



紫絳蠅（雙翅目：麗蠅科）在地區及月份之布氏樹蛙（無尾目：樹蛙科）卵泡寄生率之差異

王安如¹、蔡正隆²、丘明智^{3,1}、郭美華^{1*}

¹ 臺灣國立中興大學昆蟲學系 402202 臺中市南區興大路 145 號

² 國立自然科學博物館生物學組 404605 臺中市北區館前路 1 號

³ 日本愛媛大學沿岸環境科學研究中心 790-8577 愛媛縣松山市道後樋又 10-13

* 通訊作者 email: mhkuo@dragon.nchu.edu.tw

收件日期：2021 年 3 月 24 日 接受日期：2021 年 10 月 14 日 線上刊登日期：2021 年 11 月 12 日

摘要

布氏樹蛙 (*Polypedates braueri* (Vogt)) 為臺灣原生種蛙類且廣泛分布全臺，紫絳蠅 (*Caiusa violacea* Séguay) 為其卵泡寄生蠅，兩者存在密切的交互關係。本研究採集全臺 37 樣點 222 卵泡，以粒線體細胞氧化色素第一次單元 (cytochrome c oxidase subunit I, COI) 進行卵泡物種鑑定，成功增幅 61 條樹蛙 COI 序列，確認皆為布氏樹蛙。全臺有 28 樣點 61 個卵泡被紫絳蠅寄生，寄生率為 0~100%，平均數為 39%，中位數為 40%，眾數為 0%。地理區卵泡平均寄生率結果顯示，東區為 22% 較中區 31%、南區 38% 及北區 55% 為低，但四區域間並無顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-squared₍₃₎ = 5.16, P = 0.16)。卵泡平均寄生率之時序顯示，四月為 0%、五月為 13%、六月為 25%，七月達到高峰為 51%，八月下降為 35%，與布氏樹蛙繁殖生物學相似，統計結果六月、七月、八月間寄生率沒有顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-squared₍₂₎ = 3.68, P = 0.16)。月份間寄生情形，推論與紫絳蠅生活史相關，寄生蠅族群於五月增長後，增加樹蛙繁殖季中、後期的卵泡寄生率，兩者可能具有擬寄生者與寄主之族群波動關係。兩物種地理親緣結構是否存在共演化，留待後續深入檢視。

關鍵詞：布氏樹蛙、紫絳蠅、卵泡、寄生率、粒線體 COI 基因。

前言

兩棲綱無尾目 (Amphibia: Anura) 物種，由水域環境適應陸域棲所，囊括骨骼、生理及表皮結構改變，也涉及生活形式及生活史重組 (Fritzsch, 1990; Vitt and Caldwell, 2008)，胚胎及蝌蚪仍需在有水的環境下才能發育，如何調節儲存體內水分與維持濕度適應陸地乾燥環境相當重要 (Vitt and

Caldwell, 2008)。部分無尾目物種會將卵產於水邊的遮蔽物下或水面的植物葉片間，利用腺體所分泌的蛋白質製造凝膠 (gelatinous) 或泡沫狀的物質將卵包覆成卵團 (clutch) (Villa, 1978; Seymour and Loveridge, 1994; Rödel *et al.*, 2002; Neckel-Oliveira and Wachlevski, 2004; Vitt and Caldwell, 2008)；泡沫狀卵團稱為卵泡 (foam nest)，待卵孵化為蝌蚪扭動後卵泡裂解成液體狀，

靠雨水沖刷或水位上升而進入水中，可避免胚胎被水中天敵捕食。但取食卵泡的生物眾多，包括脊椎動物（蛇、青蛙及猴子）(Drewes and Altig, 1996; Rödel *et al.*, 2002; Neckel-Oliveira and Wachlevski 2004) 與節肢動物（蜘蛛、蟻、螞蟻、隱翅蟲、蜂及蠅）(Bokermann, 1957; McDiarmid, 1978; Villa *et al.*, 1982; Yorke, 1983; Downie *et al.*, 1995; Warkentin, 1995; Neckel-Oliveira and Wachlevski, 2004; Lingnau and Di-Bernardo, 2006)。

遠離水產下的卵泡雖可保護卵，然而偏白色的卵泡在自然環境中相對明顯，無遮蔽的卵泡仍易被捕食者搜尋發現。部分雙翅目果蠅科(Drosophilidae)、麗蠅科(Calliphoridae)、水蠅科(Ephydriidae) 及蚤蠅科(Phoridae) 物種，幼蟲蛆取食卵泡、蛙卵及胚胎且具專一性(Downie *et al.*, 1995; Menin and Giaretta, 2003), Villa (1977) 稱為“蛙蠅(frogfly)”。專一性蛙蠅的幼蟲以蛙卵為食，在某些情況下，可能只捕食一種或一些密切相關的蛙類(Villa, 1980)，這種特殊關係很少被研究討論。

臺灣樹蛙卵泡寄生蠅物種身分釐清

樹蛙卵泡寄生蠅物種，最早由 Lue and Lin (2000) 參考 Fan (1992) 報告，指出臺灣僅有越北絳蠅 (*Caiusa coomani* Seguy) 分布。然而，Rognes (2011) 比對越北絳蠅模式標本繁殖器，發現與 Fan (1992) 檢索表圖片明顯不同，由於卵泡寄生蠅外部形態種內變異大，且 *Caiusa* 屬內種間繁殖器差異不明確，當時僅以 *Caiusa* sp. 記錄。Yang *et al.* (2014) 整理臺灣麗蠅科名錄，記載 3 種 *Caiusa* 屬物種，分別為 *Caiusa indica* Surcouf、黃褐阜蠅 (*Caiusa testacea* Senior-White) 及 *Caiusa* sp.。隨後，Rognes (2015) 著手進行 *Caiusa* 屬分類修訂，臺灣已知 *Caiusa* 屬 3 種皆為紫絳蠅 (*Caiusa violacea* Séguy) 的錯誤鑑定。

Huang and Shiao (2016) 提到臺灣樹蛙卵泡寄生蠅物種，僅有紫絳蠅一種，布氏樹蛙 (*Polypedates braueri* (Vogt)) 是其主要寄主，當氣溫高於 19°C 時，臺灣北部低海拔地區的紫絳蠅族群在六月至十月間達高峰。成蟲搜尋樹蛙卵泡產卵，幼蟲專食蛙卵及胚胎，是卵泡繁殖階段的主要天敵，造成樹蛙繁殖失敗(Lue and Lin, 2000)。據 Lin *et al.* (2000) 的蛙蠅產卵行為觀察記錄，蛙蠅雌成蟲會在清晨破曉時，利用視覺搜尋樹蛙卵泡，使用觸角與足探測確認卵泡寄生情形，若未被寄生則產卵於卵泡

背光處，幼蟲孵出後便鑽入卵泡捕食蛙卵及胚胎，約三天後化蛹，七天後可羽化為成蟲。常溫下，蛙蠅卵孵化約需 1 天，一齡蛆孵化後至化蛹約需 3~5 天，化蛹後至蠅羽化約需 5~11 天，完成生活史約 1~2 週 (Lue and Lin, 2000)。

布氏樹蛙為臺灣原生種，廣泛分布於熱帶及亞熱帶地區(Yang and Gong, 2014)，主要棲息於臺灣全島中、低海拔 1,000 公尺以下的開墾地及森林(Chou and Lin, 1997)，與 2006 年於臺灣中部發現的外來種斑腿樹蛙 (*P. megacephalus* Hallowell) 體型及顏色相似，兩種皆為白頷樹蛙複合種群 (*P. leucomystax* species complex)，其內存有許多隱藏種(cryptic species)，分類問題亟需釐清(Matsui *et al.* 1986; Kuraishi *et al.*, 2011; Yang, 2011; Yang and Gong, 2014)。臺灣布氏樹蛙學名鑑定歷經多次異動，物種鑑定學名有 *P. braueri*、*P. leucomystax* 及 *P. megacephalus*，最後整合證據支持 *P. braueri* 才是正確學名(Yang and Gong, 2014)。成蛙體長約 5~7 cm，體背褐色具數條深褐色縱帶，有時夾雜斑點或僅有斑點，上唇邊緣為白色，腹側及股部內側具以白色為底黑白相間之網狀花紋；蝌蚪體型大，吻端上方有一白點(Yang, 1998; Shang *et al.*, 2009; Kuraishi *et al.*, 2011)。布氏樹蛙棲息於靜水域，以池塘、蓄水池及水溝等天然及人工水池為主，卵泡由雌蛙及參與繁殖的所有雄蛙一起踢打而成，剛踢打成的卵泡為白色，接觸空氣後轉為鏽黃色，約 4 個小時後卵泡完成，並在表面形成一層硬膜，內含約有 400 顆卵(Zhang, 1989; Yang and Gong, 2014)。每年的四月至九月繁殖季可多次產卵，每次間隔 20 至 70 天，產卵於水體表面或植物葉面上，不會完全遮蔽住卵泡，因此卵泡的隱蔽度較低時，仍易被蛙蠅產卵寄生，蛙卵約一週內孵化為蝌蚪，雨水沖刷進入水中(Zhang, 1989; Shang *et al.*, 2009)。Hsu *et al.* (2012) 報導布氏樹蛙於八卦山的繁殖季為三月至八月與 Chou and Lin (1997) 相同。過去並沒有報導過布氏樹蛙以蝌蚪越冬，Hsu *et al.* (2012) 於實驗室試驗表明，低溫和有限的食物會阻礙布氏樹蛙蝌蚪生長發育，發現食物誘導蝌蚪越冬起關鍵作用，導致布氏樹蛙可在低地且有農業活動果園的人造水容器中，以蝌蚪階段越冬。

國內蛙蠅的文獻，例如研究樹蛙繁殖行為時，曾記錄蠅類幼蟲寄生於卵泡上(Chen and Lue, 1994) 及 Lue and Lin (2000) 報導蛙蠅在臺灣原生六種樹蛙：布氏樹蛙、翡翠樹蛙 (*Zhangixalus*

prasinatus (Mou, Risch, and Lue)、莫氏樹蛙 (*Zhangixalus moltrechti* (Boulenger))、橙腹樹蛙 (*Zhangixalus aurantiventris* (Lue, Lai, and Chen))、臺北樹蛙 (*Zhangixalus taipeianus* Laing and Wang) 及諸羅樹蛙 (*Zhangixalus arvalis* (Lue, Lai, and Chen)) 之卵泡寄生率調查，然而有關蛙蠅研究仍然相當欠缺。氣候及地形會影響生物的地理分布，氣候是限制蛙類分布及活動的主要環境因子 (Duellman and Trueb, 1994)，本研究欲探討紫絳蠅於布氏樹蛙卵泡寄生率之時空差異，參考兩棲類親緣地理相關研究 (Toda et al., 1998; Jang-Liaw et al., 2008)，採集樣點分北、中、南、東四個區域共有 37 樣點，於 2010 年七月至 2011 年八月期間進行採集。由於布氏樹蛙與斑腿樹蛙的卵泡不易區分，因此以粒線體細胞氧化色素第一次單元 (cytochrome c oxidase subunit I, COI) 進行卵泡物種鑑定，來確認採集之卵泡是否為布氏樹蛙。

材料與方法

一、樹蛙卵泡採集

參考臺灣兩棲類的親緣地理研究 (Toda et al., 1998; Jang-Liaw et al., 2008)，分北、中、南及東四個區域，中央山脈以西以苗栗丘陵及濁水溪為界分為北區、中區及南區；中央山脈以東為東區，北界為清水斷崖。北區設置 7 個樣點、中區設置 8 個樣點採 9 次、南區 14 個樣點及東區設置 8 個樣點採 9 次，合計為 37 樣點採得 222 卵泡，地理分區採集樣點分布及採集記錄於表一及圖一。各樣點採集之平均氣溫資料來自中央氣象局主編之農業氣象旬報 (Central Weather Bureau, 2010; 2011)，並繪圖呈現於圖四。

2010 年七月至 2011 年八月期間進行採集時，四月至九月以目視法及布氏樹蛙的鳴叫聲搜尋布氏樹蛙繁殖棲地，將發現的卵泡帶回實驗室觀察紀錄，確認紫絳蠅寄生狀況。將採回卵泡放在 25°C 生長箱飼養並固定於水盆上方，等待蝌蚪孵化入水，餵食菜葉、魚飼料，記錄被寄生卵泡數及計算卵泡寄生率 (被寄生卵泡數/卵泡總數)。樣點現場蛙蠅生活史各階段採集情形如下：(1) 採回成蟲或蛹飼養至成蟲，送請蛙蠅物種鑑定；(2) 採回被寄生之卵泡，取出 3 隻蛙蠅幼蟲、部分蛙卵或胚胎，進行卵泡樹蛙物種分子鑑定，其餘蛙蠅幼蟲飼養至成蟲，送請蛙蠅物種鑑定；(3) 卵泡帶回實驗室飼養至蝌蚪時取出 6 隻，切除一段尾部，進行卵泡樹蛙物種分子鑑定。以上組織

或標本，皆以 99% 酒精浸泡，保存於 -20°C 冷凍櫃。

使用 Kruskal-Wallis test 無母數檢定分別比較區域及月份間的卵泡寄生率是否有顯著差異 (SAS Institute Inc, 2000)。因四月份、五月份僅 2 筆寄生率，樣本數不足 (chi-squared test 需要 >5)，將不列入分析比較。

二、DNA 萃取

本研究選用粒線體 COI 基因作為卵泡之蛙種鑑定依據。因粒線體 DNA 為母系遺傳，同卵泡的蛙卵來自相同母蛙，故每個卵泡僅取一個體進行物種鑑定。

取蛙卵、胚胎與蝌蚪 (剪取小塊尾部組織) 進行 DNA 萃取時，先將樣本以磷酸鹽緩衝液洗去表面殘留酒精，接著以 DNeasy Blood & tissue Kit (Qiagen, Cat. No. 69506) 並依其操作說明進行個別樣本之 DNA 萃取。步驟大致為：將組織放入 DNA 萃取液 (180 µl buffer ATL 及 20 µl proteinase K) 中，以 56°C 震盪 16 h；之後，加入 200 µl AL 及 200 µl 95% 酒精，震盪混勻。接著，將反應液置入 Spin-Column，離心 1 min，再以 500 µl 洗滌液離心 1 min (重複兩次)，再離心 10 min；最後，加入 50 µl 沖提液，靜置 2 min 後，離心 1 min。所得之萃取物即為純化 DNA，將之置於 -20°C 冷凍櫃保存。

三、卵泡之物種分子鑑定與比對

本研究使用引子 LepF (5'-TTCAACCAATCA TAAAGATATTGG-3') 與 LepR (5'-TAAACTTCT GGATGTCCAAAAAATCA-3') (Smith et al., 2008) 增幅樹蛙卵泡粒線體 COI 基因進行物種序列比對。PCR 反應總體積為 25 µl，genomic DNA 1.5 µl (濃度約 200 ng/µl)、各 0.1 µl 10 µM 的上游及下游引子、2.5 U Ex Taq (5 U/µl; TaKaRa, Cat. No. RR001A)、2.5 µl 2.5 mM dNTP 及 2.5 µl 10x Taq Buffer、去離子水 17.4 µl。PCR 增幅反應設定為：94°C 2 min 讓 DNA 變性，接著進行 94°C 1 min、55°C 1.5 min 及 72°C 1 min 循環反應 (共 40 次)，最後在保持 72°C 5 min 完成反應。以 2% 膠體電泳分析，若為單一條帶，純化回收後，委託中興大學定序中心以 3730 核酸自動定序儀直接定序。將序列上傳至 GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI)，使用 Basic Local Alignment Search Tool (Blast) 功能比對目標序列核苷酸與 GenBank 已建立的物種資料，相似度 98% 以上則認定為卵泡所屬樹蛙物種。

結 果

一、卵泡樹蛙物種鑑定

成功增幅定序 61 條 COI 基因，序列長度為 593 個鹼基對 (表一)，其中部分採集樣點，例如高雄多納 (DN) 樣點卵泡寄生率為 100%，且因卵泡內的卵及胚胎已遭蛙蠅幼蟲捕食殆盡並於卵泡附近遮蔽處化蛹，未發現蝌蚪或成蛙無法成功複製 COI 基因，或因樣本保存狀態不佳外，已將 26 樣點成功定序之序列上傳至 GenBank 進行物種比對，相似度最高為 99.35%，確認採回卵泡皆為布氏樹蛙。上傳至 GenBank 序列為 Accession No. LC628975 - LC629035。

二、卵泡寄生率

全臺 37 樣點採得 222 卵泡，其中 28 樣點 61 個卵泡被紫絳蠅寄生 (表一)。表一及圖一顯示各樣點卵泡寄生率為 0~100%，平均數為 39%，中位數為 40%，眾數為 0%。

布氏樹蛙繁殖期為四月至九月，但 2011 年四月於臺中谷關 (GG) 及臺東利嘉 (LJ) 兩樣點採集的卵泡樣本未被寄生，因此於五月及六月時再去這兩樣點採樣時，寄生率分別為 25% 及 40% (表一)。四月份 2 筆寄生率皆為 0%，五月份 2 筆寄生率皆為 0% 及 25%。五月至八月有 9 樣點寄生率為 0% 分別如下：五月苗栗大湖 (DH)；六月南投清境 (CJ)、南投集集 (JJ)、南投東埔 (DP)、臺南東山 (DS)、臺東利稻 (LD)；七月嘉義梅山 (MS)、花蓮鯉魚潭 (LYT)；八月花蓮六十石山 (LSDS)。此外，2010 年九月在新竹、臺中、南投及雲林地區採集調查，未發現布氏樹蛙卵泡被寄生，僅發現已孵化的蝌蚪，因此並沒有將此結果呈現。

全臺四大區域的卵泡寄生率以北區最高 (55%, n = 7)，南區次之 (38%, n = 14)，中區寄生率 (31%, n = 9) 及東區最低 (22%, n = 9)，此四區之寄生率沒有顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-squared (3) = 5.16, P = 0.16) (圖三)。

由圖四可看出四月至八月寄生率及平均氣溫，兩者走向一致。四月平均氣溫約在 22.4°C，在台東利嘉樣點及台中谷關樣點的 2 筆採集紀錄寄生率皆為 0%；五月再前往台中谷關樣點採集，平均氣溫 (約在 24.5°C) 及寄生率 (25%) 皆上升，而於苗栗大湖樣站之平均氣溫約在 23.7°C，寄生率為 0% (表一)。四月及五月平均氣溫在 25°C 以下，之後上升至最高為七月可達 30°C (圖四)。統計分析六月至八

月之平均寄生率結果顯示，最高為七月 (51%, n = 16)，八月次之 (35%, n = 8)，六月為 25% (n = 11)，這三月份間寄生率沒有顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-squared (2) = 3.68, P = 0.16)。

討 論

利用無母數統計分析區域及月份卵泡寄生率皆沒有顯著差異，暗示本研究樣點數仍然不夠及可能有些環境因子混雜影響了寄生率，比如說雨量、日照等，或紫絳蠅與布氏樹蛙的密度，有可能受到地當地氣象和植被等微環境影響，無法得到真正的效應，也會讓統計分析無法得到顯著差異。因此未來可增加樣點數及進一步將這些因子完整的列入試驗設計調查中。

本文仍發現四月至八月之卵泡寄生率與平均氣溫有相同的走向。樹蛙及蛙蠅都是外溫生物，氣候是限制其分布及活動的主要環境因子 (Duellman and Trueb, 1994)，根據前人研究記錄，蛙蠅的產卵活動受到氣溫影響，在冬季，尤其是氣溫最低的十二月及一月寄生率相當低甚至為零 (Chen and Lue, 1994; Lue and Lin, 2000)。Huang and Shiao (2016) 報導臺灣北部低海拔地區的紫絳蠅族群高峰在六月至十月間，且十二月及一月沒有採獲到紫絳蠅。本研究作者王安如在 2011 年的一月至三月曾數次在大坑樣點採集到莫氏樹蛙卵泡，並未發現有被蛙蠅寄生。採集的卵泡主要來自人造水池或蓄水池，少部分為水溝及水桶，與前人研究雷同 (Lue and Lin, 2000)。我們雖有在天然水體處發現雄蛙鳴叫，但未採集到卵泡，可能與天然水池植被茂密、遮蔽性佳，蛙蠅不易搜尋寄生有關。探討四月採集到布氏樹蛙卵泡樣本未被寄生，推測可能原因有二：(1) 繁殖季初期卵泡數量少，蛙蠅不易搜尋寄生；(2) 非繁殖季時的蛙蠅族群較少，鮮少有卵泡遭寄生。四月於中區及東區採樣時未被寄生，五月及六月再去採樣，卵泡被紫絳蠅寄生了，此結果與 Zhang (1989) 在陽明山地區的白領樹蛙繁殖行為研究 (主要在夏季繁殖的蛙類，3 到 9 月都有繁殖紀錄) 之時序相似。紫絳蠅受到繁殖資源的時間限制，於布氏樹蛙繁殖季時，紫絳蠅族群開始增長，然後於樹蛙繁殖期後再下降，兩者呈現擬寄生者與寄主共存的同步族群波動，也符合捕食者與獵物之間，緩密度應變效應。

本研究結果顯示，卵泡寄生率於有些樣點之寄生率並不高，例如臺南新化 SH 樣點，於七月採得 12 個卵泡中僅有一個卵泡有發現被寄生，且僅發現

表一 臺灣布氏樹蛙卵泡（含遭紫絳蠅寄生）採集資訊與及各樣點 COI 基因增幅樣本數

Table 1. Collected information of foam nests of *Polypedates braueri* (including parasitoids by *Caiusa violacea* and the samples used for species identification through COI gene of each site)

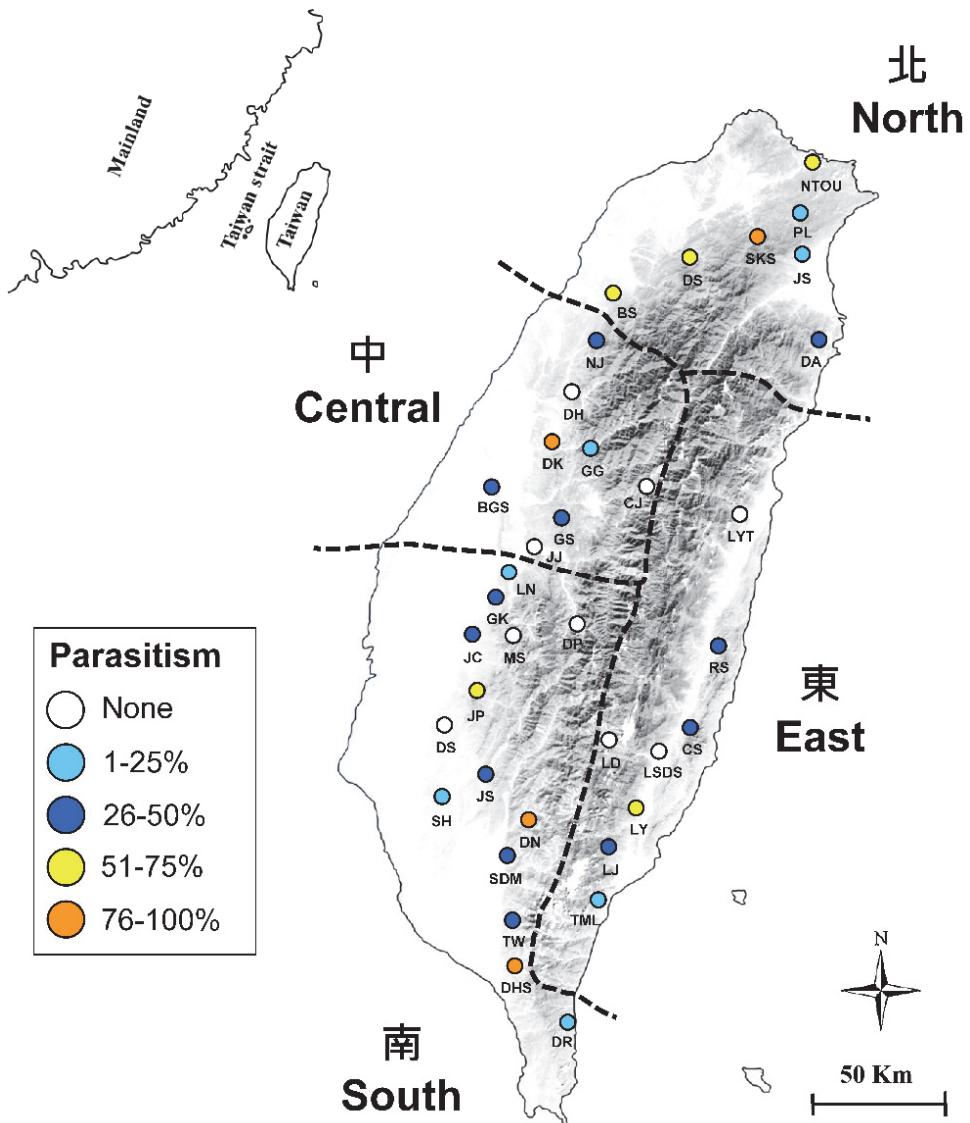
Region	Site	Abbreviation	GPS-latitude	GPS-longitude	Elevation (m)	Collecting date	Total foam nests	Foam nests parasitized	COI
Northern	基隆海大	NTOU	25.148562°	121.777949°	163	20110719	5	3	4
	宜蘭礁溪	JS	24.823945°	121.735449°	274	20110720	5	1	2
	宜蘭東澳	DA	24.519640°	121.815850°	110	20110710	4	2	1
	臺北四坎水	SKS	24.886155°	121.568878°	432	20110708	1	1	1
	臺北坪林	PL	24.973110°	121.725578°	605	20110709	6	1	2
	桃園大溪	DS	24.818481°	121.310017°	282	20110718	4	3	3
Central	新竹寶山	BS	24.700181°	121.025024°	145	20110628	6	4	1
	苗栗南庄	NJ	24.536829°	120.964418°	578	20100812	8	4	1
	苗栗大湖	DH	24.360569°	120.872654°	454	20110514	8	0	-
	臺中谷關	GG	24.171720°	120.943478°	682	20110426	5	0	3
						20110506	20	5	
	臺中大坑	DK	24.192616°	120.797558°	634	20100716	2	2	1
Southern	南投國姓	GS	23.948558°	120.834234°	940	20110702	10	5	6
	南投清境	CJ	24.048763°	121.152076°	1352	20110609	6	0	-
	南投集集	JJ	23.840473°	120.737010°	1742	20110611	2	0	-
	彰化八卦山	BGS	24.059858°	120.572133°	83	20100724	2	1	2
	南投東埔	DP	23.572088°	120.899212°	1352	20110606	3	0	-
	雲林林內	LN	23.748125°	120.638186°	333	20110624	17	4	5
	雲林古坑	GK	23.665939°	120.585366°	169	20110609	10	3	0
	嘉義梅山	MS	23.529639°	120.658556°	737	20110720	2	0	-
	嘉義竹崎	JC	23.503508°	120.519098°	132	20100828	2	1	2
	嘉義中埔	JP	23.345782°	120.522680°	478	20110604	3	2	-
	臺南新化	SH	22.987261°	120.384081°	108	20110705	12	1	6
	臺南東山	DS	23.274553°	120.499651°	339	20110604	21	0	-
	高雄甲仙	JS	23.064722°	120.556196°	303	20110603	2	1	1
	高雄多納	DN	22.911323°	120.720246°	467	20110704	2	2	-
	高雄三地門	SDM	22.788953°	120.634485°	168	20110704	4	2	1
	屏東泰武	TW	22.566274°	120.649427°	457	20110704	3	1	2
	屏東大漢山	DHS	22.413025°	120.654222°	607	20110704	1	1	1
	屏東達仁	DR	22.223187°	120.851372°	309	20110816	4	1	1
Eastern	花蓮鯉魚潭	LYT	23.947214°	121.504549°	146	20110710	3	0	4
	花蓮瑞穗	RS	23.496154°	121.426321°	168	20110815	3	1	1
	花蓮六十石山	LSDS	23.223504°	121.312224°	802	20110815	2	0	-
	臺東利稻	LD	23.187861°	121.023015°	1056	20110615	3	0	-
	臺東池上	CS	23.144902°	121.208969°	277	20110815	2	1	2
	臺東鹿野	LY	22.946344°	121.123575°	259	20110816	8	5	2
合計	臺東利嘉	LJ	22.822669°	121.011983°	641	20110415	6	0	5
						20110614	5	2	
	臺東太麻里	TML	22.637280°	120.996060°	187	20110816	10	1	1
							222	61	61

“-”代表無樣本。

到一隻蛙蠅幼蟲。常溫下蛙蠅卵 1 天內可孵化 (Lue and Lin, 2000)，但夏季高溫下蛙蠅卵或初孵化幼蟲可能被熱死，沒有存活而被記錄為無寄生現象，推測為有些樣點寄生率不高的原因之一。此外，無尾目產卵泡的習性、位置等，也會影響卵泡被寄生的機率，例如南美卵泡寄生蠅 *Beckeriella niger* (水蠅科 Ephydriidae)，會產卵於八種細趾蟾科

(*Leptodactylidae*) 的卵泡，其中兩物種會將卵泡產於挖掘土穴中，降低被蛙蠅寄生的機率 (Menin and Giaretta, 2003)。中美洲特立尼達產的蚤蠅 (*Megaselia nigroaura*) 則演化出具有搜尋棲息隱蔽泥洞棕細趾蟾 (*Leptodactylus fuscus*) 卵泡的能力 (Downie et al., 1995)。

兩棲類除南極洲以外的每個大陸都有發現，棲

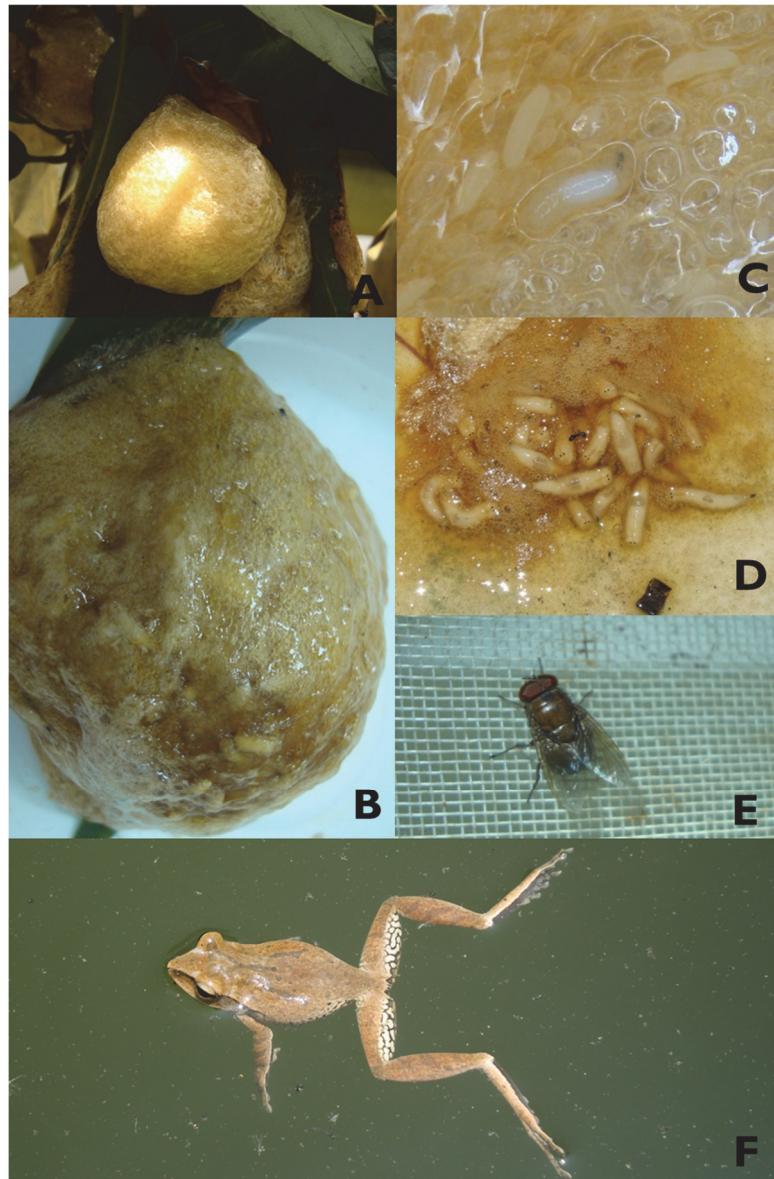


圖一 布氏樹蛙卵泡採集點及卵泡寄生率。白點：卵泡未被寄生。淺藍點：卵泡寄生率 0-25%。藍點：卵泡寄生率 26-50%。黃點：卵泡寄生率 51-75%。橘點：卵泡寄生率 76-100%。樣點代號請見表一。

Fig. 1. Tree frog *Polypedates braueri* sampling sites and parasitism rates of the foam nests. White plots: foam nests without the parasitoid fly. Light blue plots: parasitism rates of 0-25%. Blue plots: parasitism rates of 26-50%. Yellow plots: parasitism rates of 51-75%. Orange plots: parasitism rates of 76-100%. Abbreviations for each site are listed in Table 1.

息在高度季節性的北緯和南緯，並在熱帶達到特別高的多樣性 (Duellman 1999)。Lauck (2005) 提出雌蛙選擇的產卵地點會受到繁殖棲地的影響而有不同。蛙類繁殖棲地的多樣性對族群的地區性適應、族群的基因結構組成有重要的影響 (Marshall *et al.* 2008, Chan and Zamudio 2009)。臺灣蛙類繁殖棲地，可分為流水型、靜水型、陸地型及樹棲型 (Yang, 2010)，大部分的樹蛙屬於陸地型及樹棲型，以臺灣原生 6 種卵泡繁殖的樹蛙來說明：翡翠樹蛙、橙腹樹蛙、布氏樹蛙主要在樹上鳴叫及產卵之樹棲型；諸羅樹蛙則在樹上鳴叫地面產卵之混合樹棲及陸地型；臺北樹蛙及莫氏樹蛙則主要在地面鳴叫及產卵

之陸地型 (Yang, 2010)。此 6 種樹蛙卵泡皆會被蛙蠅寄生，其中陸地型臺北樹蛙雌蛙會將卵泡產於雄蛙所挖的泥洞中，利用泥土或雜草覆蓋，且冬季繁殖及卵泡受到良好的覆蓋大幅減少被蛙蠅寄生的機率 (Chuang, 1999; Lue and Lin, 2000)，少數遭寄生是因雨水沖刷泥洞，卵泡暴露才遭到寄生 (Zhang, 1989)。陸地型莫氏樹蛙全島分布，氣溫及繁殖棲地會影響莫氏樹蛙族群的繁殖活動 (Tsai and Yang, 2012)，低海拔地區的卵泡不易被寄生，但夏季時高海拔的卵泡寄生率為 24% (Lue and Lin, 2000; Lee and Lue, 2003)。混合樹棲及陸地型諸羅樹蛙，可能因蛙卵有特殊化學物質成分可殺死蟲卵、蛙胚胎發



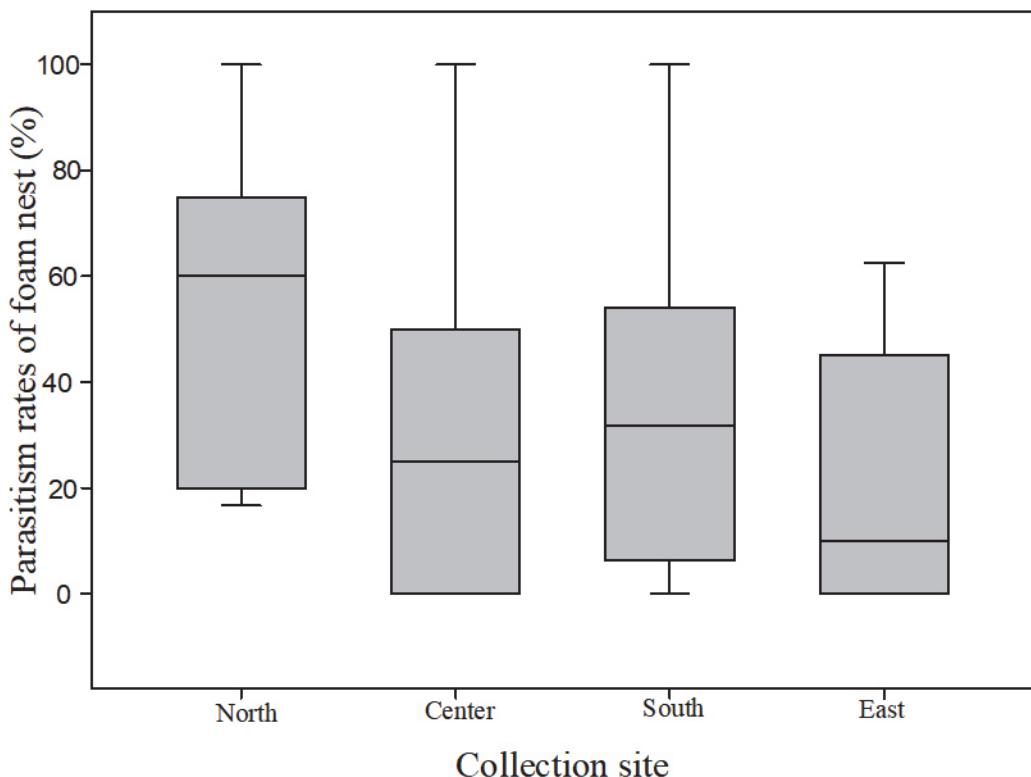
圖二 布氏樹蛙及其卵泡寄生蠅。(A) 布氏樹蛙卵泡；(B) 遭寄生之布氏樹蛙卵泡；(C) 卵泡中的紫絳蠅卵及甫孵化幼蟲；(D) 卵泡中的紫絳蠅老熟幼蟲；(E) 紫絳蠅成蟲；(F) 布氏樹蛙。

Fig. 2. Tree frog *Polypedates braueri* and its foam nest parasitoid fly *Caiusa violacea*. (A) Foam nest of *P. braueri*; (B) foam nest with parasites; (C) eggs and young maggots of *C. violacea* in the foam nest; (D) mature maggots of *C. violacea* in the foam nest; (E) adult *C. violacea*; (F) tree frog *P. braueri*.

育時間短及蝌蚪可避開蛙蠅幼蟲攻擊等因素，未遭到寄生 (Lue and Lin, 2000)。三種樹棲型之卵泡寄生率可達 30%以上，其中橙腹樹蛙族群數目少但因可能與僅分布於臺灣北部之翡翠樹蛙有相同的繁殖棲地，而同時遭到蛙蠅寄生 (Lue and Lin, 2000)；翡翠樹蛙全年皆可繁殖，高峰期是三月及九月至十一月 (Chen, 1992)，與紫絳蠅族群在五月至十月增長，高峰在六月，僅於九月至十月重疊兩個月 (Huang and Shiao, 2016)，但卵泡寄生率幾乎可達 100%，使翡翠樹蛙面臨嚴峻生存壓力 (Zhang, 1989; Chen and Lue, 1994; Lue and Lin, 2000)。

相比之下全島廣泛分布的布氏樹蛙，與紫絳蠅族群增長時間在六月至十月間重疊約 4 個月 (Huang and Shiao, 2016)，且卵泡被寄生 55%為 6 種卵泡繁殖的樹蛙最嚴重者 (Zhang, 1989; Lue and Lin, 2000)。

不同寄主樹蛙在地理分布上接近，使蛙蠅有機會拓殖新寄主，不同寄主有相同的生態職位 (*niche*)，使蛙蠅在新寄主上存活與繁殖，造成資源相隨 (*resource tracking*) 的現象。布氏樹蛙繁殖季與紫絳蠅族群增長時間的大量重疊，表明布氏樹蛙是臺灣北部紫絳蠅的主要寄主，紫絳蠅的垂直分布



圖三 臺灣各地理區布氏樹蛙卵泡被紫絳蠅寄生之寄生率。地區間沒有顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-squared₍₃₎ = 5.16, P = 0.16)。

Fig. 3. Parasitism rates of foam nests of *Polypedates braueri* by *Caiusa violacea* among the four geographical regions in Taiwan. No significant differences in parasitism rates between the study areas were observed (Kruskal-Wallis chi-squared₍₃₎ = 5.16, P = 0.16).

範圍從平地至約海拔 2000 m，適應力極強，從亞熱帶至溫帶氣候均能適應，因此可說是臺灣地區樹蛙卵泡最主要的天敵 (Huang and Shiao, 2016)。是否有寄主專一及寄生偏好，兩物種地理親緣結構是否存在共演化，留待後續深入檢視。

誌謝

本研究特別感謝臺灣大學昆蟲學系蕭旭峰教授及動植物防疫檢疫局臺中分局楊世綵博士協助卵泡寄生蠅標本物種鑑定，並提供寶貴的訊息。感謝劉哲元、林裕哲、蔡歆雁及昆蟲生態室成員協助全臺樣本採樣。

引用文獻

Bokermann WCA. 1957. Frog eggs parasitized by dipterous larvae. *Herpetologica* 13: 231-232.

Central Weather Bureau. 2010. Agro-

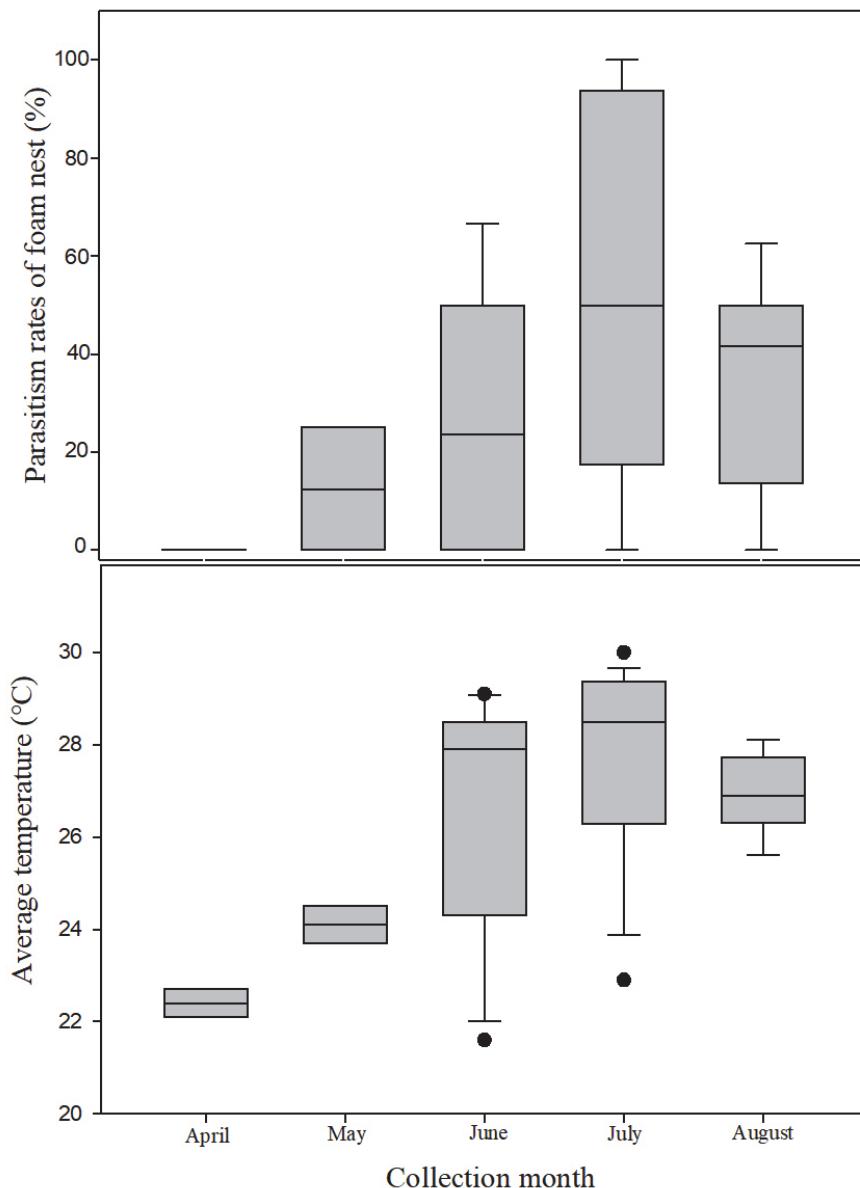
meteorological Bulletin. https://www.cwb.gov.tw/V8/C/L/agri_pdf.html.

Central Weather Bureau. 2011. Agrometeorological Bulletin. https://www.cwb.gov.tw/V8/C/L/agri_pdf.html.

Chan LM, Zamudio KR. 2009. Population differentiation of temperate amphibians in unpredictable environments. *Mol Ecol* 18: 3185-3200. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04273.x.

Chen SL. 1992. The reproductive behavior and ecology of emerald green tree frog (*Rhacophorus smaragdinus*) [Master Thesis]. Taipei City, Taiwan: National Taiwan Normal University. 69 pp. (in Chinese)

Chen SL, Lue KY. 1994. The reproductive behavior of emerald green tree frog (*Rhacophorus smaragdinus*). *BioFormosa* 29: 89-106. (in Chinese). doi: 10.29812/BBNTNU.199412.0005.



圖四 臺灣布氏樹蛙四月至八月之卵泡寄生率及平均氣溫。六月、七月、八月間沒有顯著差異 (Kruskal-Wallis, chi-square₍₂₎ = 3.68, P = 0.16)。平均氣溫資料來源參考自中央氣象局農業氣象旬報。

Fig. 4. Average temperature and parasitism rates of *Polypedates braueri* foam nests by *Caiusa violacea* from April to August in Taiwan. No significant differences in parasitism rates among the months (i.e., from June to August) were observed (Kruskal-Wallis chi-square₍₂₎ = 3.68, P = 0.16). The average temperature data were sourced from the Agro-meteorological Bulletin of the Central Weather Bureau.

Chou WH, Lin JY. 1997. Tadpoles of Taiwan. Special Publication No. 7, National Museum of Natural Science, Taichung, Taiwan. 98 pp.

Chuang, ZS. 1999. The reproductive behavior of farmland green tree frog (*Rhacophorus arvalis*) [Master Thesis]. Taipei City, Taiwan: School of Life Science, National Taiwan Normal University. 62 pp. (in Chinese)

Downie JR, Disney RHL, Collins L, Hancock EG. 1995. A new species of *Megaselia* (Diptera, Phoridae) whose larvae prey upon the eggs of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *J Nat Hist* 29: 993-1003. doi: 10.1080/00222939500770371.

Drewes RC, Altig R. 1996. Anuran egg predation and heterocannibalism in a breeding community of East African frogs. *Trop Zool* 9: 333-347. doi: 10.1080/03946975.1996.

- 10539316.
- Duellman WE, Trueb L.** 1994. Biology of amphibian. The Johns Hopkins University Press, Maryland, USA. 670 pp.
- Fan ZD.** 1992. Key of the common flies of China. Academy of Science, Shanghai. 992 pp. (in Chinese)
- Fritzsch B.** 1990. The evolution of metamorphosis in amphibians. *J Neurobiol* 21: 1011-1021. doi: 10.1002/neu.480210707.
- Hsu JL, Kam YC, Fellers GM.** 2012. Overwintering tadpoles and loss of fitness correlates in *Polypedates braueri* tadpoles that use artificial pools in a lowland agroecosystem. *Herpetologica* 68: 184-194. doi: 10.1655/HERPETOLOGICA-D-11-00042.1.
- Huang YZ, Shiao SF.** 2016. Morphological redescription and population fluctuation of frog flies, *Caiusa violacea* Séguay (Diptera: Calliphoridae), in Taiwan. *Formosan Entomol.* 36: 66-73. doi: 10.6662/TESFE. 2016008.
- Jang-Liaw NH, Lee TH, Chou WH.** 2008. Phylogeography of *Sylvirana latouchii* (Anura, Ranidae) in Taiwan. *Zool Sci* 25: 68-79. doi: 10.2108/zsj.25.68.
- Kuraishi N, Matsui M, Ota H, Chen SL.** 2011. Specific separation of *Polypedates braueri* (Vogt, 1911) from *P. megacephalus* (Hallowell, 1861) (Amphibia: Anura: Rhacophoridae). *Zootaxa* 2744: 53-61. doi: 10.11646/zootaxa. 2744.1.4.
- Lauck B.** 2005. Life-history studies and the impact of recent forest harvesting on two frog species, *Crinia signifera* and *Litoria ewingii*. *Tasforests* 16: 83-94.
- Lee WJ, Lue KY.** 2003. The reproductive behaviour and ecology of orange-belly treefrog, *Rhacophorus aurantiventris*. *BioFormosa* 38: 97-112. (in Chinese)
- Lin SS, Kuo CH, Lue KY.** 2000. Oviposition behavior and host selection of the frogfly, *Caiusa coomani* (Diptera: Calliphoridae). *Formosan Entomol* 20: 281-292. (in Chinese) doi: 10.6660/TESFE.2000027.
- Lingnau R, Di-Bernardo M.** 2006. Predation on foam nests of two leptodactylid frogs by *Solenopsis* sp. (Hymenoptera, Formicidae) and *Liophis miliaris* (Serpentes, Colubridae). *Biociências* 14: 223-224.
- Lue KY, Lin SS.** 2000. Investigation of foam nests (Rhacophoridae) infested by frogflies (Diptera) in Taiwan. *Formosan Entomol* 20: 267-280. (in Chinese) doi: 10.6660/TESFE. 2000026.
- Marshall DJ, Bonduriansky R, Bussière LF.** 2008. Offspring size variation within broods as a bet-hedging strategy in unpredictable environments. *Ecology* 89: 2506-2517.
- Matsui M, Seto T, Utsunomya T.** 1986. Acoustic and karyotypic evidence and for species separation of *Polypedates megacephalus* from *P. leucomystax*. *J Herpetol* 20: 483-489. doi: 10.2307/1564245.
- McDiarmid RW.** 1978. Evolution of parental care in frogs. pp. 127-147. In: Beckoff M, Burghardt G (eds). *The Development of Behavior*. Garland Publishing, New York.
- Menin M, Giaretta AA.** 2003. Predation on foam nests of leptodactyline frogs (Anura: Leptodactylidae) by larvae of *Beckeriella niger* (Diptera: Ephydriidae). *J Zool* 261: 239-243. doi: 10.1017/S0952836903004138.
- Neckel-Oliveira S, Wachlevski M.** 2004. Predation on the arboreal eggs of three species of *Phyllomedusa* in Central Amazônia. *J Herpetol* 38: 244-248.
- Rödel MO, Range F, Seppänen JT, Noë R.** 2002. Caviar in the rain forest: monkeys as frog-spawn predators in Taï National Park, Ivory Coast. *J Trop Ecol* 18: 289-294. doi: 10.1017/S0266467402002195.
- Rognes K.** 2011. The identity of the frog fly *Caiusa coomani* Séguay, 1948 (Diptera: Calliphoridae). *Zootaxa* 2735: 28-30. doi: 10.11646/zootaxa.2735.1.3.
- Rognes K.** 2015. Revision of the frog fly genus *Caiusa* Surcouf, 1920 (Diptera, Calliphoridae), with a note on the identity of *Plinthomyia emimelania* Rondani, 1875.

- Zootaxa 3952: 1-80. doi: 10.11646/zootaxa.3952.1.1.
- SAS Institute.** 2000. SAS/STAT® User's Guide. Cary, NC: Copyright (c) 2002-2012 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. SAS (r) Proprietary Software 9.4 (TS1M3 DBCS 3170). Authorized to National Chung Hsing University, Platform 12001710.
- Seymour RS, Loveridge JP.** 1994. Embryonic and larval respiration in the arboreal foam nests of the African frog *Chiromantis xerampelina*. *J Exp Biol* 197: 31-46.
- Shang GS, Li PH, Yang YR.** 2009. Field guide to amphibians and reptiles in Taiwan. Owl Publishing House Co., Ltd, Taipei, Taiwan. 336 pp. (in Chinese)
- Smith MA, Poyarkov NAJ, Hebert PDN.** 2008. DNA Barcoding: CO1 DNA barcoding amphibians: take the chance, meet the challenge. *Mol Ecol Resour* 8: 235-246. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01964.x.
- Toda M, Nishida M, Matsui M, Lue KY, Ota H.** 1998. Genetic variation in the Indian rice frog *Rana limnocharis* (Amphibia: Anura) in Taiwan, as revealed by allozyme data. *Herpetologica* 54: 73-82.
- Tsai WJ, Yang YR.** 2012. Altitude variation of *Rhacophorus moltrechti* breeding activities in Taroko National Park. *J Natl Parks* 22: 1-10. (in Chinese)
- Villa J.** 1977. A symbiotic relationship between frog (Amphibia, Anura, Centrolenidae) and fly larvae (Drosophilidae). *J Herpetol* 11: 317-322. doi: 10.2307/1563244.
- Villa J.** 1978. Symbiotic relationship of the developing amphibian embryo, with special reference to fly larvae [Unpubl. Ph.D. dissertation]. Ithica (NY): Cornell University. 199 pp.
- Villa J.** 1980. 'Frogflies' from Central and South America with notes on other organisms of the amphibian egg microhabitat. *Brenesia* 17: 49-68.
- Villa J, McDiarmid RW, Gallardo JM.** 1982. Arthropod predators of leptodactylid frog foam nests. *Brenesia* 19/20: 577-589.
- Vitt LJ, Caldwell JP.** 2008. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles* (3rd ed). Academic press, New York, USA. 720 pp.
- Warkentin KM.** 1995. Adaptive plasticity in hatching age: a response to predation risk trade-offs. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 3507-3510. doi: 10.1073/pnas.92.8.3507.
- Yang ST, Kurahashi H, Shiao SF.** 2014. Keys to the blow flies of Taiwan, with a checklist of recorded species and the description of a new species of *Paradichosia* Senior White (Diptera, Calliphoridae). *Zookeys* 434: 57-109. doi: 10.3897/zookeys.434.7540.
- Yang YR.** 1998. A field guide to the frogs and toads of Taiwan. Chinese Photography Association, Taipei, Taiwan. 143 pp. (in Chinese)
- Yang YR.** 2010. Distribution and habitat utilization of frogs in Taiwan. *Taiwan Museum Quarterly* 29: 46-49. (in Chinese)
- Yang YR.** 2011. Records of alien anuran *Polypedates megacephalus* on Taiwan. *Taiwan Nat Sci* 30: 76-79. (in Chinese)
- Yang YR, Gong WB.** 2014. Distribution of *Polypedates megacephalus* Hallowell, 1861 (Rhacophoridae, Anura, Amphibia) in Taiwan. *TW J Biodivers* 16: 21-32. (in Chinese)
- Yorke CD.** 1983. Survival of embryos and larvae of the frog *Polypedates leucomystax* in Malaysia. *J Herpetol* 18: 235-241. doi: 10.2307/1563825.
- Zhang SM.** 1989. The reproductive behavior of *Rhacophorus megacephalus* [Master Thesis]. Taipei City, Taiwan: Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University. 55 pp. (in Chinese)

Regional and Monthly Differences in Parasitism Rate on the Foam Nest of *Polypedates braueri* (Vogt) (Anura: Rhacophoridae) by *Caiusa violacea* Séguy (Diptera: Calliphoridae)

An-Ru Wang¹, Cheng-Lung Tsai², Ming-Chih Chiu³, Mei-Hwa Kuo^{1*}

¹ Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung City, Taiwan

² Department of Biology, National Museum of Natural Science, Taichung City, Taiwan

³ Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Matsuyama, Japan

* Corresponding email: mhkuo@dragon.nchu.edu.tw

Received: 24 March 2021 Accepted: 14 October 2021 Available online: 12 November 2021

ABSTRACT

Close interactions were observed between widespread tree frogs *Polypedates braueri* (Vogt) and foam-nest parasitoid flies *Caiusa violacea* Séguy. In this study, we collected 222 foam nests from 37 collection sites across Taiwan. The mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) was used for species identification of foam nests. We successfully amplified 61 sequences of the COI gene and identified these foam nests as *P. braueri*. The parasitism rates among these 61 foam nests varied from 0 to 100%, and the average, median and mode were 37%, 33%, and 0%, respectively. The average parasitism rate in the eastern regions (22%) was lower than that in the central (31%), southern (38%), and northern regions (55%). No significant differences in parasitism rate were observed between the study geographical regions (Kruskal-Wallis chi-square₍₃₎ = 5.16, *P* = 0.16). Moreover, the parasitism rate that emerged in April, May, and June were 0%, 13%, and 25%, respectively; the peak parasitism rate was observed in July (51%), which then dropped in August (35%). The parasitism rates differed significantly between June and August (Kruskal-Wallis chi-square₍₂₎ = 3.68, *P* = 0.16). This phenomenon is similar to the timeline for the reproductive biology of *P. braueri*. The parasitism rate of the foam nests among the months were deduced in relation to the life cycle of *C. violacea*. The frog fly population may increase in May, which may consequently increase the parasitism rate of foam nests. The population dynamics between the parasitoid and the host were observed in these two species. Whether coevolution exists between these two species requires further research.

Key words: *Polypedates braueri*, *Caiusa violacea*, foam nests, parasitism rate, COI gene