



台灣缺蠓 (*Forcipomyia taiwana*) 誘引物質之實驗室篩選研究

羅怡珮*、簡良芬

嘉南藥理大學生物科技系 71710 台南市仁德區二仁路一段 60 號

* 通訊作者 email: insecta@mail.cnu.edu.tw

收件日期：2020 年 6 月 18 日 接受日期：2021 年 1 月 18 日 線上刊登日期：2021 年 2 月 19 日

摘 要

本研究開發台灣缺蠓 (*Forcipomyia taiwana*) 嗅覺誘引測試平台，設計雙向嗅覺誘引裝置進行定量檢測化學物質對台灣缺蠓的誘引效果。以 9~12 日齡、已交尾的雌成蟲進行測試，試驗結果顯示以碳酸氫銨 (ammonium bicarbonate; 1.0×10^{-1} g/mL)、芥酸 (erucic acid; 1.0×10^{-8} g/mL) 及乳酸鈉 (sodium DL-lactate solution; 1.3×10^{-1} g/mL) 和碳酸氫銨 (5×10^{-2} g/mL) 混合物，誘引指數可以達到以人體手掌誘引效果的 61~68%。本研究開發的台灣缺蠓雙向嗅覺誘引裝置，可簡便進行新化學誘引物質的篩選，並希望能應用於開發大量誘殺台灣缺蠓雌成蟲的技術，做為另一種防治台灣缺蠓的策略，減少雌蟲吸血擾人的困擾。

關鍵詞：台灣缺蠓、雙向嗅覺誘引裝置、嗅覺刺激物、誘引率、誘引指數。

前 言

台灣缺蠓 (*Forcipomyia taiwana*; 小黑蚊) 是嚴重的騷擾性害蟲，於 1913 年在台灣首次被發現及紀錄 (Shiraki, 1913)，為害迄今已超過一百年。自 1960 年起的調查結果，於台中、屏東 (Sun, 1961)、金門 (Sun, 1968)、花蓮 (Chen *et al.*, 1982)、台南 (Lee and Hou, 1997) 及高雄縣 (Wang, 1997) 均有台灣缺蠓的分布。Hsieh (2007) 進行全台分布調查時，除了在基隆市、屏東縣及台東沒有紀錄，台灣缺蠓已為害 16 縣市 125 鄉鎮。2012 年起幾乎每個縣市都可發現台灣缺蠓的蹤跡 (Shih and Tu, 2019)，且漸漸有入侵都市的趨勢，造成民眾被叮咬的困擾。

防治台灣缺蠓可採行環境整頓、個人防護、物理防治、藥劑防治並進行教育宣導等方法。化學防治對

台灣缺蠓具迅速有效性，藥劑試驗區經前期、中期及後期三階段的藥劑防治，防治率介於 87~97% (Lee and Tseng, 2006)。測試在環保署完成登記的環境衛生用藥，對台灣缺蠓的成蟲及幼蟲都具有良好的防治效果 (Lee, 1996; Lee and Hou, 1997; Yeh and Wang, 2000; Lee *et al.*, 2008)。利用昆蟲生長調節劑 (百利普芬, Pyriproxyfen)、賜諾殺 (Spinosad)、硼砂 (Borax) 及蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*)，在不同組合及濃度處理，對台灣缺蠓的成蟲及幼蟲均可有效防治 (Hsieh, 2007; Tu *et al.*, 2009)。以迪森除臭殺菌劑 (氯化正烷二甲苯甲基銨粒劑, Timsen) 處理台灣缺蠓幼蟲棲地，藉由抑制小球藻及藍綠藻生長，可減少幼蟲食物以降底台灣缺蠓的數量 (Hsieh *et al.*, 2011)。

此外化學傳訊物質 (semiochemicals) 也被採用做為吸血昆蟲的防治策略，例如萃取人體皮膚的

殘留物可誘集埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) (Geier and Boeckh, 1999), 將氨氣、乳酸及脂肪酸混合對甘比亞瘧蚊 (*Anopheles gambiae sensu stricto*) 呈現協力誘引效果 (Smallegange *et al.*, 2005)。從人體皮膚表面不同菌相產生各種具揮發性的有機化合物, 對吸血昆蟲有不同程度的誘引效果 (Verhulst *et al.*, 2010)。混合丙酮 (acetone)、八烯醇 (1-octen-3-ol) 及 1-hexen-3-ol 可誘引埃及斑蚊 (Kline *et al.*, 2012), 以捕蚊器 (BG-Sentinel traps) 配合釋放二氧化碳和誘引劑可進行監測及防治埃及斑蚊和熱帶家蚊 (*Culex quinquefasciatus*) (Wilke *et al.*, 2019)。這些化學傳訊物質成功應用在蚊子誘集防治方法, 應可據以開發大量誘殺台灣鈹蠓雌成蟲的技術, 減少雌蟲吸血的擾人問題, 降低施用殺蟲劑造成的環境壓力。

吸血性的雙翅目昆蟲多以特化的嗅覺系統, 接收並對環境中的化學傳訊物質產生行為反應, 包括被誘引吸血、誘引產卵或被驅避 (Longan and Birkett, 2007)。吸血昆蟲的生理發育也會影響對化學傳遞物質的反應, 本研究團隊進行埃及斑蚊及熱帶家蚊的忌避劑試驗時發現, 剛羽化的雌蟲吸血率不高。但以 10~15 日齡的埃及斑蚊雌成蟲 (Wu, 2019) 或前一晚先將熱帶家蚊雌成蟲進行斷水飢餓處理, 未處理對照組雌蚊的吸血率可以達 80~100%, 偏低的對照組吸血率無法正確評估處理忌避劑後的防蚊叮咬效果。實驗室觀察到台灣鈹蠓的高交尾率會提高吸血率, 本研究擬測試寄主呼吸時排放的二氧化碳及體表所散發的特殊氣味對台灣鈹蠓的誘引效果以開發大量誘殺台灣鈹蠓雌成蟲的技術, 因此以成功交尾台灣鈹蠓的雌蟲進行誘引劑偏好試驗時, 能確認應用化學傳訊物質誘引的最佳條件。台灣鈹蠓是吸血性的雙翅目昆蟲, 生理條件與對化學傳訊物質產生的行為反應有關 (Longan and Birkett, 2007)。進行台灣鈹蠓誘引物質的篩選試驗, 需取得大量蟲源並固定其生理條件, 以獲得再現性的結果並可應用於田間防治。本研究團隊已建立台灣鈹蠓成蟲交尾及人工餵血等飼養技術, 於實驗室成功累代大量飼育, 可取得穩定蟲源進行試驗 (Luo, 2018)。因此, 本研究即在建立測試平台篩選化學物質對台灣鈹蠓的誘引效果, 以應用在大量誘殺的防治技術, 降低台灣鈹蠓的危害。

材料與方法

一、台灣鈹蠓的累代大量飼育及供試雌成蟲

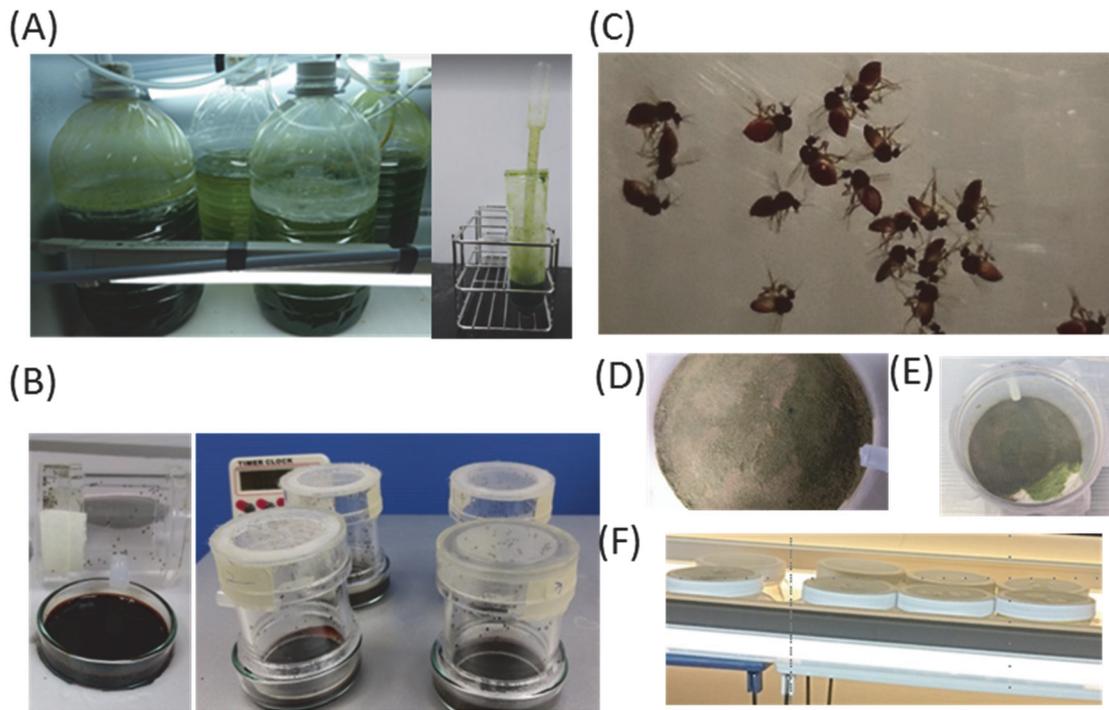
依據 Luo (2018) 已建立實驗室累代飼育台灣鈹蠓的技術, 以 BG-11 培養液培養小球藻 (*Chlorella vulgaris*, CHL) (Young, 2007), 再以濃縮藻液的沉澱物做為幼蟲的飼料並誘引台灣鈹蠓產卵 (圖一 A)。台灣鈹蠓雌成蟲的餵血採用人工餵血裝置進行, 將新鮮豬血以冷凍乾燥機製備成全血粉, 再加水還原後使用; 另外, 也可將新鮮豬血直接置於 -20°C 冰箱冷凍保存, 再取出解凍後使用。熱板的溫度設定 37°C, 將完成交尾的台灣鈹蠓雌成蟲接入直徑 4.5 cm × 高 6 cm 的壓克力管, 再置於熱板加熱血餐的培養皿上進行人工餵血 (圖一 B、C)。取直徑 8.2 cm × 高 6.3 cm 透明塑膠飼養盒, 將滅菌乾燥處理的土壤置入飼養盒內, 加入適量水將土壤夯實, 滴加 2 mL 濃縮綠藻液備用 (圖一 D)。將 10~12 隻飽食血餐的台灣鈹蠓雌成蟲置入飼養盒內, 雌成蟲會於三天後產卵 (圖一 E)。將飼養盒兩側併排放置, 在兩側各使用一組燈光均勻照射 (照度平均值為 4900 lux), 台灣鈹蠓會產卵於受光面 (圖一 F)。

台灣鈹蠓的卵期 (圖二 A) 約 3 天, 保持濕度有利幼蟲孵化 (圖二 B), 孵化幼蟲以綠藻液餵食至化蛹。幼蟲期在 28°C 時約需 7 天, 冬季溫度降低至 25°C 時約需 9~10 天。蛹期約 3 天 (圖二 C)。將化蛹的飼養盒放入飼養籠待台灣鈹蠓成蟲羽化後進行誘引試驗。

羽化成蟲 (圖三 A) 得以順利進行群舞及交尾的行為與飼養籠的設計有關 (Luo, 2018)。為使供試台灣鈹蠓雌成蟲順利交尾以進行誘引試驗, 在邊長 30 cm 的壓克力養蟲籠底部鋪一薄層石膏, 養蟲籠內壁以壓克力原料均勻塗刷, 可避免飼養的台灣鈹蠓成蟲持續不斷衝撞透明材質的養蟲籠, 保留上方開口以維持良好的通風, 可以擾動刺激台灣鈹蠓飛翔進行交尾行為 (圖三 B), 養蟲籠以條狀塑膠瓦楞紙板覆蓋並於上方架設燈光, 籠內的照度為 50~100 lux (圖三 C), 觀察台灣鈹蠓的交尾情形, 高交尾率會提高吸血率, 有利進行誘引劑偏好試驗 (圖三 D、E), 以羽化後 9 至 12 日齡雌成蟲進行試驗。

二、台灣鈹蠓嗅覺誘引測試平台及誘引試驗

供試篩選化學物質皆為分析級及試藥級, 分別是丙酮 (acetone, 99%, Honeywell Burdic & Jackson)、氨水 (ammonium hydroxide, 28-30%, J.T. Baker)、乳酸 (lactic acid, 85-92%, Kanto Chemical)、左旋乳酸 (L(+)-lactic acid, 98%, Sigma-Aldrich)、碳酸氫銨 (ammonium



圖一 台灣缺蚊累代飼育。(A) 培養小球藻及離心濃縮藻液，(B) 以玻璃皿裝盛血餐，將裝盛雌成蟲的壓克力管插入玻璃皿內進行台灣缺蚊人工餵血，(C) 吸飽血的台灣缺蚊，(D) 飼養盒裝盛夯實的土壤，(E) 雌成蟲產卵飼養盒，(F) 以燈光均勻照射產卵飼養盒。

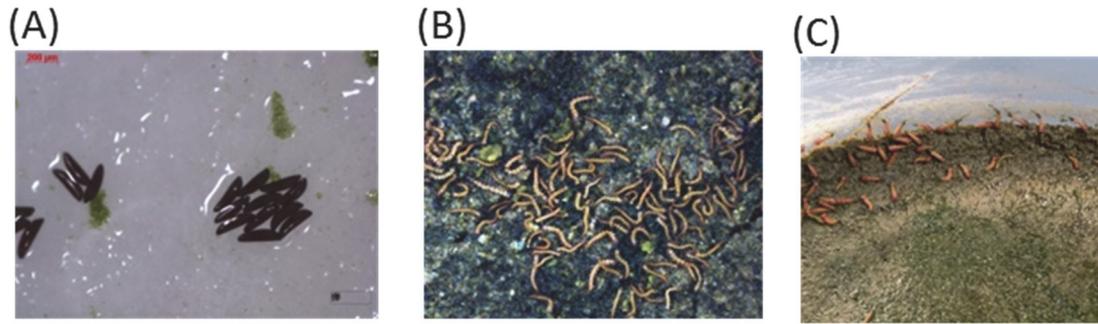
Fig 1. Methods for establishing and maintaining colonies of *F. taiwana*. (A) *Chlorella* cultivation and concentrated algae liquid. (B) The blood-feeding device was constructed using a glass dish with an inlet feeding unit. (C) Biting midges fed blood meals. (D) The soil layer of rearing pots was tamped down. (E) Oviposition pots. (F) Oviposition pots were stored under balanced illumination.

bicarbonate, 99%, Sigma-Aldrich)、油酸 (oleic acid, 72%, Katayama Chemical)、丁酸 (butyric acid, 99%, Katayama Chemical)、戊酸 (valeric acid, 99%, Alfa Aesar)、己酸 (hexanoic acid, 99%, Sigma-Aldrich)、壬酸 (nonanoic acid, 97%, Alfa Aesar)、八烯醇 (1-octen-3-ol, 98%, Acros Organics)、棕櫚油酸 (palmitoleic acid, 99%, Acros Organics)、異戊酸 (isovaleric acid, 99%, Sigma-Aldrich)、棕櫚酸 (palmitic acid, 98%, Acros Organics)、硬脂酸 (stearic acid, 95%, Sigma-Aldrich)、亞油酸 (linoleic acid, 99%, Sigma-Aldrich)、花生酸 (arachidic acid, 99%, Sigma-Aldrich)、二十二酸 (behenic acid, 99%, Sigma-Aldrich)、芥酸 (erucic acid, 90%, Alfa Aesar) 及乳酸鈉 (sodium DL-lactate solution, 60%, Sigma-Aldrich)。

試驗於嘉南藥理大學資訊暨教學大樓進行，實驗室空調的溫度為 25~28°C，相對濕度為 75~85%，於抽氣櫃內建置嗅覺誘引測試平台(圖四)。第一階段使用壓克力製作嗅覺誘引測試平台；為減少壓克力吸附化學物質影響誘引試驗，第二階段使用玻璃

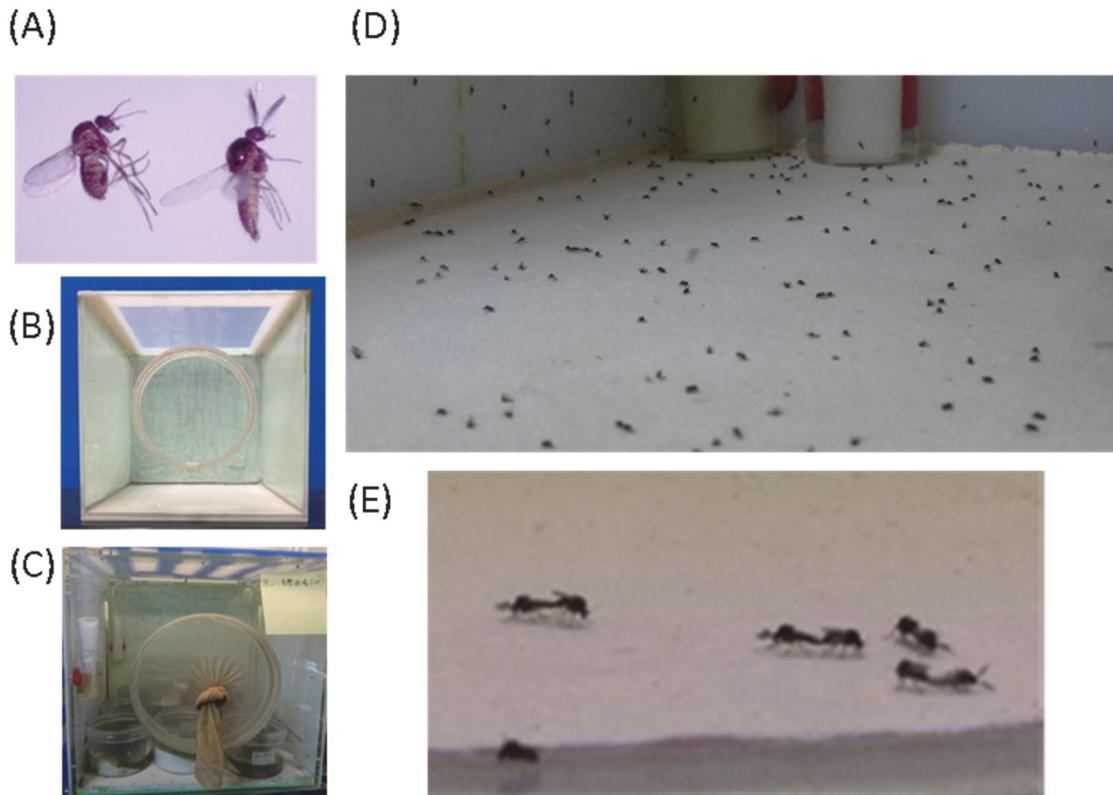
製作嗅覺誘引測試平台。台灣缺蚊雌成蟲的飛翔行為會受到光線及周圍環境的刺激 (Luo, 2018)，若欠缺刺激因子，台灣缺蚊雌成蟲會停在飼養籠的內壁。因此嗅覺誘引測定平台的釋放箱 (30 × 30 × 30 cm) 捨棄透明材質，以白色珍珠板遮蔽四面，在釋放箱上方以條狀藍色瓦楞紙板覆蓋，製造光影效果和適量的光線刺激供試雌蟲飛翔，釋放箱上方的通道架設電風扇 (lileng 830 USB 超強迷你風扇) 抽氣。以 LUTRON LM-8000 風速計測量的風速為 3.0 m/s，左右兩側通道的風速均等約為 0.2 m/s。通道設有閘門，閘門套接黏附紗網的圓形管做為觀察區，再套接另一個圓形管做為試驗區，兩側試驗區分別為處理區及對照區。

第一階段篩選 19 種化學物質的不同濃度及試驗二氧化碳的不同流速 (流速 0.5~4 L/min) 對台灣缺蚊的誘引效果。19 種化學物質依照溶解度差異，分別用不同溶劑稀釋後進行試驗。以 RO 水稀釋的化學物質及濃度分別是丙酮 (10⁻²⁰~10⁻² g/mL)、氨水 (10⁻²²~10⁻¹⁴ g/mL)、乳酸 (10⁻¹⁵~10⁻⁸ g/mL)、左旋乳酸 (10⁻⁸~10⁻² g/mL) 及碳酸氫銨 (10⁻¹⁶~10⁻¹ g/mL)。以 75%乙醇稀釋的化學物質及濃度分別是



圖二 台灣鈹蠓之 (A) 卵期, (B) 幼蟲期及 (C) 蛹期。

Fig 2. Development stages of *F. taiwana*. (A) Egg stage. (B) Larval stage. (C) Pupal stage.



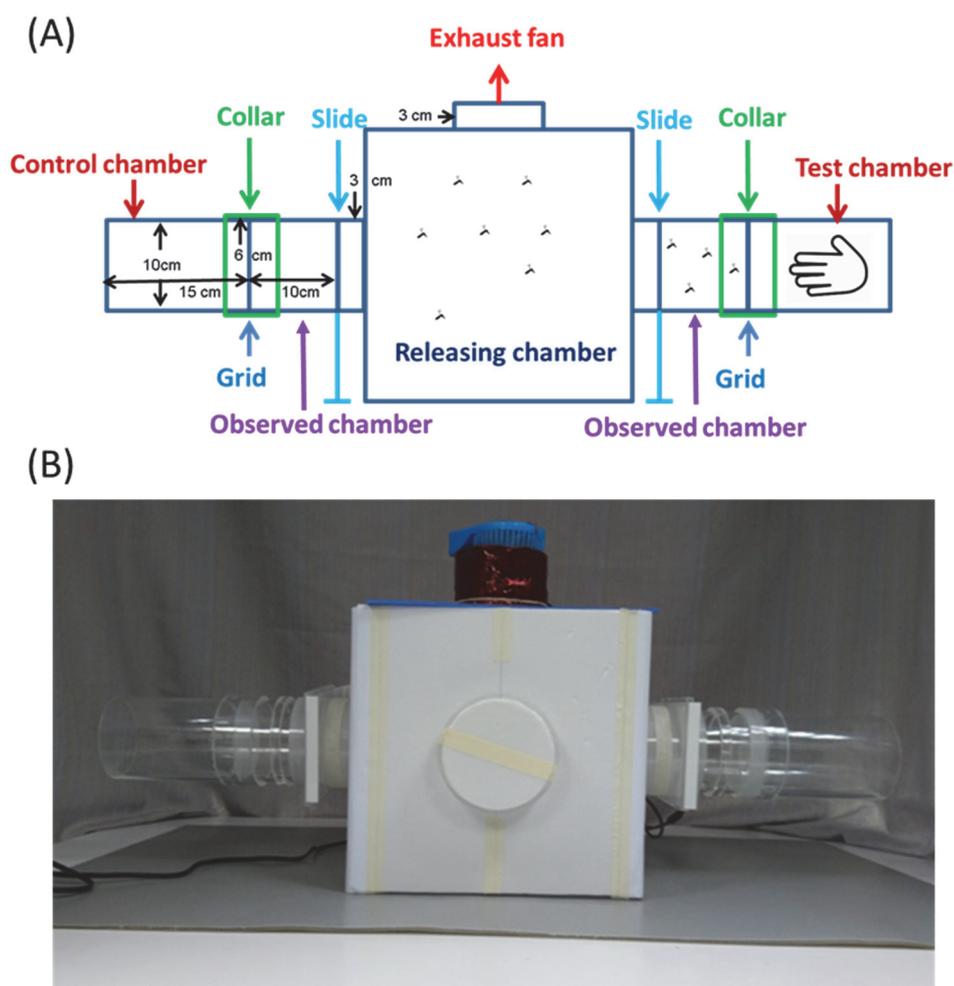
圖三 台灣鈹蠓的群舞及交尾。(A) 雌成蟲及雄成蟲, (B) 客製化壓克力箱, 上方的開口覆蓋細網保持良好通風, (C) 養蟲籠壁的透光度、照明及陰影影響交尾率, (D) 壓克力箱內交尾的台灣鈹蠓, (E) 交尾的台灣鈹蠓成蟲。

Fig 3. Swarming and copulation. (A) Female and male adults. (B) Custom-made acrylic cage. The screen on the top of the cage ensured adequate ventilation. (C) The cage wall transmittance, light illumination, and shadows affected the mating rate. (D) Copulation occurred in the custom-made acrylic cage. (E) Copulating midges.

油酸 (10^{-16} ~ 7.2×10^{-1} (原液) g/mL)、丁酸 (10^{-16} ~ 9.9×10^{-1} (原液) g/mL)、戊酸 (10^{-18} ~ 10^{-8} g/mL)、己酸 (10^{-13} ~ 10^{-8} g/mL)、壬酸 (10^{-16} ~ 5×10^{-3} g/mL)、八烯醇 (10^{-20} ~ 9.8×10^{-1} (原液) g/mL)、棕櫚油酸 (10^{-10} ~ 5×10^{-1} g/mL)、異戊酸 (10^{-20} ~ 2.4×10^{-2} g/mL)。以 99%乙醇稀釋的化學物質及濃度分別是棕櫚酸 (10^{-8} ~ 10^{-1} g/mL)、硬脂酸 (5×10^{-3} ~ 5×10^{-2} g/mL)、亞油酸 (10^{-8} ~ 9.9×10^{-1} (原液) g/mL)、

花生酸 (10^{-8} ~ 3.3×10^{-2} g/mL)、二十二酸 (10^{-3} ~ 10^{-2} g/mL) 及芥酸 (10^{-8} ~ 9×10^{-1} (原液) g/mL)。

試驗開始前先關閉閘門, 將 30 隻羽化後 9~12 日齡雌成蟲移入釋放箱內, 志願者 (全部試驗都由同一志願者進行) 將手掌置於處理區, 固定間歇的握拳後鬆開進行誘集試驗, 每分鐘觀察一次, 均持續觀察 10 min 以計算手掌的誘引率。誘引率 (%) = (觀察期間內最大被誘引數量/進行試驗雌蟲總數) ×



圖四 台灣鈹蠅的嗅覺誘引測試平台，(A) 示意圖及 (B) 實物相片。

Fig 4. Dual-port olfactometer used to quantitatively investigate the response of biting midges to host-derived volatiles. (A) Schematic and (B) device photographs.

100%。由此試驗確認進行誘引試驗宜選用 9~12 日齡的台灣鈹蠅雌成蟲進行化學物質誘引測試，可測得較高的誘引率。

進行二氧化碳的不同流速的誘引試驗時，將鋼瓶的二氧化碳以 Dwyer® RMA 系列浮子式流量調控流速，使用導管將二氧化碳導入處理區，分別測試二氧化碳流速於 0.5、1、1.5、2 及 4 L/min 對台灣鈹蠅的誘引效果；對照區為空白未處理。觀察記錄和誘引率的計算與前述相同。化學物質誘引測試時，滴加 200 μ L 待測物稀釋液於玻璃培養皿內直徑 5.5 cm 的濾紙 (Whatman 定性濾紙 Grade No.1)，再放於處理區；對照區濾紙則滴加等體積的稀釋溶劑。測試時，同時開啟兩側閘門，計算記錄台灣鈹蠅通過閘門飛到觀察區的數量；每分鐘觀察一次，持續觀察 10 min 以計算誘引率。第一階段的試驗可視為初步試驗，待測物質經多次 10 倍連續序列稀釋及測試誘引效果，各濃度進行 1 次或 2~3 次重複試驗，並由

誘引效果調整待測物質的測試濃度。各單一試驗結束移去供試台灣鈹蠅，以 75%乙醇擦拭釋放箱，並以電風扇抽氣 10 min，再接入新的一批蟲進行測試。於重複試驗時輪替交換處理區與對照區位置以去除方位影響效應，由第一階段測試結果，採用誘引率大於 10%的化學物質及濃度進行第二階段試驗。

第二階段試驗針對具誘引劑開發潛力的化學物質再進行重複試驗。採用玻璃製的釋放箱及雙向嗅覺誘引裝置，玻璃製嗅覺誘引測試平台與壓克力製的規格及裝置相同，測試方法亦同。每次試驗仍由同一志願者將手掌置於處理區，固定間歇的握拳後鬆開做為對照試驗。取第一階段各測試物質濃度組別中對台灣鈹蠅誘引率最高的結果，進一步比較各化學物質誘引效果。各測試物質及濃度分別為花生酸 (10^6 , 10^4 g/mL)、八烯醇 (10^{-14} , 10^{-12} , 10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-4} g/mL)、棕櫚油酸 (10^2 , 10^1 g/mL)、棕櫚酸 (10^6 , 10^4 , 10^2 g/mL)、二十二酸 (3×10^{-3} , 10^{-2}

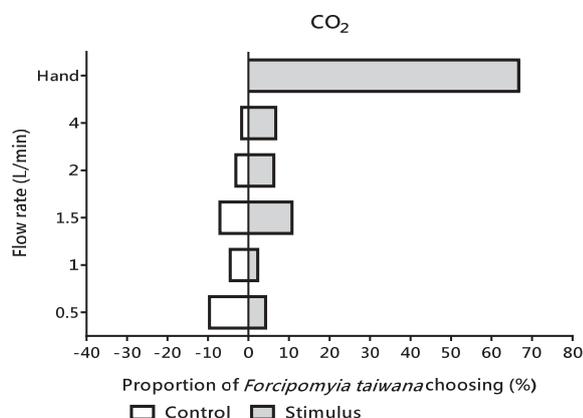
g/mL)、硬脂酸 (10^{-3} , 10^{-2} , 5×10^{-2} g/mL)、異戊酸 (10^{-14} , 10^{-12} , 10^{-6} g/mL)、亞油酸 (10^{-6} , 10^{-2} , 10^{-1} g/mL)、芥酸 (10^{-8} , 10^{-4} , 10^{-2} g/mL) 及碳酸氫銨 (10^{-4} , 10^{-2} , 10^{-1} g/mL)。在蚊子誘引試驗中會採用複方誘引劑, 因此本試驗也進行乳酸和碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} , 5×10^{-2} g/mL) 及乳酸鈉和碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} , 5×10^{-2} g/mL) 的複方誘引試驗, 這兩種混合物會產生二氧化碳及氨氣, 試驗進行 4 次重複。由於碳酸氫銨 (10^{-1} g/mL) 及乳酸鈉和碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} , 5×10^{-2} g/mL) 的誘引率較其他供試化學物質高, 分別增加為 8 次及 12 次重複。為標準化於不同時間進行供試化學物質的誘引率, 將誘引率轉化為誘引指數進行誘引效果比較。誘引指數 = (供試化學物質誘引率/手掌誘引率)。

三、統計分析

測試結果所得數據分別以 SPSS 統計軟體進行變方分析 (Analysis of variance, ANOVA), 並以 LSD 進行事後檢定, 比較各誘引物質對台灣鈹蠓雌成蟲誘引率及誘引指數的差異性。

結 果

關於吸血昆蟲的誘引因子多界定於被叮咬寄主的體溫、呼氣排放的二氧化碳及體表所散發的特殊氣味等; 這些體表氣味的形成與汗液、皮脂腺分泌物及皮膚表面的微生物分解後產生的脂肪酸及醇類等化合物有關。在第一個階段即針對文獻記載吸血昆蟲誘引因子中的二氧化碳及 19 種化學物質進行對台灣鈹蠓雌成蟲誘引試驗, 各測試物質高劑量處理均未能有較高的誘引率 (圖五—七)。



圖五 以嗅覺測試平台測試台灣鈹蠓雌成蟲對不同流速二氧化碳的選擇偏好。

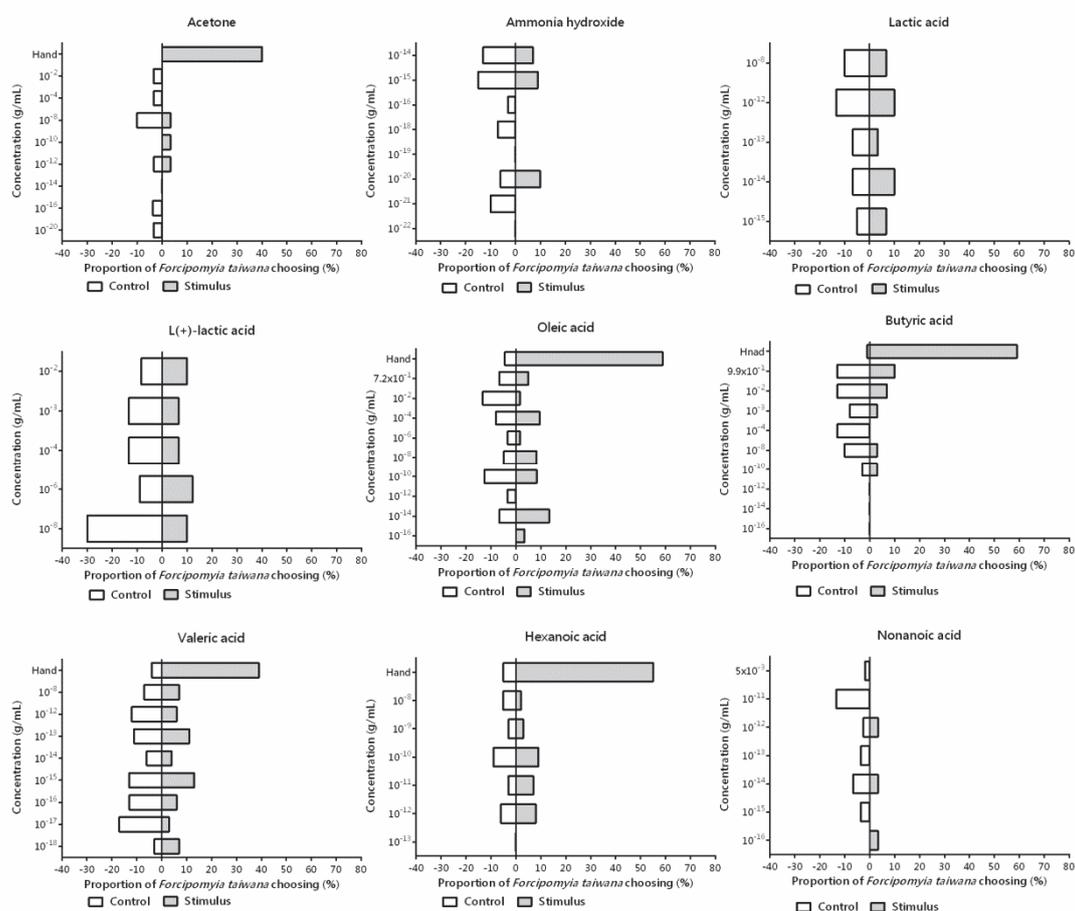
Fig 5. Choice response of female *F. taiwana* in a dual-port olfactometer to CO₂ at various flow rates.

最起始進行試驗時, 氨水、乳酸、左旋乳酸及王酸組別並未同時進行手掌的對照試驗。為確認建立的嗅覺誘引測試平台具有誘引效果, 修正試驗設計, 將手掌置於處理區進行對照試驗, 手掌的誘引率介於 39.4~71.4%之間。在第一階段的試驗結果, 二氧化碳測試的流速介於 0.5~4 L/min, 在 10 min 內的誘引率皆低於 10% (圖五)。丙酮、氨水、乳酸、左旋乳酸、油酸、丁酸、戊酸、己酸及王酸等在各測試濃度對台灣鈹蠓的誘引率多低於 10%, 其中丙酮濃度為 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-16} 、 10^{-20} g/mL、氨水濃度為 10^{-16} 、 10^{-18} 、 10^{-21} g/mL 及王酸濃度為 10^{-11} 、 10^{-13} 、 10^{-15} g/mL 的各試驗組, 被誘引的台灣鈹蠓雌成蟲在試驗進行時全部飛到對照區, 呈現明顯忌避驅離的結果 (圖六)。

碳酸氫銨、八烯醇和較長鏈的脂肪酸包括異戊酸、棕櫚油酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞油酸、花生酸、二十二酸及芥酸等, 各物質在測試濃度處理範圍內均有高於 10% 的誘引率。其中芥酸及亞油酸測試濃度在 10^{-2} g/mL 的誘引率皆為 26.67%, 碳酸氫銨測試濃度在 10^{-4} g/mL 的誘引率也是 26.67%, 硬脂酸測試濃度在 5×10^{-3} g/mL 的誘引率為 33.33% (圖七)。本試驗證實這些脂肪酸包括異戊酸、棕櫚油酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞油酸、花生酸、二十二酸及芥酸對台灣鈹蠓的誘引效果較丙酮、氨水及油酸、丁酸、戊酸、己酸等短鏈有機酸佳。

針對具誘引潛力的化學物質進行重複試驗, 採用玻璃製的嗅覺誘引測定平台, 每次試驗都以手掌對照試驗的誘引率計算各測試物質的誘引指數, 評估最佳誘引效果的測試物及組合分別是碳酸氫銨 (10^{-1} g/mL)、乳酸鈉及碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} 、 5×10^{-2} g/mL) 及芥酸 (10^{-8} g/mL), 三者的誘引指數不具顯著差異, 約可以達到以人體誘引效果的 61~68%, 深具開發潛力。亞油酸 (10^{-2} g/mL) 的誘引效果次之, 與異戊酸 (10^{-16} g/mL)、硬脂酸 (10^{-2} g/mL)、乳酸及碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} 、 5×10^{-2} g/mL)、二十二酸 (10^{-2} g/mL)、棕櫚酸 (10^{-4} g/mL)、棕櫚油酸 (10^{-1} g/mL) 及八烯醇 (10^{-14} g/mL) 的誘引效果不具顯著差異, 花生酸 (10^{-4} g/mL) 最差 (表一)。

由第一階段選出的芥酸 (10^{-8} g/mL)、亞油酸 (10^{-2} g/mL) 及碳酸氫銨 (10^{-1} g/mL), 在第二階段仍表現較佳的誘引率, 八烯醇 (10^{-14} g/mL) 及花生酸 (10^{-4} g/mL) 的誘引率仍較低。



圖六 以嗅覺測試平台測試台灣鈹蟻雌成蟲對 9 種誘引物質不同濃度的選擇偏好。

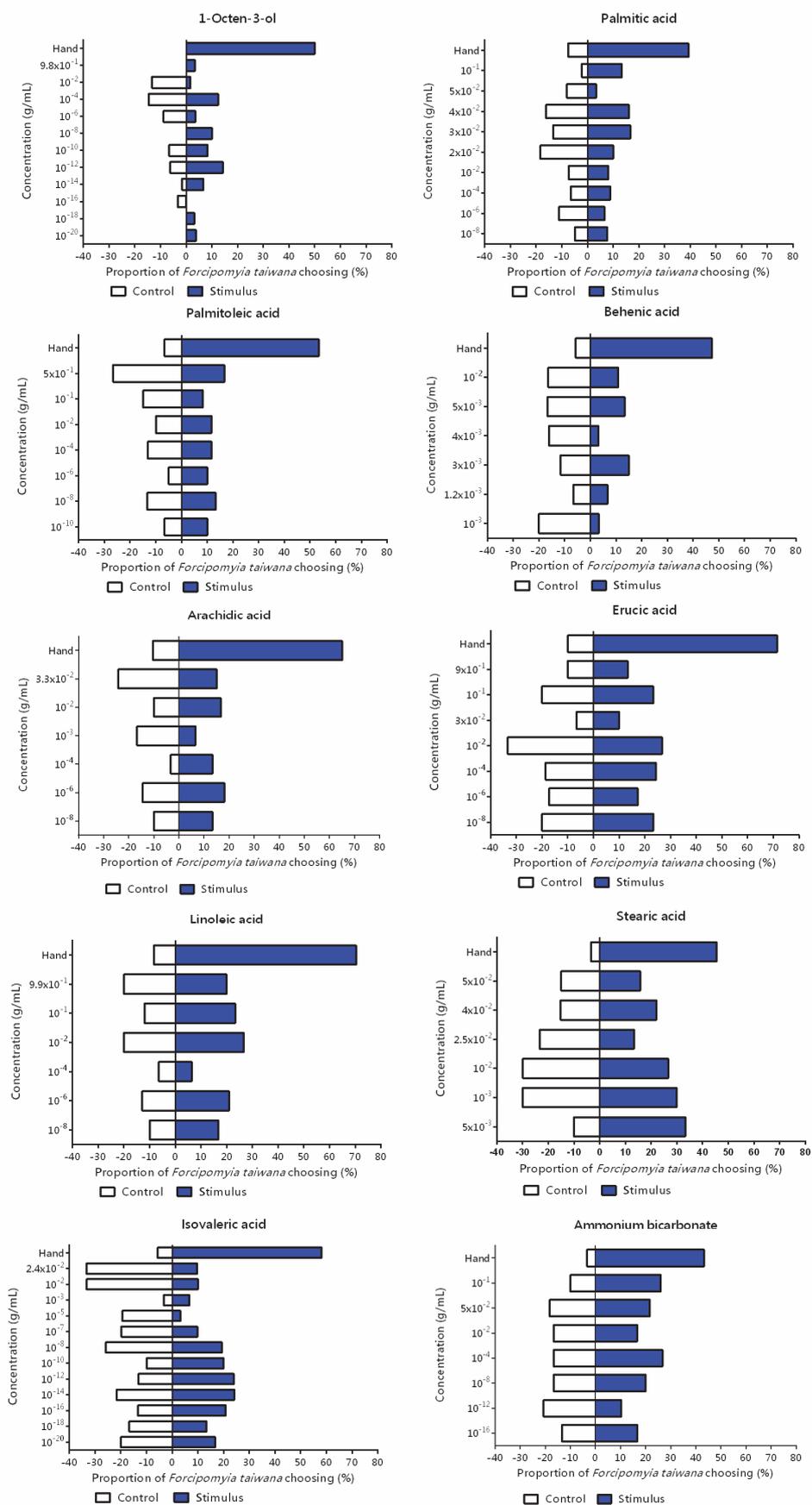
Fig. 6. Choice response of female *F. taiwana* in a dual-port olfactometer to nine odor stimuli in various concentrations.

討 論

為瞭解寄主散發的揮發物對吸血昆蟲尋找寄主行為的影響，多以 Y 型管嗅覺測定裝置進行試驗。Tu (2008, 未發表資料) 以壓克力箱 (邊長 15 cm) 連結 Y 型管通道測定台灣鈹蟻雌成蟲的嗅覺偏好，試驗結果顯示人對台灣鈹蟻測試的誘引率為 22.67%，老鼠的誘引率為 2%。Isberg *et al.* (2016) 在 Y 型管前方加裝燈泡測定牛體揮發物影響庫蠅 *Culicoides nubeculosus* 尋找寄主的行為，顯示光線可刺激 *C. nubeculosus* 反應進行雙向選擇。本研究團隊在進行預備試驗時，曾以直徑 5 cm 的壓克力管製作 Y 型管及以直徑 10 cm 壓克力管製作 T 型管，在沒有光線誘導刺激的情況下，以手或化學物質測試對台灣鈹蟻的誘引效果，台灣鈹蟻雌成蟲既不飛行也不爬行，二者皆不適合做為台灣鈹蟻的嗅覺誘引測定平台。若台灣鈹蟻停滯不動未進行飛行行為，便無法正確評估化學物質對台灣鈹蟻的誘引效果。台灣鈹蟻的飛行行為受限於空間及光線的刺激

(Luo, 2018)；而增加光線刺激後，又很難判斷化學因子單獨的誘引效果。本研究因此修改台灣鈹蟻累代飼育的養蟲籠，發展建置台灣鈹蟻的嗅覺誘引測定平台，以手進行的誘引率介於 39.4~71.4%，確認供試台灣鈹蟻雌成蟲在嗅覺誘引測定平台具飛翔活動力且可趨向候選誘引物。

Chang and Yeh (1997) 設計具 39°C 加熱裝置、血源、乳酸及二氧化碳，在野外可以誘集到台灣鈹蟻。Liu *et al.* (2009a) 研究台灣鈹蟻的行為偏好趨向紫外光，雌成蟲偏好 330~340 nm 的波長，雄蟲偏好 370 nm 的波長，以 CDC 蚊蟲採集器配備發光二極體 (LEDs, 405 nm)，組合八烯醇及二氧化碳 (釋放量為 250 mL/min) 對台灣鈹蟻具最佳誘集效果，田間試驗結果呈現誘集台灣鈹蟻是可採行的防治策略 (Liu *et al.*, 2009a,b)。本試驗以雙向嗅覺誘引裝置進行台灣鈹蟻的誘引試驗，單獨釋放二氧化碳 (流速介於 0.5~4 L/min) 或單獨以乳酸進行誘集，10 min 內的誘引率皆低於 10%，而八烯醇的誘集率最高僅 18%，可再探討化學及物理因子組合交



圖七 以嗅覺測試平台測試台灣缺蠓雌成蟲對 10 種誘引物質不同濃度的選擇偏好。

Fig. 7. Choice response of female *Forcipomyia taiwana* in a dual-port olfactometer to 10 odor stimuli in various concentrations.

表一 台灣缺蚊雌成蟲對化學物質的誘引反應

Table 1. Attraction response of *F. taiwana* females to different odor stimuli

Stimulus (concentration, g/mL)	N	Attract response (Mean±SEM*)	
		Catch rate**	Catch index***
Arachidic acid (10^{-4})	4	0.18±0.02 ^d	0.29±0.03 ^c
Octenol (10^{-14})	4	0.18±0.03 ^d	0.31±0.06 ^{bc}
Palmitoleic acid (10^{-1})	4	0.23±0.07 ^{cd}	0.32±0.10 ^{bc}
Palmitic acid (10^{-4})	4	0.23±0.07 ^{cd}	0.35±0.10 ^{bc}
Behenic acid (10^{-2})	4	0.28±0.05 ^{cd}	0.38±0.07 ^{bc}
Lactic acid (13%)+ammonium bicarbonate (5%)	3	0.30±0.15 ^{cd}	0.39±0.19 ^{bc}
Stearic acid (10^{-2})	4	0.26±0.08 ^{cd}	0.40±0.12 ^{bc}
Isovaleric acid (10^{-16})	4	0.26±0.02 ^{cd}	0.41±0.03 ^{bc}
Linoleic acid (10^{-2})	4	0.28±0.06 ^{cd}	0.47±0.10 ^b
Sodium lactate (13%)+ammonium bicarbonate (5%)	12	0.48±0.11 ^a	0.61±0.18 ^a
Erucic acid (10^{-8})	4	0.36±0.08 ^{bc}	0.67±0.14 ^a
Ammonium bicarbonate (10^{-1})	8	0.44±0.12 ^{ab}	0.68±0.16 ^a

N: number of replicates

*Means within each column followed by the different letters are significantly different at $P < 0.05$ according to Fisher's protected Least Significant Difference (LSD) test.

**Catch rate given as a measure of the percentage of trapped biting midges in the trial.

***Catch index given as a measure of the relative proportional catch of stimulus versus the hand in the same trial.

互作用對誘引率的影響。

吸血性的雙翅目昆蟲多以特化的嗅覺系統接收化學傳訊物質 (Longan and Birkett, 2007)，台灣缺蚊在尋找叮咬對象時會感測寄主的體溫、呼吸時排放的二氧化碳及體表所散發的特殊氣味 (Chang and Yeh, 1997)。Lee *et al.* (2008) 曾以市售蚊子誘捕器及誘捕劑 (包括八烯醇及模擬人體的氣味) 進行試驗，但效果都不如以人體進行誘集的結果。本研究的試驗結果與 Lee *et al.* (2008) 類似，以嗅覺誘引測定平台進行八烯醇 (10^{-14} g/mL) 對台灣缺蚊的誘引率平均值為 18%，以手做為對照組的誘引率為 60%，顯示八烯醇不具明顯誘引效果。Yang (2011, 未發表資料) 探討化學物質誘引台灣缺蚊的研究成果，顯示新鮮汗水不具誘引效果，但以 37°C 培養過的汗水具顯著誘集效果，並指出乳酸並非誘引臺灣缺蚊的主要化學物質。本研究以台灣缺蚊的嗅覺誘引測定平台進行乳酸 (10^{-12} g/mL) 及左旋乳酸 (10^{-6} g/mL) 的誘引試驗，最佳誘引率平均值分別為 10% 及 12%，二者的誘引效果不顯著。

市售產品開發捕蚊器 (BG-Sentinel traps) 可藉由釋放二氧化碳和誘引劑 (BG-Lure)，進行蚊科吸血昆蟲如埃及斑蚊和熱帶家蚊的監測及防治

(Wilke *et al.*, 2019)，誘引劑的有效成份是左旋乳酸及碳酸氫銨，其它副成份有己酸等。本研究以文獻記載對吸血蚊科具誘引效果的化學物質，進行對台灣缺蚊之實驗室誘引篩選研究。碳酸氫銨溶於水形成鹼性溶液，碳酸氫銨溶液放置在空氣中或加熱時會放出二氧化碳，與酸反應產生二氧化碳，與鹼反應則產生氨氣。捕蚊器 (BG-Sentinel traps) 使用誘引劑 (BG-Lure) 的有效成份是左旋乳酸及碳酸氫銨，推論應該是藉由二氧化碳緩慢持久釋放誘引蚊科成蟲。以台灣缺蚊的嗅覺誘引測定平台進行碳酸氫銨 (10^{-1} g/mL) 的誘引試驗，最佳誘引率平均值為 44%，可以達到 68% 的誘引指數。進行複方誘引試驗時，混合乳酸溶液與碳酸氫銨溶液時，因為這兩種溶液的 pH 值差異較大，進行混合時的反應快速且激烈。而混合乳酸鈉溶液及碳酸氫銨溶液，混合時的反應緩和且二氧化碳釋放時間可以較持久，在混合後放置一小時及兩小時的誘引率分別為 51% 及 34%。

飼養台灣缺蚊時發現，手掌握過養蟲籠的絲襪會吸引很多台灣缺蚊聚集停留，手掌 (手指) 印殘留物 (Latent fingerprint deposition) 的脂肪酸比例佔 75%，包括棕櫚酸 (35.45~48.37%)、油酸

(14.84~28.49%)、硬脂酸 (9.71~24.96%) 及亞油酸 (7.68~18.8%) (Choi *et al.*, 2008)。另一份報告指出還有發現花生酸、二十二酸及芥酸 (Kim *et al.*, 2019)。在本研究測試異戊酸 (C5:0)、棕櫚油酸 (C16:1)、棕櫚酸 (C16:0)、硬脂酸 (C18:0)、亞油酸 (C18:2)、花生酸 (C20:0)、二十二酸 (C22:0) 及芥酸 (C22:1) 的誘引試驗結果中，以芥酸的誘引率最好，與碳酸氫銨水溶液的效果比較不具顯著差異。異戊酸是氣味濃烈的脂肪酸，以人的嗅覺判斷是流汗臭襪子的味道，對台灣銜蠓的誘引率平均值為 26%，與棕櫚油酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞油酸、二十二酸的誘引率不具顯著差異性，可再進行評估複方組合的誘集效果。

本研究藉由建置台灣銜蠓嗅覺誘引測定平台，檢測具開發潛力可做為大量誘集的化學物質，以碳酸氫銨 (10^{-1} g/mL)、乳酸鈉及碳酸氫銨混合物 (1.3×10^{-1} 、 5×10^{-2} g/mL) 及芥酸 (10^{-8} g/mL) 約可以達到以人體誘引效果的 61~68%。台灣銜蠓嗜吸人血，以人體誘引效果做為比較的誘引指數，可以顯示在沒有人的情況下誘引物發揮誘捕台灣銜蠓的潛力。未來將針對化學物質、溫度及相對光強度變數進行研究，開發大量誘集的技術。台灣銜蠓雌成蟲主要在白天進行吸血活動，自早晨開始活動，在中午至下午為族群活動高峰，至黃昏後則完全消失 (Chen *et al.*, 1981; Tan *et al.*, 1989)。平時隱匿於可固定提供血源場所，如民眾休憩的大樹下、走廊、涼亭、庭院、廟口、雜貨店、騎樓下等，當民眾駐足停留時會被叮咬，其活動範圍往往侷限於數十公尺的範圍 (Lin *et al.*, 2008)。若能以大量誘集做為防治台灣銜蠓的策略，或許可以協助解決台灣銜蠓叮咬人血的惱人問題。

誌 謝

本研究承蒙科技部提供研究經費補助 (MOST 108-2321-B-041-001-1)，特此致謝。

引用文獻

- Chang PH, Yeh CC. 1997. Attraction of physical methods to the midge, *Forcipomyia taiwana*. In: Proceeding of the 9th seminar on the control of vectors and pests; 1997 May 1-2; Taichung, Taiwan: Environmental Protection Administration, Executive Yuan, ROC. pp. 137-150. (in Chinese)
- Chen CS, Lien JC, Hsu SJ. 1982. Seasonal succession of a blood-sucking midge, *Forcipomyia (Lasiohelea) taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae) in the Hualien area. NTU Phytopathol Entomol 9: 68-91. (in Chinese)
- Chen CS, Lien JC, Lin YN, Hsu SJ. 1981. The diurnal biting pattern of a bloodsucking midge *Forcipomyia (Lasiohelea) taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae). Chin J Microbiol Immunol. 14: 54-56.
- Choi MJ, Ha JH, Park SW. 2008. Study on fatty acids composition by latent fingerprint deposition. Anal Sci Technol 21: 212-221.
- Geier M, Boeckh J. 1999. A new Y - tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. Entomol Exp Appl 92: 9-19.
- Hsieh YH, Lin CC, Wen YD, Wang WL. 2011. Eliminating the biting midge *Forcipomyia taiwana* (Diptera: Ceratopogonidae) larval food resource algae, *Cyanobacteria* and *Chlorella* sp. (Chlorococcales: Chlorellaceae) by bactericide to evaluate the inhibition effect in the laboratory and applying in the field. Chinese Bioscience 53: 65-78. (in Chinese)
- Hsieh PY. 2007. Studies on the oviposition, population dynamics and the susceptibility to insect growth regulators of biting midge, *Forcipomyia taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae)[Master Thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 83 pp. (in Chinese)
- Isberg E, Bray DP, Birgersson G, Hillbur Y, Ignell R. 2016. Identification of cattle-derived volatiles that modulate the behavioral response of the biting midge *Culicoides nubeculosus*. J Chem Ecol 42: 24-32.
- Kim Y, Choi W, Choi EJ, Jeon B, Kim J, Park GH, Huang Y, Wufuer M, Jin X, Kim MO, Xu L, Piao YL, Park JH, Kim WK, Choi TH. 2019. Evaluation of fatty acids in groomed

- fingerprint by gas chromatographic analysis using various extraction solvents and treatment methods. *J Anal Sci Technol* 10: 29. <https://doi.org/10.1186/s40543-019-0188-y>
- Kline DL, Bernier UR, Hogsette JA.** 2012. Efficacy of three attractant blends tested in combination with carbon dioxide against natural populations of mosquitoes and biting flies at the Lower Suwannee Wildlife Refuge. *J Am Mosq Control Assoc.* 28: 123-127.
- Lee HM, Lin YT, Wu CN, Lin CF.** 2008. Development of *Forcipomyia taiwana* attractants and repellents. *Formosan Entomol Spec pub* 11: 53-56. (in Chinese)
- Lee SJ.** 1996. Ecology and integrated control of biting midge, *Forcipomyia taiwana* (Shiraki). In: Proceeding of the 8th seminar on the control of vectors and pests; 1996 May 21-22; Taichung, Taiwan: Environmental Protection Administration, Executive Yuan, ROC. pp. 15-23. (in Chinese)
- Lee SJ, Hou RF.** 1997. Seasonal succession and chemical control of the biting midge (*Forcipomyia taiwana*). In: Proceeding of the 9th seminar on the control of vectors and pests; 1997 May 1-2; Taichung, Taiwan: Environmental Protection Administration, Executive Yuan, ROC. pp.125-136. (in Chinese)
- Lee SJ, Tseng KC.** 2006. Injury and control of biting midges. In: Proceedings of the Environmental Agents and the Technology of Vector Control; 2006 November 2-3; Taipei, Taiwan: Environmental Protection Administration, Executive Yuan, ROC. pp. 265-280. (in Chinese)
- Lin CF, Lee HM, Wu CN, Tu WC.** 2008. Integrated control technology of *Forcipomyia taiwana*. *Formosan Entomol Spec pub* 11: 65-73. (in Chinese)
- Liu WY, Yang EC, Lee SJ.** 2009a. The action spectrum of phototactic responses of *Forcipomyia (Lasiohelea) taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae). *Formosan Entomol* 29: 61-71. (in Chinese)
- Liu WY, Yang EC, Lee SJ.** 2009b. Evaluation for attractiveness of four chemicals to the biting midge, *Forcipomyia Taiwana* (Diptera: Ceratopogonidae). *J Am Mosq Control Assoc* 25: 448-55.
- Logan JG, Birkett MA.** 2007. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. *Pest Manage Sci* 63: 647-657.
- Luo YP.** 2018. Establishing and maintaining colonies of *Forcipomyia taiwana* in the laboratory. *J Vector Ecol* 43: 328-333.
- Shih CL, Tu WC.** 2019. Blood-sucking behavior of female *Forcipomyia taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae). *Formosan Entomol* 39: 105-114. (in Chinese)
- Shiraki T.** 1913. Investigation on general injurious insects. *Taiwan Sotokufu Noji Shikenjo Tokubetsu Hokoku* 8: 286-297 (in Japanese).
- Smallegange RC, Qiu YT, van Loon JJ, Takken W.** 2005. Synergism between ammonia, lactic acid and carboxylic acids as kairomones in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae). *Chem Senses* 30: 145-152.
- Sun WKC.** 1961. A tentative list of Ceratopogonidae (Diptera) from Taiwan. *Biol Bull Tunghai Univ (Taichung, Taiwan)* 6: 1-16.
- Sun WKC.** 1968. Biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) Kinmen (Quemoy). *Biol Bull Tunghai Univ (Taichung, Taiwan)* 36: 1-6.
- Tan JX, Xue JM, Ke W.** 1989. Observation on the blood-sucking and reproduction of *Forcipomyia (Lasiohelea) taiwana*. *Acta Entomol Sin* 32: 52-57. (in Chinese)
- Tu WC, Hsieh PY, Tang LC, Shih CL.** 2009. The occurrence and control of *Forcipomyia taiwana*. Special publication of the Environmental Protection Administration, Executive Yuan, ROC. 31 pp. (in Chinese)

- Verhulst NO, Takken W, Dicke M, Schraa G, Smallegange RC.** 2010. Chemical ecology of interactions between human skin microbiota and mosquitoes. *FEMS Microbiol Ecol* 74: 1-9.
- Wang HP.** 1997. The chemical control of the biting midge, *Forcipomyia (Lasiohelea) taiwana* (Shiraki) (Diptera: Ceratopogonidae) at Nantou area [Master Thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 72 pp. (in Chinese)
- Wilke A, Carvajal A, Medina J, Anderson M, Nieves VJ, Ramirez M, Vasquez C, Petrie W, Cardenas G, Beier JC.** 2019. Assessment of the effectiveness of BG-Sentinel traps baited with CO₂ and BG-Lure for the surveillance of vector mosquitoes in Miami-Dade County, Florida. *PloS One* 14: e0212688. doi: 10.1371/journal.pone.0212688
- Wu YC.** 2019. Multiple membrane blood feeding system for mosquito repellent bioassay. [Master Thesis]. Tainan (Taiwan): Chia-Nan University of Pharmacy and Science. 53 pp. (in Chinese)
- Yeh CC, Wang KS.** 2000. Ecology and prevention of *Forcipomyia taiwana*. pp 145-159. In: Lee SJ, Wang JS (eds). *Ecology and Prevention of Household Pests*. National Chung Hsing University (NCHU) Agricultural Extension Center, Taichung, ROC. (in Chinese)
- Young SH.** 2007. Soil factors affecting egg laying of gravid female and the larval development of the biting midge, *Forcipomyia taiwana*. [Master Thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 63 pp. (in Chinese)

Laboratory Evaluation of Chemical Stimulants for Trapping *Forcipomyia taiwana* (Shiraki; Diptera: Ceratopogonidae)

Yi-Pey Luo* and Liang-Fen Jian

Department of Biotechnology, Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan City, Taiwan

* Corresponding email: insecta@mail.cnu.edu.tw

Received: 18 June 2020

Accepted: 18 January 2021

Available online: 19 February 2021

ABSTRACT

To assess the attractant efficacy of chemical stimulants, a dual-port olfactometer was used to quantitatively investigate the response of a biting midge, *Forcipomyia taiwana* (Shiraki; Diptera: Ceratopogonidae), to host-derived volatiles. Tests were conducted on the copulated female biting midges aged 9 to 12 days to determine their responses to human odors and chemicals. The most attractive chemical stimulants to *F. taiwana* were ammonium bicarbonate solution (10^{-1} g/mL), erucic acid solution (10^{-8} g/mL), and a combined solution of sodium lactate (1.3×10^{-1} g/mL) and ammonium bicarbonate (5×10^{-2} g/mL). In terms of sensitivity and simplicity, the bioassay conducted was especially suited to analyzing this biting midge; it is a useful tool for searching for new attractive compounds. This work will hopefully facilitate further research on the chemical ecology of *F. taiwana*. The potential use of related attractants for biting midge control is discussed herein.

Key words: *Forcipomyia taiwana*, dual-port olfactometer, odor stimulus, catch rate, catch index