

2012 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

編號：050013

作品名稱

Complicated reproductive system in the Brown-foot Ant,
Technomyrmex brunneus. (Hymenoptera: Formicidae)

得獎獎項

大會獎：一等獎

候補作品：1

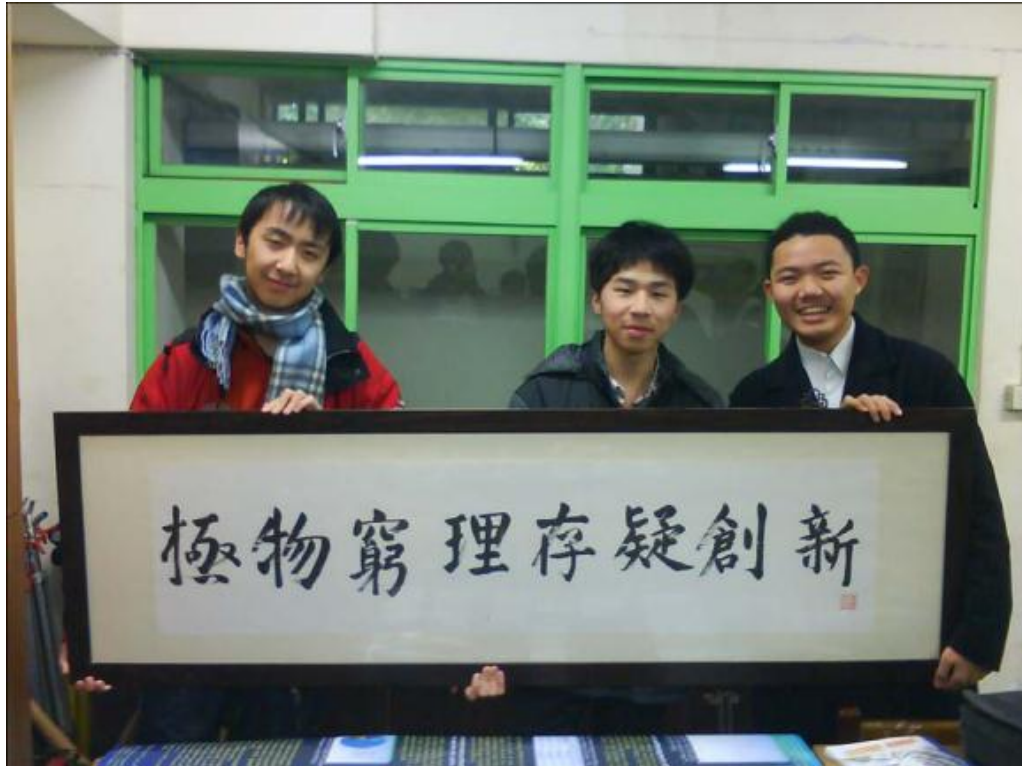
作者姓名：林廷諭、陳丰陽、徐伯瑋

就讀學校：國立臺灣師範大學附屬高級中學、
臺北市立建國高級中學

指導教師：鍾兆晉、張瑜紋

關鍵字：棕色扁琉璃蟻(*Technomyrmex brunneus*)、
工蟻型雄蟻(ergatoid males)、
生殖衰退(reproductive decline)

作者簡介



林廷諭，目前就讀師大附中三年級。從小對各種事物抱持極大的好奇心，對於未嘗試過的事情都想去探索、了解。有幸於國中遇到鍾老師，使我的各項能力精進不少，在他的帶領之下進行科學研究，至今已經有五年的时间。研究過程中，我學到的不僅是書中的知識，更學習到了寶貴的科學研究精神，也深刻了解到團隊與分工合作的重要性。感謝一路上不斷支持我的父母、師長、同儕以及所有幫助過我的朋友，因為有你們，才有今天的我。

陳丰陽，目前就讀師大附中高三數理資優班，從小因為在爺爺鄉下的老家長大，常喜歡在田野大自然間四處探險，那時便深深迷戀於大自然探索不盡的奧妙。升上國中以後有機會接觸到了科展，便踏上了探索未知世界的研究旅程，而更完全地沉浸於發現新知的喜悅，樂在其中。在這段歷程中也參加過了多次科展，亦曾參加台灣昆蟲年會的海報展示，從中獲得了許多經驗。這次研究中，我不但驚喜於意外的新發現，更因一步步的研究逐漸探索到解答而感到喜悅，這次尤為難得的經驗。感謝所有老師、家人與朋友給我的支持，我才得以如此順利的向前邁進，也希望未來我亦能夠為世界帶來一些貢獻。

徐伯瑋，目前是建國中學三年級的學生。上國中時我有幸參加林口國中自然科學研究社，並接受老師指導，開始接觸螞蟻。透過科展，我希望能在科學的領域有所成長，並以自己所學，帶領同樣具有熱忱的學弟妹。這次的研究中，除了要感謝指導老師與同組組員的照顧與體諒，更有許多老師、學長和學姐的大力幫忙，這樣子的實驗，若非大家支持，一個人肯定無法成就的吧。

摘要

本研究主要針對棕色扁琉璃蟻的生殖型蟻以及其生殖行為進行探討。在生殖季節中，處女蟻后出現的比例明顯高於有翅型雄蟻。而蟻后的死亡率高，且其所產下的卵有 27% 為畸型卵，具有生殖衰退(reproductive decline)的現象。此外，部分棕色扁琉璃蟻聚落中，蟻后會被工蟻逐出巢外並進行搬運屍體、搬運廢棄物及覓食等職蟻的行為。

有別於大多數的蟻種，棕色扁琉璃蟻存在著工蟻型雄蟻(Ergatoid male)和具有生殖能力的工蟻。工蟻型雄蟻的外型與氣味皆與一般工蟻相似，羽化後即具有生殖能力，可與聚落中多隻生殖型工蟻行多次交配(multiple mating)；而可生殖的工蟻又包含三種中間階級(intercaste)，於體長、複眼數目、胸線皆有所差異，微卵管數目則可依階級分為 4 至 6 條、12 至 14 條、18 至 22 條三種範圍。

棕色扁琉璃蟻的繁衍方式是多樣且複雜的：聚落中主要由生殖型工蟻進行有性生殖及孤雌產雌，繁殖出蟻后、工蟻和二種型態的雄蟻。而蟻后則可與有翅型雄蟻交配，但只產出一般工蟻及生殖型工蟻。

本研究首次提出了棕色扁琉璃蟻具有工蟻型雄蟻，而對這種具有複雜生殖方式的社會結構之探討，也為聚落發展的方式提供了一個新的研究方向。

Abstract

The main purpose in this study is to realize the reproductive strategies in *Technomyrmex brunneus*. During the reproductive seasons, the numbers of virgin queens are significantly more than the alated males. At the same time, the reproductive decline of queens is obvious. Queens were exiled from the nest by workers, so they would perform the task of workers. Also, different from other ant species, we found ergatoid males and reproductive workers in this species. The ergatoid males' size, appearance and cuticular hydrocarbons are similar to ordinary workers', which enable them to mate with reproductive females in the colony. According to body size, numbers of ocelli and other inter morphics, reproductive females can be divided into three different intercastes. Finally, the reproductive strategies in the *Technomyrmex brunneus* is complicated, including sexual reproduction and thelytokous parthenogenesis by reproductive workers, which lay queens, workers, alated males, and ergatoid males. However, queens can only mate with males, laying ordinary workers and reproductive workers. This is the first record of ergatoid male in the *Technomyrmex brunneus*. This work opens up new perspectives for studies in various methods of reproductive system and the development of ant colonies.

Complicated reproductive system in the Brown-foot Ant, *Technomyrmex brunneus*. (Hymenoptera: Formicidae)

壹、前言

棕色扁琉璃蟻(*Technomyrmex brunneus*)分佈於台灣、印度、斯里蘭卡、中國及越南等地，為野外常見的蟻種，最常出現於朽木中，也可於土壤、落葉堆發現其蹤跡。其工蟻體長約 3 毫米至 4 毫米之間，鑑定時可從頭楯、觸角的節數及腰節的數量做為區分(Forel. 1895)。

一般而言，螞蟻的生殖季節主要為梅雨季前後，其間各聚落會出現大量的有翅型雄蟻(alated male)以及部分的有翅蟻后(virgin queen)。經過大規模的婚飛(nuptial flight)和激烈的雄性競爭(male competition)，成功交配的蟻后会找尋適合的地點築巢，建立新聚落(colony)。

根據蟻后建立聚落的方式，可將螞蟻分為不同種的生殖類型：單一蟻后繁殖(Monogyny)，如切葉家蟻屬(*Atta*)；一般的多后繁殖(Facultative polygyny)，如山蟻屬(*Formica*)；彼此不相容的多后繁殖(Oligogyny)，如木害巨山蟻(*Camponotus ligniperdus*)；巢中多后但僅有一蟻后繁殖(Functional monogyny)，如窄胸家蟻屬(*Leptothorax*)；工蟻交配且產卵(Gamergate)，如雙稜針蟻屬(*Diacamma*)；孤雌產雌(thelytoky)，如畢氏粗角蟻(*Cerapachys biroi*)；以及出現工蟻型雄蟻並於巢內自交，如扁琉璃蟻屬(*Technomyrmex*)。(Heinze et al, 2000; Hölldobler et al. 1990; Heinze et al. 1995; Rabeling et al. 2009)。

前人的研究中顯示，光滑管琉璃蟻(*Ochetellus glaber*)的工蟻可以未經交配而產下未受精卵(林穀政等,2008)，且能夠正常地發育，羽化出工蟻(林威任等, 2010)。而野外的光滑管琉璃蟻聚落也因此多為由生殖型工蟻(egg-laying worker)領導的大型缺后聚落(queenless colony)。但我們經過查證，在最近一次的分類中，上述三項研究中所提到的光滑管琉璃蟻被重新分類為棕色扁琉璃蟻；另外，我們以解剖顯微鏡更進一步的觀察棕色扁琉璃蟻聚落，發現蟻巢中存在著工蟻型雄蟻(Ergatoid male)，因此棕色扁琉璃蟻的生殖型工蟻的孤雌產雌(Thelytokous Parthenogenesis)行為(陳丰陽等,2011) 還有待進一步確認。

據此，棕色扁琉璃蟻複雜的繁衍方式仍有很大的探討空間。在本研究中，我們觀察棕色扁琉璃蟻生殖型蟻(處女蟻后、生殖型工蟻、有翅型雄蟻、工蟻型雄蟻)的出現時間和造成其出現的因素，並更進一步的探討其生殖方式、在聚落中的行為以及其在整個棕色扁琉璃蟻聚落繁衍的過程中所扮演的角色。對此，我們將利用掃描式電子顯微鏡、GC/MS、以及基因檢測等方式來進行我們所需的實驗分析。

貳、研究目的

本研究主要針對棕色扁琉璃蟻生殖型蟻做探討。為了瞭解生殖型蟻的特性以及其在聚落扮演的角色，我們除了比較牠們的外型與行為，亦針對生殖的部份進行探討，希望了解各種不同生殖策略對整個蟻巢的優劣與差異。最後，我們對棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍方式進行探討，以了解其生殖模式。本研究欲探討之問題如下：

一、棕色扁琉璃蟻生殖型蟻之探究

(一) 生殖型蟻綜合比較

1. 生理構造之觀察。
2. 死亡率的統計。
3. 檢驗染色體套數。

(二) 處女蟻后和有翅型雄蟻之分析

1. 於聚落中出現的時間。
2. 性別比例。
3. 處女蟻后的斷翅率。

(三) 工蟻型雄蟻分析

1. 在聚落中所佔的比例。
2. 與工蟻的表面碳氫化合物之比較。
3. 交配行為的探討
4. 影響其出現的因素及出現的時間。

(四) 蟻后的分析

1. 產卵的畸形率。
2. 死亡率的統計。
3. 在聚落中的分工行為。
4. 生殖方式。

(五) 工蟻中間階級(intercaste)分析

1. 檢驗其生殖方式。
2. 比較產卵能力。
3. 在聚落中的分工行為。
4. 解剖比較內部構造。

二、建立棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍模式

參、研究材料與方法

一、棕色扁琉璃蟻生殖型蟻之探究

(一) 生殖型蟻綜合比較

1. 生理構造之觀察。

(1) 以解剖顯微鏡觀察

為了要了解棕色扁琉璃蟻生殖型蟻生理構造，我們取數個棕色扁琉璃蟻聚落，以二氧化碳迷昏後，取出處女蟻后、有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻和工蟻各數隻，於解剖顯微鏡下觀察，並拍攝照片紀錄，比較其差異。



圖一、用以拍攝照片的解剖顯微鏡。

(2) 以掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscope, SEM)觀察

- 取數個棕色扁琉璃蟻聚落，以二氧化碳迷昏後，取出處女蟻后、有翅型雄蟻、工蟻型雄蟻和三種不同大小的工蟻各二隻，隨後以酒精濃度梯度法將其脫水。
- 首先將螞蟻泡入濃度 25%的酒精中，置入超音波清洗機震盪三分鐘。
- 將螞蟻取出，泡入濃度 50%的酒精中，靜置十分鐘。
- 將螞蟻取出，泡入濃度 95%的酒精中，靜置十分鐘。
- 重新替換濃度 95%的酒精，再靜置十分鐘。
- 將螞蟻取出，以 50℃烘乾十二小時，即為乾燥標本。



圖二、乾燥棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的螞蟻標本。

g. 將各階級的螞蟻各取一隻，切下其頭部和腹部。

h. 於電顯載台上黏上碳膠帶，並將螞蟻標本黏上膠帶。標本的角度分別為：頭部以正面朝上，腹部以腹面朝上，完整個體以側面朝上。

i. 將完成標本黏貼的電顯載台放入鍍金機(HITACHI E-1010)中鍍金，完成後取出。



圖三、鍍金機(HITACHI E-1010)。

j. 以掃描式電子顯微鏡(HITACHI TM3000)拍攝照片，觀察處女蟻后、斷翅蟻后、有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻身體構造的差異。

2. 死亡率的統計。

一般在婚飛季期間採集的棕色扁琉璃蟻有后聚落中，皆可以發現蟻后、處女蟻后以及有翅型雄蟻的出現。為了探討聚落中各種生殖型蟻的生存情況，在飼養各個聚落時，我們分別紀錄各個生殖型蟻的死亡數量，經過一段時間後統計蟻后、處女蟻后與有翅型雄蟻的死亡數量，以了解其在聚落中的死亡情形。



圖四、掃描式電子顯微鏡(HITACHI TM3000)。

3. 檢驗染色體套數。

前人的研究曾以條紋技術(Banding technique)針對螞蟻的染色體做檢驗(Imai et al. 1977; Imai et al. 1984; Imai et al. 1988; Imai et al. 1994)。我們參考其研究方法，以改良型的 Giemsa C-Banding 染色方式來檢驗工蟻與工蟻型雄蟻的染色體套數。我們照以下流程進行實驗：

(1) 核型玻片標本試劑製備

- a. 取 0.1% 的秋水仙素 1ml 與 1% 的三檸檬酸鈉 19ml 製成 0.005% 的 CHS 試劑(Colchicine-hypotonic solution)。
- b. 取冰醋酸與 99.5% 的乙醇以 1:1 的比例混合，製備成 Fixative II 試劑。
- c. 取 Fixative II 試劑與蒸餾水調配成 60% 的 Fixative II 試劑，做為 Fixative I 試劑。
- d. 取純醋酸製成 Fixative III 試劑。

(2) 玻片標本製作

- a. 取一棕色扁琉璃蟻聚落，分別取出工蟻和工蟻型雄蟻的成蟲與蛹各數隻，以解剖針取下其組織做為樣本。取樣部位為：蛹的頭部內部、成蟲的頭部內部、卵巢與微卵管。
- b. 在載玻片上利用 CHS 試劑浸泡組織，取出樣本並將大部分脂肪體移除，轉置於凹槽玻片後以 CHS 試劑浸泡 30 分鐘至 1 小時。
- c. 傾斜玻片移除溶液，用數滴 Fixative I 試劑沖洗樣本，並用濾紙吸除多於殘留試劑。滴二至三滴 Fixative I 於樣本上，數秒後將樣本以解剖針均勻展開。
- d. 滴兩滴 Fixative II 於樣本上，利用溶液濃度差將樣本展開，此時以濾紙吸除玻片兩旁的 Fixative I 試劑以將其置換。
- e. 滴兩滴 Fixative III 於樣本中心，以置換 Fixative II，以濾紙吸除多於殘液後靜置約一天至完全乾燥。

(3) 將核型玻片標本染色

- a. 取磷酸氫二鈉 4.75g、磷酸氫鉀 4.54g 與一公升蒸餾水混合，配至成磷酸緩衝溶液。
- b. 取 Giemsa 粉劑 0.5g 加少量甘油研磨至無顆粒(約 30 分鐘)，再加入

甘油配至成 33ml 溶液，放於 56 度之溫箱兩小時。待冷卻後加入甲醇 33ml 配至成 Giemsa stock solution，放至於 0 度至 4 度下保存。

- c. 取 Giemsa stock solution 與磷酸緩衝溶液以 1:33 的比例混合稀釋，配製成 3% 的 Giemsa solution。
- d. 將乾燥過後的核型分析玻片標本於室溫下置於 Giemsa solution 染液中染色十分鐘。
- e. 於流動的純水中退染約 1 秒，垂直放置至乾燥。

(4) 檢驗染色體圖

- a. 將染色過後的玻片滴上 10 μ l 的封片膠，蓋上蓋玻片製成玻片標本。
- b. 將核型玻片標本置於光學顯微鏡下，以 400 倍的放大倍率尋找細胞分裂期於前期、適合觀測的細胞。
- c. 以 1000 倍的放大倍率，使用油鏡觀察細胞中的染色體，以拍照的方式將其記錄下來。
- d. 檢驗染色體圖，計算細胞中染色體套數。

(二) 處女蟻后和有翅型雄蟻之分析

1. 聚落中出現的時間。

一般來說處女蟻后和有翅型雄蟻通常出現於梅雨季，牠們會在其中一個下雨日過後的晚上，進行大規模的婚飛(nuptial flight)。為了調查棕色扁琉璃蟻的婚飛時間，我們記錄下一些大型聚落所在的位置，且每周固定觀察其蟻巢之中有翅型蟻的數量，紀錄並統計出其確切的婚飛時間。

2. 性別比例。

一個聚落於婚飛時釋放出的處女蟻后及有翅型雄蟻的比例和數量，與其蟻種特性、以及是否為分巢行為等因素有關。為了調查這些現象，我們在婚飛季節裡，於野外找尋棕色扁琉璃蟻的聚落，觀察並將其中已出現蟻的聚落採集回實驗室，

飼養並記錄其處女蟻后及有翅型雄蟻在蟻巢中所佔的比例。

3. 處女蟻后的斷翅率。

通常在婚飛時成功交配的有翅蟻后，會開始尋覓適合的地點築巢，並開始脫翅產卵；亦有研究證實，蟻后的脫翅是觸發產卵的一項重要因素(Jemielity et al. 2006)。因此我們在多個含有有翅型蟻后的小型聚落中，定期觀察其蟻后是否有脫翅的行為，並且同時注意蟻巢中是否有卵的出現，探討其中的關聯性。

(三) 工蟻型雄蟻分析

1. 在聚落中所佔的比例。

一般而言，生殖型蟻在巢中不參與勞動，這種只有消費而不事生產的行為對整個聚落來說是一項不利因素。因此我們比較工蟻型雄蟻在聚落中所佔的比例，觀察工蟻型雄蟻對於蟻巢所造成的影響。

2. 與工蟻的表面碳氫化合物之比較。

甲、製備表面碳氫化合物檢液

採用溶劑萃取法 (Solvent Extraction)。首先於同一棕色扁琉璃蟻聚落中取出一般工蟻二十四隻、工蟻型雄蟻十六隻，置於冷凍庫約 90 秒後取出，再將其分別裝入 12ml 標本瓶，每瓶八隻，並注入 n-hexane 300 μ l 浸泡 180 秒以粹取表面碳氫化合物。

(2) 清洗自動注射器

以電腦設定 GC/MS 的自動注射器，使其汲取 10 μ l 的甲醇清洗極性物質，注射至廢液瓶後再汲取 10 μ l 的 n-hexane 清洗非極性物質。重複以上步驟三次。

(3) 分析檢液

採用氣相層析法(Gas Chromatography)。將待測檢液用 pipement 抽出 200 μ l 放入 2ml 的瓶子後，放置於 GC/MS 的 vial 孔盤上，將其注入氣象層析儀(Varian CP 3800)，設定注射溫度為 250°C。接著通過烘箱之火焰離子偵測器(FID)，載流氣體為 He，流速為 1ml/s。GC 烘箱起始溫度設定為 80°C，維持三分鐘後，以 10°C/min

的速度上升至 150°C 再維持三分鐘，接著以 5°C/min 的速度上升至 285°C，升溫總時間共花 50 分鐘。之後進入質譜儀(Varian Saturn 2200) (圖七)，經過分析後，將氣象層析的結果輸入資料系統。

(4) 分析結果

氣象層析結果輸入資料系統後，將結果輸出成圖，比較一般工蟻與工蟻型雄蟻的表面碳氫化合物組成成分是否有所不同。

3. 交配行為的探討

為了瞭解工蟻型雄蟻於巢中的交配行為，我們取將要發育的蛹，待其羽化成蟲後以解剖顯微鏡觀察其於聚落中的行為，以拍照與攝影的方式將其記錄，並探討其於聚落中的交配情形。

4. 影響其出現的因素及出現的時間。

已有資料顯示，某些種類的螞蟻，其工蟻型雄蟻出現的時間有季節性，並且別於處女蟻后及有翅型雄蟻的出現時間(Yamauchi et al. 1987)。另外亦有研究指出，當食物極為充裕或是匱乏時，部分蟻種的有翅型雄蟻也會因此大量出現(Tsuji et al. 1995)。為了瞭解影響棕色扁琉璃蟻工蟻型雄蟻出現的因素，我們除了於採集聚落時觀察並統計工蟻型雄蟻的數量以外，亦進行以下實驗：

- (1) 取有工蟻型雄蟻和沒有工蟻型雄蟻的聚落各四窩，將其各分成兩組。
- (2) 其中一組餵食麵包蟲與糖水，並且每日替換食物；另一組則每周只餵食一次極少量的糖水。
- (3) 每三日紀錄一次聚落中工蟻型雄蟻數量的變化，整理結果並分析工蟻型雄蟻出現的隻數與時間。

(四) 蟻后的分析

1. 產卵的畸形率。

在以往飼養蟻后的經驗之中，我們曾經發現了一些外型不正常的卵。為

了瞭解此一畸型卵的發育和成因，我們除了飼養棕色扁琉璃蟻的蟻后和處女蟻后，亦同時每天於餵食之前觀察、記錄聚落中的卵的情形，以便我們更進一步追蹤此種現象，並計算出整個蟻巢中畸形卵所佔的比例。

2. 死亡率的統計。

一般在野外具有一定規模的棕色扁琉璃蟻聚落，通常是由生殖型工蟻所領導的缺后聚落，因此我們推測此種情形與蟻后的高死亡率有一定的關係。為了解棕色扁琉璃蟻脫翅蟻后的生存情況，在飼養時我們每天記錄蟻后的死亡數量，並觀察與推測造成其死亡的原因。

3. 在聚落中的分工行為。

社會性昆蟲的一項重要分類指標是生殖分工：牠們演化出專門生育的階級，以及其它較少生育、甚至完全不生育而只從事勞動的階級。因此，觀察各個蟻蟻在聚落中所從事的行為，有助於我們辨認出牠們在聚落中所處的階級。為了解蟻后在聚落中的行為，我們進行以下步驟：

- (1) 取數個棕色扁琉璃蟻的聚落，尋找聚落中的蟻后並以吸蟲器吸出後，用二氧化碳將其迷昏。
- (2) 將各聚落收集到的蟻后分別倒入鋪有白紙的不同淺盤中，待其準備甦醒，尚無法動作時，以極細的水彩筆沾取些微廣告顏料，於每隻蟻后的腹部做上記號。廣告顏料的顏色包括白色、黃色、藍色和綠色。
- (3) 待其完全甦醒後，觀察蟻后的行為是否因標記而受到影響。確認無影響後，將生殖型蟻放回其原本的聚落中。隨後再次觀察標記是否會對聚落中的其它蟻蟻造成影響，並確認無誤。
- (4) 每日於餵食之前觀察，紀錄當時巢中生殖型蟻的行為。紀錄的項目包含產卵、撫育子代、警戒、搬運屍體、覓食和休息。將數據統計成圖表，分析在聚落中蟻后所進行的行為。

4. 生殖方式。

我們從文獻中得知，部份行孤雌產雌的蟻種如 *Mycocepurus smithi*、*Cataglyphis livida* 與節膜角瘤顎蟻(*Pyramica membranifera*)，除了少數工蟻會有孤雌產雌的行為之外，蟻后也能夠以孤雌產雌的方式產下處女蟻后及工蟻(Rabeling et al. 2009; Ito et al. 2010; Timmermans et al. 2009)。為了瞭解棕色扁琉璃蟻的生殖方式，並探討蟻后是否亦能行孤雌產雌產下處女蟻后或工蟻，我們設計以下步驟進行實驗：

- (1) 以吸蟲器吸出棕色扁琉璃蟻聚落中的部分處女蟻后和工蟻，並以二氧化碳將其迷昏。
- (2) 將其分別飼養成多個小聚落，並分成兩組。一組聚落中只有處女蟻后，另一組的聚落中則含有工蟻和處女蟻后。
- (3) 每日於餵食前記錄各個聚落中工蟻、蟻后的情形並觀察是否有卵產生。

(五) 生殖型工蟻的中間階級(intercaste)分析

目前我們發現在棕色扁琉璃蟻的缺后聚落中，有產卵能力的工蟻可分成三種中間階級，為了比較牠們的差異與探討其行為與生殖模式，我們設計了以下的實驗：

1. 檢驗其生殖方式。

與生殖型蟻的交配

為了探討具有生殖能力的中間階級是否會與工蟻型雄蟻交配，我們從棕色扁琉璃蟻的缺后聚落中，將三種中間階級從巢中挑出，獨立與一般工蟻及單隻工蟻型雄蟻放置於同一空間，觀察其是否會有與工蟻型雄蟻交配的行為，之後記錄其產下的卵發育的情形。

孤雌產雌

為了瞭解中間階級是否會行孤雌產雌產下工蟻，我們從三種方式進行確認：

a. 以一般隔離的方法進行確認

從沒有工蟻型雄蟻的棕色扁琉璃蟻缺后聚落中，挑出中間階級的新生工

蟻與新生的一般工蟻，一同放置於新蟻巢，每天觀察其是否有產卵行為，並待其產下的卵發育羽化後，檢驗是否皆為工蟻。

b. 以檢驗 VASA 基因和 VASA 蛋白的方式進行確認

- (a) 從棕色扁琉璃蟻的缺后聚落中取出具有生殖能力的中間階級，萃取其 DNA 作為模板，並利用果蠅 VASA 基因的引子(primer)進行聚合酶鏈式反應(Polymerase chain reaction, PCR)。
- (b) 將所得之 DNA 進行凝膠電泳(Gel electrophoresis)，並比較已知的數據，觀察棕色扁琉璃蟻的基因是否存在著 VASA 基因。
- (c) 另外，取出中間階級的蛋白質，利用 VASA 蛋白質之抗體，以西方墨點法(Western blot)來檢驗其是否具有與 VASA 蛋白質表現相同的蛋白質。
- (d) 綜合比較結果，探討棕色扁琉璃蟻的中間階級產卵行為是否為無性生殖，進一步判定其是否為孤雌產雌。

c. 餵食抗生素以進行確認

已知一種叫做 Wolbachia 的內孢子蟲造成許多生物的孤雌生殖現象，例如寄生蜂(Rabeling et al, 2009)。因此我們以在餵食的食物中添加抗生素的方式，來進行對於棕色扁琉璃蟻生殖型工蟻孤雌生殖的檢驗。

2. 比較產卵能力。

我們從棕色扁琉璃蟻的缺后聚落中將具有產卵能力的三種中間階級從巢中挑出，分別置於另一環境中，每天記錄其產卵數量，最後統計三種中間階級的產卵速率並比較其差異。

3. 在聚落中的分工行為。

在棕色扁琉璃蟻的缺后聚落中，找出三種中間階級並分別在其腹部作上不同顏色的標記，每天於不同時間記錄其在巢中的行為，統計多個蟻巢後再比較三種中間階級行為模式的差異。

4. 解剖比較內部構造

我們取出聚落中的工蟻，依照體長分類成大、中、小三種階級，各取 20 至 30 隻。接著於解剖顯微鏡下以自製解剖針與鑷子對其進行解剖，觀察其內部之卵巢、微卵管、儲精囊等器官，測量其大小，並對於不同階級工蟻之內部差異加以比較。

二、建立棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍模式

雖然我們目前已經觀察到棕色扁琉璃蟻存在著多樣的生殖型蟻，但我們還未能清楚了解棕色扁琉璃蟻聚落的整個發展循環。因此，我們希望藉由探討生殖型工蟻和蟻后的生殖和誕生方式，來了解棕色扁琉璃蟻聚落的生命週期。

三、統計方法

本研究除利用 Microsoft office Excel 2010 和 Sigmaplot，進行 T-Test 函數和 Anova 分析，亦採用敘述性統計的方式進行描述。

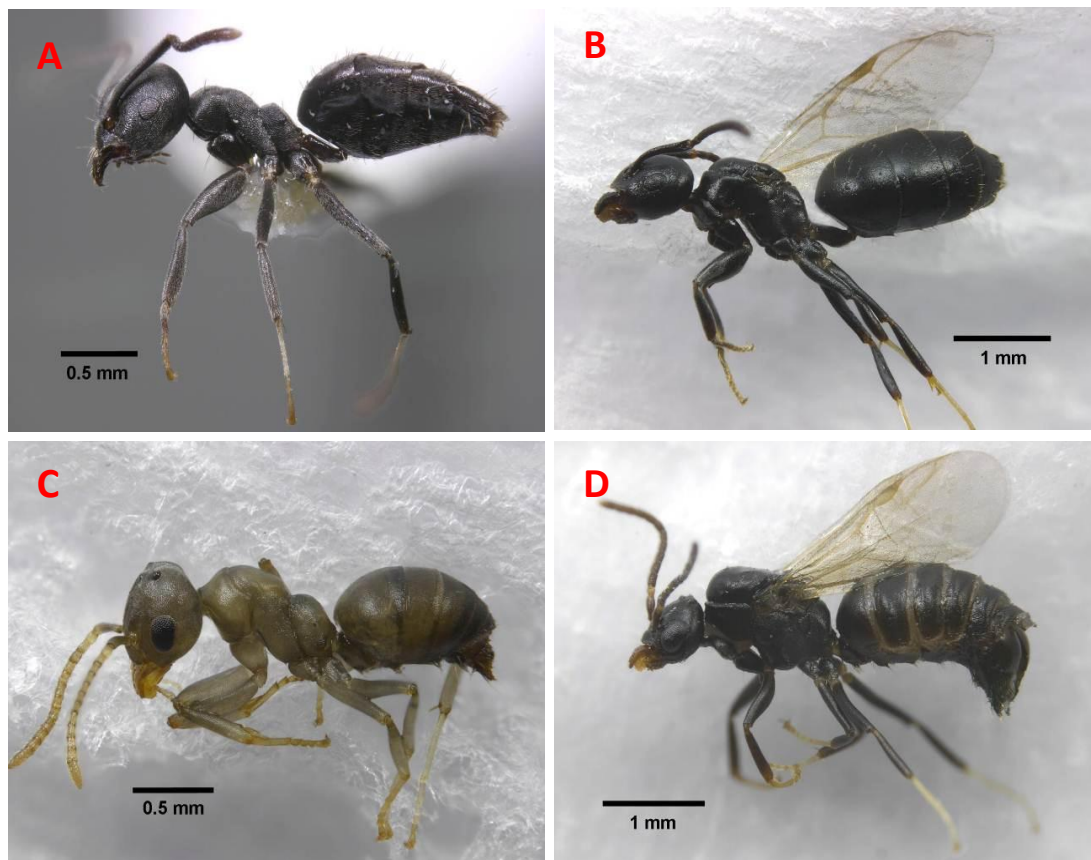
肆、研究結果

一、棕色扁琉璃蟻生殖型蟻之探究

(一) 生殖型蟻綜合比較

1. 生理構造之觀察。

(1) 以解剖顯微鏡觀察



圖五、解剖顯微鏡下棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的生殖型蟻與一般工蟻。
(A、一般工蟻；B、處女蟻后；C、工蟻型雄蟻；D、有翅型雄蟻)

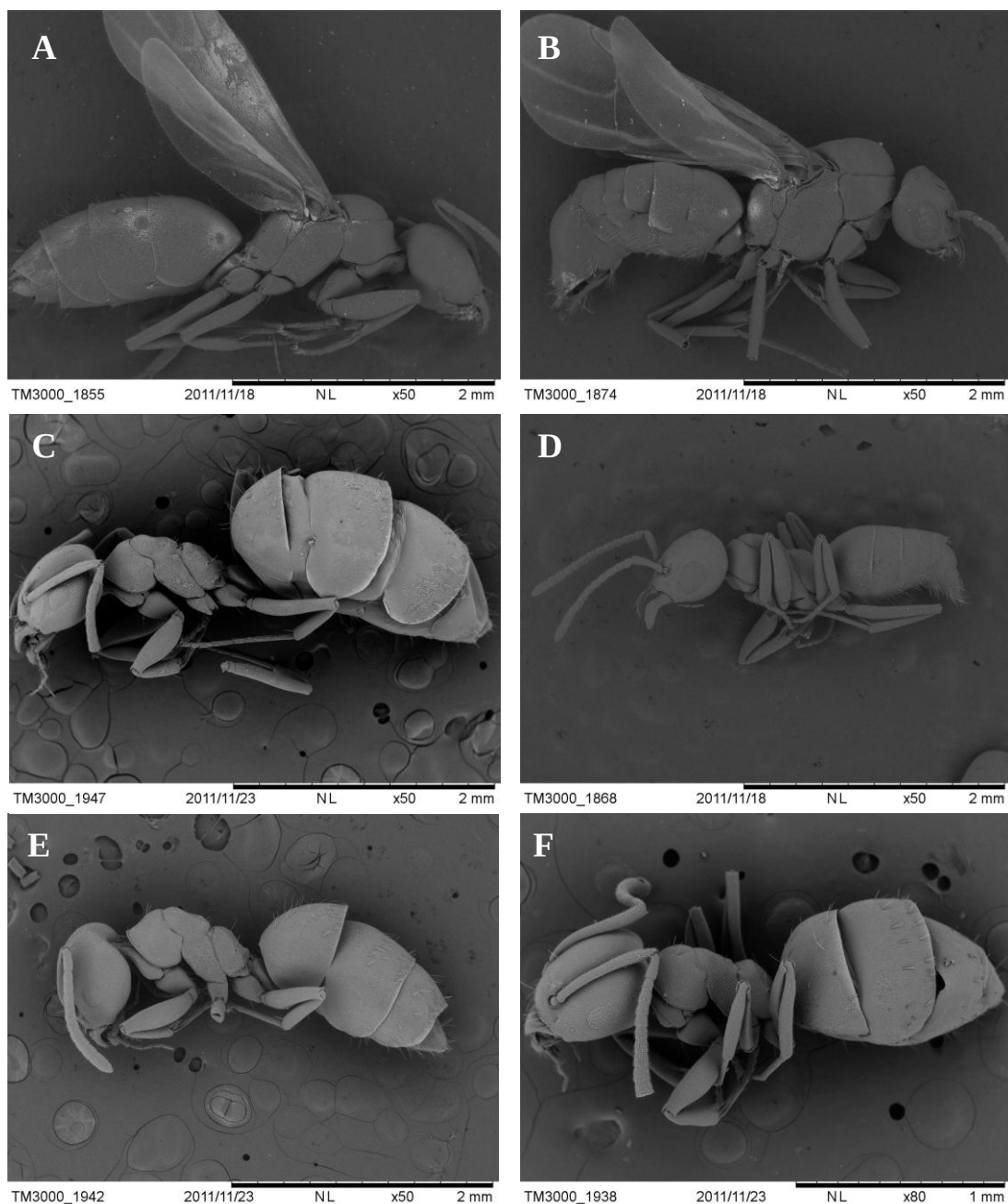
從圖中可以看出，蟻后除了擁有較大的胸部與腹部以及頭頂上的三個單眼（此圖中不明顯）外，其他特徵與工蟻類似：膝狀觸角和較小的複眼。

工蟻型雄蟻雖然在外型以及大小方面與工蟻極為相似，但仍然擁有許多雄性的特徵，包括腹部尾端的交尾器（較不發達）、鏈狀的觸角、較大的複眼以及頭頂

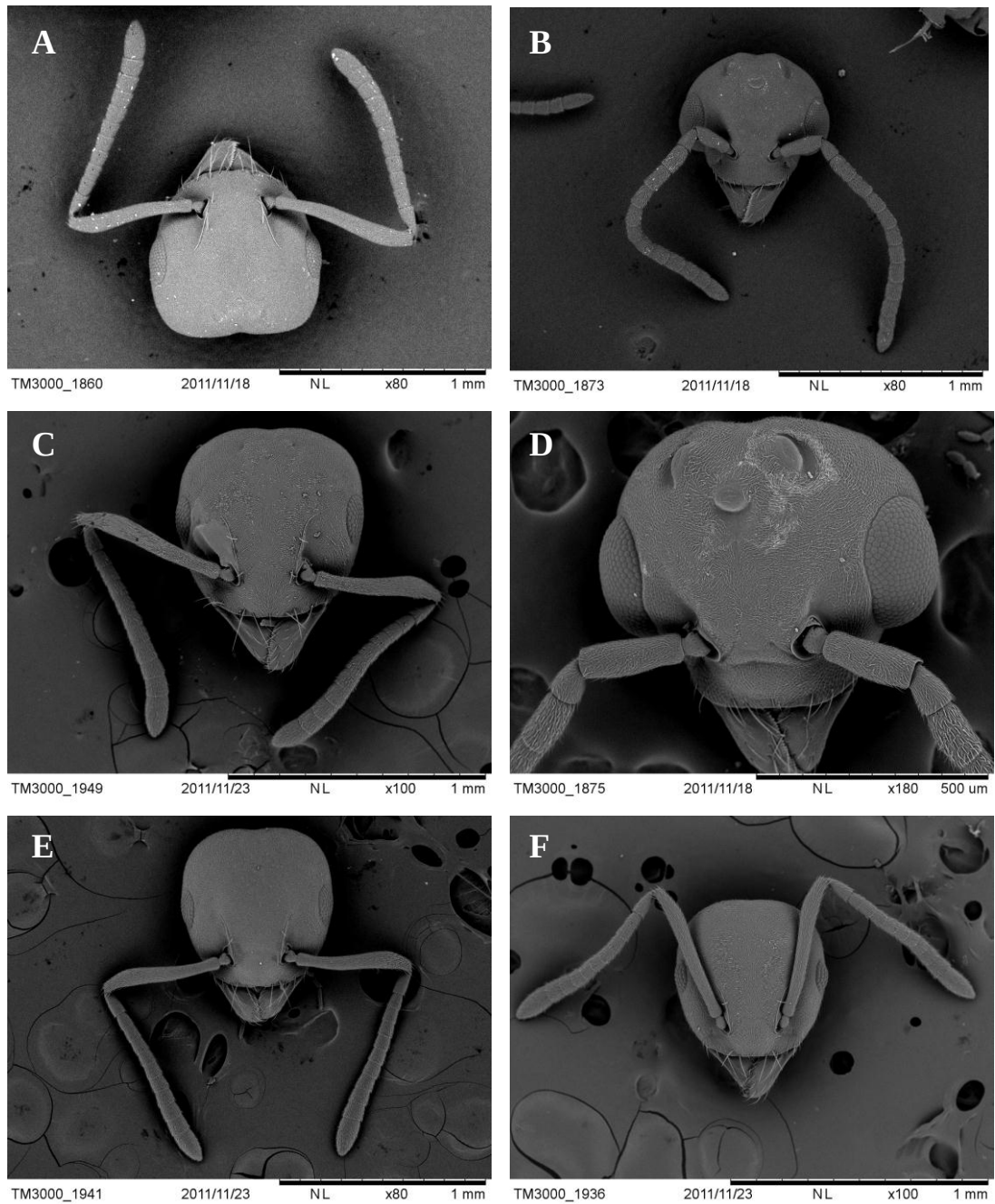
上的三個單眼。另外，工蟻型雄蟻的體色為較一般工蟻淡的棕色。

有翅型雄蟻的特徵明顯別於雌性，因此常被一般人誤認為其他昆蟲。其特徵包括：較大的胸部、腹部尾端發達的交尾器、鏈狀觸角、較大的複眼以及頭頂上的三個單眼（此圖較不明顯）等。

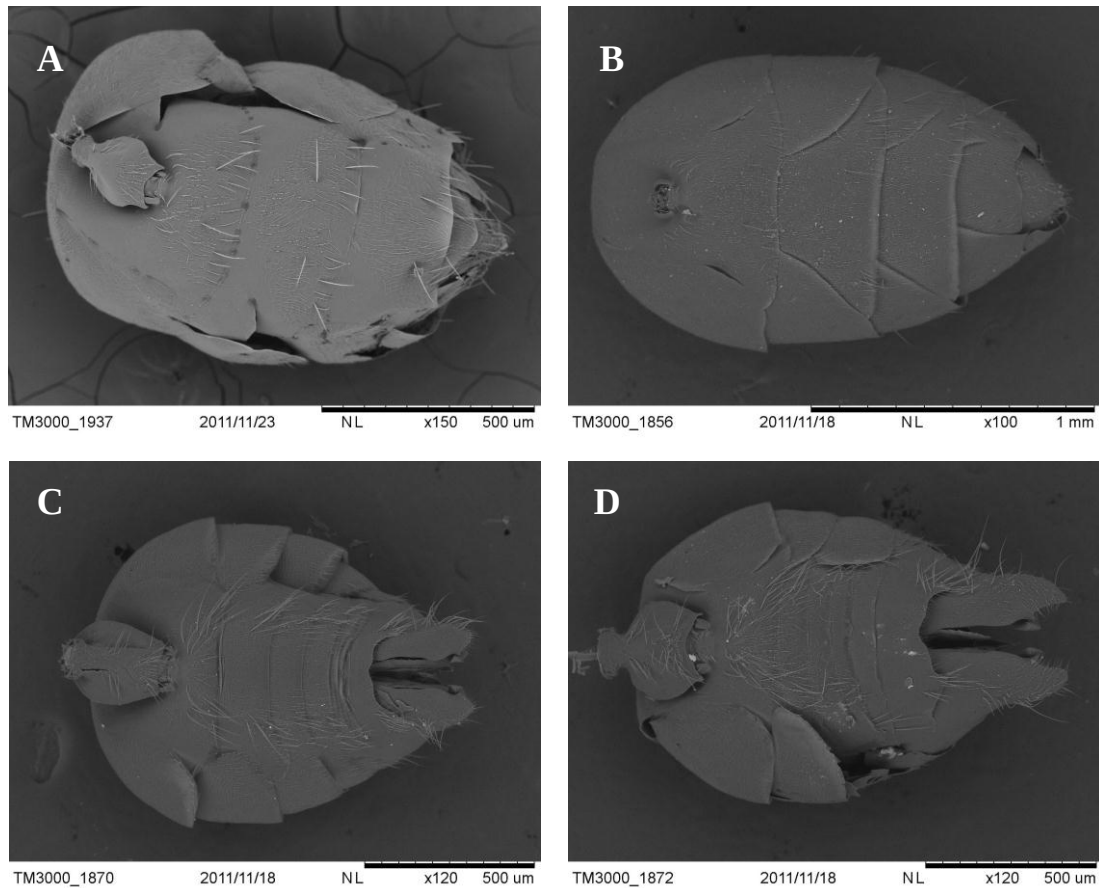
(2) 以掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscope, SEM)觀察



圖六、掃描式電子顯微鏡下棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的生殖型蟻和三種體型的工蟻。(A、處女蟻后；B、有翅型雄蟻；C、大型工蟻；D、工蟻型雄蟻；E、中型工蟻；F、小型工蟻)



圖七、掃描式電子顯微鏡下棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的生殖型蟻和三種體型之工蟻的頭部。(A、處女蟻后；B、有翅型雄蟻；C、大型工蟻；D、工蟻型雄蟻； E、中型工蟻；F、小型工蟻)



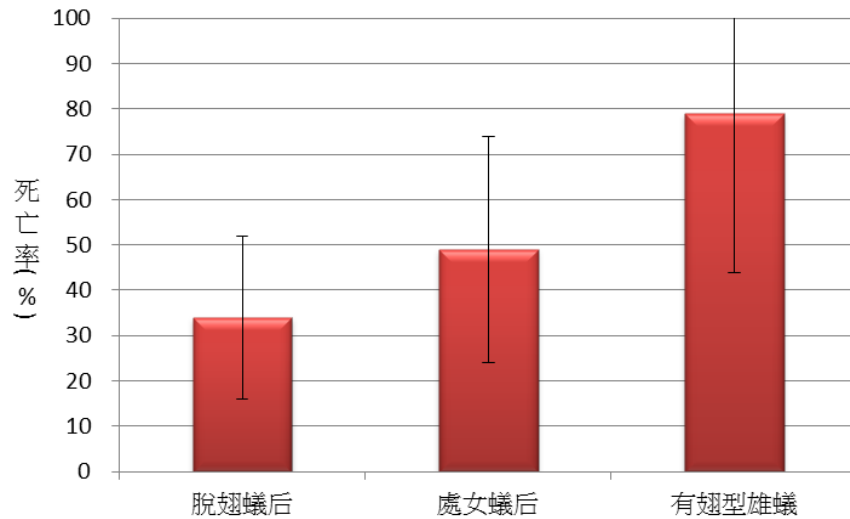
圖八、掃描式電子顯微鏡下棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的生殖型蟻與一般工蟻的腹部。(A、一般工蟻；B、處女蟻后；C、工蟻型雄蟻；D、有翅型雄蟻)

從以上掃描式電子顯微鏡的影像中，我們可以更清楚的觀察到生殖型蟻和工蟻於構造上的不同。有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻的頭部同樣都有三個明顯的單眼，然而就交尾器的比較上，有翅型雄蟻則比工蟻型雄蟻發達。

同時，我們亦觀察了三種不同體型大小工蟻的差異，發現其頭部上有眼點數目的不同：大型工蟻有三個眼點、中型工蟻有一個眼點、而小型工蟻則沒有眼點。另外，這三種蟻在胸線的部分也隨的體型的大小而有連續性的變化。

2. 死亡率的統計。

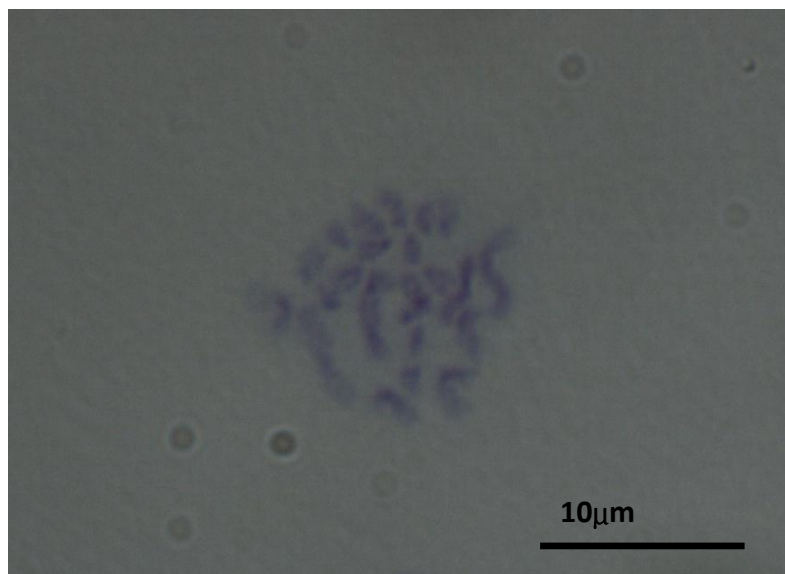
取各個聚落經過 19 天後做統計，蟻后後的平均死亡率為 30.1%、處女蟻后的平均死亡率為 64.0%、雄蟻的平均死亡率為 79.3%（圖九）。樣本為從八個棕色扁琉璃蟻聚落取出的總和，共 116 隻蟻后、100 隻處女蟻后及 29 隻有翅型雄蟻。



圖九、棕色扁琉璃蟻蟻后(*T. brunneus*)、處女蟻后與雄蟻經過 19 天後的死亡率。(n=8)

3. 檢驗染色體套數。

由生殖型工蟻卵巢核型標本中，可觀察到其染色體共有 16 條，套數為兩套(圖十)。照片為光學顯微鏡下所拍攝，使用倍率為 1000 倍之油鏡。



圖十、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)生殖型工蟻核型玻片標本之卵巢細胞與染色體。倍率為 1000 倍光學顯微鏡。

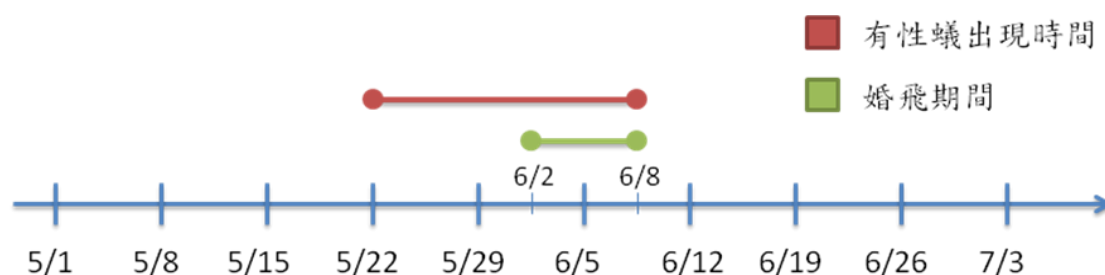
(二) 處女蟻后和有翅型雄蟻之分析

1. 聚落中出現的時間。

我們在採集區觀察棕色扁琉璃蟻的處女蟻后及有翅型雄蟻出現時間，發現其生殖型蟻於五月二十二日開始出現在巢中，而從六月二日開始可以在巢外大量發現處女蟻后與有翅型雄蟻準備婚飛，期間為六月二日開始的一個星期，在該婚飛時間之後聚落外即無法發現處女蟻后或有翅型雄蟻。



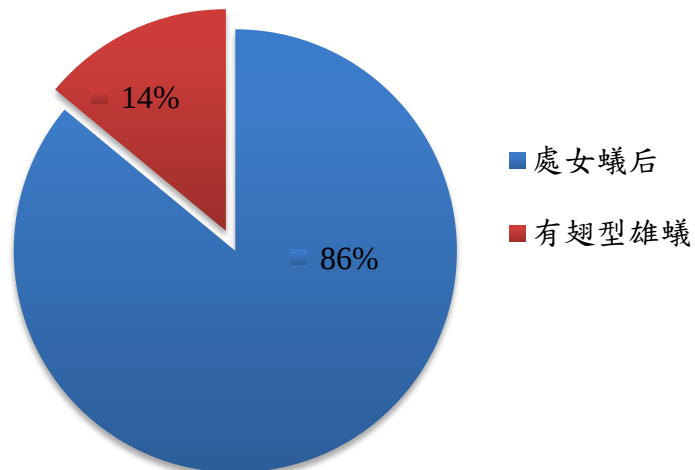
圖十一、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的處女蟻后與有翅型雄蟻在巢外準備婚飛。



圖十二、2011 年採集地點的棕色扁琉璃蟻處女蟻后與有翅型雄蟻的出現時間與婚飛時間。

2. 性別比例。

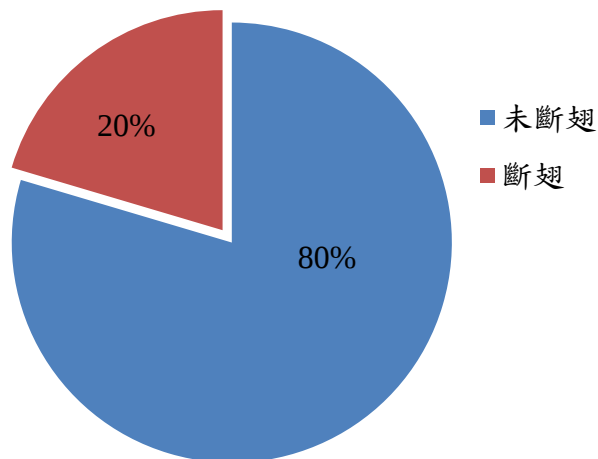
在婚飛季時於野外觀察統計性別比例，處女蟻后所占的比例為 86%，有翅型雄蟻所占的比例為 14%（圖十三）。統計樣本共為 437 隻處女蟻后及有翅型雄蟻。



圖十三、於棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的採集數據中處女蟻后與有翅型雄蟻的比例。(n=437)

3. 處女蟻后的斷翅率。

各個聚落的處女蟻后在經過 18 天後，統計其斷翅比例，未斷翅的處女蟻后為 80%，斷翅的處女蟻后為 20%（圖十四）。樣本為從八個聚落中取出的共 49 隻處女蟻后。



圖十四、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)處女蟻后在十八天後的斷翅率。(n=49)

(三) 工蟻型雄蟻分析

1. 在聚落中所佔的比例。

取四個觀察到有工蟻型雄蟻的聚落，可計算出生殖型工蟻平均所佔比例為 85.8%、一般工蟻所佔比例為 12.2%、工蟻型雄蟻所佔比例為 2.1%（表一），工蟻型雄蟻在聚落中所佔比例明顯較低。所取四個聚落總蟻數分別為 94 隻、105 隻、108 隻、690 隻。

表一、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)聚落中生殖型工蟻、一般工蟻與工蟻型雄蟻所佔比例。(n=4)

	生殖型工蟻 (%)	一般工蟻 (%)	工蟻型雄蟻(%)
佔聚落比例	85.8±2.3	12.2±2.4	2.1±0.2

2. 與工蟻的表面碳氫化合物之比較。

由分析結果可觀察到工蟻型雄蟻與一般工蟻的表面碳氫化合物在 peak1 與 peak2 的化學成分是相同的，而一般工蟻較工蟻型雄蟻多出了 peak3 的化學物質（圖十五）。經過比對之後，peak2 的化合物成分為 1-Eicosanol，這種成分在膜翅目的蜜蜂科(Apidae)中以及蟻科(Formicidae)的針蟻族(Ponerini)中亦曾被分析出。(Kroiss et al. 2006; Herzner et al. 2007)。而 peak3 的化合物成分為 1-Hexacosene，這種成分在膜翅目(Hymenoptera)的方頭泥蜂科(Crabronidae)以及鱗翅目(Lepidoptera)的捲蛾科(Tortricidae)中皆曾被分析出(Hovorka et al. 2006; Morgan et al. 2003)（表二、表三）。

在同樣尺規下，則可以觀察到工蟻型雄蟻與一般工蟻相比，工蟻型雄蟻的 peak 與一般工蟻相近，但表面碳氫化合物的濃度明顯較低（圖十六）。

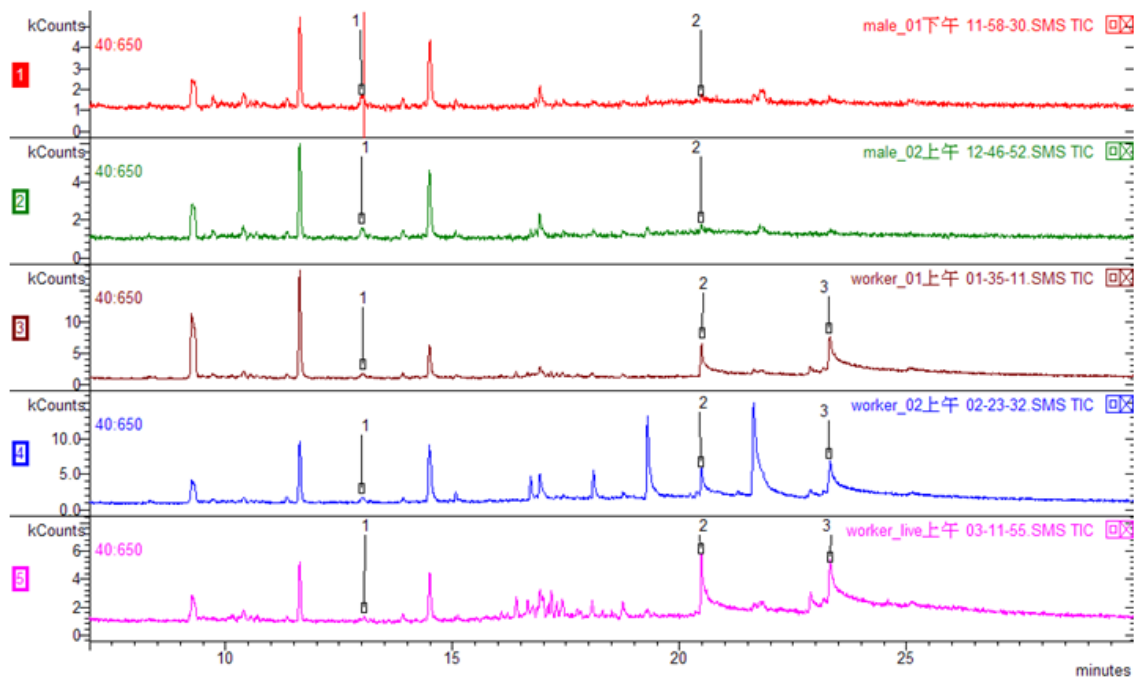
另外，在第四管中所檢測出較其他管所多出的化學物質，經判定後發現為矽的化合物等物質，此結果應是機器內或是操作時的汙染。

表二、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)工蟻型雄蟻表面碳氫化合物化學成分分析。參照圖十五、十六 male_01、male_02)

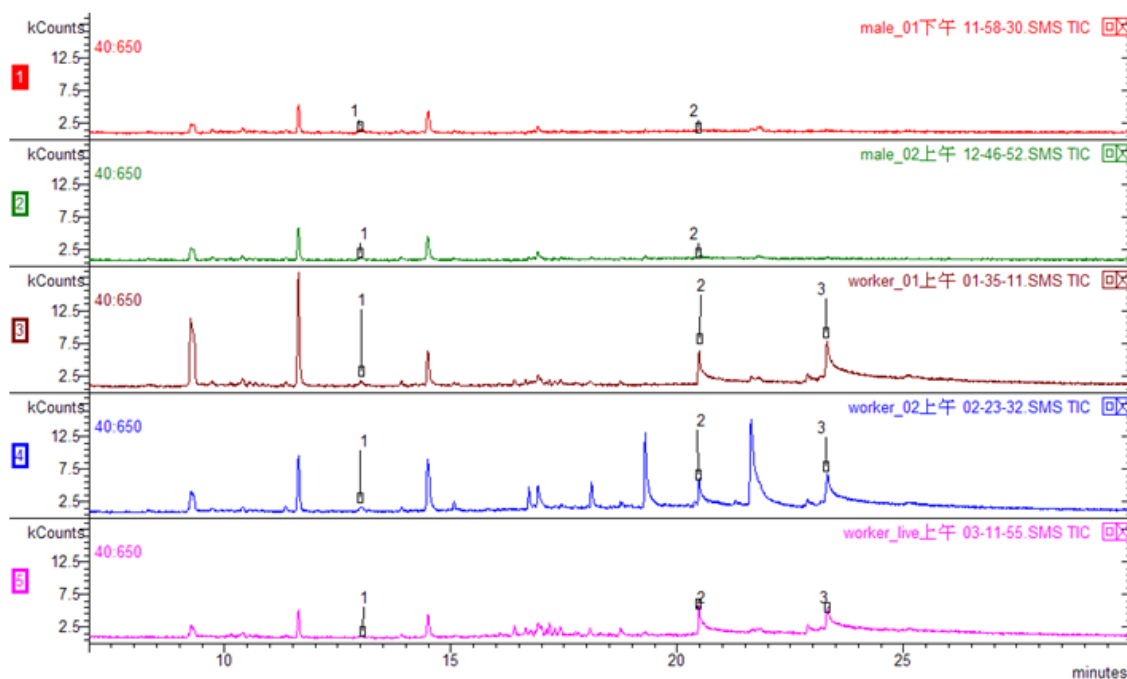
peak	化合物成分	化學式	分子量
1	2-Hexacanol	C16H34O	242
2	1-Eicosanol	C20H42O	298

表三、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)工蟻表面碳氫化合物化學成分分析。(參照圖十五、十六 worker_01、worker_02、worker_live)

peak	化合物成分	化學式	分子量
1	2-Hexacanol	C16H34O	242
2	1-Eicosanol	C20H42O	298
3	1-Hexacosene	C26H52	364



圖十五、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的工蟻型雄蟻與一般工蟻表面碳氫化合物比較。(第一、二管為工蟻型雄蟻，第三、四、五管為一般工蟻)

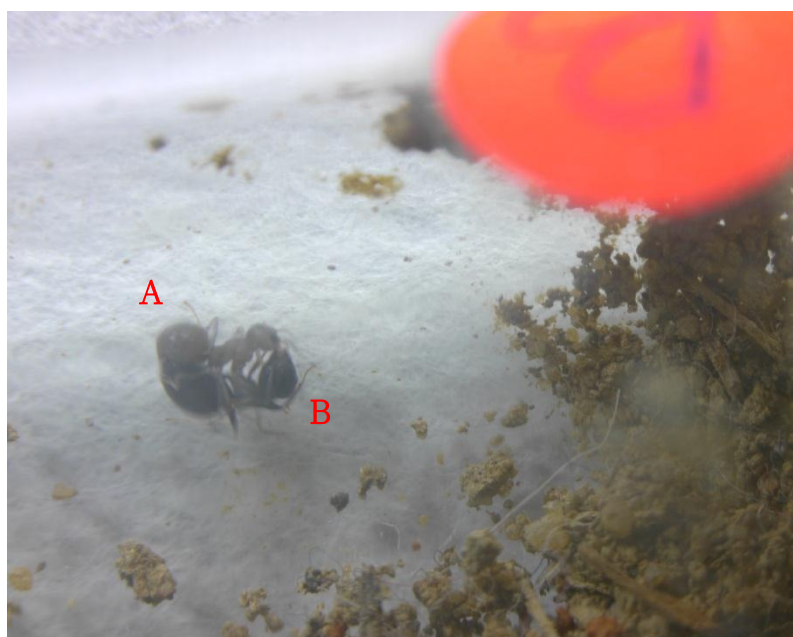


圖十六、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)的工蟻型雄蟻與一般工蟻在同樣的尺規標準下表面碳氫化合物比較。(第一、二管為工蟻型雄蟻，第三、四、五管為一般工蟻)

(四) 蟻后

3. 交配行為的探討

經過觀察顯示，工蟻型雄蟻從蛹中羽化成蟲後，在一天之內會開始與聚落中多隻生殖型工蟻進行多次交配(multiple mating)。圖十七為解剖顯微鏡下拍攝工蟻型雄蟻與生殖型工蟻交配的情形。

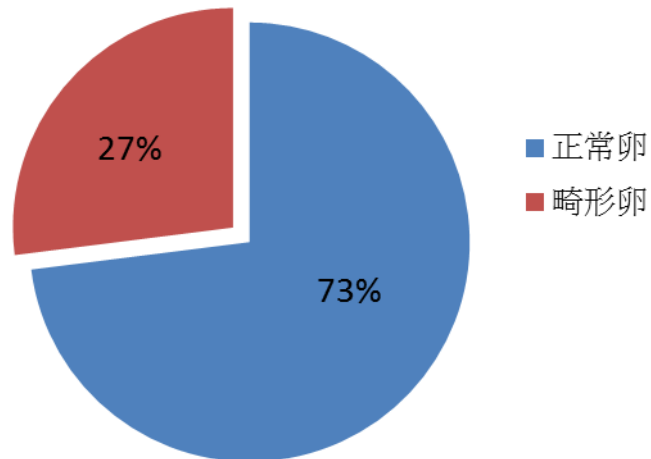


圖十七、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)工蟻型雄蟻與生殖型工蟻進行交配。(A：工蟻型雄蟻；B生殖型工蟻)

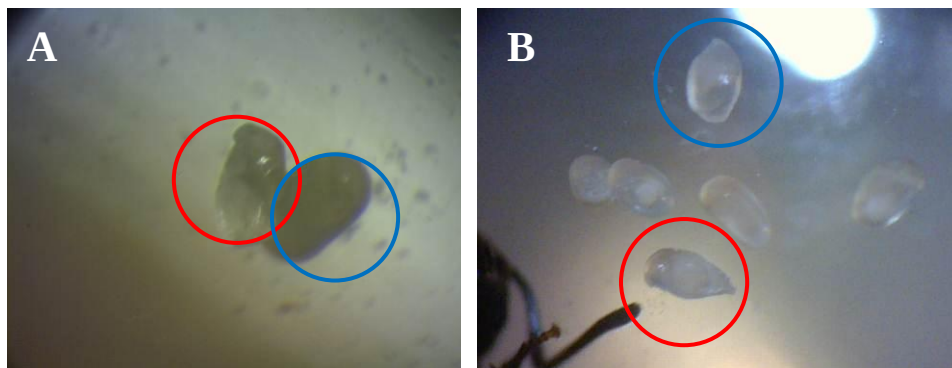
(四) 蟻后的分析

1. 產卵的畸形率。

統計各個聚落中在經過 18 天中產下的卵，發現會有畸形卵產生（圖十九）。其中正常的卵所佔比例為 73%，畸形卵所佔比例為 27%（圖十八）。樣本數為從七個聚落中取出的共 19 顆卵。



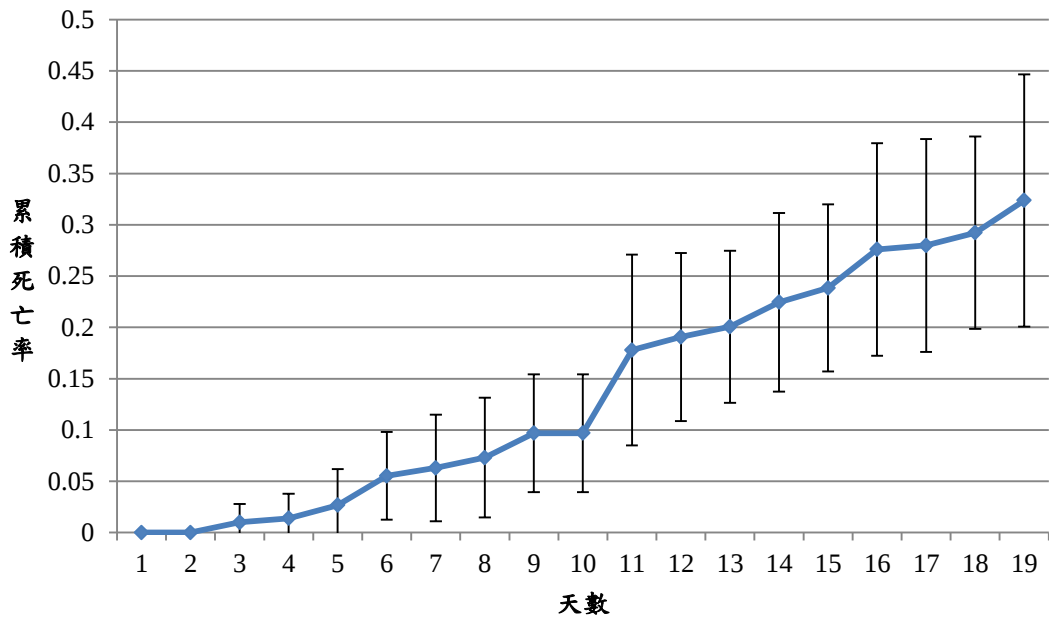
圖十八、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后產卵的畸形率。(n=19)



圖十九、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后產下的畸型卵與正常卵。(紅圈內為畸型卵、藍圈內為正常卵)

2. 死亡率的統計。

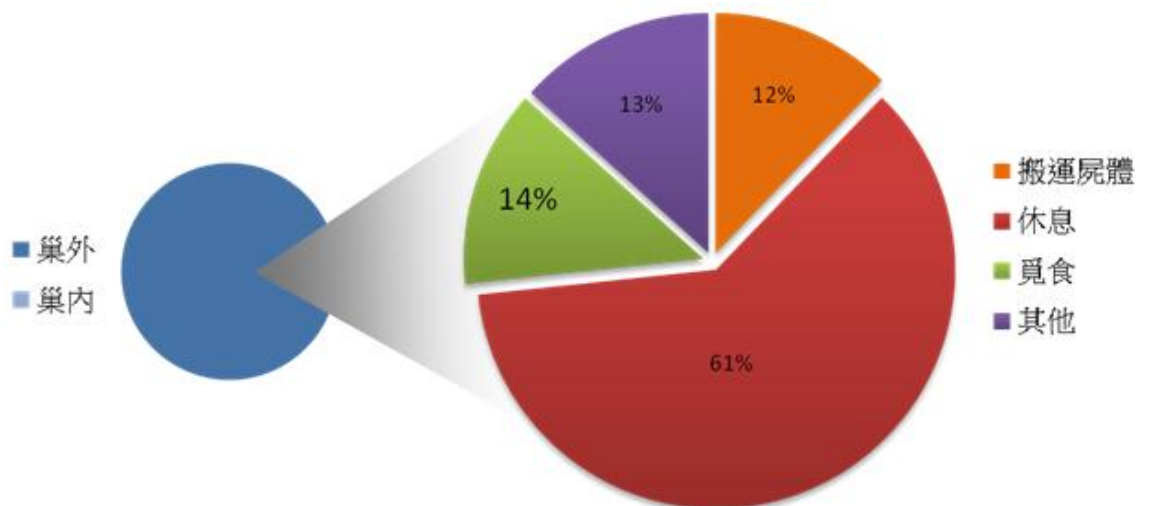
由結果得知，在開始進行實驗後的第 3 天，巢中觀察到有蟻后死亡，第 3 天之後蟻后在聚落中的累積死亡率大致呈穩定的線性關係，在經過 19 天之後累積死亡率為 31.6%（圖二十）。樣本數七個聚落的蟻后累積死亡率取平均。



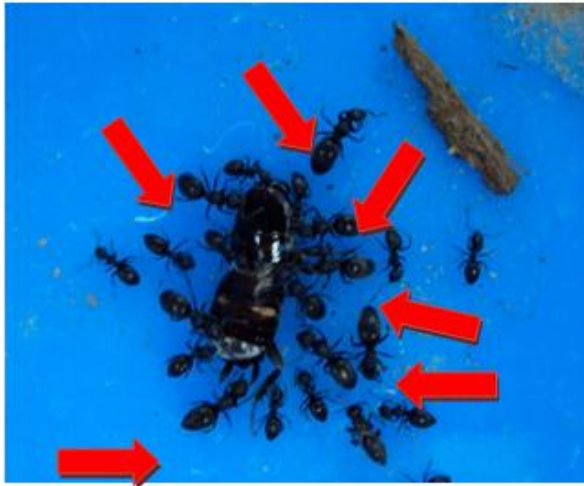
圖二十、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后在十九天內的累積死亡率。(n=7)

3. 在聚落中的分工行為。

在我們觀察的聚落中，在巢外活動的蟻后占 100%，而在巢外活動的蟻后中，有 12%的蟻后在搬運屍體，14%的蟻后在覓食，61%的蟻后会聚在巢外一處休息，而其中 13%的蟻后会聚在巢外做四處遊走等其他行為（圖二十一）。樣本數為取 15 隻蟻后，每天記錄一次，共記錄六天取平均。



圖二十一、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后的行為紀錄。
(樣本數：15 隻；數據為計算六次的平均。)



圖二十二、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后的覓食行為。(圖中箭頭所指處皆為蟻后)

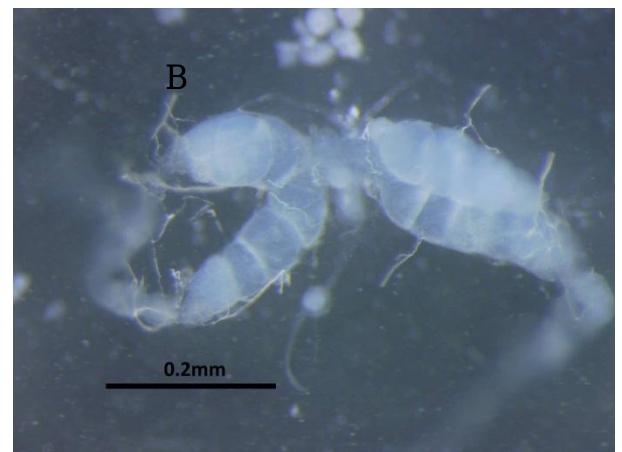
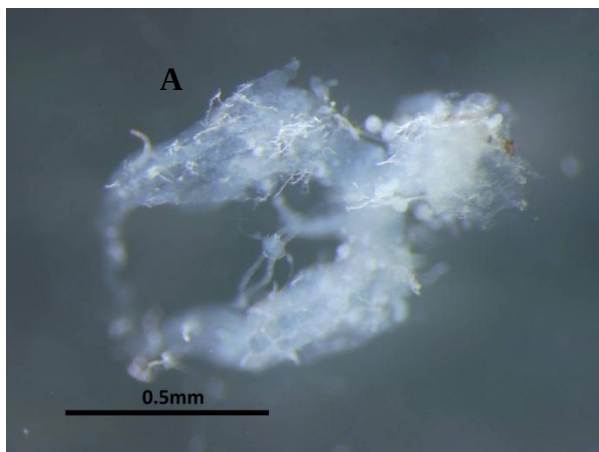


圖二十三、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后搬運屍體的行為。(圖中紅圈處為正在搬運屍體的蟻后)

(五)工蟻中間階級(intercaste)分析

1. 解剖比較內部構造。

解剖不同中間階級的工蟻的腹部觀測其微卵管，可觀察到體型較大的工蟻有 18 條微卵管，體型較小的工蟻有 4 條微卵管，而體型較大的工蟻微卵管長度較長(圖二十四)。

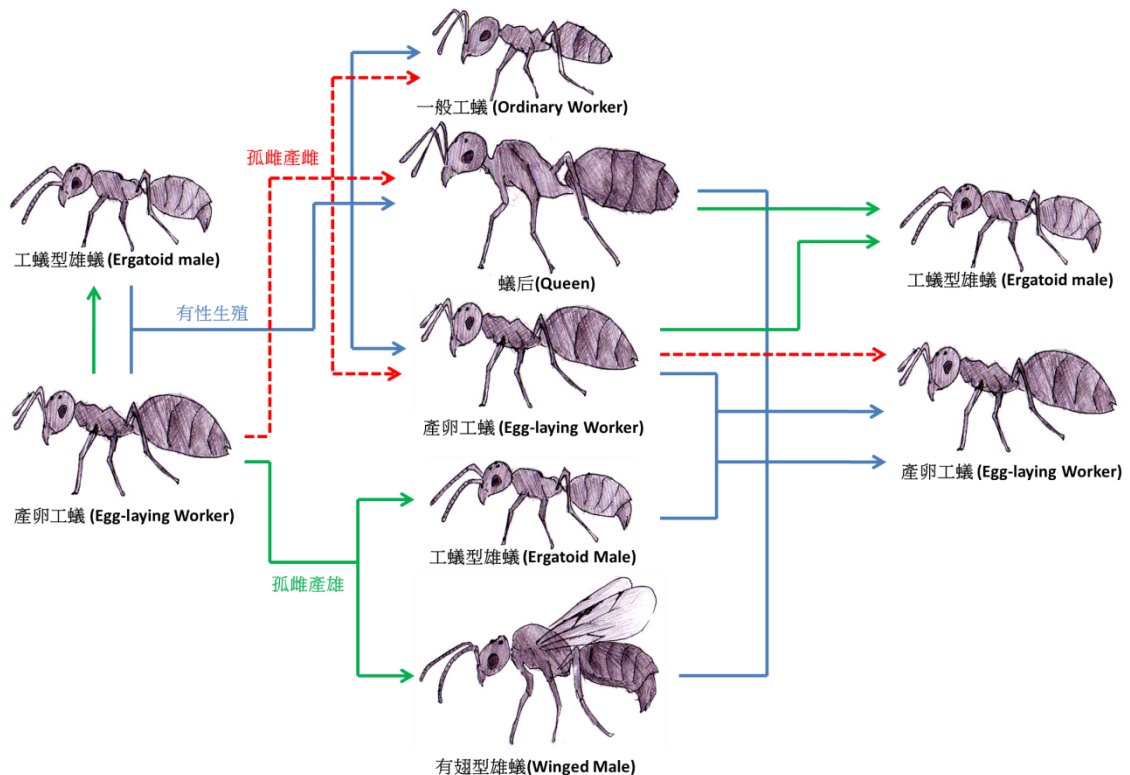


圖二十四、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)不同階級的生殖型工蟻的微卵管。
(A、大型工蟻；B、小型工蟻)

二、建立棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍模式

在野外，棕色扁琉璃蟻的大型聚落多為缺后，並且由分成三種階級的生殖型工蟻負責繁衍後代。聚落中的生殖型工蟻除了自己能夠產下工蟻型雄蟻和有翅型雄蟻之外，還會在巢中與工蟻型雄蟻交配，或是以孤雌產雌的方式產出一般工蟻、生殖型工蟻和處女蟻后。而關於新聚落出現的方式，可能是由生殖型工蟻獨自或是帶領原聚落中的部分工蟻另行建立，或是由交配過的蟻后獨自建立。然而由於蟻后的高死亡率，新的聚落不久便會缺后，並轉變成一般我們所見，由生殖型工蟻領導的聚落。

我們統整對於棕色扁琉璃蟻所做的觀察，將其聚落的繁衍方式繪製成圖二十五。



圖二十五、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)聚落繁衍方式之示意圖。

(藍線代表有性生殖；綠線代表孤雌產雄；紅線代表可能的孤雌生殖。)

伍、討論

- 一. 我們發現，棕色扁琉璃蟻的婚飛季節大約是在五月中旬至六月中的梅雨季，與其它大多數的蟻種相近；而牠們的婚飛期間是二到三個星期，在這段期間，於野外採集時都能在聚落中發現處女蟻后和有翅型雄蟻，除此之外甚至能在部份大型聚落的巢外發現牠們大量的出現，準備婚飛。

而工蟻型雄蟻的部份，雖然我們目前尚未能清楚了解牠們的出現時間，但是就目前的觀察，推測是緊接在處女蟻后和有翅型雄蟻的出現時間之後，甚至有可能與其重疊。此推測與日本紀錄的 *Hypoponera nubatama* 情況類似，該蟻種的處女蟻后和有翅型雄蟻的出現時間為七月到八月中旬，而工蟻型雄蟻則是八月底到十月中旬(Yamauchi et al. 2001)。

除了工蟻型雄蟻可能的固定出現季節外，由於棕色扁琉璃蟻聚落的缺后情況極為普遍，因此推測牠們亦可能在必要時，由工蟻自行產出工蟻型雄蟻並與其交配，藉此維持聚落的繁衍。

另外，亦有研究指出，在同樣存在著有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻的 *Cardiocondyla obscurior* 中亦發現，給予蟻巢溫度以及蛋白質食物的刺激，可以讓原本只產工蟻型雄蟻的聚落開始產出有翅型雄蟻(Yanyang et al. 2007)。

綜合以上所述，在棕色扁琉璃蟻中，處女蟻后及有翅型雄蟻會於五到六月的婚飛季節中大量出現，而工蟻型雄蟻除了在另一期間會被大量產出之外，我們在一般聚落中，由於工蟻亦有機會能夠自行產出工蟻型雄蟻，因此工蟻型雄蟻在巢中出現的時間有可能並不固定。

- 二. 通常螞蟻在婚飛季節時釋放的有翅型雄蟻的數量會高於處女蟻后，然而在棕色扁琉璃蟻的紀錄中我們卻發現，處女蟻后對有翅型雄蟻有著 86:14 的高性別比例，與一般認知相反。此一現象的發生有可能起因於蟻巢內工蟻偏好照顧姊妹螞蟻的情形增加。一個聚落中，生殖型蟻的性別比例是蟻后與工蟻間相互競爭的平衡結果。由於螞蟻的單雙套染色體的性別決定機制，造成在工蟻偏向將資源分配給與其親緣相似度較高的雌性(75%)，而非與自己的親緣相似

度較低的雄性(25%);另一方面,由於蟻后與其所有後代的親緣相似度皆相同,因此牠會較偏向於資源的平均分配。

另外一項可能的原因,即是棕色扁琉璃蟻可能是一個超級聚落(supercolony)在生殖上面的分工。在部份蟻種裡,棲息地相鄰的聚落不會彼此競爭,而是採取相互合作的方式,各個聚落各司其職,巢中的螞蟻階級分佈亦可能略有所不同,各個聚落有可能會分為偏向守衛型的蟻巢、偏向覓食型的蟻巢等不同的分工。而有時在超級聚落中,部分的衛星巢(satellite colony)會偏向產生大量的有翅型雄蟻,另一部分的衛星巢則生產較高比例的處女蟻后。而我們採集的地區,可能多為產生處女蟻后的衛星巢,因此造成差異。

最後,由於工蟻型雄蟻和有翅型雄蟻的出現時間推測是相近的,因此可能造成聚落在雄性螞蟻的生殖上能夠有選擇的能力。據此,棕色扁琉璃蟻蟻后的二型性也可能是造成這一種性別比例差異的原因。

三. 蟻后脫翅的行為,與其產卵之間有密切的關聯性。有研究指出,若將 *Lasius niger* 處女蟻后的翅膀以人工方式拔除,可以刺激其產未授精卵(Jemielity et al. 2006)。雖然蟻后以這一種方式產出的卵較正常交配的蟻后來得少,我們仍然可以藉此了解處女蟻后的脫翅與其產卵能力有一定的關係。

在我們的研究中,棕色扁琉璃蟻未脫翅的處女蟻后完全沒有產卵的行為,然而在試管中飼養一段時間後,我們發現有些處女蟻后会自行脫翅,並且在脫翅後會有部分產出少量的卵。處女蟻后脫翅有可能是因為在婚飛季節沒有成功交配,因此便自行脫翅產出雄蟻,而有巢內自交的行為產生;另一可能則是這些脫翅蟻后曾經和雄蟻交配過,但並未立即脫翅,在飼養了一段時間後才開始脫翅產卵。我們希望未來能夠將新生處女蟻后直接與雄蟻做隔離以驗證處女蟻后是否會自行脫翅,並利用基因檢測的方式來判斷這些處女蟻后產下的卵的染色體套數。

此外,在我們的研究中,棕色扁琉璃蟻蟻后產卵率的普遍較低,此一情形使我們沒有足夠的蟻后子代來確認以及進行其他實驗;再者,由於蟻后較容易死亡,因此在進行有關蟻后的一些實驗時會有樣本數不足的疑慮。未來可針對蟻后設計更適合其生長的环境,或希望能增加處女蟻后的採集,以減

少實驗上的困擾。

- 四. 有文獻指出，部分蟻種在非婚飛季節裡，巢中仍有機會存在部份有翅型螞蟥(林穀政等, 2006)。由於有翅型螞蟥不事生產，因此在某些情況下，工蟻會藉由殺害牠們來降低蟻巢的負擔。在實驗室飼養棕色扁琉璃蟻時，我們亦觀察到此種現象，時間約為八月中。棕色扁琉璃蟻的工蟻一開始會將有翅型螞蟥逐出蟻巢外，最後將其殺害。除了降低蟻巢的負擔，我們推測造成這種現象的另一種可能性，為巢內開始出現的生殖型工蟻為了避免處女蟻后和有翅型雄蟻的存在對其生殖所造成的影響，因而採取此一行為。

我們在聚落中所觀察到有翅型螞蟥自行覓食的行為，推測即是由於工蟻上述的驅逐行為所造成，而這種情況，便使得處女蟻后及有翅型雄蟻死亡的可能性大幅增加。

由於遭受工蟻的放逐或殺害，因此我們在長久飼養處女蟻后和有翅型雄蟻上有一定的困難度，牠們在聚落中也無法長時間的生存。關於如何在實驗室延長處女蟻后和有翅型雄蟻於婚飛季節後的生存，是一值得探討的問題。

- 五. 在我們進行實驗時發現，雖然將小聚落的棕色扁琉璃蟻飼養於試管中，觀察起來十分方便，但這種環境卻也造成了許多麻煩。由於空間狹小且通風不佳的緣故，造成試管內聚落的規模受到了限制，且衛生條件也相對較差。因此我們希望能再設計或是改善此種飼養方式，以降低蟻后和工蟻非自然死亡的比例，以利實驗的進行。
- 六. 我們觀察到在數個棕色扁琉璃蟻的有后聚落中，有些蟻后会負責從事覓食和搬運屍體等勞動，而蟻巢裡則是由生殖型工蟻來負責產卵。這與其它的蟻種相比，是一極為少見的情形。一般就社會性昆蟲而言，由於生殖分工，造成蟻后專司生育，領導聚落；而工蟻則分成一或多個階級，負責覓食、警戒、搬運屍體、撫育後代等。而棕色扁琉璃蟻后從事一般勞動的這種情形，便證明了此物種的分工階級出現了很大的變化。

此一現象的發生，應與棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍方式有關：一聚落裡通常存在著許多具有繁殖能力的生殖型工蟻，他們有能力在缺后的情況下，領

導整個聚落，並快速擴展其規模。相比之下，完成交配並成功獨立築巢的蟻后，由於有著相較於其它蟻種蟻后的高死亡率，因此更容易造成聚落缺后的現象，再加上牠們的低產卵率與卵的高畸形率，以及開始從事勞務的情形，因此我們判斷——棕色扁琉璃蟻的蟻后在生殖模式的運作中處於極低的地位；而在有后聚落中，蟻后死亡之後，聚落中為數不少且產卵能力較強的生殖型工蟻，便取代了蟻后，領導棕色扁琉璃蟻聚落並繁衍後代。

- 七. 在蟻后產卵畸型率的實驗中，我們發現蟻后產下的卵中，有 27% 的卵為畸型卵，占有一定程度的比例。在實驗的觀察中，我們認為蟻后產出的畸型卵並沒辦法如正常卵一樣發育成蟲。除此之外，在我們以往飼養棕色扁琉璃蟻的無后聚落時，尚未觀察到生殖型工蟻產出的卵中有任何畸型卵，因此初步推測蟻后除了產卵率低於生殖型工蟻以外，產卵品質也



圖二十六、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)蟻后與其產下的畸型卵。

較生殖型工蟻產出的卵較差，我們認為這在棕色扁琉璃蟻的聚落中屬一種生殖衰退的現象，因此整個聚落發展模式中蟻后所扮演的角色相較於生殖型工蟻較為弱勢。我們希望未來亦能針對生殖型工蟻產下的卵做統計，來將其與蟻后產卵的畸型率做比較，以更深入的探討棕色扁琉璃蟻蟻后生殖衰退的現象。

- 八. 雖然前人已有對於棕色扁琉璃蟻工蟻的孤雌產雌的行為進行探討(陳丰陽等, 2011)，但他們並未提到工蟻型雄蟻對於此蟻種生殖方式的影響，也未更進一步的發現生殖型工蟻的三種階級。

而在本研究中，我們以掃描式電子顯微鏡觀察不同體型的工蟻，初步的發現了棕色扁琉璃蟻工蟻中間型階級的些微差異。此現象與同屬的 *Technomyrmex albipes* 相同 (Tsuji et al. 1991)。該研究將除了蟻后之外具有生

殖能力的雌性分為三種中間階級(intercaste)，並指出其體型大小、眼點數目、卵巢數目和儲精囊的大小隨著階級的不同而有規律的變化。

但雖如此，該研究卻未對這三種階級工蟻的生殖方面進行比較，因此我們希望未來能夠發現其它辨認中間階級的方法，並對此三種不同的階級的生殖能力等進行更進一步的比較，以及觀察這種現象可能會造成的影響。

- 九. 在統計工蟻型雄蟻於聚落中所佔的比例中，我們發現所統計的三個聚落差距不大，所佔比例皆在 2% 上下，因此推測工蟻型雄蟻在各個聚落中所佔的數量有一定的比例。另外，工蟻型雄蟻相對於工蟻，在聚落中所佔的比例極少，因此其在聚落中所扮演的角色是值得作深入探討的，未來我們希望能設計實驗來探討工蟻型雄蟻是否會與工蟻交配、是否在巢中有擔任勞動的工作等，來了解其在聚落中所佔比例較少的原因，並更進一步討論其地位。
- 十. 就我們目前的觀察，在非生殖季節裡沒有出現有翅型螞蟻的野外大型聚落，能夠在生殖季節釋放大量的有翅型螞蟻，應是由巢中的生殖型工蟻所產。另外，雖然由於時間的因素，我們未能確認生殖型工蟻是否可以用孤雌產雌的方式來繁衍聚落，但由於我們已知聚落中工蟻型雄蟻的存在，因此便能認定聚落中的雌性後代是源自於生殖型工蟻。

而由於棕色扁琉璃蟻蟻后的高死亡率，我們推測新建立聚落的蟻后除了能夠產出一般工蟻、生殖型工蟻以及工蟻型雄蟻之外，牠們沒有足夠的壽命等到下一次的婚飛季節，和生殖型工蟻所領導的聚落一同釋出有翅型螞蟻。綜合以上論點，我們繪製出棕色扁琉璃蟻聚落的繁衍示意圖，並希望將來能夠把目前未能確認的部分作更詳盡的探討。

- 十一. 從表面碳氫化合物組成的分析中可以發現，工蟻型雄蟻除了比一般工蟻少了 1-Hexacosene 的化學成分外，其他部分的碳氫化合物組成幾乎相同，顯示工蟻型雄蟻除了外觀與一般工蟻相似之外，其氣味亦與一般工蟻類似。由此推論，工蟻型雄蟻的擬態，能使牠們在聚落中較不會受到其他工蟻的排斥，並自由的生殖型工蟻交配；而有翅型雄蟻在缺后聚落中，則常遭到工蟻驅逐，甚至於被工蟻殺害，因此工蟻型雄蟻相較於有翅型雄蟻在蟻巢中的生存是更有優勢的。由此亦可推測婚飛季時有翅型雄蟻的低比例，有可能是由於工蟻

型雄蟻在聚落中相對強勢的原因。未來我們希望能設計實驗來進一步探討卵選擇發育成有翅型雄蟻或工蟻型雄蟻的方式，亦希望能探討 1-Hexacosene 在棕色扁琉璃蟻中所具有的功能，以了解工蟻型雄蟻較一般工蟻缺少此化學成分的原因。

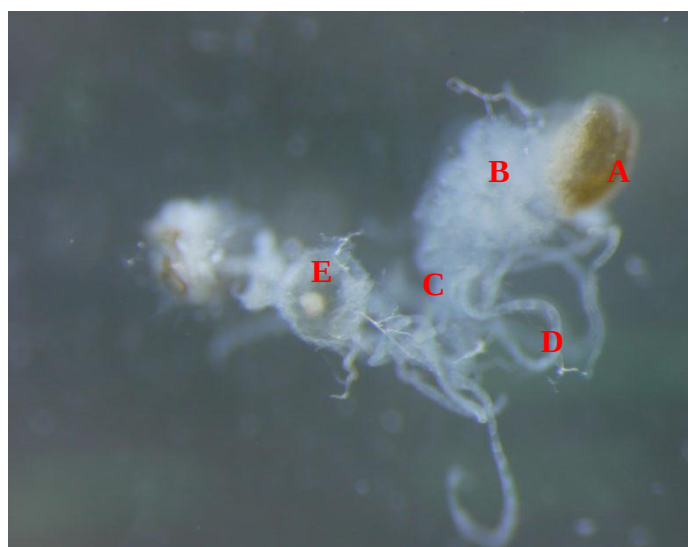
十二. 以條紋技術檢驗棕色扁琉璃蟻的核型時，我們發現工蟻的染色體套數為雙套，共十六條染色體，與前人的紀錄相符。在取樣本製作核型標本時，從蛹的頭部取出之細胞效果相較成體的卵巢與微卵管較不顯著，無法明顯看出其核型的染色體套數，因此未來製作核型標本應取成體腹部卵巢等細胞較易成功。

由於有翅型雄蟻僅於婚飛季出現，而工蟻型雄蟻出現的時間並不固定，因此本實驗中雄性的核型標本樣本數並不足夠，未能檢驗出雄蟻的染色體套數。未來待樣本數充足後可再以改良的取樣方式做檢驗，此外亦希望能對工蟻的卵與儲精囊等細胞做更進一步的檢驗，以釐清其生殖模式。

一般的吉姆薩染色法(Giemsa stain)是以 5%的染液浸染 20 至 30 分鐘，而我們主要參照前人的方法，以 3%的染液浸染 10 分鐘針對螞蟻的細胞進行染色(Imai et al. 1977; Imai et al. 1984; Imai et al. 1988; Imai et al. 1994)。未來在進行染色體檢驗時，我們會將染色時間再加長至 20 分鐘，希望能更容易觀察到染色體。

十三. 解剖生殖型工蟻的中間階級(intercaste)時，除了生殖腺以外，我們亦觀察了螞蟻的消化系統，其中包括嗉囊、中腸、直腸、馬氏管等，與一般昆蟲有些微的差異(圖二十七)。

此外，我們亦發現生殖型工蟻的不同中間階級



圖二十七、棕色扁琉璃蟻(*T. brunneus*)工蟻的消化線。(A、嗉囊；B、中腸；C、直腸；D、馬氏管；E、後腸)

中，微卵管數目會有所差異，依照不同的階級大致可分為 2 至 6 條、12 至 14 條、18 至 24 條三個約略的範圍，這種微卵管的多形性在它種螞蟻中是相當少見的。

一般在同種螞蟻中，蟻后或是工蟻都有其固定數目的為卵管，鮮有個體間的差異；然而在棕色扁琉璃蟻中，生殖型工蟻中即有三種不同範圍的微卵管數量，由此亦可得知工蟻的階級為先天決定的。我們推測三種階級的生殖型工蟻其儲精囊與卵巢構造亦可能有所不同，未來希望能做進一步的觀察，並對蟻后進行解剖，以比較棕色扁琉璃蟻各種階級的差異。

十四. 觀察工蟻型雄蟻於巢中的交配行為時，我們發現其一生即具有交配能力，此種行為於各種動物中皆為極特殊的情形。一般個體的生殖構造須待其生長至一定程度之後，始能開始發育並擁有交配能力；然而工蟻型雄蟻剛從蛹羽化為成蟲後，即可與巢中的生殖型工蟻交配。我們推測其生殖器官於蛹期時即逐漸發育，因此出生後即可交配，未來希望可針對這部分設計實驗。

另外，我們亦觀察到工蟻型雄蟻在巢中能進行多次交配(multiple mating)，且其周圍常有許多的工蟻圍繞，我們推測工蟻型雄蟻能夠散發特定的費洛蒙吸引工蟻聚集並引誘與其交尾。未來我們將針對工蟻型雄蟻的行為表現以及其化學訊息做更進一步的探討。

陸、結論

- 一. 棕色扁琉璃蟻的生殖型蟻分為四種：蟻后、生殖型工蟻、有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻。
- 二. 生殖型工蟻分為三種階級，其體長由大到小，複眼數目分別為三、一、零，胸線的部分有規律性變化；而依不同階級，微卵管的數目可分為 2 至 6 條、12 至 14 條、18 至 24 條三個範圍。
- 三. 工蟻型雄蟻的體長、外型及表面碳氫化合物皆近似工蟻，但其顏色較淡，且擁有交尾器、鏈狀觸角、大型複眼、三個單眼等雄蟻的特徵。此種擬態可使其在蟻巢中較有翅型雄蟻更具有生存及交配的優勢。
- 四. 工蟻型雄蟻一羽化後即可與生殖型工蟻多次交配。
- 五. 處女蟻后和有翅型雄蟻的婚飛季節約為五月中旬到六月中旬的梅雨季，且處女蟻后的數量多於有翅型雄蟻，比例約為六比一。
- 六. 有翅蟻后脫翅的比例約為五分之一，且未交配的處女蟻后亦有可能自行斷翅產卵。
- 七. 聚落中的蟻后在 19 天過後，累積死亡率超過三成，且產下的卵約有四分之一為不健康的畸形卵，具有生殖衰退的現象。
- 八. 一般而言蟻后多在蟻巢外活動，並從事覓食、搬運屍體等一般勞務。此現象與野外大型聚落多為生殖型工蟻領導有密切關係。
- 九. 棕色扁琉璃蟻聚落主要由生殖型工蟻來進行繁衍。牠們以有性生殖、孤雌產雌或是孤雌產雄的方式，繁殖出蟻后、生殖型工蟻、有翅型雄蟻和工蟻型雄蟻。
- 十. 蟻后可與雄蟻交配，產出一般工蟻、生殖型工蟻和工蟻型雄蟻，以建立新聚落。
- 十一. 工蟻的染色體有 16 條，套數為 2 套。

柒、應用與展望

我們希望未來能夠進一步地探討棕色扁琉璃蟻在什麼時間以及什麼環境下，工蟻型雄蟻會出現於聚落之中；此外，我們已確認工蟻型雄蟻可與生殖型工蟻交配，未來希望能更深入探討其交配模式。而關於雄蟻二型性的部分，我們希望能查出是何種原因，影響單套的未受精卵能夠發展出兩種不同型態的雄蟻，並深入觀察此兩種不同型態的雄蟻在生殖策略以及行為上的差異。

針對蟻后的部份，我們則希望能探討蟻后的生殖策略，藉此了解蟻后除了與有翅型雄蟻交配以外，是否有機會和工蟻型雄蟻交配，或是以孤雌產雌的方式來繁衍後代。

在孤雌產雌的部份，我們將藉由檢驗 VASA 基因是否在處女蟻后及一般工蟻表現，更進一步地確認生殖型工蟻的生殖行為；另外亦設計實驗，藉由餵食抗生素來檢驗棕色扁琉璃蟻的孤雌產雌是否是由於 Wolbachia 的影響，來更深入地探討生殖型工蟻孤雌產雌的運作方式。

棕色扁琉璃蟻擁有多樣且複雜的生殖模式，希望我們現在與未來的實驗，能為社會性昆蟲的聚落生殖運作方式提供一個新的研究方向。

捌、參考資料

- 林威任，王雋朝，毛弘仁，陳冠穎。2010。孤軍——光滑管琉璃螞蟻缺后聚落之探討。第 50 全國科學展覽作品說明書。
- 林穀政，韓琳，徐伯瑋，林廷諭。2006。雄蟻先成之矛盾與現實。第 48 屆全國科學展覽作品說明書。
- 陳丰陽，林廷諭，徐伯瑋。2011。Thelytokous Parthenogenesis by egg-laying workers in the Black Ant, *Ochetellus glaber*. (Hymenoptera: Formicidae)。2011 臺灣國際科學展覽會。
- Forel, A. 1895. Les formicides de l' Empire des Indes et de Ceylan. Part V. Adjonction aux Camponotinae. Journal of the Bombay Natural History Society 9: 453-472.
- Heinze, J., A. Hartmann, & O. Ruppel. 2001. Sex allocation ratios in the facultatively polygynous ant, *Leptothorax acervorum*. *Behav Ecol Sociobiol* 50:270-274.
- Heinze, J., L. Keller. 2000. Alternative reproductive strategies: a queen perspective in ants. *Tree* vol. 15, no. 12, 508-512.
- Heinze, J., K. Tsuji. 1995. Ant reproductive strategies. *Res. Popul. Ecol* 37, 135-149.
- Herzner, G., Goettler, W., Kroiss, J., Pura, A., Webb, A.G., Jakob, P.M., Rössler, W., and Strohm, E. 2007. Males of a solitary wasp possess a postpharyngeal gland. *Arth. Struct. & Dev.* 36:123-133.
- Hölldobler, B., E.O. Wilson. 1990. *The Ants*. Harvard University Press.
- Hovorka, O., Valterova, I., Rasmont, P., and Terzo, M. 2006. Male cephalic labial gland secretions of two bumblebee species of the subgenus *Cullumanobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus latreille*) and their distribution in central Europe. *Chem. Biodiv.* 3:1015-1022.
- Imai, H. T., R. H. Crozier and R. W. Taylor. 1977. Karyotype evolution in Australian ants. *Chromosoma* 59: 341-393.
- Imai, H. T., C. Baroni Urbani, M. Kubota, G. P. Sharma, M. H. Narasimhanna, B. C. Das,

- A. K. Sharma, A. Sharma, G. B. Deodikar, V. G. Vaidya and M. R. Rajasekarasetty. 1984. Karyological survey of Indian ants. *Jpn. J. Genet.* 59: 1-32.
- Imai, H. T., R. W. Taylor, M. W. J. Crosland and R. H. Crozier. 1988. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. *Jpn. J. Genet.* 63: 159-185.
- Imai, H. T., R. W. Taylor and R. H. Crozier. 1994. Experimental bases for the minimum interaction theory. I Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). *Jpn. J. Genet.* 69: 137-182.
- Itow, T., K. Kobayashi, M. Kubota, K. Ogata, H. T. Imai, & R. H. Crozier. 1984. The reproductive cycle of the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insectes Sociaux* 31:87-102.
- Jemielity, S., J. Gräff, & L. Keller. 2006. How to fool a virgin: Artificial dealation triggers oviposition in virgin *Lasius niger* queens. *Insect. Soc.* 53:323-325.
- Ken, R., H., J. H. Fewell, & S.W. Rissing. 1999. Sex ratio determination by queens and workers in the ant *Pheidole desertorum*. *Animal Behaviour*, 59, 523 – 527.
- Kroiss, J., Schmitt, T., Schreier, P., Strohm, E., and Herzner, G. 2006. A selfish function of a “social” gland? A postpharyngeal gland functions as a sex pheromone reservoir in males of the solitary wasp *Philanthus triangulum*. *J. Chem. Ecol.* 32:2763-2776.
- Morgan, E.D., Jungnickel., H., Keegans, S.J., Do Nascimento, R.R., Billen, J., Gobin, B., and Ito, F. 2003. Comparative survey of abdominal gland secretions of the ant subfamily ponerinae. *J. Chem. Ecol.* 29:95-114.
- Rabeling, C., J. Lino-Neto, S. C. Cappellari, I. A. Dos-Santos, U. G. Mueller and M. Bacci, Jr. 2009. Thelytokous Parthenogenesis in the Fungus-Gardening Ant *Mycocepurus smithii* (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS One* 4(8): e6781.
- Timmermans, I., L. Grumiau, A. Hefetz, & S. Aron. 2009. Mating system and population structure in the desert ant *Cataglyphis livida*. *Ins. Soc.* 57:39-46.

- Tsuji, K., K. Yamauchi. 1995. Production of females by parthenogenesis in the ant, *Cerapachys biroi*. *Ins. Soc.* 42:333-336.
- Yamauchi, K., Y. ITÔ . 1987. Polycalic Colonies of the Weaver Ant *Polyrhachis dives*. *Kontyû* ,Tokyo , 55(3) : 410-420 °
- Yanyang D., A. Schrempf, & J. Heinze. 2007. Environmental determination of the male morph in the ant *Cardiocondyla obscurior* (Hymenoptera: Formicidae). *Eur. J. Entomol.* 104:243-246

評語

建議將過去所做的觀察及實驗的數據，只要能與本次研究相關的部份均引進來做比較。

如果可以和同棲地、利用相同食物的蟻種作比較，以了解本研究的對象蟻種的特殊生殖策略是否造成其優勢地位的原因會更有意義。

該研究發現不少過去未知或罕見的社會性昆蟲生態特性，很有價值。