

國立台東大學生命科學研究所

碩士論文

指導教授：彭仁君 博士

港口馬兜鈴葉片之馬兜鈴酸含量及其對
紅紋鳳蝶產卵之作用

**The aristolochic acids content of *Aristolochia*
zollingeriana leaves and its effect on
oviposition of *Pachliopta aristolochiae*
*interpositas***

研究生：李宗憲 撰

中華民國九十七年七月



國立台東大學生命科學研究所

碩士論文

港口馬兜鈴葉片之馬兜鈴酸含量及其對
紅紋鳳蝶產卵之作用

**The aristolochic acids content of *Aristolochia*
zollingeriana leaves and its effect on
oviposition of *Pachliopta aristolochiae*
*interpositas***

研 究 生： 李宗憲 撰

指導教授：彭仁君 先生

中華民國九十七年七月

國立台東大學
學位論文考試委員審定書
系所別：生命科學研究所

本班 李宗憲 君

所提之論文 港口馬兜鈴葉片之馬兜鈴酸含量及其對紅紋鳳蝶產卵之作用

業經本委員會通過合於 ☒ 碩士學位論文 條件
☐ 博士學位論文

論文學位考試委員會：鄧耀倫
(學位考試委員會主席)

李英

胡仁君
(指導教授)

論文學位考試日期：97年 6 月 25 日

國立台東大學

附註：1. 本表一式二份經學位考試委員會簽後，送交系所辦公室及註冊組或進修部存查。
2. 本表為日夜學制通用，請依個人學制分送教務處或進修部辦理。

博碩士論文授權書

本授權書所授權之論文為本人在 國立臺東大學 生命科學 系(所)
組 九十六 學年度第 二 學期取得 碩 士學位之論文。
論文名稱：港口馬兜鈴葉片之馬兜鈴酸含量及其對紅紋鳳蝶產卵之作用

本人具有著作財產權之論文全文資料，授權予下列單位：

同意	不同意	單 位
☒	☐	國家圖書館
☒	☐	本人畢業學校圖書館
☒	☐	與本人畢業學校圖書館簽訂合作協議之資料庫業者

得不限地域、時間與次數以微縮、光碟或其他各種數位化方式重製後散布發行或上載網站，藉由網路傳輸，提供讀者基於個人非營利性質之線上檢索、閱覽、下載或列印。

☒ 同意 ☐ 不同意 本人畢業學校圖書館基於學術傳播之目的，在上述範圍內得再授權第三人進行資料重製。

本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會)的附件之一，申請文號為：_____，請將全文資料延後半年再公開。

公開時程

立即公開	一年後公開	二年後公開	三年後公開
			☒

上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行權利。依本授權所為之收錄、重製、發行及學術研發利用均為無償。上述同意與不同意之欄位若未勾選，本人同意視同授權。

指導教授姓名：彭仁君 (親筆簽名)

研究生簽名：李宇憲 (親筆正楷)

學 號：9400816 (務必填寫)

日 期：中華民國 97 年 7 月 7 日

1. 本授權書(得自 <http://www.lib.ntu.edu.tw/theses/> 下載)請以黑筆撰寫並影印裝訂於書名頁之次頁。

2. 依據 91 學年度第一學期一次教務會議決議：研究生畢業論文「至少需授權學校圖書館數位化，並至遲於三年後上載網路供各界使用及校內瀏覽。」

授權書版本: 2008/05/29

致謝

終於畢業啦！真的要特別感謝我的指導老師 彭仁君 博士，沒有老師的收留，就不可能有這本論文的產生。從研究方向、實驗設計、論文撰寫到最後的口試，老師總是不厭其煩的督促我，在給老師指導的過程中，老師被驚鈍的我折磨到快瘋了！真的很對不起。

此外，非常感謝本校生命科學研究所所長 李炎 博士和國立屏東科技大學森林系 郭耀綸 博士兩位口試委員特別抽空遠道而來，並給予我寶貴的指導與建議，讓我受益匪淺。

研究期間特別感謝學長 尚澄 給我許多的建議與協助。也要感謝 淳信 的經驗指教，讓我能順利進入紅紋鳳蝶的研究。感謝花蓮農業改良場的 李武峰 先生在儀器上的協助與教導。也要感謝墾丁國家公園管理處 謝桂禎 學姊及龍鑾潭自然中心在實驗期間的協助。感謝 佩君、玟伶 及 青苓，在我研究最徬徨時，給我許多關心與鼓勵。感謝所上的 惠嵐 小姐、淳信、文楷 及 玉珊 協助口試的各項事宜。

最後感謝父母給我的支持與鼓勵，還不時為我加油與安慰。感謝我的女友 美慧 在就讀研究所期間對我的照顧與體貼。

再一次感謝我的指導老師 彭仁君 博士，謹致上無限的感激與謝意！

港口馬兜鈴葉片之馬兜鈴酸含量及其對 紅紋鳳蝶產卵之作用

李宗憲

國立台東大學生命科學研究所

摘要

紅紋鳳蝶 (*Pachliopta aristolochiae interposita* Fruhstorfer) 對食草港口馬兜鈴 (*Aristolochia zollingeriana* Miq.) 嫩葉有明顯之產卵偏好。我們推測港口馬兜鈴嫩葉是因含有較高量的馬兜鈴酸 (Aristolochic acid)，紅紋鳳蝶才有較高的產卵偏好。因此本論文將比較港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量，以探討其對紅紋鳳蝶產卵反應之影響。首先使用 HPLC 測定野生港口馬兜鈴嫩、熟及老三種不同生長期葉片的馬兜鈴酸含量，並比較其間之差異。研究結果發現，港口馬兜鈴嫩、熟及老三種葉片之馬兜鈴酸含量具有顯著差異，aristolochic acid I 和 total aristolochic acid 含量在嫩葉與熟葉、老葉組間之平均值都具有顯著差異。其次，為檢驗雌蝶對不同生長期葉片馬兜鈴酸含量之產卵偏好反應，將觀察網箱分別放入港口馬兜鈴之嫩葉、老葉、蓮葉桐葉片或塗上不同濃度之馬兜鈴

酸標準品溶液的不同試驗條件葉片之組合，再分別將雌蝶單隻放入觀察網箱中，任其產卵十分鐘後，計數各試驗條件葉片上的卵數。結果顯示紅紋鳳蝶確實偏好產卵於港口馬兜鈴嫩葉，而原本在港口馬兜鈴老葉和蓮葉桐葉片之產卵數量明顯偏低，但將其葉片塗上馬兜鈴酸後其產卵數卻有顯著增加。所以馬兜鈴酸應有誘導紅紋鳳蝶產卵之作用，而港口馬兜鈴不同生長期葉片中馬兜鈴酸含量之高低也會影響紅紋鳳蝶產卵量之多寡。

關鍵字：紅紋鳳蝶、港口馬兜鈴、馬兜鈴酸、產卵偏好、產卵誘導物

**The aristolochic acids content of *Aristolochia zollingeriana*
leaves and its effect on oviposition of *Pachliopta aristolochiae*
*interpositas***

Tsung-Hsien Li

Abstract

Pachliopta aristolochiae interpositas Fruhstorfer prefers to lay eggs on young leave of the food plant, *Aristolochia zollingeriana* Miq. We suggest that the young leave content more ovipositing attractant, aristolochic acids than older leave. This study compared aristolochic acid content in different stages of *A. zollingeriana* leaves, and discussed their influence on the oviposition response of *P. aristolochiae interpositas*. We measured aristolochic acid content in three different stages of *A. zollingeriana* leaves by HPLC. Total aristolochic acid and aristolochic acid I showed significant differences among the different stages of *A. zollingeriana* leaves. Furthermore, to examine the oviposition response of female butterfly, we put different treated leaves into a test box, and then put a single female to lay in a test box. After 10 minutes we counted egg number on the leaves of each test. *P. aristolochiae interpositas* showed no preference to lay eggs on the old leave and the non-host plant leave, however after

brushing aristolochic acid on them the egg number obviously increased. In conclusion, aristolochic acid could induce the oviposition response of *P. aristolochiae interpositas*, and the different aristolochic acid content in the different stages of *A. zollingeriana* leaves also affected the egg number of *P. aristolochiae interpositas* laid on them. The preferred stage of *A. zollingeriana* leaves which female butterflies choose to oviposit on it would affect their larval growth and survival.

Keyword : *Pachliopta aristolochiae interpositas*, *Aristolochia zollingeriana*, Aristolochic acid, Oviposition preference, Ovipositing attractant.



目錄

中文摘要.....	i
英文摘要.....	iii
目錄.....	v
表目錄.....	vii
圖目錄.....	viii
壹、前言.....	1
貳、材料及方法.....	3
一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量測定.....	3
二、紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應.....	5
三、野生港口馬兜鈴不同生長期葉片內營養成份測定.....	8
參、結果.....	13
一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量.....	13
二、紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應.....	14
三、野生港口馬兜鈴不同生長期葉片內營養成份.....	16
肆、討論.....	17
一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量.....	17
二、紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應.....	18

伍、結論.....	21
陸、引用文獻.....	22



表目錄

表 1. 墾丁地區港口馬兜鈴不同生長期葉片之樣本資料.....	25
表 2. 港口馬兜鈴嫩葉、熟葉及老葉所含之馬兜鈴酸含量 ($\mu\text{g g}^{-1}$) 比較.....	26
表 3. 港口馬兜鈴不同生長期葉片之營養成份($\text{g } 100\text{g}^{-1}$).....	27



圖目錄

圖 1. 馬兜鈴酸化學結構式.....	28
圖 2. 港口馬兜鈴嫩葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖.....	29
圖 3. 港口馬兜鈴熟葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖.....	30
圖 4. 港口馬兜鈴老葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖.....	31
圖 5. 馬兜鈴酸標準品 HPLC 分析圖.....	32
圖 6. 馬兜鈴酸標準品之檢量線及迴歸方程式.....	33
圖 7. 不同生長期每公克葉片樣本總馬兜鈴酸含量比較.....	34
圖 8. 紅紋鳳蝶在四種葉片之產卵數頻度分布比較.....	35
圖 9. 紅紋鳳蝶在有塗與未塗馬兜鈴酸蓮葉桐葉片之產卵數頻度分布比較.....	36
圖 10. 紅紋鳳蝶在有塗與未塗馬兜鈴酸港口馬兜鈴老葉之產卵數頻度分布比較.....	37
圖 11. 紅紋鳳蝶在港口馬兜鈴嫩葉和塗馬兜鈴酸老葉之產卵數頻度分布比較.....	38

壹、前言

紅紋鳳蝶 (*Pachliopta aristolochiae interpositas* Fruhstorfer)，英名為 common rose swallowtail，其幼蟲均以馬兜鈴科植物為食 (Rausher, 1981)。

港口馬兜鈴 (*Aristolochia zollingeriana* Miq.) 屬馬兜鈴科 (Aristolochiaceae)，為多年生藤本植物。港口馬兜鈴僅狹隘分布於蘭嶼、台灣南部恒春半島等地區，但在台北、埔里、集集等地區則曾有人工栽培記錄 (何和張, 1997)。

多數植食性昆蟲選擇和接受作為產卵基質或食物來源會根據來自植物的化學刺激 (Renwick and Chew, 1994)。許多昆蟲能分泌具有毒性及忌避作用的警戒性費洛蒙 (alarm pheromone)，用以保護自己防禦敵人，而寄主植物體所含的化學成份，可能扮演蝴蝶天敵忌避物 (deterrent)、雌蝶產卵誘導劑 (ovipositing attractants) 及幼蟲攝食誘導劑 (feeding attractants) 等 (Ohsugi et al., 1985; Nishida and Fukami, 1989b)。鱗翅目昆蟲的產卵偏好性受到下列因子所影響，包括 (1) 寄主植物的化學因子，(2) 寄主植物的形態及棲所，(3) 雌蟲產卵行為的遺傳性及 (4) 與幼蟲生長發育相關的因子 (Thompson and Pellmy, 1991)。葉片的形狀和大小與寄主植物所表現出不同的生理狀況，也會影響蝴蝶產卵 (Ilse, 1937; Rausher, 1978; Stanton, 1982)。植物的部位對於產卵偏好亦會產生影響 (Papa j and Rausher, 1987)。產卵位置的分布呈現同種間的資源分配型式，此將影響同種個體彼此間的競爭與存活，因此雌蝶產卵位置的分布決定了未來生活史特性表現與所受到的環境壓力 (William and Resetarits, 1996)。野外觀察發現紅紋鳳蝶對野生港口馬兜鈴之嫩葉有偏好產卵的趨勢 (謝等, 2006)。食草為馬

兜鈴科植物的鳳蝶可藉由視覺及觸角上的嗅覺感受器尋找到馬兜鈴的位置後，然後利用前足跗節（foretarsus）之化學感受器（chemoreceptor）探測馬兜鈴酸，由於此行為似敲擊的動作，一般稱之為擊鼓反應（drumming reaction），在探測數次確定為其寄主植物後，才會將卵產於寄主植物上（Ehrlich et al., 1964；Feeny and Carter, 1983；Chew and Kobbins, 1984；Nishida and Fukami, 1989a）。

Atrophaneura alcinous Klug 鳳蝶產卵誘導物已知為 sequoyitol（Nishida and Fukami, 1989a），而 *Battus philenor* Linnaeus 鳳蝶卻為 D-(+)-pinitol（Feeny et al., 1992）。還有一種 cabbage butterfly（*Pieris rapae* Linnaeus）產卵誘導物為 glucobrassicin 和 sinigin 兩種（Traynier and Truscott, 1991）。綜合以上，我們提出試驗之假說為港口馬兜鈴嫩葉是因為含較高量的產卵誘導物-馬兜鈴酸，紅紋鳳蝶才有較高的產卵偏好。因此本研究目的為比較港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量，並探討馬兜鈴酸含量高低對紅紋鳳蝶產卵反應之影響。

貳、材料與方法

一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量測定

(一) 分析試驗用之葉片來源

2007 年 8 月 31 日在分布於屏東鵝鸞鼻燈塔公園內步道旁五棵野生港口馬兜鈴植株及鵝鸞鼻燈塔公園外道路旁四棵野生港口馬兜鈴植株，其樹冠高度分別介於 210~570 cm，採樣高度則分別介於 70~467 cm，取得不同植株的嫩葉（淡黃綠色葉片）、熟葉（深綠色葉片）、老葉（黃化但尚未乾枯的老化葉片）共二十四個葉片樣本。

(二) HPLC 定量分析馬兜鈴酸所需之藥品

1. 馬兜鈴酸 (aristolochic acid) 標準品：29 %aristolochic acid I 和 66 %aristolochic acid II，製造商 SIGMA (U.S.A.)。aristolochic acid I 為黃色針狀結晶；學名 3, 4-亞甲二氧基-8-甲氧基-10-硝基-1-菲羧酸。分子式 $C_{16}H_9O_7N$ 。熔點 281~286 °C(分解)；aristolochic acid II 即 3, 4-亞甲二氧基-10-硝基-1-菲羧酸，分子式 $C_{16}H_9O_6N$ ；熔點 275~276 °C(分解)。馬兜鈴酸化學結構式如圖 1。
2. 95 %乙醇 (ethanol)、99 %乙醇 (ethanol)、乙腈 (acetonitrile)、醋酸 (acetic acid)。

(三) 馬兜鈴酸定量分析儀器

1. HPLC 系統：Waters 600E Multisolvent Delivery System；600 Column Heater；2996 Photodiode Array Detector；Empower Software。
 2. 分離管：Phenomenex Luna 5 μ C18 (25 cm*4.6 mm)。
- HPLC 系統及分離管為花蓮農業改良場分析實驗室借用。
3. 丟棄式無菌過濾器：Millipore Millex filter (13 mm)，濾膜為 PVDF 材質，濾膜孔徑為 0.22 μ m。

(四) 葉片內馬兜鈴酸之萃取

將採自墾丁地區之二十四個港口馬兜鈴葉片樣本(表 1)用微量天平稱重，嫩葉平均單葉重為 0.34 ± 0.03 g (N=10)、熟葉為 0.83 ± 0.04 g (N=7)、老葉為 0.78 ± 0.05 g (N=7)，然後分別剪成大小一致的碎片，將每一樣本隨機取樣稱重 0.2 g，分別用 95 %乙醇 10 ml 浸泡而二十四小時後，取出粗萃取液，重複浸泡萃取三次，再於 50 °C 水浴鍋重複浸泡萃取三次。收集六次粗萃取液，加溫濃縮到完全乾燥，再加入 99 %乙醇 1 ml，並用超音波震盪機加速回溶，最後用針筒和丟棄式無菌過濾器濾除雜質，分別裝入樣品瓶標上標籤。

(五) 馬兜鈴酸定量分析

取 10.8 mg 馬兜鈴酸標準品溶於 10 ml 之 99 %乙醇，分別取 1 ml、0.75 ml、0.5 ml、0.25 ml、0.1 ml 馬兜鈴酸標準品溶液依序再加 0 ml、0.25 ml、0.5 ml、0.75 ml、0.9 ml 之 99 %乙醇，分別做成五瓶 1 ml 不同濃度的馬兜鈴酸標準品溶液，然後使用 HPLC 分析。HPLC 儀器內管柱分析的移動相為乙腈(acetonitrile)

/2 %醋酸 (acetic acid) (45 : 55, v/v)，移動相流速為 1 ml/min，將 UV 設定波長為 250 nm 以偵測馬兜鈴酸標準品中馬兜鈴酸的存在。UV 偵測到馬兜鈴酸會以波峰面積表現馬兜鈴酸之濃度，積分波峰面積換算成馬兜鈴酸標準品之濃度，做成馬兜鈴酸標準品的檢量線及迴歸方程式。

將採自墾丁地區之二十四個港口馬兜鈴葉片樣本依上述相同試驗條件分析，積分葉片樣本波峰面積代入迴歸方程式，換算為個別葉片樣本的馬兜鈴酸含量。三種不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量以 SAS(1989)統計軟體之一般線性模型(GLM)進行變異數分析，再以 LSD test 比較嫩葉、熟葉、老葉三組間差異之顯著性，顯著水準設定為 $P < 0.05$ 。

二、 紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應

(一) 產卵試驗用之葉片來源

本研究樣區在屏東縣墾丁國家公園龍鑾潭自然中心內，其樣區為長 15.2 m 寬 5.6 m 及高 2.2 m 之網室，網室內共有六個區塊，各為長 6 m 寬 1 m 及高 0.8 m 的水泥花台，每一區塊內種植有 30~40 棵多年生長之港口馬兜鈴植株，攀附生長於高 130 cm 及長 55 cm 之鐵絲網。從 2008 年 2 月起試驗期間內，除每週固定澆水外，不噴灑任何農藥或肥料，任由原本之植株自然生長，再分別標記下不同生長期的港口馬兜鈴葉片：嫩葉（淡黃綠色葉片，相當於頂芽下第 4~8 片葉）、熟葉（深綠色葉片，相當於頂芽下第 11~15 片葉）、老葉（黃化但尚未乾枯的老化葉片），以供往後產卵試驗之所需。

非食草植物使用蓮葉桐 (*Hernandia nymphiifolia* Presl Kubitzki) 之葉片

來進行試驗，本植物為蓮葉桐科常綠喬木，本網室內花台及盆栽皆有種植，因與港口馬兜鈴葉片外觀形狀大小皆相似，但葉片無馬兜鈴酸成份，故使用作為對照組。

（二）產卵試驗雌蝶來源

在屏東縣墾丁國家公園龍鑾潭自然中心研究樣區內，2008 年 2 月 18 日至 2008 年 3 月 16 日試驗期間內早上九點至下午三點，打開樣區網室兩個離地 20 cm 寬 90 cm 高 160 cm 之紗門，等待自行飛入網室之紅紋鳳蝶，將其捕捉並分辨性別，雄蝶使用直徑 100 cm 高 200 cm 的圓柱形蚊帳套住，雌蝶則關入長寬高各 45 cm 之觀察網箱，以供往後產卵試驗之所需。

（三）不同葉片組合之產卵反應試驗

1. 四種葉片之產卵試驗

本研究自 2008 年 2 月 18 日至 2008 年 3 月 16 日，在早上九點至下午三點，每一整點觀察並記錄樣區的天氣、氣溫、相對溼度，準備兩至四個長寬高各 45 cm 四面紗網兩面塑膠布之立體觀察網箱，於觀察網箱頂面的四個角落黏貼上當日摘採之四種試驗葉片各一片：港口馬兜鈴嫩葉、港口馬兜鈴老葉、蓮葉桐葉片、兩葉面均勻塗上濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ 馬兜鈴酸溶液一毫升之蓮葉桐葉片，試驗葉片面積大小盡量一致，將設定完成的觀察網箱擺放於離網室 6 m 外的樹陰下，隨後將紅紋鳳蝶雌蝶關入觀察網箱，計時 10 分鐘試驗雌蝶產卵反應，

試驗時間終止後將雌蝶移出觀察網箱，分別計數各試驗葉片葉面、葉背、葉

柄、葉片之外五公分範圍內之卵數，將完成試驗之雌蝶關入內有 50 cm 長具嫩葉之嫩莖的觀察網箱，若此雌蝶持續有產卵反應，則再進行上述試驗至其無產卵反應為止。

2. 有塗及未塗馬兜鈴酸之蓮葉桐葉片產卵試驗

為了確認馬兜鈴酸對紅紋鳳蝶的產卵作用，所以再進行第二種試驗。本試驗之步驟與試驗一相同，但觀察網箱中試驗葉片改為：一對角頂部角落各黏貼上蓮葉桐葉片，另一對角角落則各黏貼上兩葉面均勻塗有濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ 馬兜鈴酸溶液一毫升之蓮葉桐葉片。

3. 有塗及未塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗

為了比較葉片中馬兜鈴酸含量對紅紋鳳蝶的影響，所以再進行第三種試驗。試驗步驟與試驗一相同，但觀察網箱中試驗葉片改為：一對角頂部角落各黏貼上港口馬兜鈴老葉，另一對角角落則各黏貼上兩葉面均勻塗有濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ 馬兜鈴酸溶液一毫升之港口馬兜鈴老葉。

4. 港口馬兜鈴嫩葉和塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗

為了解人工添加馬兜鈴酸和實際葉片中所含的馬兜鈴酸對紅紋鳳蝶的影響差異，故進行第四種試驗。試驗步驟與試驗一相同，但觀察網箱中試驗葉片改為：一對角頂部角落各黏貼上港口馬兜鈴嫩葉，另一對角角落則各黏貼上兩葉面均勻塗有濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ 馬兜鈴酸溶液一毫升之港口馬兜鈴老葉。

(四) 資料分析

以 SAS (1989) 統計軟體進行下列各類型資料之分析。

(1) 四種葉片產卵試驗之產卵數差異分析。

Friedman's Test 為一無母數分析方法，用於檢定三組以上相依(不獨立)且為類別數據的樣本資料是否有顯著差異。但 Friedman's Test 是使用變數的等級平均數而不是使用原始數據的平均數與標準差，且是利用卡方分析比較等級值和期望值，而不是算出 F 值 (楊，2002；林，2006)。

(2) 兩種處理葉片產卵試驗之產卵數差異分析。

Wilcoxon Signed-Rank Test 為一無母數分析方法，用於檢定兩組相依(不獨立)且為類別數據的樣本是否有顯著差異。用來取代 T 檢定來檢定兩個樣本是否來自同樣分布與同樣中間值，會將原始數據轉換排序分數並加上正負符號，再進行 Z 檢定分析樣本差異 (楊，2002；林，2006)。

三、 野生港口馬兜鈴不同生長期葉片內營養成份測定

為比較野生港口馬兜鈴嫩、熟及老葉營養成份差異，以做為探討雌蝶產卵反應可能受到營養成份差異之影響。本研究另外在 2008 年 1 月 30 日在分布於屏東鵝鸞鼻燈塔公園內步道旁野生港口馬兜鈴植株及鵝鸞鼻燈塔公園外道路旁野生港

口馬兜鈴植株中，採樣不同植株的嫩葉、熟葉、老葉各濕重 300 公克，於當日以冷藏方式寄送財團法人食品工業發展研究所檢測，檢驗項目為葉片之水分、灰分、粗纖維、總氮及葉綠素含量。

1. 水分測定：依照 CNS 5033 水分之檢驗方法。取約 3 g 之樣品入試驗皿內，再將試驗皿秤重，精確秤至 0.0001 g。然後將之移置萬用烘箱內，加熱 2 小時，溫度調節在 103 ± 2 °C。再將試驗皿及內容物移入乾燥器內冷卻，待冷卻至室溫時秤重，精確秤 0.0001 g，如此反覆操作，一直到前後兩次（加熱間隔 1 小時）之重量差異不超過 0.1 % 為止。同一試樣應同時定量兩次。

計算： $X = (m1 - m2) / (m3 - m1) \times 100$

X：樣品中水分的含量（%）；

m1：試驗皿和樣品的重量（g）；

m2：試驗皿和樣品乾燥後的重量（g）；

m3：試驗皿的重量（g）。

2. 灰分測定：依照 CNS 5034 灰分之檢驗方法。將坩鍋置入灰化爐中以 600 °C 加熱 30 分鐘後，置入乾燥器內冷卻，精確秤重至 0.0001 g。取約 2 g 之樣品入坩鍋內，再將坩鍋秤重，精確秤至 0.0001 g。將坩鍋置入灰化爐中，先將溫度調至 300 °C，待 60 分鐘後，再將溫度調至 600 °C，240 分鐘，待溫度降至約 100 °C，置入乾燥器內冷卻，精確秤重至 0.0001 g。若灰分內含有黑色顆粒，則再加入少許蒸餾水，並將坩鍋置入灰化爐中以 600 °C 灰化 120 分鐘後，置入乾燥器內冷卻，精確秤重至 0.0001 g。至灰化完全。如此反覆操作，一直到前後兩次秤重結果相差不超過 0.1 % 為止。同一試樣應同時定量兩次。

計算： $X=(m_1-m_2)/(m_3-m_1)\times 100$

X：樣品中灰分的含量（%）；

m₁：坩鍋和樣品的重量（g）；

m₂：坩鍋和樣品灰化後的重量（g）；

m₃：坩鍋的重量（g）。

3. 粗纖維測定：依照 CNS 5037 粗纖維之檢驗方法。前處理為將坩鍋以 10 % 鹽酸洗淨並以 600 °C 灰化四小時並與無灰濾紙袋精確秤至 0.0001 g。取約 2 g 之樣品封裝入無灰濾紙袋，置於 500 mL 長頸瓶，加入 2 顆沸石與 200 mL 1.25 % 硫酸，於加熱器上煮沸後計時 30 分鐘，倒掉硫酸，以熱水洗瓶至石蕊試紙測試為中性；再倒入煮沸之 200 mL 1.25 % 氫氧化鈉，煮沸 30 分鐘後，倒掉並以熱水洗至中性，最後以 25 mL 95 % 酒精清洗並置入烘箱內烘乾。含經酸鹼分解樣品之無灰濾紙袋精確秤重後，將之灰化後再精確秤重至 0.0001 g，至灰化完全，如此反覆操作，一直到前後兩次秤重結果相差不超過 0.1 % 為止。同一試樣應同時定量兩次。

計算： $X=(m_1-m_2)/m_3\times 100$

X：樣品中粗纖維的含量（%）；

m₁：灰化前後重量差（g）；

m₂：無灰濾紙袋灰化前後重量差（g）；

m₃：樣品重（g）。

4. 總氮測定：依據 CNS 5035 總氮之檢驗方法。取約 0.5 g 之樣品入秤量紙上，再將秤量紙秤重，精確秤至 0.0001 g，將秤量紙及供檢試樣放入消化管中。於消

化管中加入 1 粒催化劑，沿管壁慢慢加入濃硫酸，置於 450 °C 分解消化爐上加熱分解約 40 分鐘，至消化管內液體呈透明狀，取出冷卻至室溫，沿管壁慢慢加入蒸餾水，混合均勻。取 4 % 硼酸吸收液 25 ml 於 250 ml 之三角瓶中，放置於蒸餾裝置之冷凝器下，務使冷凝器下端玻管直通瓶內液體表面之下。消化管放置於蒸餾位置，緩壓鹼液管，打開蒸氣閥，開始加熱蒸餾，至氮完全被硼酸吸收，收集之餾出液至少 150 ml，此時溶液呈綠色。關閉蒸氣閥，移走接收瓶。以標定過之 0.1 N 硫酸溶液滴定三角瓶中之餾出液（顏色由綠色變紫紅色）。同一試樣應同時定量兩次。同一方法做試劑空白試驗。

$$\text{計算：} X = ((V_1 - V_2) * N * 0.014) / m \times 100$$

X：樣品中總氮的含量（%）；

V1：樣品消耗硫酸標準液的體積（ml）；

V2：試劑空白消耗硫酸標準溶液的體積（ml）；

N：硫酸標準溶液的當量濃度；

0.014：1 N 硫酸標準溶液 1 ml 相當於氮克數；

m：樣品重（g）；

5. 葉綠素測定：依據 AOAC 942.04 葉綠素之檢驗方法。取 2 g 樣品加入 0.5 g CaCO_3 和 20 ml 85 % 丙酮混合後抽器過濾，將濾紙上的殘渣加入 20 ml 85 % 丙酮洗淨後去抽器過濾，若殘渣還是為綠色時，則反覆的再次加入 85 % 丙酮洗淨去抽器過濾直到殘渣不呈綠色為止。將收集的濾液加丙酮定容至 100 ml。取出濾液再加上等量乙醚在分液漏斗中混合後靜置，取上層乙醚層以分光光度計測定波長區域（660 nm 和 642 nm）的吸光度去測定（在 0.2~0.8 範圍之間最佳）。同一試樣應同時定

量兩次。

$$\text{計算：葉綠素 a (mg/100 g)} = 9.93 \times A_{660} - 0.8 \times A_{642}$$

$$\text{葉綠素 b (mg/100 g)} = 17.6 \times A_{642} - 2.81 \times A_{660}$$

$$\text{總葉綠素 (mg/100 g)} = 16.8 \times A_{642} + 7.12 \times A_{660}$$



參、結果

一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量

(一) 馬兜鈴酸標準品的檢量線及迴歸方程式

如同圖 6 所顯示標準品中 aristolochic acid I，在濃度 31.32~313.2 $\mu\text{g/ml}$ 範圍內，分析方法均顯示有良好的線性關係，其線性迴歸方程式及判定係數 (R^2) 分別為下列所示：x 為 aristolochic acid I 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)、y 為 peak area。迴歸方程式： $y = 22756x - 26331$ ， $R^2 = 0.9999$ 。

標準品中 Aristolochic acid II，在濃度 71.28~712.8 $\mu\text{g/ml}$ 範圍內，分析方法均顯示有良好的線性關係，其線性迴歸方程式及判定係數 (R^2) 分別為下列所示：x 為 aristolochic acid II 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)、y 為 peak area。迴歸方程式： $y = 51013x + 133451$ ， $R^2 = 0.9995$ 。

標準品中 total aristolochic acid，在濃度 102.6~1206 $\mu\text{g/ml}$ 範圍內，分析方法均顯示有良好的線性關係，其線性迴歸方程式及判定係數 (R^2) 分別為下列所示：x 為 total aristolochic acid 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)、y 為 peak area。迴歸方程式： $y = 73768x + 107120$ ， $R^2 = 0.9997$ 。

(二) 不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量比較

結果如同表 2，葉片樣本馬兜鈴酸含量換算方法：以嫩葉 aristolochic acid II peak area 平均值 ($n=10$) 8950679.8 為例，代入標準品迴歸方程式 $y = 73427x + 133451$ ，就能回推得到濃度 x 為 120.08 $\mu\text{g/ml}$ ，因為試驗以 0.2 g 嫩葉萃取並

溶於 1 ml 乙醇，故濃度 $120.08 \mu\text{g/ml}$ 除於 0.2 g/ml 則可得到每一公克的嫩葉中 aristolochic acid II 含量平均值為 $600.4 \mu\text{g}$ 的數據，以此類推計算。以 GLM-LSD 進行組間之平均值統計分析，於 $\alpha = 0.05$ 下，各葉片中 aristolochic acid II 含量在嫩葉 ($600.4 \pm 8.7 \mu\text{g g}^{-1}$)、熟葉 ($577.0 \pm 23.6 \mu\text{g g}^{-1}$)、老葉 ($368.9 \pm 21.2 \mu\text{g g}^{-1}$) 三組間之平均值均具有顯著差異；aristolochic acid I 含量在嫩葉 ($210.9 \pm 1.1 \mu\text{g g}^{-1}$) 與熟葉 ($207.2 \pm 1.2 \mu\text{g g}^{-1}$)、老葉 ($207.1 \pm 2.9 \mu\text{g g}^{-1}$) 組間之平均值具有顯著差異；total aristolochic acid 含量在嫩葉 ($810.7 \pm 8.3 \mu\text{g g}^{-1}$)、熟葉 ($783.7 \pm 23.5 \mu\text{g g}^{-1}$)、老葉 ($576.4 \pm 21.2 \mu\text{g g}^{-1}$) 三組間之平均值也均具有顯著差異 (表 2)。

二、紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應

(一) 四種葉片之產卵試驗

自 2008 年 2 月 19 日至 2008 年 3 月 10 日共 23 隻雌蝶完成 31 次試驗，產卵於港口馬兜鈴嫩葉的產卵比例為 30/31，只有一次沒有產卵，而且產 5 和 6 顆卵的比例相當地高，並有一次產卵達到 15 顆，而在老葉產卵比例只有 2/31，只有兩次產下一顆卵。在同一觀察箱內蓮葉桐產卵比例也只有 1/31，只有一次產下一顆卵，相對地蓮葉桐再塗馬兜鈴酸後產卵比例也高達 30/31，而且產 1.2 顆卵的比例相當地高，並有一次產卵達到 9 顆，由此可知這個試驗中雌蝶將多數的卵都產在嫩葉與蓮葉桐塗馬兜鈴酸，以 Friedman's Test 分析四種葉片之產卵數有極顯著差異 ($X^2=83.5275$, d. f. =3, $P<0.0001$)。

(二) 有塗及未塗馬兜鈴酸之蓮葉桐葉片產卵試驗

自 2008 年 2 月 23 日至 2008 年 3 月 12 日共 22 隻雌蝶完成 28 次試驗，產卵於蓮葉桐比例只有 2/28，只各有一次產 1 和 2 顆卵，在對角的蓮葉桐產卵比例也只有 1/28，只有一次產 1 顆卵。而在同一觀察箱內蓮葉桐在塗馬兜鈴酸後產卵比例達到 26/28，而且產 1.2 顆卵的比例相當地高，並各有一次產卵達到 4 和 5 顆的紀錄，而對角蓮葉桐塗馬兜鈴酸後產卵比例也達到 18/28，而且產 1 和 2 顆卵的比例相當地高，並有一次產卵達到 6 和 7 顆的紀錄，由此可知雌蝶將多數的卵都產在塗有馬兜鈴酸的蓮葉桐上，所以證實馬兜鈴酸能增加紅紋鳳蝶產卵於蓮葉桐的頻度，以 Wilcoxon Signed-Rank Test 分析兩種葉片之產卵數有極顯著差異 ($P < 0.0001$)。

(三) 有塗及未塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗

自 2008 年 3 月 10 日至 2008 年 3 月 16 日共 11 隻雌蝶完成 19 次試驗，產卵於老葉產卵比例為 11/19，但是並沒有產超過 3 顆的紀錄，在對角老葉產卵比例也只有 8/19，也一樣沒有產超過 3 顆的紀錄。而在同一觀察箱內老葉塗馬兜鈴酸後產卵比例高達 19/19，而且有不少產卵數超過 3 顆的紀錄，在對角老葉塗馬兜鈴酸產卵比例也有 14/19，而且有產卵數超過 3 顆的紀錄，所以證實葉片中馬兜鈴酸含量多寡能影響紅紋鳳蝶產卵反應，以 Wilcoxon Signed-Rank Test 分析兩種葉片之產卵數有極顯著差異 ($P < 0.0001$)。

(四) 港口馬兜鈴嫩葉和塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗

自 2008 年 3 月 14 日至 2008 年 3 月 16 日共 9 隻雌蝶完成 16 次試驗，產

卵於嫩葉產卵比例高達 15/16，有不少產卵數超過 3 顆的紀錄，甚至是 7 顆的紀錄，在對角嫩葉產卵比例達到 13/16，一樣有產多顆的紀錄，甚至是 8 顆的紀錄。而在同一觀察箱內老葉塗馬兜鈴酸產卵比例也達到 14/16，也有不少產卵數超過 3 顆的紀錄，在對角老葉塗馬兜鈴酸產卵比例高達 15/16，一樣有產多顆的紀錄，所以證實在有嫩葉的環境裡老葉塗馬兜鈴酸後產卵數有明顯增加，以 Wilcoxon Signed-Rank Test 分析兩種葉片之產卵數有顯著差異 ($P=0.0095$)。

三、野生港口馬兜鈴不同生長期葉片內營養成份

檢驗之數據 (表 3) 顯示，港口馬兜鈴嫩葉所含的水分最高，灰分及粗纖維最低；熟葉所含的總氮及葉綠素最高；老葉所含的灰分及粗纖維最高，水分、總氮及葉綠素最低。

對比之前人工栽種港口馬兜鈴之不同生長期三種葉片內檢驗數據 (吳，2007)，雖然嫩葉所含的水分最高，熟葉所含的總氮及葉綠素最高，老葉所含的灰分及粗纖維最高皆相同，但是營養成份含量上卻各有差異。

肆、討論

一、港口馬兜鈴不同生長期葉片之馬兜鈴酸含量

本研究之結果顯示，港口馬兜鈴不同生長期葉片中總馬兜鈴酸含量有明顯差異，嫩葉中總馬兜鈴酸含量最多，熟葉次之，老葉最少。馬兜鈴酸為港口馬兜鈴的次級代謝物，一般而言，植物會藉由體內合成的次級代謝物來做為化學防禦武器。若新生的嫩葉合成較多的次級代謝物可以保護它，然後經過不同生長期而漸漸黃化枯萎的葉片，其中用來防禦的次級代謝物亦會逐漸減少。雖然港口馬兜鈴有此化學防禦用以保護自己，但經過長時間演化後以馬兜鈴科為食草的紅紋鳳蝶為了讓後代更高的存活率，且避免與其他鳳蝶競爭，反而可能利用港口馬兜鈴嫩葉中馬兜鈴酸含量最多此化學特性來幫助自己繁衍後代。由本次葉片定量試驗及之前港口馬兜鈴根部與莖部之成分研究（歐，1994），得知紅紋鳳蝶幼蟲所食用的植物部位都含有 aristolochic acid I 和 aristolochic acid II 等化學成份，但紅紋鳳蝶觸角分泌物、幼蟲蟲體、幼蟲排遺、成蟲蟲體之成分分析卻未分離出 aristolochic acid II，反之 aristolochic acid I 含量從幼蟲蟲體到成蟲蟲體則有明顯增加（呂，2000）。本研究推論得知紅紋鳳蝶幼蟲攝食港口馬兜鈴後，會儲存 aristolochic acid I 而未代謝，可能是嚇阻其他動物的化學防禦，而港口馬兜鈴不同生長期葉片中 aristolochic acid II 含量有明顯差異，aristolochic acid II 可能是主要的產卵誘導物。

二、紅紋鳳蝶對不同葉片組合之產卵反應

在四種葉片產卵試驗中可以發現紅紋鳳蝶被限制於某一空間強迫其產卵時，對嫩葉有強烈的產卵偏好，這點類似於紅紋鳳蝶在開放空間對葉片自由選擇產卵時一樣，但是紅紋鳳蝶於野外調查中發現喜好產卵於嫩葉葉背，然而本試驗紅紋鳳蝶卻產大多數的卵於嫩葉角落五公分內的位置，推測原因為紅紋鳳蝶雖然有同一位置產下多顆卵的習慣（吳欣怡，1994；謝等，2006），但觀察網箱內只有一片嫩葉而已，加上飛行空間被限制，所以會有將卵產在嫩葉附近的情形。另外四種葉片產卵試驗中港口馬兜鈴老葉及蓮葉桐葉片之誘導產卵反應都非常差，反之塗上馬兜鈴酸的蓮葉桐被產卵數就有明顯增加，故必須再分開獨立試驗加以證實。相關探討蝴蝶產卵誘導物的文獻，多數採用計數雌蝶對處理葉片或濾紙有無產卵動作的次數，經過統計後算出對某一產卵條件的產卵率，再判斷是否為產卵誘導物（Nishida and Fukami, 1989a；Feeny et al., 1992；張，1993）。但是本研究為進一步了解不同生長期食草葉片之產卵誘導物含量多寡是否影響雌蝶的產卵反應，故改用固定實驗時間讓雌蝶在同一觀察網箱中對不同處理葉片做進行產卵選擇，並統計分析不同葉片之產卵數差異以比較產卵偏好。因為幼蟲並不具有大範圍搜索食草的能力，所以搜尋食草的重責大任，便落在雌蝶身上，故了解雌蝶的產卵選擇更是具有意義。而雌蝶對產卵部位的選擇也是為了提升其適合度(fitness)，以維持族群生存與發展(William and Resetarits, 1996)。以紅紋鳳蝶為例，食草中品質相對較佳的港口馬兜鈴嫩葉，不管在營養成分或適合啃食的條件都較適合幼蟲，故雌蝶對嫩葉有產卵偏好，將能增進其子代之存活與生長。

塗馬兜鈴酸之蓮葉桐葉片產卵試驗，就是以葉片成份不含馬兜鈴酸的蓮葉桐

作對照試驗，紅紋鳳蝶在完全沒有嫩葉的觀察網箱作產卵選擇，結果幾乎將全部的卵產在塗有馬兜鈴酸的蓮葉桐上，此證明馬兜鈴酸能有效影響地紅紋鳳蝶的產卵反應。

塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗以港口馬兜鈴老葉作對照試驗，希望馬兜鈴酸能提高紅紋鳳蝶對老葉的產卵率，結果塗有馬兜鈴酸的老葉因整體馬兜鈴酸含量增加，而計數到的卵數也明顯增加許多。

港口馬兜鈴嫩葉和塗馬兜鈴酸之港口馬兜鈴老葉產卵試驗，原假設以人工添加的方式增加老葉總馬兜鈴酸含量，能提高雌蝶之產卵數使與在嫩葉上的產卵數接近，但是結果兩者之產卵數仍有顯著差異。推測原因可能老葉增加後的總馬兜鈴酸含量仍少於嫩葉，平均每公克嫩葉內總馬兜鈴酸含量多老葉 230 μg ，試驗中老葉只增加 100 μg 而已；另外嫩葉跟老葉外觀顏色差距很大，紅紋鳳蝶產卵前可能在視覺上具有額外的產卵反應刺激影響。但是增加總馬兜鈴酸含量的老葉被產卵數也有增加，只是未與嫩葉一樣多而已，因為試驗條件是將馬兜鈴酸塗在葉片的表面，這個處理方法對紅紋鳳蝶所產生的誘導應該與馬兜鈴酸存在葉片組織內的情況有所不同，必須透過氣相層析質譜儀 (GC-Mass) 定量條件葉片周圍氣體中馬兜鈴酸含量才能了解兩者間的差異，並定量出馬兜鈴酸對紅紋鳳蝶產卵誘導的最低劑量。過去研究也發現兩種 cabbage white butterfly 對產卵誘導物有最理想或最低的濃度 (Huang and Renwick, 1993; Huang et al., 1993)，母蝶會統整所有嗅覺、視覺、觸覺等刺激而後接受或拒絕某種植物作為產卵基質 (Chen et al., 2004)。另外目前已發現的蝴蝶產卵誘導物有單一成份和多種成分的混合物兩大類 (Nishida and Fukami, 1989a; Traynier and Truscott, 1991; Feeny et al., 1992)，所以港口馬兜鈴嫩葉中也可能還存在一種含量比馬兜鈴酸少的未知產卵誘導物。

從塗馬兜鈴酸之蓮葉桐葉片產卵試驗看來，馬兜鈴酸的誘導效果非常顯著，加上老葉塗馬兜鈴酸也比未塗之老葉有明顯較高之產卵量，故馬兜鈴酸確定為紅紋鳳蝶的產卵誘導物之一。



伍、結論

港口馬兜鈴不同生長期葉片中馬兜鈴酸含量有顯著差異，以在嫩葉中 aristolochic acid II 含量最多，熟葉次之，老葉最少，而雖然在三種生長期葉片也都含有 aristolochic acid I，但其含量之差異則較不明顯。紅紋鳳蝶不管在野外調查或是在觀察網箱中試驗都對嫩葉有明顯產卵偏好，但對馬兜鈴酸含量相對較少的老葉及完全不含有馬兜鈴酸的蓮葉桐葉片之產卵反應則顯著偏低。在老葉塗上馬兜鈴酸後紅紋鳳蝶產卵量則有明顯增加，而蓮葉桐在塗上馬兜鈴酸後，紅紋鳳蝶也從原本幾無產卵反應變成有明顯之產卵反應。嫩葉及熟葉中的營養成分也相對優於老葉，也可能有助增加其產卵反應。

綜合而言，我們認為馬兜鈴酸是紅紋鳳蝶產卵誘導物之一，港口馬兜鈴不同生長期葉片中馬兜鈴酸含量多寡也是影響紅紋鳳蝶產卵反應高低的重要原因。我們認為經過長時間演化適應後，紅紋鳳蝶為了與其他利用相同食草的鳳蝶在食草利用上有所區隔，使族群得以維持，特化出探測馬兜鈴酸含量相對較高的能力，將卵產於馬兜鈴酸含量高的嫩葉上，以將可增加其幼蟲之生長存活，並達到棲位區隔之作用，提升其適合度以維持族群生存與發展。

陸、引用文獻

- 呂彥禮。2000。台灣產馬兜鈴屬植物與紅紋鳳蝶之成份研究。國立成功大學化學研究所碩士論文。
- 何健鎔、張連浩。1997。台灣產金鳳蝶族蝶類的生態與保育。行政院農業委員會特有生物研究保育中心自然保育季刊第 19: 34。
- 林傑斌。2006。生物統計學。威士曼文化公司，台北。
- 吳欣怡。1994。大紅紋鳳蝶與紅紋鳳蝶之生物學比較。國立台灣大學植物病蟲害學研究所碩士論文。
- 吳尚澄。2007。紅紋鳳蝶取食港口馬兜鈴不同生長期葉片之生活史特性比較。國立台東大學生命科學研究所碩士論文。
- 張進昌。1993。大鳳蝶產卵誘導及幼生期之研究。國立台灣師範大學生物學研究所碩士論文。
- 楊志良。2002。生物統計學新論。巨流圖書公司，台北。
- 歐莉菲。1994。港口馬兜鈴根部與莖部之成分研究。國立成功大學化學研究所碩士論文。
- 謝桂禎、彭仁君與郭耀綸。2006。野外黃裳鳳蝶與紅紋鳳蝶在港口馬兜鈴上的產卵位置及取食差異比較。2006 動物行為與生態研討會、中國生物學會聯合學術年會。
- Chew F.S. and Robbins, R. 1984. Egg-laying in butterflies. In R.I. Vane-Wright, P.R. Ackery, eds. The biology of butterflies. GB-London: Academic Press pp. 65-79.

- Chen Y.Z., Lin L., Wang C.W., Yeh C.C., and Hwang S.Y. 2004. Response of two *Pieris* (Lepidoptera: Pieridae) species to fertilization of a host plant. *Zoological Studies* 43(4): 778-786.
- Ehrlich, P. R. and Raven, P. H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- Feeny, P., Rosenberry, L., Carter, M. 1983. Chemical aspects of oviposition behavior in butterflies. In S. Ahmad, ed. *Herbivorous insects: host-seeking behavior and mechanisms*. New York: Academic Press pp. 27-76.
- Fordyce, J. A. 2000. A model without a mimic: aristolochic acids from the California pipevine swallowtail, *Battus philenor hirsuta*, and its host plant, *Aristolochia californica*. *Journal of Chemical Ecology* 26: 2567-2578.
- Huang X. and Renwick, J. A. A. 1993. Differential selection of hostplants by two *Pieris* species: the role of oviposition stimulants and deterrents. *Entomol. Exp. Appl.* 68: 59-69.
- Huang X., Renwick, J. A. A., K Sachdev-Gupta. 1993. Oviposition stimulants and deterrents regulating differential acceptance of *Iberis amara* by *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*. *Journal of Chemical Ecology*. 19: 1645-1663.
- Ilse, D. 1937. New observations on responses to colors in egg laying butterflies. *Nature* 140: 544-545.
- Nishida, R. and Fukami, H. 1989a. Ecological adaptation of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acids. *Journal of Chemical Ecology* 15: 2549-2563.
- Nishida, R. and Fukami, H. 1989b. Oviposition stimulant of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*.

- Journal of Chemical Ecology 15: 2565-2575.**
- Ohsugi, T., Nishida, R., and Fukami, H. 1985. Oviposition stimulant of *Papilio xuthus*, a citrus-feeding swallowtail butterfly. Agricultural and Biological Chemistry 49: 1897-1900.**
- Papaj, D. R., Feeny, P., Sachdev, K. and Rosenberry, L. 1992. D-(+)-pinitol oviposition stimulant for the pipevine swallowtail butterfly (*Battus philenor*). Journal of Chemical Ecology 18: 799-815.**
- Papaj, D. R. and Rausher, M. D. 1987. Genetic differences and phenotypic plasticity as causes of variation in oviposition preference in *Battus philenor*. Oecologia 74: 24-30.**
- Rausher, M. D. 1981. Host plant selection *Battus philenor* butterflies: the roles of predation nutrition, and plant chemistry. Ecology Monogr. 51: 1-20.**
- Rausher, M. D. 1978. Search image for leaf shape in a butterfly. Science 200: 1071-1073.**
- Renwick, J. A. A. and Chew, F. S. 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 39: 377-400.**
- Stanton, M. L. 1982. Searching in a patchy environment: food plant selection by *Colias P. eriphyle*. Ecology 63: 839-853.**
- Thompson, J. N. and O. Pellmy, 1991. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. Ann. Rev. Entomol. 36: 65-69.**
- Traynier, M. M., and Truscott J. W. 1991. Potent natural egg-laying stimulant for cabbage butterfly *Pieris rapae*. Journal of Chemical Ecology 17: 1371-1380.**
- William J. and Resetarits, J. R. 1996. Oviposition site choice and life history evolution. American Zoologist 36: 205-215.**

表 1. 墾丁地區港口馬兜鈴不同生長期葉片之樣本資料

植株	樹冠高度 (cm)	採樣高度 (cm)	離公路距離 (cm)	葉片重量 (g)
A 嫩葉	538	467		0.34
A 熟葉	538	467		0.72
A 老葉	538	467		0.61
B 嫩葉	210	210		0.31
B 老葉	210	210		0.81
C 嫩葉	434	242		0.42
C 熟葉	434	242		0.89
C 老葉	434	242		0.71
D 嫩葉	383	309		0.33
D 熟葉	383	309		0.75
D 老葉	383	309		0.81
E 嫩葉	570	447		0.39
E 熟葉	570	447		0.77
E 老葉	570	447		0.82
F 嫩葉	545	212	190	0.42
F 熟葉	545	212	190	0.92
G 嫩葉	460	70	90	0.35
G 熟葉	460	70	90	0.91
H 嫩葉	520	220	115	0.32
H 熟葉	520	220	115	0.82
I 上部嫩葉	420	200	130	0.27
I 上部老葉	420	200	130	0.89
I 下部嫩葉	420	70	130	0.28
I 下部老葉	420	70	130	0.82

表 2. 港口馬兜鈴嫩葉、熟葉及老葉所含之馬兜鈴酸含量 ($\mu\text{g g}^{-1}$) 比較

	aristolochic acid II	aristolochic acid I	total aristolochic acid
嫩葉 (n=10)	600.4±8.7 ^{a*}	210.9±1.1 ^a	810.7±8.8 ^a
熟葉 (n=7)	577.0±23.6 ^b	207.2±1.2 ^b	783.7±23.5 ^b
老葉 (n=7)	368.9±21.2 ^c	207.1±2.9 ^b	576.4±21.2 ^c

* 同一欄不同生長期葉片之資料比較以 GLM-LSD 進行組間之平均值統計分析，英文字母符號不同者，代表在 $\alpha=0.05$ 下，組間之平均值具有顯著差異。



表 3. 港口馬兜鈴不同生長期葉片之營養成份 (g 100g⁻¹)

檢測項目	單位	墾丁野 生老葉	台東栽 植老葉*	墾丁野 生熟葉	台東栽 植熟葉*	墾丁野 生嫩葉	台東栽 植嫩葉*
水分	g/100g	84.29	77.8	84.46	82.36	86.05	83.42
灰分	g/100g	2.18	3.93	2.11	2.08	1.81	1.38
粗纖維	g/100g	2.27	3.65	1.93	2.59	1.88	2.27
總氮	g/100g	0.34	0.33	0.4	0.7	0.38	0.65
葉綠素	g/100g	80.06	22.69	238.1	241.5	160	188.1

* 台東栽植葉片資料引自吳 (2007)。

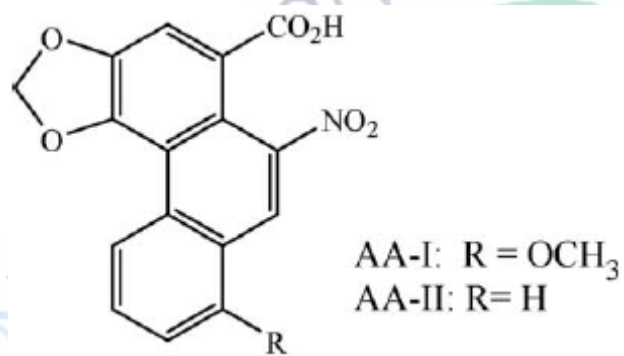


圖 1. 馬兜鈴酸化學結構式

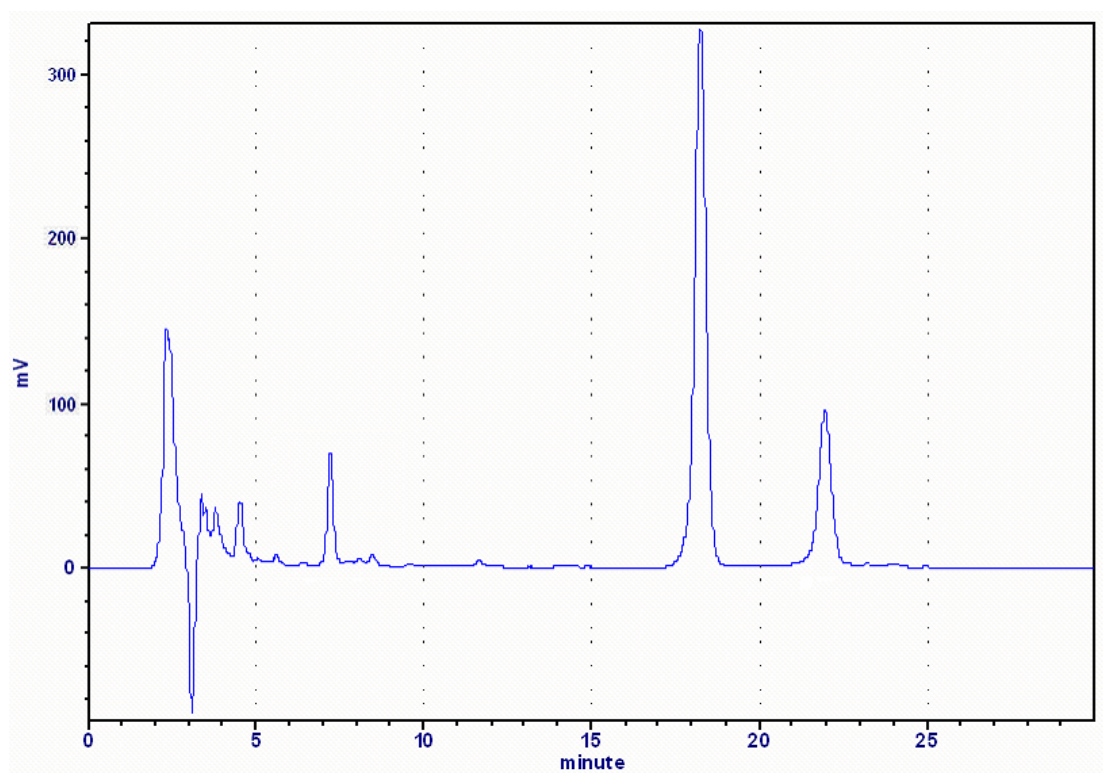


圖 2. 港口馬兜鈴嫩葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖

註：第 18 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid II、第 20 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid I。

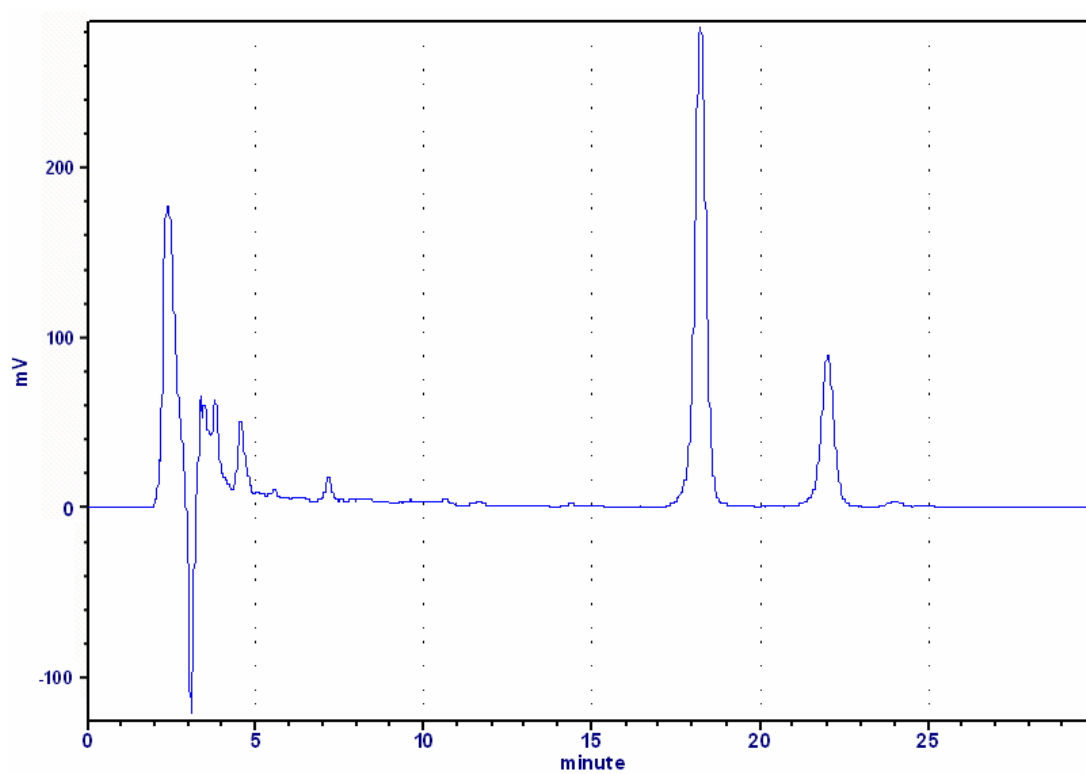


圖 3. 港口馬兜鈴熟葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖

註：第 18 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid II、第 20 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid I。

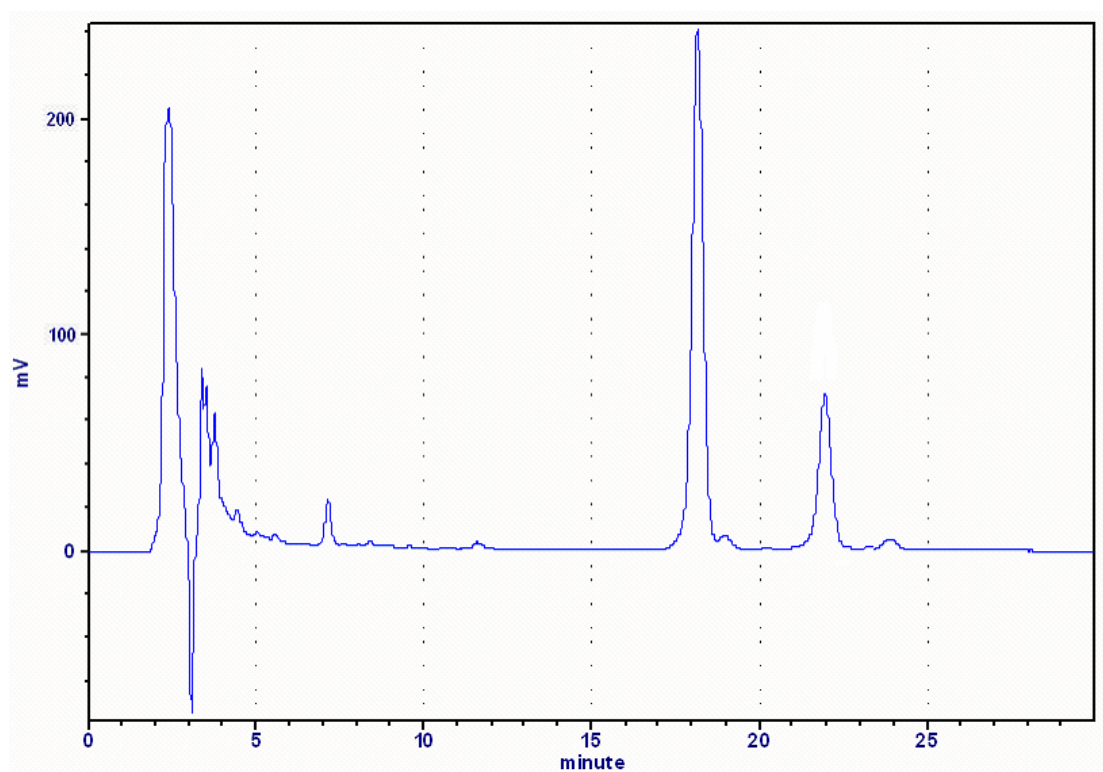


圖 4. 港口馬兜鈴老葉馬兜鈴酸 HPLC 分析圖

註：第 18 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid II、第 20 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid I。

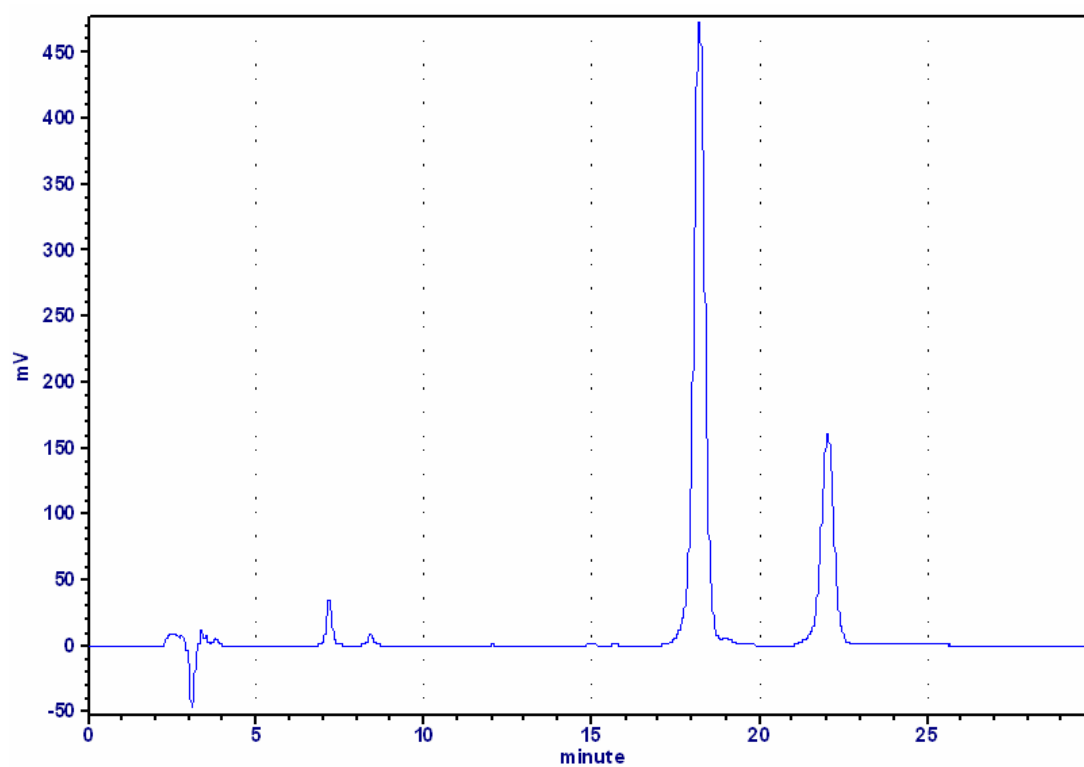


圖 5. 馬兜鈴酸標準品 HPLC 分析圖

註：第 18 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid II、第 20 分鐘出現的波峰為 Aristolochic acid I。

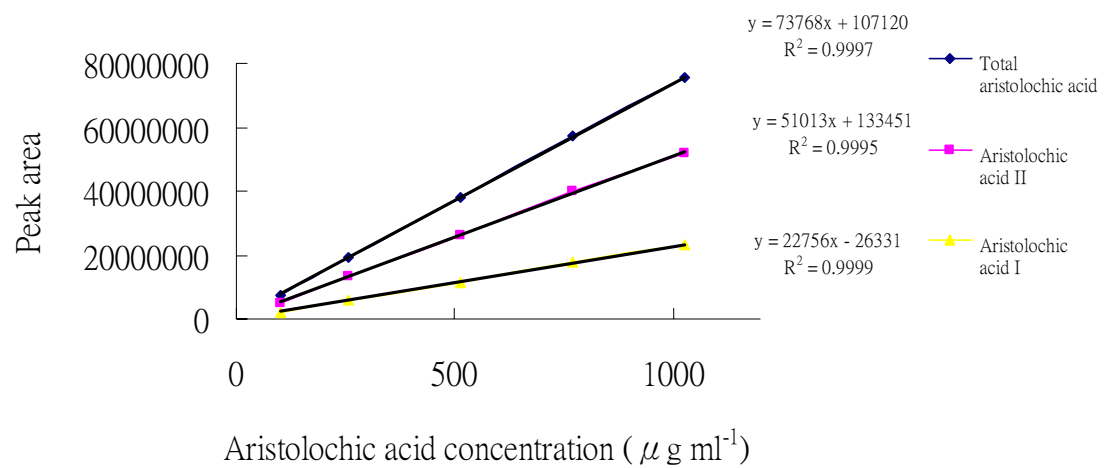


圖 6. 馬兜鈴酸標準品之檢量線及迴歸方程式

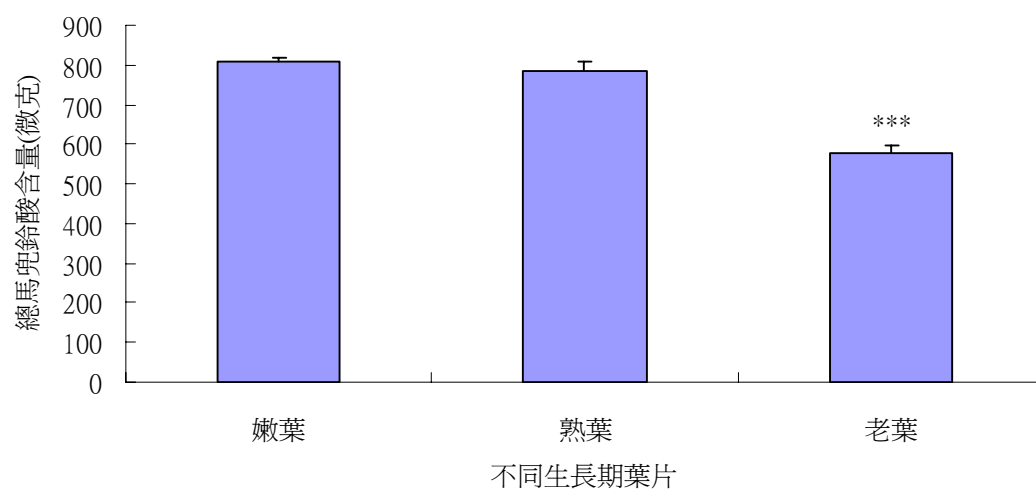


圖 7. 不同生長期每公克葉片樣本總馬兜鈴酸含量比較
*** : GLM-LSD 分析 $P < 0.001$

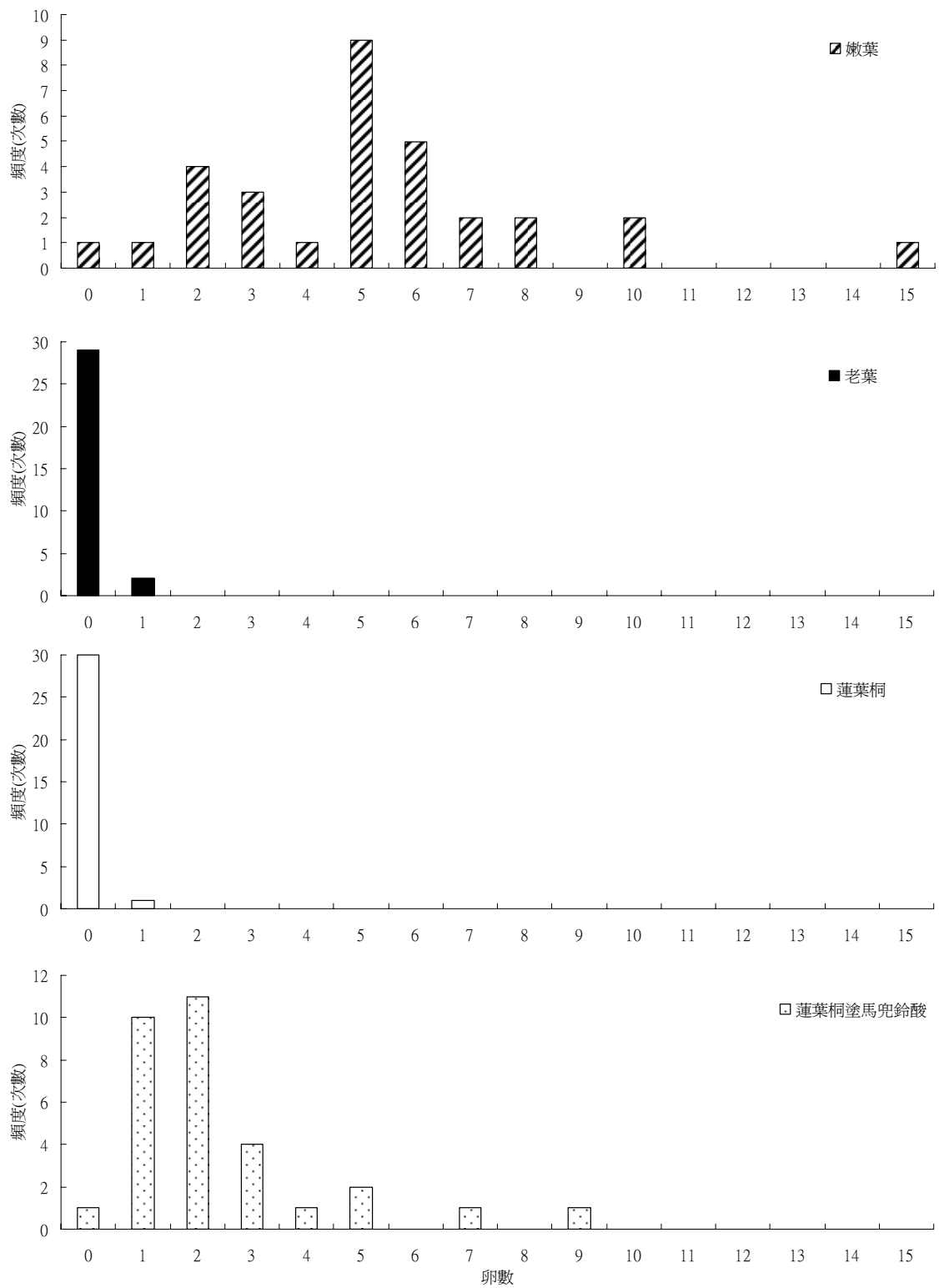


圖 8. 紅紋鳳蝶在四種葉片之產卵數頻度分布比較 (N=31)，四種葉片產卵試驗產卵數頻度差異經 Friedman's Test 檢驗 $P < 0.0001$ 。

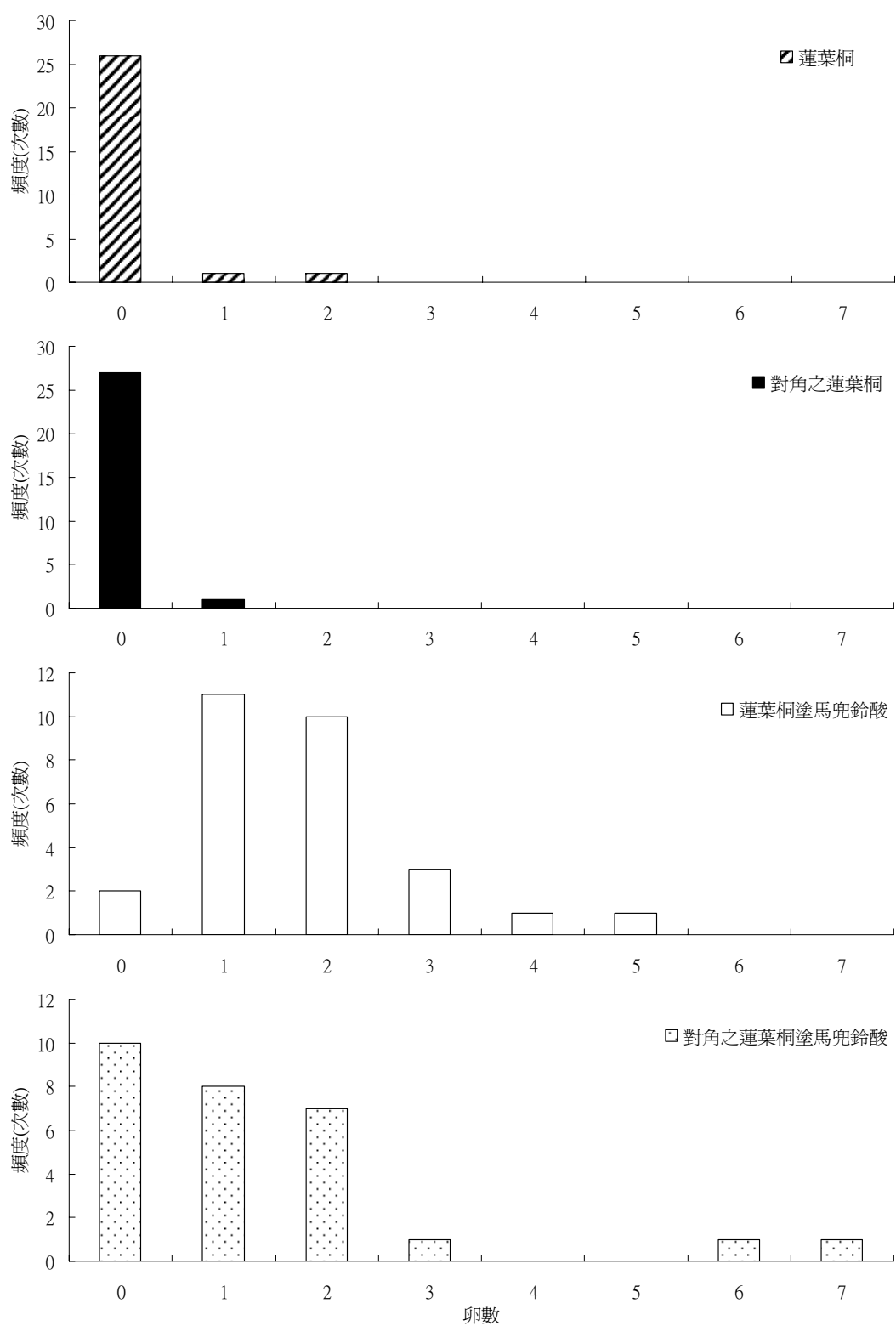


圖 9. 紅紋鳳蝶在有塗與未塗馬兜鈴酸蓮葉桐葉片之產卵數頻度分布比較(N=28), 兩種葉片產卵試驗產卵數頻度差異經 Wilcoxon Signed-Rank Test 檢驗 $P < 0.0001$ 。

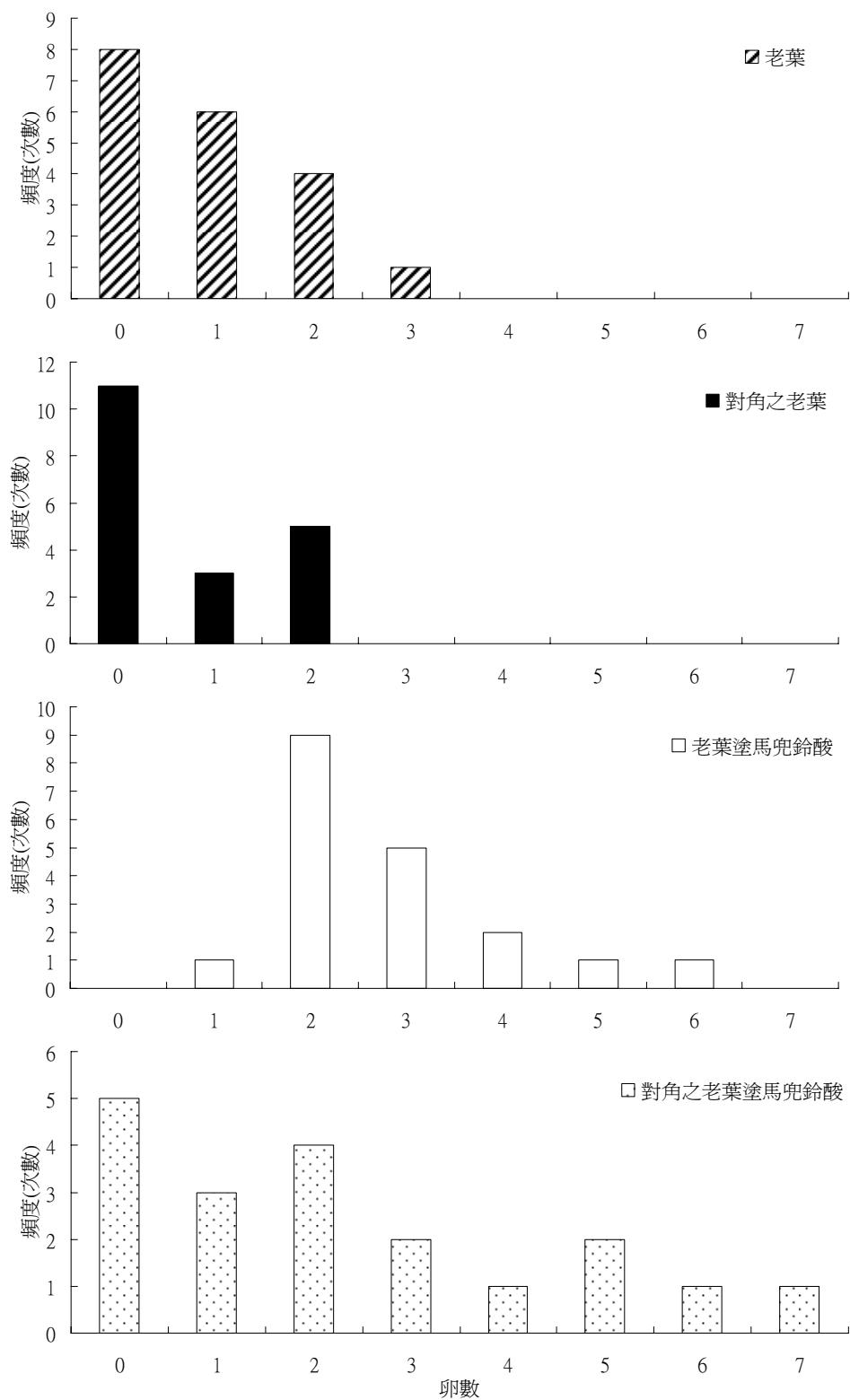


圖 10. 紅紋鳳蝶在有塗與未塗馬兜鈴酸港口馬兜鈴老葉之產卵數頻度分布比較 (N=19), 兩種葉片產卵試驗產卵數頻度差異經 Wilcoxon Signed-Rank Test 檢驗 $P < 0.0001$ 。

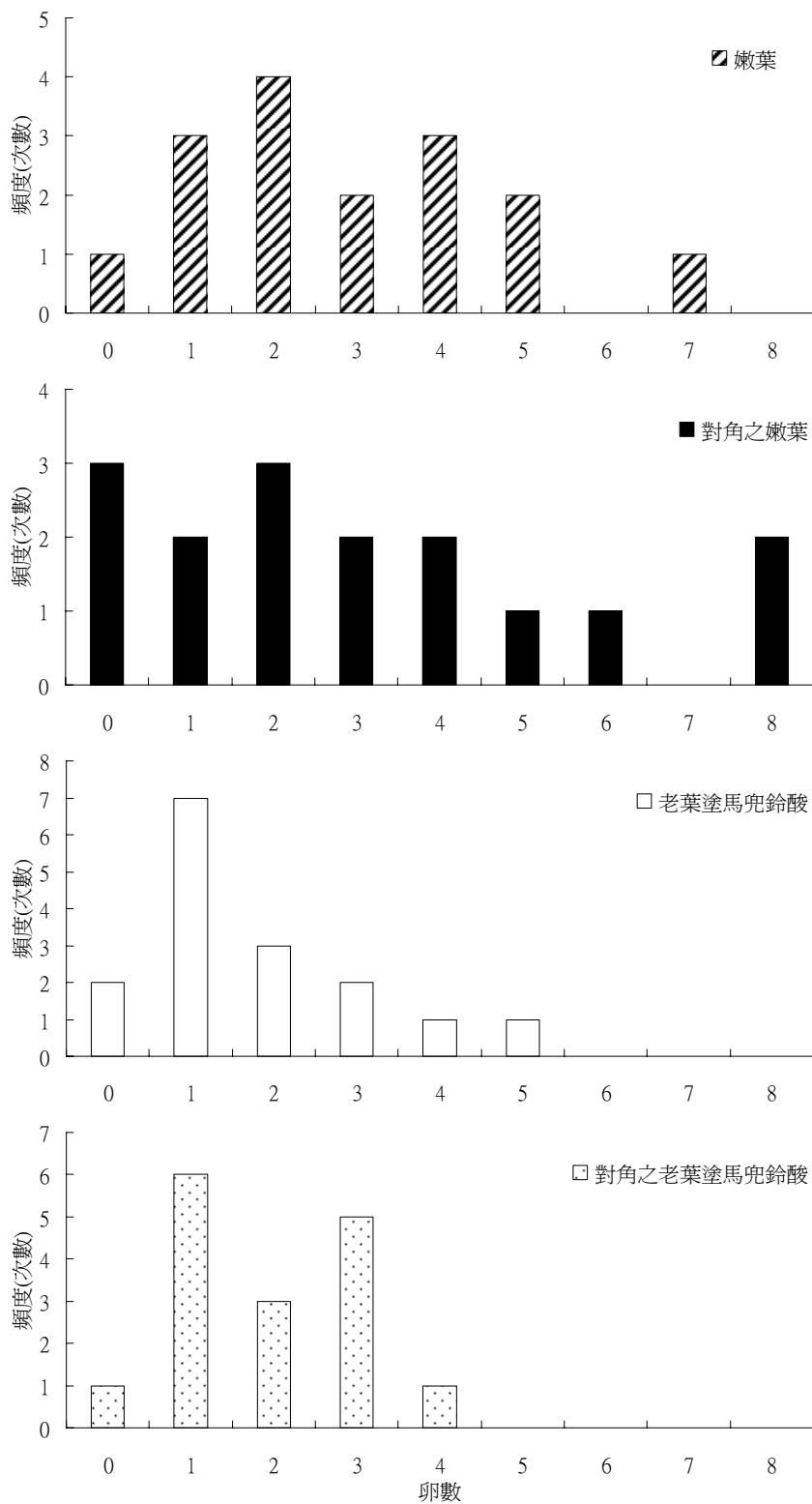


圖 11. 紅紋鳳蝶在港口馬兜鈴嫩葉和塗馬兜鈴酸老葉之產卵數頻度分布比較 (N=16), 兩種葉片產卵試驗產卵數頻度差異經 Wilcoxon Signed-Rank Test 進行檢驗 $P=0.0095$ 。