

# 2023 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 050003

參展科別 動物學

作品名稱 線翅搖蚊誘捕蚊幼蟲特性及乾旱高溫環境下之  
生存策略研究

得獎獎項

就讀學校 臺北市立華江高級中學

指導教師 林琬亭、蔡瑞穎

作者姓名 溫珮伶、蔡婷喻

關鍵詞 線翅搖蚊、繭巢、熱休克蛋白

## 作者簡介



## 摘要

搖蚊幼蟲棲息於暫時性水域，面臨乾旱、暴雨和天敵等逆境。本研究探討其與斑蚊的互動及逆境下的行為和基因表現。田野調查觀察到搖蚊的棲地常有其他蚊蟲共存。使用線翅搖蚊進行實驗，發現蚊蟲偏好於搖蚊棲地水產卵，次世代定序 (NGS) 顯示線翅搖蚊幼蟲優勢腸胃菌為 *Novispirillum* sp.；幼蟲競爭中，白線斑蚊優先捕食搖蚊；生長於搖蚊棲地水使白線斑蚊延遲化蛹，且羽化之成蟲多為雄性。搖蚊幼蟲築繭巢固定及禦敵，低水位、土砂和高溫會促進築巢，低溫則會降低搖蚊的存活率。光照使黏液繭中的搖蚊幼蟲 *hsp* 表現量增加，令土繭中幼蟲大量表現血紅蛋白；溫度上升則使幼蟲血紅蛋白表現增加。本研究顯示，搖蚊族群在氣候變遷下可能的存活策略。未來可以針對搖蚊腸道菌挑選吸引蚊蟲之菌種，評估應用生態友善管理淡水域棲地及病媒生物防治。

## Abstract

Chironomid larvae inhabit temporary aquatic habitats and overcome obstacles, such as drought, heavy rain, and predators. This study investigated its interaction with *Aedes* mosquitoes as well as its behavior and gene expression under adversity. During the entomological survey, we observed that chironomids often coexisted with other mosquitoes in their habitats. *Chironomus striatipennis* was used in our experiments. We found that gravid female mosquitoes preferred to lay eggs in the water from chironomid habitat. Next-generation sequencing (NGS) showed that the dominant gastrointestinal bacterium of these larvae was *Novispirillum* sp. During larval competition, *Aedes albopictus* larvae preferentially preyed on the chironomids. Mosquitoes growing in the water from chironomid habitat delayed pupation, and most of the emerging adults were males. Chironomid larvae build tubular nests to defend themselves. Low water level, mud, and high temperature promoted nesting, while low temperature reduced larval survival. Light stimulated the expression of *hsp* in larvae in the saliva nests and the expression of hemoglobin gene in larvae in the mud nests. The increase in temperature also upregulated the expression of hemoglobin gene. This study revealed the possible survival strategies of chironomid populations under climate change. In the future, the chironomid intestinal bacteria which attract mosquitoes would provide an alternative of eco-friendly management of freshwater habitats and vector biological control.

# 一、前言

## (一) 研究動機

根據學長姐專題研究分享的內容，我們了解蚊蟲和搖蚊一樣，都有血紅蛋白，透過血紅蛋白的呼吸機制可以長時間棲息在水體底層，然而我們也很好奇躲在底部的優勢是甚麼？躲避天敵？還是有比較多食物可以吃？在學長姐分享過程中，他們有描述曾經觀察到搖蚊捕食蚊幼蟲的現象，引發我們對於搖蚊應用於蚊蟲生物防治的興趣，尤其解釋生態系中被忽略的生物的生態機制和角色，以及進一步應用牠們生物特性的可能性。

查詢網站資料發現，釣友最常使用的餌釣中，搖蚊是很好的誘餌 (英文：Lure)，特別是其中有一些種類的搖蚊幼蟲 (俗稱紅蟲)。此外，有些釣餌也根據搖蚊的型態改造成人工誘餌，除此之外，與搖蚊相關的研究都比較少。因此，我們開始在戶外不同環境採集搖蚊，忽然發現搖蚊種類多樣性高，生態習性也不一樣。初步觀察戶外淡水環境中，底部泥沙、淤泥或有機質高的爛泥中都有紅色的節肢生物存在，顯微鏡下辨別該幼蟲大多都是搖蚊幼蟲。帶回實驗室後，放入蚊蟲幼蟲，可以觀察部分搖蚊有明顯捕食蚊幼蟲的現象，有些則不明顯。

我們希望透過戶外採集和實驗室工作，期望能釐清不同搖蚊種類之存活策略和取食機制，在討論與閱讀相關文獻後，經過初步採集和試驗後正式展開本研究主題。

## (二) 研究目的

本研究分為戶外採集和實驗室分析二部份。

### 1. 戶外採集部分：

著重於戶外的生態環境紀錄、搖蚊幼蟲的採集鑑定、以及水體採樣分析，我們想了解搖蚊幼蟲的生活水體物理性和生物性因子，以及生態環境的差異是否與不同種的搖蚊幼蟲分布有關，並藉由照片初步鑑定物種。

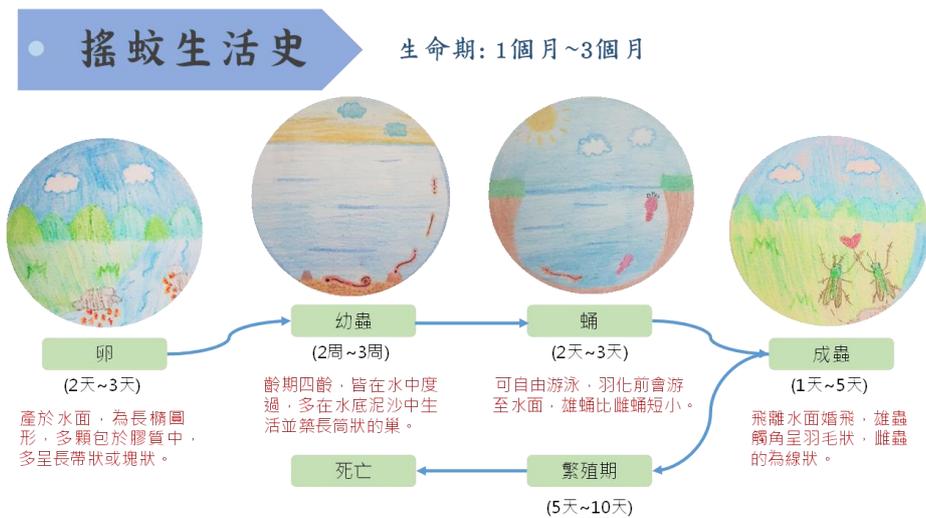
### 2. 實驗室分析部分：

第一階段，先以 PCR 方法增幅、定序搖蚊的 *COI* 基因來確認物種，同時增幅 *housekeeping* 基因和血紅蛋白等基因，以提供第二階段評估血紅蛋白基因之表現量。

第二階段，觀察搖蚊於乾涸或大雨、不同水位高低、砂土量、與溫度對搖蚊築繭的影響，再以 RT-qPCR 比較不同生存危機下血紅蛋白及熱休克蛋白基因的表現量。

第三階段，藉由搖蚊幼蟲與孑孓共處實驗瞭解兩者交互關係，評估搖蚊幼蟲和斑蚊共存的實驗、搖蚊幼蟲捕食孑孓的效率、以及未被捕食的孑孓羽化後，牠們成蟲的性別比例。

第四階段，設計蚊蟲產卵選擇性實驗，評估蚊蟲產卵的喜好性。並透過分析搖蚊幼蟲唾液、搖蚊生長激素和搖蚊幼蟲糞便中之腸道細菌的 16S 基因分析，以進一步解釋釐清那些菌種或微生物讓搖蚊幼蟲在推拉策略（推：忌避；拉：吸引）扮演的角色。這個結果有助於研發誘引蚊蟲或忌避蚊蟲的物質。



圖一、搖蚊生活史的手繪圖

## 二、 研究方法與過程

- (一) **採集器材**：長柄水杓、寬口滴管、透明寶特瓶、白色紙碗 (表一)。
- (二) **實驗儀器和材料**：複式顯微鏡、解剖顯微鏡、目鏡測微器、pH 值測量儀器、溶氧測量儀器、懸滴玻片、載物台測微器、250mL 燒杯、25mL 樣本瓶 (表二)。
- (三) **實驗室分生儀器**：乾浴槽、高速離心機、振盪機、微量天平、微量吸量器、DNA 電泳槽、PCR 機器、定量 PCR 機器、DNA 照膠相機組 (表二)。

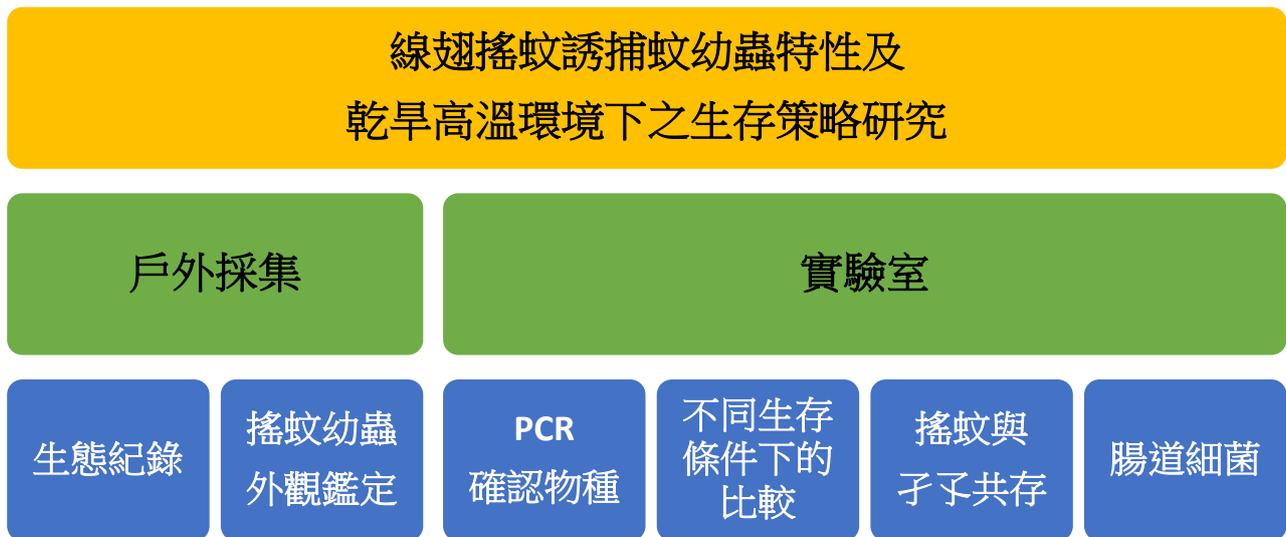
表一、採集器材

			
長柄水杓	滴管	寶特瓶	白色紙碗

表二、實驗儀器和材料

			
複式顯微(Motic)	解剖顯微(Motic)	振盪機	微量吸量(DLAB) (100~1000 $\mu$ L)
			
微量吸量器 (0.1-2.0 $\mu$ L)	微量天平	目鏡測微器 (Motic)	載物台測微器 (日製)
			
pH 儀(EXTECH)	溶氧儀(EXTECH)	25mL 樣本瓶	250mL 燒杯
			
懸滴玻片	養蚊籠	乾浴槽(Therno)	高速離心機
			
PCR 機器 Thermal Cycler (Biometra TRIO)	DNA 电泳槽 (Labnet)	DNA 照膠 相機組 BioDoc-IT TM Imaging System (Analytik Jena)	定量 PCR 機器 MyiQ Thermal Cycler (BIO-RAD)

### (三) 實驗架構



圖二、實驗架構

### (四) 採集

戶外觀察採集樣點共計 26 個，包括臺北市中正區 (3 個)、松山區 (1 個)、信義區 (1 個)、北投區 (4 個)、大安區 (3 個)、士林區 (4 個)。新北市新店區 (1 個)、三重區 (1 個)、貢寮區 (1 個)、坪林區 (1 個)。以及桃園市 (2 個)、宜蘭市 (1 個)、苗栗市 (1 個)、嘉義縣、高雄市 (1 個) 等，詳細地理分布和生態環境參見圖三和圖四。



圖三、戶外 26 個搖蚊採樣點之地理分布圖

過觀察自然水體以及查閱搖蚊幼蟲生存環境的文獻，我們決定先研究信義區的松山慈惠堂所採集的搖蚊幼蟲，主要原因是幼蟲數量較多，後續持續研究要補充蟲源比較方便。慈惠堂：位於台北市松山區，可於上坡路段的排水溝採集，該處搖蚊幼蟲水體泥沙呈現灰黑色 (圖

二)。紀錄採集地點的生態環境，以及使用顯微鏡拍照觀察搖蚊物種形態，並將水體採樣、保存、以及使用水質檢驗儀分析水體溫度、pH 值、濁度、總沉澱量、導電度、溶氧量等。

		
中正區 (一) 臺大舊社科院 (A)	中正區 (一) 臺大舊社科院 (B)	中正區 (一) 臺大舊社科院 (C)
		
松山區 (一)慈惠堂 (A)	松山區 (一)慈惠堂 (B)	松山區 (一)慈惠堂 (C)
		
中正區(二)台北植物園	中正區 (三)	信義區虎山步道
		
北投區 (一) 關渡自然公園	北投區 (二) 台北藝術大學	北投區 (三)
		
北投區 (四)	大安區 (一)	大安區 (二)

		
大安區 (三) 大安森林公園	士林區 (一)	士林區 (二) 洲美國小
		
士林區 (三) 社子	士林區 (四) 溪砂尾	新北市新店區瑠公圳
		
新北市三重區堤防	新北市貢寮區	新北市坪林區
		
桃園市蘆竹區 (一)	桃園市蘆竹區 (二)	宜蘭市羅東鎮
		
苗栗縣三義鄉勝興車站	嘉義縣東石鄉	高雄市旗山區

圖四、採集地點照片

## (五) 搖蚊物種鑑定

將不同採集地點的搖蚊幼蟲製作玻片，並進行身分基因 (COI 基因)、持家基因 (housekeeping) 和血紅蛋白基因 (CteHb-II gene) 分析。以 PCR 方法增幅、定序搖蚊的 COI 基因、持家基因和血紅蛋白等基因確認物種。再透過生物科技公司定序、NCBI 進行比對，比對出所採集的搖蚊物種。

## (六) 搖蚊於不同危機下的生存方式

1. 溝遇到乾涸或大雨，線翅搖蚊可以藉由築繭預防水分散失，並透過唾液固著身體於孳生棲地，分析繭巢與唾液之蛋白質成分，觀察築繭速率與分泌唾液之現象。
2. 線翅搖蚊於不同高低水位時築繭速率有所不同，以預防乾旱帶來的衝擊，以六種不同深度的水位觀察與紀錄搖蚊築繭速率。
3. 線翅搖蚊築繭時，環境中砂土多寡與溫度對其築繭有所影響，觀察與記錄三種溫度(16、26、36°C)和三種水位的高度(0.5、2.0、5.0 cm)對線翅搖蚊築繭之影響。
4. 光照和溫度會影響線翅搖蚊幼蟲壓力蛋白的表現，藉由高溫 and 光照引起線翅搖蚊幼蟲生存壓力，再使用 qRT-PCR 分析不同溫度及光照下，血紅蛋白及熱休克蛋白基因之表現量，基因引子序列如下表列 (表三)。

表三、血紅蛋白及熱休克蛋白基因引子對

NO.	Oligo 名稱	Oligo 序列 (5' 端到 3' 端)
1	Hsp70_F	CATGTGAACGAGCCAAGAGA
2	Hsp70_R	TTGCCACAGAAGAAATCTTG
3	Hsc70_F	CGTGCTATGACTAAGGACAA
4	Hsc70_R	GCTTCATTGACCATACGTTT
5	Hsp17F2	GGAAGACGAATTTGGCCATATTG
6	Hsp17R2	GGGTTTCATAGTTGGTGGC
7	Hsp27 rt F	TCAACACACAGGACCG
8	Hsp27 rt R	ATCCTTTATTGGTGATTAATTATG

5. 光照、高溫和乾燥會影響線翅搖蚊的呼吸速率，增加血紅蛋白基因之表現，利用 qRT-PCR 分析光照、高溫和乾燥下，比較血紅蛋白基因 (HbIII) 之表現量，序列同表三。

## (七) 蚊蟲產卵選擇性實驗

### 1. 白線斑蚊之產卵偏好

在五個燒杯中分別放入蒸餾水 50 mL 於燒杯 A 中、不定搖蚊生存水 50 mL 於燒杯 B 中、線翅搖蚊生存水 50 mL 於燒杯 C 中、蒸餾水 50 mL 及 4 隻不定搖蚊幼蟲於燒杯 D 中、蒸餾水 50 mL 及 4 隻線翅搖蚊幼蟲於燒杯 E 中，將 A 到 E 燒杯放入養蟲箱中並放入 5 隻飽血雌性白線斑蚊，重複三次，且為了避免不同內容物的燒杯位置造成實驗誤差，燒杯 A 到 E 五杯同一位置擺在養蟲箱中 (圖三)。3~5 日後估算各水杯之產卵之比例與產卵數量，最後以圖表呈現，並以統計軟體 SAS 或 SPSS 統計軟體分析。

### 2. 埃及斑蚊之產卵偏好

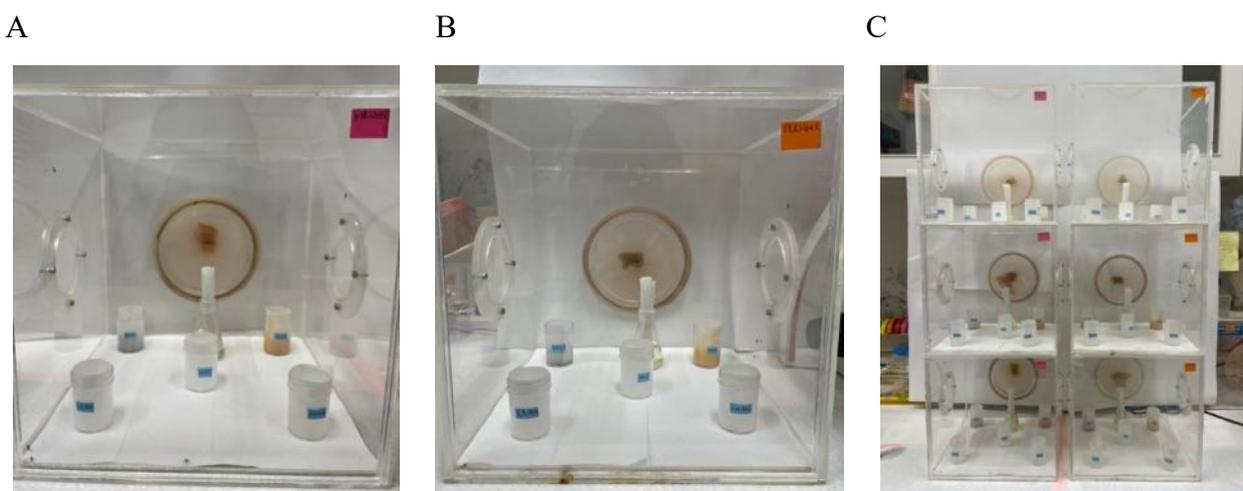
同上步驟之描述，放入 5 隻飽血雌性埃及斑蚊，3~5 日後估算各水杯之產卵之比例與產卵數量，最後以圖表呈現，並以統計軟體 SAS 或 SPSS 統計軟體分析 (圖五)。

### 3. 地下家蚊之產卵偏好

同上步驟之描述，放入 5 隻飽血雌性地下家蚊，3~5 日後估算各水杯之產卵之比例與產卵數量，最後以圖表呈現，並以統計軟體 SAS 或 SPSS 統計軟體分析 (圖五)。

### 4. 熱帶家蚊之產卵偏好

同上步驟之描述，放入 5 隻飽血雌性熱帶家蚊，3~5 日後估算各水杯之產卵之比例與產卵數量，最後以圖表呈現，並以統計軟體 SAS 或 SPSS 統計軟體分析(圖五)。



圖五、於養蟲箱內進行搖蚊幼蟲與搖蚊生活水體誘集蚊蟲產卵的推拉策略實驗

A：白線斑蚊；B：埃及斑蚊；C：重複實驗之擺設圖，五杯產卵水杯分別為 dH<sub>2</sub>O、不定搖蚊生存水、線翅搖蚊生存水、dH<sub>2</sub>O+不定搖蚊和 dH<sub>2</sub>O+線翅搖蚊。

## (八) 線翅搖蚊和白線斑蚊共存實驗

### 1. 線翅搖蚊和白線斑蚊之交互作用

以量筒分別倒入蒸餾水於 100 mL 的燒杯中，觀察線翅搖蚊幼蟲三隻與白線斑蚊幼蟲五隻混養於四種深度 (1.0、1.5、3.0、5.0 cm) 水體中的交互關係。

### 2. 線翅搖蚊孳生的水體，對白線斑蚊族群生長的影响

線翅搖蚊孳生的水體 (含細菌和唾液等成分)，會影響白線斑蚊之生長速率，將白線斑蚊三齡幼蟲 (n=5) 養於搖蚊原生水，分別觀察六種深度 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 cm 的水體中，白線斑蚊的羽化後的性別比例。

## (九) 搖蚊幼蟲腸道細菌 16S 基因分析

將線翅搖蚊幼蟲蒐集後，將泥沙分離的部分集中，由生物科技公司進行 16S 高通量定序(NGS)。

## 三、研究結果與討論

### (一) 採集結果

戶外調查 26 個搖蚊孳生樣點，請參見圖二。選擇信義區的松山慈惠堂所採集的搖蚊幼蟲為研究主角，主要原因包括：(1) 生態環境變化大；(2) 幼蟲數量較多，後續持續研究要補充蟲源比較方便；(3) 觀察築繭巢之方式不一樣 (表四)。

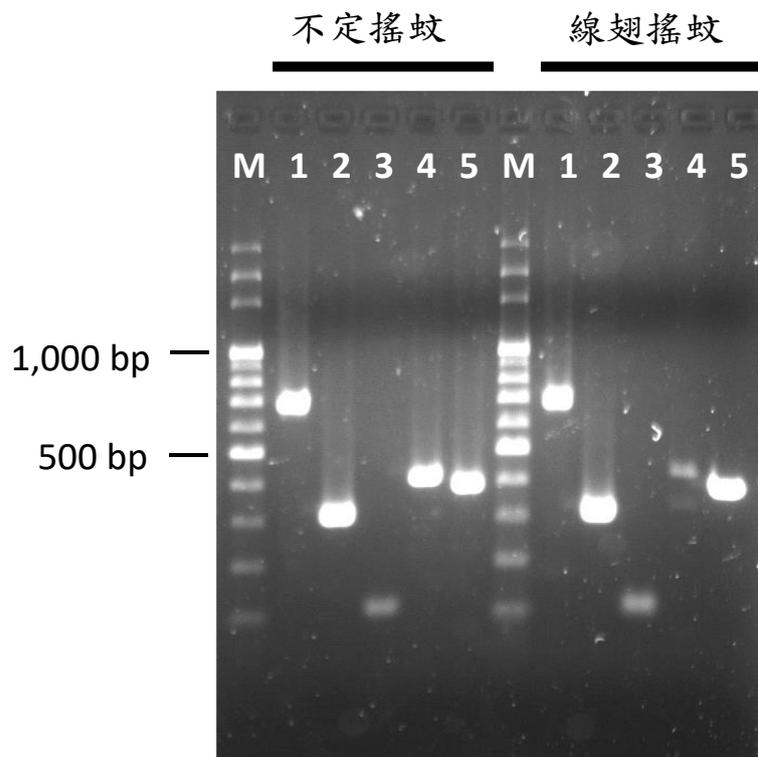
表四、錄搖蚊孳生樣點

地點	物種	生態類型	環境特性	有無光線	水中分布
國立臺灣大學舊社會科學院	不定搖蚊 ( <i>Chironomus incertipennis</i> )	地面溝渠	1. 積水泥土層 2. 落葉雜樹 3. 無味 4. 間歇性乾枯	陽光直曬光線充足	水位深底層
松山區慈惠堂	線翅搖蚊 ( <i>Chironomus striatipennis</i> )	山壁水溝	1. 廢水排放 2. 腐質物、微生物豐富 3. 腐臭味重 4. 不易乾枯 5. 水流速較快	山壁建築壁溝較暗	水位淺底層表層

## (二) 搖蚊物種鑑定

採集之搖蚊身分基因、持家基因和血紅蛋白基因的 PCR 分析如圖四。將 PCR 產物定序後，慈惠宮的物種為線翅搖蚊 (*Chironomus striatipennis*) (658 bp；涵蓋率：100%；相似度：99.54%) (圖六、圖七)。

採集地點搖蚊的持家基因 (*actin* 基因和 *GAPDH* 基因) 和血紅蛋白 (*BH-II* 基因和 *BH-III* 基因) 等基因皆已完成定序，但 NCBI 上的序列資訊不足，都比對到同一物種，相似性低，正確比對的可信度較低。



圖六、二種搖蚊的身分基因、持家基因和血紅蛋白基因分析

(左) 不定搖蚊 (*Chironomus incertipennis*)；

(右) 線翅搖蚊 (*Chironomus striatipennis*)；

M：100 bp DNA ladder；

1：COI 基因 (~700 bp)；

2：actin 基因 (~300 bp)；

3：GAPDH 基因 (~120 bp)；

4：血紅蛋白 *BH-II* 基因 (~450 bp)；

5：血紅蛋白 *BH-III* 基因 (~420 bp)。

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Chironomus striatipennis NIESA0253 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	Chironomus striatipennis	1199	1199	100%	0.0	99.54%	658	LC494870.1
Chironomus striatipennis NIESB0474 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	Chironomus striatipennis	1194	1194	100%	0.0	99.39%	658	LC495120.1
Chironomus striatipennis NIESB0468 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	Chironomus striatipennis	1194	1194	100%	0.0	99.39%	658	LC495116.1
Benthalia sp. HM-2012 NIESB0461 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	Benthalia sp. HM-2012	1188	1188	100%	0.0	99.24%	658	LC495114.1
Chironomus striatipennis NIESA0270 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	Chironomus striatipennis	1188	1188	100%	0.0	99.24%	658	LC494880.1

圖七、線翅搖蚊 (*Chironomus striatipennis*) 的 COI 基因的比對結果

### (三) 搖蚊於不同危機下的生存方式

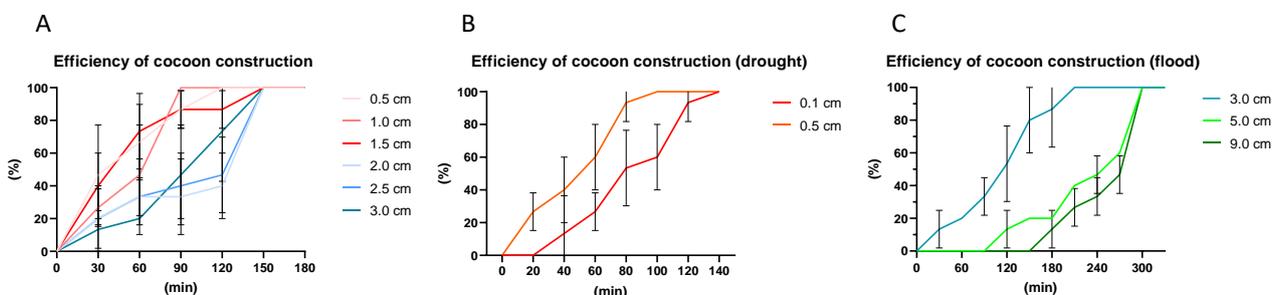
1. 線翅搖蚊可以藉由築繭預防水分散失，並透過唾液固著身體於孳生棲地，分析繭巢與唾液之蛋白質成分，觀察築繭速率與分泌唾液之現象，有砂土時會築土繭，沒有砂土時大量分泌唾液形成黏性物質 (圖八)。



圖八、線翅搖蚊繭巢之形式

(A)(B) 以砂土築繭；(C)(D) 以唾液築繭

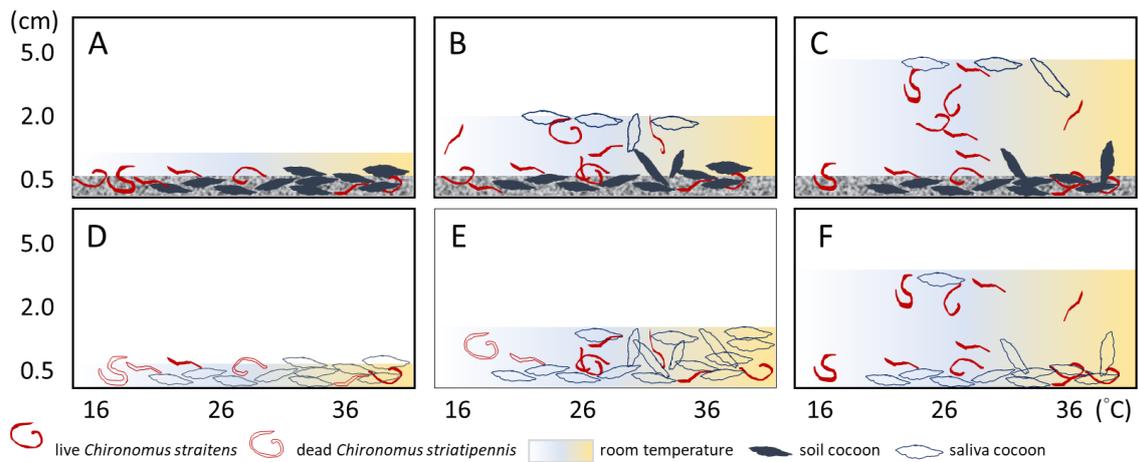
2. 線翅搖蚊於低水位時築繭速率較快，以預防乾旱帶來的衝擊，以六種不同深度的水位觀察與紀錄搖蚊築繭速率，低水位時，在 100 分鐘內即可利用砂土完成構築繭巢，高水位時，線翅搖蚊會先探索環境水體之深度，約 190 分鐘後會迅速完成築繭 (圖九)。



圖九、線翅搖蚊幼蟲於不同水位高度的築繭速率

(A) 6 種不同深度水位；(B) 於低水位築繭之速率；(C) 於高水位築繭之速率

3. 砂土有助於繭巢之形成，溫度愈高愈明顯，觀察與記錄三種水位的高度 (0.5、2.0、5.0 cm) 和三種溫度 (16、26、36°C) 對線翅搖蚊築繭之影響，水位愈低，築繭速率較快；水位愈高，築繭速率較慢，砂土和溫度不僅影響築繭速率，還會影響其存活率 (圖十)，整體而言，在沒有砂土的情況下，線翅搖蚊幼蟲無法築繭且在沒有繭的保護下幼蟲死亡率較高，水位較低、環境溫度較高、且有砂土存在時線翅搖蚊幼蟲具有較高的築繭速率。



圖十、線翅搖蚊幼蟲水體中自由活動與築繭行為示意圖

(上圖) 含土砂；(下圖) 無土砂。觀察線翅搖蚊於三種水體深度

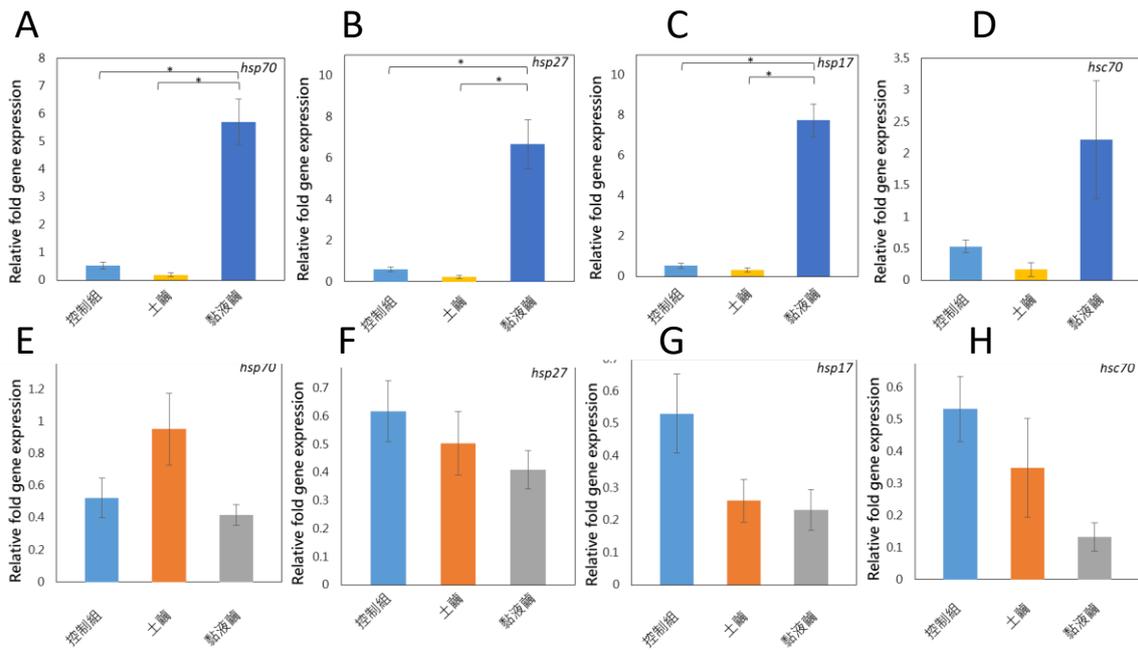
(A)、(D) 0.5 cm ；

(B)、(E) 2.0 cm ；

(C)、(F) 5.0 cm ，

以及三種水溫 (16、26、36°C) 之築繭行為。

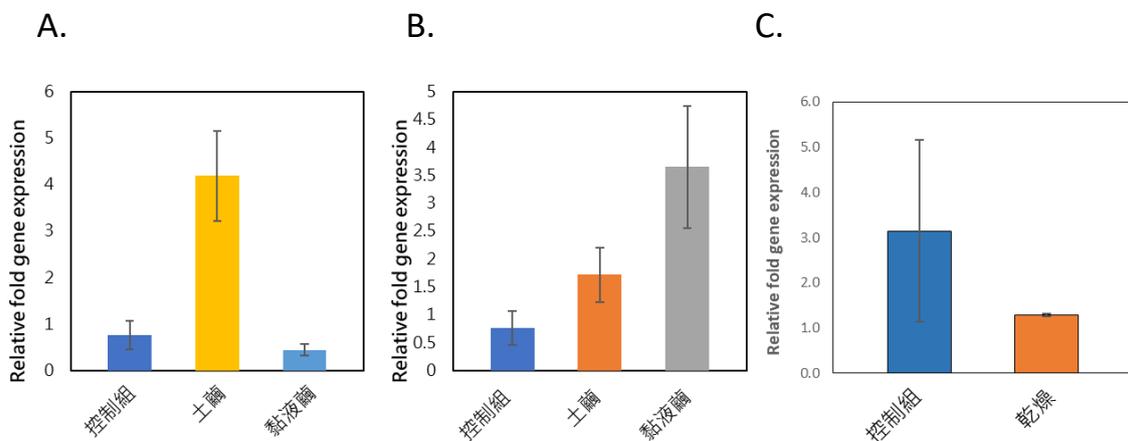
4. 光照和高溫會影響線翅搖蚊的生理功能，增加熱休克蛋白基因之表現，利用 qRT-PCR 分析不同溫度及光照下，血紅蛋白及熱休克蛋白基因之表現量，光照會促使黏液繭中蟲體的熱休克蛋白大量表現；土繭中則不受影響，溫度對於黏液繭或土繭中之線翅搖蚊的抗熱基因表現影響不顯著 (圖十一)。



圖十一、光照 (上排) 與溫度 (下排) 對線翅搖蚊幼蟲熱休克基因 (*heat shock protein; hsp*) 轉錄的影響。

(A)(E) *hsp70* ; (B)(F) *hsp17* ; (C)(G) *hsc70* ; (D)(H) *hsp27* 基因的表現差異

5. 光照、高溫和乾燥會影響線翅搖蚊的呼吸速率，增加血紅蛋白基因之表現，利用 qRT-PCR 分析光照、高溫和乾燥下，比較血紅蛋白基因 (HbIII) 之表現量，光照下，土繭內的搖蚊血紅蛋白基因大量表現；黏液繭則受到抑制，高溫 37 °C 下，會促使黏液繭中蟲體血紅蛋白大量表現，乾燥對土繭中的搖蚊的血紅蛋白大量表現差異則不顯著 (圖十二)。

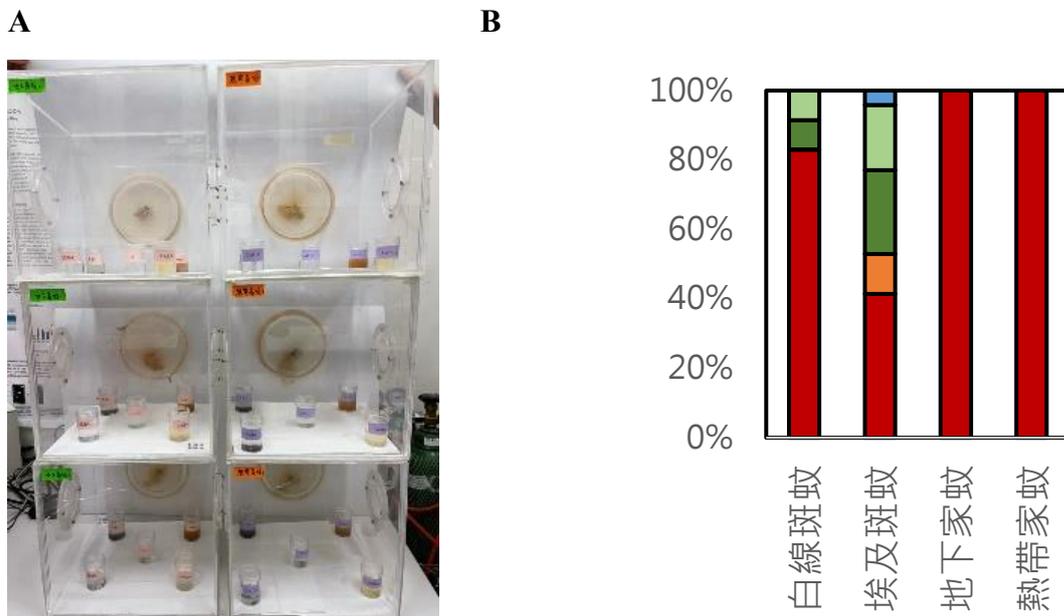


圖十二、線翅搖蚊幼蟲在不同環境壓力下血紅蛋白基因 (HbIII) 的表現差異

(A)光照；(B)溫度；(C) 乾燥條件。

#### (四) 蚊蟲產卵選擇性實驗

以養蟲箱進行斑蚊和家蚊的「產卵選擇性試驗」可以觀察到斑蚊會選擇味道比較重的搖蚊生存水進行產卵，結果為白線斑蚊 (>80%)、地下家蚊 (100%) 和熱帶家蚊 (100%) 產卵於搖蚊生存水 (圖十三)。



圖十三、蚊蟲產卵選擇性試驗 (A) 養蟲箱；(B) 四種蚊蟲產卵百分率。

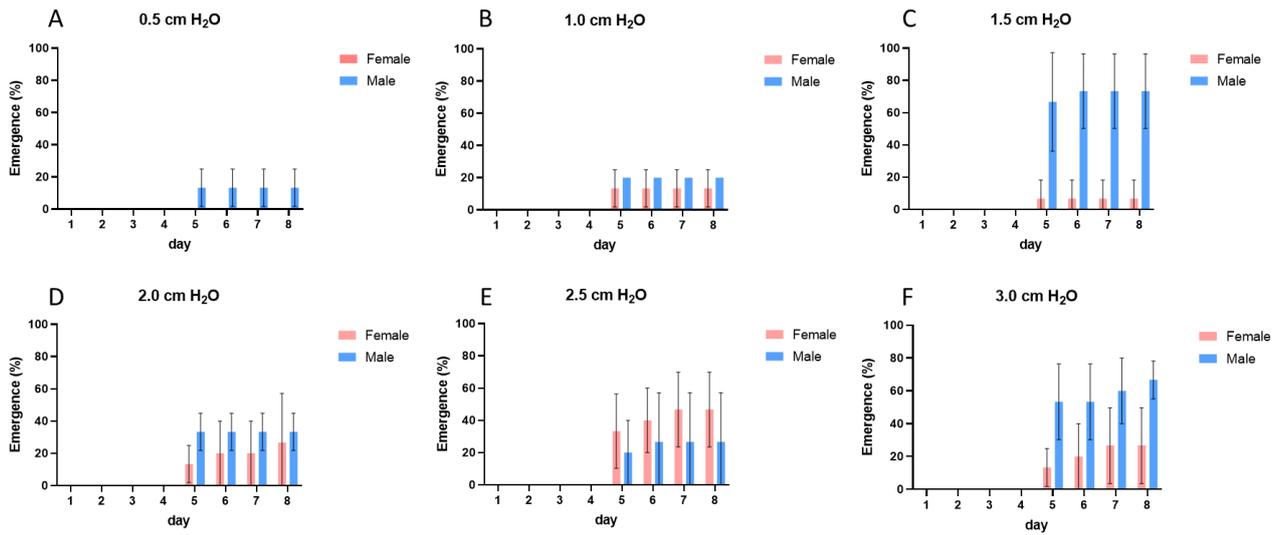
#### (五) 線翅搖蚊和白線斑蚊共存實驗

##### 1. 線翅搖蚊和白線斑蚊之交互作用

將線翅搖蚊和白線斑蚊一起培養於相同水體，觀察線翅搖蚊幼蟲三隻與白線斑蚊幼蟲五隻混養於四種深度 (1.0、1.5、3.0、5.0 cm) 水體中的交互關係，線翅搖蚊和白線斑蚊會相互捕食，並以捕食他種為優先，線翅搖蚊優先捕食同類；而白線斑蚊則優先捕食線翅搖蚊，水位越低，線翅搖蚊捕食率越高。

##### 2. 線翅搖蚊孳生的水體，對白線斑蚊族群生長的影響

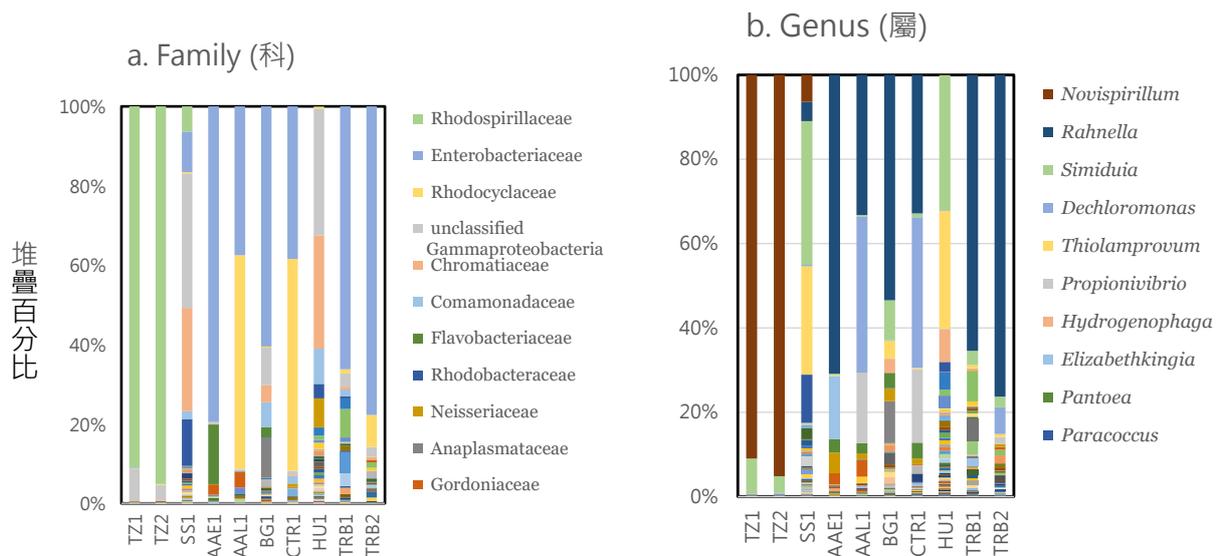
線翅搖蚊孳生的水體 (含細菌和唾液等成分)，會加速白線斑蚊之生長速率，將白線斑蚊三齡幼蟲 (n=5) 養於搖蚊原生水，分別觀察六種深度 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 cm 的水體中，白線斑蚊羽化之成蟲主要為雄性，並有延遲羽化之現象，控制組第八天羽化率為 100%，且羽化雌雄比為 1:1 (圖十四)。

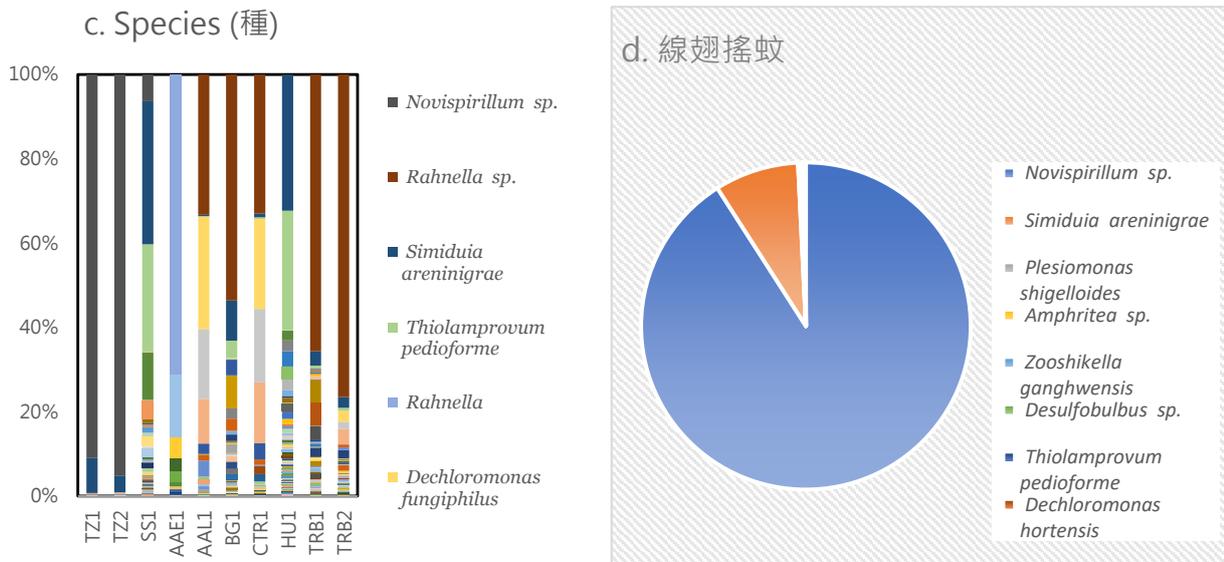


圖十四、將白線斑蚊三齡幼蟲 (n=5) 養於搖蚊原生水  
分別觀察六種深度 (A)0.5、(B) 1.0、(C) 1.5、(D) 2.0、  
(E) 2.5、(F) 3.0 cm 的水體中，白線斑蚊的羽化後的性別比例。

#### (六) 搖蚊幼蟲腸道細菌 16S 基因分析

將蟲糞蒐集後，將泥沙分離後的部分集中，由生物科技公司進行 16S 高通量定序 (NGS)後得知線翅搖蚊幼蟲優勢腸胃道細菌為 *Novispirillum* sp. (圖十五)。





圖十五、搖蚊幼蟲與蚊幼蟲腸道細菌 16S 基因定序  
(圖示為占比前幾名的科、屬、種)

## 5. 討論

本研究聚焦於線翅搖蚊，從不同生存條件下表現血紅蛋白與熱休克蛋白基因表現量、幼蟲築繭巢、搖蚊捕食子子的效率和搖蚊唾液與腸道菌所形塑的誘集蚊蟲產卵場域，來解析建立搖蚊的生理機制及生存策略。

搖蚊分類位階隸屬節肢動物門、昆蟲綱、雙翅目、搖蚊科 (*Chironomidae*)，粗估在台灣有 24 屬 88 種 (台灣生物多樣性資訊入口網)，然而台灣已發表的文獻有限，多數學術研究論文聚焦在海洋的海生搖蚊 (*Pontomyia oceana*)。有鑑於搖蚊種類豐富、生長期短、繁殖力強、族群數量多，不同種類對水域生態具專一性，為監測水體環境和污染狀況的絕佳生物指標 (Nicacio and Juen, 2015；林俊廷，2020)。本研究一開始在社區和各地戶外採集觀察，總共紀錄 26 個地點的搖蚊，物種分子鑑定包括鹽埕搖蚊 (*Chironomus circumdatus*)、線翅搖蚊 (*Chironomus striatipennis*)、不定搖蚊 (*Chironomus incertipennis*)，以及類似 *Stenochironomus okialbus*、*Chironomus flaviplumus*、*Chordodes formosanus* 和多種 *Chironomus spp.* 等搖蚊物種。顯示台灣在搖蚊研究上仍有很大的空間，未來可以再深入針對相關生態角色和扮演功能進行研究。

搖蚊幼蟲俗稱紅蟲，其佔搖蚊生命史長度的 90%。廣泛分佈淡水環境且數量龐大，其生物量約莫占水域底棲生物總量的 60% ~80%，由於蟲體富含高蛋白質，是多種魚

類的天然餌料，包括鯉魚、鯽魚、青魚、鱔魚、泥鰍、鰻和龜...等 (倪郁涵，2013；中文百科全書網站)。紅蟲主要以水底層有機碎屑物為食，攝食量大，具備淨化水質和加速水體物質能量循環的功能，不會引發生態水池的水質污染。本研究一方面延續學長姐之研究，探究不同生存條件下，搖蚊可能預先準備適應環境變化的機制。本研究結果顯示線翅搖蚊孳生在暗黑的水溝環境，其血紅蛋白基因大量表現以取得足夠之氧氣分子。

聚焦在暫時性水域 (水溝和溝渠) 之搖蚊，探討搖蚊除了取食有機碎屑物之外，本組希望探討是否搖蚊有取食孑孓的現象，可以提供生態防治之思考面向。根據學長姐研究血紅蛋白之實驗 (蔡景堯等，2021)，他們有觀察到鹽埕搖蚊捕食孑孓的現象。線翅搖蚊 (*Chironomus striatipennis*)於低水位時捕食白線斑蚊率較高，且白線斑蚊於線翅搖蚊生存水中羽化之成蟲主要為雄性，並有延遲羽化之現象，控制組第八天羽化率為 100%，且羽化雌雄比為 1：1。根據文獻及網頁資訊，僅有少數如粗腹搖蚊亞科與部分搖蚊亞科的種類被證實肉食性，可以捕食其他搖蚊幼蟲、寡毛類、小型甲殼類等。如果能廣泛進行長期生態調查和採樣，則可以進一步釐清，在不同季節 (溫度和雨量) 消長下，搖蚊的捕食其他水生生物的策略和調適機制。

搖蚊幼蟲多為水生，喜好在溪流或水溝中，分布範圍廣泛，包括溫泉區和極地都有分布 (朱耀沂，2009；Lin et al., 2021)。搖蚊生活型態多元，有自由營生型、築繭巢定居型、混合共棲寄生型等三大類。食物來源涵蓋掠食其他水生昆蟲、濾食水中或底泥中的有機質。搖蚊幼蟲易受光線和水體擾動而潛藏繭巢中，一般水體 pH 值 7~8 之間皆可發現搖蚊幼蟲，且成長速率最快 (王俊才和王新華，2011)。成蟲壽命短且幾乎不取食植物汁液，一旦群舞、交配、產卵後即死亡，可產下子代數量約 100~120。本研究希望能探究搖蚊與騷擾性病媒蚊的關係，以及應用生物防治觀念探討搖蚊對致病性病媒蚊之關係，所以我們選擇溝渠和暫時性水域，這些都是斑蚊和家蚊喜歡孳生的環境，例如登革熱病媒白線斑蚊、絲蟲病病媒熱帶家蚊和日本腦炎病媒蚊三斑家蚊等。由於這類暫時性水域會遇到乾枯和食物不足的逆境，我們先觀察二類搖蚊利用唾液築成繭巢的大小、效率等，並記錄各種形式的繭巢樣貌，以了解其面對逆境可能採取的對應方式。本研究發現：面對乾旱環境的適應機制上，位於光亮處的不定搖蚊的蟲繭

多築於水底；而居於暗處的線翅搖蚊蟲繭則分別位於底部和水面處。至於水位高低和水體物理因子之變化，則是未來持續探究的重要因子。

在蚊蟲生物防治的推拉策略部分，文獻顯示吸引蚊蟲產卵或以忌避物質驅趕病媒蚊是重要趨勢。有鑑於搖蚊捕食子之特性，本研究首次設立蚊蟲產卵選擇性實驗，希望瞭解搖蚊孳生之水域是否會吸引或趨避其他蚊蟲來產卵？依照學長姐之採樣紀錄，有些斑蚊和家蚊採樣點中，混雜著搖蚊的存在，特別是農田或公園植栽豐富的環境，例如洲美國小大水溝、青年公園排水溝和溜公圳溝渠等 (蔡景堯等, 2021)。本研究發現斑蚊產卵之喜好程度為：線翅搖蚊原水>不定搖蚊原水>不定搖蚊與水>線翅搖蚊與水>水，上述結果意涵著搖蚊生活的環境中，可能集結搖蚊分泌的誘集產卵化學物質，以及濾食淨化水質過程中所排出的代謝物和腸道細菌。因此，本研究優先分析搖蚊幼蟲腸道細菌，並成功完成微生物 16S 的 PCR 增幅實驗，未來希望能透過細菌 16S 基因的統整分子分析，例如以下世代基因定序技術 (Next-Generation Sequencing; NGS) 建立搖蚊腸道常見的和主要的共生菌菌叢 (Herlemann et al., 2011)。根據文獻，泡囊短波單胞菌 (*Brevundimonas vesicularis*) 具有強烈吸引斑蚊產卵的特性 (Girard et al., 2021)。至今，已有多個屬 (Genus) 的微生物分離株被證實具備吸引蚊蟲產卵的特性，包括 *Bacillus*、*Enterobacter*、*Pseudomonas*、*Lactococcus*、*Enterobacter*、*Shigella*、*Citrobacter*、*Brevundimonas* (Girard et al., 2021)。這些菌種及其衍生的氣味分子，將來可以應用開發在誘集滅殺的生物性防治上。

另一方面，搖蚊分泌唾液形成繭巢的過程，可能也扮演相當的角色。本實驗將單隻搖蚊移至蒸餾水水杯中，約莫 6 小時即可觀察到豐富的白色黏稠物 (錯誤! 找不到參照來源。)，未來若能進一步分析蛋白質基因組成，以及蛋白質之氣味分子，就更有可能挑選出具備吸引蚊蟲前來產卵或忌避蚊蟲產卵的蛋白質和揮發物分子，這些都是應用在病媒蚊生物防治推拉策略可以深入探究的面向。

目前已經初步確認搖蚊唾液的分離和與腸道菌的 PCR 分析，未來將綜整搖蚊基礎生存的條件，包括水質、氧氣多寡和食物的利用策略，以及應用搖蚊誘集蚊蟲的特性來生產培養特定微生物或基因轉殖表現功能性唾液蛋白質，以彰顯生物多樣性的價值，以及深入瞭解廣布性搖蚊物種的生態角色和生存策略。

## 四、結論與應用

普存於暫時性水域的搖蚊，須面對週期性乾旱、天敵和飢餓等威脅，本研究探討線翅搖蚊，透過試驗分析歸納其生理機制及生存策略。

- (一) 於戶外 26 個地點採集到搖蚊，物種多樣性高，以 *COI* 基因定序確認其多樣性，然 NCBI 資料庫之已發表基因序列有限，無法正確比對。本研究使用物種為線翅家蚊 (相似度：99.54%) 和不定搖蚊 (近似；相似度：98.33%)。
- (二) 慈惠宮髒臭污水溝採集之線翅搖蚊，其生存環境為壁溝陰暗，水體微生物豐富但腐臭味重，水體會流動。搖蚊蟲體分泌豐富唾液，蟲繭分布於底部和水面，水中微生物豐富。
- (三) 線翅搖蚊有砂土時會築土繭，沒有砂土時大量分泌唾液形成黏性物質。線翅搖蚊於低水位時築繭速率較快，以預防乾旱帶來的衝擊。砂土有助於繭巢之形成，溫度愈高愈明顯。
- (四) 光照會促使黏液繭中蟲體的熱休克蛋白大量表現；土繭中則不受影響，溫度對於黏液繭或土繭中之線翅搖蚊的抗熱基因表現影響不顯著。光照下，土繭內的搖蚊血紅蛋白基因大量表現；黏液繭則受到抑制，高溫 37 °C 下，會促使黏液繭中蟲體血紅蛋白大量表現，乾燥對土繭中的搖蚊的血紅蛋白大量表現差異則不顯著。
- (五) 斑蚊會選擇味道比較重的搖蚊生存水進行產卵，結果為白線斑蚊 (>80%)、地下家蚊 (100%) 和熱帶家蚊 (100%) 產卵於搖蚊生存水。線翅搖蚊孳生的水體，白線斑蚊羽化之成蟲主要為雄性，並有延遲羽化之現象。
- (六) 搖蚊分泌唾液、搖蚊生長激素和搖蚊幼蟲腸道細菌。此現象可能與誘集產卵的化學物質和氣味分子有關，未來將透過基因轉殖定序或以下世代基因定序之工具，建立搖蚊腸道細菌的 16S 基因，並挑選出具備吸引蚊蟲前來產卵的菌叢和味道分子。
- (七) 應用生態友善的方法來管理淡水生態棲地。並考量搖蚊腸道菌和唾液的功能，應用在病媒蚊生物防治的推拉策略上，以達到環境管理和蚊媒疾病控制的目標和成效。
- (八) 後續實驗方向
  1. 本研究分析乾燥、高溫、光照等，搖蚊基因之表現，未來可以再針對其他基因做進一步之分析，例如光敏感基因、生殖基因、內分泌基因等。
  2. 完成唾液腺和唾液蛋白質 SDS-PAGE 分析，以及嘗試以搖蚊幼蟲唾液於大學實驗室

以 LC-Mass 進行完整分析。

3. 搖蚊幼蟲腸道菌於大學實驗室以購買或實驗室分離培養，以評估其發酵氣味誘集蚊蟲之能力。
4. 嘗試分析搖蚊幼蟲共存於生存水體時所散發的氣味，透過大學實驗室協助以 GC-Mass 分析其組成。
5. 以生物活性評估誘捕蚊蟲和弱化滅殺孑孓的物質成分。

## 五、參考文獻

- Girard M, Martin E, Vallon L, Raquin V, Bellet C, Rozier Y, Desouhant E, Hay A-E, Luis P, Valiente Moro C, Minard G. Microorganisms associated with mosquito oviposition sites: Implications for habitat selection and insect life histories. *Microorganisms*. 2021. 9(8): 1589.
- Herlemann DP, Labrenz M, Jürgens K, Bertilsson S, Waniek JJ, Andersson AF. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *ISME Journal*. 2011. 5(10): 1571-9.
- Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology (Reading)*. 2002. 148(Pt 1): 257-266.
- Nicacio G, Juen L. Chironomids as indicators in freshwater ecosystems: an assessment of the literature. *Insect Conservation Diversity*. 2015. 8: 393-403.
- Sipos R, Székely AJ, Palatinszky M, Révész S, Márialigeti K, Nikolausz M. Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene-targeting bacterial community analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 2007. 60(2): 341-50.
- Valeria L, Cranston PS, Makarchenko E. Recent advances in the study of Chironomidae: An overview". *Journal of Limnology*. 2018. 77 (s1).

Lin CT, Chiu MC, Kuo MH. Effects of anthropogenic activities on microplastics in deposit-feeders (Diptera: Chironomidae) in an urban river of Taiwan. *Scientific Report*. 2021. 11(1): 400.

中文百科全書。 <https://www.newton.com.tw/wiki/>。

王俊才，王新華。2011。中國北方搖蚊幼蟲。中國言實出版社，北京，中國。

台灣生物多樣性資訊資訊機構-TaiBIF。 <https://portal.taibif.tw/>。

朱耀沂。2009。從南極搖蚊看昆蟲的抗寒及抗熱性。科學月刊。447：654-655。

林俊廷。2020。人類活動、都市流域中底棲昆蟲（雙翅目：搖蚊科）體內塑膠微粒取食量與搖蚊群集結構。國立中興大學碩士論文，台中市，台灣。

倪郁涵。2013。溪流生態系中搖蚊系統發生多樣性與環境之關係。國立中興大學碩士論文，台中市，台灣。

蔡景堯，蕭宜珊，楊有螢。2021。深呼吸 - 孑孓與搖蚊幼蟲如何在水中呼吸及閉氣。臺北市第 54 屆中小學科學展覽會（高中組，動物與醫學學科）。

## 【評語】 050003

1. 搖蚊幼蟲棲息於暫時性水域，面臨乾旱、暴雨和天敵等逆境。  
本研究探討其與斑蚊的互動及逆境下的行為和基因表現，本研究為延續試驗，清楚說明其研究目的及想要解釋的科學問題，實驗方法也具體可行。
2. 腸道菌相分析結果僅說明何種菌多，應可更進一步與其他因子做關聯分析。
3. 摘要說明「…；幼蟲競爭中，白線斑蚊優先捕食搖蚊；…」，前言研究動機「…，放入蚊蟲幼蟲，可以觀察部分搖蚊有明顯捕食蚊幼蟲的現象，…」，結果 P16 說明「…水體中的交互關係，線翅搖蚊和白線斑蚊會相互捕食，並以捕食他種為優先，線翅搖蚊優先捕食同類；而白線斑蚊則優先捕食線翅搖蚊，水位越低，線翅搖蚊捕食率越高。」，此處易造成閱讀蚊蟲與搖蚊的捕食現象之混淆。
4. 研究設計在搖蚊幼蟲腸道細菌 16S 基因分析部分，與原研究的內容相關性與連結度較不足，應重新設計並清楚說明此部分的目的為何。

5. 實驗條件設定之光照、高溫 and 乾燥三條件為實驗進行條件，溫度部分設定三種溫度 (16、26、36°C)。但乾燥部分以水位的高度 (0.5、2.0、5.0 cm) 是否適合未說明，另外，光照條件為何宜說明。
6. 關於水體味道的來源與成分，此部分應可以設計實驗進行，此部分直接推測來源由腸道微生物或是築繭之唾液，在連結上缺乏直接或是間接證據。