

中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

第一名

040702

小胖子鍬形蟲的生活史及身世之謎

學校名稱：桃園縣私立新興高級中學

作者： 高二 謝鳳瑜 高二 安映潔 高二 蔡崇仁 高二 劉佳威	指導老師： 呂建興 陳梅珍
---	-----------------------------

關鍵詞：圓翅鍬形蟲、生活史、親緣關係

壹、摘要

實驗發現圓翅鍬形蟲飼養條件的物化因子均有差異，大圓翅生活史超過 1 年，6 種圓翅屬雄蟲形態有分化現象，大圓翅、中華圓翅及紅圓翅分化明顯，另外三種較相似，但仍有分化。大圓翅、中華圓翅、紅圓翅及小圓翅外生殖器有明顯分化，確信具生殖隔離，其他二種差異不明顯，目前無法判斷是否具生殖隔離。

粒線體 DNA 之 COI 序列顯示大圓翅與其它 5 種親緣最遠，其次是中華圓翅。泥圓翅與洞口泥圓翅親緣接近，有地理分佈關連性但無重疊性，顯示二者的演化關係，但無法確立種化。紅圓翅與小圓翅親緣關係最接近，有地理分佈關連與重疊性，顯示二者種化與演化關係。綜合結果與討論推論出臺灣產 6 種鍬形蟲祖先來自中國，地理隔離形成後在臺灣自行演化成現今的物種。

貳、研究動機

臺灣產圓翅屬鍬形蟲共有 6 種，包括大圓翅鍬形蟲(*Neolucanus maximus vendli*)、紅圓翅鍬形蟲(*Neolucanus swinhoei*)、泥圓翅鍬形蟲(*Neolucanus doro doro*)、中華圓翅鍬形蟲(*Neolucanus sinicus taiwanus*)、小圓翅鍬形蟲(*Neolucanus eugeniae*)及洞口氏泥圓翅亞種鍬形蟲(*Neolucanus dord horaguchii*)。分類地位上屬於動物界(Animalia)；節肢動物門(Arthropoda)；昆蟲綱(Insecta)；鞘翅目(Coleoptera)；鍬形蟲科(Lucanidae)；圓翅屬(*Neolucanus*)。(張永仁，2006)。

鍬形蟲--這個名詞給人的最深刻的印象就是牠們擁有一雙傲人的大顎以及覆蓋在全身的堅硬甲殼，所以鍬形蟲等甲蟲在昆蟲界中才會賦予「鐵甲武士」這個美名。也因為鍬形蟲的這些特點，產生了不少「愛蟲者」的熱情飼養，且近年來更是有將甲蟲搬上遊戲平台的情況也是風靡了許久！深受小朋友及大朋友們的喜愛。雖然說甲蟲的魅力勢不可擋，但是一般對甲蟲的認知最多也只到簡單飼養而已，並且對於圓翅屬鍬形蟲幼蟲期（大多無完整生活史紀錄）的瞭解更少。

坊間的相關書籍對於各種鍬形蟲物種的說明介紹大多簡略帶過，對於部分在書籍上標示的是同一種類但外觀形態上卻有明顯的差異，或是明明不同種之鍬形蟲卻有著相似的外部形態特徵（圓翅屬鍬形蟲此現象特別明顯），均未詳細描述及解釋，只用了「有待利用分子生物相關技術加以佐證」帶過（張永仁，2006）。因此，我們希望針對臺灣產的 6 種圓翅屬鍬形蟲進行生活史記錄、外部形態記錄測量、形態標準化比值計算、外部生殖器的觀察及粒線體 DNA COI 序列分析來重建臺灣產圓翅屬鍬形蟲的生活史、檢索表並用親源關係鑑定佐證臺灣產圓翅屬鍬形蟲的分類地位，讓我們能更輕易的區別每種圓翅屬的物種並瞭解它們之間的親緣關係，並應用高一基礎生物第二章生物多樣性，第三章物種、族群及生態系，高二生物核酸與遺傳的相關知識、高三生物（下）核酸、遺傳、種化及演化的相關知識以釐清這困擾我們已久的問題並解開它們在演化上的身世之謎。

參、研究目的

- 一、藉由飼養鍬形蟲完成其生活史，讓我們能對生命更為尊重，更能體會生命在各階段的蛻變與成長，未來亦可利用對其生活史的瞭解，增加對野外物種調查依據，有助於對整體生物多樣性的瞭解（高一基礎生物第二、三章觀念）。
- 二、藉由整理文獻瞭解臺灣的 6 種圓翅屬鍬形蟲的棲地分佈、成蟲的活動與時間，藉以瞭解物種的種化條件(高一基礎生物物種、族群及生態系觀念及高三下冊演化觀念)。
- 三、依照臺灣的 6 種圓翅屬鍬形蟲雄蟲外部形態觀察、測量分析，重新製作臺灣產圓翅屬(*Neolucanus*)鍬形蟲的檢索表(高一基礎生物觀念延伸)。
- 四、利用臺灣產圓翅屬鍬形蟲粒線體 DNA 之 COI 序列的親源關係鑑定來佐證臺灣產圓翅屬鍬形蟲的分類地位，瞭解物種基因之多樣性及生物之多樣性(高二、三生物核酸、遺傳觀念及延伸)。

肆、實驗材料、研究設備及器材

一、實驗物種

大圓翅鍬形蟲(*Neolucanus maximus vendli*)、紅圓翅鍬形蟲(*Neolucanus swinhoei*)、泥圓翅鍬形蟲(*Neolucanus doro doro*)、中華圓翅鍬形蟲(*Neolucanus sinicus taiwanus*)、小圓翅鍬形蟲(*Neolucanus eugeniae*)及洞口氏泥圓翅亞種鍬形蟲(*Neolucanus dord horaguchii*)，如圖一。

二、研究設備

恆溫培養箱、烘箱、布丁杯、-20°C 冰箱、乾浴槽、離心機、四百萬畫素數位相機、聚合酵素鏈鎖反應機器。

三、器材

塑膠盒、飼養箱、土(腐植土+採集土以 4:6 等分配製)、噴水器、飼養昆蟲用果凍、枯木樹枝、寶麗龍板、尖鑷子、解剖針、長珠針、昆蟲針、標本箱、無菌鑷子、無菌剪刀、研磨棒、鋁箔紙、微量吸管、微量離心管、電子游標尺(精準至小數點下 2 位)及電子秤(精準至小數點下 4 位)。

四、藥品

細胞沉澱 (Cell precipitation Soution) 溶液、細胞溶解(Cell lysis Soution)溶液、蛋白酵素 K(Proteinase K)、異丙醇、無菌水、70%酒精、聚合酵素 (Taq enzyme)。

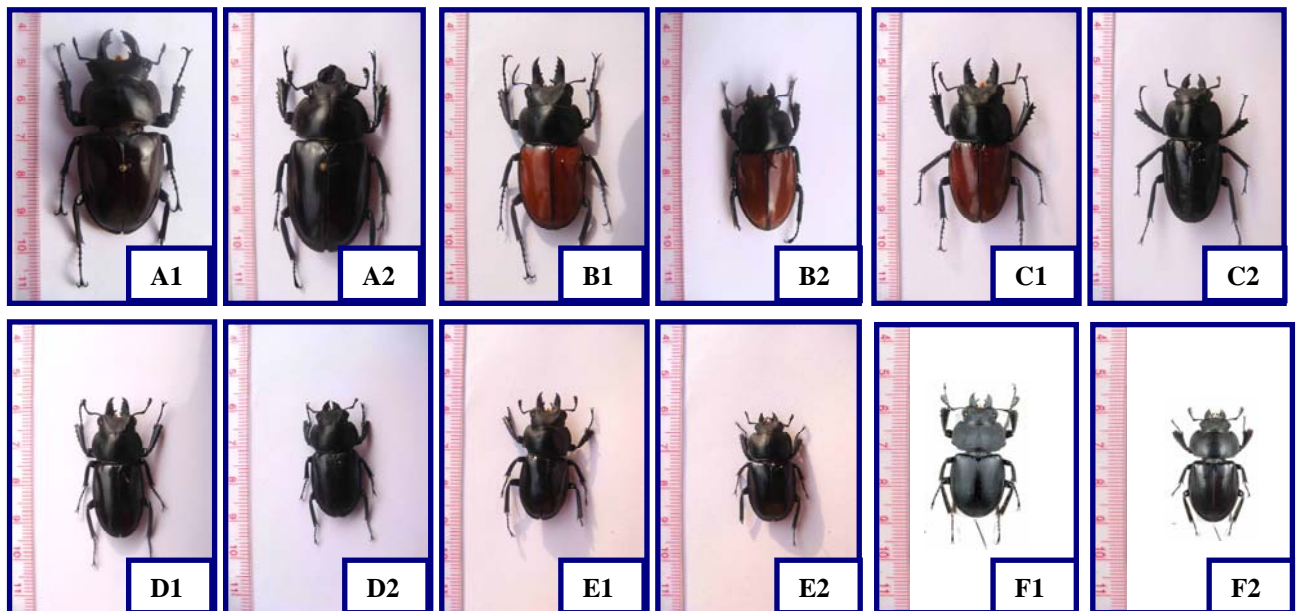
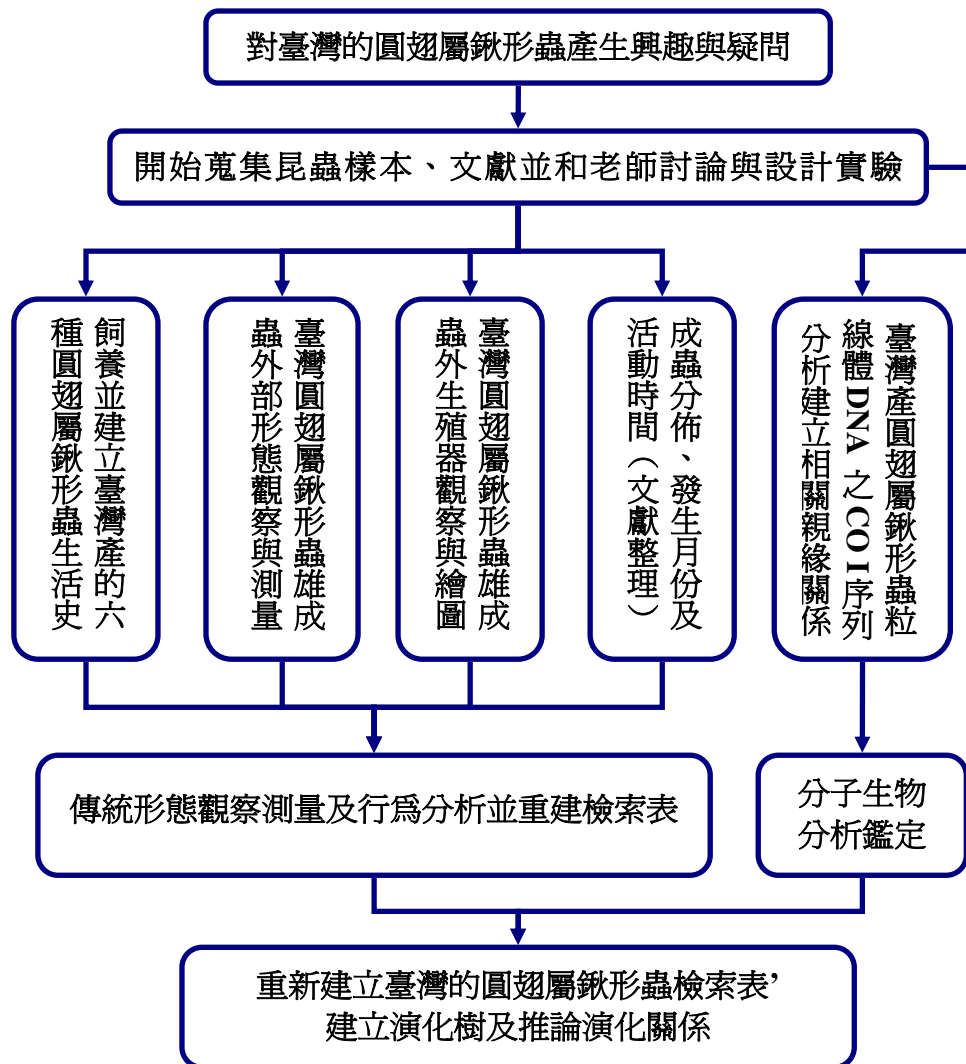


圖 1、臺灣產的 6 種圓翅屬鍬形蟲。A=大圓翅鍬形蟲、B=紅圓翅鍬形蟲、C=洞口氏泥圓翅鍬形蟲、D=泥圓翅鍬形蟲、E=小圓翅鍬形蟲及 F=中華圓翅鍬形蟲，1 表示雄蟲，2 表示雌蟲。

伍、研究過程或方法

一、思考與研究流程圖：



二、臺灣產圓翅屬鍬形蟲的繁殖與生活史

(一) 圓翅屬鍬形蟲樣本的取得：

1. 實地採集：

- (1)地點：中國文化大學森林暨自然資源保育學系實驗林場（圖 2），此地點位在臺北縣，位於北勢西溪與南勢溪交會處，面積約 92 公頃，海拔高度由 200 公尺至 500 公尺，因為位在翡翠水庫的水源保護區內，所以人為活動與開發受到限制，因此保留了較原始的動、植物的資源。
- (2)採集方式：白天以步行方式沿著採集地點內的生態步道尋找在地面爬行或於樹上吸食樹汁的圓翅屬鍬形蟲。

2. 蟲友提供：

鍬形蟲樣本由熱心的昆蟲愛好者提供。



圖 2、實地採集。A：採集地點。B:我們抓到的紅圓翅鍬形蟲。

(二) 繁殖環境佈置及幼蟲飼養：

1. 繁殖環境佈置：

- (1) 將腐植土 (pH=6.8) 及採集土 (採集地鍬形蟲棲息地倒木下腐植土, pH=4.6) 以 4:6 等分混合 (pH=4.8), 並加水將其濕度調配為 70% 後輕壓鋪於飼養箱內佈置成雌蟲產卵環境, 厚度至少要 15-20 公分厚 (王派鋒等, 2008)。
- (2) 將鍬形蟲以一公一母放入飼養箱內, 每隔 2 至 3 日添加或更換鍬形蟲食物 (寵物店販賣的鍬形蟲食用專用果凍), 飼養期間每隔 5 至 10 日要在飼養箱中噴水, 保持土壤濕度, 避免鍬形蟲因環境乾燥缺水而不產卵甚至死亡。
- (3) 將飼養箱置於培養箱以 20°C 恆溫飼養 (大部分圓翅屬鍬形蟲很容易因為高溫而造成不產卵或甚至死亡)。
- (4) 約二個星期後便可將繁殖的腐植土倒出, 檢查並撿出鍬形蟲蟲卵, 此步驟每隔 2-3 天進行一次, 一直持續到雌蟲死亡為止。
- (5) 撿出的蟲卵用以電子秤稱重並記錄後放於另外預先準備的容器中 (內含少許產卵床內的腐植土), 並在容器上貼上標籤 (詳細記錄取卵時間和放入的卵數), 置放於 20°C 恆溫培養箱中等待蟲卵孵化。

2. 幼蟲飼養：

- (1) 每種物種拿孵出的鍬形蟲幼蟲 20 隻, 分成實驗組及對照組二組飼養 (每組 10 隻), 每組飼養 10 隻幼蟲, 實驗組的幼蟲食材 (腐植土及採集土以 4:6 等分混合) 濕度調整為 75%, 對照組的幼蟲食物濕度維持為 70% 進行飼養。
- (2) 每隻幼蟲以布丁杯分開飼養。
- (3) 將幼蟲飼養於 20°C 恆溫培養箱中, 每星期用電子秤稱取幼蟲重量並記錄, 並時常觀察幼蟲是否有齡期轉換, 若有齡期轉換則紀錄起來。

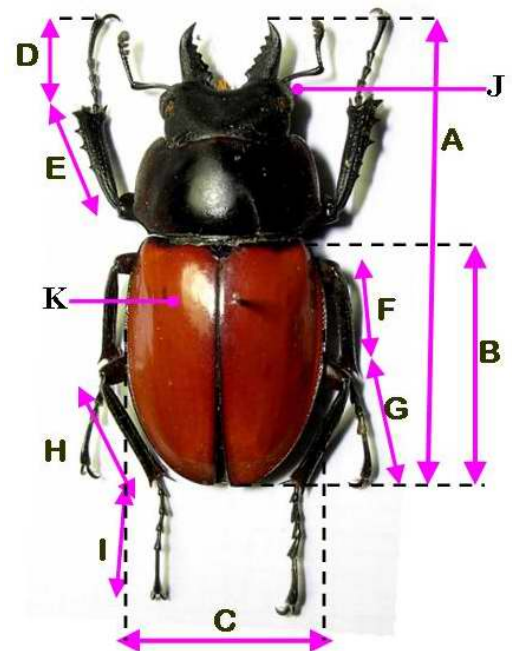


圖 3、圓翅屬鍬形蟲外部形態特徵測量項目：A=體全長、B=鞘翅長、C=鞘翅寬、D=前腳脛節長、E=前腳跗節長、F=中腳脛節長、G=中腳跗節長、H=後腳脛節長及 I=後腳跗節長。外部形態觀察項目：J=眼緣突起及 K=鞘翅 (觀察鞘翅的光澤、鞘翅表面突起及翅鞘顏色)。

三、觀察與測量成蟲外部形態特徵：

(一) 製作成標本：

將死亡的鍬形蟲製作成標本 (方便測量形態特徵), 記錄下物種中文名稱、學名、採集日期、採集地點以方便後續觀察、紀錄和測量工作。

(二) 九項外部形態特徵測量 (圖 3):

分別用電子式游標尺測量 6 種鍬形蟲樣本的體全長=大顎尖端至鞘翅末端全長、鞘翅長=鞘翅前緣至鞘翅末端長度、鞘翅寬=左右鞘翅最寬處長度、前腳脛節長=前腳腿脛節交界處至脛跗節交界處長度、前腳跗節長=前腳脛跗節交界處跗節末端長度(不含爪長)、中腳脛節長=中腳腿脛節交界處至脛跗節交界處長度、中腳跗節長=中腳脛跗節交界處跗節末端長度(不含爪長)、後腳脛節長=後腳腿脛節交界處至脛跗節交界處長度及後腳跗節長=後腳脛跗節交界處跗節末端長度(不含爪長), 並記錄於記錄表上。

(三) 計算外部形態標準化比值:

計算鞘翅長 / 鞘翅寬、前腳脛節長 / 前腳跗節長, 中腳脛節長 / 中腳跗節長及後腳脛節長 / 後腳跗節長比值並記錄。

(四) 四項特徵觀察記錄:

觀察鍬形蟲樣本(標本)眼緣突起、鞘翅光澤、鞘翅表面突起及翅鞘顏色, 分別記錄於記錄表, 並用數位相機拍照記錄(圖 3)。

(五) 統計分析:

實驗數據都用SAS統計軟體(Statistical Analysis System)分析差異性。我們用鄧氏多變域測量法(Duncan' multiple range test)分析臺灣圓翅屬鍬形蟲九項外部特徵測量的平均值(體全長、翅鞘寬度、翅鞘長度、前腳脛節長、前腳跗節長、中腳脛節長、中腳跗節長、後腳脛節長、後腳跗節長)在6種圓翅鍬形蟲的差異, 不同英文字母(a, b, c, d, e)代表外部特徵在不同物種有顯著差異($p < 0.05$)。

四、臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄蟲外生殖器觀察:

(一) 取出鍬形蟲雄蟲生殖器之步驟:

使用鑷子將兩邊翅鞘扳開(必要時剪去), 接著將鍬形蟲的下翅剪去, 以小剪刀小心的沿著腹部邊緣剪開後將上腹部表面掀開, 以小鑷子小心尋找鍬形蟲的外生殖器, 找到後將它移入裝有 70%酒精的培養皿中, 將外生殖器周圍的其他組織以小鑷子清除乾淨。

(二) 繪圖拍照紀錄:

將鍬形蟲外生殖器放在培養皿內並用解剖顯微鏡觀察(貢穀紳, 1991)、繪圖, 並用數位相機拍照記錄。

五、臺灣產圓翅屬鍬形蟲的發生月份與活動:

蒐集臺灣圓翅屬鍬形蟲相關文獻(李惠永 2004; 張永仁, 2006), 並繪製表格整理出臺灣產的 6 種圓翅屬鍬形蟲的成蟲發生月份與活動, 藉此瞭解其親緣關係的相關性。

六、重新建立臺灣產圓翅屬鍬形蟲檢索表:

利用我們自己觀察的外部形態特徵(眼緣突起、鞘翅光澤、鞘翅表面突起及翅鞘顏色)及測量分析出的特點(體全長、鞘翅長、鞘翅寬、前腳脛節長、前腳跗節長、中腳脛節長、中腳跗節長、後腳脛節長、後腳跗節長、鞘翅長/鞘翅寬比值、前腳脛節長/前腳跗節長比值、中腳脛節長/中腳跗節長比值及後腳脛節長/後腳跗節長比值)重新建立臺灣產 6 種圓翅屬鍬形蟲的分類檢索表。

七、臺灣產圓翅屬鍬形蟲的地理分佈：

蒐集臺灣圓翅屬鍬形蟲相關文獻（李惠永 2004；張永仁，2006），並整理繪製出臺灣產的 6 種圓翅屬鍬形蟲的地理分佈區域，藉此瞭解其親緣關係的相關性。

八、臺灣產圓翅屬鍬形蟲粒線體 DNA 之 CO I 序列分析與親緣鑑定：

（一）DNA 萃取與聚合酵素連鎖反應（Polymerase chain reaction）實驗：

1. 萃取 6 種臺灣產圓翅屬鍬形蟲的 DNA（圖 4.A~G），詳細步驟列於附錄（一）。
2. 進行聚合酵素連鎖反應，大量複製粒線體 DNA 之 CO I 序列（圖 4.H），詳細步驟列於附錄（一）。

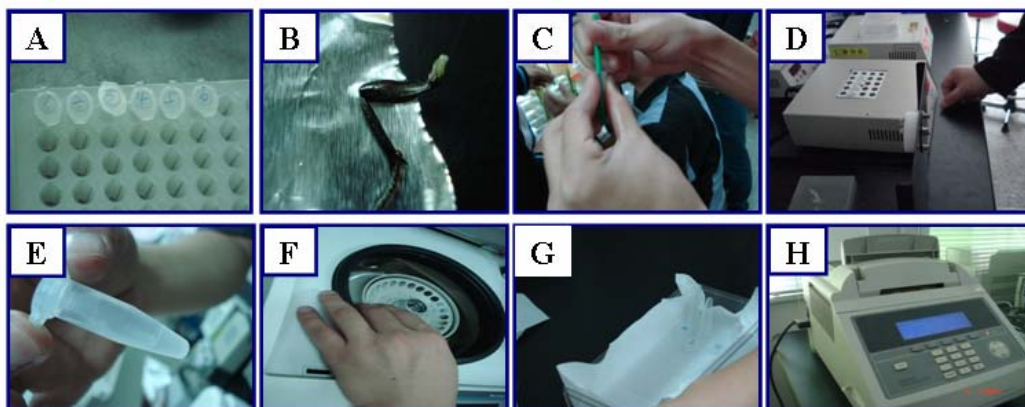


圖 4、在師範大學昆蟲實驗室操作臺灣產圓翅屬鍬形蟲 DNA 萃取與聚合酵素連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)實驗步驟。

（二）DNA 定序

將 PCR 的產物交由明欣生物科技公司進行 DNA 定序，所得序列利用 Bioedit 等軟體進行定序。

（三）DNA 序列比對

定序完成之序列，使用登錄在 NCBI 的序列在利用 BLAST 進行序列之比對，以確定是否為鍬形蟲科昆蟲之序列。確定正確之序列與基因庫(NCBI)下載之相關序列，利用 BioEdit 軟體進行排序和比對。

（四）DNA 序列分析

使用 BioEdit 和 MEGA 4 軟體計算所得粒線體 DNA 之 CO I 序列之長度、基因相似度、A+T 含量及遺傳距離等。

（五）親緣關係樹之建立方法

先以 DNAsp 軟體轉檔改成 nxs 格式，再用 PAUP 4.0 軟體以鄰接法(NJ)和最大簡約法(MP)兩種方法來做親緣關係樹，進行啟發式搜尋(heuristic search)併以 TBR(tree bisection and reconnection)分枝交換法以找出最適樹，再以 bootstrap 做 1000 次重複取樣，藉以評估所得親緣關係樹的一致指數(Consistency index)CI，保留指數(Retention index)RI，校正一致指數(Rescaled consistency index)RC。

1. 鄰接法 (Neighbor-joining method)

將所有樣本序列兩兩比對，選擇適合核苷酸替代模型，計算序列核苷酸位點替代數之估計值為遺傳距離值，並將序列間之遺傳距離排列成矩陣，依此矩陣建立親緣關係樹。

2.最大簡約法 (Maximum Parsimony method)

這個方法是假定分類群曾經有一共同祖先，並都有來自共祖的共同衍生特徵，並用這個共同衍生特徵去推測每個位點的祖先狀態，估算出進化過程所需核苷酸的最小代替數目。對所有可能正確的建構親緣樹步驟進行估算，挑選出所需替代數最小的建構親緣樹步驟為最優之親緣關係樹。

陸、研究結果

一、臺灣產圓翅屬鍬形蟲的繁殖

與生活史：

(一) 產卵、孵化：

佈置產卵環境的五種圓翅屬鍬形蟲中，只有大圓翅鍬形蟲和洞口氏泥圓翅鍬形蟲順利產卵，其中大圓翅鍬形蟲共產下 162 顆卵，順利孵化 78 隻一齡幼蟲，其孵化率為 48.15%，而洞口氏泥圓翅鍬形蟲只產下 21 顆卵，只孵化出 11 隻一齡幼蟲，孵化率為 52.38% (表一)。

(二) 幼蟲成長：

在大圓翅鍬形蟲幼蟲的飼養過程中發現，第1至17週時(11~隔年2月)，實驗組(幼蟲幼蟲飼養環境及食物濕度為75%)的幼蟲成長比對照組(濕度為70%)的快，但死亡率卻比較高。實驗組的死亡率為50%。而對照組的死亡率為10%。但是從第17週(2~5月)開始則發現對照組幼蟲成長比實驗組良好且快速。

大圓翅鍬形蟲一齡幼蟲成長至10週至11週時開始蛻皮轉變為二齡幼蟲，成長至24週時部分二齡幼蟲開始蛻皮轉變為三齡幼蟲，其成長相關實驗數據及幼蟲成長曲線圖如圖5。

洞口氏泥圓翅鍬形蟲幼蟲在飼養過程中陸續全部死亡，無法繼續進行幼蟲成長實驗及生活史記錄。

表一、五種圓翅屬鍬形蟲產卵數及孵化率。

	大圓翅鍬形蟲	紅圓翅鍬形蟲	泥圓翅鍬形蟲	洞口氏泥圓翅鍬形蟲	小圓翅鍬形蟲
產卵數	162	0	0	21	0
孵化數	78	-	-	11	-
孵化率	48.15%	-	-	52.38%	-

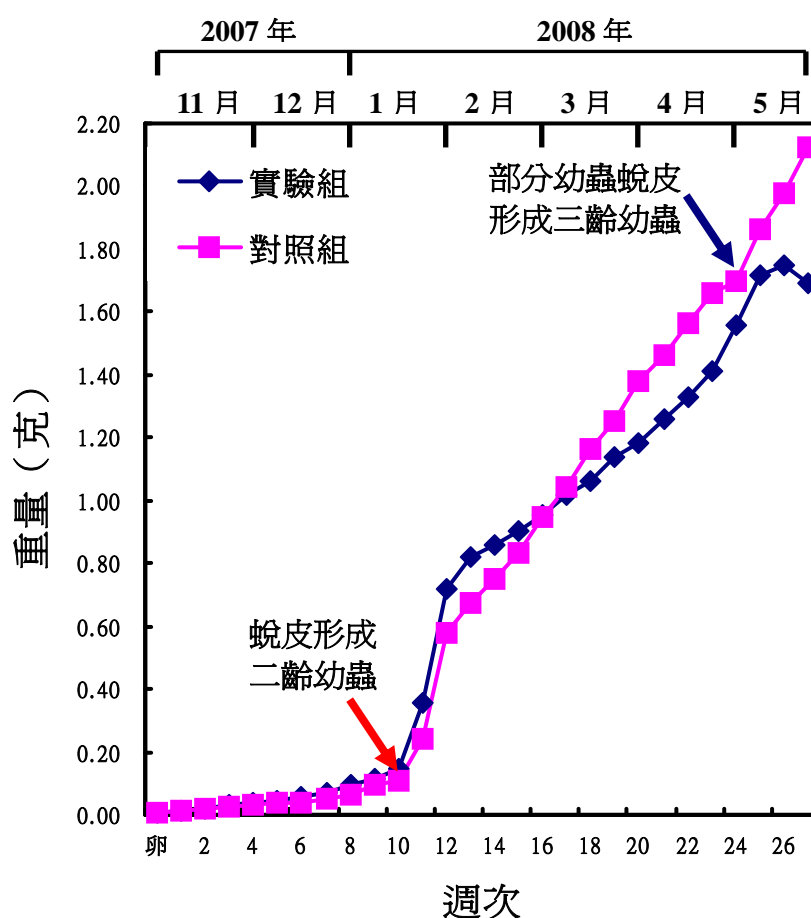


圖 5、大圓翅鍬形蟲幼蟲成長曲線圖。第 1 至 17 週時(10~隔年 1 月)，實驗組(幼蟲幼蟲飼養環境及食物濕度為 75%)的幼蟲成長比對照組(濕度為 70%)的快，但死亡率卻比較高。紅色箭頭指處為一齡幼蟲蛻皮形成二齡幼蟲。藍色箭頭指處為部分二齡幼蟲蛻皮形成三齡幼蟲。

(三) 圓翅屬鍬形蟲生活史：

生活史的紀錄，只有大圓翅鍬形蟲可以持續進行，但因時間因素，目前只進行至三齡初幼蟲期（參考王派鋒等（2008）可知一般鍬形蟲生活史至少需完整一年，生活史共分為卵期、一齡幼蟲期、二齡幼蟲期、三齡幼蟲期、蛹期及成蟲期），結果如圖6。大圓翅鍬形蟲的卵期平均約21天孵化，剛孵化的一齡幼蟲為半透明狀，約2~3日後腹部內會漸漸變為黑褐色，表示開始吃東西了，一齡幼蟲期平均為75天，轉換齡期前一齡幼蟲會先不吃東西，腹部內會漸漸變為黃白色，接著蛻去舊皮轉變為二齡幼蟲，剛蛻皮的二齡幼蟲一樣為黃白色，頭殼明顯變大，表皮皺褶明顯，但身體並沒有明顯變大，約2~3日後才會開始吃東西。

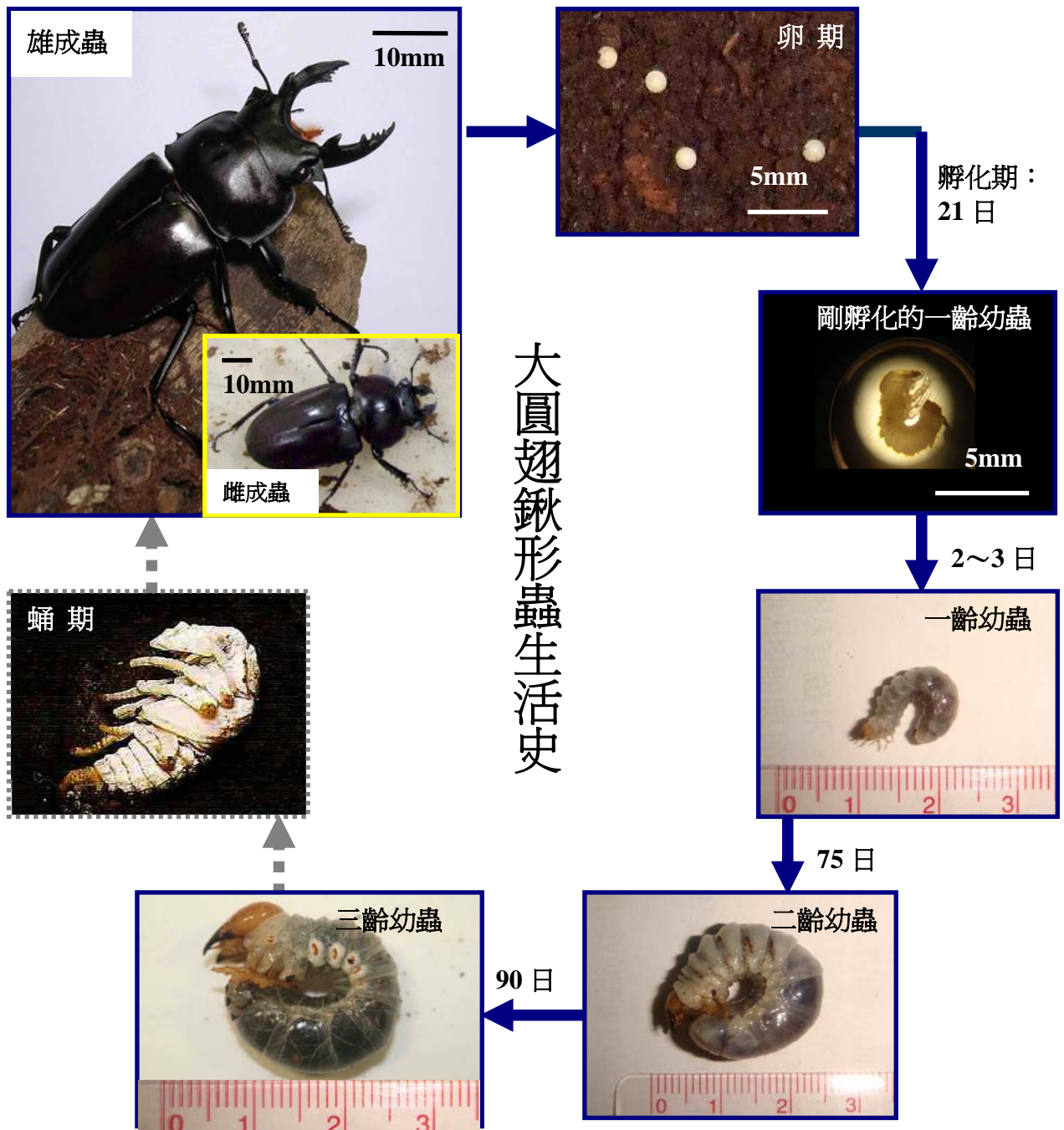


圖 6、大圓翅鍬形蟲生活史。藍色實線部分表示已完成之生活史，灰色虛線部分表示仍在進行之生活史。蛹期照片為文獻照片（張永仁，2006）。

二、臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄成蟲外部形態差異分析

(一) 九項外部形態特徵測量分析：

我們用鄧氏多變域測驗法分析臺灣圓翅屬鍬形蟲九項外部形態特徵（體全長、鞘翅寬度、鞘翅長度、前腳脛節長、前腳跗節長、中腳脛節長、中腳跗節長、後腳脛節長與後腳跗節長）平均值後可看出 6 種圓翅屬鍬形蟲九項外部形態特徵除了洞口氏泥圓翅與泥圓翅鍬形蟲、泥圓翅與小圓翅鍬形蟲在體全長、前腳跗節長、中腳跗節長及後腳跗節長分析無顯著差異。中華圓翅、洞口泥圓翅與泥圓翅鍬形蟲在鞘翅寬分析無顯著差異。中華圓翅與洞口泥圓翅鍬形蟲、洞口泥圓翅與泥圓翅鍬形蟲在鞘翅長分析無顯著差異。紅圓翅與中華圓翅鍬形蟲、洞口泥圓翅與泥圓翅與小圓翅鍬形蟲在前腳脛節長分析無顯著差異。中華圓翅與洞口泥圓翅鍬形蟲、泥圓翅與小圓翅鍬形蟲在中腳脛節長分析無顯著差異。中華圓翅與洞口泥圓翅鍬形蟲、洞口泥圓翅與泥圓翅鍬形蟲、泥圓翅與小圓翅鍬形蟲在後腳脛節長分析無顯著差異。其餘同一特徵在不同圓翅屬鍬形蟲間都有顯著差異($p < 0.05$)，結果如下表三。

表三、臺灣產圓翅屬鍬形蟲九項外部形態特徵（體全長、鞘翅寬度、鞘翅長度、前腳脛節長、前腳跗節長、中腳脛節長、中腳跗節長、後腳脛節長與後腳跗節長）平均值與標準偏差（括弧內數值）。不同英文字母(a, b, c, d, e)代表以鄧氏多變域測驗法分析顯示兩者有顯著差異 ($p < 0.05$)。

外部形態特徵測量 (mm)	物 種					
	大圓翅鍬形蟲(N=17)	紅圓翅鍬形蟲(N=19)	中華圓翅鍬形蟲(N=5)	洞口氏泥圓翅鍬形蟲(N=13)	泥圓翅鍬形蟲(N=16)	小圓翅鍬形蟲(N=13)
體全長	53.83 (6.56) a	40.91 (5.12) b	36.93(1.61) c	32.20 (3.32) d	31.10 (2.44) d, e	28.27 (1.59) e
鞘翅寬	21.10 (2.23) a	16.49 (1.84) b	14.05 (0.54) c	13.27 (1.12) c	12.78 (0.90) c	11.42 (0.60) d
鞘翅長	27.54 (2.63) a	20.87(2.27) b	18.27 (0.83) c	16.93 (1.45) c, d	15.89(1.11) d	14.24 (0.75) e
前腳脛節長	11.04 (1.13) a	8.32 (1.50) b	7.90 (0.28) b	6.71 (0.60) c	6.09 (0.63) c	6.22 (0.38) c
前腳跗節長	10.03 (0.87) a	8.19 (1.20) b	7.53 (0.20) c	5.79 (0.50) d	5.50 (0.55) d, e	5.04 (0.32) e
中腳脛節長	1.10 (0.88) a	8.52 (1.12) b	7.16 (0.43) c	6.81 (0.67) c	6.09 (0.65) d	5.68 (0.32) d
中腳跗節長	10.87 (1.15) a	9.45 (1.17) b	7.67 (0.43) c	6.54 (0.73) d	5.96 (0.65) d, e	5.58 (0.31) e
後腳脛節長	11.64 (1.11) a	9.80 (1.09) b	8.46 (0.54) c	7.82 (0.64) c, d	7.33 (0.45) d, e	6.98 (0.56) e
後腳跗節長	11.15 (1.13) a	9.88 (1.22) b	7.43 (0.32) c	6.62 (0.65) d	6.06 (0.41) d, e	5.46 (0.49) e

(二) 外部形態標準化比值：

1. 前腳脛節/跗節比值：

由圖 7 可看出大圓翅和泥圓翅、紅圓翅和中華圓翅的前腳脛節比值無顯著差異，其他物種間則都有顯著差異($p < 0.05$)。大圓翅、洞口式泥圓翅和小圓翅的前腳脛節都比跗節長。而紅圓翅和中華圓翅鉞形蟲前腳脛節與跗節比值比較接近 1，顯示前腳脛節與跗節長度相似。

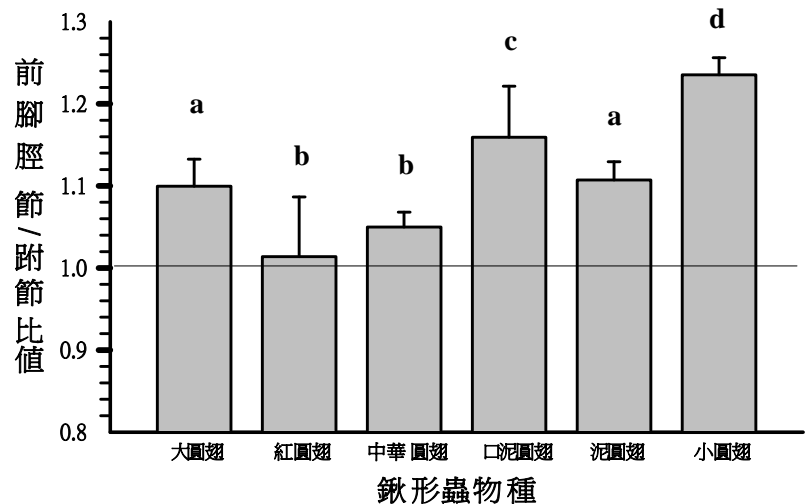


圖 7、臺灣產圓翅屬鉞形蟲前腳脛節 / 跗節比值。不同英文字母表是鄧氏多變域測驗顯示兩者有顯著差異 ($p < 0.05$)。

2. 中腳脛節/跗節比值：

由圖 8 可看出洞口氏泥圓翅、泥圓翅和小圓翅的中腳脛節與跗節比值無顯著差異，其他物種間則都有顯著差異 ($p < 0.05$)。大圓翅、紅圓翅和中華圓翅鉞形蟲的中腳脛節與跗節比值小於 1，表示中腳跗節比脛節長，而洞口氏泥圓翅、泥圓翅、小圓翅鉞形蟲比值接近 1，顯示它們的中腳跗節和脛節的長度相近。

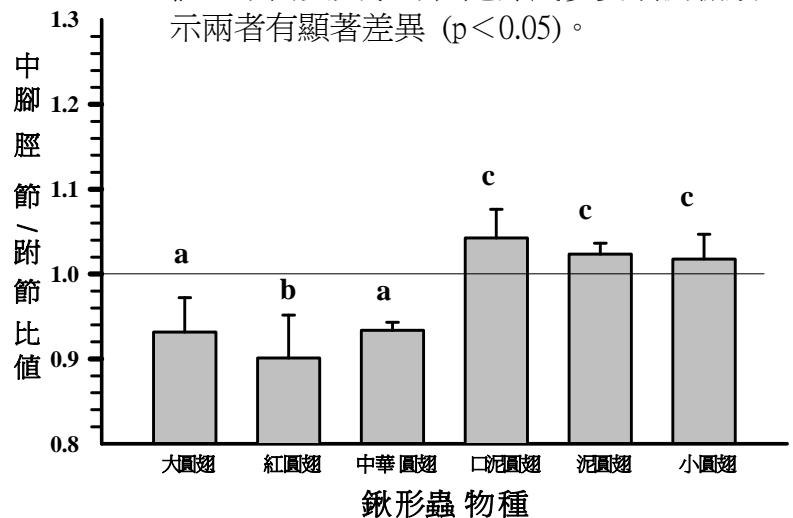


圖 8、臺灣產圓翅屬鉞形蟲中腳脛節 / 跗節比值。不同英文字母表是鄧氏多變域測驗顯示兩者有顯著差異 ($p < 0.05$)。

3. 後腳脛節/跗節比值：

由圖 9 可看出洞口氏泥圓翅和泥圓翅鉞形蟲的後腳脛節與跗節比值無顯著差異，其他物種間則都有顯著差異($p < 0.05$)。大圓翅和紅圓翅鉞形蟲的後腳脛節與跗節比值最接近 1，顯示其脛節與跗節長度相近，而中華圓翅、洞口氏泥圓翅、泥圓翅和小圓翅鉞形蟲的後腳脛節都明顯比跗節長。

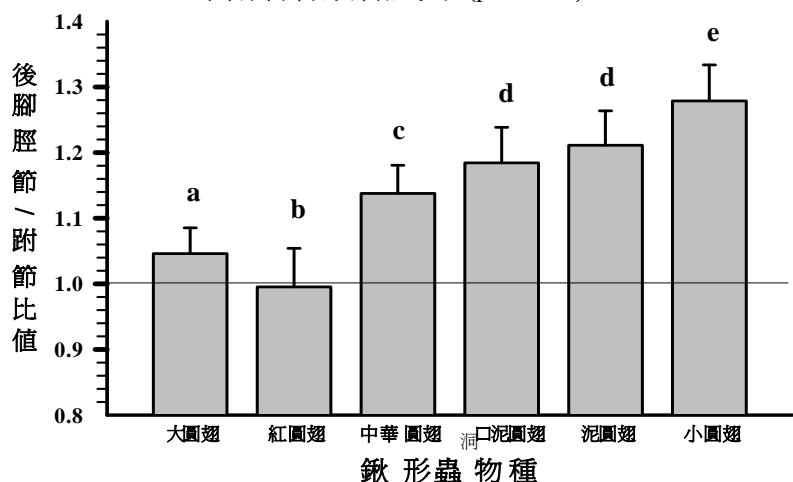


圖 9、臺灣產圓翅屬鉞形蟲後腳脛節 / 跗節比值。不同英文字母表是鄧氏多變域測驗顯示兩者有顯著差異 ($p < 0.05$)。

4. 鞘翅長寬比值：

由圖 10 可看出大圓翅和中華圓翅、紅圓翅、泥圓翅、小圓翅和中華圓翅的鞘翅長寬比值無顯著差異，其他物種間則都有顯著差異($p < 0.05$)。泥圓翅、中華圓翅、紅圓翅和大圓翅鞘翅比值較大，顯示 4 種蟲在圓翅屬裡屬於身體較細長的個體，而泥圓翅和小圓翅鍬形蟲比值較接近 1，顯示兩種蟲在圓翅屬裡屬於身體較圓胖的物種。

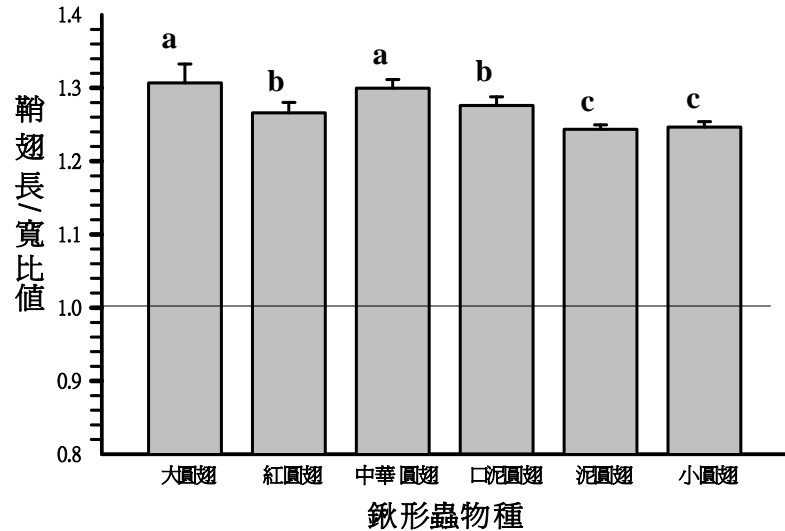


圖 10、臺灣產圓翅屬鍬形蟲鞘翅長 / 寬比值。不同英文字母表是鄧氏多變域測驗顯示兩者有顯著差異 ($p < 0.05$)。

(三) 前、中及後腳的脛節與跗節長度散布圖：

1. 前腳脛節、跗節散布圖：

由圖 11 的前腳脛節、跗節散布圖可看出大圓翅、紅圓翅、洞口氏泥圓翅、小圓翅及泥圓翅鍬形蟲有明顯的差異分佈。中華圓翅則與紅圓翅鍬形蟲太重疊，而小圓翅和和洞口氏泥圓翅鍬形蟲太重疊，無法明顯區別其差異性。

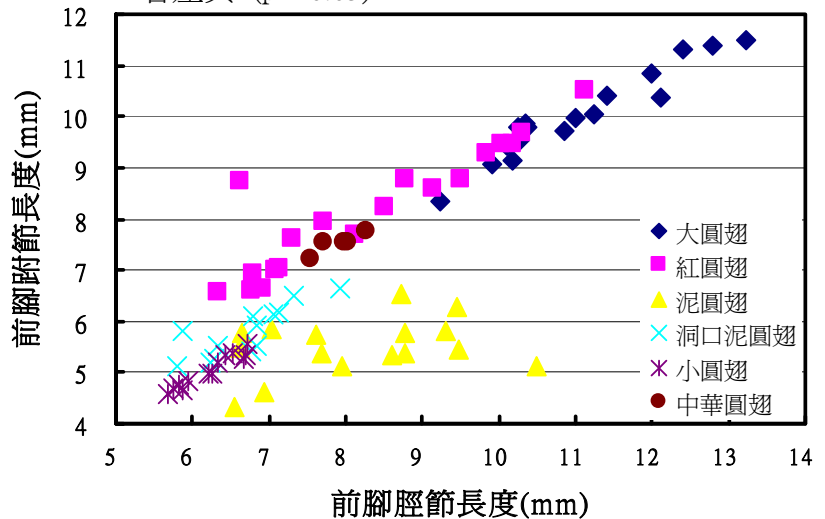


圖 11、臺灣產圓翅屬鍬形蟲前腳的脛節長度與跗節長度散布圖。

2. 中腳脛節與跗節比值：

由圖 12 的中腳脛節、跗節散布圖可看出大圓翅、小圓翅和紅圓翅鍬形蟲有明顯的差異分佈。但在洞口氏泥圓翅、泥圓翅、中華圓翅及小圓翅鍬形蟲的分佈太重疊，無法明顯區別其差異性。這也顯示出洞口氏泥圓翅、泥圓翅、中華圓翅及小圓翅鍬形蟲在中腳的脛跗節長度變化比較小。

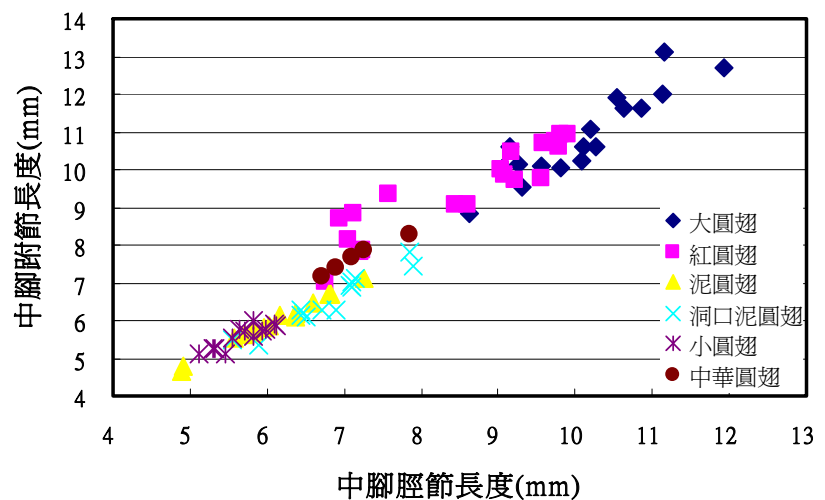


圖 12、臺灣產圓翅屬鍬形蟲中腳的脛節長度與跗節長度散布圖。

3.後腳脛節與附節比值：

由圖 13 的後腳脛節、跗節散布圖可看出大圓翅、小圓翅和紅圓翅鍬形蟲有明顯的差異分佈。但洞口氏泥圓翅、泥圓翅、中華圓翅及小圓翅鍬形蟲的分佈太重疊，無法區別其差異性。

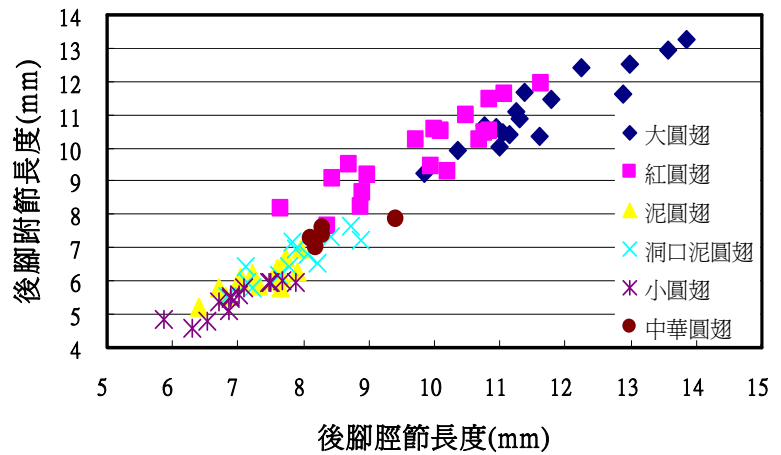


圖 13、臺灣產圓翅屬鍬形蟲後腳的脛節長度與跗節長度散布圖。

(四) 四項形態特徵觀察：

由圖 14 及表三可發現大圓翅的眼緣突起及鞘翅顏色與其他 5 種明顯不同。中華圓翅的眼緣突起、鞘翅顏色、鞘翅光澤度及鞘翅表面粗糙程度與其他 5 種明顯不同。紅圓翅、洞口氏泥圓翅、泥圓翅及小圓翅鍬形蟲在眼緣突起、鞘翅顏色、鞘翅光澤度及鞘翅表面粗糙程度均比較相似不易區分。

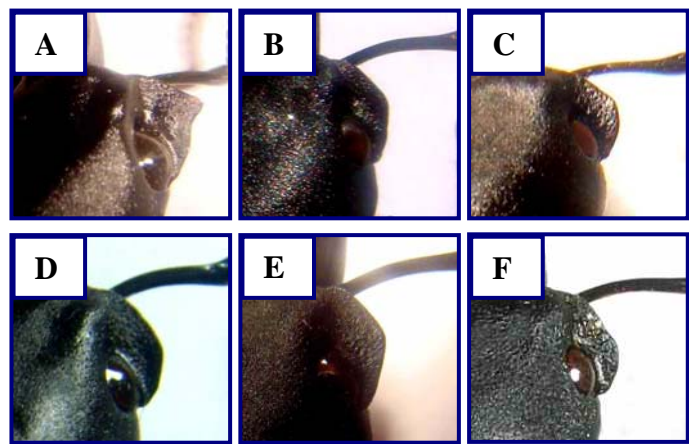


圖 14、臺灣產圓翅屬鍬形蟲眼緣突起。A=大圓翅鍬形蟲；B=紅圓翅鍬形蟲；C=小圓翅鍬形蟲；D=洞口氏泥圓翅鍬形蟲；E=泥圓翅鍬形蟲；F=中華圓翅鍬形蟲。

表三、臺灣產 6 種圓翅屬鍬形蟲四項外部形態特徵觀察。

物種	外部形態特徵			
	眼緣突起	鞘翅特徵		
		鞘翅顏色	鞘翅光澤度	鞘翅表面粗糙程度
大圓翅鍬形蟲 (N=17)	銳角狀	深褐色	光亮	平整(無明顯刻點)
紅圓翅鍬形蟲 (N=19)	圓鈍狀	紅色 (N=14) 黑色 (N=5)	光亮	平整(具細刻點)
中華圓翅鍬形蟲 (N=5)	圓鈍狀	黑色 (N=5)	無光澤	粗糙(具明顯刻點)
洞口氏泥圓翅鍬形蟲 (N=13)	圓鈍狀	紅色 (N=8) 黑色 (N=5)	光亮	平整(具不明顯縱紋及細刻點)
泥圓翅鍬形蟲 (N=16)	圓鈍狀	紅色 (N=7) 黑色 (N=9)	光亮	平整(具不明顯縱紋及細刻點)
小圓翅鍬形蟲 (N=13)	圓鈍狀	紅色 (N=6) 黑色 (N=7)	光亮	平整(具稍明顯的細縱紋)

三、臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄成蟲生殖器比較

(一) 雄蟲陽具複體毛列分佈位置：

從圖15可看出6種圓翅屬鍬形蟲雄蟲外生殖器在陽具複體毛列分佈位置有差異。大圓翅鍬形蟲的毛列集中分佈於末端，中華圓翅毛列比較稀疏，而紅圓翅的毛列在中央處較密集，小圓翅鍬的毛列分佈平均，而泥圓翅、洞口氏泥圓翅的毛列分佈濃密，二種比較相似，但仍有些許差異，可見圖15藍色箭頭所指出及圖16進行比對。

(二) 雄蟲射精管長度：

在射精管長度上也有比較明顯的差異。大圓翅的射精管長度特別短，而中華圓翅的射精管長度特別長。其他4種圓翅屬鍬形蟲的射精管長度雖然比較相似，但還是有些許差異，紅圓翅鍬形蟲的射精管長度就比其他3種（泥圓翅、洞口氏泥圓翅及小圓翅鍬形蟲）短一些，可見圖15藍色箭頭所指出進行比對。

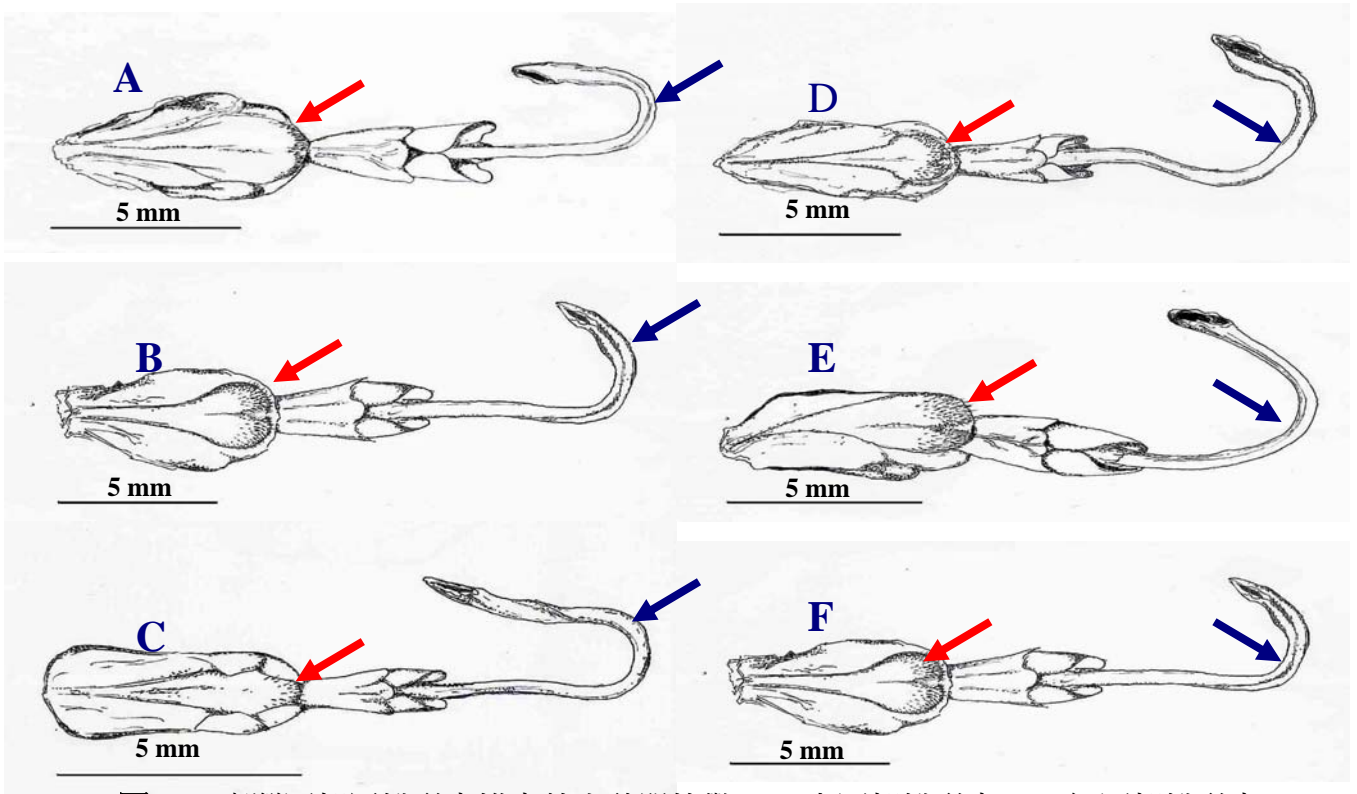


圖 15、臺灣圓翅屬鍬形蟲雄蟲外生殖器特徵。A=大圓翅鍬形蟲；B=紅圓翅鍬形蟲；C=中華圓翅鍬形蟲；D=洞口氏泥圓翅鍬形蟲；E=泥圓翅鍬形蟲；F=小圓翅鍬形蟲。紅色箭頭指處為雄蟲外生殖器陽具複體毛列差異處，藍色箭頭指處為雄蟲外生殖器射輸精管差異處。

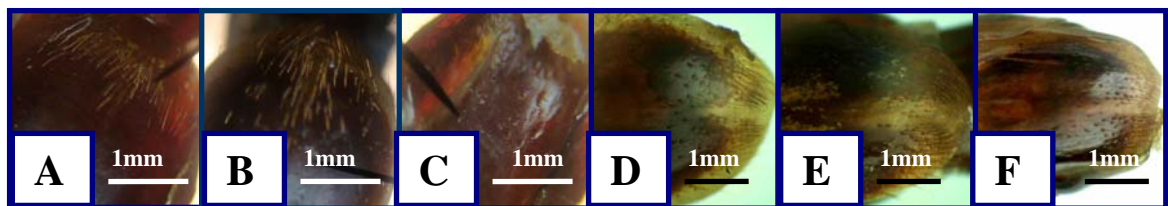


圖 16、臺灣圓翅屬鍬形蟲雄蟲陽具複體毛列特徵。A=大圓翅鍬形蟲；B=紅圓翅鍬形蟲；C=中華圓翅鍬形蟲；D=洞口氏泥圓翅鍬形蟲；E=泥圓翅鍬形蟲；F=小圓翅鍬形蟲。

四、成蟲發生月份及每日活動時間分析（文獻資料整理）

從表四中可看出大圓翅鍬形蟲在趨光性和成蟲活動上都和其他5種（中華圓翅、紅圓翅、泥圓翅、洞口氏泥圓翅及小圓翅鍬形蟲）有明顯的差異，其他5種在趨光性和成蟲活動上均相同。成蟲活動月份方面，中華圓翅的活動月份與其他5種差異較大，而其他5種圓翅屬鍬形蟲的活動時間雖然較相似，但仍有些微差異（李惠永2004；張永仁，2006）。

表四、臺灣產6圓翅屬鍬形蟲發生月份及每日活動時間分析，成蟲活動月份部分，灰色格子處表示在天然棲息環境有活動紀錄（文獻資料整理）。

物種	活動	夜間趨光性	成蟲白天活動	成蟲活動月份				
				六月	七月	八月	九月	十月
大圓翅鍬形蟲		有	白天在樹上吸食樹液		■	■	■	
紅圓翅鍬形蟲		無	白天樹上吸食樹液或地面爬行		■	■	■	■
中華圓翅鍬形蟲		無	白天於森林底層或步道爬行	■				
洞口氏泥圓翅鍬形蟲		無	白天於森林底層或步道爬行		■	■	■	
泥圓翅鍬形蟲		無	白天於森林底層或步道爬行			■	■	■
小圓翅鍬形蟲		無	白天於森林底層或步道爬行			■	■	

五、重新製作臺灣圓翅屬鍬形蟲檢索表：

依照前面的形態觀察紀錄及6種臺灣產圓翅數鍬形蟲的九項外部形態特徵測量分析結果重新繪製臺灣的圓翅屬鍬形蟲檢索表。

鍬形蟲科（Lucanidae）圓翅屬（*Neolucanus*）

- 1a.眼緣突起不發達，呈圓鈍狀.....2
- 1b.眼緣突起發達，呈銳角狀.....大圓翅鍬形蟲(*Neolucanus maximus vendli*)
- 2a.鞘翅光澤強.....3
- 2b.鞘翅光澤弱至無光澤.....中華圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus sinicus taiwanus*)
- 3a.中腳跗節較脛節短.....4
- 3b.中腳跗節較脛節長.....紅圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus swinhoei*)
- 4a.前腳脛節/跗節比值小於1.22..... 5
- 4b.前腳脛節/跗節比值大於1.22.....小圓翅鍬形蟲(*Neolucanus eugeniae*)
- 5a.翅鞘圓胖，長/寬比值小於1.25.....泥圓翅鍬形蟲(*Neolucanus doro doro*)
- 5b.翅鞘細長，長/寬比值大於1.27.....洞口氏泥圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus doro horaguchii*)

六、臺灣產 6 種圓翅屬鍬形蟲的地理分佈（文獻整理）：

大圓翅鍬形蟲分佈於全臺灣海拔 1000 公尺至 2000 公尺山區（圖 17），紅圓翅鍬形蟲分佈最廣泛，涵蓋全臺灣海拔 500 公尺至 1500 公尺低地丘陵及山區（圖 18），中華圓翅分佈於臺灣東北部至花蓮北部海拔 500 公尺至 1000 公尺低海拔山區（圖 19），洞口氏泥圓翅只侷限分佈於新竹縣觀霧海拔 2000 公尺的大鹿林道（圖 19），洞泥圓翅分佈於中部海拔 500 公尺至 2000 公尺山區（圖 19），小圓翅則分佈於南臺灣高雄縣六龜鄉海拔 1600 公尺至 2000 公尺山區（李惠永 2004；張永仁，2006）。

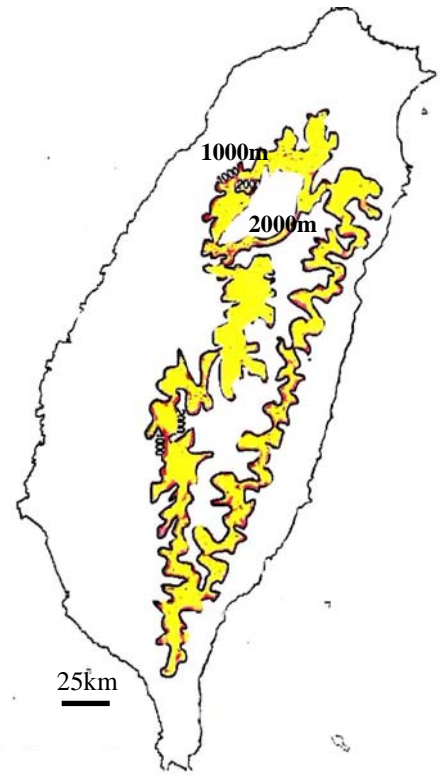


圖 17、大圓翅鍬形蟲的地理分佈區域（文獻資料整理）。

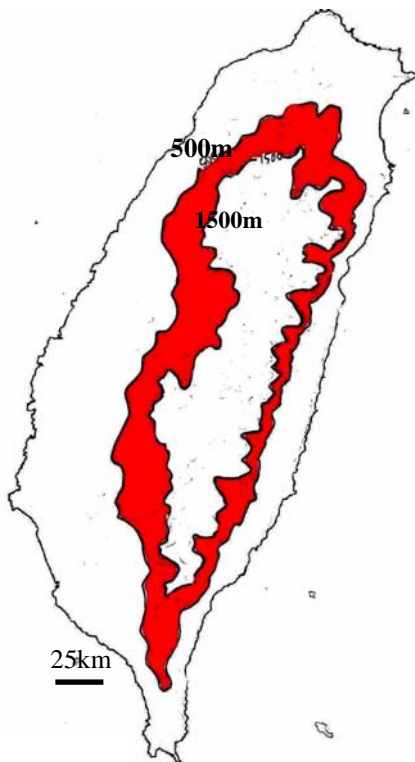


圖 18、紅圓翅鍬形蟲的地理分佈區域。（文獻資料整理）。

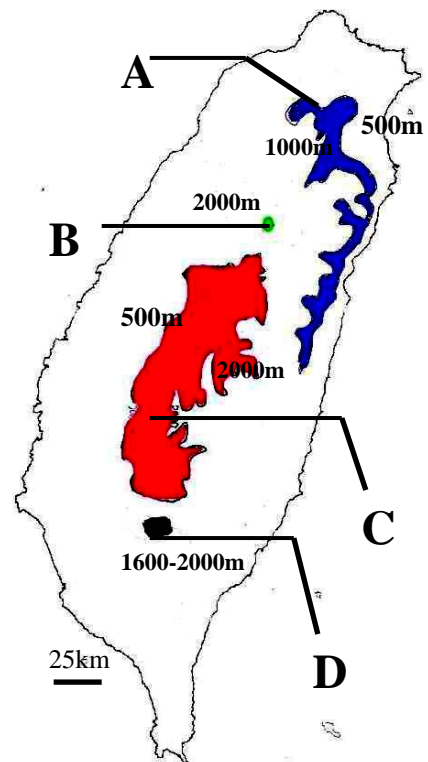


圖 19、A：中華圓翅鍬形蟲的地理分佈區，B：洞口氏泥圓翅鍬形蟲的分佈區，C：泥圓翅鍬形蟲的分佈區，D：小圓翅鍬形蟲的分佈區。（文獻資料整理）。

七、臺灣產圓翅屬鍬形蟲粒線體DNA之COI 序列定序親緣鑑定

(一) 鍬形蟲粒線體DNA之COI 序列表：

從表五可看出實驗所定出的臺灣產圓翅屬蟲粒線體DNA之COI序列(附錄三)和NCBI上其他屬鍬形蟲序列比較可看出其長度較短，約349~409 bp，而外群為獨角仙，其A+T含量為64.2%，而我們研究的圓翅屬，其A+T含量為57.6%~60.7%

在DNA 序列，將定序出6種圓翅屬鍬形蟲兩兩互相比對，發現相似度最低為84%，最高為99%，可進一步輔助形態上的鑑定。

表五、本實驗所使用臺灣產圓翅屬和NCBI上其他屬鍬形蟲粒線體DNA之 COI序列表。

GenBank accession no. 和蟲種編號	學 名	分 屬 和 名 稱	Length (bp)	A+T (%)	來 源
1.AB110717	<i>Dorcus curvidens</i>	大鍬形蟲屬	439	57.9	日本
2.AB110718	<i>Dorcus titanus</i>	扁鍬形蟲	439	57.4	日本
3.AB110720	<i>Dorcus rectus</i>	大鍬形蟲屬	439	56	日本
4.AB110722	<i>Dorcus striatipennis</i>	大鍬形蟲屬	439	59.9	日本
5.AB110724	<i>Dorcus rubrofemoratus</i>	大鍬形蟲屬	439	59.9	日本
6.AB110726	<i>Dorcus montivagus</i>	大鍬形蟲屬	439	56.2	日本
7.AB110728	<i>Prosopocoilus inclinatus</i>	鋸鍬形蟲屬	439	55.7	日本
8.AB110731	<i>Prismognathus dauricus</i>	鬼鍬形蟲屬	439	60.5	日本
9.AB110733	<i>Lucanus maculifemoratus</i>	深山鍬形蟲屬	439	59.9	日本
10.HSHS01	<i>Allomyrina dichotoma tunobosonis</i>	兜蟲屬 獨角仙	377	63.1	臺灣
11.HSHS02	<i>Dorcus titanus</i>	扁鍬形蟲	378	56.5	臺灣
12.HSHS03	<i>Neolucanus doro doro</i>	泥圓翅鍬形蟲	378	57.1	臺灣
13.HSHS04	<i>Neolucanus sinicus taiwanus</i>	中華圓翅鍬形蟲	384	59.4	臺灣
14.HSHS05	<i>Neolucanus swinhoei</i>	紅圓翅鍬形蟲	409	57.4	臺灣
15.HSHS06	<i>Neolucanus eugeniae</i>	小圓翅鍬形蟲	375	57.4	臺灣
16. HSHS08	<i>Neolucanus doro horaguchii</i>	洞口圓翅鍬形蟲	360	57.8	臺灣
17. HSHS07	<i>Neolucanus maximus vendli</i>	大圓翅鍬形蟲	349	54.1	臺灣

(二) 親緣關係樹之建構 (Phylogenetic tree)

利用圓翅屬鍬形蟲之粒線體DNA之COI序列，將已排序之17個分類單位，獨角仙為外群，以利最大簡約法(MP)和鄰接法(NJ)兩種方法建立親緣關係樹。

分析長度為352bp的COI基因片段序列，variable character共有136個，其中informative character有117個。以獨角仙為外群(*Allomyrina dichotoma*)，利用PAUP4.0軟體所得bootstap 50%majority-rule consensus tree之樹長為563步，一致指數(Consistency index)CI為0.400，保留指數(Retention index)RI為0.383。校正一致指數(Rescaled consistency index)RC為0.153。Bootstrap value 則表示在各樹狀圖之分支之上，若小於50%則不以數字表示。結果發現不管是最簡約法(圖 20)、鄰接法(圖 21)兩種分析方法得到的親緣關係樹非常相似，皆可發現圓翅屬鍬形蟲屬自成一單系群，群內遺傳距離很近，和他群之距離則疏遠。

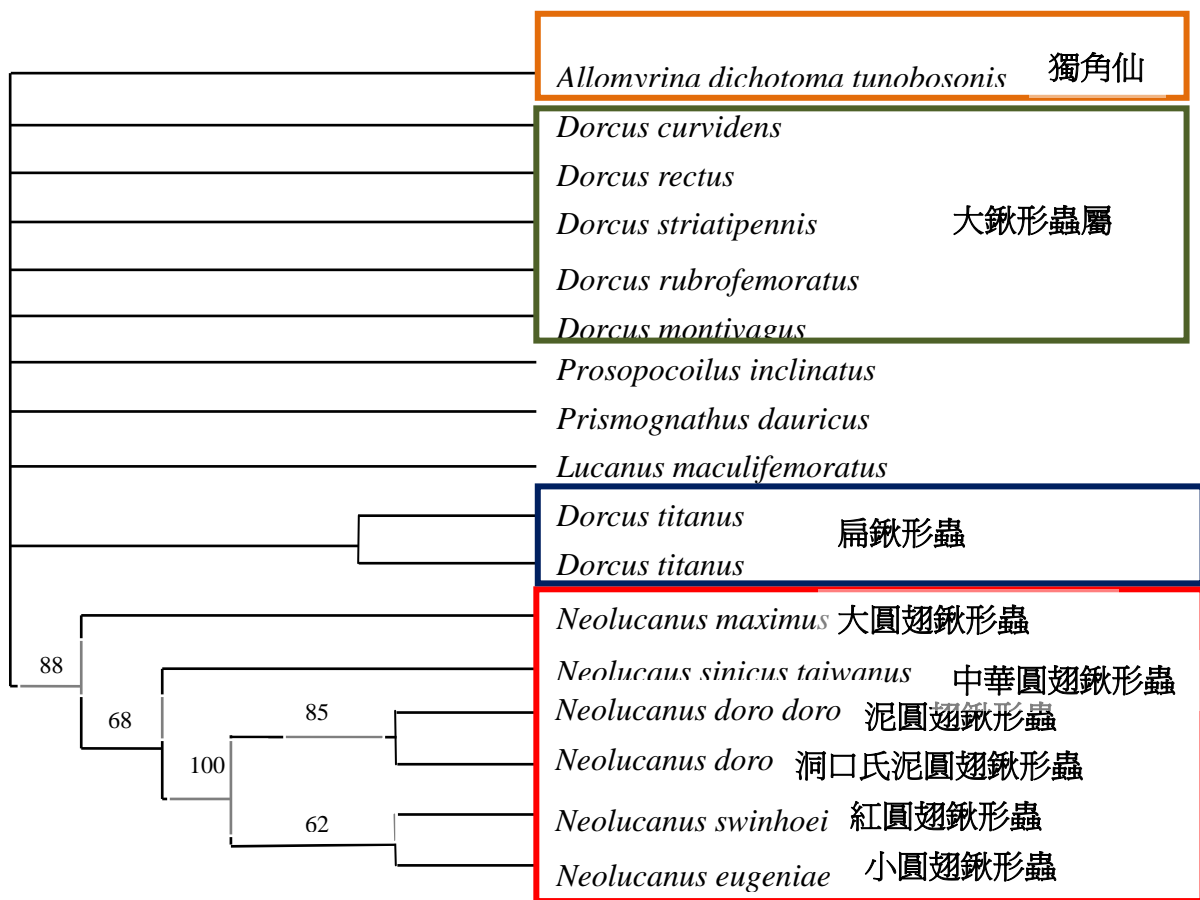


圖 20、本實驗分析之粒線體 COI 序列，以最簡約法(MP)方法建構之親緣關係樹。

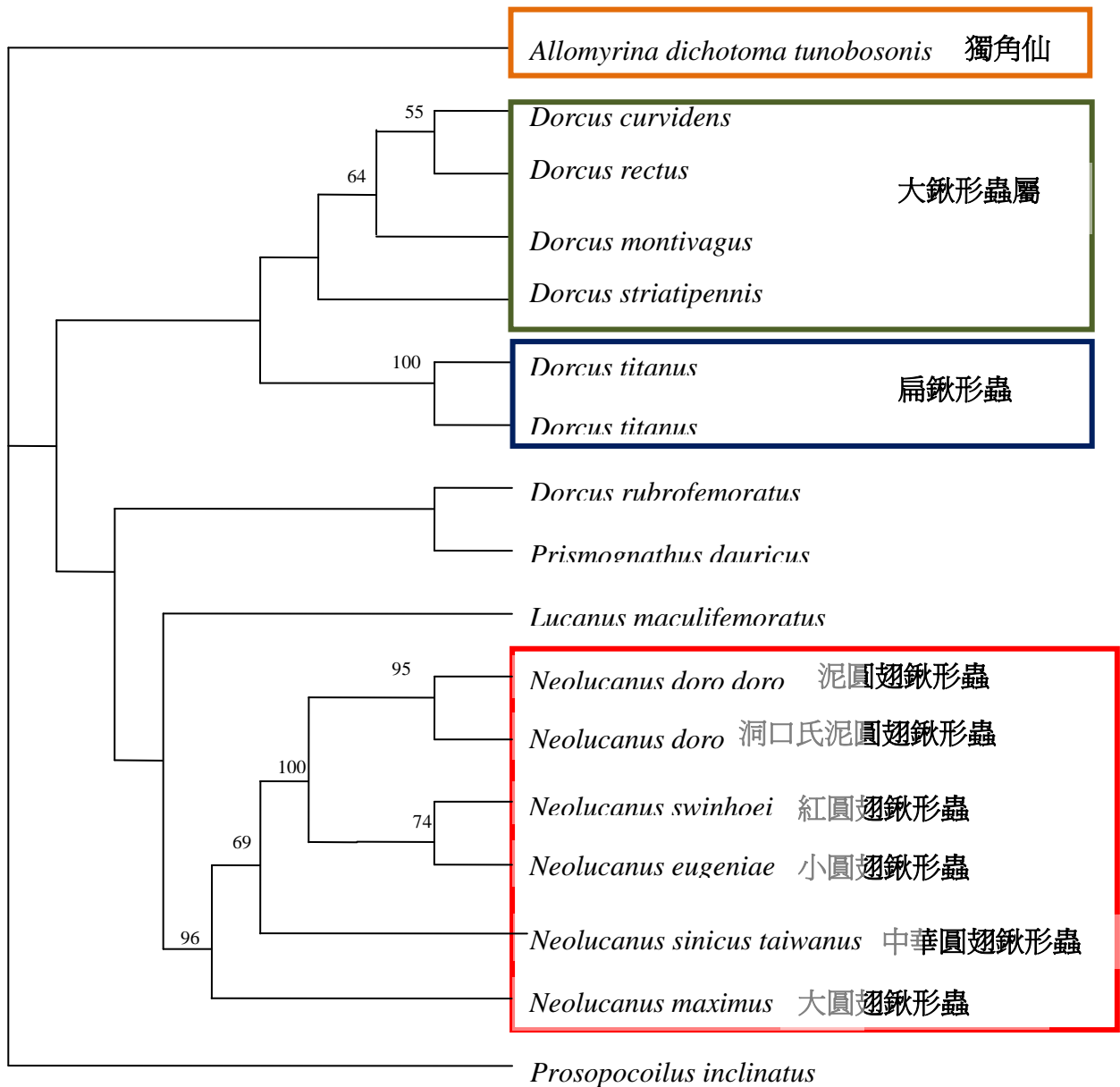


圖 21、本實驗分析之粒線體 COI 序列，以鄰接法(NJ)方法建構之親緣關係樹。

(三) 計算遺傳距離：

將COI序列兩兩比較後，以MEGA4.0 軟體的 Kimura's (1980) 2-parameter 公式計算遺傳距離，外群獨角仙與其他屬差異最大，遺傳距離在 0.23 以上。同屬間差異小（大多 0.2 以下），遺傳距離差異較小，只有大圓翅鍬形蟲遺傳距離較大，大多 0.17 以上（圖 23）。

	<i>Dorcus curvidens</i>	<i>D. titanus</i>	<i>D. rectus</i>	<i>D. striatepennis</i>	<i>D. rubro-femoratus</i>	<i>D. montivagus</i>	<i>P. inclinatus</i>	<i>P. dauricus</i>	<i>L. maculifemoratus</i>	獨角仙(外群)	臺灣扁鍬形蟲	泥圓翅鍬形蟲	中華圓翅鍬形蟲	紅圓翅鍬形蟲	小圓翅鍬形蟲	洞口泥圓翅鍬形蟲	大圓翅鍬形蟲
<i>Dorcus curvidens</i>																	
<i>D. titanus</i>	0.188																
<i>D. rectus</i>	0.152	0.222															
<i>D. striatepennis</i>	0.177	0.197	0.198														
<i>D. rubro-femoratus</i>	0.186	0.212	0.232	0.185													
<i>D. montivagus</i>	0.154	0.231	0.217	0.182	0.199												
<i>Proopocilus inclinatus</i>	0.220	0.217	0.217	0.217	0.258	0.262											
<i>Prismognathus dauricus</i>	0.240	0.233	0.233	0.196	0.177	0.243	0.242										
<i>Lucanus maculifemoratus</i>	0.236	0.228	0.228	0.213	0.221	0.258	0.222	0.196									
獨角仙(外群)	0.240	0.250	0.250	0.240	0.230	0.230	0.240	0.260	0.270								
臺灣扁鍬形蟲	0.208	0.022	0.022	0.201	0.225	0.236	0.208	0.229	0.236	0.259							
泥圓翅鍬形蟲	0.241	0.246	0.246	0.212	0.226	0.268	0.265	0.200	0.224	0.285	0.251						
中華圓翅鍬形蟲	0.244	0.241	0.241	0.229	0.250	0.263	0.237	0.192	0.220	0.285	0.233	0.108					
紅圓翅鍬形蟲	0.253	0.250	0.250	0.212	0.222	0.268	0.269	0.196	0.216	0.280	0.246	0.015	0.111				
小圓翅鍬形蟲	0.254	0.250	0.250	0.212	0.222	0.259	0.269	0.197	0.216	0.281	0.246	0.015	0.111	0.006			
洞口泥圓翅鍬形蟲	0.241	0.241	0.241	0.212	0.226	0.268	0.256	0.193	0.224	0.285	0.246	0.006	0.115	0.015	0.015		
大圓翅鍬形蟲	0.232	0.255	0.255	0.267	0.279	0.255	0.228	0.242	0.261	0.290	0.255	0.174	0.147	0.170	0.170	0.174	-

圖23、本實驗圓翅屬鍬形蟲與其他屬之遺傳距離，外群為獨角仙。

(四) PCR 反應擴增的 COI 片段的電泳分析：

以 COIF/COIR 為引子組進行 PCR 反應，擴增的 COI 片段以電泳分析，並以 Ethidium bromide 染色，於紫外燈下觀察結果，約 500 bp 長，而外群為獨角仙相差較多（圖 24）。

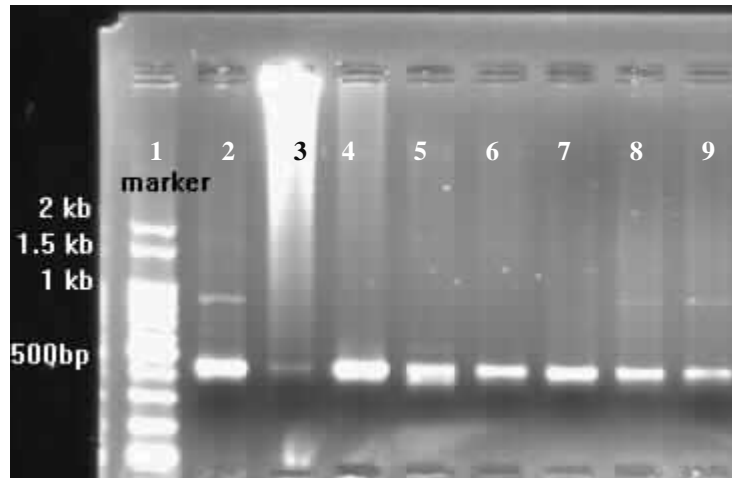


圖 24、以 COIF/COIR 為引子組進行 PCR 反應，擴增的 COI 片段以 1.2% 電泳膠片電泳分析，並以 Ethidium bromide 染色結果，於紫外燈下觀察。電泳圖譜第 1 欄為 2kb ladder DNA Marker，第 2 欄到第 9 欄分別為紅圓翅 (*Neolucanus swinhoei*)、獨角仙(*Allomyrina dichotoma tunobosonis*)、扁鍬(*Dorcus titanus*)、大圓翅(*Neolucanus maximus vendli*)、泥圓翅(*Neolucanus doro doro*)、中華圓翅(*Neolucanus sinicus taiwanus*)、洞口氏圓翅(*Neolucanus doro horaguchii*)及小圓翅鍬形蟲(*Neolucanus eugeniae*)。

柒、討論

一、飼養繁殖與生活史：

這次實驗雖然嘗試了 5 種臺灣的圓翅屬鍬形蟲繁殖，但只有大圓翅和洞口氏泥圓翅鍬形蟲成功產卵，探討其原因可能與各種物理化學因子有關，例如溫度、濕度、酸鹼度及腐植土顆粒等因素有關（王派鋒等，2008；吉田賢治，2002）。未來如果要釐清相關影響產卵的原因，可以嘗試調整繁殖環境中的各種物理化學條件再進行繁殖。另外，在蟲卵孵化方面，大圓翅和洞口氏泥圓翅鍬形蟲孵化率都只有 50% 左右，整理實驗日誌後發現，一開始蟲卵發霉比例很高，可能與用自來水噴灑蟲卵保濕有關，因為我們在蟲卵大量發霉後就改用蒸餾水噴灑蟲卵保濕，蟲卵發霉情況就大為改善了。因此，推測可能因為自來水中的氯（消毒殺菌功能）造成蟲卵損傷而容易受到真菌感染。

洞口氏泥圓翅鍬形蟲幼蟲在飼養過程中陸續全數死亡，可能與飼養環境不適合有關（王派鋒等，2008；吉田賢治，2002），在未來可調整各種物理化學因子來增加幼蟲存活率。而大圓翅鍬形蟲二齡初期以前幼蟲在高濕度的環境中成長較好，但死亡率卻比較高，但在二齡中期後至三齡的幼蟲則在低濕度的環境中成長較好，推測可能與幼蟲飼養環境中的代謝廢物累積之差異有關而造成此差異：二齡初期前高濕度的環境幼蟲成長快速，累積較多尿酸等代謝廢物（pH=4.02），而低濕度的飼養環境則累積較少代謝廢物（pH=4.68）。另外，也可能是因為在不同齡幼蟲對環境適應之差異所造成，目前已更換添加腐植土調整酸鹼值繼續進行中。

目前進行中的大圓翅鍬形蟲生活史建立只進行到三齡幼蟲階段，尚未完成。而鍬形蟲的生活史一般均需完整一年才能完成（王派鋒等，2008）。因此，將持續飼養並完成其生活史。因為，相關圓翅屬鍬形蟲的生活史資料很少，對圓翅屬鍬形蟲的一生瞭解有限，因此建立臺灣圓翅屬鍬形蟲生活史以利未來在野外調查需要，更有助於對整體生物多樣性的瞭解與保育，因此有其必要性。

二、臺灣產圓翅屬鍬形蟲外部形態觀察與測量：

對於臺灣產圓翅屬鍬形蟲外部形態觀察與測量中，只針對雄成蟲觀察與測量，主要是因為樣本大多為熱心的愛蟲人士提供的，缺少雌成蟲樣本（提供者不採集雌蟲），未來可積極的蒐集雌蟲樣本做更進一步的實驗，已補足這個漏洞。

雄成蟲除了利用傳統的觀察記錄外，還增加了對測量數據的統計分析及數值標準化方式，可更清楚明確的指出各物種之間的差異性（例如：洞口氏泥圓翅的鞘翅長/寬比值為 (1.276 ± 0.012) 大於泥圓翅的鞘翅長/寬比值 (1.244 ± 0.006) ，顯示泥圓翅比洞口氏泥圓翅更為圓胖。大圓翅鍬形蟲的中腳脛節與跗節比值小於 1，表示中腳跗節比脛節長等），增加未來在辨識物種的準確性。綜合這次外部形態觀察與測量的結果顯示出大圓翅、紅圓翅與中華圓翅鍬形蟲與其他 3 種圓翅屬鍬形（洞口泥圓翅、泥圓翅及小圓翅鍬形蟲）差異性特點較多，而洞口泥圓翅、泥圓翅及小圓翅鍬形蟲彼此間則差異性特點較少，這樣的結果也和相關文獻資料相符合（李惠永 2004；張永仁，2006）。

另外，我們從這些自己觀察、測量分析的資料中選出多項關鍵的分類特點製作出檢索表，過程中讓我們能學習到傳統分類上的方法，並瞭解選取關鍵分類特點的重要性，現在也更能明確的區別出臺灣的 6 種圓翅屬鍬形蟲。

三、臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄蟲外生殖器觀察：

觀察生物生殖器的差異是判斷物種生殖隔離的重要依據，也是形成新物種的必要條件。另外，利用比較昆蟲陽具複雜體的差異性更可以當作判別亞種的依據（貢毅紳，1991）。這次觀察實驗是使用學校的簡易的複式顯微鏡及解剖顯微鏡觀察，並無法將所有細微特徵呈現出來，且拍照時是用數位相機對準接目鏡拍攝的，解析度並不佳，因此才採用繪圖及部分圖片的方式呈現觀察結果。

從觀察的結果顯示出大圓翅、中華圓翅、紅圓翅與小圓翅鍬形蟲的外生殖器差異性大，其餘二種則差異性較少，這與外部形態觀察與測量結果相互吻合。因此，可明確的判斷出大圓翅、中華圓翅、紅圓翅與小圓翅鍬形蟲應該已經產生生殖隔離，而洞口泥圓翅和泥圓翅鍬形蟲彼此間則差異性特點較少，未來可用更精密的解剖顯微鏡觀察更細微的特徵來瞭解他們的差異性或進行人工雜交實驗才可確認。

四、臺灣產圓翅屬鍬形蟲粒線體 DNA 之 COI 序列分析與親緣關係之鑑定：

臺灣產圓翅屬鍬形蟲粒線體 DNA 在 COI 的序列的比對上，紅圓翅與小圓翅鍬形蟲的遺傳距離無太大差異，經過多次重新定序結果還是不變，這可能和臺灣地幅狹小有關或者可以再找其他的序列重新比較分析。（林憲志，2000；陳瑋芸，2002）

這次圓翅屬鍬形蟲粒線體 DNA 之 COI 序列分析的引子（附錄二）的設計是參考比較 NCBI 網站上發表的鍬形蟲序列所設計的。而這個引子可適用於臺灣產 5 種圓翅屬鍬形蟲（中華圓翅、紅圓翅、洞口泥圓翅、泥圓翅及小圓翅鍬形蟲）並可定出 DNA 之 COI 序列，但卻無法順利定出大圓翅鍬形蟲的 DNA 之 COI 序列，顯示它的 DNA 之 COI 序列差異較大，最後重新設計新引子後才定出序列。在 DNA 序列的比對中，將定序出 6 種圓翅屬鍬形蟲的 DNA 之 COI 序列和在 NCBI 網站基因庫中所登錄的鍬形蟲科昆蟲相比對，同屬鍬形蟲的 DNA 之 COI 序列相似度比較很高，而不同屬之間的變異性較大。另外，我們用 Mega4.0 軟體分析它們遺傳距離也發現同屬之間的差異較小，而臺灣產的 6 種圓翅屬鍬形蟲中只有大圓翅鍬形蟲 DNA 序列差異較大，也和外部形態上的分析相符合。

使用 PAUP4.0 軟體可得鄰接法 (NJ) 和最大簡約法 (MP) 親緣關係樹，皆可發現圓翅屬鍬形蟲屬，自成一單系群，群內遺傳距離很近，其和他群之距離則疏遠。從圖上大致可分成三群，可分為圓翅鍬形蟲屬 (*Neolucanus*)、大鍬形蟲屬扁鍬形蟲 (*Dorcus titanus*)、大鍬形蟲屬大鍬形蟲 (*Dorcus*)，符合形態上的分類，故粒線體 DNA 之 COI 序列所作出的親緣關係樹可輔助傳統形態上的分類但一致指數 (CI)、保留指數 (RI) 較低，可能是外群選取不適當，未來可選取新外群再做分析比較。

五、臺灣產圓翅屬鍬形蟲的身世之謎：

綜合上述所有結果、討論及翻閱文獻（水沼等，1994）後發現臺灣產的圓翅屬鍬形蟲中，有 2 種圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus maximus* 及 *Neolucanus sinicus*) 在中國大陸也有分佈（表六），其它 4 種臺灣產的圓翅屬鍬形蟲（紅圓翅、洞口泥圓翅、泥圓翅及小圓翅鍬形蟲）均為臺灣特有種。因此，我們想大膽的提出一個推論：臺灣產的圓翅屬鍬形蟲應該是從中國大陸擴展到臺灣的。首先，大圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus maximus*) 與中華圓翅鍬形蟲 (*Neolucanus sinicus*) 的祖先在臺灣島嶼中國大陸相連的時期遷移擴展到臺灣並建立族群，當臺灣與中國大陸分離時產生了地理隔離，這時大圓翅鍬形蟲的祖先因為氣候改變而向上遷移分布至全島海拔 1000 公尺以上山區，

而中華圓翅鍬形蟲的祖先則分布在臺灣的低海拔地區，因與大陸的地理隔離與氣候等環境因子的改變而漸漸產生了生殖隔離而演化為現在的中華圓翅鍬形蟲。

部分的中華圓翅的祖先則可能在南部地區因環境因子的差異而漸漸演化出紅圓翅鍬形蟲，接著再平行擴張分佈至全島低海拔地區。而中部地區則在紅圓翅鍬形蟲尚未遷移擴散至中部地區時，另一族群的中華圓翅的祖先就演化出現泥圓翅鍬形蟲，在紅圓翅遷移擴散分布與泥圓翅棲息地部分重疊以前就已經累積了足夠的遺傳變異產生生殖隔離了。而之前分佈在全島低海拔地區的中華圓翅鍬形蟲祖先因為與紅圓翅及泥圓翅相互競爭棲地失敗而殘存分佈在臺灣東北部及東部地區。

而分佈在中部地區的泥圓翅鍬形蟲有部分擴散遷移至新竹縣觀霧地區，但卻因隨後產生地理隔離而阻斷了和原來的大族群接觸機會，造成棲地島嶼化而獨立演化成洞口氏泥圓翅鍬形蟲，至於小圓翅鍬形蟲則可能因為在南部的紅圓翅鍬形蟲祖先因產生地理隔離而阻斷了和原來大族群的接觸機會演化出來的，當累積了足夠的遺傳變異產生生殖隔離後，卻又與原來的紅圓翅族群接觸，而有現在的棲息地重疊的現象。

六、保育臺灣產鍬形蟲遺傳多樣性之策略

近年來，工商業發展迅速，快速的開發使得一些原始森林遭到破壞，導致一些生物的滅絕，而昆蟲當然亦相同。另外，近年來臺灣受到日本飼養甲蟲的風潮影響，現在市面上販賣甲蟲的專賣店也隨處可見，許多人便開始肆無忌憚的採集鍬行蟲等甲蟲進行飼養與販賣，可能會造成臺灣產鍬行蟲個體的銳減，造成物種內基因多樣性降低，而許多商人也趁此風潮大量進口外國品種的甲蟲販賣。若此飼養風潮一過，可能會有許多外國品種的甲蟲遭到棄養、放生，則容易造成外來種入侵問題，造成生物多樣性的降低進而影響到臺灣生態平衡。

綜合上述可知，鍬形蟲遺傳多樣性與人類活動息息相關。因此，政府及民間團體應多宣導喜愛鍬形蟲應該以觀察、拍照攝影、紀錄等方式進行，避免捕捉傷害鍬形蟲。而外來物種的進口也必須做好管控工作，避免外來物種的逸出及不當放生，最後，對於原始山林的開發應做好環境影響評估工作，避免造成甲蟲棲息環境的破壞，造成鍬形蟲生物多樣性的降低。

捌、結論

- 一、大圓翅屬鍬形蟲生活史超過一年，幼蟲攝食與棲息的环境因子不同。
- 二、6種臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄蟲外部形態都有分化現象。
- 三、大圓翅、中華圓翅、紅圓翅及小圓翅鍬形蟲4種臺灣產圓翅屬鍬形蟲雄蟲外生殖器有明顯分化現象，可確信已具生殖隔離，而泥圓翅及洞口泥圓翅鍬形蟲則差異不明顯，無法判斷是否具生殖隔離。
- 四、大圓翅鍬形蟲與其它5種臺灣產圓翅屬鍬形蟲親緣關係最遠，其次是中華圓翅鍬形蟲。泥圓翅與洞口氏泥圓翅鍬形蟲親緣關係接近，有地理分佈的關連性但無重疊性，顯示出二者之間的演化關係，但無法確立種化關係。紅圓翅與小圓翅鍬形蟲親緣關係最接近，且有地理分佈的關連性與重疊性，顯示出二者之間的種化與演化關係。

玖、參考資料

- 王派鋒、呂建興、高瑞卿 2008. 甲蟲飼養與觀察。晨星出版有限公司。
- 吉田賢治 2002. 日本與世界的鍬形蟲及兜蟲。商鼎文化。
- 李惠永 2004. 臺灣鍬形蟲圖版。親親文化事業有限公司。
- 林憲志 2000. 核醣體 DNA 標示在果實蠅及米象類鑑定上之應用。國立臺灣大學昆蟲研究所碩士論文。
- 張永仁 2006. 鍬形蟲 54。臺北市：遠流出版事業股份有限公司。
- 貢毅紳 1991. 昆蟲學。國立中興大學農學院出版委員會。
- 陳瑋芸 2002. 粒線體 DNA 細胞色素氧化酶次單元一(COI)之序列分析於大臺北地區具法醫重要性麗蠅種類鑑定之應用。國立臺灣大學昆蟲學研究所碩士論文。
- 陳俊宏 2006. 臺灣地區伯粉蝨屬及其近緣屬昆蟲類緣關係之重建。國立臺灣大學昆蟲研究所碩士論文。
- 陳梅珍 2004. 臺灣網柱細胞黏菌屬分子類緣關係研究。國立師範大學碩士論文。
- 水沼、永井 1994. 世界鍬形蟲大圖鑑。
- 高中基礎生物 (全) 冊 施河 主編 南一書局出版。
- 高中生物 (下) 冊 施河 主編 南一書局出版。
- 維基百科：<http://zh.wikipedia.org/wiki/>
- Kwon, O. Y. and H. Ishikawa. 1992. Nucleotide sequence and presumed secondary structure of the internal transcribed spacers of rDNA of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. Comp. Biochem. Physio. 103B: 651-655
- NCBI (National Center for Biotechnology Information)：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- MEGA(Molecular Evolutionary Genetics Analysis)：<http://www.megasoftware.net/>

拾、未來展望：

- 一、完成臺灣圓翅屬鍬形蟲生活史以利未來在野外調查需要。
- 二、對於臺灣產圓翅屬鍬形蟲外部形態觀察與測量中，只針對雄成蟲觀察與測量，主要是因為樣本大多為熱心的愛蟲人士提供的，缺少雌成蟲樣本（提供者不採集雌蟲），未來可積極的蒐集雌蟲樣本做更進一步的實驗，已補足這個漏洞。
- 三、增加臺灣產圓翅屬鍬形蟲雌蟲外部形態觀察與測量並完成雌雄蟲完整檢索表。
- 四、使用更精密的解剖顯微鏡觀察更細微的生殖器特徵以更瞭解臺灣產圓翅屬鍬形蟲之間的差異性或是進行人工雜交實驗才可確認是否已經產生生殖隔離。
- 五、此次實驗，並沒有區分臺灣各地的同種圓翅鍬形蟲，未來可以實驗分析不同出產地的同種圓翅屬鍬形蟲在 COI 序列是否有差異，相信能更瞭解圓翅鍬形蟲在臺灣的演化歷程。另外希望下次能用 PAUP4.0 軟體（需付費）來分析的圓翅鍬形蟲屬之親緣關係，可因此知道 CI 值和可信程度。
- 六、希望能增加中國大陸產的圓翅屬樣本粒線體 DNA 之 COI 序列分析，藉此檢驗我們的演化推論是否成立。

拾壹、誌謝

- 一、感謝師大生命科學所徐培峰教授提供萃取 DNA 及 PCR 之藥品和實驗設備。
- 二、感謝王派鋒、黃志堅及吳尚穎先生提供部分鍬形蟲樣本。

拾貳、附錄

一、DNA 萃取與聚合酶連鎖反應實驗步驟

（一）DNA 萃取：

- 1.取 6 個微量離心管並依序編號 1~6 (圖 4.A)，分別置入 6 個不同臺灣產物種的圓翅屬鍬形蟲大腿肌肉組織樣本 (圖 4.B) 於離心管內(少量即可)，每個離心管內以 200 μ l 微量管加入 100 μ l 細胞溶解溶液，再以 100 μ l 微量吸管分別加入 10 μ l 蛋白酵素 K。
- 2.使用研磨器搗碎圓翅屬鍬形蟲大腿肌肉組織 (圖 4.C)，可增加鍬形蟲大腿肌肉組織與酵素作用的表面積。
- 3.蓋上離心管蓋子，並置入 65 $^{\circ}$ C 乾浴槽 1 小時 (圖 4.D)，取出後，分別於每個微量離心管內加入 34 μ l 細胞沉澱溶液，將剛加入的 34 μ l 細胞沉澱溶液的離心管置於 -20 $^{\circ}$ C 的冰箱 30 ~60 分鐘(低溫抑制酵素作用)。
- 4.將從冰箱取出並回溫的離心管置於離心機內進行離心，以 4 $^{\circ}$ C，14000rpm 開始進行第一次離心 15 分鐘。取新的微量離心管，將剛離心完的上清液(內含 DNA 溶液)倒入，再以 4 $^{\circ}$ C、轉速 14000rpm 進行第二次離心 15 分鐘 (圖 4.F)。
- 5.取新的微量離心管將第二次離心試管的上清液分別吸收於離心管內，每個試管分別加入 50 μ l 異丙醇(輕輕混搖均勻，為了使 DNA 沉澱)，接著以 4 $^{\circ}$ C、轉速 14000rpm 進行第三次離心 10 分鐘。

- 6.第三次離心後，每個離心管內加入 500 μ l 的 70%酒精於第三次離心完的溶液內(爲了將 DNA 與鹽類分開)。接著在以 4 $^{\circ}$ C、轉速 14000rpm 進行第四次離心 5 分鐘。從冰箱取出並回溫的離心管 (圖 4.E)。
- 7.將第四次離心完的上清液倒除，DNA 已沉澱在管底 (圖 4.G)，將倒除上清液的微量離心管放置在無菌室靜置一小時(陰乾)。最後，加入 50 μ l 無菌水均勻混搖。完成 DNA 萃取，放置在無菌室靜置一小時陰乾。
- 8.進行聚合酵素鏈鎖反應 (圖 4.H)。

(二) 聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR) :

- 1.取一新微量離心管依序加入下表溶液(單位 μ l)。
- 2.各取 45 μ l 加入每個抽好 DNA 的微量離心管(不能有氣泡)。
- 3.置於聚合酶反應機器 94 $^{\circ}$ C 5min、(94 $^{\circ}$ C 30s，55 $^{\circ}$ C 30s，72 $^{\circ}$ C 90s) 進行 30 循環(cycle)、72 $^{\circ}$ C 6 min。

※附錄表：PCR所需之藥品表

溶 液	備 註	1x	4x	6x	8x	12x
ddH ₂ O	經過二次滅菌的純水	38	152	228	304	456
10x PCR buffer	緩衝劑	5	20	30	40	60
dNTPs	鹼基(DNA 的材料)	0.5	2	3	4	6
COI-F	引子，待複製之 DNA 的頭尾部分	0.5	2	3	4	6
COI-R	同上	0.5	2	3	4	6
Taq DNA polymerase	一種溫泉菌的特殊酵素可在高溫下正常反應 (保存需冷凍。)	0.5	2	3	4	6

二、引子：

COI-F : CGA ATA AAY AAY ATR AGA TTY TGA CT
 COI-R : AAT CAR AAC AAR TGY TGG TAT ARR AT

三、粒線體 DNA 之 COI 序列片段序列排序的結果 (Sequence alignment) :

	10	20	30	40	50
HSHS01	TAGTAGAAAA	TGGGGCTGGA	ACAGGATGAA	CAGTTTACCC	TCCACTATCT
HSHS02	TGTTTGAAAAG	AGGCGCTGGA	ACAGGATGAA	CTGTTTACCC	CCCCTGTCC
HSHS03	TGATTGAAAAG	AGGCGCAGGA	ACGGGGTGAA	CCGTTTACCC	ACCCTTATCC
HSHS04	TGATTGAAAAG	AGGAGCAGGA	ACAGGATGAA	CAGTTTATCC	ACCATTATCC
HSHS05	TGATTGAAAAG	AGGCGCAGGA	ACGGGGTGAA	CCGTTTACCC	ACCCTTATCC
HSHS06	TGATTGAAAAG	AGGCGCAGGA	ACGGGGTGAA	CCGTTTACCC	ACCCTTATCC
HSHS07	TGATTGAAAAG	AGGCGCAGGA	ACGGGGTGAA	CCGTTTACCC	ACCCTTATCC
HSHS08	TGATTGAAAAG	AGGCGCAGGA	ACGGGGTGAA	CCGTTTACCC	ACCCTTATCC
HSHS09	TAATTGAAAAG	AGGAGCGGAA	ACAGGATGAA	CACTCTACCC	ACCCTATCC
	60	70	80	90	100
HSHS01	GCTAATATTG	CTCATAGTGG	GGCATCTGTT	GATTTAGCTA	TTTTTAGTCT
HSHS02	TCTAATATTG	CCCATAGAGG	AGCTTCAGTC	GATCTTGCTA	TTTTTAGACT
HSHS03	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTAGCAA	TTTTTAGCCT
HSHS04	TCCAATGTAG	CCCATAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTTGCAA	TTTTTAGTCT
HSHS05	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTAGCAA	TTTTTAGCCT
HSHS06	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTAGCAA	TTTTTAGCCT

HSHS07	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTAGCAA	TTTTTAGCCT
HSHS08	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCTGTA	GATCTAGCAA	TTTTTAGCCT
HSHS09	TCCAATGTAG	CCCACAGAGG	AGCCTCAGTA	GACCTGGCAA	TTTTTCAGCCT

	110	120	130	140	150
HSHS01	TCATCTAGCA	GGAATTTTCAT	CTATTTTTAGG	GGC--TGTA	ATTTTATTAC
HSHS02	TCACCTAGCT	GGGATCTCCT	CCATTTTTAGG	AGC--AGTTA	ATTTTATCAC
HSHS03	CCACCTAGCA	GGAATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTAA	ATTTTATTAC
HSHS04	CCACCTAGCA	GGAATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTTA	ATTTTATTAC
HSHS05	TCACCTAGCA	GGAATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTAA	ACTTTATTAC
HSHS06	TCACCTAGCA	GGAATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTAA	ACTTTATTAC
HSHS07	TCACCTAGCA	GGTATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTAA	ATTTTATTAC
HSHS08	TCACCTAGCA	GGAATCTCAT	CAATTCTTGG	AGC--AGTAA	ATTTTATTAC
HSHS09	TCACCTAGCC	GGAATCTCAT	CCATTCTTGG	AGC--CGTAA	ATTTTATTAC

	160	170	180	190	200
HSHS01	AACAGTAATT	AATATACGAT	CAACAGGCAT	AACTTTTGAC	CGAATACCTC
HSHS02	AACTGTTATT	AATATACGAG	CTACAGGTAT	TACGTTTGAT	CGAATACCCC
HSHS03	AACCGTAATT	AATATACGAA	CTTCAGGAAT	TACATTTGAT	CGAATACCAT
HSHS04	AACAGTAATT	AACATACGAA	CTTCGGAAT	CACATTTGAT	CGAATACCTT
HSHS05	AACAGTAATT	AATATACGAA	CTTCAGGAAT	TACATTTGAT	CGAATACCAT
HSHS06	AACAGTAATT	AATATACGAA	CTTCAGGAAT	TACATTTGAT	CGAATACCAT
HSHS07	AACCGTAATT	AATATACGAA	CTTCAGGAAT	TACATTTGAT	CGAATACCAT
HSHS08	AACAGTAATT	AATATACGAA	CTTCAGGAAT	TACATTTGAT	CGAATACCAT
HSHS09	TACAGTAATT	AACATACGAA	ACTCTGGAGT	CACATTTGAC	CGAATACCTC

	210	220	230	240	250
HSHS01	TATTTGTATG	ATCAGTTATA	CTAACAG--C	CATCTTACTC	CTTCTTTCAT
HSHS02	TATTTGTATG	AGCCGTAGCT	TTAACCG--C	TCTTCTACTC	CTTCTCTCCC
HSHS03	TATTTGTATG	AGCTGTTGTA	TTAACTG--C	CCTTCTCCTT	CTCCTATCCC
HSHS04	TATTTGTATG	AGCTGTTATA	TTAACAG--C	CGTTCTTCTC	CTTCTATCCC
HSHS05	TATTTGTATG	AGCTGTTGTA	TTAACCG--C	CCTTCTCCTT	CTCCTATCCC
HSHS06	TATTTGTATG	AGCTGTTGTA	TTAACCG--C	CCTTCTCCTT	CTCCTATCCC
HSHS07	TATTTGTATG	AGCTGTTGTA	TTAACTG--C	CCTTCTCCTT	CTCCTATCCC
HSHS08	TATTTGTATG	AGCTGTTGTA	TTAACCG--C	CCTTCTCCTT	CTCCTATCCC
HSHS09	TATTTGTGTG	AGCAGTTGTA	TTAACAG--C	CCTTCTACTC	CTGCTATCCC

	260	270	280	290	300
HSHS01	TGCCAGTATT	AGCAGGGGCT	ATTACTATAC	TTCTTACTGA	CCGAAATATT
HSHS02	TACCGGTTCT	AGCAGGGGCC	ATCACCATAC	TTCTCACAGA	TCGAAATATC
HSHS03	TTCCAGTGTT	AGCAGGAGCC	ATTACAATAT	TATTAAGTGA	CCGAAATCTA
HSHS04	TTCCAGTACT	AGCAGGAGCA	ATTACAATAC	TATTAACAGA	CCGAAACCTA
HSHS05	TTCCAGTGTT	AGCAGGAGCC	ATTACAATAT	TATTAAGTGA	CCGAAATCTA
HSHS06	TTCCAGTGTT	AGCAGGAGCC	ATTACAATAT	TATTAAGTGA	CCGAAATCTA
HSHS07	TTCCAGTGTT	AGCAGGAGCC	ATTACAATAT	TATTAAGTGA	CCGAAATCTA
HSHS08	TTCCAGTGTT	AGCAGGAGCC	ATTACAATAT	TATTAAGTGA	CCGAAATCTA
HSHS09	TACCAGTCCT	GGCAGGAGCA	ATCACAATAC	TGCTAACCGA	CCGAAATCTA
	
	310	320	330		
HSHS01	AATACTTCAT	TTTTTGACCC	TGCAGGTGGA	GGAGA	
HSHS02	AATACAACCT	TTTTTGATCC	AGCAGGAGGA	GGTGA	
HSHS03	AACACTACCT	TCTTCGACCC	TGCGGGAGGA	GGGGA	
HSHS04	AACACCACCT	TCTTTGACCC	TGCAGGAGGA	GGTGA	
HSHS05	AACACTACCT	TCTTCGACCC	TGCGGGAGGA	GGGGA	
HSHS06	AACACTACCT	TCTTCGACCC	TGCGGGAGGA	GGGGA	
HSHS07	AACACTACCT	TCTTCGACCC	TGCGGGAGGA	GGGGA	
HSHS08	AACACTACCT	TCTTCGACCC	TGGGGGAGGA	GGGGA	
HSHS09	AATACCACCT	TCTTCGACCC	AGCAGGAGGA	GGCGA	

【評語】 040702

1. 能結合校園內外的資源取得稀有之本土實驗材料，設計實驗流程，觀察入微並提出創新的研究成果。
2. 能仔細分析實驗數據，整理出檢索表，並輔基因定序檢驗結果，數據完整。
3. 團隊精神及科學研究熱誠極高，值得鼓勵！