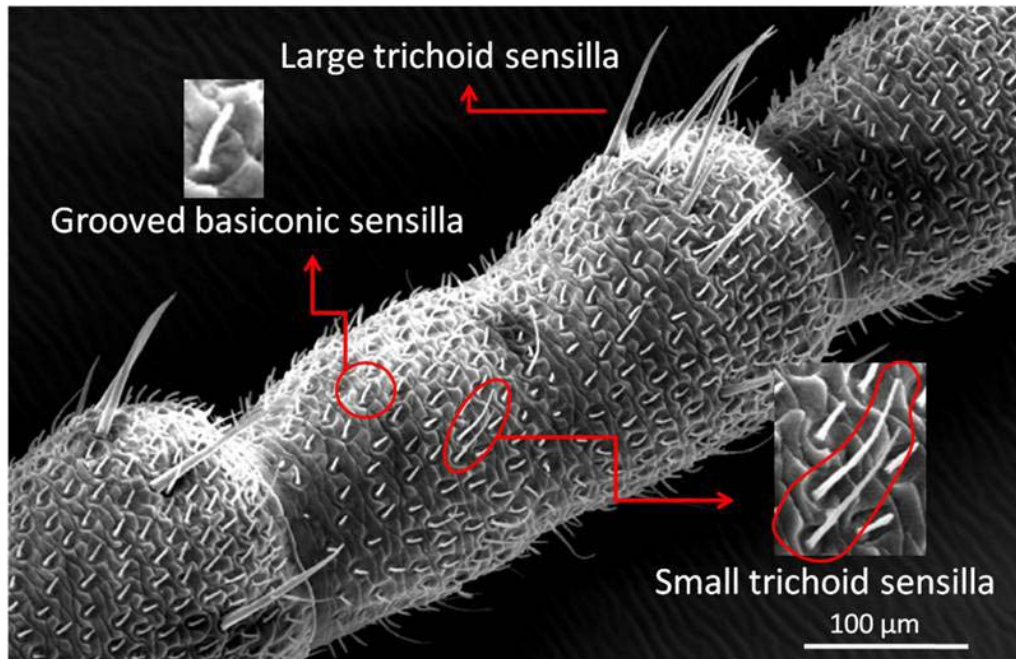
除了對體型測量之外，我也藉由掃描式電子顯微鏡的觀察對觸角鞭節進行測量及比較。掃描式電子顯微鏡的前置處理包括酒精序列脫水、丙酮置換、臨界點乾燥及鍍金均參照鐵線蟲樣本的處理方法。台灣斧螳的觸角鞭節節數超過 100 節，且在末端時常斷裂，因此我測量單節鞭節的形值而非整根觸角的形值，所測量的形值包括鞭節單節長度 (從第 10 節鞭節起，每 10 節測量一次，直到第 100 節)、單節長度和全長的比值、單節長度和前胸背板長的比值。



圖四、台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 形態測量。測量的位置包括全長 (1)、前胸背板長 (3)、前翅長 (8)，及後翅長 (9)。(圖摘自周，2004)

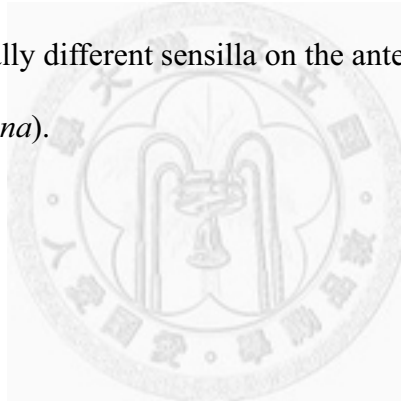
Fig. 4. Morphometric analysis of mantid (*Hierodula formosana*) including body length (1), pronotum (3), forewing (8) and hindwing (9). (picture from Chou, 2004)

台灣斧螳多數的鞭節上布滿感覺毛 (sensillum)。螳螂的觸角鞭節感覺毛依形態能分成 3 種：large trichoid sensilla、small trichoid sensilla 及 grooved basiconic sensilla (圖五)。後兩者被認為主要為化學接受器，即可能主導螳螂嗅覺的接收。在感覺毛密度的計算，取 small trichoid sensilla 及 grooved basiconic sensilla。我將觀察到的影像拍照後在鞭節上畫滿 $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ 的方格，並計算每節鞭節在單位方格中 small trichoid sensilla 及 grooved basiconic sensilla 的數量及單位面積中這兩種感覺毛總數超過 1 根的鞭節節次。所有的形值及比值平均藉由 Tukey's HSD test 進行比較。上述的統計方法以 R 統計軟體 2.8.1 版執行，各個形值及比值的樣本數如附錄四。



圖五、台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 觸角鞭節上的三種感覺毛。

Fig. 5. Three morphologically different sensilla on the antennal flagella of mantid (*Hierodula formosana*).



肆、 結果

一、 鐵線蟲形態描述

Chordodes formosanus n. sp.

(一) 分布：台北縣新店市四崁水、安坑、烏來鄉信賢村；台北市文山區台北市立動物園；宜蘭縣礁溪鄉五峰旗瀑布。

(二) 寄主：台灣斧螳 (*Hierodula formosana*)、寬腹螳螂 (*H. patellifera*)。

(三) 形態描述：

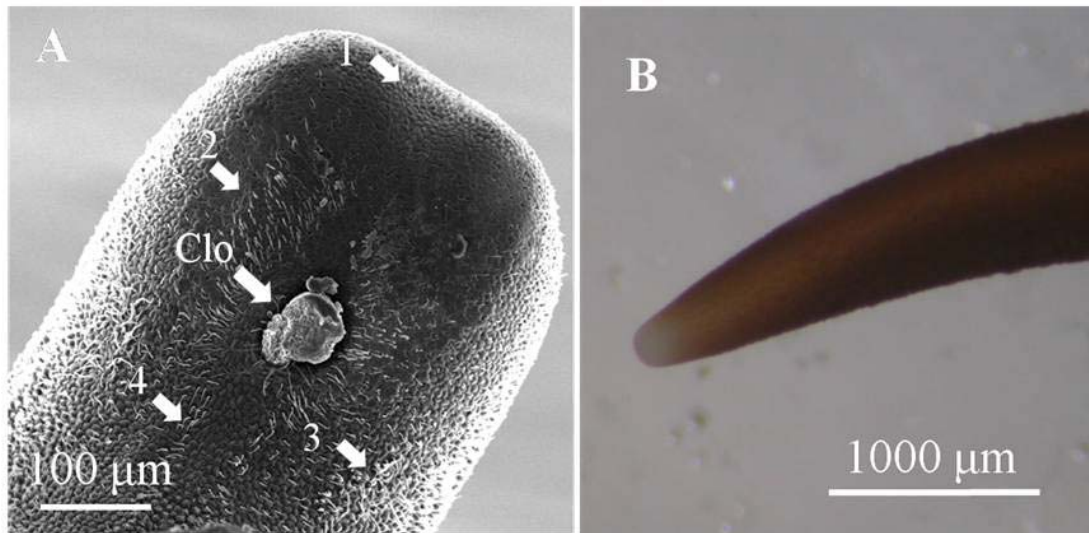
1. 成蟲

a. 雄蟲

雄成蟲體呈圓柱狀，所測量的 12 個個體平均 192.8 (74-230) mm；經過 75% 酒精脫水之後蟲體最寬處 0.7-1 mm，身體扁平，腹面及背面縱向微微向內凹陷。表皮顏色深褐色，少數個體的體表由多個暗色色斑組成；腹面及背面各有一條縱向淡色帶，多數個體腹面的亮帶中央有一條顏色較深的暗帶 (圖九 B)。

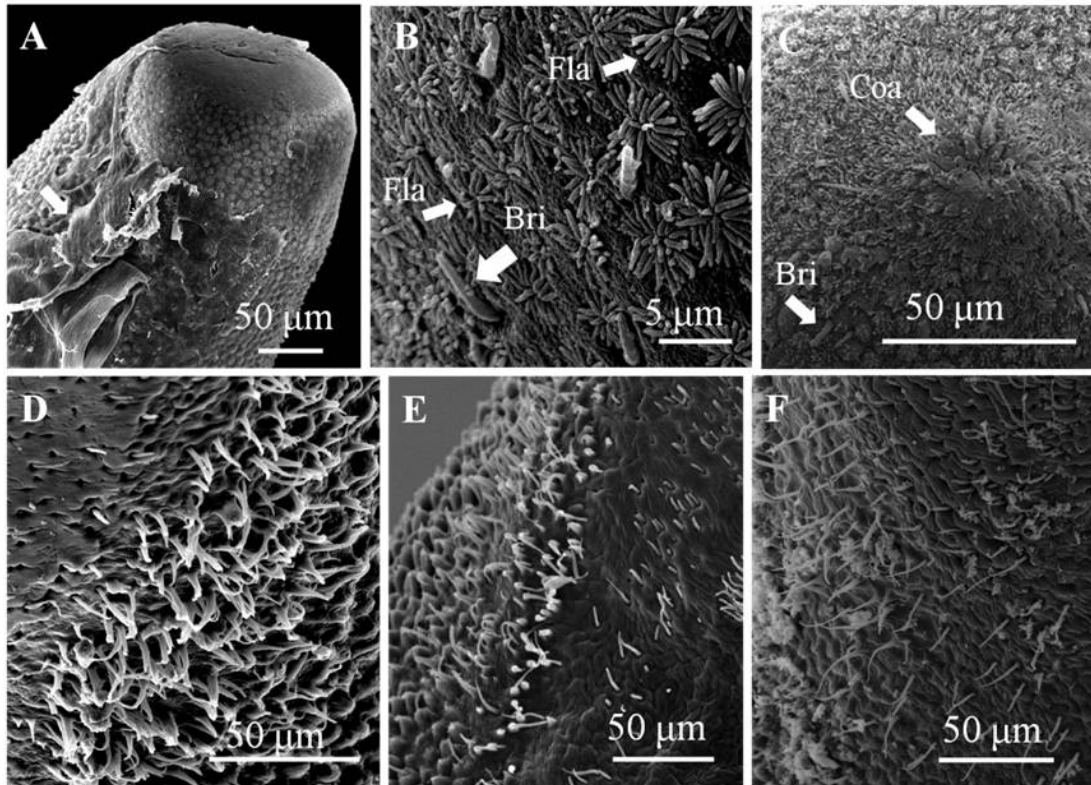
尾部微微縊縮，不分葉，洩殖腔開口卵形，位於尾部腹側，長 27-78 μm ，寬 17-63 μm ，周圍有圍洩殖腔剛毛從內部發出；短刺毛 (> 10 μm) 分布於尾巴末端，散生在表皮突起之間；2 個卵形凹陷位於洩殖腔後方，表面散生平貼的剛毛，剛毛分布從卵形凹陷向前端延伸，從兩側經過洩殖腔後在洩殖腔前方形成不明顯的 2 列散生在腹面的光滑帶 (ventral strip) 上，光滑帶寬約 155-160 μm ，由扁平突起 (flat areole) 或皺折所覆蓋，除了 2 列散生的剛毛外有時會有細小的短剛毛散佈或在扁平突起頂端成叢狀；洩殖腔的兩側，扁平突起分布的邊界上各叢生 1 叢長橢圓形 (長 145-243 μm ，寬 70-77 μm) 的剛毛叢 (bristlefield) (圖六 A，圖八)。剛毛叢中的剛毛多樣，且隨個體而異，部分個體剛毛末端分成多個叉，散生在不分叉的剛毛之間，部分個體僅帶有不分叉的細剛毛或僅有短突起 (圖七 D-F)。前端縊縮，呈一錐狀鈍端，末端呈白色 (white cap)，後面沒有連接深色環 (圖六 B)；在電子顯微鏡之下，前端表皮分布微微高起的扁平突起，突

起表面被短附屬物佈滿；扁平突起之間散生長剛毛，部分直接穿過突起；頭部尖端突起較其他高，約 10 餘個圓錐狀的突起環繞成一圈，頂端佈滿短剛毛；少數前端中央有一個小孔，但大多數個體沒有類似口的構造；有些個體前端縊縮，但尖端扁平而非錐狀，突起、突起表面的附屬物，及長剛毛也均扁平或平貼在表皮上。



圖六、雄台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 頭部及尾部構造。(A) 尾部，箭頭分別指示洩殖腔開口 (Clo)，及四群剛毛分布的位置；(B) 頭部，前端有白帽 (white cap)。

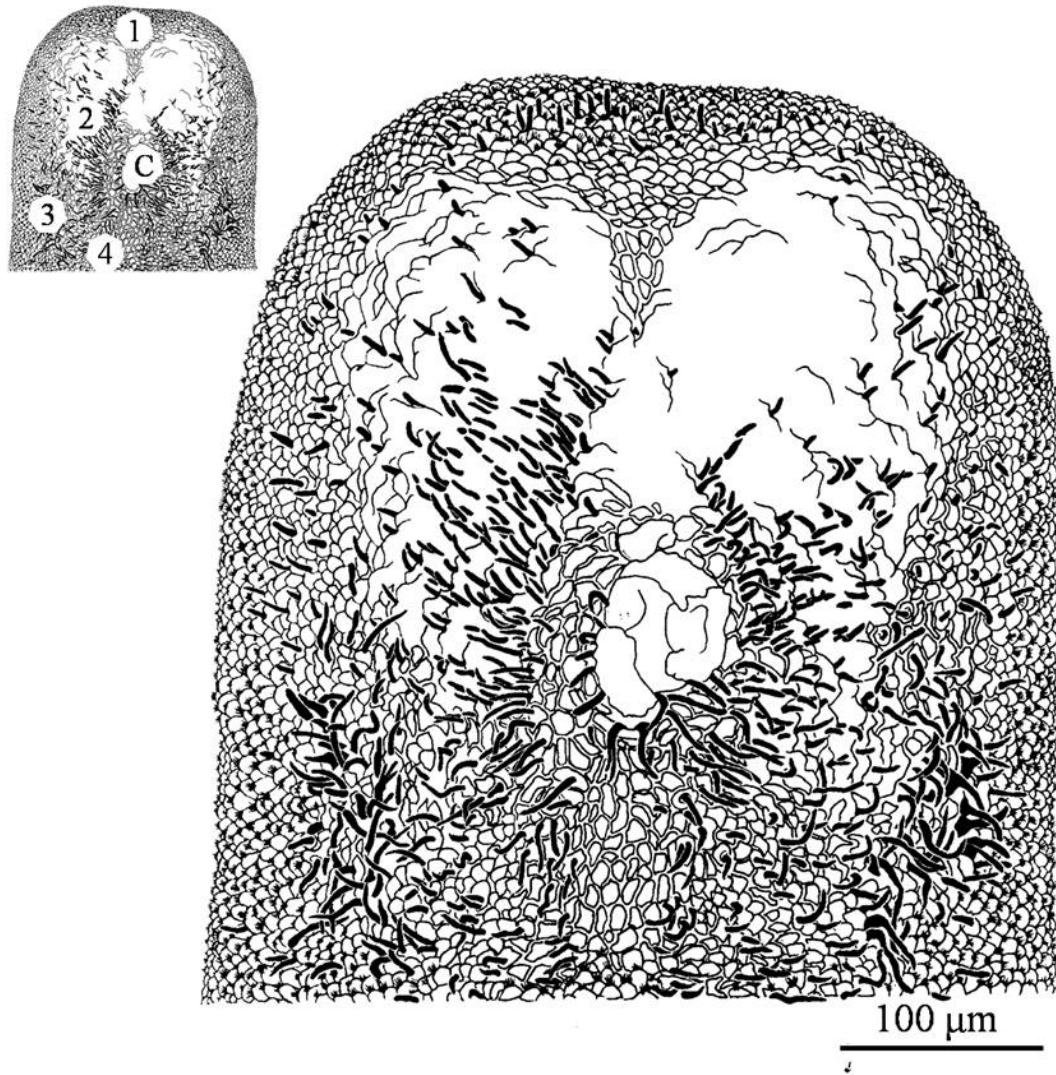
Fig. 6. Posterior and anterior ends of male *Chordodes formosanus* n. sp. (A) Whole posterior with the cloacal opening and circumcloacal spines occur concentric around it; arrows 1-4 indicate four groups of ornamentation on the ventral surface. (B) Tapered anterior end and white tip (white cap). *Abbreviations*: Clo, cloacal opening.



圖七、雄台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 頭尾不同形式的附屬物。

(A) 頭部特徵及幼期殘留的表皮；(B) 頭部扁平的突起附屬物 (Fla) 及剛毛 (Bri)；(C) 頭部表皮突起 (Bri) 及十餘個頂端的錐狀突起 (Coa)；(D) 剛毛叢中包含分岔及不分岔的剛毛；(E) 剛毛叢中瘤狀突起的短剛毛；(F) 剛毛叢中僅包含細長且不分岔的剛毛。

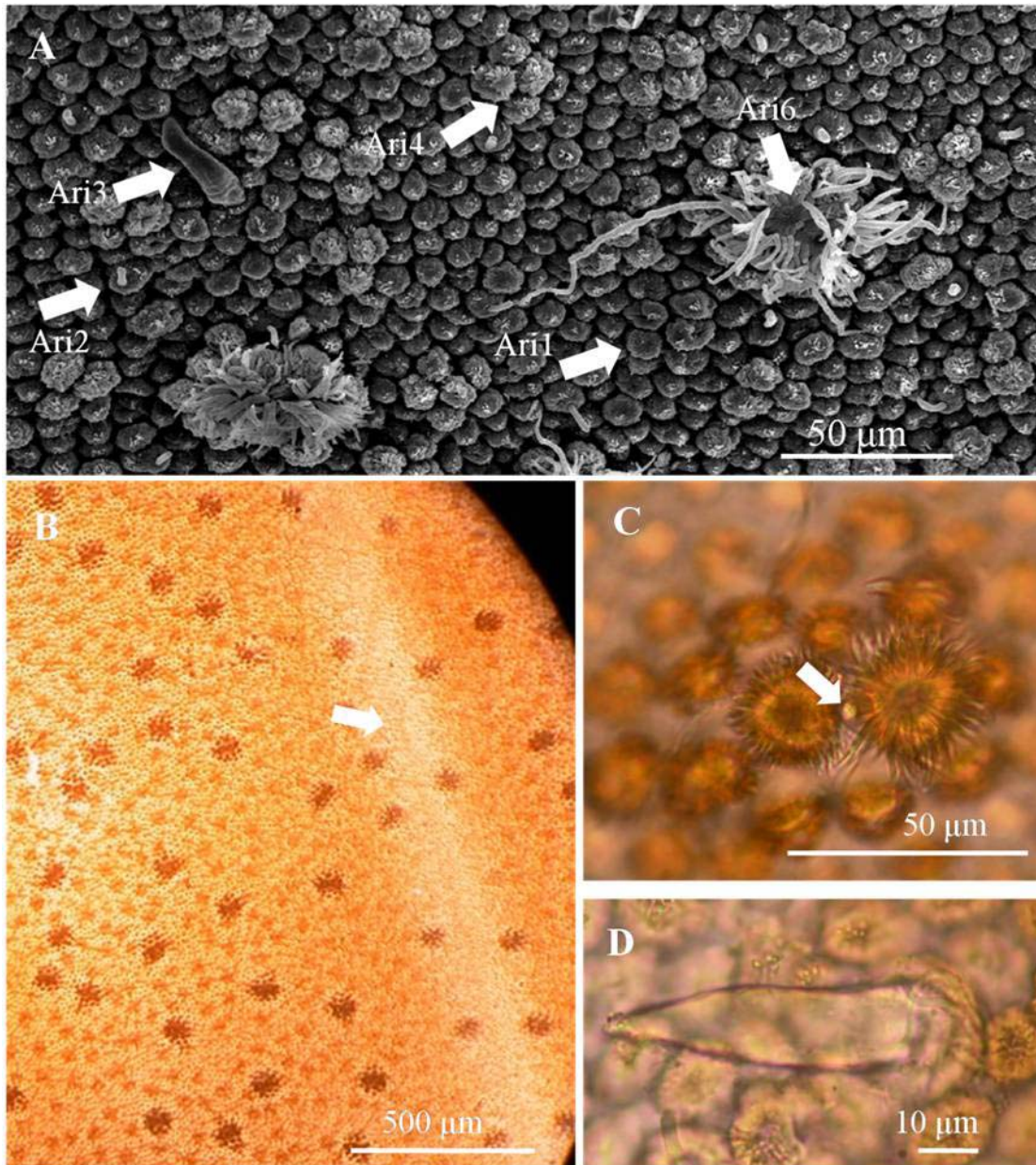
Fig. 7. Ornamentations in male *Chordodes formosanus* n. sp. on posterior and anterior end. (A) Anterior end with the larval cuticle (arrow). (B) Close view of anterior end with flat areoles and bristles stick on the cuticle. (C) Close view of cone-like areoles with bristles on the top of the anterior end. (D) Close view of bristlefield with branched and unbranched bristles. (E) Close view of bristlefield with short and unbranched bristles. (F) Close view of bristlefield with thin and unbranched bristles. *Abbreviations*: Bri, bristle; Coa, cone-like areoles; Fla, flat areole.



圖八、雄台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 腹面及附屬物。小圖顯示洩殖腔 (C) 及各附屬物 (1-4) 的位置。

Fig. 8. Ventral view of male *Chordodes formosanus* n. sp. posterior end with ornamentations (1-4 in the small picture). *Abbreviations*: C, cloacal opening.

除了頭尾兩端分布的扁平突起之外，根據形狀及附屬物，雄蟲體表佈滿 5 種不同形態的表皮突起，突起間則是繩狀皺折的表皮；5 種表皮突起由簡單突起 (simple areoles)、莖狀突起 (tubercle areoles)、刺狀突起 (thorn areoles)，及 2 種冠狀突起 (crowned areoles) 所構成 (圖九 A)；簡單突起遍佈體表，數量最多，圓形或不規則多邊形，直徑 5-8 μm ，大多數表面光滑，有些表面有小突起、皺折或類似短剛毛的附屬物；莖狀突起散生在簡單突起之中，形狀和大小都和簡單突起差不多，但頂端微微凹陷且從其中伸出一根長約 6-9 μm 的指狀附屬物；刺狀突起大多出現在腹側及背側中軸，類似莖狀突起但中央的附屬物為 1 根錐狀的刺，長約 37-57 μm ，但在一些小型個體中僅 22 μm ，和所有表皮突起的附屬物一樣，這根刺在光學顯微鏡下透明 (圖九 D)；冠狀突起為索鐵線蟲屬所獨有，特徵在於頂端周圍環繞一圈剛毛或短突起，如同皇冠周圍的裝飾一般；其中一種冠狀突起通常 2-10 個成群散佈在體表或 12-20 群聚環繞在另一種冠狀突起的周圍，附屬物為瘤狀突起或頂端一叢短剛毛，這種冠狀突起直徑和簡單突起差不多但較高，在光學顯微鏡之下顏色也較深；另一種冠狀突起通常兩兩成對，但也見過 3 個成群的，頂端附屬纖毛 (filaments) 較長，約 10-15 μm ，夾在成對的冠狀突起中間是 1 個指狀突起 (圖九 C)。



圖九、雄台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 體中段表皮突起。(A) 五種表皮突起：簡單突起，type 1 (Ari1)，莖狀突起，type 2 (Ari2)，刺狀突起，type 3 (Ari3)，冠狀突起，type 4 (Ari4) 及 type 6 (Ari6)；(B) 鐵線蟲中段腹面的白色帶及中央的暗帶 (箭頭)；(C) 冠狀突起 (type 6) 中央的指狀突起 (箭頭)；(D) 刺狀突起。

Fig. 9. Areoles on the middle region of male *Chordodes formosanus* n. sp. (A) Cuticle of the middle region of the body with areoles of simple areoles (type 1), tubercle areoles with a tubercle on the top (type 2), thorn areole with a long

solid thorn (type 3), and clusters containing crowned areoles (type 4 and type 6). (B) Dorsal and ventral sides are marked by bright lines, and inside the ventral side a bright line is marked by a darkly pigmented line (arrow). (C) Crowned areoles (type 6) with a central tubercle between two areoles. (D) Thorn areole. *Abbreviations:* Ari1, type 1 areoles (simple areoles); Ari2, type 2 areoles (tubercle areoles); Ari3, type 3 areoles (thorn areoles); Ari4, type 4 areoles (crowned areoles); Ari6, type 6 areoles (crowned areoles).

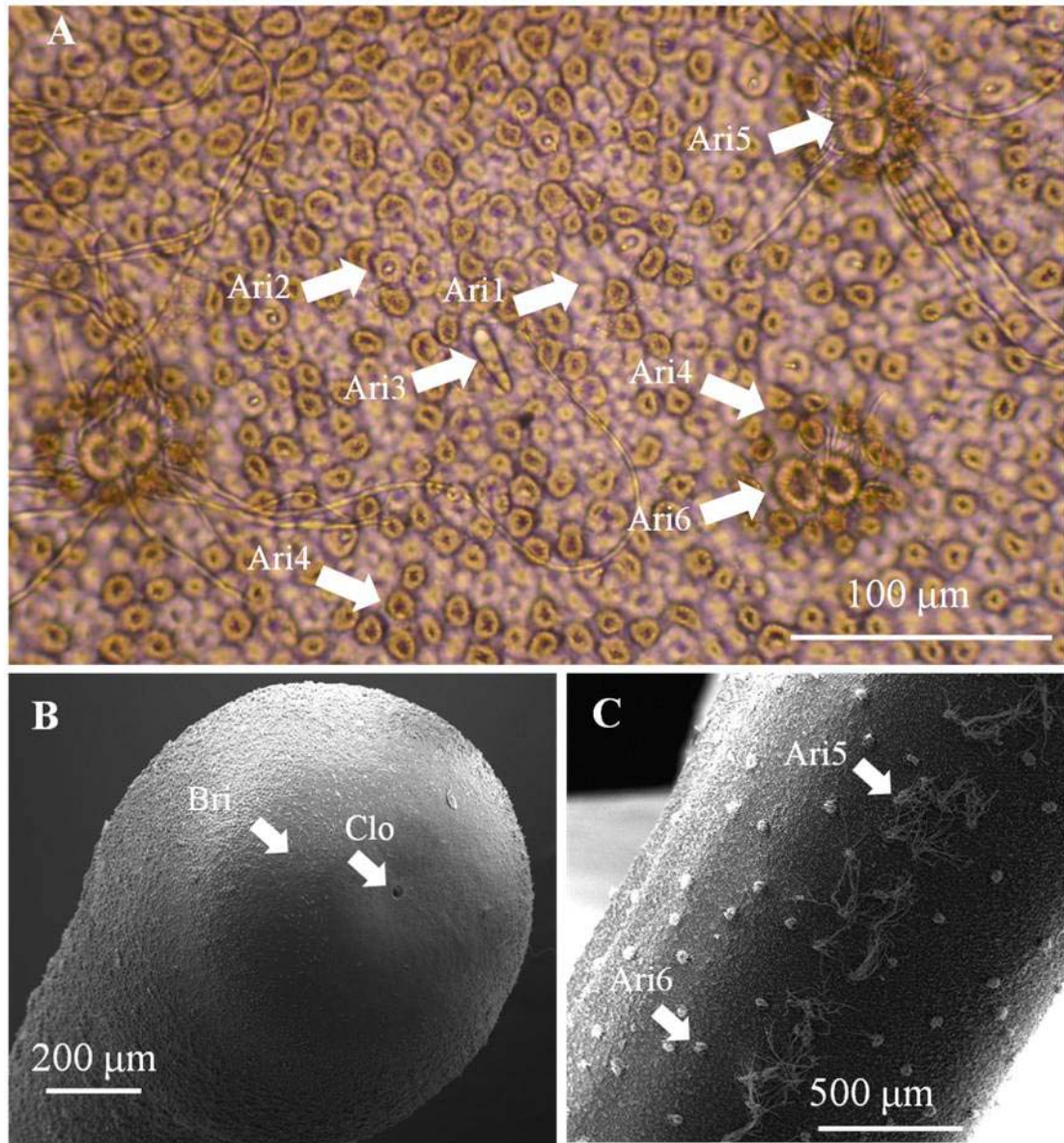


b. 雌蟲

雌成蟲體呈圓柱狀，所測量的 13 個個體平均 278.9 (78-440) mm；經 75% 酒精脫水固定後蟲體最寬 1-1.5 mm，身體扁平但通常扁平程度不若雄蟲，腹面及背面縱向微微向內凹陷。表皮顏色淡至深褐色，少數個體的體表由多個暗色色斑組成；腹面及背面各有一條縱向淡色帶，部分個體腹面的亮帶中央有一條顏色較深的暗帶。

尾部末端微微膨大呈圓形，表面分布微微隆起的扁平突起，接近洩殖腔開口處突起高度降低成為繩狀皺折，皺折和扁平突起的交界分布散生的短剛毛 (10-27 μm)；洩殖腔開口在尾部末端，接近圓形，直徑 18-33 μm ，沒有圍洩殖腔剛毛 (圖十 B)。

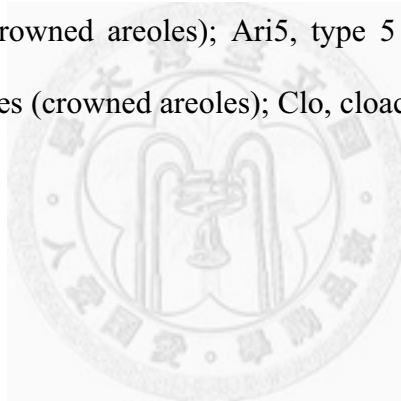
前端形態和雄蟲大致相似，但環繞在端部圓錐狀的突起普遍比雄蟲低，也有部分個體尖端扁平。除了前端之外，雌蟲身上發現的 5 種表皮突起在形態及分布上均和雄蟲類似，但較密集 (圖十 A)；部分突起的附屬物有些微差異，除了刺狀突起的附屬物 (刺) 較雄蟲短 (11-30 μm) 之外，雌蟲腹面及背面中線的成對冠狀突起雖形態和雄蟲類似，但頂端環繞的纖毛較長，至少 36 μm ，且大多數超過 100 μm 。這種類型的冠狀突起僅出現在雌蟲中，在腹背中線微微成 2 列，但也在一隻雄蟲背面被零星發現 (圖十 C)。



圖十、雌台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 的體表。(A) 六種表皮突起：簡單突起，type 1 (Ari1)，莖狀突起，type 2 (Ari2)，刺狀突起，type 3 (Ari3)，冠狀突起，type 4 (Ari4)、type 5 (Ari5) 及 type 6 (Ari6)；type 5 及 type 6 的差異在於頂端附屬物的長度，type 5 僅出現在雌蟲中，最短為 36 μm，大部分超過 100 μm，type 6 則僅少數接近 80 μm；(B) 尾端結構，箭頭分別指示洩殖腔開口 (Clo)，及纖毛 (Bri)；(C) type 5 及 type 6 突起的分布。

Fig. 10. Cuticular surface of female *Chordodes formosanus* n. sp. (A) All types of

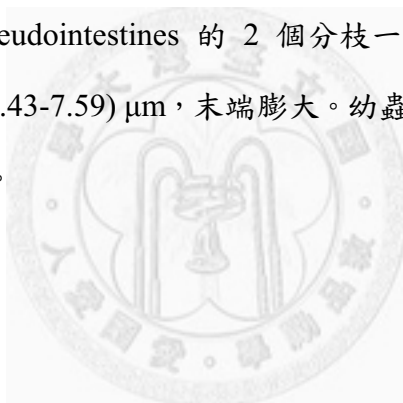
areoles on the female middle body, including simple areoles (type 1), tubercle areoles with a tubercle on the top (type 2), the thorn areole with a long solid thorn (type 4), and clusters of 3 kinds of crowned areoles contain types 3-5. Type 3 cluster in 2 to 10 scattered among simple areoles or surround types 5 and 6. Both types 5 and 6 cluster in pair, while the forward with longer topical filaments (at least 36 μm , most longer than 100 μm). (B) Whole posterior with the cloacal opening terminally and bristles scattered on border between flat areoles and normal areoles. (C) Arrangement of type 5 and type 6 areoles. *Abbreviations:* Ari1, type 1 areoles (simple areoles); Ari2, type 2 areoles (tubercle areoles); Ari3, type 3 areoles (thorn areoles); Ari4, type 4 areoles (crowned areoles); Ari5, type 5 areoles (crowned areoles); Ari6, type 6 areoles (crowned areoles); Clo, cloacal opening; Bri, bristle.

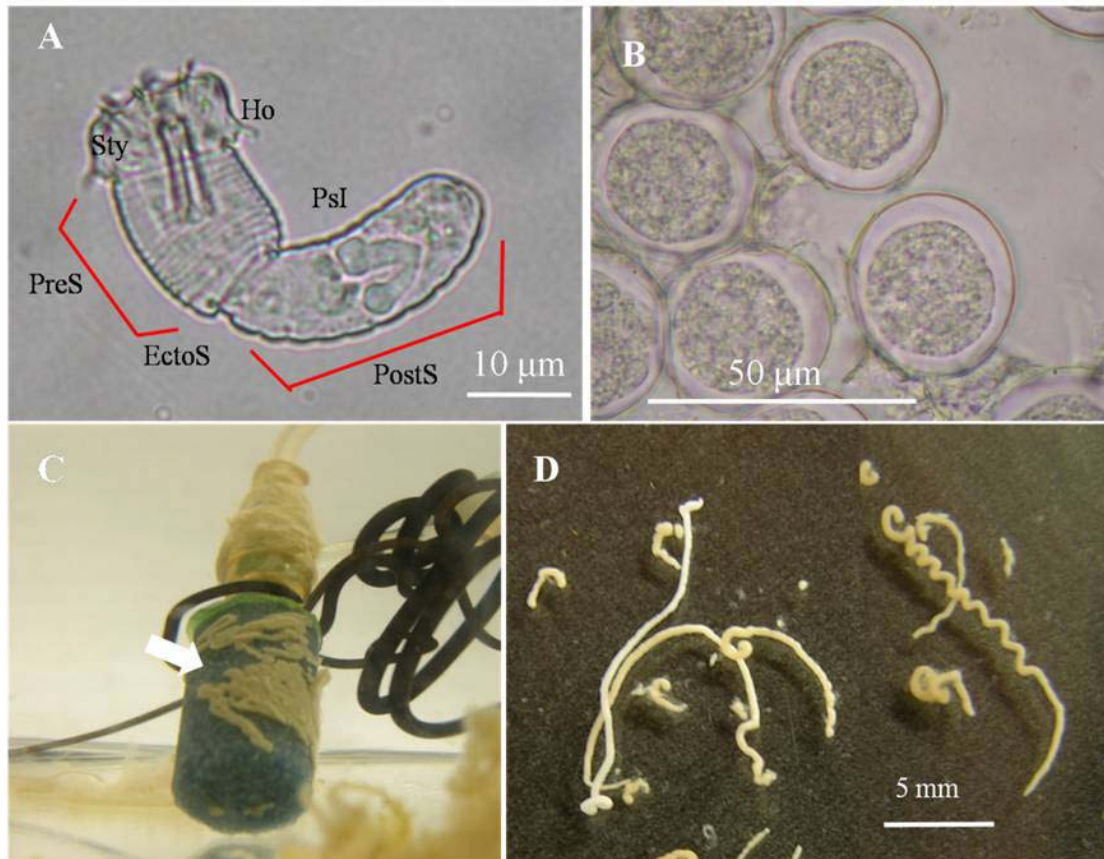


2. 卵及幼蟲

台灣索鐵線蟲的卵互相黏結成長條鍊狀，沒有附屬物包圍，有明顯的卵殼 (圖十一 B)。剛生出的卵鍊為乳白色，約一天後顏色轉為淡黃色，幼蟲要孵化前數天內顏色轉深成為偏灰黑的暗黃色。大多數的卵鍊在產出時直接黏在固著物上 (十一 C)，但也有部分漂浮在水底，呈捲曲線狀 (圖十一 D)。

幼蟲孵化後停留在卵周圍，長約 50 μm ，移動能力差。在光學顯微鏡之下能分成 preseptum (平均長 20.55 (16.32-24.78) μm ，寬 13.21 (10.93-16.34) μm)、postseptum (平均長 24.91 (22.52-27.44) μm ，寬 10.06 (9.25-11.49) μm) 及連接在之中的 ectodermal septum。preseptum 內部可見口針 (平均長 11.04 (9.59-13.25) μm)，端部有一環勾狀結構，口針能自主伸出和縮回。postseptum 內部可見到 V 形的 pseudointestines，pseudointestines 的 2 個分枝一長一短，平均分別長 8.27 (7.28-9.82) μm 及 6.70 (5.43-7.59) μm ，末端膨大。幼蟲尾端部同前端，環繞約 4 個刺狀結構 (圖十一 A)。





圖十一、台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 卵及幼蟲。A 圖為鐵線蟲剛孵化的游離幼蟲，多停留在卵附近，移動能力差；B 圖為卵鍊 (egg string，出生後 6 天) 壓散後在顯微鏡下觀察的結果，卵互相連接但外圍未見附屬物；C 及 D 圖為卵鍊，分別為黏接在藍色氣泡石上及漂浮在水底的兩種形式，均由同一隻雌蟲所產出。

Fig. 11. Eggs and larvae of *Chordodes formosanus* n. sp. (A) Larva, the posterior end with more than 2 tail spines which are not shown in the picture. The terminologies follow Bohall *et al.* (1997) and Hanelt and Janovy (2002). (B) Eggs which were isolated from egg strings. (C) Egg strings stuck on the substrate (arrow). (D) Egg string drifted on the bottom. *Abbreviations*: EctoS, ectodermal septum; Ho, hooklet; PostS, postseptum; PreS, preseptum; PsI, pseudointestine; Sty, stylet.

(四) 遺傳分化

在 27 個樣本所分析的樣本中，共有 22 個 haplotype，在序列中有 538 個位置完全相同，在出現變異的 26 個位置中，則有 13 個 singleton 及 13 個 parsimoniously informative sites。在 NJ tree 的分析中，所有的樣本呈現多分歧的現象 (polytomy)。各個分群的 bootstraps 值低，因此所有的個體並沒有被分成不同小群，也沒有凸顯出不同採集地點的遺傳分化。個體之間的遺傳距離短，平均 0.00679 (表一)，最高僅 0.0107。根據這些結果，這 27 個個體之間的粒線體 COI 基因未明顯分化，因此認定牠們為同一個種類。



表一、所檢查的 27 隻台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 樣本粒線體 COI 基因的遺傳距離

Table 1. Pairwise genetic distance of partial mtCOI gene sequences for *Chordodes formosanus* n. sp.

	F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10	F11	F12	F13	D01	D02	D03	D04	D05	D06	D07	D08	S01	T01	Z01	Z02	CHI1604		
F02		0.0108																										
F03			0.0107																									
F04				0.0107																								
F05					0.0107																							
F06						0.0089																						
F07							0.0071																					
F08								0.0053																				
F09									0.0089																			
F10										0.0089																		
F11											0.0089																	
F12												0.0089																
F13													0.0108															
D01														0.0036														
D02															0.0071													
D03																0.0036												
D04																	0.0089											
D05																		0.0053										
D06																			0.0036									
D07																				0.0018								
D08																					0.0000							
D09																						0.0054						
T01																							0.0071					
Z01																								0.0036				
Z02																									0.0036			
Z03																										0.0036		
Z04																											0.0053	

(五) 採集簡述

所有採集到台灣索鐵線蟲的地點均鄰近水域環境。活體游離鐵線蟲可在水中發現，陸地上的通常為脫水的屍體。游離鐵線蟲成體在水中時常大量聚集，互相纏繞成團，一個鐵線蟲團數量能達數十隻，且多為雄蟲，但無法確定其中是否僅單一鐵線蟲。雌蟲出現在鐵線蟲團附近但不會纏繞進去。鐵線蟲團聚集的地點時常為水中漂流物的淤積處或人工淤沙池，和水中枯枝落葉及其他漂流物互相纏繞。根據宜蘭縣礁溪鄉五峰旗瀑布的採集紀錄，在鐵線蟲及台灣斧螳的活動時期(6 月底至 8 月初)，受感染的螳螂常在白天朝當地森林邊緣的空曠地，包含停車場及攤販聚集處移動，在空地停留或徘徊，多數會被壓死或曬死。大部分的採集點在鐵線蟲大發生時期均時常在水塘中或道路上看到台灣斧螳的屍體。鐵線蟲成蟲大發生的時間約介於 6 月底至 8 月初之間的盛夏，最晚在 10 月有觀察紀錄，但僅 1 例(台北縣三芝鄉)；另一波鐵線蟲成蟲的活動約在 1 月底至 2 月初之間的冬季，此時雖然有採集紀錄，但數量少，僅 3 例，其中一例為水中採集到的游離成蟲，另 2 例則在同一隻台灣斧螳若蟲體內被採集到。

(六) 評論 (Remark)

索鐵線蟲屬的鐵線蟲雌雄蟲尾端均不分葉，但雄蟲末端縊縮，雌蟲末端則膨大。表皮突起多樣性大，特別是冠狀突起 (crowned areole) 僅出現在此屬的種類中，因此能斷定檢查的樣本均屬於索鐵線蟲屬，並藉由其他形態特徵的比較認定牠們為一個新的種類，命名為 *Chordodes formosanus* n. sp.，中文名為台灣索鐵線蟲。

台灣索鐵線蟲形態上的鑑定特徵包含體表的 6 種表皮突起 (雌蟲 6 種，雄蟲 5 種)、腹面的暗帶，及頭、尾的剛毛等附屬物。體長在不同個體身上差異極大，因此不是很好的鑑定特徵。台灣索鐵線蟲的 6 種表皮突起也出現在 *C. moutoni* (Zanca and de Villalobos, 2005; Schmidt-Rhaesa and Brune, 2008) 和 *C. queenslandi* (Schmidt-Rhaesa, 2002b) 身上，這兩種鐵線蟲一樣寄生在螳螂體內

(*C. moutoni* 的寄主可能為多種螳螂，但僅一種有種名記錄 (*Camelomantis giraffe*)；*C. queenslandi* 的寄主則為 *Sphodropoda tristis*)，但台灣索鐵線蟲是目前台灣斧螳及寬腹螳螂唯一確定的鐵線蟲種類。除了寄主的差異之外，在形態上 *C. moutoni* 的雌蟲在腹面及背面均有暗色縱帶 (Zanca and de Villalobos, 2005)，該特徵在文章的描述中為和體表縱向平行的色素帶 (darkly pigmented line)，在 SEM 圖片中顯示的為內凹的縱溝。該特徵出現在索鐵線蟲屬的許多種類中，除了 *C. moutoni* 之外，也包括下述的 *C. queenslandi*，但若根據 Schmidt-Rhaesa and Brune (2008) 的描述，該暗色帶在 SEM 下為較高的突起群聚的結果，但在我們的觀察中，該特徵在電子顯微鏡下並不容易觀察。因此 Zanca and de Villalobos (2005) 描述的縱溝可能不是造成色素帶的原因。而在我檢查的鐵線蟲中，暗色縱帶在不同個體的變異大，有的缺乏這個特徵，有些則僅在腹面帶有這個特徵，目前尚未發現腹背均有暗色縱帶的個體，因此藉由這個特徵將台灣索鐵線蟲與 *C. moutoni* 分開。另外 2002 年在澳洲發表的鐵線蟲 *C. queenslandi* 雖然暗色縱帶的特徵和我描述的相似，但冠狀突起的特徵不具雌雄二形性，且雄蟲洩殖腔開口周圍沒有圍洩殖腔剛毛，因此也藉此特徵將台灣索鐵線蟲與 *C. queenslandi* 分開，並視其為一未曾發表的新種。

除了成蟲之外，我也發現在台灣索鐵線蟲的幼蟲中，Y 形的 pseudointestine 可能是索鐵線蟲屬的獨有衍徵 (autapomorphy)。這個特徵也出現在 *Chordodes nobilii* (Zanca et al., 2007) 及 *Chordodes morgani* (Hanelt and Janovy, 2002) 中，但在其他屬的種類，在這個構造的形態上均不相同。這個特徵雖然有機會應用在幼期的屬級分類，但鐵線蟲進入保幼寄主形成包囊之後，pseudointestine 有可能萎縮而不易觀察 (Hanelt and Janovy, 2002)，因此不易應用於野外幼蟲的鑑定，未來可能需要藉由固定及染色來加強這個特徵的清晰程度。

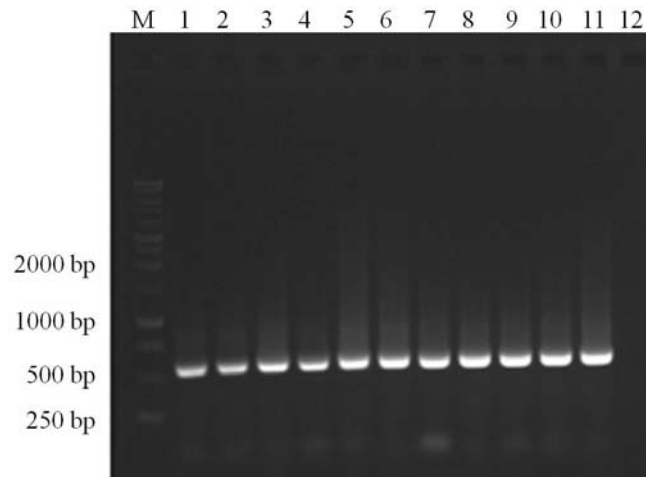
二、 保幼寄主感染率調查

(一) 分子檢測方法

1. 引子設計

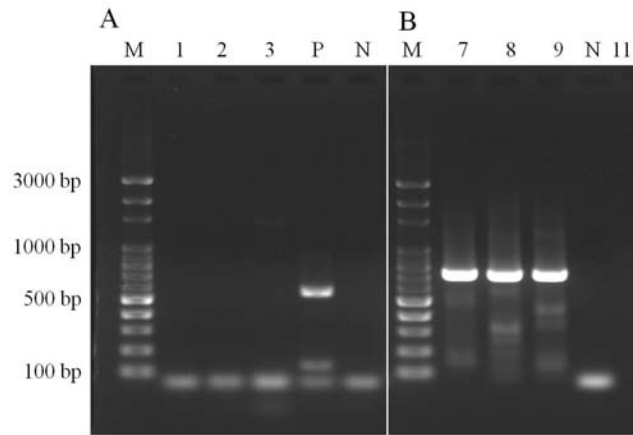
藉由引子 Nm18F 及 Nm18-1R 進行 PCR 放大後，電泳的結果如圖十二，結果顯示該反應的效率在黏合溫度為 55.0°C 時最差，57.8 到 65.0°C 之間差異不顯著。因此在之後的試驗中均選用較高的溫度 (65.0°C) 以減少野外偵測時引子雜合到其他生物 DNA 的機率。在相同條件下，增幅其他和鐵線蟲親緣關係接近的線蟲 DNA 樣本，包括魚類寄生線蟲海獸胃線蟲 (*Anisakis simplex*)、帶魚針蛔蟲 (*Raphidascaris trichiuri*)，及鈎宮脂線蟲 (*Hysterothylacium aduncum*)，均無法在電泳膠圖上出現增幅的訊號 (圖十三)。因此該組引子對鐵線蟲具專一性。





圖十二、Nm18F 及 Nm18-1R 在不同黏合溫度 (Annealing temperature) 下對台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) DNA 的 PCR 反應效率比較。M 為標記分子，1-11 由左而右分別是黏合溫度為 55.0、55.2、55.7、56.6、57.8、59.1、60.5、61.8、63.1、64.2、65.0°C 反應後的產物，產物大小為 544 bp。

Fig. 12. Comparison of the amplified efficiency of horsehair worm's DNA (*Chordodes formosanus* n. sp.) by primers Nm18F and Nm18-1R under different annealing temperature: lanes 1-11 are 55.0, 55.2, 55.7, 56.6, 57.8, 59.1, 60.5, 61.8, 63.1, 64.2, and 65.0°C, respectively. The length of the amplified DNA is 544 bp. Lane M contains 100-bp ladder size markers.

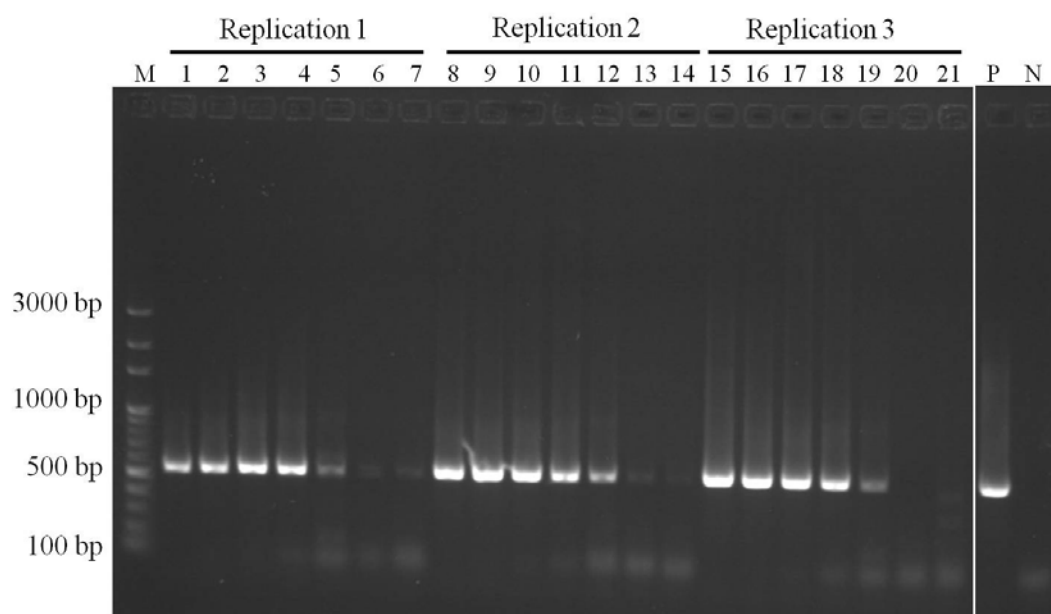


圖十三、以三種線蟲 DNA 測試 Nm18F 及 Nm18-1R 引子是否會雜合到鐵線蟲以外的物種。A 圖為 Nm18F 及 Nm18-1R 引子放大的結果，M 為標記分子，1-3 分別為海獸胃線蟲 (*Anisakis simplex*)、帶魚針蛔蟲 (*Raphidascaris trichiuri*)、鈎宮脂線蟲 (*Hysterothylacium aduncum*) 的放大結果，P 為 positive control (台灣索鐵線蟲，*Chordodes formosanus* n. sp.)、N 為 negative control (水)；B 圖則為三種線蟲的 positive control，7-9 分別是海獸胃線蟲、帶魚針蛔蟲、鈎宮脂線蟲藉由 COI 引子 LCO1490 及 HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) 的放大結果，作為線蟲 DNA 的 positive control，N 為 negative control (水)。

Fig. 13. Testing the amplification of three nematodes by primers Nm18F and Nm18-1R. (A) is the PCR amplification by primers Nm18F and Nm18-1R. Lane 1, *Anisakis simplex*; lane 2 *Raphidascaris trichiuri*; lane 3, *Hysterothylacium aduncum*. Lane P, positive control (horsehair worm's DNA); lane N, negative control (water instead of extracted DNA). (B) is the PCR amplification by primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994), as the quality control of nematodes' DNA. Lane 1, *Anisakis simplex*; lane 2 *Raphidascaris trichiuri*; lane 3, *Hysterothylacium aduncum*. Lane N, negative control (water). Lane M contains 100-bp ladder size markers in (A) and (B).

2. 敏感度測試

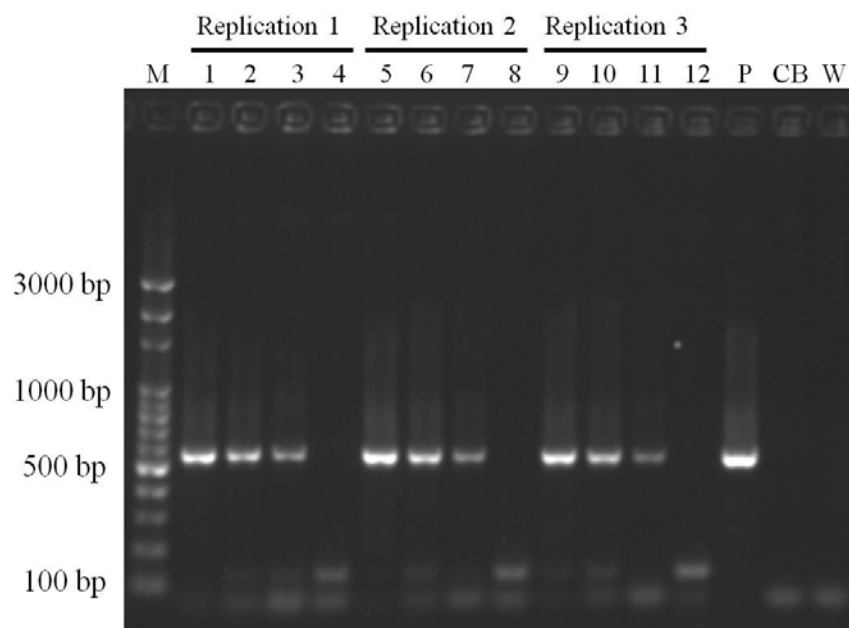
將鐵線蟲 DNA 序列稀釋之後增幅產物的電泳的結果如圖十四，三個重複由左而右的樣本含量分別為 1、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} ng。結果顯示，樣本 DNA 含量 10^{-4} ng 以上的反應均能在 PCR 後在電泳凝膠觀察到明顯的亮帶，但若小於 10^{-5} ng 則訊號微弱或無訊號。



圖十四、在不同樣本 DNA (*Chordodes formosanus* n. sp.) 含量下 PCR 的反應效率比較。M 為標記分子，1-7、8-14、15-21 由左而右分別是 DNA 含量為 1、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} ng 反應後的產物，共三個重複，P 及 N 分別為 positive 及 negative control。

Fig. 14. Comparison of the efficiency of PCR under different quantities of horsehair worms' DNA (*Chordodes formosanus* n. sp.). DNA concentrations for lanes 1-7, 8-14, 15-21 are equal to 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , and 10^{-6} ng, respectively. Lane P, positive control (1 ng horsehair worms' DNA); lane N, negative control (water instead of extracted DNA). Lane M contains 100-bp ladder size markers.

雖然確定只需要 10^{-4} ng 的鐵線蟲樣本 DNA 便能在 PCR 後在電泳凝膠上觀察到放大的訊號，但實際上 PCR 反應效率可能受到其他 DNA 的干擾而下降。以 20 ng 石蛾 DNA 模擬干擾的試驗結果如圖十五，三個重複由左而右的鐵線蟲 DNA 含量分別為 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ng。和未有其他 DNA 干擾的結果一樣，樣本 DNA 含量 10^{-4} ng 以上的反應仍能在 PCR 後在電泳凝膠觀察到明顯的亮帶，顯示石蛾 DNA 對鐵線蟲的偵測影響小，並且理論上偵測的適用性能在寄主和寄生蟲的體積比達到 $10^5:1$ 時尚可進行。且以 20 ng 石蛾 DNA 作為 negative control 的 PCR 產物中沒有在電泳凝膠中出現訊號，也再次顯示引子 Nm18F 及 Nm18-1R 不會放大鐵線蟲以外的 DNA。

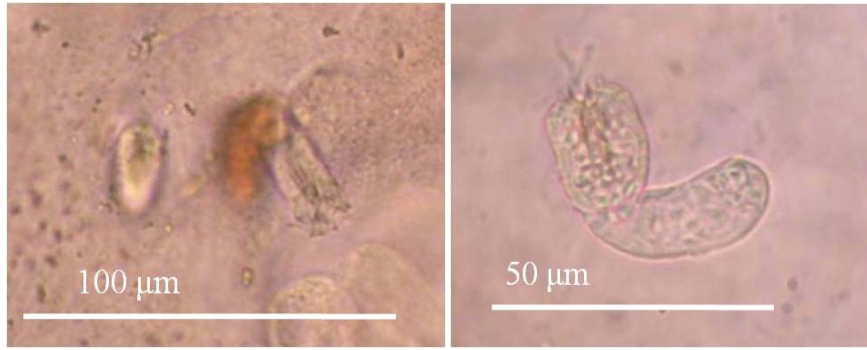


圖十五、在不同樣本 DNA 混合比例下 PCR 的反應效率比較。M 為標記分子，1-12 為 1 μ l 台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 及寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 的 DNA 混合水溶液為樣本 DNA 的 PCR 產物。水溶液中鐵線蟲的 DNA 濃度 1-4、5-8、9-12 分別為 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ng/ μ l，而石蛾 DNA 的濃度則固定為 20 ng/ μ l，共三個重複，P 為 positive，CB 及 W 為 negative control (石蛾 DNA 及水)。

Fig. 15. Comparison of the efficiency of PCR under different ratios of horsehair worms' DNA (*Chordodes formosanus* n. sp.) and caddisflies' DNA (*Chimarra formosana*). Lanes 1-4, 5-8, 9-12 contain material from PCR carried out by 1 μ l DNA template with 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ng horsehair worms' DNA (*Chordodes formosanus* n. sp.) and 20 ng caddisflies' DNA (*Chimarra formosana*), respectively. Lane P, positive control (10^{-1} ng horsehair worms' DNA); lane CB, negative control (20 ng caddisflies' DNA); lane W, negative control (water). Lane M contains 100-bp ladder size markers.

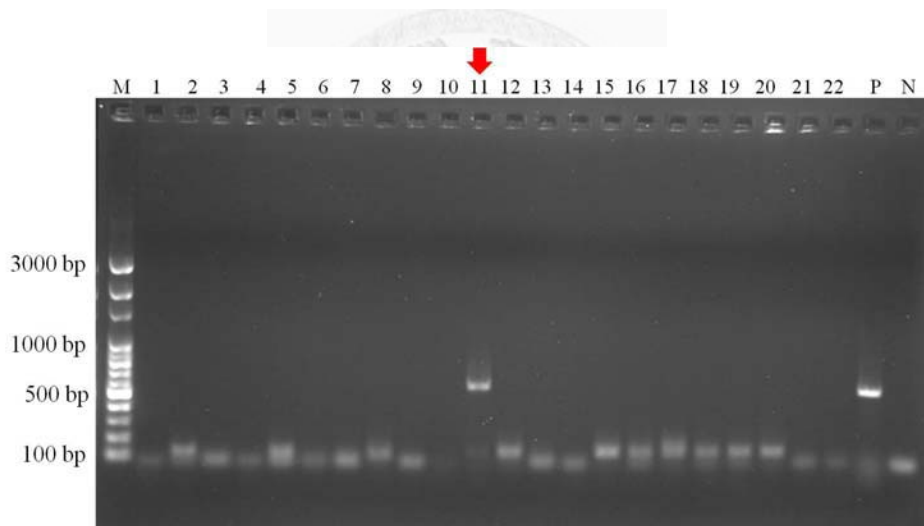
3. 保幼寄主檢測

鏡檢的 44 個樣本中，2 個樣本內各被觀察到 1 隻鐵線蟲幼蟲 (圖十六)，確定寶島缺叉石蛾受到鐵線蟲感染的情形。而在 47 隻野外的石蛾樣本檢測中，其中 4 個樣本出現鐵線蟲 DNA 的訊號 (圖十七)，因此確定此分子檢測的方法能判斷野外樣本是否受到鐵線蟲感染。但對實驗室中飼養的 41 樣本檢測中，其中有 5 個樣本未能觀察到訊號，因此檢測方法在實際野外樣本檢測中可能仍有約 12.2% 的受感染樣本無法被偵測出感染。



圖十六、台北市立動物園中寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 成蟲體內感染的鐵線蟲。

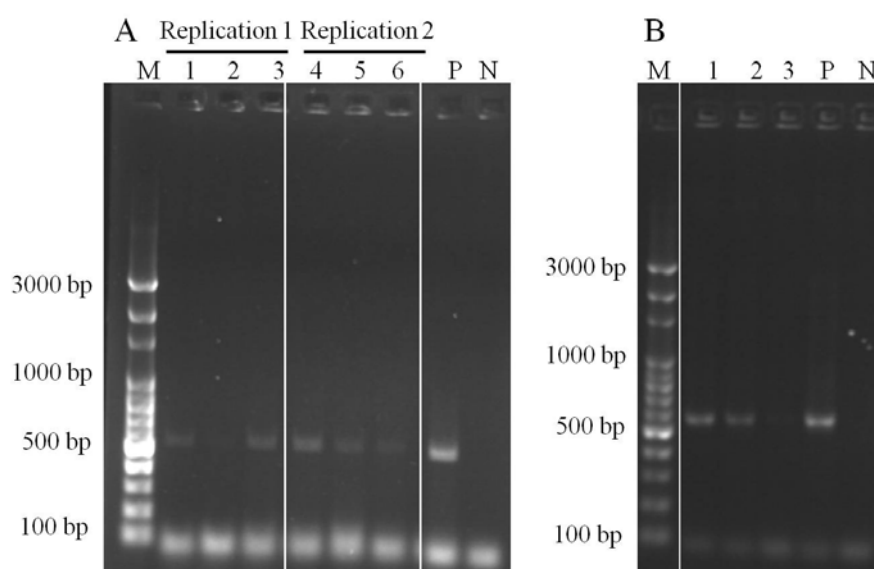
Fig. 16. Horsehair worms' larvae (*Chordodes formosanus* n. sp.) inside the caddisfly (*Chimarra formosana*) from Taipei Zoo.



圖十七、台北市立動物園中寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 成蟲 PCR 偵測樣本。M 為標記分子，1-22 為測試的石蛾樣本，其中 11 出現鐵線蟲感染的訊號。P 及 N 分別為 positive 及 negative control。

Fig. 17. Detection of caddisflies (*Chimarra formosana*) from Taipei Zoo by PCR. Lanes 1-22 are detected samples' DNA. The signal in lane 11 indicated the horsehair worm's infection. Lane P, positive control (horsehair worms' DNA); lane N, negative control (water). Lane M contains 100-bp ladder size markers.

在混合樣本的檢測中，受感染石蛾和 78.75 ng、135.13 ng，及 219.70 ng 未感染的石蛾 DNA 混合進行 PCR 的結果顯示所有混合的樣本仍然能放大出鐵線蟲 DNA 的訊號 (圖十八 A)。而受到單隻鐵線蟲胞囊感染的搖蚊幼蟲 DNA 和 109.47 ng、133.47 ng 及 219.47 ng 石蛾 DNA 混合測試的情況下也均能觀察到鐵線蟲 DNA 被放大的訊號 (圖十八 B)。這兩個測試的結果顯示雖然高濃度的寄主 (石蛾) DNA 干擾鐵線蟲 DNA 的增幅，造成部分反應的產物在電泳凝膠中出現的訊號較不明顯，但仍然不會影響檢測的結果。因此有的野外樣本在單隻進行 DNA 萃取之後，便以五個為一組進行 PCR 增幅及檢測。



圖十八、多個樣本混合測試。(A) 將所檢測出受到鐵線蟲感染的寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) DNA 和 78.75 ng、135.13 ng，及 219.70 ng 未感染的石蛾 DNA 混合進行 PCR 的結果。M 為標記分子，1-3 及 4-6 分別為由小到大不同石蛾 DNA 含量下鐵線蟲感染的訊號，鐵線蟲在不同濃度的石蛾 DNA 干擾之下仍會出現訊號，僅 2 較淡，P 及 N 分別為 positive 及 negative control。(B) 為將解剖後發現體內僅一個鐵線蟲包囊的搖蚊幼蟲樣本進行 DNA 萃取，並混合 109.47 ng、133.47 ng 及 219.47 ng 石蛾 DNA 進行 PCR 的結果。M 為標記分子，1-3 分

別為由小到大不同石蛾 DNA 含量下鐵線蟲感染的訊號，鐵線蟲在不同濃度的石蛾 DNA 干擾之下仍會出現訊號，僅 3 較淡，P 及 N 分別為 positive 及 negative control。

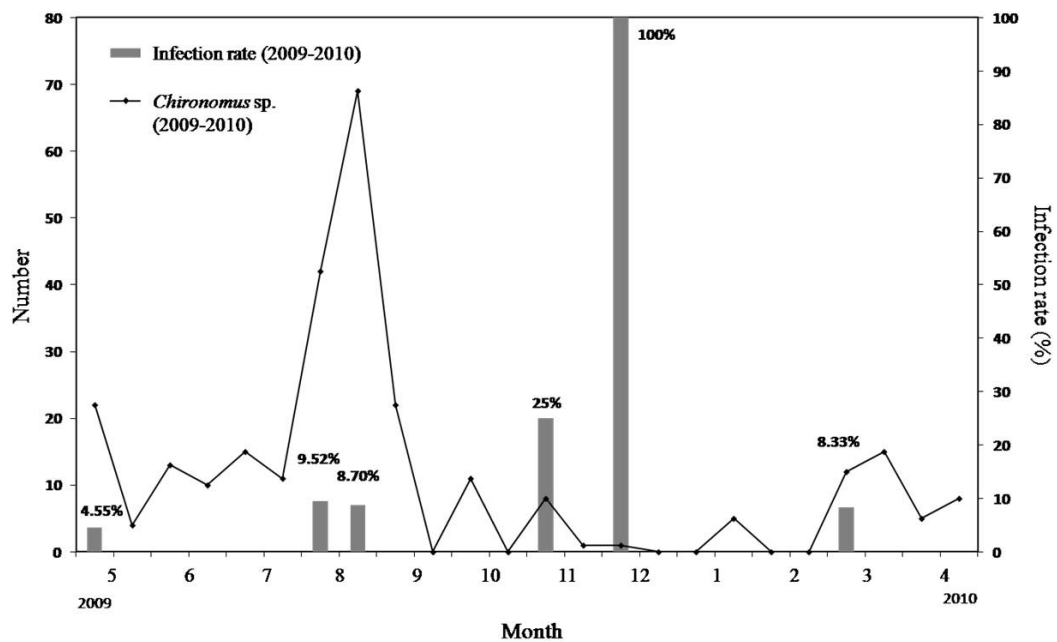
Fig. 18. Detection of the mixed DNA. (A) is the electrophoretic patterns of PCR products obtained by mixing 1 infected caddisfly's DNA (*Chimarra formosana* which infected with horsehair worms) with 78.75 ng (lanes 1 and 4), 135.13 ng (lanes 2 and 5) and 219.70 ng (lanes 3 and 6) noninfected caddisfly's DNA. Lane P, positive control (horsehair worm's DNA); lane N, negative control (water). (B) is the electrophoretic patterns of PCR products obtained by similar method of (A). The DNA template using in (B) is DNA from the bloodworm (*Chironomus* sp.) which infected with one horsehair worm's cyst (*Chordodes formosanus* n. sp.) mixed with 109.47 ng (lane 1), 133.47 ng (lane 2), and 219.47 ng (lane 3) noninfected caddisfly's DNA. Lane P, positive control (horsehair worm's DNA); Lane N, negative control (water). Lane M contains 100-bp ladder size markers in (A) and (B). Although the signals on lanes 2 and 4 in (A) and lane 3 in (B) are weak, all the PCR products can show the signals on the electrophoretic gels.

(二) 野外調查

1. 搖蚊幼蟲

在 A 區 11 個月的採樣中，我採集到 4 種搖蚊幼蟲共 283 個個體。其中以 *Chironomus* sp. 為最大宗，共計 274 隻，*Parachironomus* sp. 次之，共 17 隻，其餘僅零星出現。*Chironomus* sp. 幾乎全年可見，出現高峰在 8 月，9 月下旬之後數量漸漸降低，10 月到次年 2 月雖均有採集記錄，但這時的數量仍然相對低於 5 至 7 月的樣本數量。大約在 11 月初開始，*Parachironomus* sp. 的樣本

數量上升，但此時的量仍然遠低於 *Chironomus* sp. 高峰時期的數量，採集記錄大約集中在 11 月及次年 1 月，顯示其活動時間大約是在氣溫較低的冬季（圖十九）。B 區的 5 次採樣中則共採到 3 種搖蚊共 95 個個體，其中分別屬於 *Chironomus*、*Parachironomus* 及 *Zavreliomyia* 屬。在所有的種類中一樣以 *Chironomus* sp. 為最大宗，共計 90 隻，其餘的為 *Parachironomus* sp. 3 隻及 *Zavreliomyia* sp. 2 隻。



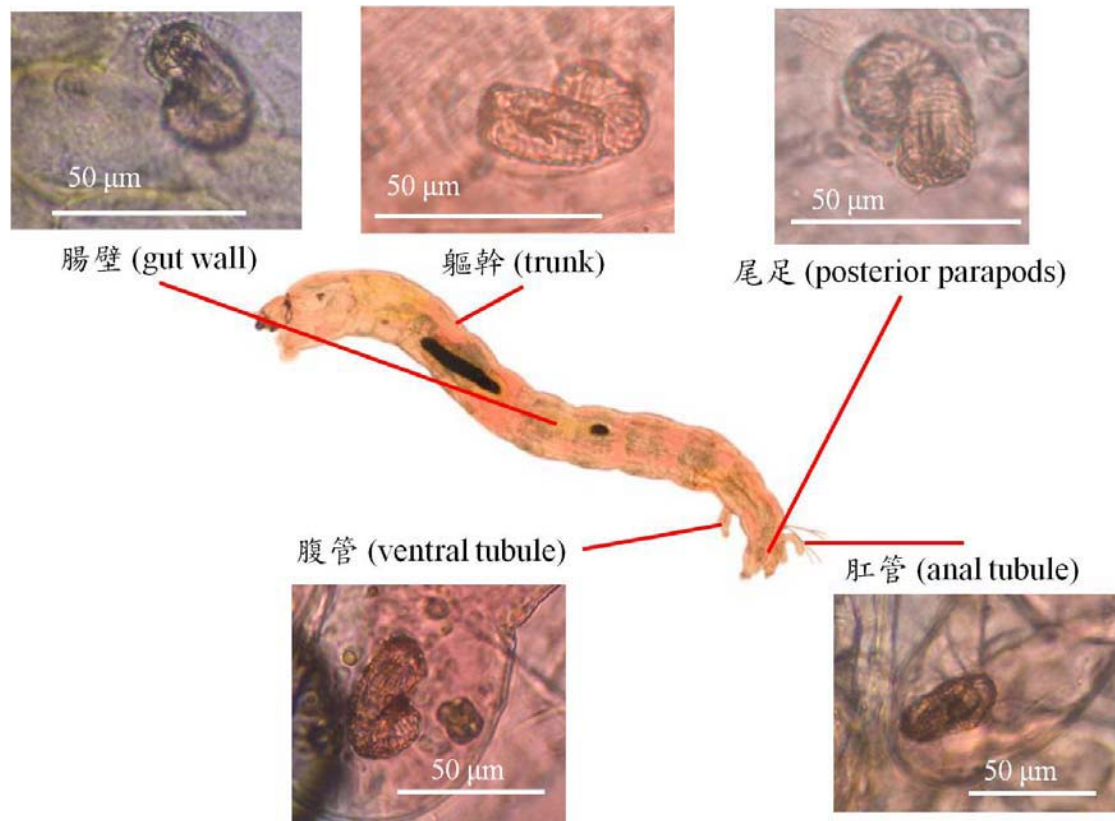
圖十九、台北市立動物園 2009 年至 2010 年搖蚊幼蟲 (*Chironomus* sp.) 季節波動及鐵線蟲感染狀況。

Fig. 19. Seasonal frequency of bloodworm population (*Chironomus* sp.) and the infection of horsehair worms (*Chordodes formosanus* n. sp.) in Taipei Zoo from 2009 to 2010.

在 A 及 B 區所有的搖蚊幼蟲樣本中，僅 *Chironomus* sp. 有受到鐵線蟲幼蟲感染的現象。在台北市立動物園中，目前僅發現過一種鐵線蟲成蟲，即台灣索鐵線蟲，加上所觀察的個體形態和飼養的相似，因此認定水生昆蟲所感染的鐵

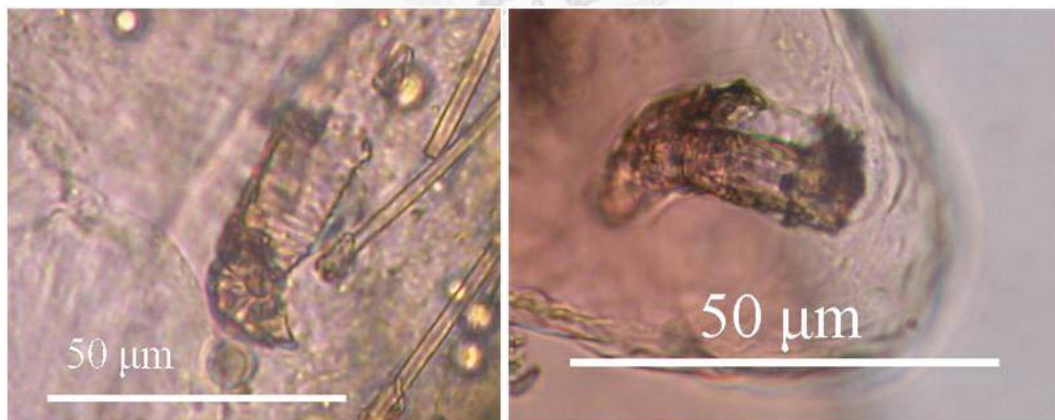
線蟲幼蟲屬於台灣索鐵線蟲。A 區 *Chironomus* sp. 的活動在 8 月達到高峰，這時也是鐵線蟲感染個體最多的時段。該月兩次採樣的 111 個樣本中，共 10 例受到感染，當月盛行率 (prevalence) 約為 9.0%。而除了 8 月之外，在 3 月、5 月及 11、12 月也有感染的狀況，感染的個體數分別為 1 (總採集數 27 隻)、1 (總採集數 22 隻)、2 (總採集數 5 隻)、1 (總採集數 1 隻)。2009 年 2 月 8 日至 15 日之間 B 區的 90 隻 *Chironomus* sp. 樣本則有 5 例受到感染，感染率約為 5.6%，各採集時間點的採集樣本數，檢測樣本數及感染數目如附錄五。

在所有受到感染的 20 個樣本中，僅 1 例寄主同時受到 2 隻鐵線蟲幼蟲感染，其餘均僅受到單隻鐵線蟲感染，平均感染強度 (mean intensity) 約為 1.05 隻。鐵線蟲胞囊出現的位置分別為腸壁 (2 隻)、軀幹 (7 隻)、腹管 (7 隻)、尾足 (1 隻)，及肛管 (3 隻)，不同部位所發現的鐵線蟲幼蟲形態上沒有明顯的差異，部分個體顏色呈淡至深褐色，少部分完全透明 (圖二十，但也有部分鐵線蟲個體受到嚴重免疫攻擊 (圖二十一)。其中 1 隻搖蚊幼蟲體內除了觀察到 1 隻鐵線蟲幼蟲之外，也同時在軀幹中發現一個疑似鐵線蟲脫下來的外殼 (圖二十一)。類似的現象在飼養的個體中也有發現。暴露於鐵線蟲幼蟲一天後的搖蚊幼蟲在解剖後，部分鐵線蟲幼蟲被發現掙脫灰褐色的外殼的行為 (圖二十二)。



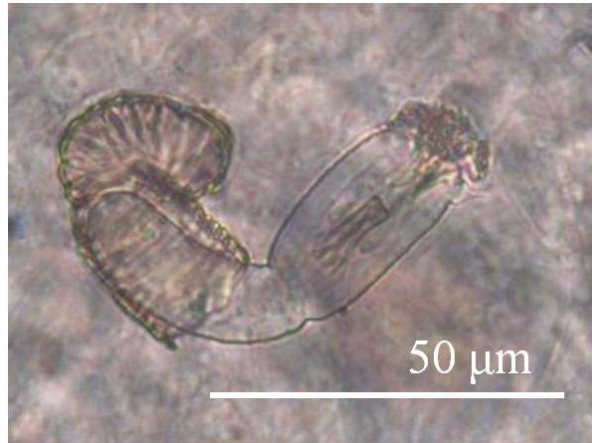
圖二十、搖蚊 (*Chironomus* sp.) 幼蟲體內發現鐵線蟲幼蟲的位置。

Fig. 20. The positions of horsehair worms (*Chordodes formosanus* n. sp.) inside the bloodworms (*Chironomus* sp.).



圖二十一、搖蚊 (*Chironomus* sp.) 體內發現的鐵線蟲外殼 (左圖) 及受到寄主免疫系統攻擊造成外觀不完整的鐵線蟲幼蟲 (右圖)，研判可能已經死亡。

Fig. 21. The horsehair worm's shell (left) and the immunity-attacked larval horsehair worm (right) inside the bloodworm (*Chironomus* sp.).

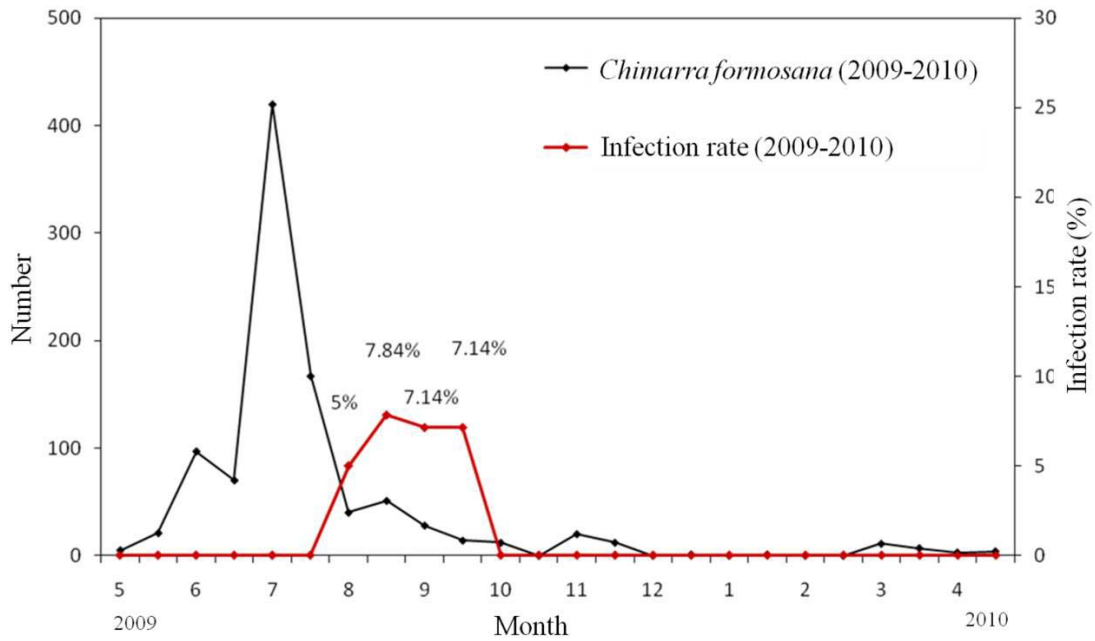


圖二十二、搖蚊 (*Chironomus* sp.) 幼蟲中台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 從外殼中脫出。

Fig. 22. Larval horsehair worm (*Chordodes formosanus* n. sp.) escaped from the shell inside the bloodworm (*Chironomus* sp.).

2. 搖蚊及寶島缺叉石蛾成蟲

在 B 區全年的採樣中，寶島缺叉石蛾為所有石蛾樣本中數量最多的種類，共計採到 984 個樣本。體型小，體長（頭至腹部末端）平均 4.28 ± 0.52 mm ($n = 10$)。該種石蛾幾乎全年可見，出現的高峰期在 7 月初，當月樣本數量 420 隻，佔總樣本數的 44.4%，並在 7 月下旬數量開始漸漸減少。包含前述測試的 91 隻石蛾在內，我利用所發展的分子檢測方法檢查 576 個樣本及鏡檢 44 個樣本。在所有的個體中，共 9 個樣本出現鐵線蟲感染的訊號，這些樣本均集中在 8 及 9 月，感染率分別約為 6.6% 及 7.1% (圖二十三)，各採集時間點的採集樣本數，檢測樣本數及感染數目如附錄五。



圖二十三、台北市立動物園 2009 年至 2010 年寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*) 成蟲數量波動及鐵線蟲感染情況。

Fig. 23. Seasonal frequency of caddisfly population (*Chimarra formosana*) and the infection of horsehair worms (*Chordodes formosamus* n. sp.) in Taipei Zoo from 2009 to 2010.

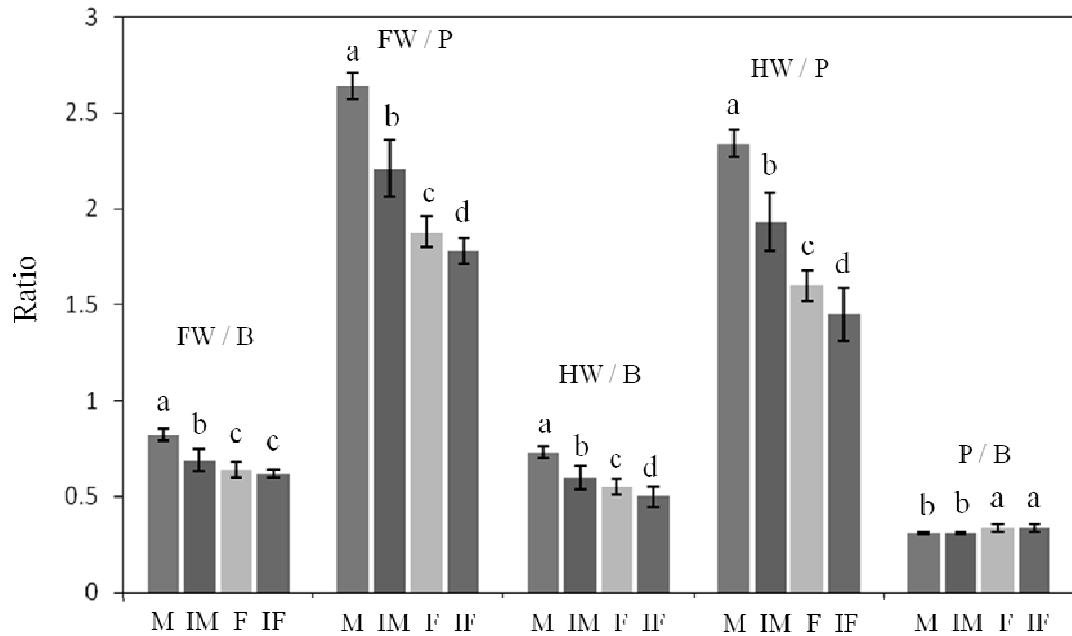
除了 B 區的石蛾樣本之外，我也用分子檢測的方法檢查 A 區 9 月份所採集到的寶島缺叉石蛾 (28 隻) 及 A、B 區的小型搖蚊 (*Chironomidae*) (68 隻)。在這其中，寶島缺叉石蛾及 8 月份所採集到的搖蚊出現感染的訊號，感染率分別為 3.6% (1/28) 及 19.2% (10/52)。

三、 台灣斧螳形態測量及比較

正常雄蟲 (NM)、正常雌蟲 (NF)、受感染雄蟲 (體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雄蟲，IM)，及受感染雌蟲 (體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雌蟲，IF) 測量的各個形值及比較資料如附錄四。

(一) 體型 (翅長、前胸背板長、體長)

在體型的資料中 (附錄四)，前翅平均長度從大到小分別為 NM、NF、IM 及 IF，雄蟲明顯較雌蟲長 ($NM > NF$)，且正常的個體雌雄分別明顯較受感染的個體長 ($NM > IM$ 且 $NF > IF$)。後翅的情況和前翅類似。前胸背板平均長度由大到小為 NF、IF、NM 及 IM，雌蟲明顯長於雄蟲 ($NF > NM$)。在雄蟲中，正常個體的前胸背板明顯長於受感染個體 ($NM > IM$)，但在雌蟲中不明顯。體長由大到小為 NM、NF、IF 及 IM。正常雌雄蟲差異不明顯，受感染雄蟲明顯小於正常雄蟲，但這在雌蟲不明顯。在翅長及體長、前胸背板的比值差異上 (圖二十四)，比值由大到小均為 NM、IM、NF 及 IF，而除了前翅及全長的比值在 NF 及 IF 之間沒有顯著差異之外，其餘的均在統計上差異顯著。前胸背板及體長的比值在 NM 及 IM 和 NF 及 IF 之間沒顯著差異。



圖二十四、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 各部位與體長及前胸背板長的比較。FW：前翅長，HW：後翅長，B：體長，P：前胸背板長，NM：正常雄蟲、NF：正常雌蟲、IM：受感染雄蟲（體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雄蟲），IF：受感染雌蟲（體內發現鐵線蟲成體或蠕蟲幼蟲的雌蟲）(a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$)。

Fig. 24. Comparison of the ratio of different parts on *Hierodula formosana* to its body and pronotum lengths under different sexes and infection statuses. FW: forewing length, HW: hindwing length, B: body length, P: pronotum length, NM: male, IM: infected male (male with worms inside), F: female, IF: infected female (female with worms inside) (a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

(二) 觸角鞭節形態 (長度、感覺毛密度)

從圖二十五的觸角鞭節電顯圖可以看出，台灣斧螳的觸角形態在雌雄及是否

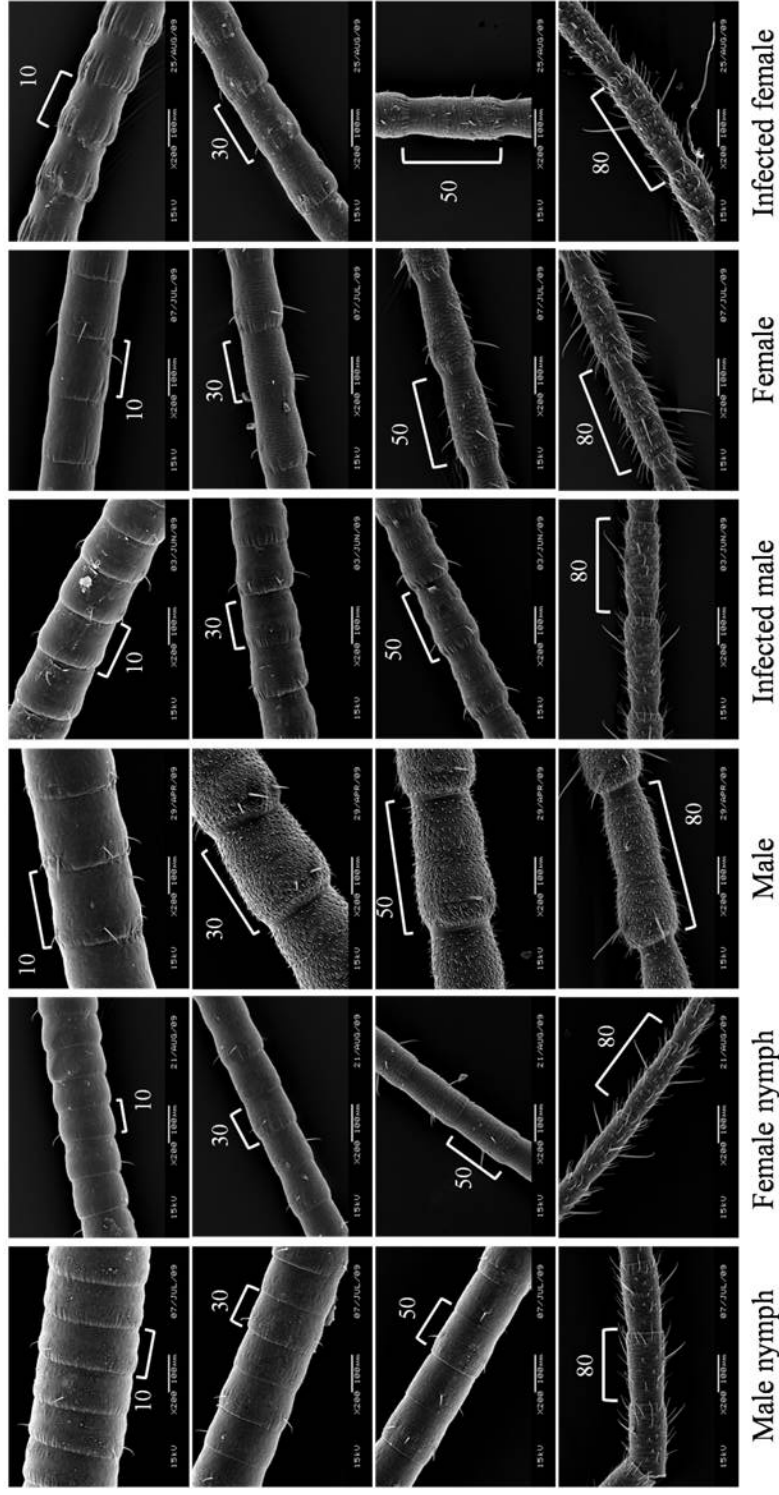
感染的個體之間均有明顯差異。以長度來說，所測量的各節鞭節長度 NM 顯著大於 IM、NF 及 IF，這三組之間則沒顯著差異。若跟翅長一樣比較鞭節長度及前胸背板和體長的比值，則在和體長的比值上，結果大致相同，僅第 10 節鞭節及第 100 節鞭節 IM 雖然平均小於 NM 但在統計上沒有顯著差異。但在觸角長和前胸背板長的比值中，僅第 30、40、50 節的結果和前述相同之外，第 10、60、70、80、90、100 節的比值除了 NM 顯著大於其他三組之外，IM 也顯著大於 NF 及 IF，第 20 節則比值由大到小為 NM、IM、IF 及 NF。其中 IM 及 NF 之間沒有顯著差異，詳細的資料如附錄四。

兩種感覺毛的密度如圖二十六，詳細資料如附錄四。第 10 節四組樣本平均感覺毛密度均為 0，除了此節之外，grooved basiconic sensilla 的平均密度不論在哪一節均以 NM 為最高，而除了第 70 及第 90 節 IM 明顯高於 IF 之外，其餘的節數 IM、NF 及 IF 之間均沒有顯著差異。在 small trichoid sensilla 的密度比較中，除了第 30 節之外 IM 顯著高於 NF 及 IF 外，前 50 節的密度不論性別及感染狀況均差不多。但從第 60 節開始，NF 及 IF 的感覺毛密度均顯著大於 NM，IM 的密度則介於之間。而從圖二十五中便可以些許看出，未受感染的雄蟲從大約第 17 節鞭節開始，便能在表面觀察到感覺毛，但 IM、NF 及 IF 一直到 40 節表面還沒有感覺毛。從統計數據上看來，在 NM 中，鞭節單位面積 ($50 \times 50 \mu\text{m}^2$) 中的 small trichoid sensilla 及 grooved basiconic sensilla 數目總和密度大於 1 的節次平均為第 16.77 ± 0.73 節 ($n = 13$)，顯著小於 IM 的 44.92 ± 14.46 節 ($n = 12$)、NF 的 46.64 ± 5.55 節 ($n = 11$) 及 IF 的 48.00 ± 3.49 節 ($n = 10$)，後三者之間則無顯著差異 (圖二十七)。

而藉由上述資料，在常態分布的假設之下，雄台灣斧螳 (NM) 的觸角感覺毛開始生長的鞭節節次 (單位面積密度大於 1 的節次) 約介於第 14 到 19 節之間 ($\text{mean} \pm 3 \text{SD}$ ，涵蓋 99.6% 可能性)，雌蟲 (NF) 則介於第 29 節到 64 節之間。所有測量的樣本值均在這兩個範圍內，其中 NF 及 IF 的值全落在第 29

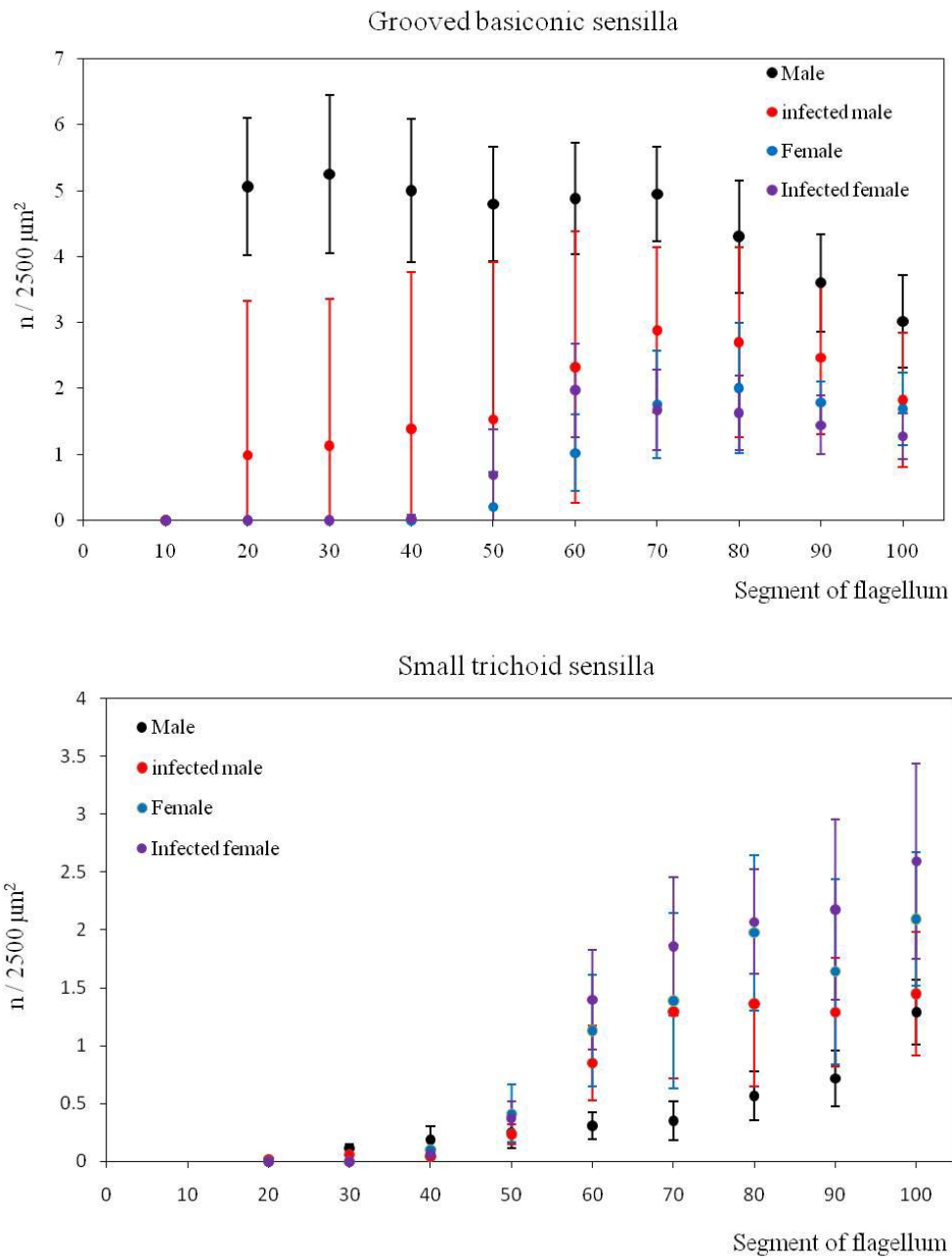
節到 64 節之間，NM 全落在第 14 到 19 節之間，但在 IM 的 12 個樣本中，10 個落在第 29 節到 64 節之間，2 個落在第 14 到 19 節之間（分別為 16 及 17 節）。兩隻若蟲個體則分別為第 70 節（雄蟲）及第 52 節（雌蟲），雄若蟲的節次大於落在 NF 的 $\text{mean} \pm 3 \text{SD}$ 範圍之外，雌若蟲則在範圍之中。而在台北市立動物園中的調查過程中，也發現類似的現象。從水池裡打撈起的一隻寬腹螳螂屍體，其感覺毛開始生長的鞭節節次為第 43 節（圖二十八 B），而室內飼養的個體則為第 26 節（圖二十八 A），中間差異達到 17 節。





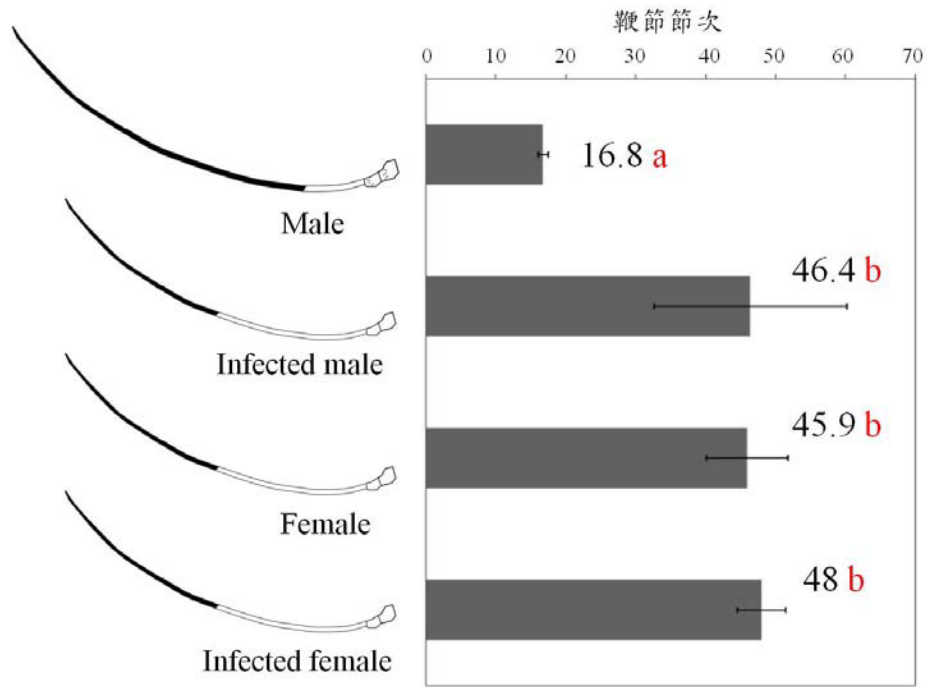
圖二十五、台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 雄若蟲、雌若蟲、雄成蟲、受鐵線蟲感染的雄成蟲、雌成蟲及受鐵線蟲感染的雌成蟲的觸角鞭節。圖中的數字為自基部算起的鞭節節次。

Fig. 25. Antennal flagella on male nymph, female nymph, male adult, infected male adult, female adult, and infected female adult of mantids (*Hierodula formosana*).



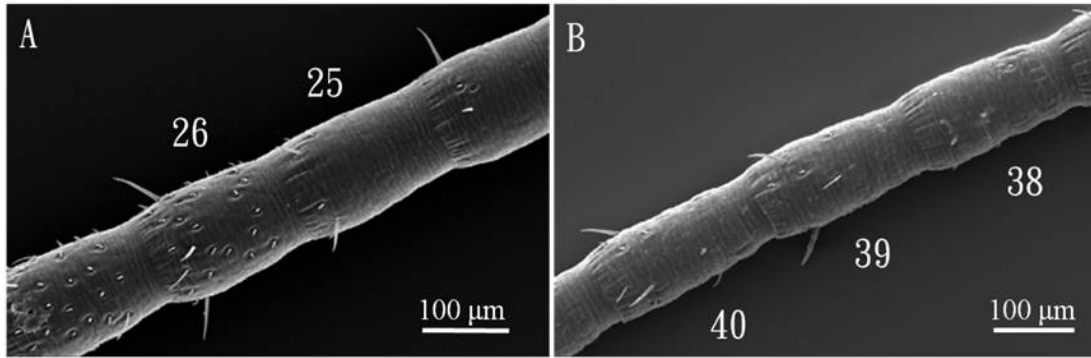
圖二十六、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 在觸角鞭節感覺毛密度的比較 (a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$)。

Fig. 26. Comparison of sensillum densities on the antennal flagella of mantids (*Hierodula formosana*) under different sexes and infection statuses. (a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$).



圖二十七、不同性別及感染狀況的台灣斧螳 (*Hierodula formosana*) 在觸角鞭節感覺毛開始生長的鞭節節次 (a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$)。

Fig. 27. Comparison of the segment of the antennal flagellum which sensilla first occur on mantids (*Hierodula formosana*) under different sexes and infection statuses.



圖二十八、室內飼養的寬腹螳螂 (*Hierodula patellifera*) (A) 和台北市立動物園水中的螳螂屍體 (B) 觸角比較。圖上的數字為觸角鞭節節次，水中的螳螂觸角感覺毛量明顯少於飼養個體，可能是鐵線蟲感染的結果。

Fig. 28. Comparison of antennae on rearing mantid (*Hierodula patellifera*) (A) and the mantid collected in the water from Taipei Zoo (B). Numbers on the pictures indicate the segment of the antennae. The number of the sensilla in (B) is fewer than in (A). This is likely caused by infection of horsehair worms.

伍、討論

一、台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 形態

台灣索鐵線蟲為目前尚未發表的鐵線蟲新種，寄主為台灣斧螳及寬腹螳螂，其中寬腹螳螂的檢查樣本數量較少，因此雖然認為其體內的鐵線蟲和台灣斧螳體內的屬於同一種，但仍希望藉由更多的樣本做確認。除了這兩種螳螂之外，筆者曾經於 7 月 在台北市立動物園發現死亡的日本姬螳 (*Acromantis japonica*) 雌蟲身邊有活體鐵線蟲，且該鐵線蟲體型較當月同種體型小許多，因此不排除日本姬螳也為鐵線蟲的寄主之一，但因沒有直接證據而對此做保留。

鐵線蟲的形態分類以雄成蟲為主，主要的分類特徵為表皮突起及附屬物。但這些附屬物容易在和環境摩擦的過程中受破壞，這種情形特別容易出現在游離成蟲中。但因採集不易，因此許多鐵線蟲的分類描述均忽略種內的個體差異，造成描述及鑑定上的困難，加上分子序列資料不足，給分類帶來更多的難題。也因此本文中的鐵線蟲描述均以多個個體作為參考，並配合分子的證據，希望能盡量確認種內的形態差異。目前我較為確定的種內形態變異出現在台灣索鐵線蟲的頭及尾部的附屬物上。

頭部是台灣索鐵線蟲附屬物較複雜的部位。複雜的纖毛構造可能源自於頭部是環境偵測的重要部位，類似的情形也發生在尾部，可能主導雄蟲交配時對雌蟲的辨識。許多的研究認為索鐵線蟲屬的種類頭部末端光滑 (de Villalobos and Zanca, 2001)，但這可能起因於頭部容易和環境摩擦的結果。環境破壞的現象在飼養一段時間的鐵線蟲身上特別容易發現，頭部特徵的破壞又比其他部位更為明顯，因此頭部特徵雖然變異大但在分類上的應用有仍有他的限制性存在。除了環境的破壞之外，少部分的個體中我也發現頭部附屬物整個「平攤」的現象 (圖七 B)。我發現的 2 個頭部附屬物「平攤」的個體在採集時均未被水誘出寄主，在解剖時才被發現，身上也還帶有幼蟲未完全脫下的表皮 (圖七 A)。因此這 2 個個體的頭部附屬物可能因剛蛻皮而尚未完全伸展，而呈現出平攤的

狀況。這類種內多樣性的例子在鐵線蟲的形態描述中未曾被報導，但因差異明顯很容易被當成分類特徵。

另一個種內的形態變異出現在台灣索鐵線蟲尾部兩側的剛毛叢。大多數個體剛毛叢中的剛毛中混雜著末端分成 2 到多個分岔的剛毛 (圖七 E)。但部分的個體這個部位僅出現粗且短的突起 (圖七 E)，部分則全為不分岔的細剛毛 (圖七 F)。這個特徵在外觀上並無觀察到受到環境破壞的痕跡，因此很有可能源自於遺傳上的變異。不論是來自遺傳或環境，這些變異在少數的樣本檢查中容易被當成種間的分類特徵，因此縱使是已發表的種類也是如此，因此在鐵線蟲未來的分類中，分子的證據應當會越來越被受到重視。

二、鐵線蟲保幼寄主種類及季節感染頻率

目前已確定野外受鐵線蟲感染的保幼寄主成蟲包括寶島缺叉石蛾和一種搖蚊科成蟲，幼蟲則為搖蚊 (*Chironomus* sp.)。雖然部分所檢查的搖蚊成蟲及幼蟲未證實感染，但因樣本少，因此仍然不排除有感染的可能性，特別是 *Chironomus* sp. 的幼蟲已證實感染的現象，成蟲很可能也帶有鐵線蟲包囊，唯搖蚊幼蟲在感染數量最高峰的 8 月感染率也僅 9.0%，加上成蟲藉由攝食感染鐵線蟲的機率低，造成 *Chironomus* sp. 的成蟲感染率可能會更低，也因此需要更多的樣本來檢測感染的狀況。成蟲所檢測出的感染訊號是鐵線蟲藉由水生昆蟲羽化而上岸間接的證據。

Gariepy *et al.* (2007) 認為分子檢測的結果無法排除受免疫系統攻擊的寄生蟲感染訊號，意即寄主出現的感染訊號可能源自於體內已死亡的寄生蟲。在幼蟲解剖的試驗中已觀察到此現象，除了因不同程度的免疫攻擊造成蟲體呈現淡至深褐色之外，其中 1 隻寄主體內的鐵線蟲也因外觀不完整，很可能已經死亡 (圖二十一)。免疫系統的攻擊現象也可能造成搖蚊體內被發現鐵線蟲脫下的外殼 (圖二十一)。這現象最早在 1960 年被 Inoue 所提出，當時他發現鐵線蟲在蜉蝣及搖蚊體內呈現不同形式的胞囊，分別稱為 *Cloëon-type* (多層細胞及黏液

結構) 及 *Chironomus-type* (幾丁質外殼), 並在接下來的研究中發現 *Chironomus-type* 的胞囊及幾丁質外殼出現在螳螂的排泄物中, 因此便認為這層構造限制住鐵線蟲的攝食及感染, 並可能造成搖蚊體內鐵線蟲相對低的感染率 (Inoue, 1962)。Hanelt and Janovy (2004a) 將這個現象視為是昆蟲體內免疫造成的結果。而我在這個殘留的外殼附近找到完整的鐵線蟲幼蟲, 加上我的室內飼養結果 (圖二十二) 及 Inoue (1962) 均發現鐵線蟲幼蟲從外殼脫出的現象, 這種行為可能是鐵線蟲藉由機械力對抗寄主免疫的行為。

而縱使寄主的免疫系統攻擊鐵線蟲並有機會造成感染力的喪失, 搖蚊及石蛾在羽化之前必須經歷一段蛹期, 這段時間寄主停止攝食而阻斷受鐵線蟲幼蟲感染的機會, 因此大多死亡的鐵線蟲在搖蚊體內應被吸收殆盡, 加上石蛾的鏡檢中鐵線蟲幼蟲外觀完整, 因此羽化寄主體內檢測到的鐵線蟲應仍有機會具感染能力, 但這點要直接證實仍得依靠飼養試驗。

鐵線蟲的感染率隨季節波動, 雖然因樣本數低的關係使感染率的估計誤差大, 但幼蟲感染訊號的出現大約符合鐵線蟲成蟲的發生季節。根據先前的調查 (邱及吳, 2008) 及採集紀錄, 鐵線蟲成蟲的活動介於 6 月底至 8 月初, 並在 7 月達到高峰。鐵線蟲成蟲在水中產卵之後約過一個月 (Zanca *et al.*, 2007), 卵孵化成幼蟲並具有感染能力 (Hanelt and Janovy, 2004b), 因此水中鐵線蟲幼蟲的數量理論上高峰期在 8 月。從搖蚊 (*Chironomus* sp.) 幼蟲的調查中可以發現, 搖蚊幼蟲的出沒高峰期約在 8 月, 此時也是受鐵線蟲感染個數最多的時段, 剛好符合預期的結果。寶島缺叉石蛾的感染則集中在 8、9 兩個月, 這一樣符合鐵線蟲成蟲活動的時間。而石蛾成蟲感染的狀況一直延遲到 9 月底, 相較於搖蚊幼蟲在 9 月及 10 月共 33 個樣本中均無發現感染的訊號, 可能的原因為寄主幼蟲在感染當下即可被檢測到, 但成蟲必須在鐵線蟲感染後在經過一段時間的發育、羽化才能被檢測, 因此在時間上應會有向後延遲的現象。另外, 寶島缺叉石蛾 7 月的 140 個樣本檢測中完全沒有鐵線蟲的感染訊號, 說明在 5-6

月之中，鐵線蟲的活動處於低點，直到大約 7 月才爆發。這些感染的狀況大約吻合我之前的調查。

在搖蚊幼蟲的感染狀況中 (圖十九)，鐵線蟲的感染訊號除了 8 月之外，11、12 月及 2、5 月均出現感染訊號，但除了 2 月之外，受感染的寄主數量並不多。鐵線蟲幼蟲能藉由幼體轉移而存在於不同寄主中 (Hanelt and Janovy, 2004a)，加上在形成胞囊後，感染力能維持近半年，因此水生昆蟲零星感染的機會是存在的，但仍然不能忽略寄主感染訊號所顯示出鐵線蟲成蟲在其他時段發生的機會。成蟲的採集及飼養中已確定台灣索鐵線蟲成蟲除了 6 月底至 8 月初之外，尚有其他發生時段。較為明顯的是 1 月底至 2 月初野外共有 2 筆採集紀錄，室內飼養時也在 2 月台灣斧螿 7 及 9 齡若蟲體內發現鐵線蟲成蟲，這些資料都顯示出鐵線蟲在台灣冬季活動的狀況。2009 年 2 月 8 日至 15 日之間 90 個樣本中 5 個感染的例子也是鐵線蟲冬季活動的間接證據。但 2010 年 2 月的月均溫及最低溫均較 2009 年低 (月均溫 17.6 及 20.2 °C，最低溫 9.7 及 14.6 °C)，可能因此造成搖蚊幼蟲活動下降，因此圖十九的季節波動無法顯示出鐵線蟲 2 月活動的現象。5 月的感染現象也可能是鐵線蟲冬季鐵線蟲活動的結果。Zanca *et al.* (2007) 在室內飼養中證實鐵線蟲卵 (*C. nobilii*) 在低溫狀態下發育時間拉長的現象。因此鐵線蟲成蟲在冬季將卵產下後在水生生物中偵測到感染訊號的時間可能會延長而造成成蟲出現後幾個月仍然在寄主中檢測到幼蟲感染的現象。11、12 月的感染狀況則較為特殊，這 2 個月搖蚊 *Chironomus sp.* 的活動低，僅採集到 10 個樣本，但之中就有 3 個樣本受到感染。除了可能是 6、7、8 月鐵線蟲大量從台灣斧螿體內鑽出後，幼蟲在寄主中停留至秋末之外，根據採集紀錄，9、10 月在寬腹螿螂體內均採集到成熟的鐵線蟲，加上 11 月底在水中發現的 1 隻可能受到感染的寬腹螿螂雄蟲 (判定感染的原因將在下節討論)，都可能是造成保幼寄主出現感染訊號的原因。

在上述的討論之中，在搖蚊幼蟲的感染調查中，*Chironomus sp.* 不同的季

節感染變動大致上能藉由鐵線蟲的成蟲出現時間來做解釋，但因鐵線蟲在保幼寄主中感染率低，因此時常遇到樣本數太小的問題。這個問題在寶島缺叉石蛾成蟲的調查中更為明顯。該種石蛾雖然在大發生時期的 7 月樣本數量多，但過了這段時間，特別是在冬天，數量極速下降，因此目前寶島缺叉石蛾的感染狀況僅反映出夏季鐵線蟲成蟲的活動。也因各種昆蟲各有不同的活動時段，因此單一寄主的調查大多時候難以反應鐵線蟲真正的活動時間，且不同寄主之間也可能因此造成感染率的差異。在目前為數不多的鐵線蟲保幼寄主感染率報告中，不同寄主中的確存在大幅度的差異。如龍 (1999) 在解剖 5 月採集到的 300 隻兼長角紋石蛾 (*Amphipsyche proluta*) 後僅發現 2 個感染的例子，但根據 Winterbourn (2005) 的調查，12-3 月的石蠅 (*Spaniocerca zelandica* 及 *Cristaperla fimbria*) 樣本感染率卻能達 90% (27/30)。這種差異除了種類及地點不同之外，也可能因鐵線蟲活動的季節波動所造成。而這些差異使得在推測鐵線蟲從水中進入最終寄主體內的時間及途徑變的更為複雜及廣泛。

保幼寄主的感染狀況除了顯示鐵線蟲的活動時間之外，也能從此推論鐵線蟲從水中上岸及進入最終寄主的時間。台灣斧螳成蟲大發生於 6 至 8 月，大約在 8 月底第二代若蟲孵化 (邱及吳，2008)。剛孵化的台灣斧螳體型小，因此能捕食的獵物體型也小。目前已確定的保幼寄主成蟲包含搖蚊及寶島缺叉石蛾均屬於體型較小的昆蟲，雖然未實際在野外觀察到螳螂攝食的現象，但理論上均為螳螂孵化後的潛在的獵物。不過根據圖二十三的寶島缺叉石蛾族群變動及感染率可以看出，鐵線蟲的感染出現在石蛾成蟲活動高峰期之後，因此感染率雖高，實際的帶原寄主數量可能不多，但鐵線蟲保幼寄主範圍廣泛，因此在感染高峰期仍有許多其他的昆蟲可將鐵線蟲帶進螳螂體內。但藉由保幼寄主感染季節的推斷，螳螂在野外可能受到感染的機會在一年之中應有春 (2-5 月) 秋 (8-12 月) 兩段時間，分別代表 2 個世代的鐵線蟲，能合理解釋台灣斧螳在 9 至 11 月及 4 至 8 月之間體內鐵線蟲感染率的上升 (邱及吳，2008)。

三、台灣索鐵線蟲對台灣斧螳形態的影響

本次的試驗中，針對前後翅長、前胸背板長、體長及觸角形態進行比較。從前後翅的比較中可以發現鐵線蟲的感染造成台灣斧螳雄蟲翅長縮短的現象，類似的情形也出現在螳螂 *Tarachodella monticola* 和 鐵線蟲 *Gordius* sp. 的野外調查報告中 (Roy, 2003)。*T. monticola* 的雌成蟲翅膀退化，前後翅長均不及腹部長度的一半；雄成蟲則前後翅末端均超過腹部。因此受鐵線蟲感染而造成翅長縮短在當時被 Roy 視為間性的現象。而台灣斧螳的雄蟲翅長和 *T. monticola* 有類似的情況，不論在絕對長度或和全長的比例上均較雌蟲長。但受感染後雌雄成蟲翅長均縮短，僅縮短的程度不如雄蟲明顯，加上翅長縮短的現象在和鐵線蟲親緣關係接近的索線蟲的寄主身上也有發現 (Kaoru, 1956)，因此這個現象可能是線蟲及鐵線蟲感染寄主造成的普遍影響，和性別關連性不大。而翅長和體長及前胸背板長的比值和絕對長度的比較有一樣的結果，顯示出翅長縮短的趨勢並非為蟲體因感染而縮小的結果。

在前胸背板及體長的比較上，這兩個部位在受感染的雄蟲個體中均較短，但前胸背板長和體長的比值中，無論是雌蟲或雄蟲，感染與未受感染的個體比值沒有顯著差異。因此受感染雄蟲前胸背板長縮短的現象應源自於蟲體縮小的結果。

觸角在感染後的變化在所有的特徵中最為明顯。雄蟲觸角長度不論是絕對長度或和體長及前胸背板的比值在受感染後明顯縮短，雌蟲則差異不大。在感覺毛方面，未受感染的雄蟲觸角鞭節在第 16 到 18 節就開始出現感覺毛 (單位面積內感覺毛大於 1 的節次)，雌蟲則平均在 46 節左右。因此在形態上雌雄蟲的感覺毛明顯分成兩類，且雄蟲感覺毛密度高於雌蟲，類似觸角雌雄二型的現象也出現在三種大刀螳屬 (*Tenodera angustipennis*, *T. aridifolia*, and *T. australasiae*) 的螳螂中 (Slifer, 1968)。受鐵線蟲感染的雄蟲感覺毛出現的平均起始節次小於正常雄蟲，且和雌蟲沒有差異。且在 12 個樣本中，9 個樣本的

感覺毛起始節數介於第 35 至 57 節之間，趨近正常雌蟲觸角的形態，但有 2 個樣本分別為第 16 及 17 節，趨近正常雄蟲觸角的形態，這可能是鐵線蟲在螳螂羽化後才侵入，因此不會造成形態的影響。類似的情形可能也出現在鐵線蟲與寬腹螳螂的寄生關係中。在台北市立動物園中的調查過程中，曾從水池裡打撈起的寬腹螳螂屍體，其觸角感覺毛的數量也少於室內飼養的個體，因此類似的影響可能也存在鐵線蟲與寬腹螳螂的寄生關係中，但目前的樣本數量少，尚不足以做統計的比較。

鐵線蟲的感染不僅是造成雄成蟲觸角鞭節感覺毛出現的起始節數上升，也使觸角偏向另一個形態，也就是雌蟲觸角。這個現象也符合前述間性的定義，且和翅長縮短不同的是，觸角縮短及感覺毛量下降的現象僅出現在受感染的雄蟲中。不過僅這些證據仍不足以說明鐵線蟲引發的觸角形態改變是源自於對寄主性腺發育的干擾。若將成蟲的觸角和終齡若蟲的觸角鞭節比較，兩隻終齡若蟲的觸角感覺毛開始分布的節次均超過 50 節。雄成蟲觸角的感覺毛應在成蟲時才大量發育，因此寄生蟲感染可能造成雄蟲觸角維持在幼態，但目前若蟲的感覺毛資料上不足，這些假設必須經由成、若蟲觸角特徵的比較來驗證。

雖然科學家已知鐵線蟲能造成寄主的形態改變，但這是第一次發現感覺器官的變化，特別是 grooved basiconic sensilla 數量明顯的下降。grooved basiconic sensilla 的功能尚未證實，僅 Hurd *et al.* (2004) 藉由形態推測 grooved basiconic sensilla 可能主導螳螂的費洛蒙接收。雌螳螂釋放費洛蒙吸引雄蟲的行為在 1979 年首次在螳螂 (*Acanthops falcate*) 被證實 (Robinson and Robinson, 1979)，在接下來的野外試驗中，*Stagmomantis limbata*、*T. aridifolia sinensis* (Maxwell *et al.*, 2010)，及和台灣斧螳在親緣關係及生態都很接近的寬腹螳螂 (Perez, 2005) 都被證實有這個現象。不過在 Robinson and Robinson (1979) 實際發現雄蟲受吸引的現象之前，Slifer (1968) 就根據雌雄感覺毛量的差異，推測雄螳螂可能接收雌性費洛蒙的行為。因此鐵線蟲引起感覺毛下降很可能造

成受感染的雄螳螂不會受到雌蟲的吸引，藉此減少雄螳螂因交配而遭受獵食 (sexual cannibalism) 的現象，也減少寄生蟲因寄主死亡而無法回到水中繁殖。但雖然觸角感覺毛被認為跟性費洛蒙的接收相關，可惜直到現在，未有直接試驗證實螳螂觸角接收費洛蒙之間的功能，因此鐵線蟲對寄主造成的行為影響還必須藉由電生理的試驗做進一步的探討。



陸、結論

一、 台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.)

台灣索鐵線蟲 (*Chordodes formosanus* n. sp.) 普遍感染台灣斧螳(*Hierodula formosana*) 及寬腹螳螂 (*H. patellifera*)。本文首次以成蟲形態為基礎確定台灣索鐵線蟲的分類地位，雖新種未正式發表，但藉由檢查 27 個樣本得到的資訊，6 種表皮突起，包括簡單突起 (simple areole, type 1)、莖狀突起 (tubercle areole, type 2)、刺狀突起 (thorn areole, type 3)、三種冠狀突起 (crowned areole, type 4-6)，腹面表皮的縱向色素帶，雌雄尾部結構及二形性，和幼蟲外形及 Y 形的 pseudointestine，均能作為種類鑑定的依據。不同樣本之間的形態變異，也在粒線體 COI 基因序列分析的輔助下，除了證明檢查的標本屬於同一種鐵線蟲之外，也描述了台灣索鐵線蟲不同個體之間形態的變異，這些變異包含較少被描述的頭部構造及雄蟲尾部附屬物形態。

二、 野外保幼寄主調查

目前已確定在台北市立動物園中搖蚊 (*Chironomus* sp.) 幼蟲，寶島缺叉石蛾成蟲 (*Chimarra formosana*) 及一未知種搖蚊成蟲 (*Chironomidae*) 受到鐵線蟲感染。證實鐵線蟲藉由水生昆蟲從水域環境登陸的假說。鐵線蟲幼蟲入侵搖蚊幼蟲後停留在體內各處，包括腸壁、軀幹、尾足、肛管，及腹管。部分個體受到免疫系統攻擊，但在飼養過程中也觀察到鐵線蟲從免疫作用形成的外殼中脫出的現象。在全年的調查中，寶島缺叉石蛾成蟲在鐵線蟲大發生後一個月 (8-9 月) 被檢測出鐵線蟲的感染。但在 6-7 月的樣本中沒有偵測到感染的個體。

三、 台灣斧螳形態影響

受台灣索鐵線蟲感染的個體雌雄蟲翅長均縮短。而台灣斧螳雄蟲翅長明顯長於雌蟲，因此翅長縮短的現象曾被認為是寄生蟲引發間性的現象，但這實際

上是鐵線蟲普遍造成的影響。除了翅長之外，受感染雄成蟲前胸背板縮短，體長也縮小，而在前胸背板及體長的比例上正常雄蟲及受感染雄蟲沒有差異，因此前胸背板的縮短來自於體型縮小而非如同翅長一般縮短。在觸角形態方面，雄蟲觸角變短且鞭節感覺毛密度下降。而觸角鞭節感覺毛密度下降的現象也出現在野外一隻落水的寬腹螳螂雄成蟲身上。台灣斧螳終齡若蟲的觀察中發現，雄蟲觸角鞭節感覺毛在若蟲期尚未發育，該特徵的發育受到鐵線蟲感染而抑制，因此造成成蟲出現兩種不同的形態。但螳螂雌成蟲觸角感覺毛形態和若蟲差異不明顯，受鐵線蟲感染的個體在感覺毛的密度上和正常個體也就沒有明顯的差別。

本文對鐵線蟲的研究分成獨立的三個部分，其目的均在建立鐵線蟲的生態資料。文章中提到的許多現象以目前的資料尚難以做深入的討論，卻是日後深入研究的根基。鐵線蟲生活史經歷多個寄主，且和不同寄主之間的交互作用均不盡相同。目前科學家已經發現鐵線蟲多種獨特的行為及對寄主的影響，但卻時常因基礎資料不足而難以深入研究。因此本文希望能作為未來台灣鐵線蟲研究的參考，讓這些資訊支持更深入的研究或是帶給寄生關係新的觀點。

柒、參考文獻

- 任淑仙。1995。無脊椎動物學下冊。淑馨出版社，台北市。376 頁。
- 何學元。1995。尿道排出鐵線蟲一例報告。中國寄生蟲學與寄生蟲病雜誌 **13**：199。
- 邱名鍾、吳文哲。2008。臺北市立動物園螳螂目 (Mantodea) 及其寄生性鐵線蟲 (Nematomorpha) 調查。動物園學報 **20**：25-34。
- 周偉瑜。2004。台灣螳螂目之分類。東海大學生物學系 46 屆學士論文：202-243。
- 龍建國。1999。鐵線蟲與石蛾、螳螂之間的寄生關係。長沙電力學院學報 (自然科學版) **14**：171-172。(英文摘要)
- Aguinaldo, A. M., J. M. Turbeville, L. S. Linford, M. C. Rivera, J. R. Garey, R. A. Raff, and J. A. Lake. 1997. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature* **387**: 489-493.
- Biron, D. G., F. Ponton, C. Joly, A. Menigoz, B. Hanelt, and F. Thomas. 2005. Water-seeking behavior in insects harboring hairworms: should the host collaborate? *Behavioral Ecology* **16**: 656-660.
- Biron, D. G., F. Ponton, L. Marche, N. Galeotti, L. Renault, E. Demey-Thomas, J. Poncet, S. P. Brown, P. Jouin, and F. Thomas. 2006. 'Suicide' of crickets harbouring hairworms: a proteomics investigation. *Insect Molecular Biology* **15**: 731-742.
- Bleidorn, C., A. Schmidt-Rhaesa, and J. R. Carey. 2002. Systematic relationships of Nematomorpha based on molecular and morphological data. *Invertebrate Biology* **121**: 351-364.
- Bohall, P. J., M. R. Wells, and C. M. Chandler. 1997. External morphology of larvae of *Chordodes morgani* (Nematomorpha). *Invertebrate Biology* **116**: 26-29.
- Brown, S. P., F. Renaud, J. F. Guégan, and F. Thomas. 2001. Evolution of trophic

- transmission in parasites: the need to reach a mating place? *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 815-820.
- Capinera, J. L. 1999 (2005 revised). Horsehair worms, hairworms, Gordian worms, nematomorphs, *Gordius* spp. (Nematomorpha: Gordioidea). University of Florida, IFAS Extension, EENY117. 2 pp. (<http://edis.ifas.ufl.edu/IN274>)
- Chandler, C. M., and M. R. Wells. 1989. Cuticular features of *Chordodes morgani* (Nematomorpha) using scanning electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society* **108**: 152-158.
- Chitwood, B. G., and M. B. Chitwood. 1950. *Nematology*. Monumental Printing Company, Baltimore. 213 pp.
- Choisy, M., S. P. Brown, K. D. Lafferty, and F. Thomas. 2003. Evolution of trophic transmission in parasites: why add intermediate hosts? *The American Naturalist* **162**: 172-181.
- Combes, C. 1991. Ethological aspects of parasite transmission. *The American Naturalist* **138**: 866-880.
- Cort, W. W. 1915. *Gordius* larvae parasitic in a trematode. *The Journal of Parasitology* **1**: 198-199.
- De Villalobos, C., and F. Zanca. 2001. Scanning electron microscopy and intraspecific variation of *Chordodes festae* Camerano, 1897 and *C. peraccae* (Camerano, 1894) (Nematomorpha: Gordioidea). *Systematic Parasitology* **50**: 117-125.
- De Villalobos, C., F. Zanca, and A. Schmidt-Rhaesa. 2007. Revision of the genus *Chordodes* (Gordiida, Nematomorpha) from Africa-III: Ultrastructural redescription of *Chordodes capensis* Camerano, 1895, *C. clavatus* Linstow, 1906, *C. digitatus* Linstow, 1901, *C. tuberculatus* Linstow, 1901, and reinterpretation of *C. ibembensis* Sciacchitano, 1958 and *C. uncinatus*

- Sciacchitano, 1958. *Journal of Natural History* **41**: 2775-2788.
- De Villalobos, C., F. Zanca, and A. Schmidt-Rhaesa. 2009. Revision of the genus *Chordodes* (Gordiida: Nematomorpha) from Africa IV. Ultrastructural redescription of *Chordodes congolensis* Sciacchitano, 1933, *Chordodes ferox* Camerano, 1897, *Chordodes madagascariensis* (Camerano, 1893), *Chordodes mobensis* Sciacchitano, 1958 and reinterpretation of *Chordodes maculatus* Sciacchitano, 1958 and *Chordodes kakandensis* Sciacchitano, 1958. *Journal of Natural History* **43**: 2579-2595.
- Folmer, M. B., W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **3**: 294-299.
- Gariepy, T. D., U. Kuhlmann, C. Gillott, and M. Erlandson. 2007. Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods. *Journal of Applied Entomology* **131**: 225-240.
- Hanelt, B. 2009. Hyperparasitism by *Paragordius varius* (Nematomorpha: Gordiida) larva of *Monostome redia* (Trematoda: Digenea). *Journal of Parasitology* **95**: 242-243.
- Hanelt, B., and J. Janovy, Jr. 2002. Morphometric analysis of non-adult characters of common species of American gordiids (Nematomorpha: Gordioidae). *Journal of Parasitology* **88**: 557-562.
- Hanelt, B., and J. Janovy, Jr. 2003. Spanning the gap: Experimental determination of paratenic host specificity of horsehair worms (Nematomorpha: Gordiida). *Invertebrate Biology* **122**: 12-18.
- Hanelt, B., and J. Janovy, Jr. 2004a. Life cycle and paratenesis of American gordiids (Nematomorpha: Gordiida). *Journal of Parasitology* **90**: 240-244.

- Hanelt, B., and J. Janovy, Jr. 2004b. Untying a Gordian knot: the domestication and laboratory maintenance of a Gordian worm, *Paragordius varius* (Nematomorpha: Gordiida). *Journal of Natural History* **38**: 939-950.
- Hanelt, B., L. E. Grother, and J. Janovy, Jr. 2001. Physid snails as sentinels of freshwater nematomorphs. *Journal of Parasitology* **87**: 1049-1053.
- Hanelt, B., F. Thomas, and A. Schmidt-Rhaesa. 2005. Biology of the phylum Nematomorpha. *Advances in Parasitology* **59**: 243-305.
- Hurd, L. E., F. R. Prete, T. H. Jones, T. B. Singh, J. Co, and R. T. Portman. 2004. First identification of a putative sex pheromone in a praying mantid. *Journal of Chemical Ecology* **30**: 155-166.
- Inoue, I. 1962. Studies on the life history of *Chordodes japonensis*, a species of Gordiacea III. The mode of infection. *Annotationes Zoologicae Japonenses* **35**: 12-19.
- Jensen, K. H., T. J. Little, A. Skorping, and D. Ebert. 2006. Empirical support for optimal virulence in a castrating parasite. *PLoS Biology* **4**: e197. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040197
- Kaoru, S. 1956. Effects of the parasitism by a nematode on a grasshopper, *Oxya japonica*: I. Effects of the parasitism on wing length, pronotal length and genitalia. *Doubutsugaku Zasshi* **65**: 382-385.
- Kokkinn, M. J., and W. D. Williams. 1989. An experimental study of phototactic responses of *Tanytarsus barbitarsis* Freeman (Diptera: Chironomidae). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **40**: 693-702.
- Maeyama, T., M. Terayama, and T. Matsumoto. 1994. The abnormal behavior of *Colobopsis* sp. (Hymenoptera: Formicidae) parasitized by *Mermis* (Nematoda) in Papua New Guinea. *Sociobiology* **24**: 115-120.
- Maxwell, M. R., K. L. Barry, and P. M. Johns. 2010. Examinations of female

- pheromone use in two praying mantids, *Stagmomantis limbata* and *Tenodera aridifolia sinensis* (Mantodea: Mantidae). *Annals of the Entomological Society of America* **103**: 120-127.
- McKeever, S., D. S. Brickle, and D. V. Hagan. 1997. Mouthparts, antennae and genitalia of intersex *Culicoides stellifer* parasitized by mermithid nematodes. *Medical and Veterinary Entomology* **11**: 217-222.
- Müller, K. 1982. The colonization cycle of freshwater insects. *Oecologia* **52**: 202-207.
- Perez, B. 2005. Calling behaviour in the female praying mantis, *Hierodula patellifera*. *Physiological Entomology* **30**: 42-47.
- Petrov, N. B., and N. S. Vladychenskaya. 2005. Phylogeny of molting protostomes (Ecdysozoa) as inferred from 18S and 28S rRNA gene sequences. *Molecular Biology* **39**: 503-513.
- Poinar, G. Jr., and R. Buckley. 2006. Nematode (Nematoda: Mermithidae) and hairworm (Nematomorpha: Chordodidae) parasites in early Cretaceous amber. *Journal of Invertebrate Pathology* **93**: 36-41.
- Ponton, F., C. Lebarbenchon, T. Lefèvre, D. G. Biron, D. Duneau, D. P. Hughes, and F. Thomas. 2006. Parasite survives predation on its host. *Nature* **440**: 756.
- Poulin, R. 1995. "Adaptive" changes in the behaviour of parasitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology* **25**: 1371-1383.
- Poulin, R. 2000. Manipulation of host behaviour by parasites: a weakening paradigm? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **267**: 787-792.
- Poulin, R., and A. D. M. Latham. 2002. Parasitism and the burrowing depth of the beach hopper *Talorchestia quoyana* (Amphipoda: Talitridae). *Animal Behaviour* **63**: 269-275.
- Rempel, J. G. 1940. Intersexuality in Chironomidae induced by nematode parasitism.

- Journal of Experimental Zoology **84**: 261-289.
- Robinson, M. H., and B. Robinson. 1979. By dawn's early light: matutinal mating and sex attractants in a neotropical mantid. *Science* **205**: 825-827.
- Rowell, C. H. F. 2000. Presumptive mermithid-induced intersex individuals in the Neotropical grasshopper genus *Drymphilacris* Descamps 1976. *Journal of Orthoptera Research* **9**: 31-35.
- Roy, R. 2003. Répartition, biologie et variabilité de *Tarachodella monticola* Giglio-Tos, 1917 (Dictyoptera, Mantodea, Tarachodidae). *Bulletin de la Societe Entomologique de France* **108**: 447-450.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2001. Problems and perspectives in the systematics of Nematomorpha. *Organisms Diversity and Evolution* **1**: 161-163.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2002a. Are the genera of Nematomorpha monophyletic taxa? *Zoologica Scripta* **31**: 185-200.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2002b. Australian species of *Chordodes* (Nematomorpha) with a description of two new species, remarks on the genus *Chordodes* and its life history. *Journal of Natural History* **36**: 1569-1588.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2005. Morphogenesis of *Paragordius varius* (Nematomorpha) during the parasitic phase. *Zoomorphology* **124**: 33-46.
- Schmidt-Rhaesa, A., and R. Ehrmann. 2001. Horsehair worms (Nematomorpha) as parasites of praying mantids with a discussion of their life cycle. *Zoologischer Anzeiger* **240**: 167-179.
- Schmidt-Rhaesa, A., and A. K. Yadav. 2003. On the occurrence of *Chordodes* cf. *furnessi* (Nematomorpha) from praying mantis in India, and a note on Indian nematomorph species. *Current Science* **86**: 1023-1027.
- Schmidt-Rhaesa, A., and C. J. Geraci. 2006. Two new species of *Acutogordius* (Nematomorpha), with a brief review of literature data of this genus.

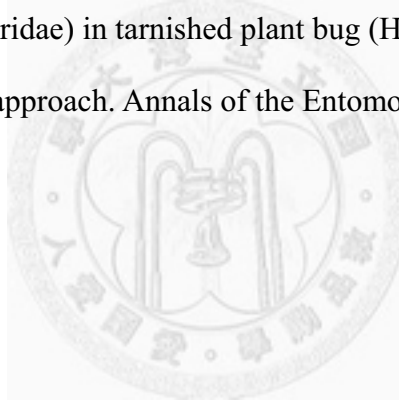
- Systematics and Biodiversity **4**: 427-433.
- Schmidt-Rhaesa, A., and P. Kristensen. 2006. Horsehair worms (Nematomorpha) from the Baltic island Bornholm (Denmark), with notes on the biology of *Gordius albopunctatus*. *Journal of Natural History* **40**: 495-502.
- Schmidt-Rhaesa, A., and S. Brune. 2008. Description of one known and three new *Chordodes* species (Nematomorpha) parasitizing praying mantids (Mantoptera) in Malaysia, with a discussion of sexual dimorphism in *Chordodes*. *Zoosystematics and Evolution* **84**: 57-66.
- Schmidt-Rhaesa, A., B. Hanelt, and W. K. Reeves. 2003. Redescription and compilation of Nearctic freshwater Nematomorpha (Gordiida), with the description of two new species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **153**: 77-117.
- Schmidt-Rhaesa, A., D. G. Biron, C. Joly, and F. Thomas. 2005. Host-parasite relations and seasonal occurrence of *Paragordius tricuspidatus* and *Spinochordodes tellinii* (Nematomorpha) in Southern France. *Zoologischer Anzeiger* **244**: 51-57.
- Simmons, L. W. 1994. Courtship role reversal in bush crickets: another role for parasites? *Behavioral Ecology* **5**: 259-266.
- Slifer, E. H. 1968. Sense organs on the antennal flagellum of a praying mantis, *Tenodera angustipennis*, and of two related species (Mantodea). *Journal of Morphology* **124**:105-116.
- Thomas, F., A. Schmidt-Rhaesa, G. Martin, C. Manu, P. Durand, and F. Renaud. 2002. Do hairworms (Nematomorpha) manipulate the water-seeking behaviour of their terrestrial hosts? *Journal of Evolutionary Biology* **15**: 356-361.
- Thomas, F., P. Ulitsky, R. Augier, N. Dusticier, D. Samuel, C. Strambi, D. G. Biron, and M. Cayre. 2003. Biochemical and histological changes in the brain of the

- cricket *Nemobius sylvestris* infected by the manipulative parasite *Paragordius tricuspidatus* (Nematomorpha). *International Journal for Parasitology* **33**: 435-443.
- Trail, D. R. S. 1980. Behavioral interactions between parasites and hosts: host suicide and the evolution of complex life cycles. *The American Naturalist* **116**: 77-91.
- Vance, S. A. 1996. Morphological and behavioural sex reversal in mermithid-infected mayflies. *Proceedings: Biological Sciences* **263**: 907-912.
- White, D. A. 1966. A new host record for *Paragordius varius* (Nematomorpha). *Transactions of the American Microscopical Society* **85**: 579.
- White, D. A. 1969. The infection of immature aquatic insects by larval *Paragordius* (Nematomorpha). *Great Basin Naturalist* **29**: 44.
- Winterbourn, M. J. 2005. Dispersal, feeding and parasitism of adult stoneflies (Plecoptera) at a New Zealand forest stream. *Aquatic Insects* **27**: 155-166.
- Wülker, W. 1964. Parasite-induced changes of internal and external sex characters in insects. *Experimental Parasitology* **15**: 561-597.
- Wülker, W. 1985. Changes in behaviour, flight tone and wing shape in nematode-infested *Chironomus* (Insecta, Diptera). *Parasitology Research* **71**: 409-418.
- Zanca, F., and C. de Villalobos. 2005. Scanning electron microscopy of *Chordodes moutoni* Camerano, 1895 (Gordiida, Nematomorpha). *Zootaxa* **1082**: 37-44.
- Zanca, F., C. de Villalobos, and A. Rumi. 2007. Larval survival strategy during winter of *Chordodes nobilii* Camerano, 1901 (Gordiida, Nematomorpha). *Acta Parasitologica* **52**: 382-385.
- Zanca, F., C. de Villalobos, A. Schmidt-Rhaesa, and C. Achiorno. 2006a. Revision of the genus *Chordodes* (Gordiida, Nematomorpha) from Africa-I. Ultrastructural

redescription of *Chordodes gariuzzi* Camerano, 1902, *C. heinzei* Sciacchitano, 1937, *C. kolensis* Sciacchitano, 1933, *C. muelleri* Sciacchitano, 1937, and *C. ruandensis* Sciacchitano, 1937. *Journal of Natural History* **40**: 17-31.

Zanca, F., A. Schmidt-Rhaesa, C. De Villalobos, and C. Achiorno. 2006b. Revision of the genus *Chordodes* (Gordiida, Nematomorpha) from Africa. II. Ultrastructural redescription of *C. africanus* Sciacchitano, 1933, *C. hawkeri* Camerano 1902, *C. sandoensis*, Sciacchitano 1937, *C. schoutedeni*, Sciacchitano 1933 and reinterpretation of *Chordodes butensis* Sciacchitano, 1937. *Zootaxa* **1191**: 49-59.

Zhu, Y. C., and L. Williams. 2002. Detecting the egg parasitoid *Anaphes iole* (Hymenoptera: Mymaridae) in tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) eggs by using a molecular approach. *Annals of the Entomological Society of America* **95**: 359-365.



附錄一、所檢查的鐵線蟲標本

編號	分生分析編號	採集時間	採集地	種類	寄主	長度 (cm)	性別
N080723262S020301	F12	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>Chordodes formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>Hierodula formosana</i>)	23.00	Male
N080723262S010101	F13	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	18.90	Male
N080720231D000102	D01	2008/7/20	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	14.70	Male
N0807059720000101	T01	2008/7/5	花蓮太魯閣	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	21.60	Male
N080710231D000101	D08	2008/7/10	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	17.20	Male
080129CN01M	Z02	2008/1/29	台北市立動物園	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	7.40	Male
N0907102520000101	S01	2009/7/10	台北三芝石門	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	25.10	Male
N0906242620000101	F06	2009/6/24	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	16.70	Male
N0906242620000102	F07	2009/6/24	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	22.80	Male
N0907162620000101	F08	2009/7/16	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	18.40	Male
N0908032620000201	F09	2009/8/3	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	23.40	Male
N0907162620000301	F10	2009/7/16	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	27.70	Male
N080720231D000101	D06	2008/7/20	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	13.70	Male
N060930116Z000101	F11	2006/9/30	台北市立動物園	<i>C. formosanus</i> n. sp.*	寬腹螳螂 (<i>H. patellifera</i>)	21.40	Male
N0807232620000601	D07	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	44.00	Female
N080712231D000101	F05	2008/7/12	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	37.10	Female
N0807102620000101	F01	2008/7/10	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	39.40	Female
N080723262S010201	F02	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	30.70	Female
N080723262S010102	F03	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	24.70	Female
N080723262S020101	F04	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	28.90	Female

編號	D03	採集時間	採集地詳述	種類	寄主	長度 (cm)	性別
N080723262S020201	D04	2008/7/23	宜蘭礁溪五峰旗瀑布	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	23.20	Female
N080710231D000102	D05	2008/7/10	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	33.40	Female
N080710231D000103	D02	2008/7/10	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	28.20	Female
N080710231D000104	Z01	2008/7/10	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	9.50	Female
N080720231D000103	Z03	2008/7/20	台北新店大崎腳	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	22.60	Female
080129CN01F	Z04	2008/1/29	台北市立動物園	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	7.80	Female
070802EN0201	F12	2007/8/2	台北市立動物園	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	31.6	Female
070802EN0202	F13	2007/8/2	台北市立動物園	<i>C. formosanus</i> n. sp.	台灣斧螳 (<i>H. formosana</i>)	29.4	Female



附錄二、DNA 萃取

本試驗使用 ALSR Watsonplus™ Tissue Genomic DNA Extraction System

(Kaohsiung, Taiwan) DNA 萃取試劑

1. 取一待萃取樣本置於離心管中。
2. 研磨：在離心管中加入約 20 μ l TGDE buffer 並以研磨棒將蟲體磨碎。
3. 加入 200 μ l TGDE buffer 及 20 μ l proteinase K (100 μ g/ μ l) 後震盪混合。
4. 在 60°C 下反應超過 3 小時直至組織分解。
5. 樣本離心後加入 200 μ l GDE buffer 後輕微震盪混合，在 70°C 下反應 11-12 分鐘。
6. 樣本離心後加入 200 μ l 酒精 (96% - 100%) 並震盪混合。
7. 樣本離心將未反應的雜質沈澱，取上清液 (約 500-700 μ l) 加入已經放置在 Collection Tube 的 GDE Mini Column。
8. 以高速離心機 (35000 rpm/s) 離心 1 分鐘後將 Collection Tube 中的廢液移除。
9. 加入 500 μ l W1 buffer 到 GDE Mini Column 中高速離心 1 分鐘後將 Collection Tube 中的廢液移除。
10. 加入 750 μ l Wash buffer 到 GDE Mini Column 中高速離心 1 分鐘後將 Collection Tube 中的廢液移除。
11. 再離心 3 分鐘以充分移除 GDE Mini Column 中的殘餘液體。
12. 將 GDE Mini Column 置於 1.5 μ l 的離心管中，上以紙巾覆蓋等待約 5 分鐘，使樣本中的殘餘酒精揮發。
13. 加入 50 μ l 二次水至 GDE Mini Column 的中心將樣本 DNA 回溶並等待 5 分鐘。
14. 高速離心 3 分鐘後將搜集到的 DNA 水溶液保存在 -20°C 中。

附錄三、從美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 網站上所選取作為比較 18S rDNA 序列的鐵線蟲及其他水生生物及近水生生物

目名	科名	學名	GenBank accession no.	
鐵線蟲	Chordodea	Parachordodidae		
			<i>Gordionus wolterstorffii</i>	AF421765.1
			<i>Paragordionus dispar</i>	AF421769.1
Gordioidea	Gordiiidae		<i>Paragordionus rautheri</i>	AF421770.1
			<i>Gordius paranensis</i>	AF421766.1
			<i>Paragordius tricuspidatus</i>	AF421771.1
			<i>Paragordius varius</i>	AF421772.1
			<i>Neochordodes occidentalis</i>	AF421768.1
Chordodea	Chordodidae		<i>Spinochordodes tellinii</i>	AF421773.1
			<i>Chordodes</i> sp.	AF421763.1
Nectonematoidea	Nectonematidae	<i>Nectonema agile</i>	AF421767.1	
水生昆蟲	鞘翅目 (Coleoptera)	龍蝨科 (Dytiscidae)	<i>Copelatus chevrolati</i>	AF012524.1
		豉蝨科 (Gyrinidae)	<i>Andogyrus ellipticus</i>	AJ318659.1
		<i>Gyrinus</i> sp.	AF201412.1	
		<i>Spanglerogyrus albiventris</i>	AF201413.1	
	牙蝨科 (Hydrophilidae)	<i>Berosus environmental</i>	EF659809.1	
	隱翅蝨科 (Staphylinidae)	<i>Xanthopyga cacti</i>	AF002810.1	

雙翅目 (Diptera)	食蟲蛇科 (Asilidae)	<i>Laphria</i> sp.	AF286293.1
	蜂蛇科 (Bombyliidae)	<i>Hemipenthes jaenickeana</i>	AY325036.1
	蛾蚋科 (Psychodidae)	<i>Lutzomyia intermedia</i>	DQ868358.1
		<i>Lutzomyia neivai</i>	DQ868362.1
	大蚊科 (Tipulidae)	<i>Dolichopeza subalbipes</i>	AF286297.1
		<i>Tanyptera dorsalis</i>	AF286295.1
蜉蝣目 (Ephemeroptera)	扁蜉科 (Heptageniidae)	<i>Epeorus latifolium</i>	EF680333.1
	多脈蜉科 (Polymitarcyidae)	<i>Tortopus primus</i>	DQ648724.1
半翅目 (Hemiptera)	水蝽科 (Corixidae)	<i>Corixini</i> sp.	AY252129.1
		<i>Hesperocorixa</i> sp.	DQ133581.1
	水黽科 (Gerridae)	<i>Aquarius remigis</i>	U15691.1
		<i>Gerris marginatus</i>	AY252122.1
	蠍椿科 (Nepidae)	<i>Ranatra</i> sp.	DQ133580.1
	仰泳蟲科 (Notonectidae)	<i>Buenoa</i> sp.	U65120.1
		<i>Notonecta uhleri</i>	AY252130.1
脈翅目 (Neuroptera)	魚蛉科 (Corydalidae)	<i>Corydalis</i> sp.	AY620025.1
蜻蛉目 (Odonata)	晏蜓科 (Aeschnidae)	<i>Aeshna cyanea</i>	X89481.1
		<i>Aeshna juncea</i>	AF461231.1
		<i>Archineura hetaerinoidea</i>	AJ746327.1
	珈蟪科 (Calopterygidae)	<i>Calopteryx aequabilis</i>	AY338716.1

細蟴科 (Coenagrionidae)	<i>Argia vivida</i>	AY521866.1
	<i>Enallagma aspersum</i>	DQ087506.1
	<i>Hesperagrion</i> sp.	AY749911.1
弓蜓科 (Corduliidae)	<i>Cordulia aenea</i>	AF461236.1
	<i>Somatochlora flavomaculata</i>	AF461242.1
絲蟴科 (Lestidae)	<i>Chalcolestes viridis</i>	AJ421949.1
	<i>Lestes macrostigma</i>	AJ421950.1
樸蟴科 (Protoneuridae)	<i>Elatoneura analis</i>	AJ746315.1
	<i>Prodasineura autumnalis</i>	AJ459231.1
毛翅目 (Trichoptera)	<i>Anisocentropus bicoloratus</i>	AF436435.1
	<i>Phylloicus aeneus</i>	AF436436.1
長鬚石蛾科 (Ecnomidae)	<i>Austrotinodes</i> sp.	AF436481.1
網石蛾科 (Hydropsychidae)	<i>Hydropsyche</i> sp.	AF286291.1
水生螺類	<i>Aplexa hypnorum</i>	AY577485.1
基眼目 (Basommatophora)	<i>Physa acuta</i>	AY282600.1
	<i>Physa fontinalis</i>	AY577486.1
	<i>Physa heterostropha</i>	L78905.1

附錄四、台灣斧螳形態測量資料

一、體型

部位	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
FW (mm)	59.87 ± 2.90 (33) ^a	45.94 ± 4.56 (15) ^{bc}	46.43 ± 3.92 (18) ^b	42.6 ± 4.29 (10) ^c
HW (mm)	52.94 ± 2.44 (33) ^a	40.23 ± 4.71 (15) ^b	39.57 ± 3.60 (18) ^b	34.7 ± 4.67 (10) ^c
P (mm)	22.64 ± 1.03 (33) ^b	20.79 ± 1.35 (15) ^c	24.70 ± 1.64 (18) ^a	23.92 ± 1.69 (10) ^a
B (mm)	72.67 ± 3.55 (33) ^a	66.83 ± 5.58 (15) ^b	72.41 ± 3.12 (18) ^a	68.78 ± 5.95 (10) ^{ab}
FW / B	0.82 ± 0.03 (33) ^a	0.69 ± 0.06 (15) ^b	0.64 ± 0.04 (18) ^c	0.62 ± 0.02 (10) ^c
FW / P	2.64 ± 0.07 (33) ^a	2.21 ± 0.15 (15) ^b	1.88 ± 0.08 (18) ^c	1.78 ± 0.07 (10) ^d
HW / B	0.73 ± 0.03 (33) ^a	0.60 ± 0.06 (15) ^b	0.55 ± 0.04 (18) ^c	0.50 ± 0.05 (10) ^d
HW / P	2.34 ± 0.07 (33) ^a	1.93 ± 0.15 (15) ^b	1.60 ± 0.08 (18) ^c	1.45 ± 0.14 (10) ^d
P / B	0.31 ± 0.01 (33) ^b	0.31 ± 0.01 (15) ^b	0.34 ± 0.02 (18) ^a	0.34 ± 0.02 (10) ^a

FW: forewing length, HW: hindwing length, P: pronotum length, B: body length.

a, b, c and d were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

二、觸角鞭節長度

節次	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
10 (μm)	239.25 ± 18.02 (13) ^a	159.85 ± 25.62 (12) ^b	143.90 ± 22.82 (11) ^b	147.48 ± 16.88 (10) ^b
20 (μm)	374.68 ± 22.93 (13) ^a	245.50 ± 61.22 (12) ^b	238.12 ± 51.50 (11) ^b	251.49 ± 23.89 (10) ^b
30 (μm)	302.93 ± 23.03 (13) ^a	177.11 ± 48.92 (12) ^b	170.56 ± 22.71 (11) ^b	185.93 ± 54.84 (10) ^b
40 (μm)	375.02 ± 26.79 (13) ^a	215.16 ± 72.91 (12) ^b	216.64 ± 26.11 (11) ^b	205.44 ± 23.82 (10) ^b
50 (μm)	417.85 ± 31.09 (13) ^a	244.35 ± 67.16 (12) ^b	257.01 ± 39.34 (11) ^b	234.50 ± 22.48 (10) ^b
60 (μm)	455.80 ± 27.36 (13) ^a	265.44 ± 63.95 (12) ^b	269.55 ± 30.14 (11) ^b	262.11 ± 23.26 (10) ^b
70 (μm)	478.61 ± 28.04 (13) ^a	289.47 ± 63.28 (12) ^b	281.94 ± 30.18 (11) ^b	275.69 ± 18.76 (10) ^b
80 (μm)	466.47 ± 23.31 (13) ^a	296.35 ± 53.32 (12) ^b	293.89 ± 23.11 (10) ^b	292.60 ± 22.17 (10) ^b
90 (μm)	421.87 ± 33.70 (13) ^a	298.57 ± 36.28 (10) ^b	293.42 ± 30.07 (10) ^b	295.53 ± 23.88 (8) ^b
100 (μm)	355.04 ± 26.91 (12) ^a	296.90 ± 22.36 (7) ^b	284.61 ± 36.64 (10) ^b	291.25 ± 16.27 (8) ^b

a, and b were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

三、觸角鞭節長度和前胸背板的比值

節次	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
10 (μm)	10.42 ± 0.91 (13) ^a	7.66 ± 1.14 (12) ^b	5.81 ± 0.64 (11) ^c	6.16 ± 0.45 (10) ^c
20 (μm)	16.30 ± 1.09 (13) ^a	11.74 ± 2.66 (12) ^b	9.59 ± 1.58 (11) ^{bc}	10.52 ± 0.71 (10) ^c
30 (μm)	13.20 ± 1.27 (13) ^a	8.45 ± 2.02 (12) ^b	6.91 ± 0.71 (11) ^b	7.76 ± 2.21 (10) ^b
40 (μm)	16.33 ± 1.35 (13) ^a	10.24 ± 2.94 (12) ^b	8.78 ± 0.77 (11) ^b	8.58 ± 0.61 (10) ^b
50 (μm)	18.17 ± 1.33 (13) ^a	11.65 ± 2.67 (12) ^b	10.40 ± 1.13 (11) ^b	9.80 ± 0.61 (10) ^b
60 (μm)	19.82 ± 0.99 (13) ^a	12.67 ± 2.56 (12) ^b	10.93 ± 0.81 (11) ^c	10.97 ± 0.73 (10) ^c
70 (μm)	20.81 ± 1.09 (13) ^a	13.85 ± 2.64 (12) ^b	11.44 ± 0.85 (11) ^c	11.55 ± 0.70 (10) ^c
80 (μm)	20.29 ± 1.04 (13) ^a	14.19 ± 2.25 (12) ^b	11.85 ± 0.76 (10) ^c	12.24 ± 0.50 (10) ^c
90 (μm)	18.35 ± 1.47 (13) ^a	14.39 ± 1.44 (10) ^b	11.82 ± 0.90 (10) ^c	12.18 ± 0.95 (8) ^c
100 (μm)	15.42 ± 1.26 (12) ^a	14.00 ± 0.93 (7) ^b	11.43 ± 0.91 (10) ^c	12.01 ± 0.70 (8) ^c

a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

四、觸角鞭節長度和體長的比值

節次	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
10 (μm)	3.22 ± 0.22 (13) ^a	2.39 ± 0.42 (12) ^b	1.98 ± 0.28 (11) ^{bc}	2.14 ± 0.16 (10) ^c
20 (μm)	5.04 ± 0.27 (13) ^a	3.67 ± 0.91 (12) ^b	3.26 ± 0.59 (11) ^b	3.67 ± 0.32 (10) ^b
30 (μm)	4.08 ± 0.34 (13) ^a	2.63 ± 0.66 (12) ^b	2.35 ± 0.31 (11) ^b	2.70 ± 0.73 (10) ^b
40 (μm)	5.05 ± 0.37 (13) ^a	3.19 ± 0.94 (12) ^b	2.99 ± 0.35 (11) ^b	3.00 ± 0.22 (10) ^b
50 (μm)	5.62 ± 0.36 (13) ^a	3.62 ± 0.85 (12) ^b	3.54 ± 0.51 (11) ^b	3.41 ± 0.25 (10) ^b
60 (μm)	6.13 ± 0.29 (13) ^a	3.94 ± 0.82 (12) ^b	3.71 ± 0.37 (11) ^b	3.82 ± 0.35 (10) ^b
70 (μm)	6.44 ± 0.30 (13) ^a	4.36 ± 0.86 (12) ^b	3.89 ± 0.44 (11) ^b	4.03 ± 0.35 (10) ^b
80 (μm)	6.28 ± 0.32 (13) ^a	4.41 ± 0.74 (12) ^b	4.03 ± 0.40 (10) ^b	4.26 ± 0.23 (10) ^b
90 (μm)	5.68 ± 0.46 (13) ^a	4.47 ± 0.49(10) ^b	4.03 ± 0.48 (10) ^b	4.25 ± 0.42 (8) ^b
100 (μm)	4.77 ± 1.26 (12) ^a	4.39 ± 0.93 (7) ^{ab}	3.89 ± 0.91 (10) ^b	4.19 ± 0.70 (8) ^b

a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

五、鞭節表面感覺毛密度 (small trichoid sensilla / 2500 μm^2)

節次	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
10	0 (13) ^a	0 (12) ^a	0 (11) ^a	0 (10) ^a
20	0.02 ± 0.03 (13) ^a	0.01 ± 0.04 (12) ^a	0 (11) ^a	0 (10) ^a
30	0.11 ± 0.12 (13) ^a	0.06 ± 0.14 (12) ^{ab}	0 (11) ^b	0 (10) ^b
40	0.19 ± 0.13 (13) ^a	0.05 ± 0.09 (12) ^a	0.10 ± 0.25 (11) ^a	0.07 ± 0.14 (10) ^a
50	0.25 ± 0.15 (13) ^a	0.24 ± 0.32 (12) ^a	0.41 ± 0.48 (11) ^a	0.38 ± 0.43 (10) ^a
60	0.31 ± 0.17 (13) ^b	0.85 ± 0.58 (12) ^{ab}	1.13 ± 0.76 (11) ^a	1.40 ± 0.60 (10) ^a
70	0.35 ± 0.21 (13) ^b	1.30 ± 0.71 (12) ^a	1.39 ± 0.67 (11) ^a	1.86 ± 0.45 (10) ^a
80	0.57 ± 0.24 (13) ^c	1.36 ± 0.47 (12) ^b	1.98 ± 0.80 (9) ^{ab}	2.07 ± 0.78 (10) ^a
90	0.72 ± 0.28 (13) ^c	1.29 ± 0.53 (10) ^{bc}	1.64 ± 0.57 (9) ^{ab}	2.18 ± 0.84 (8) ^a
100	1.29 ± 0.29 (12) ^c	1.45 ± 0.61 (7) ^{bc}	2.09 ± 0.76 (9) ^{ab}	2.59 ± 0.78 (8) ^a

a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

六、鞭節表面感覺毛密度 (grooved basiconic sensilla / 2500 μm^2)

節次	正常雄蟲 (n)	感染雄蟲 (n)	正常雌蟲 (n)	感染雌蟲 (n)
10	0 (13) ^a	0 (12) ^b	0 (11) ^b	0 (10) ^b
20	5.06 ± 1.04 (13) ^a	0.99 ± 2.34 (12) ^b	0 (11) ^b	0 (10) ^b
30	5.248 ± 1.20 (13) ^a	1.13 ± 2.23 (12) ^b	0 (11) ^b	0 (10) ^b
40	5.00 ± 1.09 (13) ^a	1.38 ± 2.39 (12) ^b	0.21 ± 0.52 (11) ^b	0.02 ± 0.06 (10) ^b
50	4.80 ± 0.87 (13) ^a	1.53 ± 2.39 (12) ^b	1.02 ± 0.58 (11) ^b	0.69 ± 0.69 (10) ^b
60	4.88 ± 0.84 (13) ^a	2.32 ± 2.06 (12) ^b	1.75 ± 0.81 (11) ^b	1.97 ± 0.71 (10) ^b
70	4.95 ± 0.71 (13) ^a	2.88 ± 1.25 (12) ^b	2.00 ± 0.99 (11) ^{bc}	1.67 ± 0.61 (10) ^c
80	4.30 ± 0.85 (13) ^a	2.70 ± 1.44 (12) ^b	1.78 ± 0.32 (9) ^b	1.63 ± 0.56 (10) ^b
90	3.60 ± 0.74 (13) ^a	2.46 ± 1.15 (10) ^b	1.69 ± 0.55 (9) ^{bc}	1.44 ± 0.45 (8) ^c
100	3.02 ± 0.70 (12) ^a	1.82 ± 1.01 (7) ^b	1.73 ± 0.57 (9) ^b	1.28 ± 0.34 (8) ^b

a, b, and c were based on the Tukey's HSD test, $P < 0.05$.

附錄五、保幼寄主感染率調查

一、搖蚊幼蟲 (*Chironomus* sp.) 採集

採集時間	採集數	檢測樣本數	檢測方法	感染樣本數
2009年05月09日	22	All	解剖鏡檢	1
2009年05月22日	4	All	解剖鏡檢	0
2009年06月13日	13	All	解剖鏡檢	0
2009年06月28日	10	All	解剖鏡檢	0
2009年07月16日	15	All	解剖鏡檢	0
2009年07月26日	11	All	解剖鏡檢	0
2009年08月15日	42	All	解剖鏡檢	4
2009年08月23日	69	All	解剖鏡檢	6
2009年09月13日	22	All	解剖鏡檢	0
2009年09月29日	0	-	-	-
2009年10月12日	11	All	解剖鏡檢	0
2009年10月28日	0	-	-	-
2009年11月09日	8	All	解剖鏡檢	2
2009年11月24日	1	All	解剖鏡檢	0
2009年12月08日	1	All	解剖鏡檢	1
2009年12月27日	0	-	-	-
2010年01月11日	0	-	-	-
2010年01月27日	5	All	解剖鏡檢	0
2010年02月20日	0	-	-	-
2010年02月28日	0	-	-	-
2010年03月15日	12	All	解剖鏡檢	1
2010年03月28日	15	All	解剖鏡檢	0
2010年04月17日	5	All	解剖鏡檢	0
2010年04月30日	8	All	解剖鏡檢	0
Total	274	274		15

二、寶島缺叉石蛾 (*Chimarra formosana*)

採集時間	採集數	檢測樣本數	檢測方法	感染樣本數
2009年05月09日	5	All	分子檢測	0
2009年05月24日	21	All	分子檢測	0
2009年06月12日	97	90	分子檢測	0
2009年06月28日	70	All	分子檢測	0
2009年07月12日	420	120	分子檢測	0
2009年07月26日	167	110	分子檢測	0
2009年08月15日	40	22	分子檢測	1
		18	解剖鏡檢	1
		25	分子檢測	3
2009年08月23日	51	26	解剖鏡檢	1
2009年09月28日	28	All	分子檢測	2
2009年09月30日	14	All	分子檢測	1
2009年10月12日	12	All	分子檢測	0
2009年10月20日	0	All	分子檢測	0
2009年11月09日	20	All	分子檢測	0
2009年11月24日	12	All	分子檢測	0
2009年12月08日	0	-	-	-
2009年12月27日	1	All	分子檢測	0
2010年01月11日	0	-	-	-
2010年01月28日	1	All	分子檢測	0
2010年02月20日	0	-	-	-
2010年02月28日	0	-	-	-
2010年03月16日	11	All	分子檢測	0
2010年03月30日	7	All	分子檢測	0
2010年04月17日	3	All	分子檢測	0
2010年04月30日	4	All	分子檢測	0
Total	984	620		9