

中華民國第 56 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 動物與醫學學科

第三名

052005

埋伏的殺手——陸生渦蟲掠食與捕蚯蚓行為

學校名稱：國立科學工業園區實驗高級中學

作者： 高二 周少筠 高二 許予昀 高二 鄧子昱	指導老師： 揭維邦
-----------------------------------------------	------------------

關鍵詞：柯氏廣頭地渦蟲 (*Bipalium kewense*)、
雙眼地渦蟲科 (Rhynchodemidae)、
掠食行為 (Predatory behavior)

摘要

本研究中的五種渦蟲皆由校園花圃發現，藉由外型特徵與國內外論文比對，發現其中兩種為廣頭地渦蟲 *Bipalium kewense* Moseley, 1878及 *Bipalium vagum* Jones & Sterrer, 2005；兩種為雙眼地渦蟲科 Rhynchodemidae sp.1及 Rhynchodemidae sp.2；一種為多眼地渦蟲科 *Platydemus manokwari* De Beauchamp, 1963，其中Rhynchodemidae sp.2為未發表的新種。

國內外論文對於渦蟲攝食獵物行為尚無定論，而我們發現本研究中的Rhynchodemidae sp.2和*Bipalium kewense*皆為主食為蚯蚓的掠食性動物。我們設計實驗證實*Bipalium kewense*在掠食中居有追蹤、捕食的主動地位，也證實Rhynchodemidae sp.2在捕食的過程中，以埋伏追擊掠食蚯蚓。並進一步以實驗證明Rhynchodemidae sp.2的黏液對於蚯蚓有降低其活動力和損害蚯蚓肌肉纖維的作用。此結果可以說明Rhynchodemidae sp.2儘管不主動追擊獵物且體型較小，仍能順利掠食蚯蚓。

壹、研究動機

偶然搜尋到許多網路上關於渦蟲捕食獵物的影片，我們十分震驚於缺乏硬殼的軟組織、且行動緩慢的陸生渦蟲能順利捕食比自身大出許多的獵物，甚至是成功掠食蝸牛等具有外殼的生物。而我們也在校園採集到三科五種不同的陸生渦蟲：為柯氏廣頭地渦蟲 (*Bipalium kewense*)等。根據 Wu *et al*, 2005，此文獻為目前台灣唯一針對陸生渦蟲進行描述及分類的論文，在已知的三個科中，共18種只有1種為已知種，其餘皆為新種。另外關於陸生渦蟲的行為研究資料極度缺乏，因此我們投入研究，希望能初步建立起台灣陸生渦蟲生物多樣性的紀錄，並探究其生態行為。

在觀察陸生渦蟲時，我們發現陸生渦蟲對於土壤的底棲生物例如蝸牛、蚯蚓、蛞蝓等，渦蟲常會附著或包覆這些生物的行為，但不同於一般文獻將此行為斷定為渦蟲的掠食行為及其食性，我們發現渦蟲在此行為後不一定會有掠食的動作，因此希望利用實驗的方法確定不同渦蟲的食性。在飼養陸生渦蟲時，起先渦蟲常會被整群的螞蟻分食，在生存不易的土壤底棲中，渦蟲是利用何種方式維持自身的生存以及如何成功掠食？眾多的疑問使我們決定投入相關實驗。

貳、研究目的

- 利用組織切片觀察性腺、肌肉層的構造初步鑑別渦蟲。
- 觀察不同品種間捕食行為的差異。
- 探討Rhynchodemidae sp.2捕食行為的特殊機制，解釋其以蚯蚓為主食的現象。
- 分析Rhynchodemidae sp.2黏液內的特殊蛋白的作用。

參、研究設備及器材

一、使用器材

器材	用途
渦蟲模擬飼養環境 (圖 3-1)	實驗室內飼養實驗動物，減少變因
蚯蚓模擬飼養環境 (圖 3-2)	實驗室內控制實驗動物，減少變因
切片機 (圖 3-3)	製作連續切片
錄影器材:V8、腳架	觀察夜間渦蟲捕食情形
Olympus CX22 複式顯微鏡	觀察顯微構造
解剖顯微鏡	觀察活體
Shimadzu UV-1800 分光光度計 (圖 3-4)	萃取實驗用
LED 照明燈	打亮環境，便於觀察



圖 3-1 渦蟲飼養環境



圖 3-2 蚯蚓飼養環境

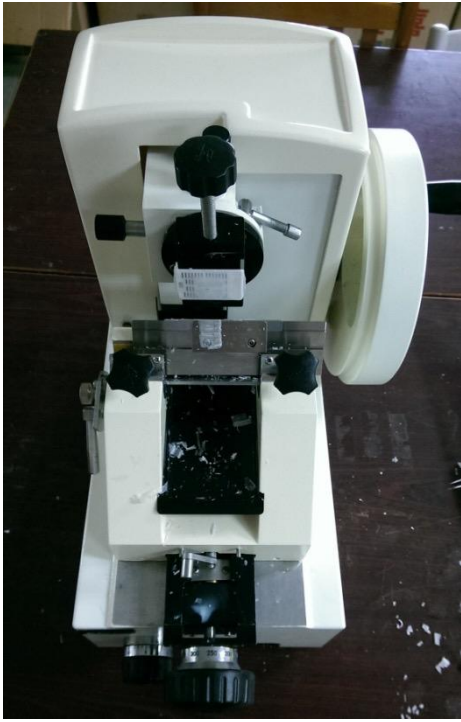


圖 3-3 切片機

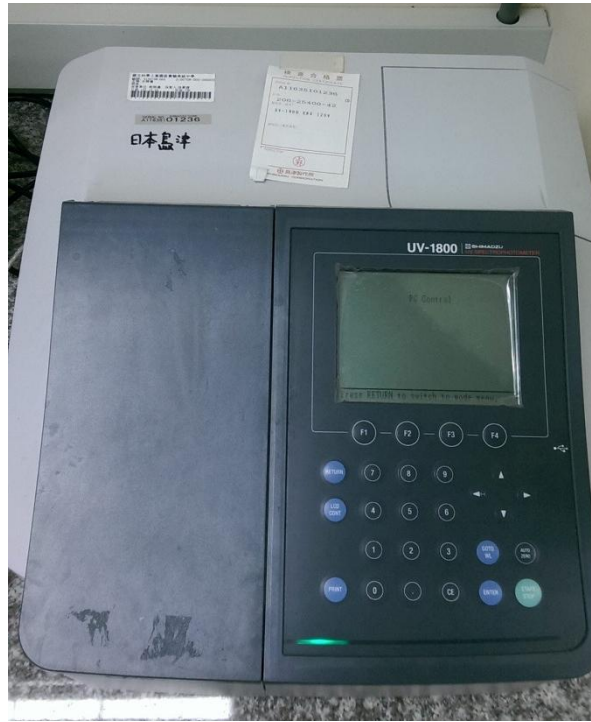


圖 3-4 分光光度計

肆、研究過程及方法

一、實驗流程

(一) 物種研究

1. 外型描述
2. 製作組織切片標本
3. 製作全埋標本

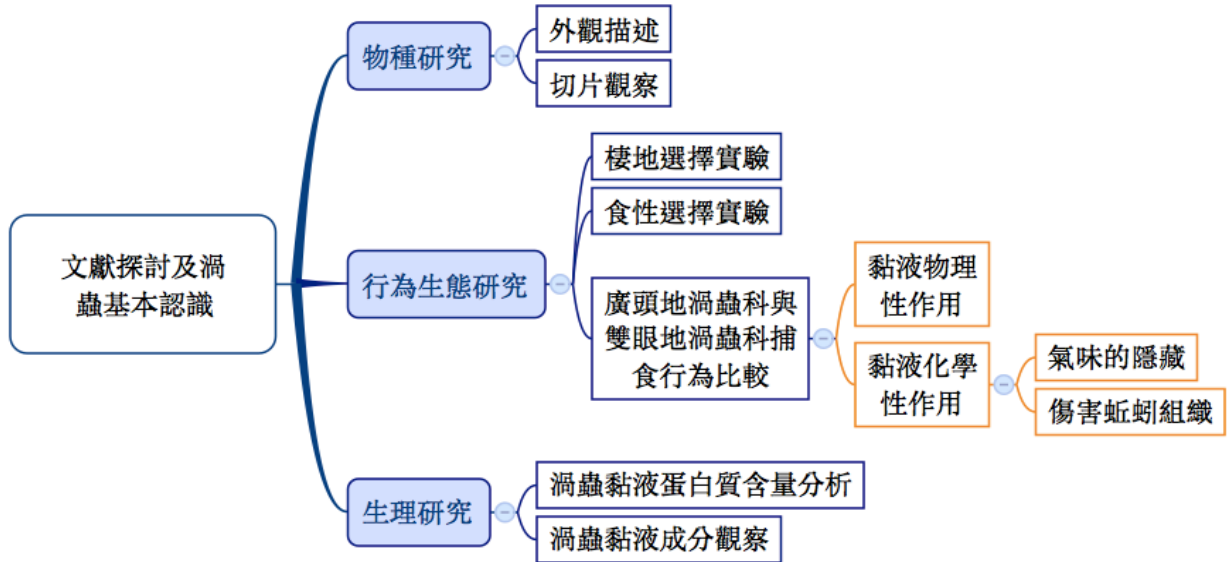
(二) 雙眼地渦蟲(*Rhynchodemidae* sp.2)與廣頭地渦蟲(*Bipalium kewense*)之生態行為研究

1. 【實驗一、渦蟲棲地選擇實驗】
2. 【實驗二、渦蟲食性實驗】
3. 【實驗三、捕食行為差異比較】比較雙眼地渦蟲(*Rhynchodemidae* sp.2)與廣頭地渦蟲(*Bipalium kewense*)的捕食行為差異
4. 【實驗四-1、渦蟲氣味實驗】蚯蚓對不同渦蟲黏液氣味的選擇
5. 【實驗四-2、渦蟲黏液實驗】測試渦蟲黏液降低蚯蚓活動力之程度
6. 【實驗五、蚯蚓組織損傷實驗】顯微鏡下渦蟲黏液對蚯蚓組織造成損傷的程度

(三) 雙眼地渦蟲(Rhynchodemidae sp.2)之生理研究

- 1.【實驗六、黏液蛋白含量分析】 分光光度計檢測不同步為黏液蛋白質含量差異
- 2.【實驗七、渦蟲黏液成分觀察】 顯微鏡下觀察不同染劑染色後的黏液

二、實驗架構



三、實驗步驟

【物種研究】

(一) 組織切片(tissue)：

目的：以石蠟包埋的方式將渦蟲製成切片，以利顯微鏡觀察。

步驟：

1.固定(fixation)：

- (1)將欲固定之渦蟲置於含濾紙之培養皿上，並置於冰塊上降低渦蟲活動力。
- (2)以毛刷使蟲體拉直，迅速將整張濾紙移至低溫液態固定液（10%福馬林）中。
- (3)將蟲體浸泡於固定液中一夜後，進行脫水步驟。

2.脫水(dehydrate)：

- (1)將標本依序置入 50%、60%、70%、80%酒精各 10 分鐘。
- (2)將標本依序置入 90%、99.5%酒精各 10 分鐘，分別重複兩次。

3.透明(clearing)：

- (1)將標本置入 99.5%酒精與二甲苯(Xylene)等比例混合溶液 10 分鐘。
- (2)將標本置入二甲苯(Xylene)中 10 分鐘。

4.浸潤(infiltration)：

- (1)將標本置入二甲苯溶液及石蠟等比例混合溶液 10 分鐘。
- (2)將標本置入熔融石蠟 30 分鐘，重複兩次。

5.包埋(embedding)：

- (1)利用加熱板加熱不鏽鋼標本盒，置適量乾淨石蠟填滿標本盒 2/3 高度。
- (2)將標本置入標本盒中，調整標本平放於盒中。
- (3)將熔融石蠟填滿標本盒，蓋上蓋上塑膠蓋。
- (4)將標本盒置於冷凍庫中急速冷卻，約 5 分鐘取出並分離塑膠蓋與標本盒。

6.切片(cutting)：

- (1)將石蠟塊固定於切片機。
- (2)利用切片機進行切片。
- (3)在玻片加熱台上放置上滴滿純水的載玻片，並加熱至 40 度。
- (4)將蠟帶挑起，取適當長度的蠟帶放至玻片上一個禮拜，待蠟帶平整。

7.蘇木精—伊紅染色(Haematoxylin-Eosin staining)：

- (1)將含蠟帶的載玻片逆向進行透明及脫水步驟，並將時間縮短為 3 分鐘。
- (2)將標本浸入蒸餾水 1 分鐘。
- (3)將標本浸入蘇木精約 10 秒至 3 分鐘（浸泡時間在顯微鏡下視染色效果而定）。
- (4)將標本浸入流動的水 20 分鐘，使蘇木精完全氧化。
- (5)將標本浸入 70%酒精 30 秒。
- (6)將標本浸入伊紅 10 秒至 3 分鐘（浸泡時間在顯微鏡下視染色效果而定）。
- (7)進行脫水及透明步驟，並將時間縮為數秒。

8.封片(mounting)：

- (1)保留些許二甲苯溶液於載玻片上。
- (2)於載玻片有組織的那面塗上封片膠(Mounting Medium)。
- (3)取適當大小蓋玻片，以 45 度角慢慢蓋上。
- (4)靜置一週，於玻片上記錄標本資訊即完成。

(二) 標本製作步驟——全埋標本 (wholmount)

目的：將整隻渦蟲製成標本，以利顯微鏡觀察，日後送往博物館作永久保存。

步驟：進行製作組織切片標本的步驟 2、3、8。

【行為生態研究】

(一)【實驗一、渦蟲棲地選擇實驗】

目的：為了解渦蟲對環境的選擇偏好，以利養殖藉由渦蟲生活環境推測其主食。

步驟：

- 1.於大的壓克力箱平鋪一層土。
- 2.將舊磚（上有青苔）、新磚（上無青苔）、腐木塊石板及培養皿排列一圈。
- 3.將渦蟲放置於中央，分別記錄一天、五天後渦蟲分布的位置，見圖 4-1。

裝置：



圖 4-1 飼養環境實驗裝置圖

(二)【實驗二、渦蟲食性實驗】

目的：為確認渦蟲停留於不同物種黏液或體液的時間長短是否與其食性相符。

步驟：

- 1.實驗組——Rhynchodemidae sp.2：
 - (1)分別在濾紙中間帶 1cm 寬處塗抹正常蚯蚓體液。
 - (2)將 Rhynchodemidae sp.2 放置在離紙帶 3 公分處。
 - (3)紀錄渦蟲的咽於 20 分鐘內停留在紙帶上的時間長度。
 - (4)分別再以死蚯蚓體液、受傷蚯蚓體液、蝸牛黏液、蛞蝓黏液作為實驗組，重複

上述步驟(1)、(2)、(3)。

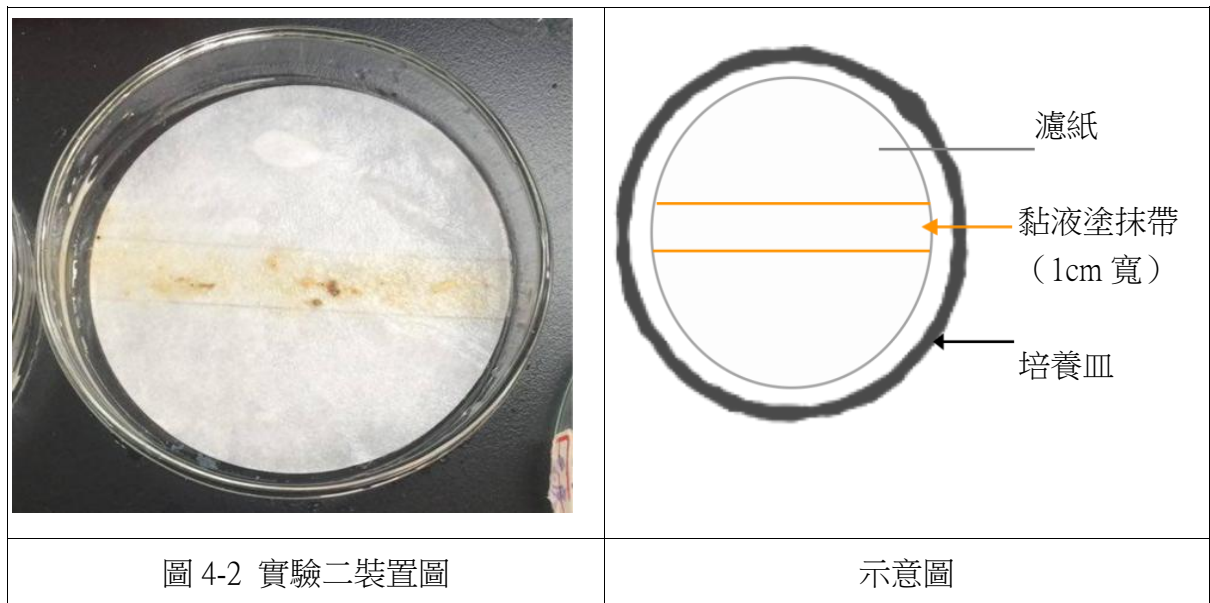
2.實驗組——*Bipalium kewense*

- (1)分別在濾紙中間帶 1cm 寬處塗抹正常蚯蚓體液。
- (2)將 *Bipalium kewense* 放置在離紙帶 3 公分處。
- (3)紀錄渦蟲的咽於 20 分鐘內停留在紙帶上的時間長度。

3.對照組：

- (1)在濾紙上噴水。
- (2)將渦蟲放置在離紙帶 3 公分處。
- (3)紀錄渦蟲的咽於 20 分鐘內停留在紙帶上的時間長度。

裝置：



(三)【實驗三、捕食行為差異比較】

目的：比較兩種渦蟲掠食差異。

步驟：分別將 *Bipalium kewense*、*Rhynchodemidae* sp.2 和蚯蚓置於同一培養皿，以肉眼及解剖顯微鏡仔細觀察並錄下渦蟲掠食的過程。

(四)【實驗四-1、渦蟲氣味實驗】

目的：由於觀察到雙眼地渦蟲捕食蚯蚓時蚯蚓並沒有察覺到掠食者的存在，因此藉此實驗測試蚯蚓對於不同渦蟲氣味的偏好情形。

時間：10 分鐘

步驟：

1.實驗組：

- (1)取一些土讓 *Bipalium kewense* 爬過留下黏液。
- (2)將有沾有黏液土置於右側，並放置一隻渦蟲；左側則放置未沾有黏液的土。
- (3)將蚯蚓放在盒子另一端（T 字水痕上）。
- (4)紀錄蚯蚓爬向左塊土或右塊土。
- (5)以 *Rhynchodemidae* sp.2、*Bipalium vagum*、*Rhynchodemidae* sp.1 重複上述步驟 (1)、(2)、(3)、(4)。

2.對照組：

- (1)將土置於盒子一端，分為左右兩塊。
- (2)將蚯蚓放在盒子另一端（T 字水痕上）。
- (3)紀錄蚯蚓爬向左塊土或右塊土。

裝置：

	T 字行的水痕能引導蚯蚓爬向土壤，以一半體長進入土壤中作為判斷標準。
圖 4-3 實驗四-1 裝置圖	說明

(五)【實驗四-2、掠食機制探討-渦蟲黏液實驗】

目的：為探討渦蟲黏液能降低蚯蚓的活動力，以幫助渦蟲掠食。

步驟：

1.實驗組-1（放置渦蟲於蚯蚓體表）：

- (1)將五隻蚯蚓與數隻渦蟲先置於同一培養皿 5 分鐘。
- (2)拿開培養皿計時 1 分鐘，測量蚯蚓於潮濕桌面爬行之路徑長。
- (3)重複三次實驗，並計算出爬行距離的最大值、最小值及平均值。

2.實驗組-2（塗抹渦蟲黏液）：

- (1)於五隻蚯蚓身上塗抹大量渦蟲黏液。
- (2)重複上述步驟 1.(2)、1.(3)。

3.對照組：

- (1)將五隻蚯蚓置於桌面。
- (2)重述上述步驟 1.(2)、1.(3)。

(六)【實驗五、蚯蚓組織損傷實驗】

目的：探討渦蟲黏液分別對於蚯蚓皮層以及肌肉層的傷害情形。

時間：50 分鐘

步驟：

1.實驗組

- (1)將蚯蚓活體冷凍，以便剝離各層組織。
- (2)縱切一小段蚯蚓，先將體腔內的砂石或土等剔除。
- (3)以鑷子將剩餘的管狀構造撐開，使皮層、肌肉層出現肉眼可見的些微破裂。
- (4)沿著皮層、肌肉層破裂處撕開，並將取的的皮質、肌肉層至於載玻片上。
- (5)用滴管吸取 *Bapalium kewense* 黏液，將之滴在皮質上。
- (6)每 10 分鐘用顯微鏡觀察一次並拍照記錄。
- (7)以 *Rhynchodemidae* sp.2 重複上述步驟 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)。

2.對照組

- (1)重複步驟 1.(1)、1.(2)、1.(3)、1.(4)。
- (2)滴加生理食鹽水於皮層及肌肉層。
- (3)每 10 分鐘用顯微鏡觀察一次並拍照記錄。

【生理研究】

(一)【實驗六、黏液蛋白含量分析】

目的：經由前述實驗，推測 *Rhynchodemidae* sp.2 的黏液可能含有某種蛋白有助於對蚯蚓的掠食，因此藉由分光光度計檢測，比較 *Rhynchodemidae* sp.2 各時段黏液中蛋白含量差異。

原理：蛋白質的直接測量法（UV）。使用分光光度計選擇 Warburg 公式，能將測試樣品在 280nm 波長下的吸光值直接轉換為濃度，只需先測試空白液，再測試待測樣品，就能得知微量的蛋白質濃度。

步驟：

- 1.分別於渦蟲進食時以棉花棒沾取渦蟲咽上的黏液及爬行時的黏液。
- 2.將棉花棒浸入生理食鹽水中。
- 3.利用分光光度計測試步驟 2.溶液對 280nm 的吸收度。

（二）【實驗七、渦蟲黏液成分觀察】

目的：在實驗六中，我們證實 Rhynchodemidae sp.2 咽部位中的黏液蛋白質含量最高。因此我們使用四種性質不同的染劑，針對 Rhynchodemidae sp.2 咽部位的黏液進行染色。

實驗藥品：

1.亞甲藍液

亞甲藍液的染料成分，可與細胞核的核膜表面蛋白形成鍵結，造成顏色分子在細胞核外面聚集、沉澱，借由光學顯微鏡得以觀察到被染色的細胞核。

2.碘液

碘對蛋白質、核酸的吸附較強，所以細胞核的核膜染色色澤較深，因此碘液有助質細胞核的觀察。

3.Trypan blue

Trypan blue 會直接進入死細胞中而呈色。活細胞膜完整且具有選擇性通透性，因此染料無法滲入而不會呈色，由此可得知觀察物是否為活細胞。

4.Coomassie brilliant blue G-250

Coomassie blue 一定範圍內與蛋白質濃度成正比，因此可用於蛋白質的定量測定。蛋白質與 Coomassie brilliant blue G-250 結合在 2 分鐘左右的時間內達到平衡，完成反應十分迅速；其結合物在室溫下 1 小時內保持穩定。此試劑配製簡單，操作簡便快捷，反應非常靈敏，靈敏度比 Lowry 法還高 4 倍，可測定微克級蛋白質

含量，測定蛋白質濃度範圍為 0~ 1000 μ g/mL，是一種常用的微量蛋白質快速測定方法。

步驟：

- 1.將渦蟲放置於載玻片上使其爬行留下黏液。
- 2.分別以亞甲藍液、碘液、Trypan blue、Coomassie brilliant blue G-250 染色。
- 3.以封片膠(Mounting Medium)封片。
- 4.以顯微鏡觀察玻片。

伍、研究結果

一、物種的鑑定

(一) 外型描述

從 2015 年 9 月迄今，在校園花圃及林口國中內共採集了三科、三屬五種陸生渦蟲(見圖 5-1)

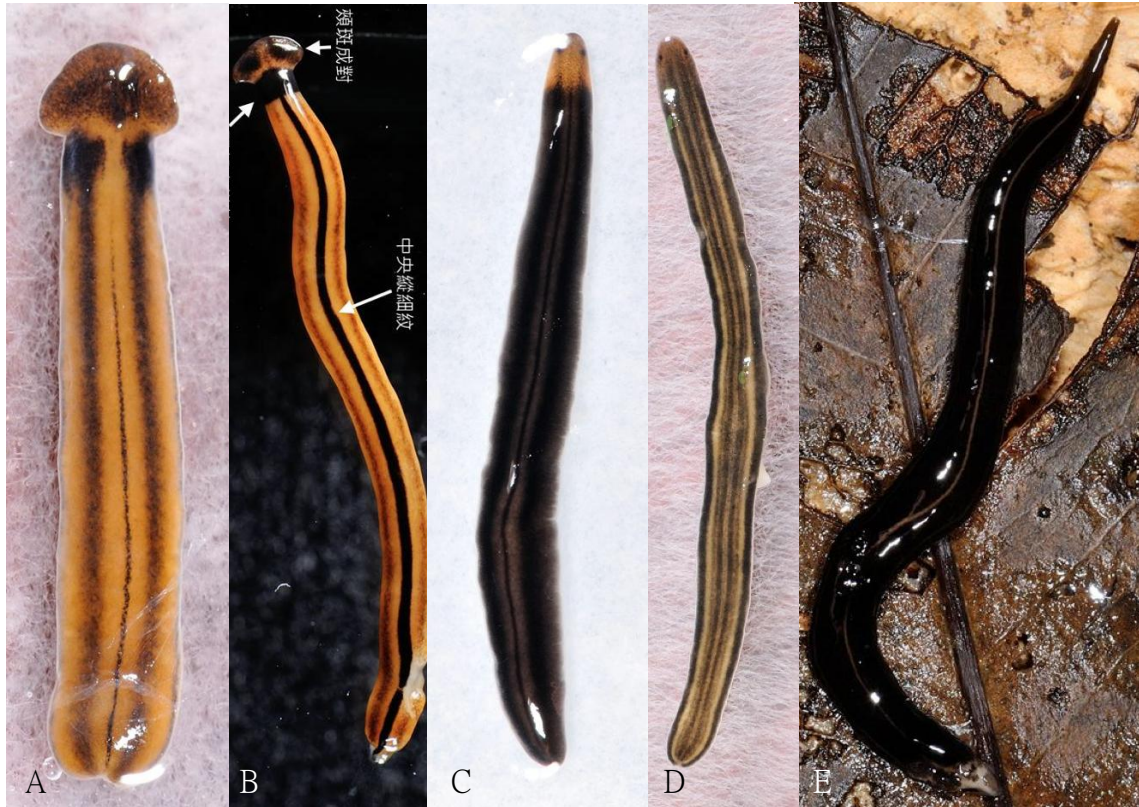


圖 5-1 校園及林口國中內發現的臺灣陸生渦蟲：A. *Bipalium kewense* Moseley, 1878；
 B. 新紀錄種 *Bipalium vagum* Jones & Sterrer, 2005；C. 未知種 Rhynchodemidae sp.1；
 D. 未描述種 Rhynchodemidae sp.2；E.新紀錄種 *Platydemus manokwari* De Beauchamp, 1963

<p>圖 5-1 A Genus <i>Bipalium</i> (廣頭地渦蟲屬) Stimpson, 1857</p> <p><i>Bipalium kewense</i> Moseley, 1878</p>
<p>發現地：新竹實驗高級中學後花園。</p> <p>描述：體長約 10~20cm 不等，寬 0.3~0.7cm，體色主要為土黃色，背側有 5 條條紋，其中第二與第四條較粗，第一及第五條位於身體左右兩側較不易見，頸部有未完全連接的黑色環，廣頭部為棕黑色。腹側有兩條點狀的縱紋，中後段有咽的開口。</p>
<p>圖 5-1 B Genus <i>Bipalium</i> Stimpson, 1857</p> <p><i>Bipalium vagum</i> Jones & Sterrer, 2005</p>
<p>發現地：新竹實驗高級中學後花園。</p> <p>描述：體長約 2~4cm，寬 0.2~0.4cm，背側有三條縱向條紋，中間的較粗為黑色，兩旁較細為褐色，頸部有明顯的完整黑環，廣頭部有成對的頰斑。</p> <p>備註：在百慕達群島、北美洲、台灣中部西側等地皆有發現的紀錄，於 2005 年已有發表的論文，但此種在台灣還未曾發表及登錄。</p>
<p>圖 5-1 C Family Rhynchodemidae (雙眼地渦蟲科) vonGraff,1896</p> <p>Rhynchodemidae sp.1</p>
<p>發現地：新竹實驗高級中學後花園、新竹科學園區靜心湖畔。</p> <p>描述：體長約 3~5sm，寬 0.2~0.4cm，體色為黑色，背側中央有一條縱向黑紋，頭部為橘黃色，可看到明顯的兩個眼點，腹側為淡黃色，咽的開口不明顯。</p>
<p>圖 5-1 D Family Rhynchodemidae vonGraff,1896</p> <p>Rhynchodemidae sp.2</p>

<p>發現地：新竹實驗高級中學後花園、實驗中學正門旁草地。</p> <p>描述：體長約 3~8cm 不等，寬 0.15~0.25cm，背側有四條縱向條紋，中間兩條位於體色灰色處，兩側體色為淡黃色，頭部尖端形前有兩個眼點。</p> <p>備註：在台灣及國外皆沒有被發現的紀錄，因此暫時將此種稱為 <i>Rhynchodemidae</i> sp.2。此種陸生渦蟲在自行斷裂生殖後，部分個體的體色轉變，中央兩條縱紋及灰色體色淡化。在捕食蚯蚓後的一段時間內，體色也有呈現偏紅色的變化。生殖季節可觀察到腹側除了咽的口多了另一開口，初步推測試行有性生殖的生殖口。</p>
<p style="text-align: center;">圖 5-1 E Genus <i>Rhynchodemini</i> (多眼地渦蟲屬) Heinzl, 1929 <i>Platydemus manokwari</i> De Beauchamp, 1963</p>
<p>發現地：新北市林口國中。</p> <p>描述：體長約 6cm，寬 0.4~0.6cm，體色為黑色背側有一條淺色縱紋，頭部較尾端尖細，腹側為淡紫色，咽的開口不明顯。</p> <p>補充：Brain Boag, <i>et,al</i>,2001 , Jean-Lou Justine, <i>et,al</i>, 2014 , Lisando Negrete, <i>et,al</i>, 2015 指出此種渦蟲入侵了北美、日本、法國等地，捕食當地的蝸牛造成原生地的蝸牛數量驟減，已被列為全球百大入侵種。後此入侵種運用於捕食非洲大蝸牛，以防止其分佈地的擴張。</p>

表 5-1 渦蟲外形描述

(二) 棲地數量變化

說明：根據表 5-2，從 2015/10/15 起間隔一至兩個禮拜紀錄校園花園內各種渦蟲的數量。發現雖然兩種陸生渦蟲的捕食行為差異甚大，但族群數目都能維持穩定。棲地中 *Bipalium kewense* 的數量較少，但在半年的觀察紀錄中數目改變甚小。而 *Rhynchodemidae* sp.2 卻始終維持數量上的優勢，但其數量隨著氣溫日漸降低有減少的趨勢，甚至在氣候變遷的影響下，我們在低溫的日子幾乎找不到牠們的蹤影。

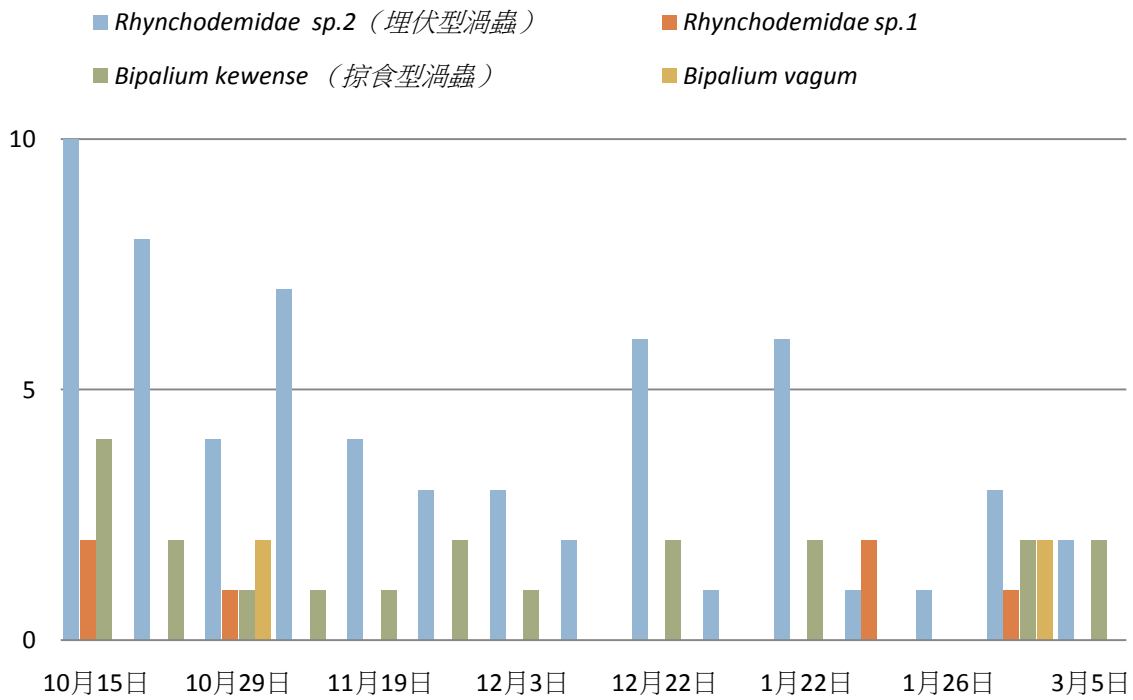


表 5-2 渦蟲數量變化

(三) 組織切片

根據 Wu *et al*, 2005 及 Lisando Negrete *et al*, 2015 指出，由於陸生渦蟲構造原始簡單，必須觀察其皮下層肌肉及生殖構造方能辨別亞科及屬。對照 Lisando Negrete *et al*, 2015 的組織環狀切片，我們初步判別出的性腺以及咽的位置。

在咽構造的組織切片中，我們發現了在咽的底部有一排特殊的上皮構造，呈現針毯狀，並在每隻 *Rhynchodemidae sp.2* 的組織切片中皆有重複觀察到。而此構造為 *Bipalium kewense* 所不具備的，推測為幫助 *Rhynchodemidae sp.2* 在捕食時能在獵物蚯蚓身上以物理性的方式製造開口，供其咽深入皮層下進行吸食的重要構造。

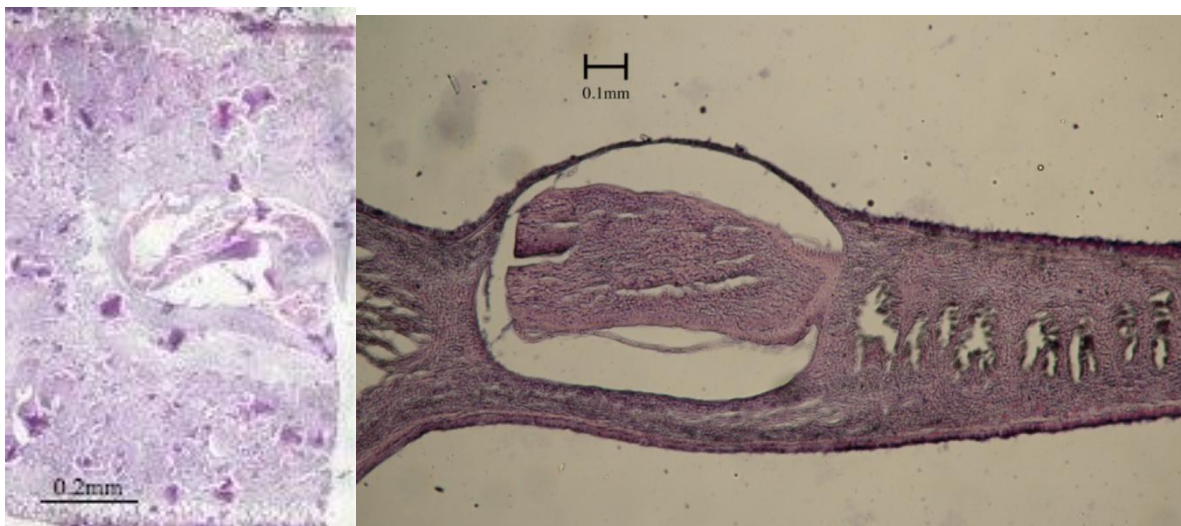


圖 5-2 *Rhynchodemidae sp.2* 咽部位之組織切片（左圖為橫切右圖為縱切）

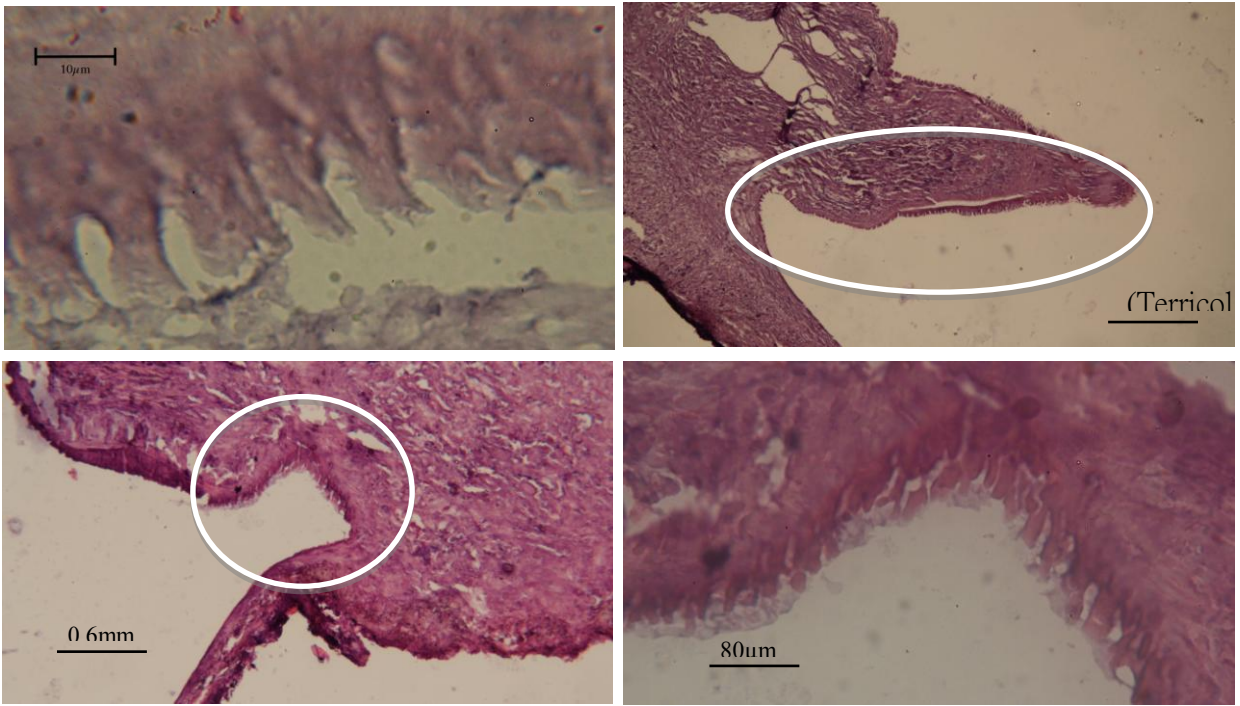


圖 5-3 *Rhynchodemidae* sp.2 咽針毯狀特殊構造

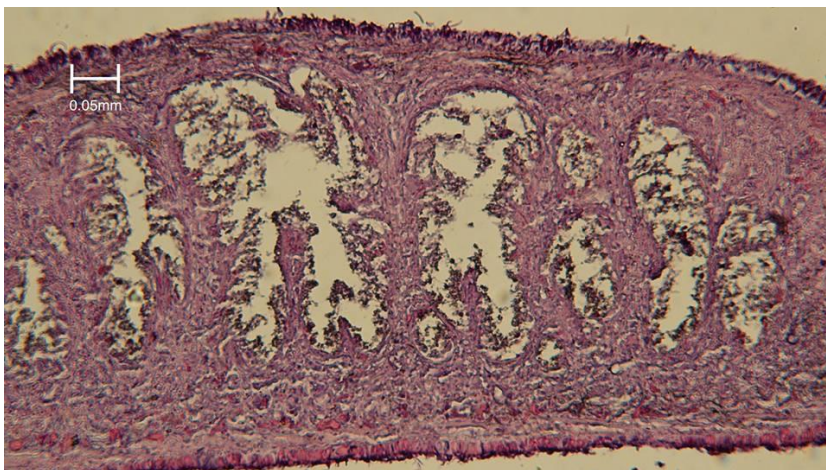


圖 5-4 *Rhynchodemidae* sp.2 肌肉層組織切片

由圖 5-4 可看出 *Rhynchodemidae* sp.2 肌肉層分布為橫向、縱向、橫向的分布。這樣縱橫交錯以及三維的排列有助於 *Rhynchodemidae* sp.2 靈活伸縮身體，利於其爬行與捕食。

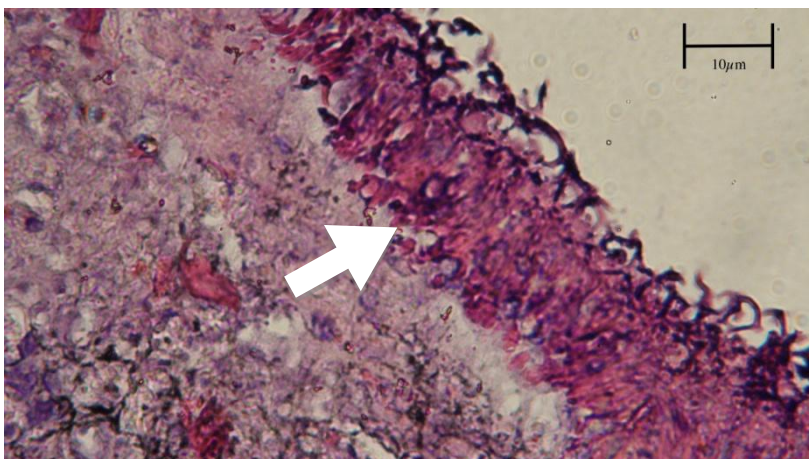


圖 5-5 *Rhynchodemidae* sp.2 體表腺體細胞組織切片

由圖 5-5 可看出 *Rhynchodemidae* sp.2 的體表有大量排列整齊、圓胖狀的腺體細胞 rhabdites，為扁形動物的特徵。

二、*Bipalium kewense* 與 *Rhynchodemidae* sp.2 之生態行為研究

(一) 【實驗一、渦蟲棲地選擇實驗】

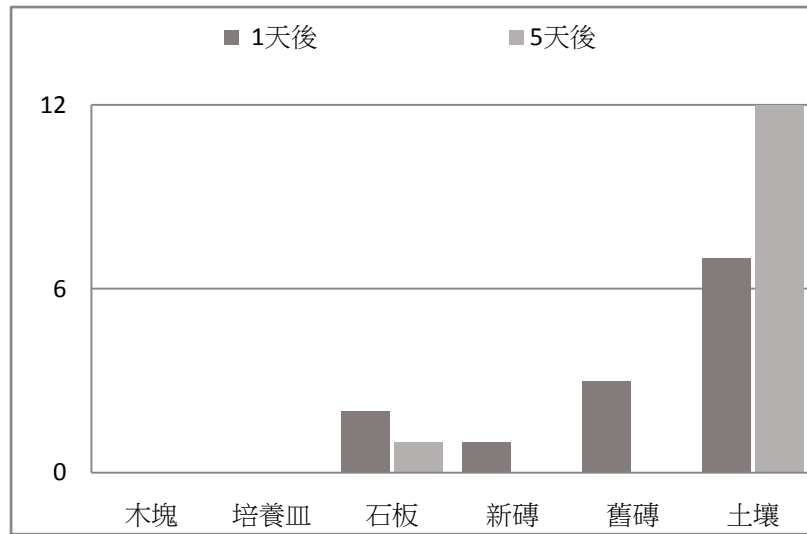


表 5-3 棲地選擇分布

結論：在一天後渦蟲分布在土壤中的數量最多，但在其餘環境也可發現少數的個體；五天後，幾乎全數進入土壤之中。

(二) 【實驗二、食性選擇實驗】

說明：由於沒有明確的文獻紀錄渦蟲的食性，因此實驗渦蟲對不同黏液的偏好，以咽的部位停留在黏液帶上的時間，判斷其食性的偏好。

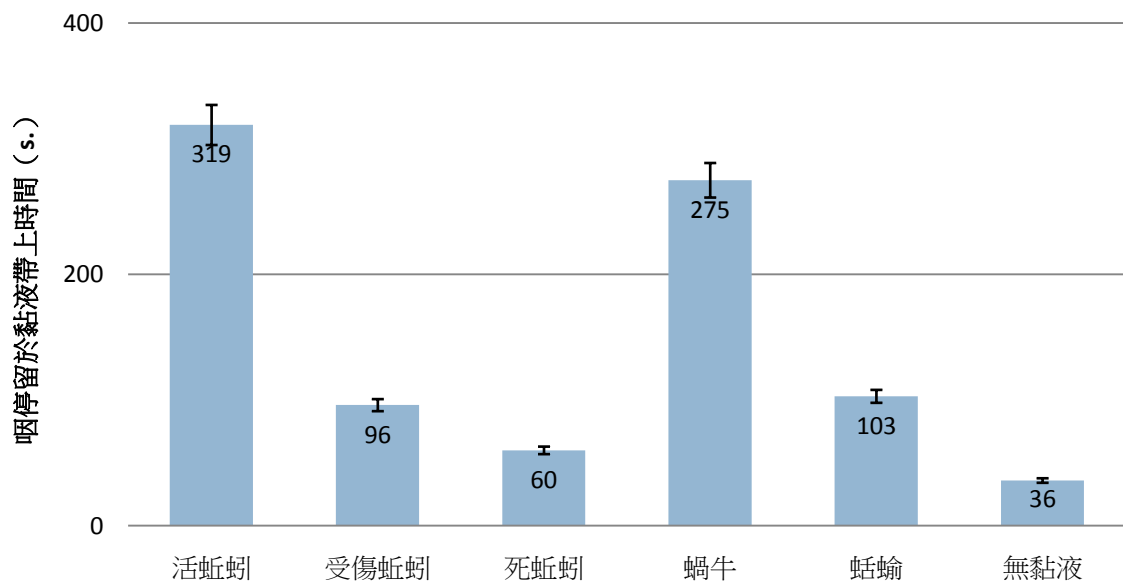


表 5-4-1 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液偏好

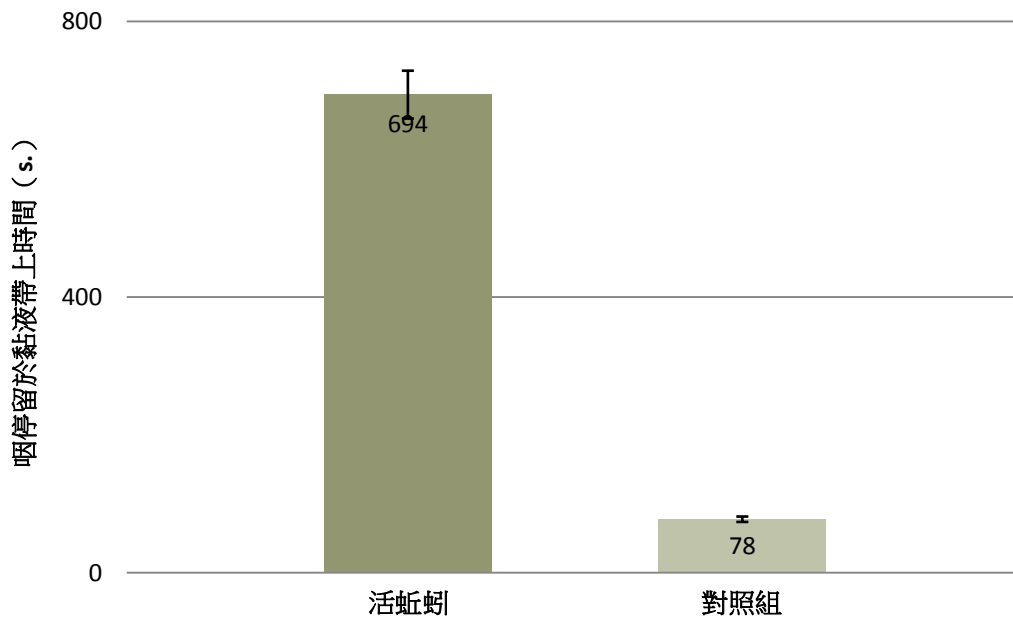


表 5-4-2 *Bipalium kewense* 黏液偏好

結論：Rhynchodemidae sp.2 對於蚯蚓的黏液相對於蛞蝓、蝸牛的氣味或黏液、有偏好的現象，其中也可發現本種停留於死蚯蚓黏液上的時間相較短暫，初步推論本種渦蟲沒有食腐的行為。*Bipalium kewense* 停留於活蚯蚓體液上的時間非常長，符合其食性為蚯蚓的特點。

為了更加確認渦蟲的食性，我們將上述實驗結果中停留時間較長的蛞蝓、蝸牛、蚯蚓與渦蟲共同飼養並隔夜觀察，發現兩種渦蟲的主食皆為蚯蚓，並提供食性選擇的直接證據。

(二) 【實驗三、捕食行為差異比較】

1. *Bipalium kewense*

首先用廣頭部左右探測蚯蚓，頭部接觸到蚯蚓後即用身體前端將獵物纏住，此時蚯蚓全力掙扎。將咽吐出從蚯蚓的表皮外包覆，蚯蚓分泌出大量防禦刺激性黏液，渦蟲在蚯蚓的複測造成三個可見的開口（第一個直徑1mm 後兩個約0.5mm左右），並在數分鐘造成蚯蚓腹側的血管破裂而大失血，待蚯蚓掙扎漸弱，同時渦蟲已將蚯蚓溶化成血水，並將整隻蚯蚓吸食。



圖 5-6-1 運用身體前端及頭部纏繞蚯蚓



圖 5-6-2 體寬增加 1.5 至 2 倍壓制蚯蚓



圖 5-6-3 吐出咽成薄膜狀從外包覆蚯蚓



圖 5-6-4 在蚯蚓的腹側形成多個開口



圖 5-6-5 切斷蚯蚓腹側的主血管，造成蚯蚓大失血，甚至將其扭斷成兩截



圖 5-6-6 將整隻蚯蚓溶成血水待蚯蚓不再強烈掙扎後，整隻完全吸收

2. Rhynchodemidae sp.2

首先爬過蚯蚓的身體數次（有時是蚯蚓主動鑽進渦蟲腹側），最後渦蟲停在蚯蚓體表，將咽伸進蚯蚓體內來回移動吸食蚯蚓體液。蚯蚓的組織越來越少，而形成一條充滿砂土的蚯蚓屍體。



圖 5-7-1 渦蟲爬過蚯蚓身體數次，推測是為將黏液塗抹於蚯蚓體表，以利捕食。

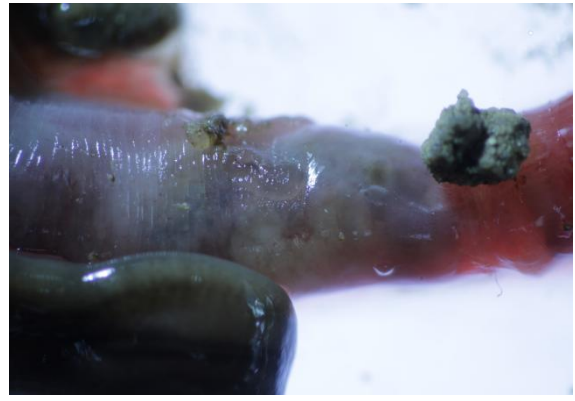


圖 5-7-2 在蚯蚓體表能發現一個渦蟲造成的缺口。



圖 5-7-3 咽（圖片內白色的部份）在蚯蚓體內來回抽移約 20 秒，此時被捕食的蚯蚓無太多的掙扎。



圖 5-7-4 蚯蚓的身體組織逐漸被吸食，留下表皮包覆著沙土。



圖 5-7-5 在渦蟲吸食蚯蚓的開口的另一段，有些蚯蚓的身體會浮腫。

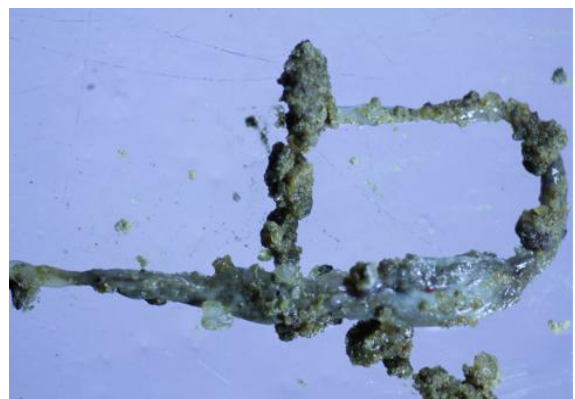


圖 5-7-6 最後渦蟲將蚯蚓吸食至剩表皮包覆著沙土。

根據上述觀察，在約 5 分鐘的掠食行為及後續 50~60 分鐘的進食行為中，發現兩種渦蟲的差異甚大，比較見表 5-5。

	捕食方式	咽的狀況	蚯蚓反應
<i>Bipalium kewense</i> (掠食型渦蟲)	主動追擊，利用頭部及前段身體纏繞蚯蚓。	吐咽包覆蚯蚓，在蚯蚓腹側製造開口切斷主血管，造成蚯蚓大失血。	反應相當大，整隻蚯蚓劇烈跳動或扭動。
Rhynchodemidae sp.2 (埋伏型渦蟲)	無主動追擊，緩慢爬上蚯蚓身體或有時是蚯蚓自己接近渦蟲。	在蚯蚓身上做一個小開口，將咽伸入蚯蚓體內（多為先向蚯蚓尾端）吸收體液，最後蚯蚓變成一條沙土。	攻擊點後的尾端部分完全沒有反應，攻擊點以前有時會輕微擺動或沒有動作。

表 5-5 捕食方式差異比較

(三) 【實驗四-1、選擇渦蟲氣味】

說明：針對上述觀察發現 Rhynchodemidae sp.2 捕食蚯蚓時，作為掠食者的角色並沒有被發現，因此以此實驗證明其隱藏或偽裝自身氣味。

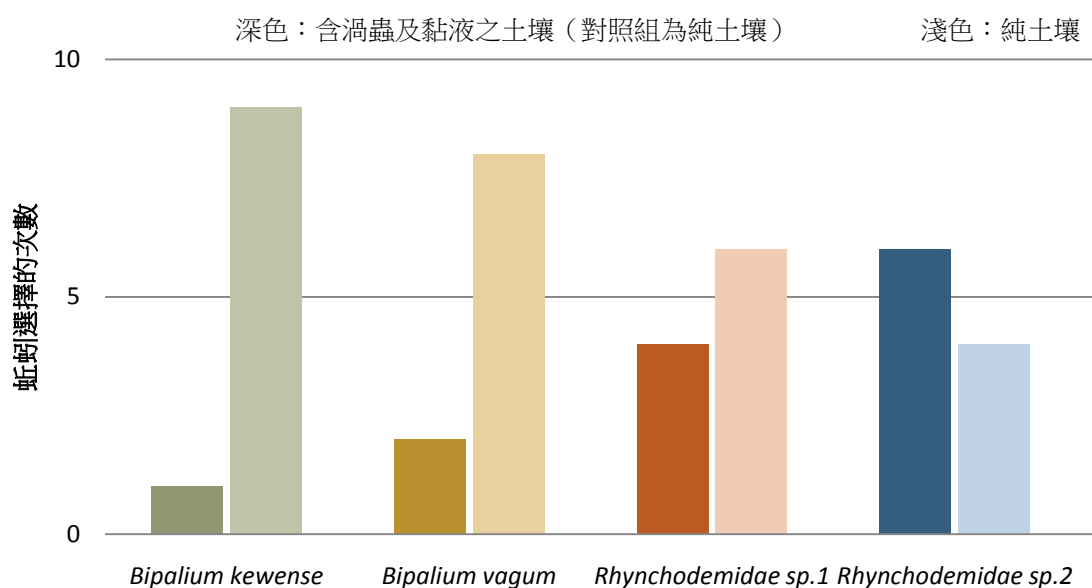


表 5-6 蚯蚓對渦蟲氣味的選擇

結論：蚯蚓厭惡廣頭地渦蟲 *Bipalium kewense* 及 *Bipalium vagum* 的氣味及黏液，但對雙眼地渦蟲 Rhynchodemidae sp.1 及 Rhynchodemidae sp.2 卻無明顯不偏好，且隨機選擇是否靠近。經葉氏連續性校正及卡方檢定，確定廣頭地渦蟲科和雙眼地渦蟲科間存在顯著差異($X^2=4.102$, d.f.=1, $P=0.042$)。

(四) 【實驗四-2、渦蟲黏液作用】

說明：探討 *Bipalium kewense* 及 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液對蚯蚓活動力影響，說明 *Rhynchodemidae* sp.2 捕食蚯蚓前不斷塗抹黏液的舉動對蚯蚓造成的影響。

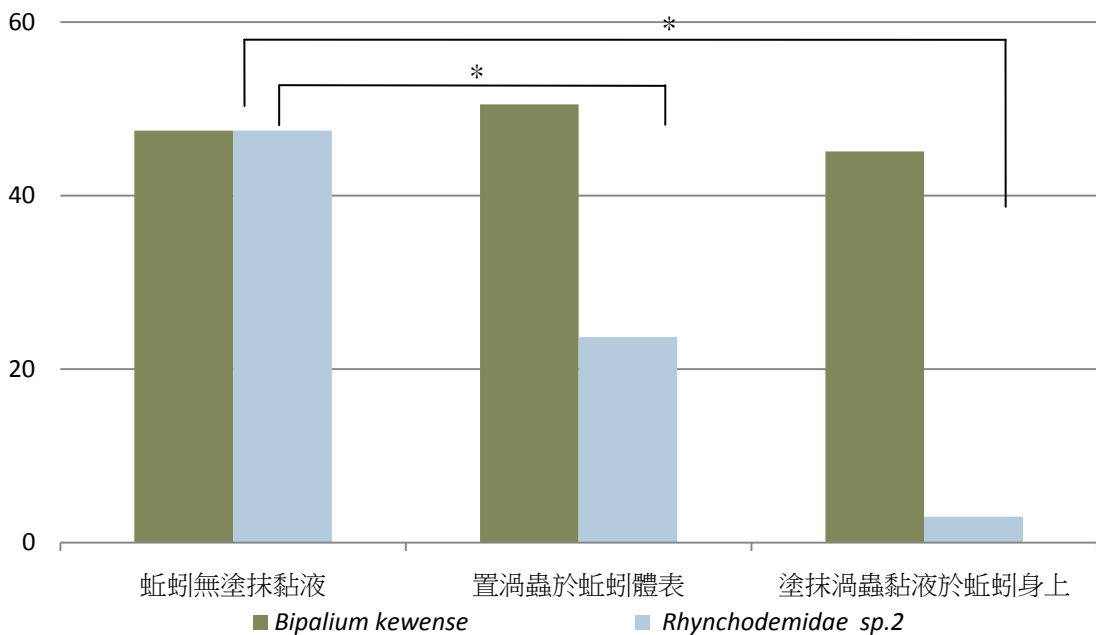


表 5-7 蚯蚓爬行距離改變圖

結論：蚯蚓平時一分鐘內的爬行距離約為 47.5cm。經 anova 分析之後，*Bipalium kewense* 黏液與對照組無顯著差異，無法降低蚯蚓活動力，甚至將 *Bipalium kewense* 與蚯蚓放在一起 5 分鐘後釋放蚯蚓，蚯蚓會因畏懼 *Bipalium kewense* 而快速四散。當 *Rhynchodemidae* sp.2 附著於蚯蚓體表時蚯蚓活動力有下降的趨勢，anova 分析顯示其有顯著差異；在人為塗抹大量 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液於蚯蚓體表後，蚯蚓爬行距離更大幅下降，甚至有少數的蚯蚓不爬行，同樣經 anova 分析後有顯著差異，顯示 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液對蚯蚓活動力有降低的功效。

(五) 【實驗五、蚯蚓組織損傷實驗】

1. *Rhynchodemidae* sp.2

(1) 對照組——皮層

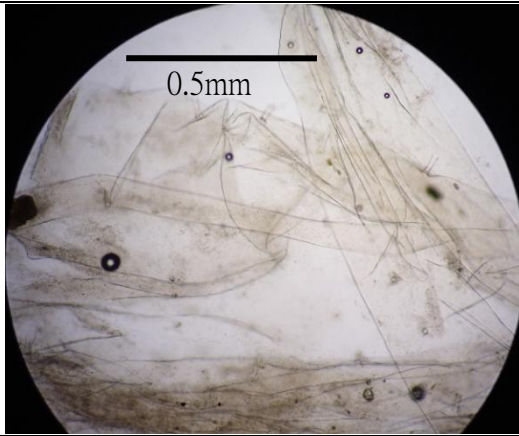


圖 5-8-1 生理食鹽水處理 0 分鐘

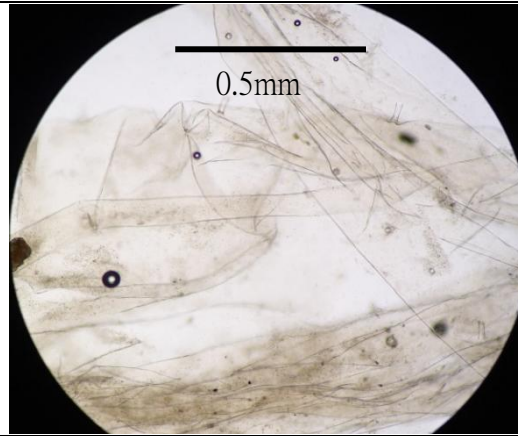


圖 5-8-2 生理食鹽水處理 50 分鐘

(2) 實驗組——皮層+黏液

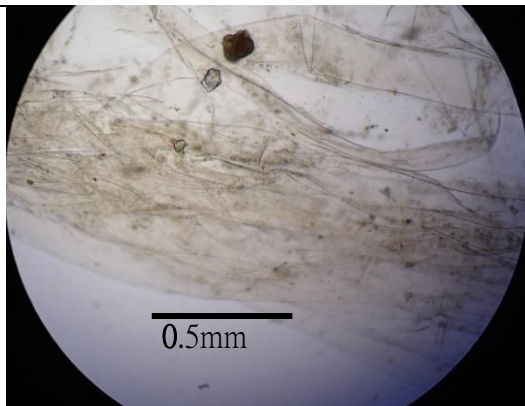


圖 5-9-1 黏液處理 0 分鐘

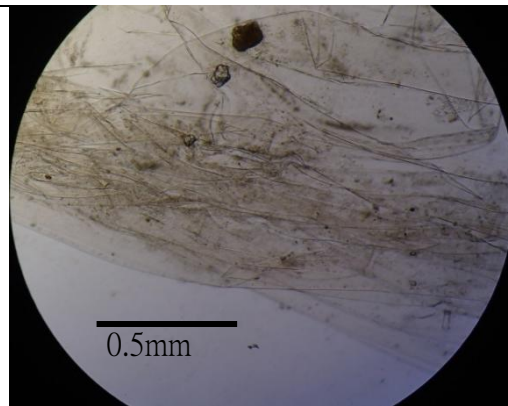


圖 5-9-2 黏液處理 10 分鐘

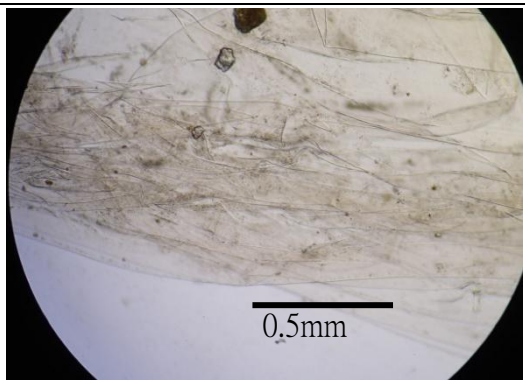


圖 5-9-3 黏液處理 20 分鐘

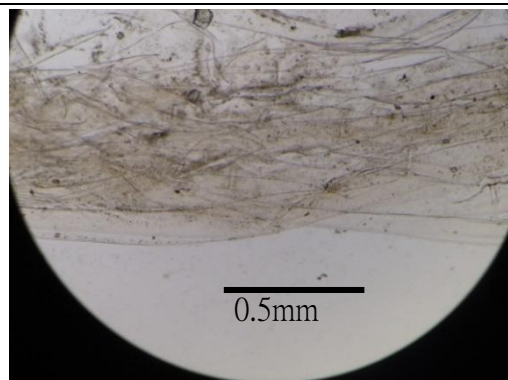


圖 5-9-4 黏液處理 30 分鐘

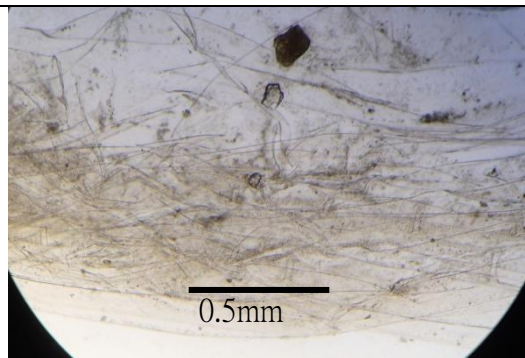


圖 5-9-5 黏液處理 40 分鐘

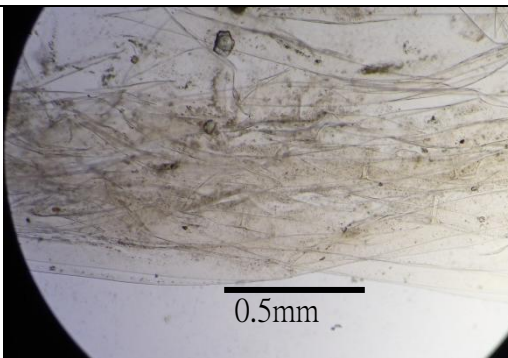


圖 5-9-6 黏液處理 50 分鐘

(3) 對照組——肌肉層

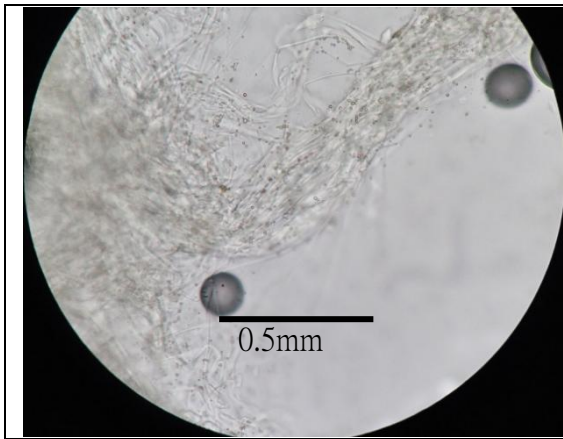


圖 5-10-1 生理食鹽水處理 0 分鐘

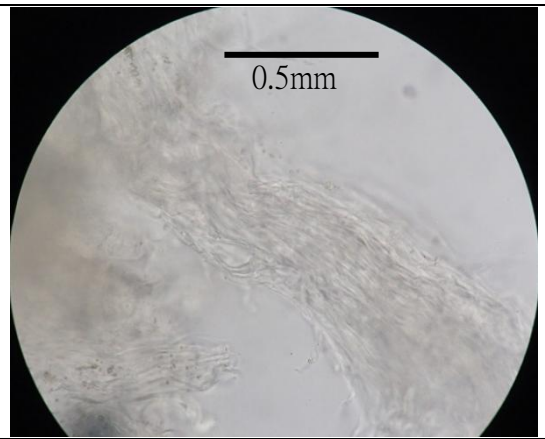


圖 5-10-2 生理食鹽水處理 50 分鐘

(4) 實驗組——肌肉層+黏液



圖 5-11-1 黏液處理 0 分鐘

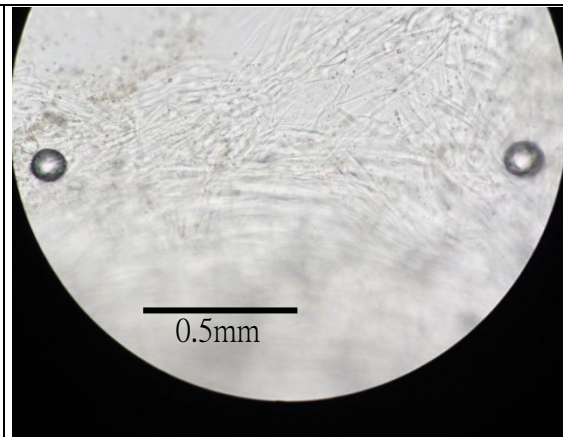


圖 5-11-2 黏液處理 10 分鐘

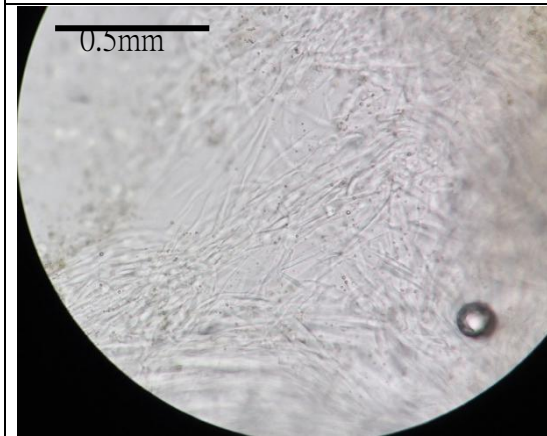


圖 5-11-3 黏液處理 20 分鐘

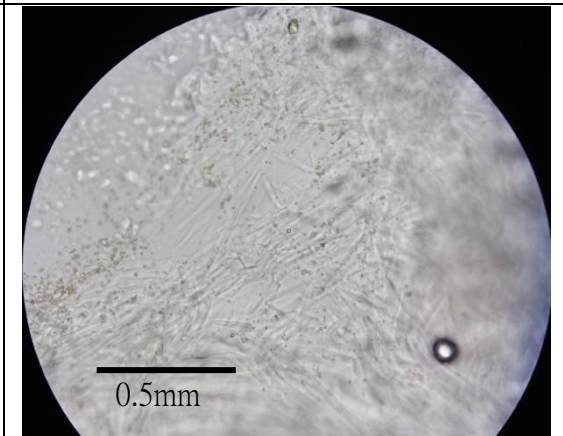


圖 5-11-4 黏液處理 30 分鐘

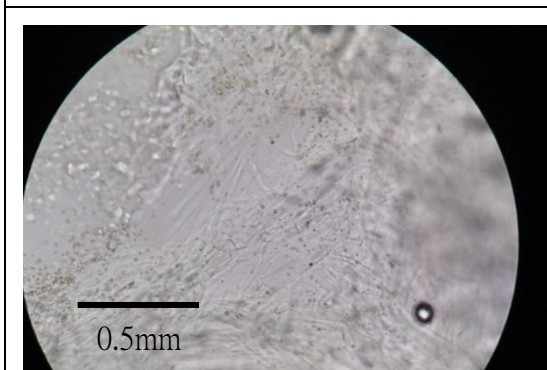


圖 5-11-5 黏液處理 40 分鐘

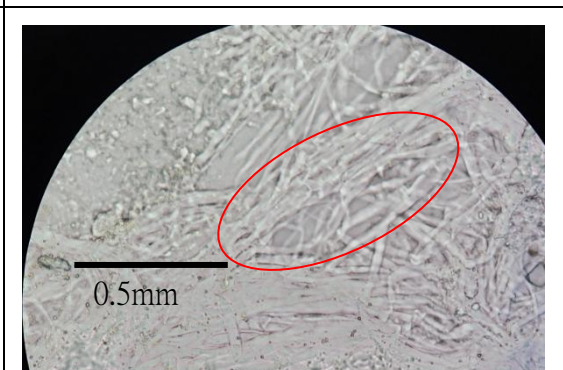


圖 5-11-6 黏液處理 50 分鐘

2. *Bipalium kewense*

(1) 實驗組——皮層+黏液

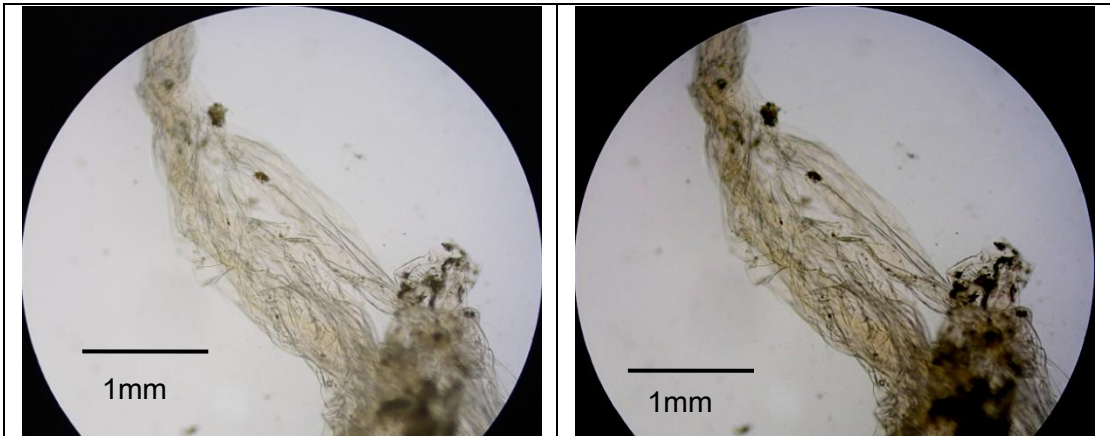


圖 5-12-1 黏液處理 0 分鐘

圖 5-12-2 黏液處理 50 分鐘

(2) 實驗組——肌肉層+黏液

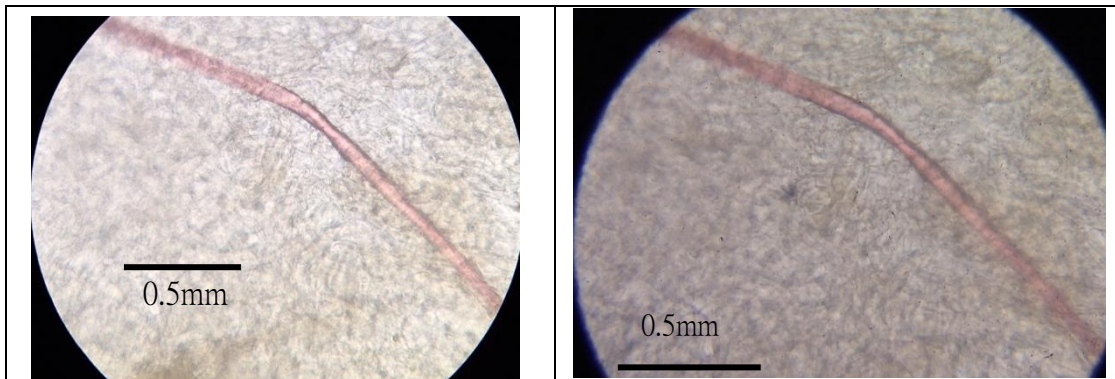


圖 5-13-1 黏液處理 0 分鐘

圖 5-13-2 黏液處理 10 分鐘

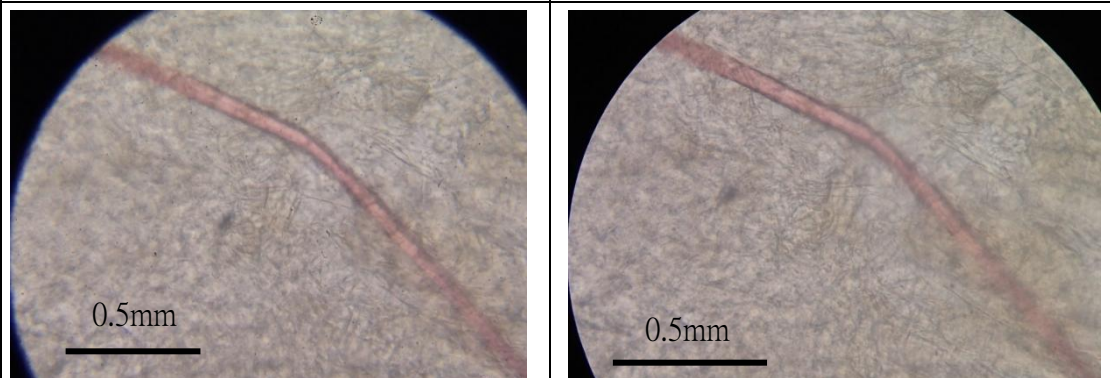


圖 5-13-3 黏液處理 20 分鐘

圖 5-13-4 黏液處理 30 分鐘

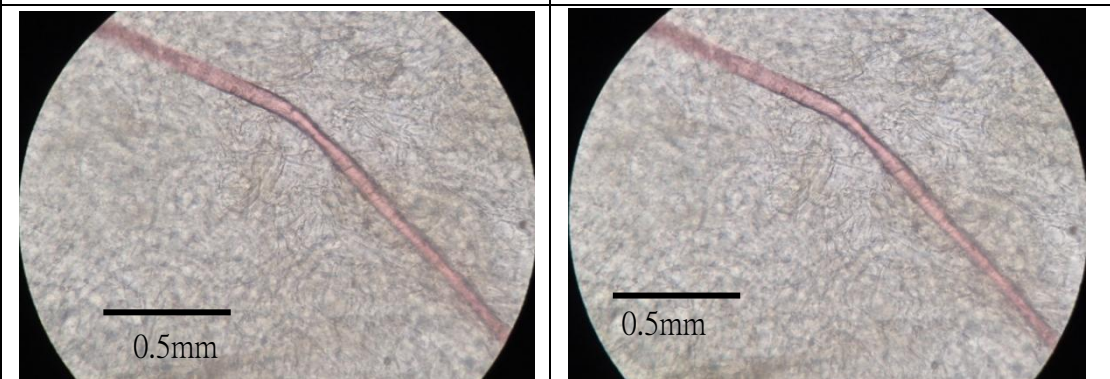


圖 5-13-5 黏液處理 40 分鐘

圖 5-13-6 黏液處理 50 分鐘

結論：*Rhynchodemidae* sp.2 的黏液對蚯蚓皮層無明顯影響但會對蚯蚓肌肉層造成破壞，使其肌肉纖維排列雜亂，且部分組織膨脹。*Bipalium kewense* 的黏液對蚯蚓的皮層及肌肉層則皆無影響。

三、*Rhynchodemidae* sp.2 之生理研究

(一) 【實驗六、*Rhynchodemidae* sp.2 黏液內蛋白質含量檢測】

說明：前述實驗發現渦蟲的黏液對蚯蚓的影響甚大，因此檢測不同部位黏液萃取液的蛋白質含量差異。

結論：咽部位的黏液蛋白質含量(0.121)比爬行時的黏液(0.11)含量高，渦蟲可能利用此種蛋白作為酵素降低蚯蚓的活動力，或利用此種蛋白在蚯蚓體表腐蝕出提供咽進出的開口。

(二) 【實驗七、渦蟲黏液的觀察】

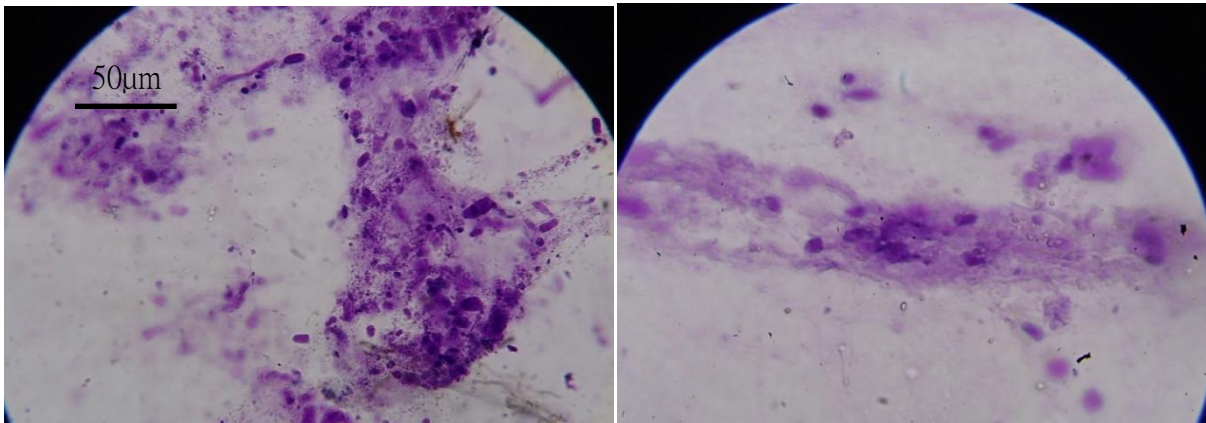


圖 5-14 亞甲藍液染色之 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液

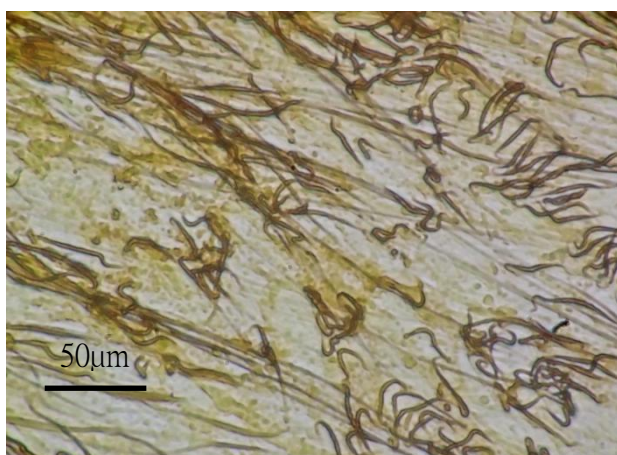


圖 5-15 碘液染色之 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液

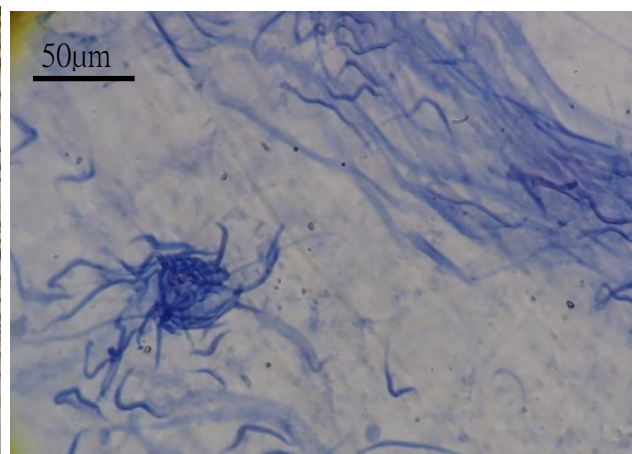
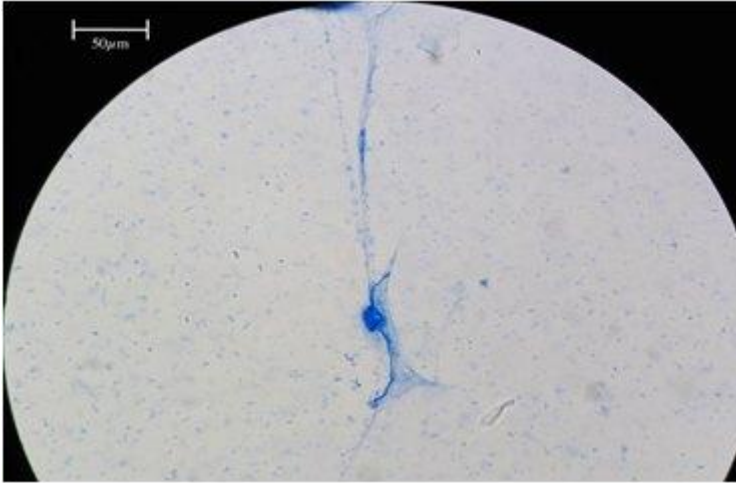


圖 5-16 Trypan blue 染色之 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液

圖 5-17 Coomassie brilliant blue G-250 之 Rhynchodemidae sp.2 黏液



結論：經由亞甲藍液染色後我們發現有黏液中有大量的顆粒物，大小約小於 10µm，初步推測是實驗六檢測到黏液中所含的蛋白。經由碘液染色後發現視野下有大量的條狀物，長度約為 10~20µm，但之中並沒有發現細胞核。使用 Trypan blue 也可發現相同的條狀

物，染劑進入可證明此非活體細胞，由大小推測可能是黏液裡遺留下的纖維或蛋白質遇染劑變性後的結果。最後藉由 Coomassie brilliant blue G-250 染色，證實 Rhynchodemidae sp.2 黏液確實含有特殊蛋白質。

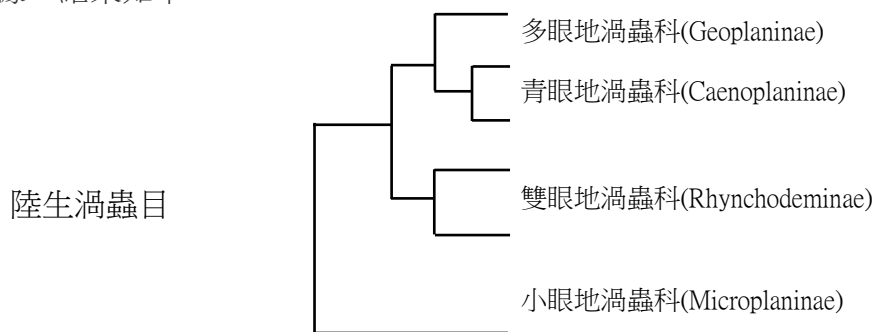
陸、討論

一、渦蟲分類學研究

(一) 在小小的校園花圃及林口國中，我們共發現了 5 種陸生渦蟲，其中只有 2 種為已知種、2 種為未知種甚至還有 1 種為未描述的新種，校園內渦蟲生物多樣性之豐富，證明了陸生渦蟲在土壤底棲中的重要性，但國內卻沒有針對豐富的陸生渦蟲進行深入探討。

(二) 根據 Wu *et al*, 2005，將台灣陸生渦蟲初步分為廣頭地渦蟲科、雙眼地渦蟲科、多眼地渦蟲科，共記錄了 18 種台灣陸生渦蟲，其中只有 *Bipalium kewense* 為已知種，其餘皆為新種。

而在最新一篇 Marta *et al*, 2008 更新了渦蟲的親緣關係，利用 18S rDNA、28S rDNA、COI 作為分類的依據，結果如下：



(三) 目前藉由外型觀察和切片構造，已能大致確定兩種校園渦蟲為廣頭地渦蟲屬 (*Bipalium*) *Bipalium kewense* 及 *Bipalium vagum*，另外兩種為雙眼地渦蟲科 (Rhynchodemidae) Rhynchodemidae sp.1 及 Rhynchodemidae sp.2，以及於林口國中發現的 *Platydemus manokwari*，但仍不能確切鑑定此五種渦蟲的品種。目前已整理五種渦蟲基因庫資料，我們將利用保存於 95% 酒精內的組織做進一步的 DNA 序列比對，以確切鑑定物種。

(四) 在 Rhynchodemidae sp.2 咽構造的組織切片中，多次發現了咽的下緣有整列的特殊上皮構造，呈現針毯狀，仔細觀察其中並沒有細胞核，應為硬質的構造，幫助其撕裂或擴大表蚯蚓的表皮，進食吸食，並且在廣頭地渦蟲 *Bipalium kewense* 咽部位的切片，並沒有觀察到此特殊構造。

(五) 在陸生渦蟲的體表的組織切片可以觀察到大量整齊排列的腺體細胞，呈現圓胖型、棍狀的分布在體表，再次支持的渦蟲黏液對自身的重要性，不只能夠保持身體濕潤，幫助爬行，在掠食行為中也佔有一定的重要角色。

二、Rhynchodemidae sp.2 與 *Bipalium kewense* 生態行為學研究

(一) 渦蟲的食性

由於文獻中提及的各式渦蟲食性無一致性，且一般將渦蟲靠近或包覆蝸牛、蚯蚓、蛞蝓等生物的行為斷定為渦蟲的掠食行為及其食性。我們藉由【實驗二、渦蟲食性實驗】，證實埋伏型渦蟲 Rhynchodemidae sp.2 停留於活體蚯蚓、蛞蝓及蝸牛遺留下的黏液或體液之時間較長，且渦蟲在此實驗中幾乎不停留於死蚯蚓的黏液上，故可推論渦蟲並沒有食腐的行為，在觀察渦蟲捕食行為的過程中也再次證實了這點。而掠食型渦蟲 *Bipalium kewense* 也同樣有明顯將咽停留在蚯蚓黏液帶的行為，符合其食性為蚯蚓的特點。

而將 Rhynchodemidae sp.2 分別和蛞蝓、蝸牛及蚯蚓共同飼養並隔夜觀察，實際錄製其掠食蚯蚓的過程，提供了【實驗二、渦蟲食性實驗】的直接證據，確定蚯蚓為 Rhynchodemidae sp.2 及 *Bipalium kewense* 之主食，符合前述實驗的結果。亦能解釋【實驗一、渦蟲棲地選擇實驗】中，五天後渦蟲幾乎全數進入土壤棲息的現象，是因為渦蟲要捕食的主食蚯蚓主要棲息於土壤。

(二) 陸生渦蟲的兩種捕食模式

藉由【實驗三、捕食行為差異比較】實際觀察 *Bipalium kewense* 及 Rhynchodemidae sp.2

之掠食過程，發現兩者有著巨大的差異：*Bipalium kewense* 以主動追擊的方式，以物理性的攻擊、纏繞蚯蚓為主要的捕食行為，此種行為與 Fiore C *et al*, 2004, Maria E.T. Prasniski *et al*, 2009, Jean-Lou Justine *et al*, 2014, Brian Boag *et al*, 2001 中所描述的渦蟲捕食行為相同，我們在校園花圃中渦蟲的原棲地也拍攝到一樣的行為，說明實驗室內與原棲地渦蟲捕食行為模式無太大差異；但 *Rhynchodemidae* sp.2 則以被動的方式捕食，有時甚至是蚯蚓主動接近而被捕食，其塗抹黏液並在蚯蚓身上製造切口、咽在蚯蚓體內活動的情形，這些行為皆尚未在任何論文中有記錄。

在組織切片的觀察中，唯有 *Rhynchodemidae* sp.2 咽的下緣有特殊的針毯狀上皮構造，推測 *Rhynchodemidae* sp.2 利用此構造得以在蚯蚓的體表撕裂或擴大一個開口，並順利將咽深入皮層下吸食蚯蚓。*Rhynchodemidae* sp.2 不再以多數文獻描述的物理性攻擊模式，而是先隱藏自身氣味靠近蚯蚓不被察覺，在多次塗抹黏液降低蚯蚓的活動力，利用針毯狀構造撕裂開口並將管狀有力的咽深入皮層下，注入黏液以溶解蚯蚓肌肉層，眾多捕食機制皆是針對其主食蚯蚓而為。

（三）埋伏型渦蟲黏液在捕食行為中扮演重要的角色

在觀察渦蟲掠食時，發現蚯蚓對 *Bipalium kewense* 及 *Rhynchodemidae* sp.2 接近時的反應不同，為瞭解造成兩者有如此大差異之原因，我們藉由【實驗四-1、渦蟲氣味實驗】發現蚯蚓十分厭惡 *Bipalium kewense* 散發出的氣味，但卻完全無法察覺 *Rhynchodemidae* sp.2 所散發之氣味，推測 *Rhynchodemidae* sp.2 能爬至蚯蚓背上而不被蚯蚓察覺的重要原因是其黏液有能偽裝或掩飾自身的氣味的特點。

另外發現渦蟲分泌黏液除了保持身體濕潤、有助爬行外，也可用於困住爬行速度較快的蚯蚓，在【實驗四-2、渦蟲黏液實驗】中，當蚯蚓身上沾滿 *Rhynchodemidae* sp.2 黏液時，黏液能困住蚯蚓並降低其活動力，使爬行速率緩慢許多甚至不動，是 *Rhynchodemidae* sp.2 掠食行為中獵物幾乎不會反抗的部分原因。

藉由【實驗五、蚯蚓組織損傷實驗】得知 *Rhynchodemidae* sp.2 分泌的黏液可以對蚯蚓的肌肉層造成破壞，利用此種黏液的化學特性分解蚯蚓的肌肉層。*Rhynchodemidae* sp.2 完全消化一隻蚯蚓費時約 1 小時，將其黏液塗抹於蚯蚓完整的表皮上，50 分鐘後表皮仍保持完整，故推論 *Rhynchodemidae* sp.2 是利用針毯狀的特殊構造形成開口，再將咽深入吸食

黏液溶解後的肌肉層組織。

上述三項實驗發現了 Rhynchodemidae sp.2 黏液的作用，分別為降低蚯蚓活動力、隱藏自身氣味及損害蚯蚓肌肉層，這些機制在文獻中尚未有紀錄，而這些黏液的作用皆是 Rhynchodemidae sp.2 針對捕食蚯蚓的特殊機制。Rhynchodemidae sp.2 不僅存在體型上的劣勢，又不主動追擊獵物，異於典型的陸生渦蟲掠食行為：主動追擊並以身體纏繞緊勒獵物。我們的發現說明捕食行為差異是因 Rhynchodemidae sp.2 具備特殊捕食機制。

三、埋伏型渦蟲黏液探究

從【實驗六、黏液蛋白含量分析】發現咽的黏液蛋白質含量最高，此結果說明渦蟲在欲捕食蚯蚓時，咽的黏液可能會釋出更多特殊蛋白。在【實驗七、渦蟲黏液成分觀察】中觀察其黏液發現有大量的顆粒物包覆在渦蟲的黏液內，大小小於 10 μ m，利用考馬思亮藍 G250 檢測，確定為蛋白質顆粒，並初步推測是【實驗六、黏液蛋白含量分析】檢測到黏液中所含有的蛋白質，大小、形狀和在碘液染色中發現的條狀物相似，所以應該不是物質遇碘液變性後的結果，但為何種物質還待進一步的確認，與渦蟲捕食機制的關係也是值得探討的方向。

柒、結論

- *Bipalium kewense* 及 Rhynchodemidae sp.2 為掠食性動物，其獵物主要為蚯蚓。
- *Bipalium kewense* 主動追擊蚯蚓，利用強健的肌肉層進行物理性的攻擊； Rhynchodemidae sp.2 以被動的方式掠食，具特殊機制，能不被蚯蚓察覺，捕食過程蚯蚓也不會掙扎。
- Rhynchodemidae sp.2 的捕食機制包含隱藏自身氣味、降低蚯蚓活動力及損傷蚯蚓肌肉層。
- Rhynchodemidae sp.2 針對蚯蚓的捕食機制說明對其棲地選擇為土壤、食性選擇為掠食蚯蚓。
- Rhynchodemidae sp.2 黏液具有疑似幫助捕食的蛋白。

捌、未來展望

目前將渦蟲保留成酒精標本，並也蒐集已知種的相關基因資料，期待在未來能進行 DNA 基因序列比對以鑑定品種，確定我們所發現的渦蟲是否為新種。另外，一種生物能無聲無息地接近獵物然後掠食，這個機制十分值得研究，但礙於儀器及專業技術不足，無法確切證明渦蟲是否是利用黏液中的蛋白質完成掠食，或是證明渦蟲在捕食時會再釋放出其他物質幫助其不被蚯蚓察覺。扁形動物們因為相當的原始，並沒有發展出高層次的構造，但藉由其特殊

機制，渦蟲仍可捕食蚯蚓而存活。由於世界上關於渦蟲的描述和研究數量不多，在台灣的紀錄資料也不甚齊全，我們期許能在未來能對台灣發現的渦蟲進行鑑種，建立索引表，並且更進一步研究牠們掠食的機制，為台灣生物的基礎研究盡一份心力。

玖、參考文獻

一、中文文獻

(一) 謝宜敏 (民 78) · 蚯蚓的利用與養殖 · 台北市：五洲

二、外國文獻

(一) Shi-Kuei Wu, Masaharu Kawakatsu, Kuang-Yang Lue, Jeng-Di Lee, Chi-Li Tsai, Hsu-Hong Lin, Ronald Sluys and Gen-Yu Sasaki (2005). A Preliminary Study on Land Planarians of Taiwan.

(二) Piter K. Boll, Ilana Rossi, Silvana V. Amaral and Ana Leal-Zanchet(2015).A taste for exotic food: Neotropical land planarians feeding on an invasive flatworm.

(三) Fiore C, Tull JL, Zehher S, Ducey PK(2004). Tracking and predation on earthworm by invasive terrestrial planarian *Bipalium adventitium* (Tricladida, Platyhelminthes).

(四) Maria E.T. Prasniski, Ana M. Leal-Zanchet(2009). Predatory behavior of the land flatworm *Notogynaphallia abundans*(Platyhelminthes:Tricladida)

(五) Ng TP, Saltin SH, Davies MS, Johannesson K, Stafford R, Williams GA(2013). Snails and their trails: the multiple functions of trail-following in gastropods.

(六) Lisando Negrete, Ana Maria Leal-Zanchet and Francisco Brusa(2015). A new species of *Notogynaphallia* (Platyhelminthes, Geoplanidae) extends the known distribution of land planarians in Chacoan province (Chacoan subregion), South America.

(七) C. N. Sun, S. B. Cheng Chew and H.J. White(1979). The Fine Structure of Smooth Muscle in *Bipalium Kewense* Moseley, Its Possible Relation to Evolution of Skeletal Muscle.

(八) Jean-Lou Justine, Leigh Winsor, Delphine Gey, Pierre Gros, Jessica Thévenot(2014).The invasive New Guinea flatworm *Platydemus manokwari* in France, the first record for Europe: time for action is now.

(九) Brian Boag, Gregor W. Yeates (2001). A potential impact of the New Zealand flatworm, Predator of earthworms, in Western Europe.

(十) Peter K. Ducey, Matthew McCormick and Elizabeth Davidson(2007). Natural History Observations on *Bipalium c.f. vagum* Jones and Sterrer (Platyhelminthes: Tricladida), a Terrestrial Broadhead Planarian New to North America.

(十一) M. Kawakatsu, R. Sluys, and R. E. Ogren(2005). Seven new species of land planarian from Japan and China (Platyhelminthes, Tricladida, Bipaliidae), with a morphological review of all Japanese bipaliids and a biogeographic overview of Far Eastern species.

(十二) Marta Alvarez-Presas, Jaume Baguna, Marta Riutort(2008). Molecular phylogeny of land and freshwater planarians(Tricladida, Platyhelminthes): From freshwater to land and back.

(十三) M Alvarez-Presas, F Carbayo, J Rozas, M Riutort(2011). Land planarians (Platyhelminthes) as a model organism for fine-scale phylogeographic studies: understanding patterns of biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest hotspot.

(十四) E.M Lazaro, R Sluys, M Pala, G.A Stocchino, J Bagna, M Riutort(2009). Molecular barcoding and phylogeography of sexual and asexual freshwater planarians of the genus *Dugesia* in the Western Mediterranean (Platyhelminthes, Tricladida, Dugesiidae).

【評語】 052005

研究不同的渦蟲的捕食行為，發現有一類的渦蟲（埋伏型）會分泌黏液困住蚯蚓，破壞其肌肉層，再吸食其體液。作者並初步鑑定此類渦蟲黏液內含有蛋白質。工作新穎，內容豐富，具相當的創意。