計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

衛生福利部疾病管制署 106 年委託科技研究計畫

計畫名稱：106 年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

年 度/全 程 研 究 報 告

執行機構：國立屏東科技大學

計畫主持人：蔡添順

研究人員：王士豪、呂嗣勻、周宗旻、林妙儒、邱翊家、
范子祐、葉沂萱、廖信豪、蘇雅雯(按姓氏排列)

執行期間：106 年 7 月 10 日至 107 年 4 月 30 日

研究經費：新臺幣 145 萬元整

＊本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目　　錄

	頁　碼
封面	
目錄	1
中文摘要	2
英文摘要	4
壹、前言	6
貳、材料與方法	9
參、結果	17
肆、討論	20
伍、結論與建議	24
陸、計畫重要研究成果及具體建議	25
柒、參考文獻	26
捌、表一至表七	30
玖、圖一至圖十四	39
拾、期中報告審查意見回覆	70
拾壹、期末報告審查意見回覆	73

共 (78)頁

中文摘要(字數以不超過六百字為原則)

研究目的：

長期的捕抓利用鎖鍊蛇(*Daboia simensis*)有其困難度與風險，亦可能對其族群造成負面影響。本計畫將測試長期籠飼鎖鍊蛇所需的各項主要環境及生物因子係數，以做為後續繁養本種蛇時的重要依據。以往飼養雨傘節(*Bungarus multicinctus*)往往會出現拒食進而死亡，其天然餌料可能有寄生蟲及病原，故本計畫亦將嘗試改善其長期餵養方式。此外，本計畫將探討蛇毒成份是否隨著長期籠飼而有變化，以應用於維持抗蛇毒血清原料供應之品質與穩定度。

研究方法：

自野外採集鎖鍊蛇及雨傘節並進行長期飼養試驗。定期量測蛇隻形質變化、進行檢疫與驅蟲、細菌篩檢及寄生蟲感染調查、採毒並進行蛇毒蛋白質電泳分析。利用選溫槽及聯結飼養箱系統，測試其偏好溫度及基質類型。測試以蛇香腸或小白鼠餵養雨傘節的可行性。嘗試進行鎖鏈蛇配對生殖與幼蛇飼養試驗。

主要發現：

已進行 23 隻鎖蛇及 24 隻雨傘節之籠飼測試。鎖鍊蛇偏好較乾且較高溫的水苔基質環境，雨傘節偏好潮濕且較低溫的環境。鎖鍊蛇成體及新生幼體均可以成功地以小白鼠長期餵養。相較於蛇香腸，雨傘節較偏好小白鼠；餵食蛇香腸期間，本種蛇體重多數減輕。計畫期間的驅蟲作為及優質飼養環

境能有效減少蛇隻感染細菌或寄生蟲的情況。鎖鍊蛇蛇毒部份蛋白質成份隨著長期飼養而有變化。

結論及建議事項：

飼養箱基質與濕度之選擇，多樣化溫度區塊之提供，病菌及寄生蟲感染之管控，均是長期飼養毒蛇所必需的。本計畫能成功地長期飼養鎖鍊蛇成體及新生幼體。然而以蛇香腸餵食雨傘節成果並不佳，現階段建議以每週均餵食多隻小白鼠的方式來飼養。蛇毒成份是否隨著更長期飼養毒蛇而有變化則有待探討。

關鍵詞：毒蛇飼養、鎖鍊蛇、雨傘節、蛇毒、電泳、蛇香腸

英文摘要(字數以不超過六百字為原則**)**

Purpose：

Long-term collecting and utilizing the Russel's Viper (*Daboia siamensis*) is difficult and risky, which may also have a negative impact on its populations. This project will test the main environmental and biological factors required for long-term cage feeding of snakes for better breeding of this species. In the past, breeding the Banded Krait (*Bungarus multicinctus*) often caused anorexia and death, while the wild prey may have parasites and pathogens. The project will also try to improve the cage feeding methods of this species. In addition, the project will also examine whether snake venom components vary with long-term cage breeding to ensure the quality and stability of anti-venom serum material supply.

Methods and materials：

Long-term feeding tests of *D. siamensis* and *B. multicinctus*, collected from the field, were conducted. We periodically measured the snake mass, carried out quarantine/deworming, bacterial screening and investigation of parasitic infections, collected snake venoms, and performed venom protein electrophoresis analysis. We used a thermal gradient and the twin-cages to determine the preferred temperatures and substrate types of snakes. We also tested the feasibility of feeding *B. multicinctus* with snake sausages or mice, and made reproductively pairing trials and bred young snakes.

Results：

Cage feeding tests of 23 *D. siamensis* and 24 *B. multicinctus* has been conducted. Russel's vipers preferred drier and warmer substrates with sphagnum moss, and banded kraits preferred moist and cooler ones. Both adults and neonates of *D. siamensis* can be successfully fed with mice for a long period of time. Compared to snake sausages, *B. multicinctus* prefer mice; the snakes tended to loose body mass when fed with snake sausages. The deworming procedure and high-quality breeding environment effectively reduced the infection of snakes with bacteria or parasites. Part of the compositions of *D. siamensis* venoms varied during the project periods.

Conclusion and suggest：

Provisioning a variety of thermal zones and substrates and optimal humidity of cages as well as controlling pathogens and parasite infections are all essential for the long-term breeding of snakes. This project has been successful in breeding both adult and neonate *D. siamensis*. However, the results of feeding *B. multicinctus* with snake sausages were not good. Presently, it is recommended to weekly feed *B. multicinctus* as many mice as possible. Whether the snake venom components vary as the snakes are raised for a much longer period is yet to be explored.

Key worlds：breeding venomous snakes, Russell's vipers, banded kraits, snake venoms, electrophoresis, snake sausages

壹、前言

疾病管制署現有之蛇毒血清凍晶注射劑包括抗百步蛇蛇毒血清凍晶注射劑、抗雨傘節及飯匙倩蛇毒血清凍晶注射劑、抗龜殼花及赤尾鮐蛇毒血清凍晶注射劑以及抗鎖鏈蛇毒血清凍晶注射劑等4種，每年挽救近千名被毒蛇咬傷的傷患(徐 等, 2013)。其製作過程中，必須自野外收集許多臺灣六大毒蛇，包括百步蛇(*Deinagkistrodon acutus*)、龜殼花(*Protobothrops mucrosquamatus*)、赤尾青竹絲(*Trimeresurus stejnegeri*)、鎖鍊蛇(*Daboia siamensis*)、雨傘節(*Bungarus multicinctus*)及眼鏡蛇(*Naja atra*)，以取得其蛇毒。這些蛇類主要來自各縣、市政府捕獲或送交收容單位所留置的毒蛇，再加以飼養以利持續採毒。現今世界許多蛇類族群均有明顯減少的趨勢，尤以兼具活動範圍小而特定以及伏擊型攝食策略等生態特徵的蛇類，為族群量下降的主要類群(Reading et al., 2010)；鎖鍊蛇即是符合這些特徵的台灣毒蛇種類之一，鎖鍊蛇僅分布在台灣東部及南部地區(杜, 2004)，其野外族群呈現小族群零星化，自野外穩定收集此類毒蛇有其困難度與風險，而長期的捕抓利用方式，可能對其族群造成負面影響，亦恐有保育上之爭議。世界衛生組織也已要求蛇毒需採自飼養於良好設施與管理的動物設施中的毒蛇個體，而非一直從野放抓蛇取毒再野放於非原採集地(World Health Organization, 2018)。已知疾病管制署近三年(民國103~105年)從各縣、市政府收容量總計2條，遠不及申請數50條，造成年採鎖鍊蛇毒量已不敷所需，不足之量只能以早年保存蛇毒代替，然早年保存蛇毒終有用罄之時且隨存放時間拉長亦會造成蛇毒成分(Willemse and Hattingh, 1978, 1980)或毒力下降之風險。因此，為了維持足夠且穩定的毒液採集量，有必要進行足夠數量的鎖鍊蛇圈養與繁殖。但是目前的圈養環境所提供的軟硬體設施或技術可能不符蛇類所需，所飼養的毒蛇經常會有拒食、體溫無法

正常調節、上呼吸道感染及疾病傳播等狀況，以致籠飼的死亡率居高不下。毒蛇飼養管理為抗蛇毒血清製程管理之源頭；健康、體質量佳之毒蛇方能生產質量俱佳之蛇毒(World Health Organization, 2018)，供進行後續相關實驗及備製抗蛇毒血清。為符合動物保護法中，不輕易犧牲動物及實驗動物之人道管理3R 原則與精神(reduction, replacement, refinement)，兼顧實驗動物管理小組的要求及提升飼育籠中毒蛇存活率，必須精進毒蛇繁養技術。決定毒蛇飼養成功與否的因子中(占、羊，2012)，環境因子包括底質、遮蔽物、光照、溫度、濕度、通氣等，而生物因子包含食物豐富度、寄生蟲及病原傳染、生殖週期與行為等。需針對鎖鍊蛇照養環境、設備、作業流程及技術之更新，進行試驗與評估，進而建立完整且符合國際實驗動物規範及保育潮流之蛇毒採集流程與照養方式，使得生產抗蛇毒血清所需之籠飼毒蛇規模得以正常運作，以解決現有之問題。鎖鍊蛇成蛇主要以囓齒動物為食，亦可能捕食兩生爬行動物甚至是無脊椎動物等，而幼蛇可能專挑體型較小的蜥蜴或蛙類捕食(杜, 2004)。本計畫擬於氣候因子適合鎖鍊蛇生長繁殖的區域，尋找一個具備良好的蛇類動物管理及使用制度的實驗動物設施，解決北台灣冬天過於濕冷或日照不足等不適於本毒蛇種類繁養之問題，作為繁養鎖鍊蛇的場域。在此場域中，本計畫將配合蛇種習性進行試驗以了解長期成功飼養鎖鍊蛇所需的各項主要環境及生物因子係數，以做為後續繁養本種蛇時的重要依據。

另一方面，目前的雨傘節籠飼亦面臨問題。台灣六大毒蛇多可取食小型哺乳動物，疾病管制署目前收容於毒蛇室之毒蛇以SPF老鼠為主要投餌，但雨傘節主要取食的食餌為泥鰍、鱔魚、蛇、蜥蜴等長型獵物(李文傑、呂光洋，1996; Mao et al., 2010)，多數的雨傘節可能不取食小白鼠，而往往會出現拒食進而死亡的現象。這樣的習性造成雨傘節籠飼餌料準備的

難度，泥鰍與鱔魚或可購得，但其他的餌料(如：蛇與蜥蜴)均不易取得，且來源不穩定，有待克服。此外，這些食物均可能含有寄生蟲及病原菌，對飼養中的雨傘節健康有著負面影響。國外研究報告(Chanhome et al., 2001)曾提及以蛇香腸餵食與其近緣的蛇種(*Ophiophagus hannah*, *Bungarus fasciatus*, 及*Bungarus candidus*)幼蛇的可能性，蛇香腸主要將煮熟的魚肉混合維他命等添加物後，再灌入腸衣或其他沾有天然食物味道(引起誘食)的包被物製成。餵食蛇香腸可免除天然餌料難以取得的問題，並可減低寄生蟲及病原菌之傳播，以確保經長期飼養的蛇類健康狀態。本計畫另一主題在於建立雨傘節餌料加工製作方式，探討促使雨傘節吞食該類餌料的可能性，並且測試其他雨傘節可能餌料及給予方式，以降低雨傘節拒食現象與確保經長期飼養的蛇類健康狀態。

蛇毒的產量多寡與品質，受到諸多的因子影響，如：體型大小、性別、進食狀況、季節、取毒頻度(Willemse et al., 1979)等等內外在因素，且關係到所生產的抗蛇毒血清產量及品質的穩定與否(World Health Organization, 2018)。新進且未曾採集過蛇毒之組合，可能因此具有較為充足且飽滿之毒囊，可提供較為多量的蛇毒，而長期飼養的毒蛇毒液成分品質是否維持而不變，則有待分析確認。本計畫第三個主題為探討並比較鎖鍊蛇蛇毒(產量或)成份是否隨著長期飼養而有變化，其結果可應用於確保抗蛇毒血清原料供應之品質與穩定度。

貳、材料與方法

1. 鎖鍊蛇長期飼養試驗

1.1. 文件申請與動物採集

已完成實驗動物使用申請(屏科大 IACUC 同意編號：NPUST-106-033)以及保育類野生動物利用及繁殖申請(農委會同意文號：農授林務字第 1061702068, 1071700492 號)。動物來源包括高雄、屏東、台東及花蓮各地消防分隊所捕獲或送交收容單位所留置的毒蛇，不足者則由計畫執行人員於野外採集獲得。

1.2. 蛇類照養/形質量測與蛇毒採集

首先將欲進行飼養試驗的蛇隻置於專門的蛇類形質記錄箱，記錄每一個體的基本形質資料[如：吻肛長(snout-vent length)、尾長(tail length)及體重]，並判別雌雄性別及生殖狀態(是否懷孕)。計算蛇類體重增加率，公式為：

體重增加率 = 100 % × [最終體重(g) – 初始體重(g)] / 初始體重(g)

實驗期間每 2-4 週進行餵食 ICR 小白鼠(購自樂斯科公司)並隨時提供飲水。定期(約每 2 週)量測計算蛇類體質量變化以及約每二個月進行一次蛇毒採取(圖一、二)。執行時均遵照已建立的動物房毒蛇照養及採毒的標準作業流程(SOP)。所有人員均有穿著長筒膠鞋以進行安全防護。除了一人抓蛇外，其餘人員並未直接接觸蛇體。為確保能完全感知與控制蛇類動作，抓蛇者以蛇勾輔助抓蛇而未使用防咬手套(World Health Organization, 2018)。鎖鍊蛇蛇毒採取使用咬膜採毒法，雨傘節蛇毒採取使用毛細管套住毒牙輔助取毒(Mirtschin et al., 2006; Gao et al., 2011)。將每一採毒個體之蛇毒編號並單獨收集於單一器皿

中，秤取每一採毒蛇類之新鮮未乾燥毒液濕重(含水重)後，以冷凍真空乾燥機進行冷凍乾燥程序。乾燥後秤取蛇毒乾重，並置於-20 ºC 冷藏冰箱集中保存以利進行蛇毒二維蛋白質電泳分析。

1.3. 檢疫與驅蟲(參考 Chanhome et al., 2001)

新進蛇隻將進行四週檢疫期以檢視其健康狀態。持續飼養之蛇隻每二個月以餵食管灌餵驅蟲藥(圖一、二)，以期去除體內寄生蟲。驅蟲藥包含 Metronidazole 及 Mebendazole 二種，購自民間動物醫院；由本校獸醫學院學生協助灌食藥劑，其劑量為 0.1 mg / kg 蛇重。此外，蛇類疾病診療已與屏科大工作犬訓練中心祈偉廉獸醫師合作進行。

1.4. 細菌篩檢及寄生蟲感染調查

持續進行咽喉黏膜細菌篩檢以及糞便寄生蟲感染調查，以做為蛇隻健康評量參數。採取病原樣品之人員均有戴手套以避免樣品污染。相關操作已與屏科大獸醫學系吳弘毅副教授合作進行實驗研究。細菌篩檢檢測頻度固定為每二個月左右進行一次，因此同種的各蛇隻的細菌篩檢樣本數較一致。排遺採樣儘量收集蛇類排遺後一天內者。寄生蟲篩檢因不同蛇隻排遺時間不一致或不定，且有些排遺不易完整收集或未能及時在排遺後一天內收集到保存狀況較佳者，因此各蛇隻的寄生蟲篩檢樣本數變化較大而不一致。

1.4.1. 細菌篩檢：每二個月以採集棒塗抹咽喉部位(圖一、二)，以收集細菌樣本。

<u>DNA 萃取</u>：取一 1.5 ml 微量離心管並加入 500 µl PBS (1 X)，將檢體棉棒放入 PBS (1 X)中攪拌約 15-30 秒。取 200 µl 樣本溶液至另一 1.5 ml 微量離心管中，加入 200 µl buffer VL 並振盪，加入 75 µl buffer

VN 並振盪。離心(12000 g, 5 分鐘)後，吸取所有上清液至新的 2 ml 微量離心管，加入 250 µl Isopropanol + 1 % acetic acid 後，混和均勻(溶液 A)。將 miniprep 管柱放在 2 ml 微量離心管內，再將溶液 A 全加入 miniprep 管柱內，蓋上蓋子。離心(6000 g, 1 分鐘)後，倒下清液，加 500 µl buffer W1A，靜置 1 分鐘。離心(12000 g, 1 分鐘)後，倒下清液，加 800 µl buffer W2。離心(12000 g, 1 分鐘)後，倒下清液。再離心(12000 g, 1 分鐘)後，將 miniprep 管柱換到新的 1.5 ml 微量離心管並加入 40 µl buffer TE，靜置 1 分鐘後，離心(12000 g, 1 分鐘)後，收集 DNA 萃取液。

DNA 增幅：取 5 µl Master mix 溶液加入離心管中，加 2 µl 水、1 µl primer (R 段 0.5 µl，F 段 0.5 µl)、2 µl DNA 萃取液。離心後放入 PCR 機器進行 PCR 反應。篩檢菌種、Primer 序列(Amit-Romach et al., 2004; Wang et al., 1996)、PCR 產物大小(bp)以及 PCR 設定條件(36 循環)分別如下：

Salmonell spp.（16srRNA）	F:CGGGCCTCTTGCCATCAGGTG R:CACATCCGACTTGACAGACCG	396
E.coli（16sr RNA）	F: GACCTCGGTTTAGTTCACAGA R:CACACGCTGACGCTGACC	585

步驟	1	2	3	4	5	6	7
溫度	94°C	94°C	60°C	72°C	Go To Step2	72°C	12°C
時間	3:00	0:30	1:00	1:00		7:00	∞

凝膠電泳：首先製備凝膠，取 0.6 克 agarose 粉末，溶於 60 ml TBE (1 X)，微波加熱至完全溶解，倒入模具中，等待凝固。將膠體放入電泳槽中，加入 protein marker (4 µl)及 PCR 產物(3 µl)。用 TBE (0.5

X)作電泳緩衝液，在 120 V / 250 mA 條件下進行電泳，至特定位置時停止。取出膠體並放入 EtBr 中進行染色(5 分鐘)。取出膠體並放入清水中退染(5 分鐘)。以 UV 燈照射顯現條帶並拍照。

1.4.2. 糞便檢體檢查(參考賴等, 2004、蘇, 2009)：收集蛇隻排遺，取排遺的部份樣本置入 50mL 尖底離心管，加入 10 倍體積的 75 %酒精保存液以固定排遺(圖三)。接著將樣本離心(3000 rpm, 5 分鐘)，去除上清液，加入飽和 NaCl 溶液滿至管口邊緣。將載玻片蓋在管口，靜置 15 分鐘。拿起載玻片並取一蓋玻片置於載玻片(原管口位置)上，進行鏡檢(圖三)。

1.5. 飼養裝置與環境因子基本設定

蛇類飼養於已通過 AAALAC International (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, International)國際認證的兩生爬行動物房內。動物房目前總地板面積約 110 平方公尺，包含準備室、監控/休息室、檢疫室、操作室、手術室、飼養室(A)、飼養室(B)、貯藏室以及清潔室。動物房內平時空氣溫度 25-30 ºC、相對濕度 40-70 %，並以儀器隨時監控記錄。動物乃個別飼養在適合大小的訂製塑膠飼養箱內[638 mm × 425 mm × 166 mm (31 L)]，箱蓋及箱壁上有孔洞以利通氣，箱內有隱蔽物及水盒。利用針對本計畫而開發的可卸式接合管系統將二個飼養箱側面連接成一體(圖四)。二箱中共只放入一隻蛇，蛇可通過接合管在二個箱中自由移動選擇位置。改變二箱中的(基質)環境條件，提高環境豐富度，讓蛇自由活動並選擇其所偏好的環境。飼養箱放置在金屬製多層架上(圖四)，二者之間為加熱片及隔熱塑膠片；藉由加熱片溫度控制系統，可提供飼養箱不同溫度區塊。各飼養室有通氣系統定時運作，以利新鮮氣體流

通，其室內照明之光週期為 12L:12D。動物房經過特別設計，沒有可讓動物鑽入、躲藏或脫逃的縫隙或出口。

1.6. 動物飼養所需的各項主要環境及生物因子測試

1.6.1. 偏好溫度：選溫行為在選溫槽(200 × 30 × 50 cm; 圖五)中進行，選溫槽置放於 17 ± 0.5 ºC 的走入式冷房內(相對溼度為 77-80 %)，光週期與飼養時相同(12L:12D)。溫度梯度槽基底包含十個溫度區塊(17.4 ºC 至 37.2 ºC)，各區塊面積相同。選溫槽的每個溫度區塊中間有一小水盒，溫度區塊之間由隔板隔開。蛇經空腹馴化二週後以及進食後進行選溫實驗(Touzeau and Sievert, 1993; Tsai and Tu, 2005)。實驗開始時，將蛇統一放入最低溫度選溫槽中，由於蛇剛放入槽內時尚未穩定，故前 6 小時所紀錄的體溫不進行分析，選溫滿 48 小時將蛇取出後，用酒精和清潔液對選溫槽做清潔的動作，以利下次實驗順利進行。以侵入身體的儀器紀錄體溫方式，可能會干擾選溫行為(Peterson et al., 1993; Tsai and Tu, 2005)，故本計畫使用不侵入身體方式的紅外線錄影機全程紀錄紀錄蛇類選溫過程，每十分鐘記錄一筆地板溫度數據。蛇體溫和蛇所選擇的地板溫度之差異需經過地板-體溫校正曲線來修正為正確體溫。計算蛇隻在空腹時的偏好溫度。以 Two way ANOVA with repeated measures on one factor 檢測不同蛇種、時段(每個時段 6 小時)的選溫值是否具顯著差異性。

1.6.2. 偏好基質或濕度：利用針對本計畫而開發的可卸式接合管飼養箱系統，蛇可通過接合管在二個箱中自由移動選擇位置。隨機改變二箱中的基質種類(水苔、泥炭土、報紙)、基質濕度(低濕：相對濕度 40-60 %、中濕：相對濕度 70-80 %、高濕：相對濕度 90-100 %)，讓蛇自由選擇其所偏好的基質或濕度環境。實驗期間，二個配對箱中只有一個

環境因子不同，其餘均相同。每日上午及入夜後各檢視一次以記錄蛇隻棲息位置(每隻蛇每種測試各檢視二週以上)。計算蛇隻對各環境因子的偏好比率並以 Exact test of goodness-of-fit 檢測其顯著性。

1.7. 雌雄蛇配對嘗試與幼蛇飼養試驗

實驗期間嘗試將雌雄蛇飼養箱以可卸式接合管聯結在一起，每對蛇每天白天及晚各觀察一次行為(共持續約四週以上)，記錄每對蛇的位置及是否有交配行為。此外，將實驗期間採集到的野外新生仔蛇，分置於單一飼養箱中進行飼育(鋪以乾濕二種基質)。記錄仔蛇進食及生長情形。

1.8. 蛇毒二維蛋白質電泳分析

以二維電泳法(Guércio et al., 2006; 黃，2014)進行不同飼養時期採集的蛇毒蛋白質成分分析。以 PROTEAN® i12™ IEF System (Bio-rad)進行二維電泳，取二次水清洗聚焦盤(focusing tray)，平均置入蛇毒蛋白樣品(3 mg 蛇毒)。撕去膠條背面的保護膜，膠面朝下緩慢入聚焦盤。完成後覆蓋 1 mL 礦物油以防止膠條乾焦化。水合反應(rehydration)時，將電壓控制在 50 V，12 小時，使水合溶液及蛋白質樣品混合並吸入 IPG 膠條中；接著設定分為 S1-S4 四個階段，S1 設定 250 V，15 分鐘，其作用在於移去鹽類子及汙染物；S2 使用線性模式將電壓提升至聚集電壓(focusing voltage)；S3 為真正等電聚焦設定，設定電壓(4000 V)與累積電壓時間值(20000 V*hr)；S4 在於設定 500 V，避免聚焦的蛋白質發生擴散，當反應完成後即進行膠條平衡反應[緩衝液含甘油及碘乙酰胺(iodacetamide)]。接著製備 10 % SDS-PAG，注入鑄膠架，於上層加入二次水壓平。待 20 分鐘後膠片即凝結完成，將膠條膠面朝前放入膠片之上方使與膠面完全接觸，將低融點

agarose 液加滿膠片上緣以完成封膠步驟。待膠體均凝固後，進行電泳。跑膠用之緩衝溶液為 1X Tris/Glycine/SDS 之 running buffer，固定電壓 110 V，90 分鐘。完成後，取出膠片以 Coomassie Brilliant Blue R-250 染液進行染色 30-60 分鐘，接著退染至肉眼可見膠片結果。拍照並分析分離的蛇毒蛋白質成分是否因飼養時間長短不同而有差異。相關操作已與屏科大生物科技系周映孜副教授合作進行實驗研究。

2. 雨傘節長期飼養試驗

2.1. 文件申請與動物採集

已完成實驗動物使用申請(屏科大 IACUC 同意編號：NPUST-106-033)以及保育類野生動物利用及繁殖申請(農委會同意文號：農授林務字第 1061702068, 1071700492 號)。動物來源以高雄、屏東各地消防分隊所捕獲或送交收容單位所留置的毒蛇，不足者則由計畫執行人員於野外採集獲得。

2.2. 蛇類照養/形質量測與蛇毒採集、檢疫與驅蟲、細菌篩檢及寄生蟲感染調查、飼養裝置與環境因子基本設定、動物飼養所需的各項主要環境及生物因子測試

同 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6 所述。

2.3. 雨傘節餌料(蛇香腸)加工製作(圖六、七)

為避免維他命因加熱變質以及寄生蟲感染之疑慮，先使用絞肉機將蛇香腸內含物及誘食物質(包括雞胸肉、雞腿肉、魚內臟、鯛魚肉、小竇蔻、雞內金或阿魏)灌入腸衣內。小竇蔻、雞內金、阿魏已被用於銀環蛇幼蛇的部份飼料成份(大陸專利 CN105454670 A)，其中阿魏及

小竇蔻做為誘食劑。雞內金是家雞的砂囊內壁，用於研磨食物，為傳統中藥之一，可用於消化不良等症狀。研究指出雞內金含胃激素、角蛋白、微量胃蛋白酶、澱粉酶、多種維生素與微量元素，以及 18 種胺基酸等。這些成分能增強胃液分泌量、酸度和胃運動機能(https://www.uh.org.mo/news/health/1589-article-140524)。阿魏為傘形科植物新疆阿魏 *Ferula sinkiangensis* 或阜康阿魏 *Ferula fukanensis* 的乳狀滲出物，含有揮發油(成份為多種有機含硫化合物和少量香草醛等)、樹脂和樹膠，具強烈而持久的特異味道(http://big5.wiki8.com/awei_23499/)。小竇蔻為薑科植物 *Eletteria cardamomum* 的果實，有芳香而峻烈的氣味，用於肉類食品的調制，亦為“咖喱粉”的原料之一(http://big5.wiki8.com/xiaodoukou_116253/)。蒸熟後，進行不同方式的蛇香腸附加味道測試(包括於蜥蜴飼養箱中滾動 20 分鐘、使小雨傘節浸於水盒中 20 分鐘，再取其水塗佈在蛇香腸表面、將蛇蛻纏繞於蛇香腸外、於蛇香腸表面撒上阿魏粉末、塗佈魚內臟水或魚味水在蛇香腸表面)，並在蛇香腸上切割一細縫以加入維他命、鈣粉，接著再隨機置於蛇箱內以進行捕食測試。

2.4. 雨傘節對不同類型餌料的偏好度試驗

實驗期間除了進行蛇香腸餵食測試(約每二週測試一次)，餵食測試之間亦餵食小白鼠(活體或死亡個體)，少數期間或餵食其他類型食物。紀錄其捕食情形並比較雨傘節對蛇香腸及小白鼠的偏好度差異。

參、結果

1. 動物採集、形質量測與體重變化：

計畫期間採集並飼養 23 隻鎖蛇(16 隻成體，7 隻新生幼體)及 34 隻雨傘節。其中 10 隻雨傘節因進食狀況不佳而於試驗中期即停止其實驗(並野放回野外)，而未納入結果分析。其形質量測與體重變化如表一、二及圖八、九。鎖鍊蛇方面，除了一隻蛇體重變輕以外，其餘個體均能正常進食而體重均持續增加；成蛇的體重增加率為 40.7 ± 30.6 % (mean ± SD)，新生幼蛇的體重增加率為 198.5 ± 55.3 %。每隻蛇的捕食率為 80.3 ± 13.1 %。雨傘節方面，只有 4 隻蛇體重增加，其餘個體體重均下降；其體重增加率為- 20.4 ± 19.8 %。

2. 細菌篩檢及寄生蟲感染調查：

咽喉黏膜檢體之細菌(*Salmonella* spp.或 *E. coli*)篩檢(膠片結果舉例於圖十、十一)以及糞便內寄生蟲調查結果整理於表三、四。於收集的蛇隻糞便中曾發現線蟲、蟯蟲、球蟲等寄生蟲成體或卵。二種蛇於飼養初期有檢測到細菌或寄生蟲者，於飼養後期則多數未檢測到。飼養初期有檢測到 *Salmonella* spp.的比率為鎖鍊蛇 62.5 % (= 10/16)，雨傘節 50.0 % (= 12/24)；有檢測到 *E. coli* 的比率為鎖鍊蛇 31.3 % (= 5/16)，雨傘節 20.8 % (= 5/24)；有發現寄生蟲(成體或卵)的比率為鎖鍊蛇 91.7 % (= 11/12)，雨傘節 100.0 % (= 3/3)。飼養後期有檢測到 *Salmonella* spp.的比率為鎖鍊蛇 12.5 % (= 2/16)，雨傘節 0 % (= 0/23)；有檢測到 *E. coli* 的比率為鎖鍊蛇 0 % (= 2/16)，雨傘節 0 % (= 0/23)；有發現寄生蟲(成體或卵)的比率為鎖鍊蛇 0 % (= 0/10)，雨傘節 0 % (= 0/10)。

3. 動物飼養所需的各項主要環境及生物因子測試：

二種蛇類的偏好基質及濕度測試及統計比較結果如表五、六。結果顯示鎖鍊蛇及雨傘節的偏好度均為乾水苔>報紙(球)或泥炭土，其對於低濕水苔及中濕水苔之間的偏好則不明顯。鎖鍊蛇於報紙(球)及泥炭土之間無顯著偏好，對於低濕水苔與高濕水苔之間則顯著偏好前者。雨傘節於報紙(球)及泥炭土之間顯著偏好泥炭土，對於低濕水苔與高濕水苔之間則顯著偏好後者。

二種蛇類的選溫結果如圖十二所示。鎖鍊蛇偏好溫度(28.3 ± 3.2 ºC)顯著高於雨傘節者(26.1 ± 2.6 ºC) ($F_{1, 246}$ = 16.19; P = 0.0002)。不同時段的選溫值之間具明顯差異($F_{6, 246}$ = 7.88; P < 0.0001)；最後二個時段之選溫值明顯較開始者低。然而，物種與時段二因子間具顯著交互作用($F_{6, 246}$ = 3.34; P = 0.0035)。

4. 鎖鍊蛇雌雄蛇配對嘗試與幼蛇飼養試驗：

於本計畫開始前測時，曾將二對鎖蛇雌雄蛇配對(Dr324 vs. Dr332 以及 Dr326 vs. Dr322)，雖然配對個體有時會靠在一起，但未發現交配行為；配對試驗的母蛇之後亦並未懷孕生產。有一隻非配對的懷孕母蛇(Dr338)於今年 9 月 2 日在蛇房生產一窩小蛇(22 隻)，但這些小蛇未能自行捕食乳鼠，故未持續飼養並已進行野放。採自野外的鎖鍊蛇新生幼蛇則能夠以乳鼠或小白鼠順利餵養並成長。

5. 雨傘節餌料(蛇香腸及小白鼠)適合度測試：

雨傘節攝食蛇香腸百分比結果如表七所示。十種測試之捕食率均未能超過 25 %，每隻蛇的捕食率為 18.7 ± 26.5 %。相比之下，攝食小白鼠比率反而較高，每隻蛇的捕食率為 47.2 ± 31.6 %。

6. 鎖鍊蛇蛇毒二維蛋白質電泳分析

鎖鍊蛇蛇毒蛋白二維電泳目前結果如圖十三、十四所示。比對 Risch et al. (2009)針對緬甸的鎖鍊蛇毒二維蛋白質電泳結果，約可推知台灣的鎖鍊蛇蛇毒成分包含(酸性或鹼性)磷脂酶 A2、凝血因子 X 似活化酵素(或金屬蛋白酶)、血管內皮生長因子、絲胺酸蛋白酶、L-胺基酸氧化酶(LAAO)…等。計畫期間第一次取毒(2017 年 8 月)至第四次取毒(2018 年 2 月)之蛇毒蛋白組成之間仍可見不同之處。Group 1 (磷脂酶 A2 及其他蛋白), Group 2 (酸性磷脂酶 A2), Group 3 [凝血因子 X 似活化酵素(或金屬蛋白酶)]的蛋白質在不同飼養時間的變化較小，然而 Group 4 (鹼性磷脂酶 A2), Group 5 (血管內皮生長因子), Group 6 (絲胺酸蛋白酶), Group 7 (L-胺基酸氧化酶)的蛋白質量則可能在不同飼養時間有些許變化。

肆、討論

1. 動物飼養所需環境及生物因子

提供適當的基質類型、濕度與溫度區塊是飼養毒蛇所必需的。本計畫採用聯結飼養箱系統，二種蛇類的偏好基質及濕度測試顯示鎖鍊蛇及雨傘節均偏好水苔勝過報紙(球)或泥炭土；鎖鍊蛇顯著偏好低濕水苔，而雨傘節則偏好高濕水苔並且時常深埋且活動於其中。鎖鍊蛇偏好較乾且較高溫的基質環境，雨傘節偏好潮濕且較低溫的環境，這些試驗結果均與其生態習性相符。對於飼養各蛇種時，蛇房所需設定的氣溫及相對濕度值之可參考文獻很少，Chanhome et al. (2001)曾報導飼養泰國一些蝙蝠蛇科及蝮蛇科蛇類時，有些飼養房白天氣溫設為 26-27 ºC，相對濕度為 60-70 %，但晚上時(及其他飼養房整天的)溫濕度則隨著外界改變(17-38 ºC；21-84 %)。本計畫之動物房的氣溫及濕度是由多組冷氣機調控，並將其溫度設定在 26 或 27 ºC。由於動物房定時會有外在新鮮空氣輸入以進行通氣，加上每個飼養箱底部均有加熱片增溫而屏東地區冬天時節亦不致太冷，因此各飼養室內的溫度範圍經測量發現常年基本上保持在 25-30 ºC，而相對濕度範圍經測量發現常年基本上保持在 40-70 %。這樣的濕度適合操作人員作業且實質上對蛇隻並不會太乾，因為其飼養箱內還會提供較高的底質濕度以供蛇類選擇。聯結箱基質濕度至少有一箱會保持高濕度，因此當蛇類需要較高濕度環境，即會移往具有高基質的飼養箱處。再者，本研究的選溫研究結果顯示鎖鍊蛇平均偏好溫度(28.3 ºC)顯著高於雨傘節者(26.1 ºC)，此選溫研究結果已有套用到計畫期間蛇類飼養空間的溫度設定；本計畫已將每個飼養箱底部加熱片對應處的溫度設定為 32 ºC，因此蛇隻可在飼養箱內 25 ºC (未加熱區)至 32 ºC (加熱區)區域間進行選溫行為，亦即飼養環境的溫度區塊設置可適用於兩種蛇的選溫偏好。

2. 動物飼養成果評估

從結果可以很明顯發現以小白鼠長期餵養鎖鍊蛇(包含成體及新生幼體)是很可行的。計畫期間每隻鎖鍊蛇的平均捕食率為 80.3 %；成蛇的平均體重增加率為 40.7 %，新生幼蛇的平均體重增加率更高，為 198.5 %。反觀，本計畫未能很成功地以蛇香腸飼養雨傘節，許多蛇隻體重在計畫前期均呈現下降趨勢，至 2018 年 3 月為止，其平均體重增加率為- 20.4 %。每隻雨傘節攝食蛇香腸的平均捕食率為 18.7 %，每隻蛇攝食小白鼠的平均捕食率反而較高(47.2 %)。蛇香腸餵食要素仍未掌握，我們相信具有適當的味道沾附在蛇香腸上是很重要且關鍵的，並且需要未來更多的測試。例如參考 World Health Organization (2018)，可使用蛇體或其他動物體組織液，冷凍一週以上(以去除寄生蟲)後，再解凍並塗佈於食物表面以進行誘食實驗。

在計畫中期，蛇香腸測試(約每二週或更久的時間進行餵食)告一段落後，我們為了停止蛇隻體重下降趨勢而開始儘量每週均餵食小鼠，並且每次不只餵食一隻小白鼠，而是提供多隻的小白鼠給雨傘節捕食(當蛇有捕食意願時)；其中有些雨傘節更偏好捕食小白鼠屍體(而非活體)。上述餵食增強作為確實能讓許多蛇隻在計畫後期的體重開始停止下降趨勢並且反轉為上升趨勢，例如 Bm1002, Bm1040, Bm1062, Bm1066, Bm1068, Bm1082, Bm1144, Bm1148, Bm1150 (圖九)。因此我們認為未來可建議進行的雨傘節飼養方式之一為排除無法捕食小白鼠的雨傘節個體後，能捕食小白鼠者則每週均餵食多隻的小白鼠以確保體重能保持上升趨勢。

3. 細菌篩檢及寄生蟲感染

圈養及野生爬行動物可能存在許多人畜共通傳染細菌種類。部份菌種已

在哺乳類或鳥類有較多研究，但在外溫動物類群則很少。細菌感染可能造成動物的死亡，經常性的監控爬行動物身體的病原感染情況則有助於維持動物體健康及避免人畜共通傳染(Ebani, 2017)。已有文獻報告在蛇類呼吸道及系統性的感染中發現特定細菌類群。革蘭氏陰性菌最常從蛇類口腔及泄殖腔採樣品中被分離到。Abba et al. (2017)發現在一些蟒蛇、水蚺或蚺蛇身體內最常分離到的菌種包含 *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Edwarseilla tarda*, *Morganella morganii*, *Aeromonas* spp.及 *Pseudomonas* spp.。沙門氏桿菌(*Salmonella* spp.)能明顯造成人畜共通傳染(Ebani, 2017)。許多野生或圈養的爬行動物已被研究顯示為 *Salmonella* 的保菌者(Chiodini and Sundberg, 1981; Burnham et al., 1998; Willis et al., 2002; Zając et al., 2016)。研究亦顯示爬行動物的 *Salmonella* 菌群比其他宿主動物者對人類更具致病性及侵犯性 (Mermin et al., 1997; Scott and Foster, 1997)。另外，大腸桿菌(*E. coli*)是人和動物的重要的病原體，會導致敗血症、尿路感染和新生兒腦膜炎(Bélanger et al., 2011)。Dehghani et al. (2016)發現在伊朗圈養的蛇類之口腔樣本有 12.5 %可發現 *E. coli*。因此 *Salmonella* spp.及 *E. coli* 為蛇類經常性病原。

為監控蛇體的病原感染情況以維持動物體健康及避免人畜共通傳染，本研究遂定期進行 *Salmonella* spp.及 *E. coli* 篩檢並進行寄生蟲感染調查。本計畫之二種蛇於飼養初期有較高比率樣品被檢測到 *Salmonella* spp. (鎖鍊蛇 62.5 %，雨傘節 50.0 %)及 *E. coli* (鎖鍊蛇 31.3 %，雨傘節 20.8 %)及寄生蟲(鎖鍊蛇 91.7 % (= 11/12)，雨傘節 100.0 %)，於飼養後期則較少檢測到。此結果顯示本計畫期間的驅蟲作為及飼養環境能有效減少蛇隻感染細菌及寄生蟲的情況，此成效對於長期飼養蛇隻是很有助益的。

外溫的爬行動物之細菌篩檢以傳統培養基培養方式鑑種為主，較少報導

以 PCR 方法鑑種。因此本計畫用 PCR 方法篩檢 *Salmonella* spp.與 *E. coli* 所用的核酸引子序列是參考已使用於鳥類或哺乳類者(Amit-Romach et al., 2004; Wang et al., 1996)。蛇類與鳥類在演化親緣上同屬爬行動物類群，上述的引子序列應至少可部份運用於篩檢蛇體之菌種。我們將在接下來的實驗中，再尋找其他文獻報告，以只限定於篩檢蛇類菌種的引子序列來進行原採集樣本的 PCR 篩檢步驟，其結果將可更強化實驗結果之確定性。此外，記錄寄生蟲篩檢結果時，由於主要為定性而非量化，故未精確計數蟲體或蟲卵的數量，因此未能將結果以相對量化的方式(如: +++、++、+、±、-、ND 或細菌與蟲卵的數目等)呈現。我們將在接下來的實驗中，再重新計數原採集樣本之寄生蟲(蟲體或蟲卵)數量，以利呈現相對量化的結果。

4. 鎖鍊蛇毒成分

本計畫第三個主題為探討並比較鎖鍊蛇蛇毒成份是否隨著長期飼養而有變化，目前結果仍未能回答。計畫期間不同次取毒之蛇毒蛋白組成之間雖未有非常明顯的差異，但仍可見不同之處。有待進行更多蛇毒樣品電泳分析以確認不同處於不同個體間是否一致。此外，差異處的蛋白成分組成為何有待後續進行質譜儀分析方能鑑別。用於比較蛇毒成分或作用的方法(World Health Organization, 2018)包括：蛇毒蛋白濃度定量、蛇毒蛋白(二維)電泳分析(包含變性與非變性蛋白狀況)、層析法(包含尺寸排阻層析法、逆相層析法)、各蛋白成分之致死率 LD50 、凝血活性、蛋白酶活性、磷脂酶活性等。這些方法將在未來的實驗中進行，為瞭解不同飼養時間之蛋白成分差異是否對於蛇毒生物毒性造成影響，後續的毒理測試仍待進行。未來仍需探討更長期的飼養蛇隻後，蛇毒成份是否依舊未呈現顯著變化。屆時若得到更確定的結果將有助於佐證及確保長期飼養蛇隻所取得蛇毒之品質與穩定度。

伍、結論與建議

以小白鼠長期餵養鎖鍊蛇成體及新生幼體是可行的，反觀飼養雨傘節則可能需排除無法捕食小白鼠的個體後，以每週均餵食多隻的小白鼠的方式進行飼養以確保體重持續增加。蛇香腸餵食要素仍未掌握，但我們相信具有適當的味道沾附在蛇香腸上是很重要且關鍵的。鎖鍊蛇顯著偏好低濕水苔，而雨傘節則偏好高濕水苔並且時常深埋及活動於其中。亦即，鎖鍊蛇偏好較乾且較高溫的水苔基質環境，雨傘節偏好潮濕且較低溫的環境。本計畫期間的驅蟲作為及飼養環境能有效減少蛇隻感染細菌及寄生蟲的情況，此成效對於長期飼養蛇隻是很有助益的。鎖鍊蛇蛇毒成份是否隨著長期飼養而有變化，目前結果仍未能完整驗證。未來可探討更長期的飼養蛇隻後，蛇毒成份是否依舊未呈現顯著變化。

陸、計畫重要研究成果及具體建議

1. 在本計畫之飼養軟硬體系統下，鎖鍊蛇成體及新生幼體均可以小白鼠長期飼養。雨傘節則可能需以每週均餵食多隻小白鼠的方式進行飼養以確保體重持續增加。

2. 鎖鍊蛇偏好較乾且較高溫的水苔基質環境，雨傘節偏好潮濕且較低溫的環境。未來可再增加試驗基質厚度對蛇類飼養之影響探討。

3. 本計畫期間的驅蟲作為及飼養環境應能有效減少蛇隻感染細菌或寄生蟲的情況。持續地檢測並監控飼養蛇隻之健康狀態是必須且重要的。

4. 隨著長期飼養，鎖鍊蛇的部份蛇毒成份可能有些許變化。更長期的飼養時程對於蛇毒成份變異之影響效應仍有待探討。

柒、參考文獻

Abba Y, Ilyasu YM, Noordin MM. 2017. Isolation and identification of bacterial populations of zoonotic importance from captive non-venomous snakes in Malaysia. Microbial Pathogenesis 108: 49-54.

Amit-Romach E, Sklan D, Uni Z. 2004. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. Poultry Science 83: 1093-1098.

Bélanger L, Garenaux A, Harel J, Boulianne M, Nadeau E, Dozois CM. 2011. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. FEMS Immunology and Medical Microbiology 62: 1-10.

Burnham BR, Atchley DH, DeFusco RP, Ferris KE, Zicarelli JC, Lee JH, Angulo FJ. 1998. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. Journal of the American Veterinary Medical Association 213: 48-50.

Chanhome L, Jintakune P, Wilde H, Cox MJ. 2001. Venomous snake husbandry in Thailand. Wilderness and Environmental Medicine 12: 17-23.

Chiodini RJ, Sundberg JP. 1981. Salmonellosis in reptiles: a review. American Journal Epidemiology 113: 449-499.

Dehghani R, Sharif MR, Moniri R, Sharif A, Kashani HH. 2016. The identification of bacterial flora in oral cavity of snakes. Comparative Clinical Pathology 25: 279-283.

Ebani VV. 2017. Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: A mini review. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 10: 723-728.

Gao JF, Qu Y-F, Zhang X-Q, Ji X. 2011. Within-clutch variation in venoms from hatchlings of *Deinagkistrodon acutus* (Viperidae). Toxicon 57: 970-977.

Guércio RAP, Shevchenko A, Shevchenko A, López-Lozano JL, Paba J, Sousa MV, Ricart CAO. 2006. Ontogenetic variations in the venom proteome of the Amazonian snake *Bothrops atrox*. Proteome Science 4: 11.

Mao J-J, Norval G, Hsu C-L, Chen W-H, Ger R. 2010. Observations and comments on the diet of the many-banded krait (*Bungarus multicinctus multicinctus*) in Taiwan. IRCF Reptiles & Amphibians 17: 73-76.

Mermin J, Hoar B, Angulo FJ. 1997. Iguanans and *Salmonella marina* infection in children: a reflection of the increasing incidence of reptile-associated salmonellosis in the United States. Pediatrics 99: 399-402.

Mirtschin PJ, Dunstan N, Hough B, Hamilton E, Klein S, Lucas J, Millar D, Madaras F, Nias T. 2006. Venom yields from Australian and some other species of snakes. Ecotoxicology 15, 531-538.

Peterson CR, Gibson AR, Dorcas ME. 1993. Snake thermal ecology: the causes and consequences of body temperature variation. In 'Snakes: Ecology and Behavior' ed. by Seigel RA and Collins JT. pp. 241-314.

Reading CJ, Luiselli LM, Akani GC, Bonnet X, Amori G, Ballouard JM, Filippi E, Naulleau G, Pearson D, Rugiero L. 2010. Are snake populations in widespread decline? Biology Letters doi: 10.1098/rsbl.2010.0373.

Risch M, Georgieva D, von Bergen M, Jehmlich N, Genov N, Arni RK, Betzel C. 2009. Snake venomics of the Siamese Russell's viper (*Daboia russelli siamensis*) — Relation to pharmacological activities. Journal of Proteomics 72: 256-269.

Scott T, Foster BG. 1997. *Salmonella* spp. in free-ranging and farmed alligators (*Alligator mississippiensis*) from Texas and Lousiana, U.S.A. Aquaculture 156: 179-181.

Touzeau T, Sievert LM. 1993. Postprandial thermophily in rough green snakes

(*Opheodrys aestivus*). Copeia 1993: 1174-1176.

Tsai T-S, Tu M-C. 2005. Postprandial thermophily of Chinese green tree vipers, *Trimeresurus s. stejnegeri*: Interfering factors on snake temperature selection in a thigmothermal gradient. Journal of Thermal Biology 30: 423-430.

Wang R-F, Cao W-W, Cerniglia CE. 1996. PCR detection and quantitation of predominant anaerobic bacteria in human and animal fecal samples. Applied and Environmental Microbiology 62: 1242-1247.

Willemse GT, Hattingh J. 1978. Snake venom instability. Zoologica Africana 13: 293-303.

Willemse GT, Hattingh J. 1980. Effect of drying and storage on electrophoretic properties of venom from puff adders (*Bitis arietans*) and Cape cobras (*Naja nivea*). Herpetologica 36: 170-174

Willemse GT, Hattingh J, Karlsson RM, Levy S, Parker C. 1979. Changes in composition and protein concentration of puff adder (*Bitis arietans*) venom due to frequent milking. Toxicon 17: 37-42.

Willis C, Wilson T, Greenwood M, Ward L. 2002. Pet reptiles associated with a case of salmonellosis in an infant were carrying multiple strains of *Salmonella*. Journal Clinical Microbiology 40: 4802-4803.

World Health Organization. 2018. WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins.

Zając M, Wasyl D, Różycki M, Bilska-Zając E, Fafiński Z, Iwaniak W, Krajewska M, Hoszowski A, Konieczna O, Fafińska P, Szulowski K. 2016. Free-living snakes as a source and possible vector of *Salmonella* spp. and parasites. European Journal of Wildlife Research 62: 161-166.

占家智、羊茜。2012。經濟蛇類科學養殖(簡體書)。化學工業出版社。北京市。

李文傑、呂光洋。1996。台灣地區蛇類食性的初探。師大生物學報 31: 119-124。

杜銘章。2004。蛇類大驚奇。遠流出版事業股份有限公司。台北市。

徐亞莉、吳佳蓉、周祖楨、謝文欽、鄭雅芬、江正榮。2013。臺灣抗蛇毒血清製造之回顧與展望。疫情報導 29: 64-69。

黃聖傅。2014。不同培養條件對痲瘋樹懸浮細胞生成脂肪酸及蛋白質的影響。屏科大生物科技系碩士學位論文。

賴正宏、郭玉琴、董光中、王俊秀。2004。台灣地區蛇類之寄生蟲調查。台灣獸醫誌 30: 26-33。

蘇逸晨。2009。福山試驗林麝香貓(*Viverricula indica*)之腸道寄生蟲。碩士學位論文。

表一、鎖鍊蛇基本資料、體重變化與取毒量比較表。

編號	捕獲地	初始吻肛長(cm)	初始尾長(cm)	性別	初始體重(g)	目前體重(g)	體重增加率(%)	採集毒液總鮮重(g)	採集毒液總乾重(g)
成蛇：									
Dr316	屏東枋山	64.7	13.1	公	202 (2017.8.3量測)	263.8 (2018.4.10量測)	30.6	0.6383	0.1099
Dr318	屏東枋山	62.7	13.1	公	240.5 (2017.8.3量測)	297.8 (2018.4.10量測)	23.8	0.6607	0.1716
Dr320	高雄小港	63.3	13.7	公	119 (2017.8.3量測)	168.8 (2018.4.10量測)	41.8	0.4815	0.1023
Dr322	高雄小港	82.3	12.5	母	442 (2017.8.3量測)	500.3 (2018.4.10量測)	13.2	1.3080	0.2377
Dr324	高雄小港	62.9	9.7	公	182.4 (2017.8.3量測)	268.2 (2018.4.10量測)	47.0	0.7598	0.1441
Dr326	高雄小港	65.8	14.3	公	217.5 (2017.8.3量測)	361.5 (2018.4.10量測)	66.2	0.6086	0.1113
Dr328	高雄小港	57.3	11.7	公	104.5 (2017.8.3量測)	152.2 (2018.4.10量測)	45.6	0.3929	0.0711
Dr330	高雄小港	58.8	8.9	母	137.5 (2017.8.3量測)	275.2 (2018.4.10量測)	100.1	0.3737	0.0779
Dr332	屏東車城	63.6	9.3	母	183.5 (2017.8.3量測)	274.7 (2018.4.10量測)	49.7	0.4240	0.0869
Dr334	屏東車城	57.5	12.3	公	106 (2017.8.3量測)	135.5 (2018.4.10量測)	27.8	0.2282	0.0393
Dr336	高雄小港	38	5.9	母	61.7 (2017.8.3量測)	100.3 (2018.4.10量測)	62.6	0.3111	0.0776
Dr338	台東	71.3	10.2	母	264 (2017.9.14量測)	288.2 (2018.4.10量測)	9.2	0.8990	0.1909
Dr342	高雄小港	42.5	8.8	公	86.1 (2017.8.3量測)	128.4 (2018.4.10量測)	49.1	0.3303	0.0655
Dr344	花蓮	27.5	4.9	母	69.1 (2017.8.3量測)	133.2 (2018.4.10量測)	92.8	0.3510	0.0727
Dr358	台東	68.8	13.7	公	324 (2017.8.16測)	291.5 (2018.4.10量測)	-10.0	0.7101	0.1420
Dr366	屏東枋寮	69	9	公	273 (2017.8.15測)	276.9 (2018.4.10量測)	1.4	0.9210	0.1093
幼蛇：									
Dr348	屏東枋寮	23.1	3.9	母	12 (2017.8.3量測)	29.4 (2018.4.10量測)	145.0	NA	NA
Dr350	屏東枋寮	20.7	3.2	公	12 (2017.8.3測)	30.5 (2018.4.10量測)	154.2	NA	NA
Dr354	屏東枋寮	22	3.7	母	12 (2017.8.3測)	32.7 (2018.4.10量測)	172.5	NA	NA
Dr356	屏東枋寮	21.8	3.3	公	12 (2017.8.3測)	34.7 (2018.4.10量測)	189.2	NA	NA
Dr360	高雄小港	21.7	4	母	7 (2017.8.16測)	26.7 (2018.4.10量測)	281.4	NA	NA
Dr362	屏東枋寮	19.9	3.9	母	7.8 (2017.8.15測)	29 (2018.4.10量測)	271.8	NA	NA
Dr368	高雄小港	24	3.6		15 (2017.8.31測)	41.3 (2018.4.10量測)	175.3	NA	NA

表二、雨傘節基本資料、體重變化與取毒量比較表。

編號	捕獲地	初始吻肛長(cm)	初始尾長(cm)	性別	初始體重(g)	目前體重(g)	體重增加率(%)	採集毒液總鮮重(g)	採集毒液總乾重(g)
Bm1002	高雄大寮	112.3	16.5	公	479 (2017.8.3量測)	462.8 (2018.4.10量測)	-3.4	0.2700	0.0878
Bm1020	屏東龍泉	122.6	16.9	公	552 (2017.8.3量測)	377 (2018.4.10量測)	-31.7	0.3797	0.0961
Bm1038	高雄鳥松	114.2	15.1	公	404.5 (2017.8.3量測)	228.1 (2018.4.10量測)	-43.6	0.1613	0.0541
Bm1040	高雄鳳山	97.5	13.1	公	190 (2017.8.3量測)	213.9 (2018.4.10量測)	12.6	0.0710	0.0152
Bm1060	屏東竹田	117.4	14.5	公	534.3 (2017.8.3量測)	335.8 (2018.4.10量測)	-37.2	0.2488	0.0666
Bm1062	屏東竹田	83.5	11.8	公	137 (2017.8.3量測)	134.2 (2018.4.10量測)	-2.0	0.0777	0.0205
Bm1066	屏科大	54.9	8	母	120 (2017.8.16量測)	130.4 (2018.4.10量測)	8.7	0.1061	0.0348
Bm1068	屏科大	49.4	7.7	公	108 (2017.8.31量測)	118.9 (2018.4.10量測)	10.1	0.0982	0.0261
Bm1072	高雄小港	80.4	7.6	母	140 (2017.8.16量測)	133.1 (2018.4.10量測)	-4.9	0.0804	0.0273
Bm1082	高雄橋頭	89.4	13.9	公	148 (2017.8.3量測)	159.4 (2018.4.10量測)	7.7	0.1678	0.0431
Bm1084	高雄橋頭	94	13	公	212 (2017.8.3量測)	110.1 (2018.3.13量測)	-48.1	0.1471	0.0866
Bm1098	屏東竹田	90.4	12.5	母	169 (2017.8.16量測)	105.5 (2018.4.10量測)	-37.6	0.1642	0.0401
Bm1104	屏東長治	90	14.4	公	282.3 (2017.9.14量測)	180.8 (2018.4.10量測)	-36.0	0.0697	0.0112
Bm1106	高雄左營	97.6	16.8	公	327 (2017.10.17量測)	211.8 (2018.4.10量測)	-35.2	0.1652	0.0623
Bm1118	高雄橋頭	93.7	14.2	公	260 (2017.10.17量測)	193 (2018.4.10量測)	-25.8	0.2195	0.0564
Bm1136	高雄	93.6	9.6	公	243.5 (2017.10.17量測)	151.6 (2018.4.10量測)	-37.7	0.1538	0.0364
Bm1140	高雄仁武	123.2	12.5	公	616.6 (2017.10.17量測)	394.9 (2018.4.10量測)	-36.0	0.1314	0.0331
Bm1142	高雄仁武	96.2	13.1	公	364.6 (2017.10.17量測)	226.9 (2018.4.10量測)	-37.8	0.1525	0.0503
Bm1144	高雄仁武	111.4	14.1	公	650.7 (2017.10.17量測)	483 (2018.4.10量測)	-25.8	0.2237	0.0603
Bm1148	高雄鳥松	100.8	15	公	236.7 (2017.10.17量測)	230 (2018.4.10量測)	-2.8	0.1905	0.0405
Bm1150	高雄左營	108.3	14.8	公	383.9 (2017.10.17量測)	353 (2018.4.10量測)	-8.0	0.1530	0.0331
Bm1170	高雄旗山	106.1	12.9	公	343 (2017.11.20測)	189.7 (2018.4.10量測)	-44.7	0.1489	0.0305
Bm1196	屏東新園	112.6	15.8	公	375.1 (2017.12.7測)	311.5 (2018.4.10量測)	-17.0	0.1368	0.0295
Bm1198	屏東新園	112.6	15.8	公	238.9 (2017.12.7測)	206.5 (2018.4.10量測)	-13.6	0.1156	0.0261

表三、鎖鍊蛇咽喉黏膜細菌篩檢及排遺內寄生蟲調查結果。註：[a]線蟲；[b]鈎蟲。

蛇隻編號	細菌				寄生蟲					
Dr 316	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.8	2017.8.21	2017.9.3		
	Salmonella	+	+	+	蟲體	+[a]	+[a]	-		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	+[a]	-		
Dr 318	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.10.15	2017.11.27	2018.2.5	2018.2.12	2018.3.12
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+[a]	-	-	-	-
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	-	-	-	-
Dr 320	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.8	2018.2.21	2018.3.13		
	Salmonella	+	-	-	蟲體	+[a]	-	-		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-	-		
Dr 322	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.9	2017.9.18	2017.10.15		
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+[a]	-	-		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	+[a]	-		
Dr 324	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.8	2017.9.5	2018.2.7	2018.3.13	
	Salmonella	-	-	-	蟲體	-	-	-	-	
	E. coli	-	-	-	蟲卵	+[b]	-	-	-	
Dr 326	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.20				
	Salmonella	+	+	+	蟲體	-				
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-				
Dr 328	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.5	2017.9.4			
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	+[a]			
	E. coli	-	-	-	蟲卵	+[b]	-			
Dr 330	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.14	2017.9.25	2018.2.5	2018.2.21	2018.3.5
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	蟲卵	+[b]	-	-	-	-
Dr 332	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.8	2018.2.21			
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	-			
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-			
Dr 334	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期					
	Salmonella	+	-	-	蟲體					
	E. coli	+	-	-	蟲卵					

表三(cont.)

蛇隻編號	細菌				寄生蟲		
Dr 336	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.8.9	
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+[a]	
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	
Dr 338	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.30	2017.10.26
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+	+
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	-
Dr 342	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.7	2018.3.7
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	-
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	-
Dr 344	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期		
	Salmonella	+	-	-	蟲體		
	E. coli	-	-	-	蟲卵		
Dr 358	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.3	2017.11.27
	Salmonella	+	-	-	蟲體	+	-
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	-
Dr 366	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.7	
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	
Dr 348	採樣日期				採樣日期	2018.2.12	2018.3.12
	Salmonella				蟲體	-	-
	E. coli				蟲卵	-	-
Dr 350	採樣日期				採樣日期	2018.2.21	
	Salmonella				蟲體	-	
	E. coli				蟲卵	-	
Dr 360	採樣日期				採樣日期	2018.2.7	2018.3.12
	Salmonella				蟲體	-	-
	E. coli				蟲卵	-	-
Dr 368	採樣日期				採樣日期	2017.10.31	
	Salmonella				蟲體	-	
	E. coli				蟲卵	+	

表四、雨傘節咽喉黏膜細菌篩檢及排遺內寄生蟲調查結果。註：[a]線蟲；[c]孢子蟲。

蛇隻編號	細菌				寄生蟲			
Bm 1002	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.3.12		
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-		
Bm 1020	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期			
	Salmonella	-	-	-	蟲體			
	E. coli	-	-	-	蟲卵			
Bm 1038	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.5		
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+[a]		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-		
Bm 1040	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.12	2018.3.5	2018.3.13
	Salmonella	-	-	-	蟲體	-	-	-
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-	-
Bm 1060	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期			
	Salmonella	-	-	-	蟲體			
	E. coli	+	-	-	蟲卵			
Bm 1062	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.3.5	2018.3.13	
	Salmonella	+	-	-	蟲體	-	-	
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	-	
Bm 1066	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.10.26		
	Salmonella	-	-	-	蟲體	+[c]		
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-		
Bm 1068	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2017.9.7	2018.3.5	2018.3.12
	Salmonella	+	-	-	蟲體	+[a]	-	-
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-	-
Bm 1072	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期			
	Salmonella	-	-	-	蟲體			
	E. coli	-	-	-	蟲卵			
Bm 1082	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.3.5		
	Salmonella	-	-	-	蟲體	-		
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-		
Bm 1084	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期			
	Salmonella	+	-	-	蟲體			
	E. coli	-	-	-	蟲卵			
Bm 1098	採樣日期	2017.10.21			採樣日期			
	Salmonella	-			蟲體			
	E. coli	-			蟲卵			

表四(cont.)。

蛇隻編號	細菌				寄生蟲		
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期		
Bm 1104	*Salmonella*	+	+	-	蟲體		
	E. coli	-	-	-	蟲卵		
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期		
Bm 1106	*Salmonella*	+	-	-	蟲體		
	E. coli	+	-	-	蟲卵		
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.3.5	
Bm 1118	*Salmonella*	+	-	-	蟲體	-	
	E. coli	+	-	-	蟲卵	-	
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期		
Bm 1136	*Salmonella*	+	-	-	蟲體		
	E. coli	-	-	-	蟲卵		
	採樣日期	2017.12.31	2018.2.28		採樣日期		
Bm 1140	*Salmonella*	-	-		蟲體		
	E. coli	-	-		蟲卵		
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期		
Bm 1142	*Salmonella*	+	+	-	蟲體		
	E. coli	-	-	-	蟲卵		
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.12	2018.3.5
Bm 1144	*Salmonella*	+	+	-	蟲體	-	-
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.2.21	2018.3.12
Bm 1148	*Salmonella*	+	+	-	蟲體	-	-
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	-
	採樣日期	2017.10.21	2017.12.31	2018.2.28	採樣日期	2018.3.12	
Bm 1150	*Salmonella*	+	+	-	蟲體	-	
	E. coli	-	-	-	蟲卵	-	
	採樣日期	2017.12.31	2018.2.28		採樣日期		
Bm 1170	*Salmonella*	-	-		蟲體		
	E. coli	-	-		蟲卵		
	採樣日期	2017.12.31	2018.2.28		採樣日期		
Bm 1196	*Salmonella*	-	-		蟲體		
	E. coli	-	-		蟲卵		
	採樣日期	2017.12.31	2018.2.28		採樣日期	2018.3.5	
Bm 1198	*Salmonella*	-	-		蟲體	-	
	E. coli	-	-		蟲卵	-	

表五、鎖鍊蛇基質選擇測試結果。

蛇種編號	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)
	報紙(球)	泥炭土	其他		報紙(球)	乾水苔	其他		泥炭土	乾水苔	其他		低濕水苔	中濕水苔	其他		低濕水苔	高濕水苔	其他	
Dr316	**22**	6	0	< 0.0005	8	**20**	0	< 0.05	15	28	0	0.07	9	**39**	0	< 0.0001	**59**	26	6	< 0.0005
Dr318	16	13	0	0.71	6	**21**	0	< 0.01	18	24	0	0.44	17	**33**	0	< 0.05	40	44	4	0.74
Dr320	9	19	0	0.09	8	**20**	0	< 0.05	6	**36**	0	< 0.0001	**33**	16	0	< 0.05	51	34	6	0.08
Dr322	19	9	0	0.09	4	**24**	0	< 0.0005	9	**33**	0	< 0.0005	7	**42**	0	< 0.0001	**72**	16	4	< 0.0001
Dr324	14	15	0	1.00	16	11	0	0.44	4	**39**	0	< 0.0001	17	**32**	0	< 0.05	37	50	4	0.20
Dr326	15	14	0	1.00	6	**21**	0	< 0.01	19	23	0	0.64	3	**46**	1	< 0.0001	**66**	24	0	< 0.0001
Dr328	9	20	0	0.06	7	**20**	0	< 0.05	3	**39**	0	< 0.0001	**36**	14	0	< 0.005	**60**	30	0	< 0.005
Dr330	20	9	0	0.06	**23**	4	0	< 0.0005	16	25	1	0.21	**38**	12	0	< 0.0005	**66**	19	1	< 0.0001
Dr332	11	18	0	0.26	4	**23**	0	< 0.0005	8	**34**	0	< 0.0001	**40**	9	0	< 0.0001	**56**	34	0	< 0.05
Dr334	18	11	0	0.26	0	**27**	0	< 0.0001	1	**41**	0	< 0.0001	22	28	0	0.48	**74**	16	0	< 0.0001
Dr336	19	9	0	0.09	15	13	0	0.85	12	**30**	0	< 0.01	27	23	0	0.67	**83**	3	4	< 0.0001
Dr338	**20**	8	0	< 0.05	**25**	2	0	< 0.0001	28	15	0	0.07	**35**	14	0	< 0.005	**58**	27	5	< 0.005
Dr342	16	13	0	0.71	11	16	0	0.44	8	**35**	0	< 0.0001	13	**36**	0	< 0.005	40	38	2	0.91
Dr344	16	13	0	0.71	11	16	0	0.44	8	**35**	0	< 0.0001	27	21	1	0.47	48	38	5	0.33
Dr358	8	14	2	0.29	5	**25**	0	< 0.0005	7	**35**	0	< 0.0001	17	22	2	0.52	**30**	2	0	< 0.0001
Dr366	**24**	4	0	< 0.0005	14	14	0	1.00	10	**28**	4	< 0.01	26	23	0	0.78	**26**	7	0	< 0.005

表六、雨傘節基質選擇測試結果。

蛇種編號	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)	基質選擇次數			P-value (Exact test of goodness-of-fit)
	報紙(球)	泥炭土	其他		報紙(球)	乾水苔	其他		泥炭土	乾水苔	其他		低濕水苔	中濕水苔	其他		低濕水苔	高濕水苔	其他	
Bm1002	1	**24**	4	<0.0001	2	**12**	13	<0.05	7	**29**	7	<0.0005	5	**44**	0	<0.0005	1	**89**	0	<0.0001
Bm1020	10	18	0	0.18	**26**	1	1	<0.0001	6	**31**	6	<0.0001	**47**	1	1	<0.0001	1	**89**	0	<0.0001
Bm1038	**25**	0	3	<0.0001	3	**25**	0	<0.0001	1	**29**	13	<0.0001	**44**	1	2	<0.0001	1	**88**	1	<0.0001
Bm1040	2	**27**	0	<0.0001	1	**25**	1	<0.0001	1	**38**	3	<0.0001	21	17	12	<0.0001	3	**87**	0	<0.0001
Bm1052	0	**26**	1	<0.0001	2	**23**	3	<0.0001	18	20	4	0.87	**30**	4	16	0.87	3	**27**	0	<0.0001
Bm1060	2	**20**	7	<0.0001	2	**26**	0	<0.0001	6	**33**	4	<0.0001	**45**	3	1	<0.0001	0	**27**	1	<0.0001
Bm1062	1	**26**	0	<0.0001	**18**	2	7	<0.0005	8	**29**	7	<0.001	4	**43**	0	<0.001	2	**26**	0	<0.0001
Bm1066	0	**27**	0	<0.0001	0	**29**	0	<0.0001	0	**40**	2	<0.0001	1	**45**	3	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001
Bm1068	1	**27**	0	<0.0001	1	**27**	1	<0.0001	8	**23**	11	0.01	**39**	7	4	0.01	1	**27**	0	<0.0001
Bm1070	3	**14**	11	0.01	0	**25**	5	<0.0001	1	**29**	13	<0.0001	4	**43**	3	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001
Bm1072	0	**26**	1	<0.0001	0	**29**	0	<0.0001	9	**34**	1	<0.0005	**41**	7	0	<0.0005	0	**33**	0	<0.0001
Bm1074	0	**27**	1	<0.0001	0	**25**	3	<0.0001	5	**24**	14	<0.001	10	9	31	<0.001	0	**27**	1	<0.0001
Bm1076	3	**25**	0	<0.0001	0	**28**	1	<0.0001	7	**21**	16	<0.05	3	**44**	1	<0.05	0	**28**	0	<0.0001
Bm1078	0	**25**	3	<0.0001	1	**28**	0	<0.0001	6	**31**	5	<0.0001	5	**42**	3	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001
Bm1082	8	**31**	7	<0.0005	0	**28**	0	<0.0001	8	**23**	11	<0.05	**28**	3	19	<0.05	1	**60**	1	<0.0001
Bm1084	2	**24**	1	<0.0001	1	**28**	1	<0.0001	6	**32**	6	<0.0001	**46**	2	0	<0.0001	0	**27**	1	<0.0001
Bm1094	26	16	4	0.16	0	**28**	0	<0.0001	3	**32**	7	<0.0001	0	**49**	0	<0.0001	1	**41**	0	<0.0001
Bm1098	4	**23**	1	<0.0005	1	**27**	0	<0.0001	17	25	0	0.28	3	**42**	4	0.28	0	**42**	0	<0.0001
Bm1104	0	**22**	5	<0.0001	7	14	9	0.19	10	**23**	9	<0.05	32	18	0	<0.05	0	**28**	0	<0.0001
Bm1106	2	**24**	1	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001	3	**37**	2	<0.0001				<0.0001	2	**38**	0	<0.0001
Bm1116	0	**27**	1	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001	21	17	5	0.63				0.63	1	**25**	3	<0.0001
Bm1118	1	**25**	2	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001	0	**42**	0	<0.0001				<0.0001	0	**27**	0	<0.0001
Bm1134	0	**28**	0	<0.0001	2	**25**	1	<0.0001	**38**	4	0	<0.0001				<0.0001	0	**27**	0	<0.0001
Bm1136	1	**24**	3	<0.0001	5	**22**	1	<0.005	**27**	13	2	<0.05				<0.05	0	**42**	0	<0.0001
Bm1140	0	**28**	0	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001	13	**28**	1	<0.05				<0.05	5	**37**	0	<0.0001
Bm1142	1	**27**	0	<0.0001	1	**26**	1	<0.0001	2	**39**	1	<0.0001				<0.0001	0	**42**	0	<0.0001
Bm1144	1	**26**	0	<0.0001	0	**28**	0	<0.0001	2	**40**	0	<0.0001				<0.0001	0	**41**	1	<0.0001
Bm1148	0	**27**	0	<0.0001	0	**27**	1	<0.0001	**31**	6	5	<0.0001				<0.0001	0	**37**	1	<0.0001
Bm1150	0	**27**	0	<0.0001	0	**27**	1	<0.0001	**29**	4	9	<0.0001				<0.0001	0	**42**	0	<0.0001
Bm1170	16	20	10	0.62					14	**28**	0	<0.05				<0.05	5	**35**	0	<0.0001
Bm1196	5	**31**	10	<0.0001	18	10	0	0.18												
Bm1198	**29**	11	6	<0.01	13	15	0	0.85												

表七、雨傘節餵食蛇香腸試驗結果整理。

試驗編號	試驗日期	蛇香腸內容物(煮熟)	蛇香腸附加味道方式	蛇香腸重量(g)	試驗之蛇隻數	有進食之蛇隻數	捕食率(%)
1	2017/9/15	雞胸肉	於蜥蜴飼養箱中滾動20分鐘	10.5/41.5	2	0	0.0
2	2017/9/19	雞胸肉	小雨傘節浸於水盒中20分鐘，再取其水塗佈在蛇香腸表面	16.0-26.0	5	1	20.0
3	2017/10/6	雞胸肉+雞腿肉	雨傘節蛇蛻(纏繞於蛇香腸)	6.2-19.8	21	4	19.0
4	2017/10/13	魚內臟		11.0-19.8	7	1	14.3
5	2017/11/3	鯛魚肉		5.8-21.5	30	5	16.7
6	2017/11/17	鯛魚肉	當日新鮮眼鏡蛇蛇蛻(纏繞於蛇香腸)	2.6-25.6	31	5	16.1
7	2018/12/1	雞肉+小竇蔻+雞內金+阿魏		5.4-25.9	30	4	13.3
8	2018/12/15	雞肉+小竇蔻+雞內金	阿魏(撒在蛇香腸表面)	6.9-22.1	33	5	15.2
9	2018/1/5	鯛魚肉+小竇蔻+雞內金	魚內臟水(塗佈在蛇香腸表面)	8.5-22.7	31	7	22.6
10	2018/1/26	雞胸肉	魚味水(塗佈在蛇香腸表面)	1.3-25.3	31	7	22.6

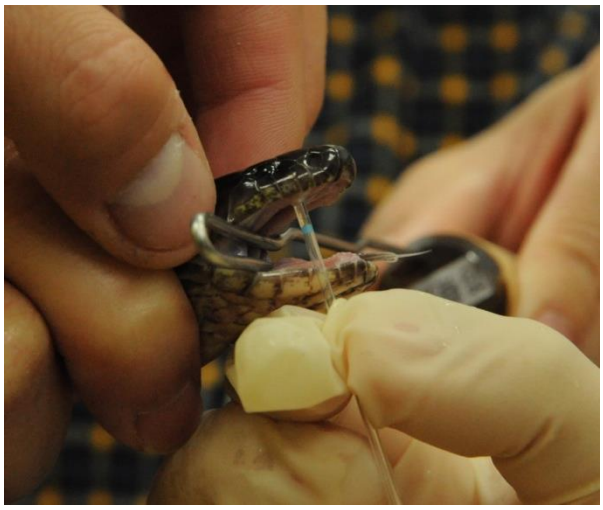
圖一、鎖鍊蛇採毒及黏膜採樣(A)，以及驅蟲藥灌食(B)方式。

(A)

(B)

圖二、雨傘節毛細管採毒(A)、黏膜採樣(B)及驅蟲藥灌食(C)方式。

(A)

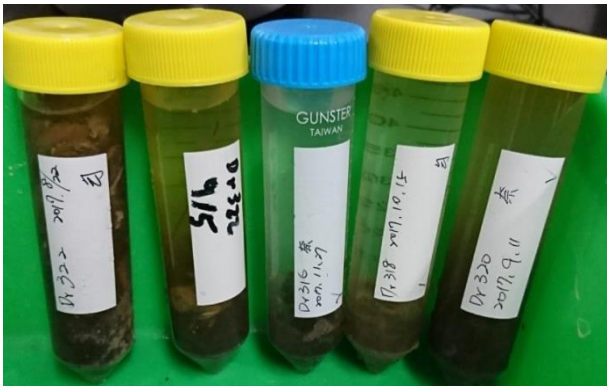


(B)

(C)

圖三、糞便樣本收集(已加入保存液；A)及寄生蟲鏡檢圖例(B：線蟲卵，400X；C：線蟲，400X)。

(A)



(B)

(C)

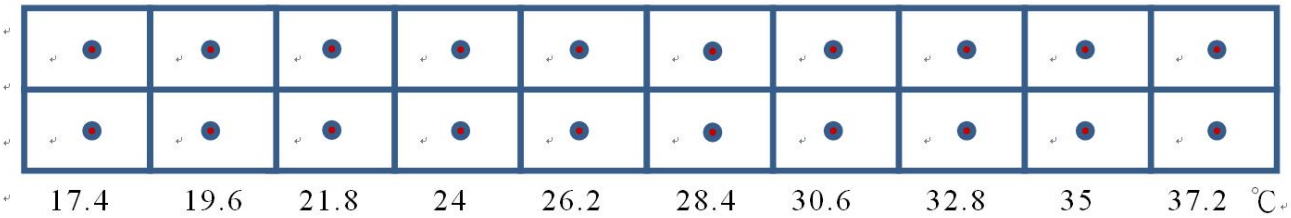
圖四、聯結式飼養箱俯視圖(A)及飼養架全景(B)。

(A)

(B)

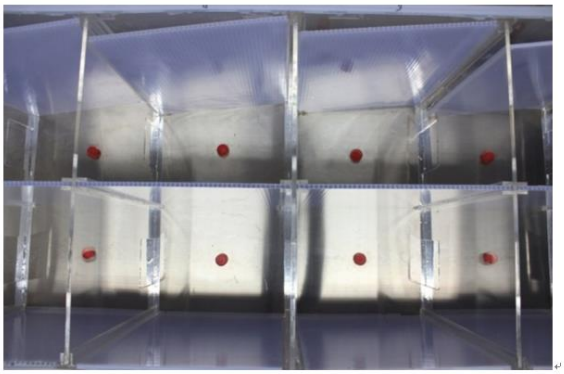
圖五、選溫槽溫度區塊示意圖(A)及實物照片(B、C)。

(A)



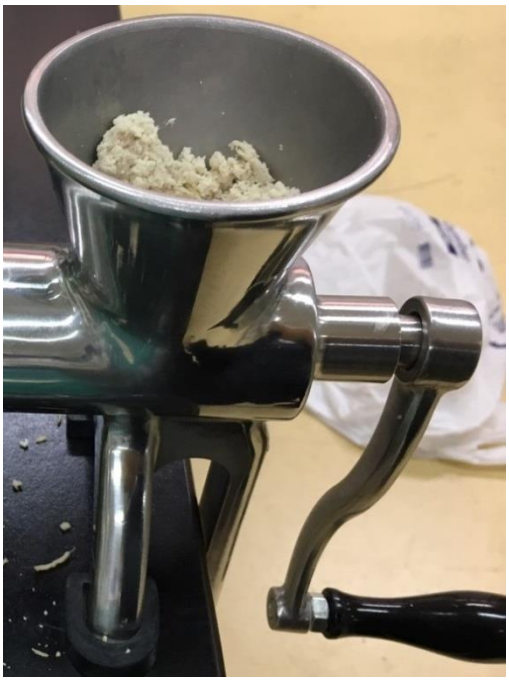
(B)

(C)



圖六、蛇香腸製作方式(蘇雅雯拍攝)。(A)絞肉；(B)將絞肉灌入腸衣；(C)灌好的蛇香腸經蒸熟後進行小切割，以放入維也命粉或鈣粉。

(A)



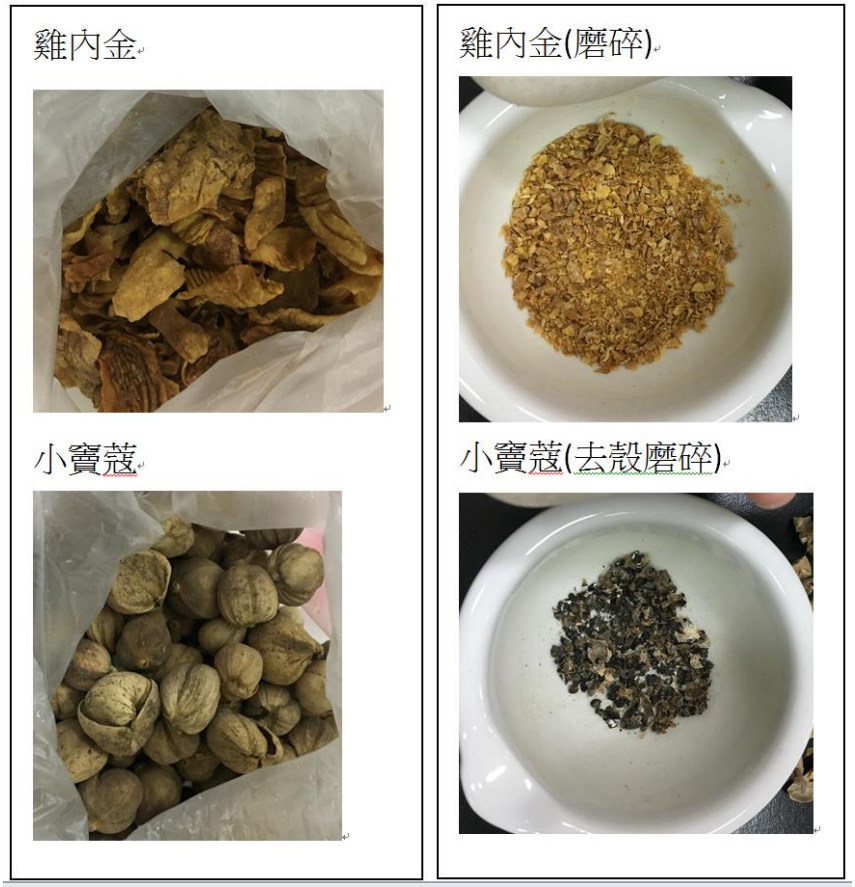
(B)

(C)

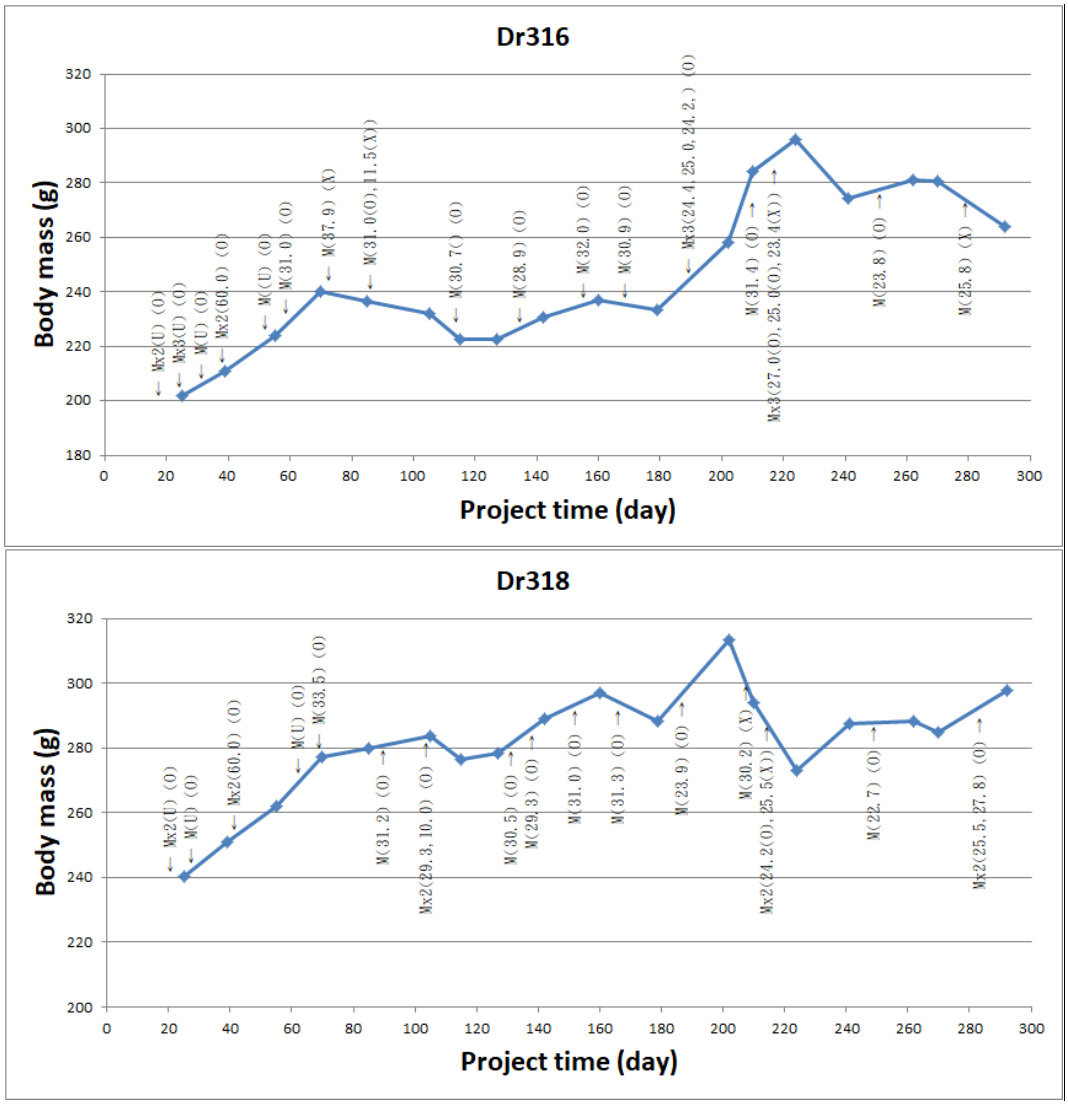
圖七、蛇香腸附加味道方式舉例(蘇雅雯拍攝)。(A)纏繞蛇蛻的蛇香腸；(B)將雞內金或小竇蔻磨碎加入蛇香腸中。

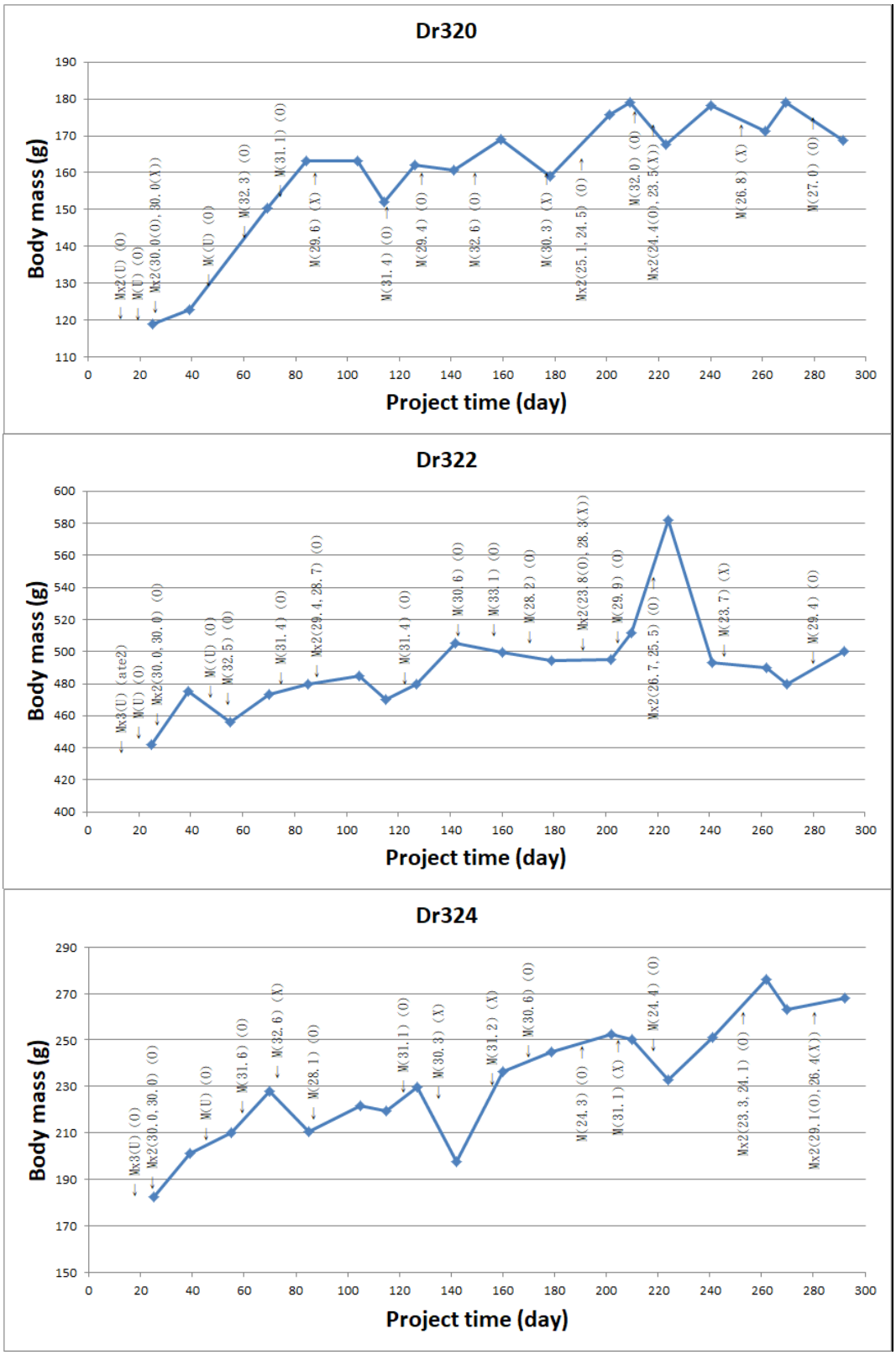
(A)

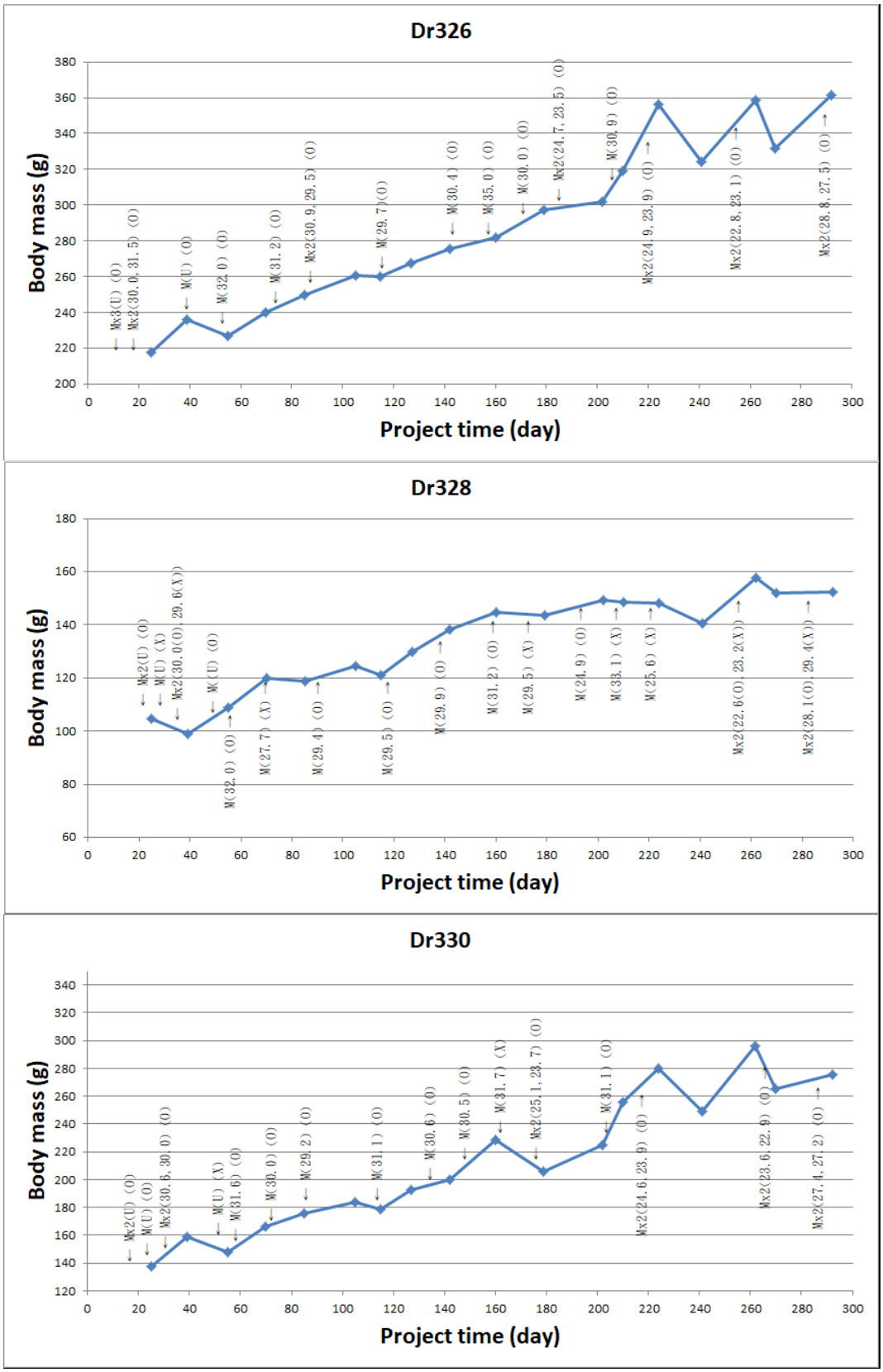
(B)

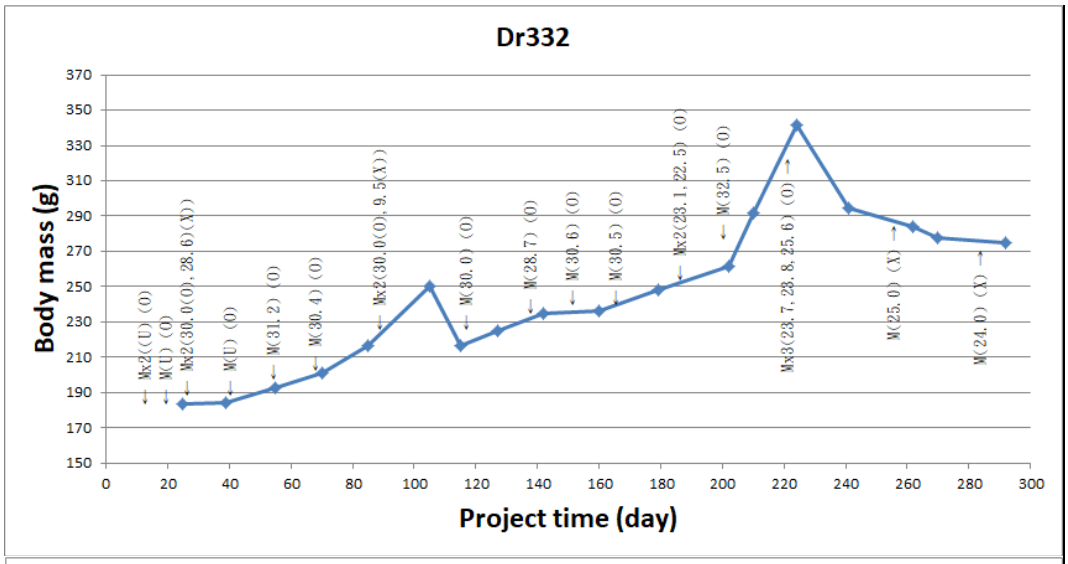


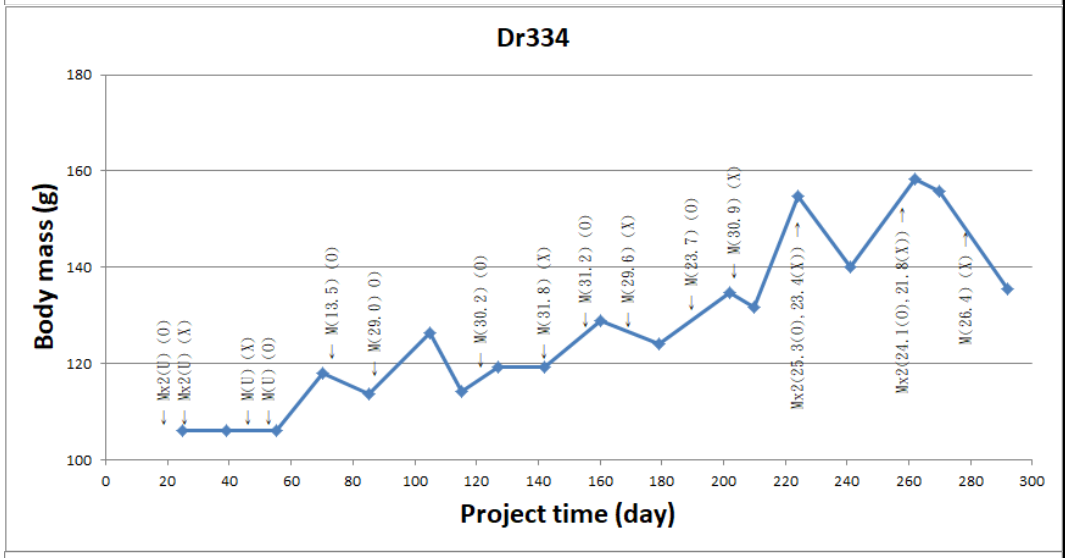
圖八、鎖鍊蛇體重變化圖。橫座標表示表示計畫開始(2017/7/10)後的天數。箭頭標示餵食事件，其中 M：老鼠、S：蛇香腸、F：青蛙、數字：食物重量(g)、U：食物重量未知、(X)：未吃、(O)：有吃。

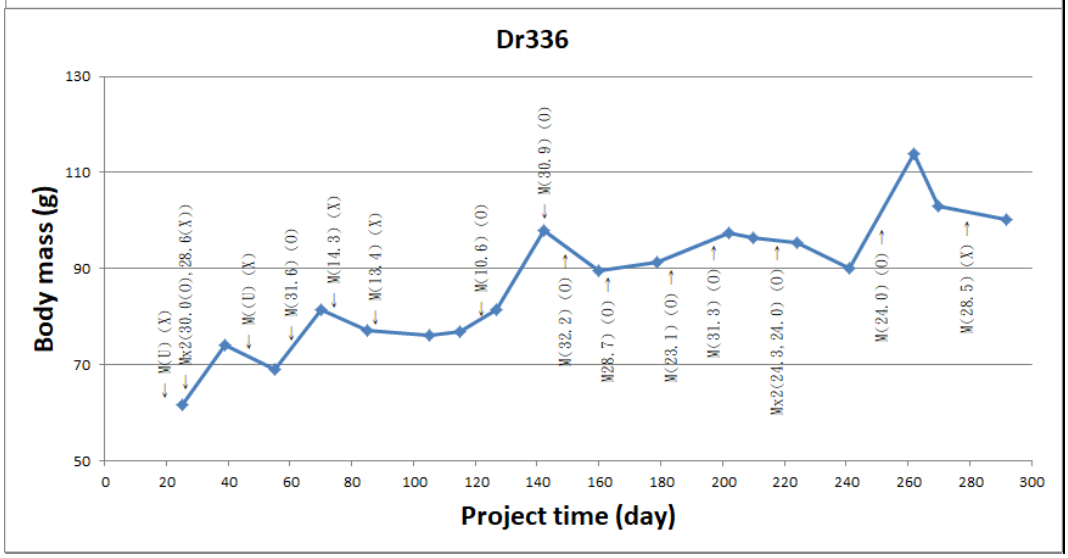


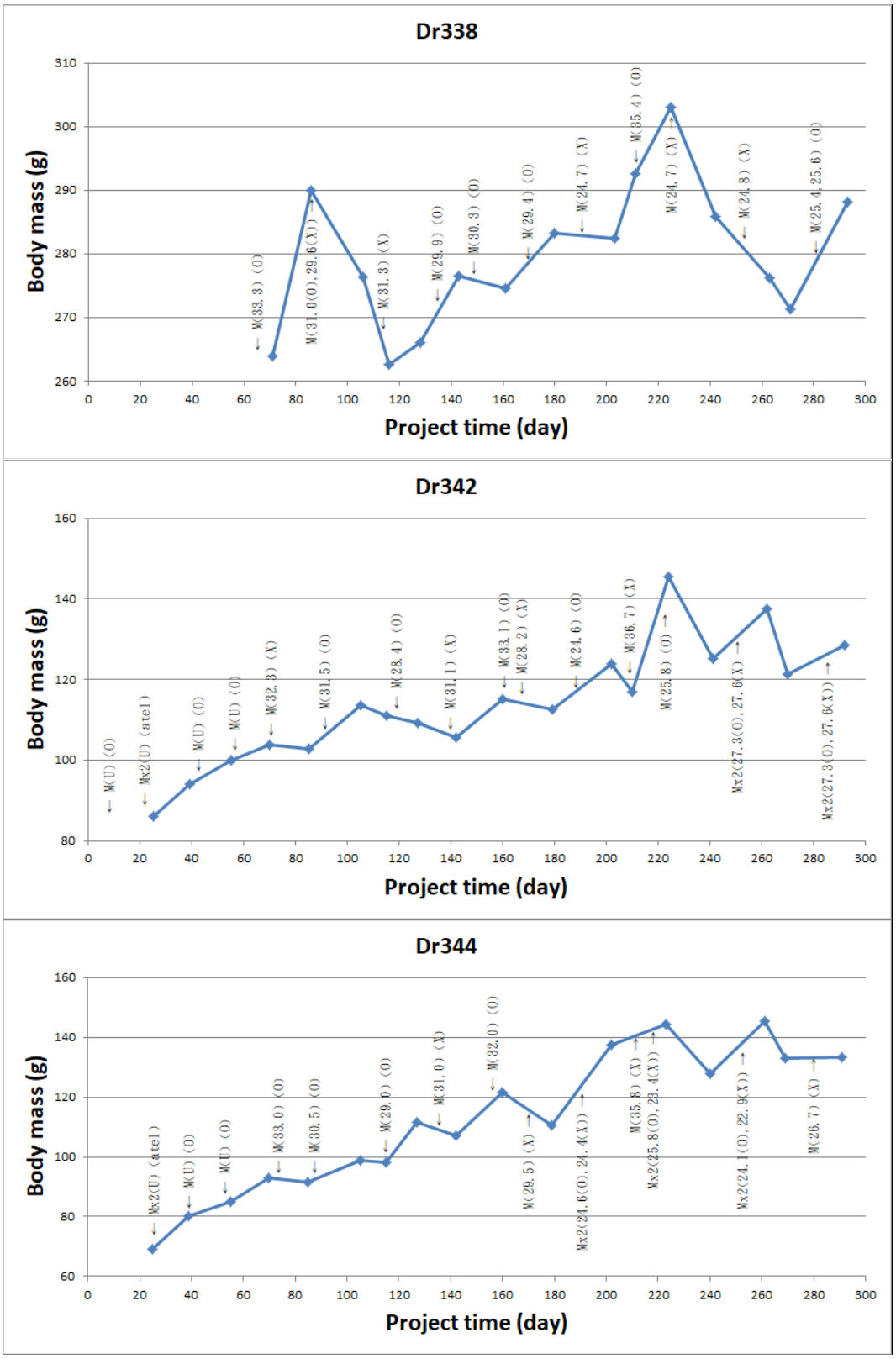

Dr320
Body mass (g)
Project time (day)
Dr322
Body mass (g)
Project time (day)
Dr324
Body mass (g)
Project time (day)

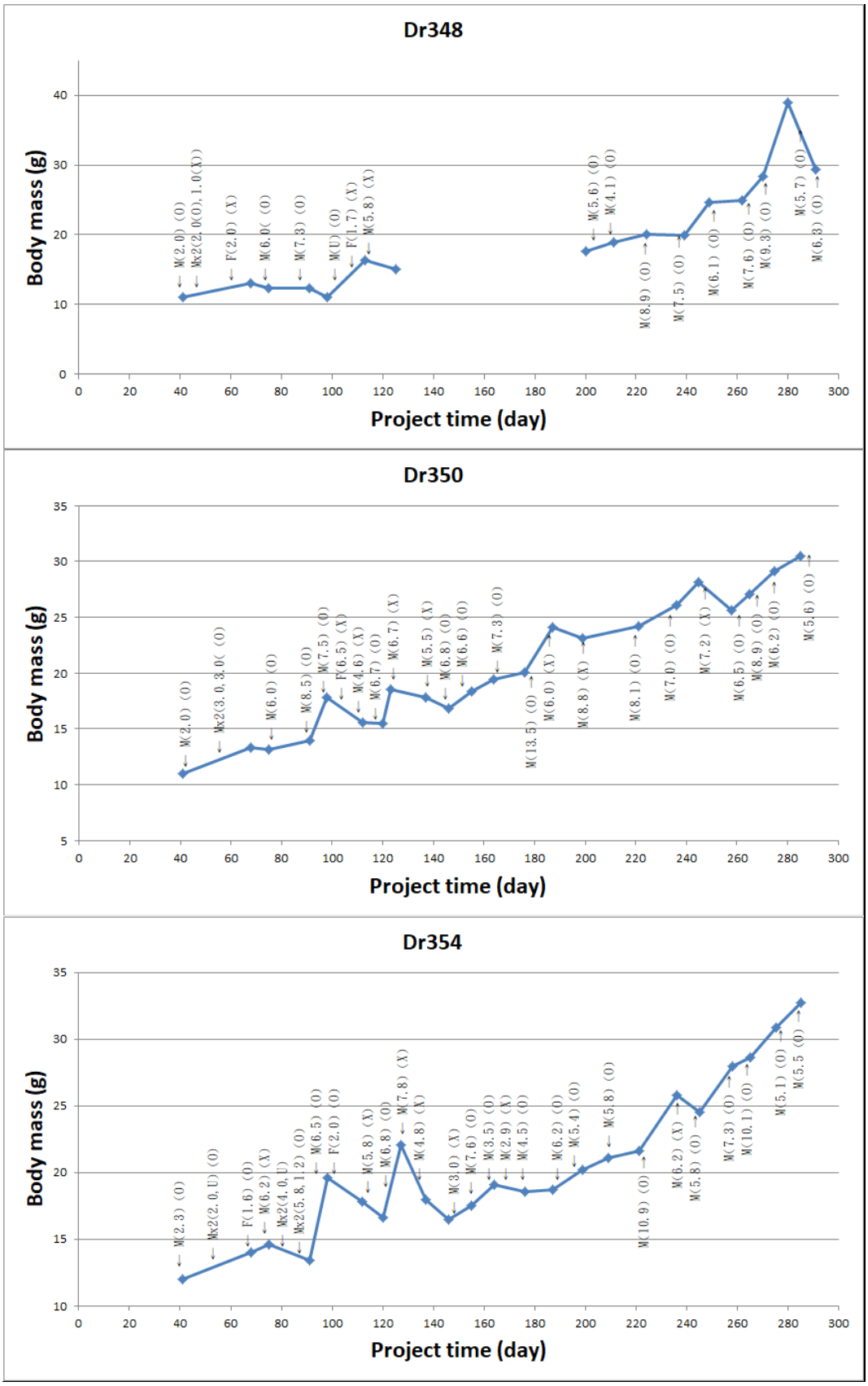

Dr326
Body mass (g)
Project time (day)
Dr328
Body mass (g)
Project time (day)
Dr330
Body mass (g)
Project time (day)

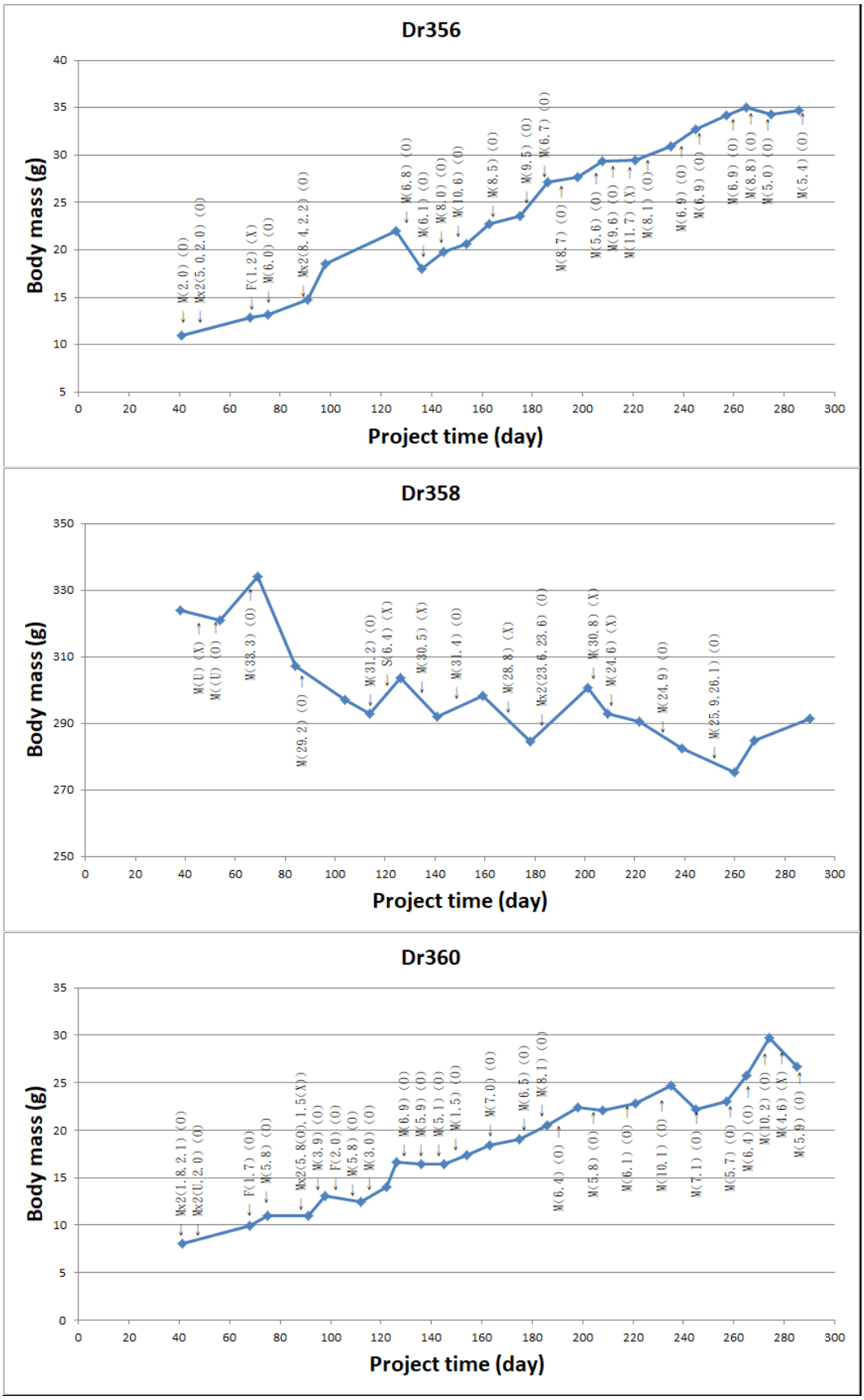

Dr332
Body mass (g)
Project time (day)
Mx2(U) (O)
W(U) (O)
Mx2(30.0(O),28.6)(X))
W(U) (O)
W(31.2) (O)
W(30.4) (O)
Mx2(30.0(O),9.5(X))
W(30.0) (O)
W(28.7) (O)
W(30.6) (O)
W(30.5) (O)
Mx2(23.1,22.5) (O)
W(32.5) (O)
Mx3(23.7,23.8,25.6) (O)
W(25.0) (X)
W(24.0) (X)

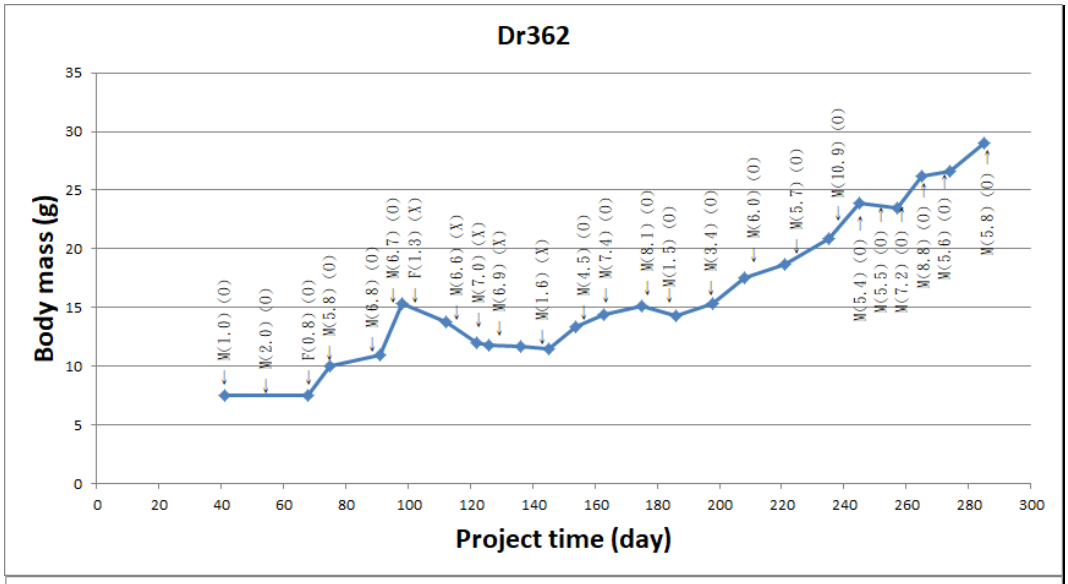

Dr334
Body mass (g)
Project time (day)
Mx2(U) (O)
Mx2(U) (X)
W(U) (X)
W(U) (O)
W(13.5) (O)
W(29.0) O)
W(30.2) (O)
W(31.8) (X)
W(31.2) (O)
W(29.6) (X)
W(23.7) (O)
W(30.9) (X)
Mx2(25.3(O),23.4(X))
Mx2(24.1(O),21.8(X))
W(26.4) (X)

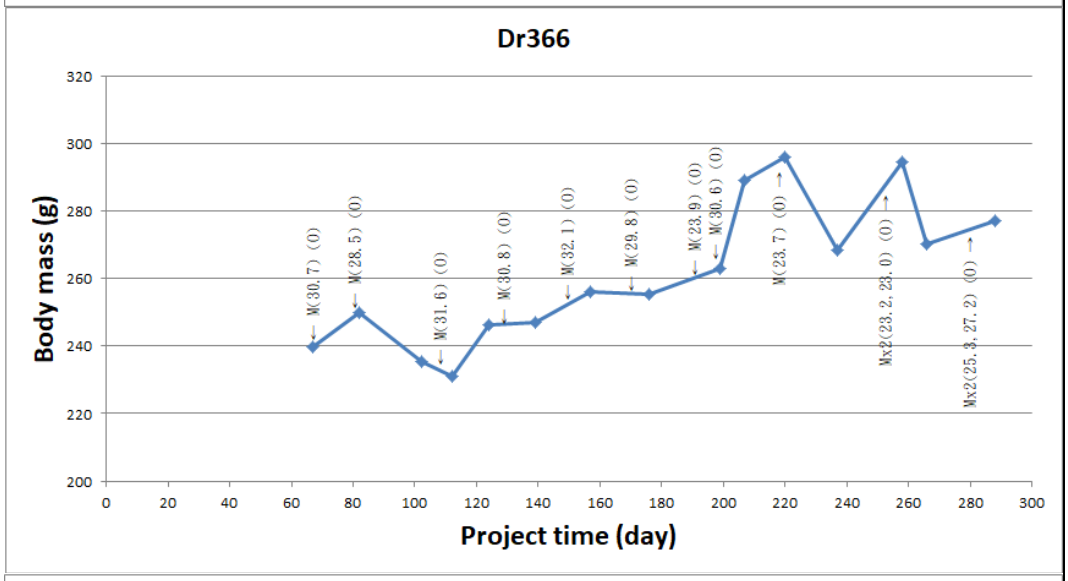

Dr336
Body mass (g)
Project time (day)
W(U) (X)
Mx2(30.0(O),28.6(X))
W(U) (X)
W(31.6) (O)
W(14.3) (X)
W(13.4) (X)
W(10.6) (O)
W(30.9) (O)
W(32.2) (O)
W28.7) (O)
W(23.1) (O)
W(31.3) (O)
Mx2(24.3,24.0) (O)
W(24.0) (O)
W(28.5) (X)

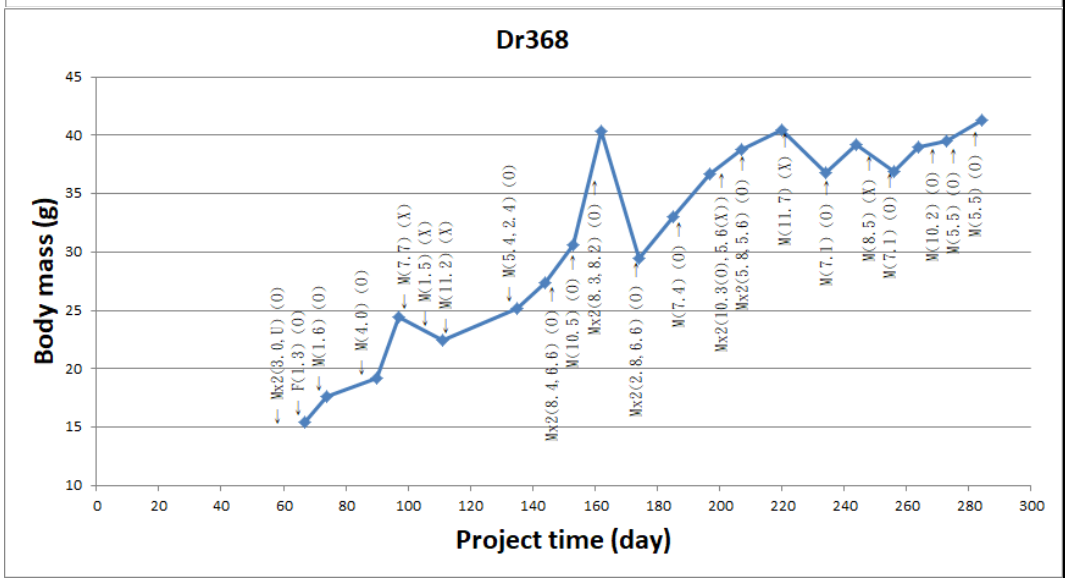

Dr338
Body mass (g)
Project time (day)
← M(33.3) (O)
M(31.0(O),29.6(X)) →
M(31.3) (X)
← M(29.9) (O)
← M(30.3) (O)
← M(29.4) (O)
← M(24.7) (X)
← M(35.4) (O)
M(24.7) (X) →
← M(24.8) (X)
← M(25.4,25.6) (O)
Dr342
Body mass (g)
Project time (day)
← M(U) (O)
← Mx2(U) (ate1)
← M(U) (O)
← M(U) (O)
← M(32.3) (X)
← M(31.5) (O)
← M(28.4) (O)
← M(31.1) (X)
← M(33.1) (O)
M(28.2) (X)
← M(24.6) (O)
← M(36.7) (X)
M(25.8) (O) →
Mx2(27.3(O),27.6(X)) →
Mx2(27.3(O),27.6(X)) →
Dr344
Body mass (g)
Project time (day)
← Mx2(U) (ate1)
← M(U) (O)
← M(U) (O)
← M(33.0) (O)
← M(30.5) (O)
← M(29.0) (O)
← M(31.0) (X)
← M(32.0) (O)
M(29.5) (X) →
Mx2(24.6(O),24.4(X)) →
M(35.8) (X) →
Mx2(25.8(O),23.4(X)) →
Mx2(24.1(O),22.9(X)) →
M(26.7) (X) →


Dr348
Body mass (g)
Project time (day)
Dr350
Body mass (g)
Project time (day)
Dr354
Body mass (g)
Project time (day)

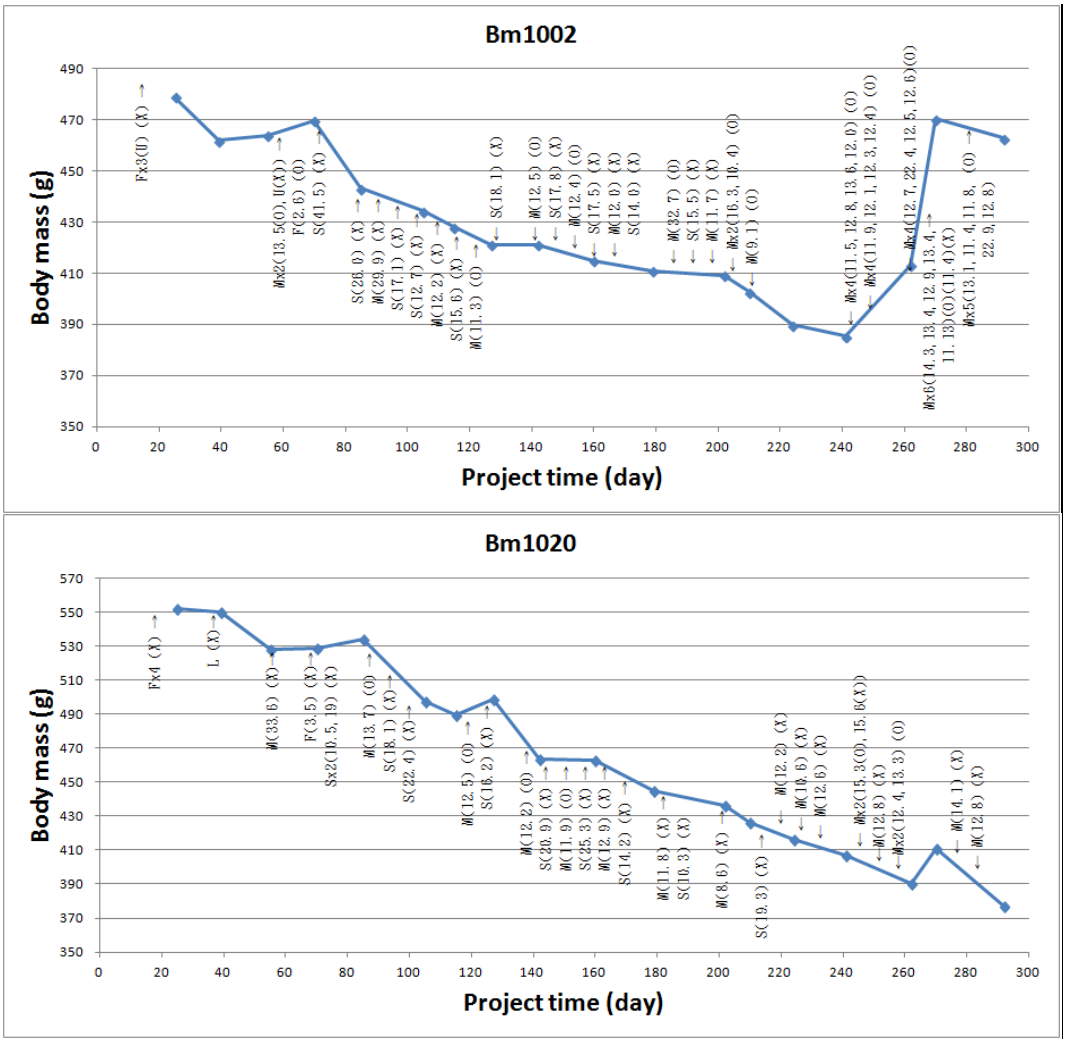

Dr356
Body mass (g)
Project time (day)
Dr358
Body mass (g)
Project time (day)
Dr360
Body mass (g)
Project time (day)

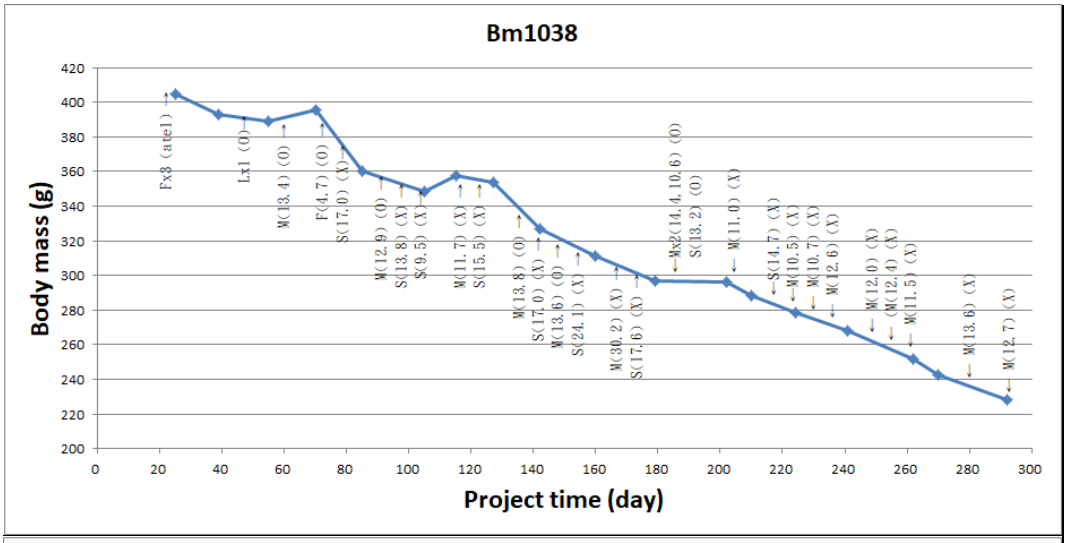

Dr362
Body mass (g)
Project time (day)
0
5
10
15
20
25
30
35
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
M(1.0) (O)
M(2.0) (O)
F(0.8) (O)
M(5.8) (O)
M(6.8) (O)
M(6.7) (O)
F(1.3) (X)
M(6.6) (X)
M(7.0) (X)
M(6.9) (X)
M(1.6) (X)
M(4.5) (O)
M(7.4) (O)
M(8.1) (O)
M(1.5) (O)
M(3.4) (O)
M(6.0) (O)
M(5.7) (O)
M(10.9) (O)
M(5.4) (O)
M(5.5) (O)
M(7.2) (O)
M(8.8) (O)
M(5.6) (O)
M(5.8) (O)

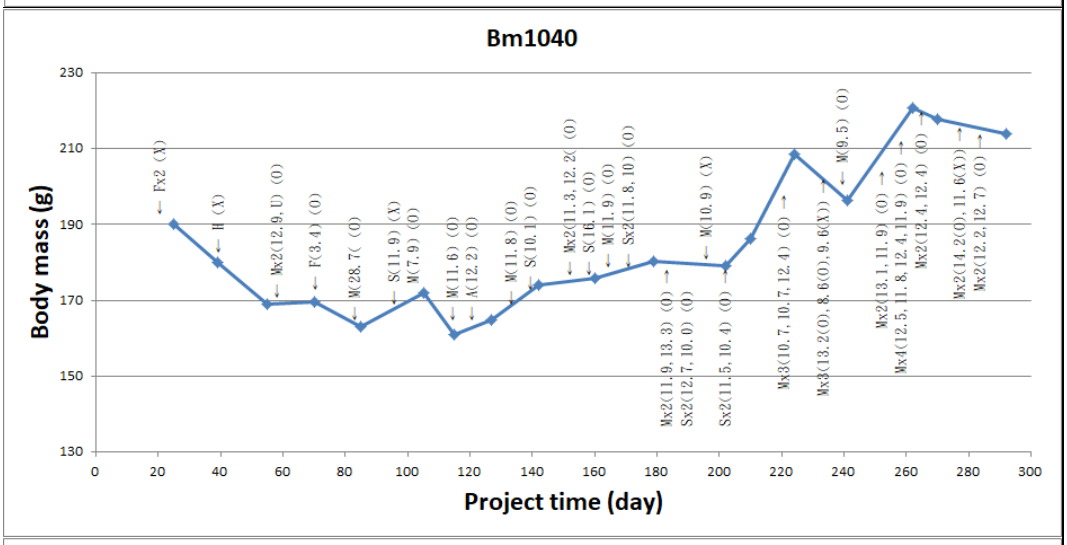

Dr366
Body mass (g)
Project time (day)
200
220
240
260
280
300
320
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
M(30.7) (O)
M(28.5) (O)
M(31.6) (O)
M(30.8) (O)
M(32.1) (O)
M(29.8) (O)
M(23.9) (O)
M(30.6) (O)
M(23.7) (O)
Mx2(23.2,23.0) (O)
Mx2(25.3,27.2) (O)

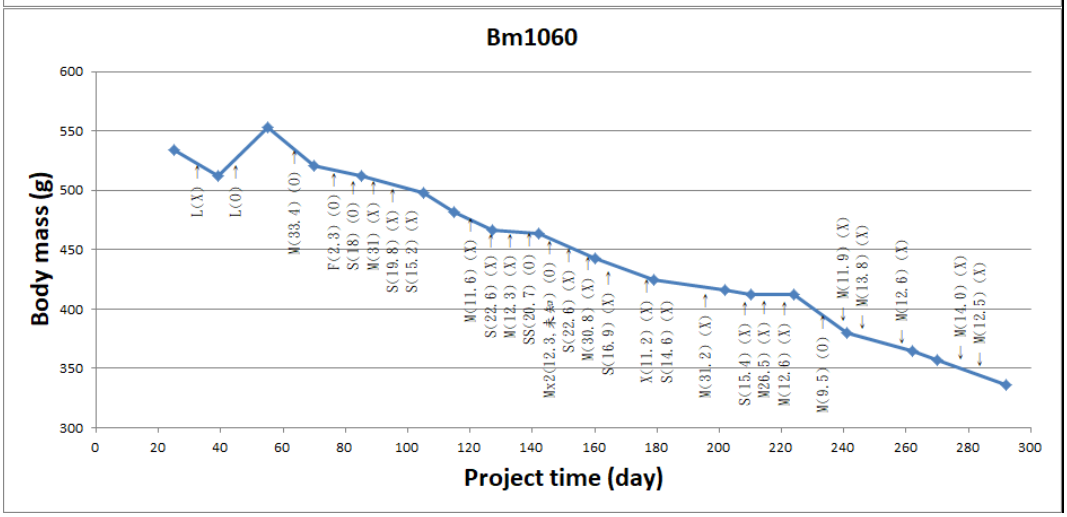

Dr368
Body mass (g)
Project time (day)
10
15
20
25
30
35
40
45
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
Mx2(3.0,U) (O)
F(1.3) (O)
M(1.6) (O)
M(4.0) (O)
M(7.7) (X)
M(1.5) (X)
M(11.2) (X)
M(5.4.2.4) (O)
Mx2(8.4.6.6) (O)
M(10.5) (O)
Mx2(8.3.8.2) (O)
Mx2(2.8.6.6) (O)
M(7.4) (O)
Mx2(10.3(O),5.6(X))
Mx2(5.8.5.6) (O)
M(11.7) (X)
M(7.1) (O)
M(8.5) (X)
M(7.1) (O)
M(10.2) (O)
M(5.5) (O)
M(5.5) (O)

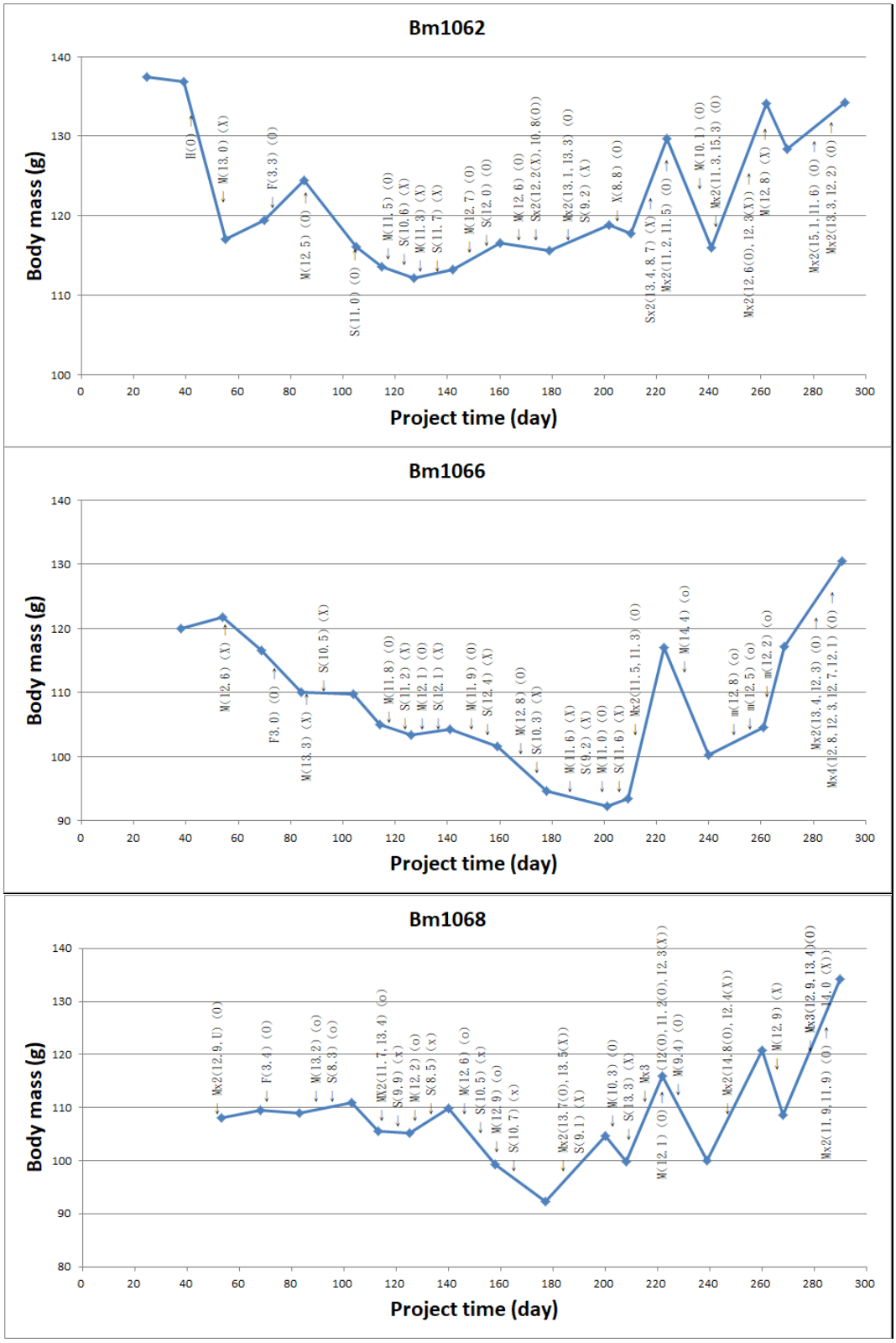
圖九、雨傘節體重變化圖。橫座標表示表示計畫開始(2017/7/10)後的天數。箭頭標示餵食事件，其中 M：老鼠、S：蛇香腸、F：牛蛙、L：蜥蜴、H：疣尾蝎虎、數字：食物重量(g)、U：食物重量未知、(X)：未吃、(O)：有吃。

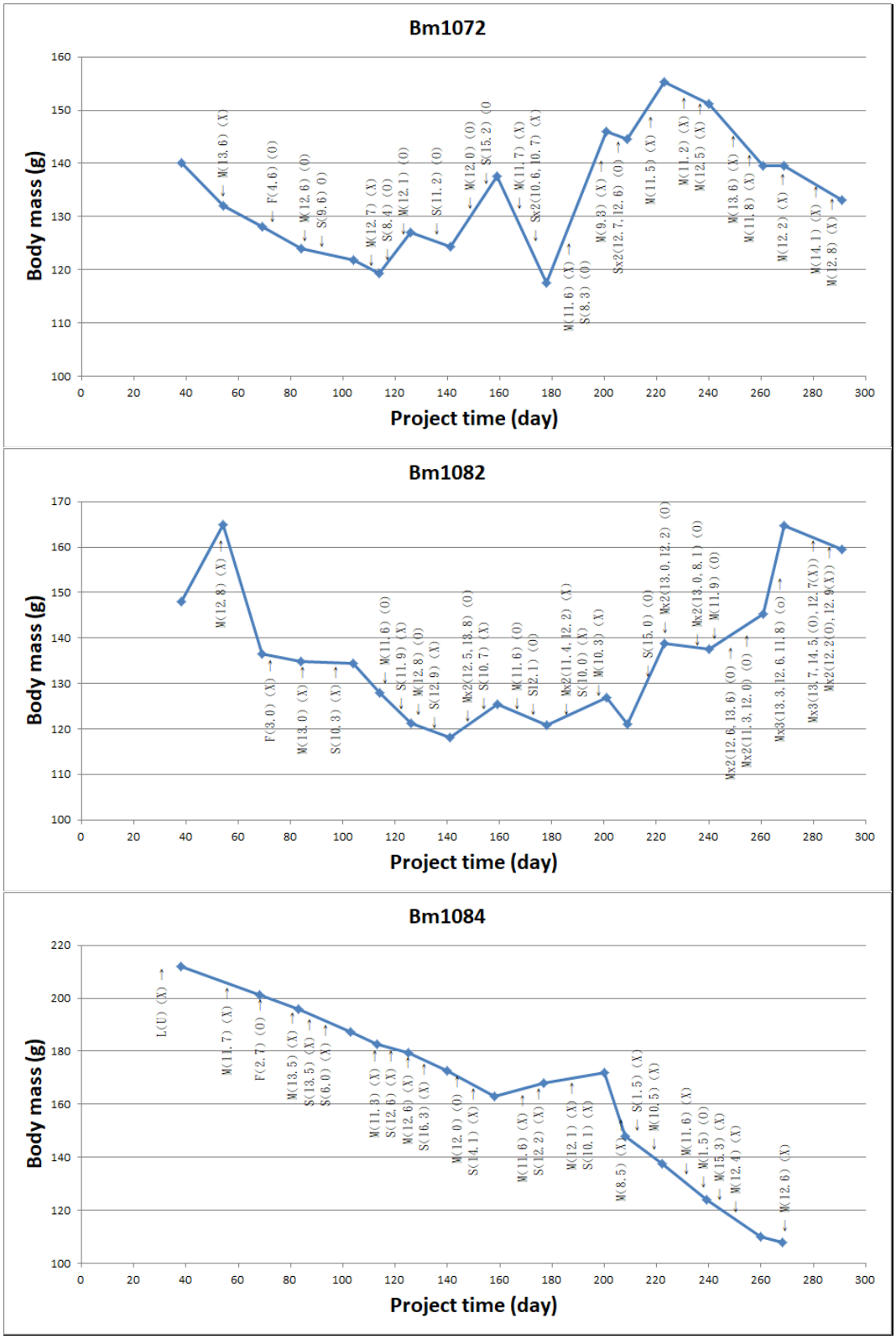


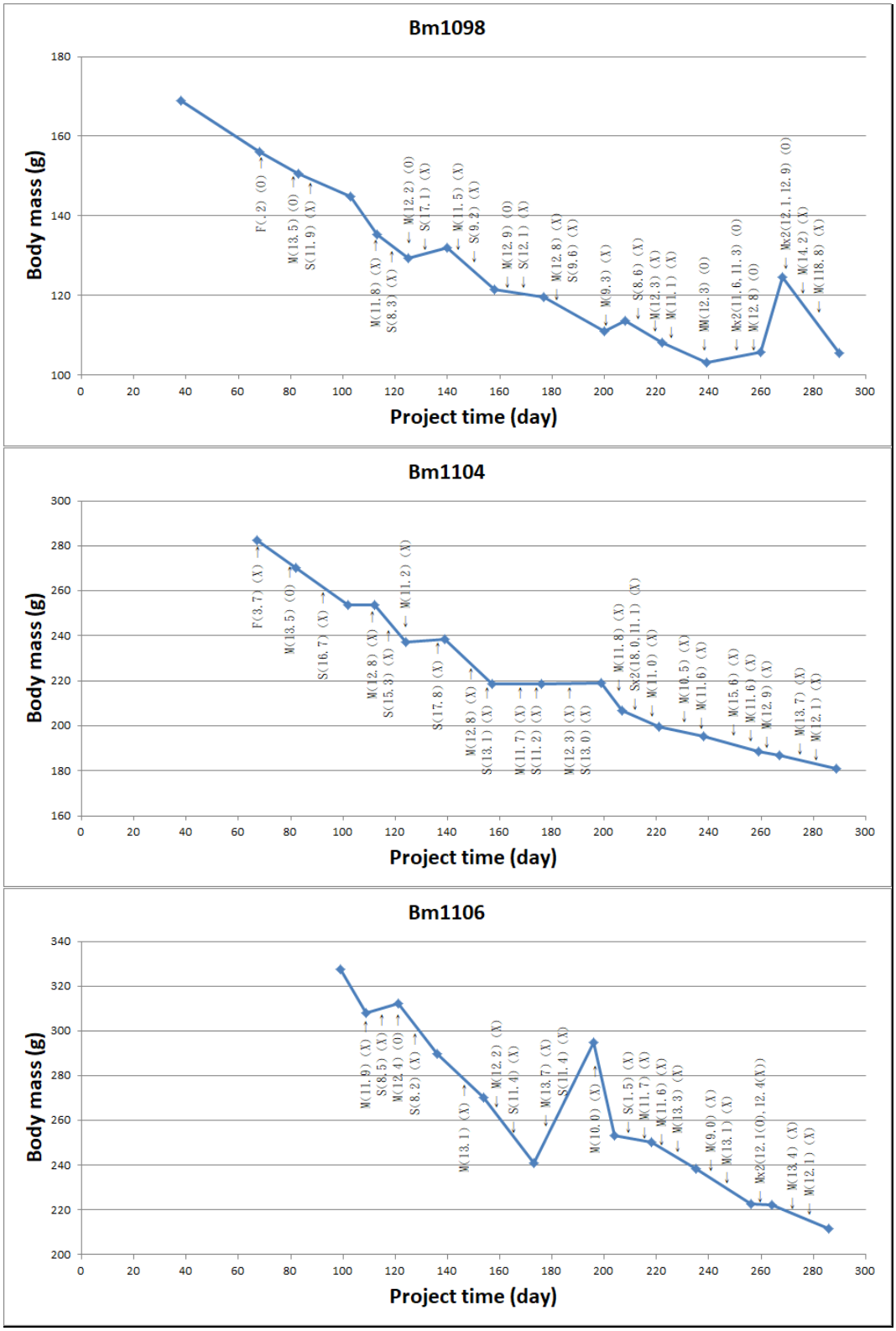

Bm1038
Body mass (g)
Project time (day)
Fx3 (ate1)
Lx1 (O)
W(13.4) (O)
F(4.7) (O)
S(17.0) (X)
W(12.9) (O)
S(13.8) (X)
S(9.5) (X)
W(11.7) (X)
S(15.5) (X)
W(13.8) (O)
S(17.0) (X)
W(13.6) (O)
S(24.1) (X)
W(30.2) (X)
S(17.6) (X)
Mx2(14.4,10.6) (O)
S(13.2) (O)
W(11.0) (X)
S(14.7) (X)
W(10.5) (X)
W(10.7) (X)
W(12.6) (X)
W(12.0) (X)
W(12.4) (X)
W(11.5) (X)
W(13.6) (X)
W(12.7) (X)

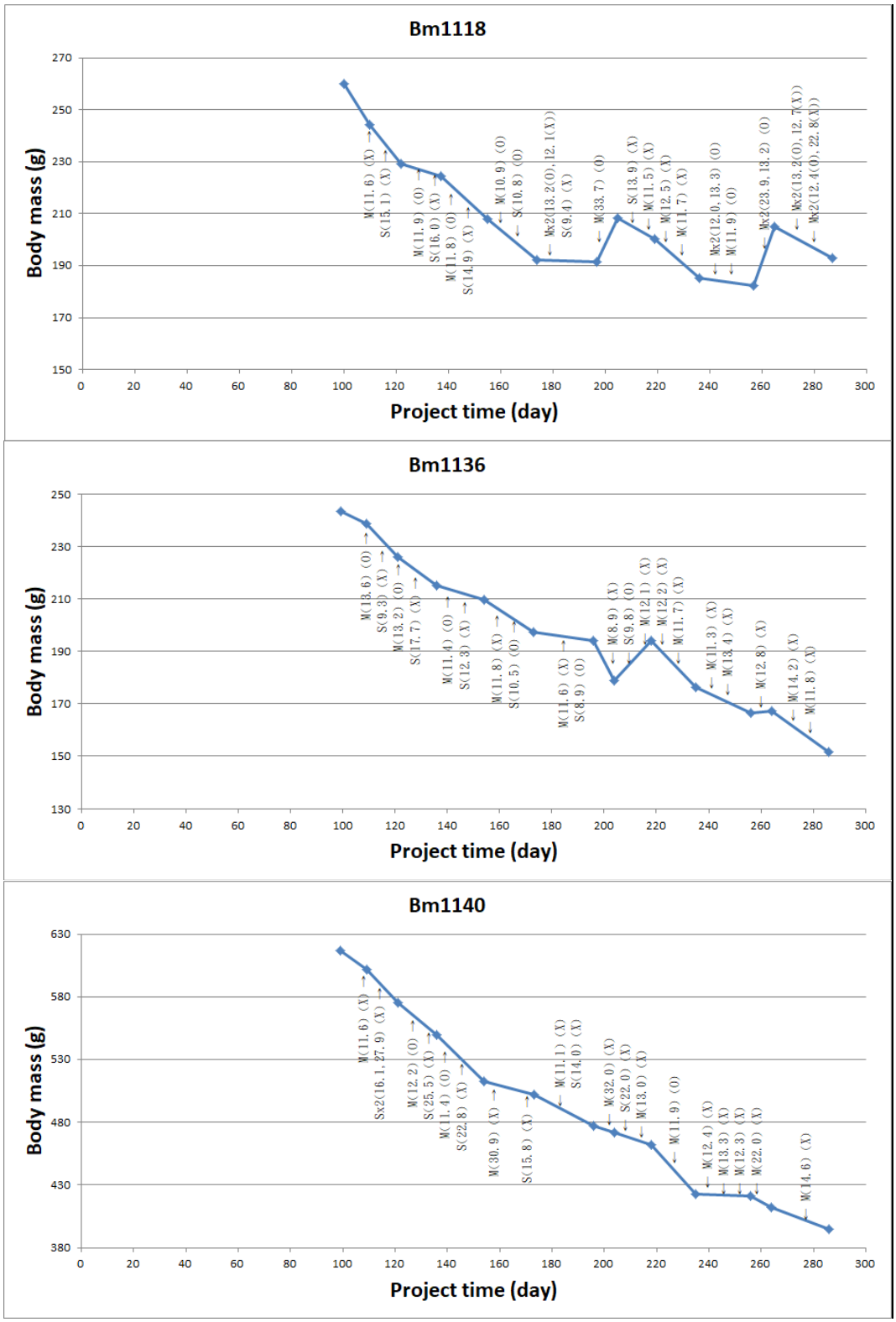

Bm1040
Body mass (g)
Project time (day)
Fx2 (X)
H (X)
Mx2(12.9,U) (O)
F(3.4) (O)
W(28.7((O)
S(11.9) (X)
W(7.9) (O)
W(11.6) (O)
A(12.2) (O)
W(11.8) (O)
S(10.1) (O)
Mx2(11.3,12.2((O)
S(16.1) (O)
W(11.9) (O)
Sx2(11.8,10) (O)
Mx2(11.9,13.3) (O)
Sx2(12.7,10.0) (O)
Sx2(11.5,10.4) (O)
W(10.9) (X)
Mx3(10.7,10.7,12.4) (O)
Mx3(13.2(O),8.6(O),9.6(X))
W(9.5) (O)
Mx2(13.1,11.9) (O)
Mx4(12.5,11.8,12.4,11.9) (O)
Mx2(12.4,12.4) (O)
Mx2(14.2(O),11.6(X))
Mx2(12.2,12.7) (O)

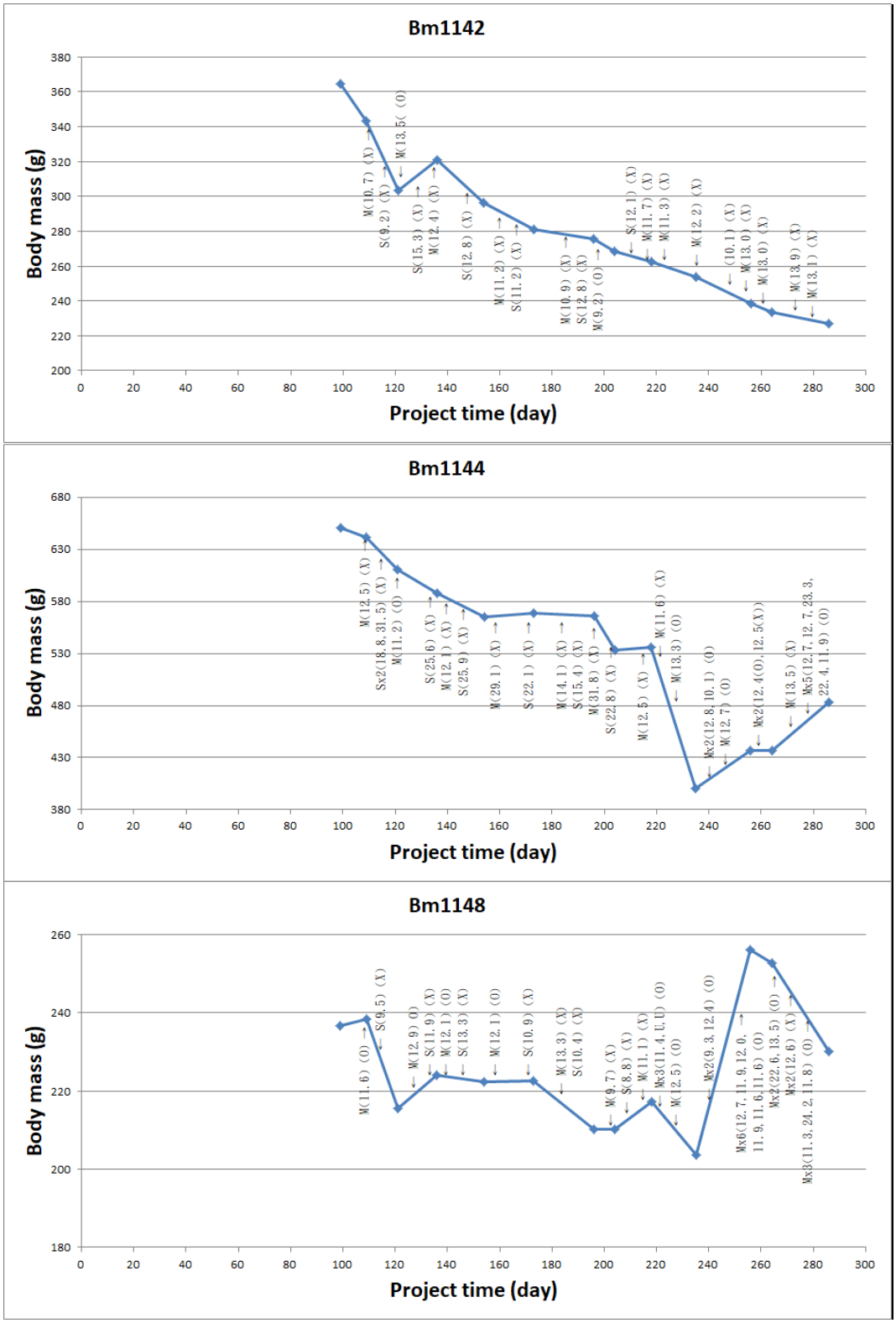

Bm1060
Body mass (g)
Project time (day)
L(X)
L(O)
W(33.4) (O)
F(2.3) (O)
S(18) (O)
W(31) (X)
S(19.8) (X)
S(15.2) (X)
W(11.6) (X)
S(22.6) (X)
W(12.3) (X)
SS(20.7) (O)
Mx2(12.3,[illegible]) (O)
S(22.6) (X)
W(30.8) (X)
S(16.9) (X)
X(11.2) (X)
S(14.6) (X)
W(31.2) (X)
S(15.4) (X)
W26.5) (X)
W(12.6) (X)
W(9.5) (O)
W(11.9) (X)
W(13.8) (X)
W(12.6) (X)
W(14.0) (X)
W(12.5) (X)

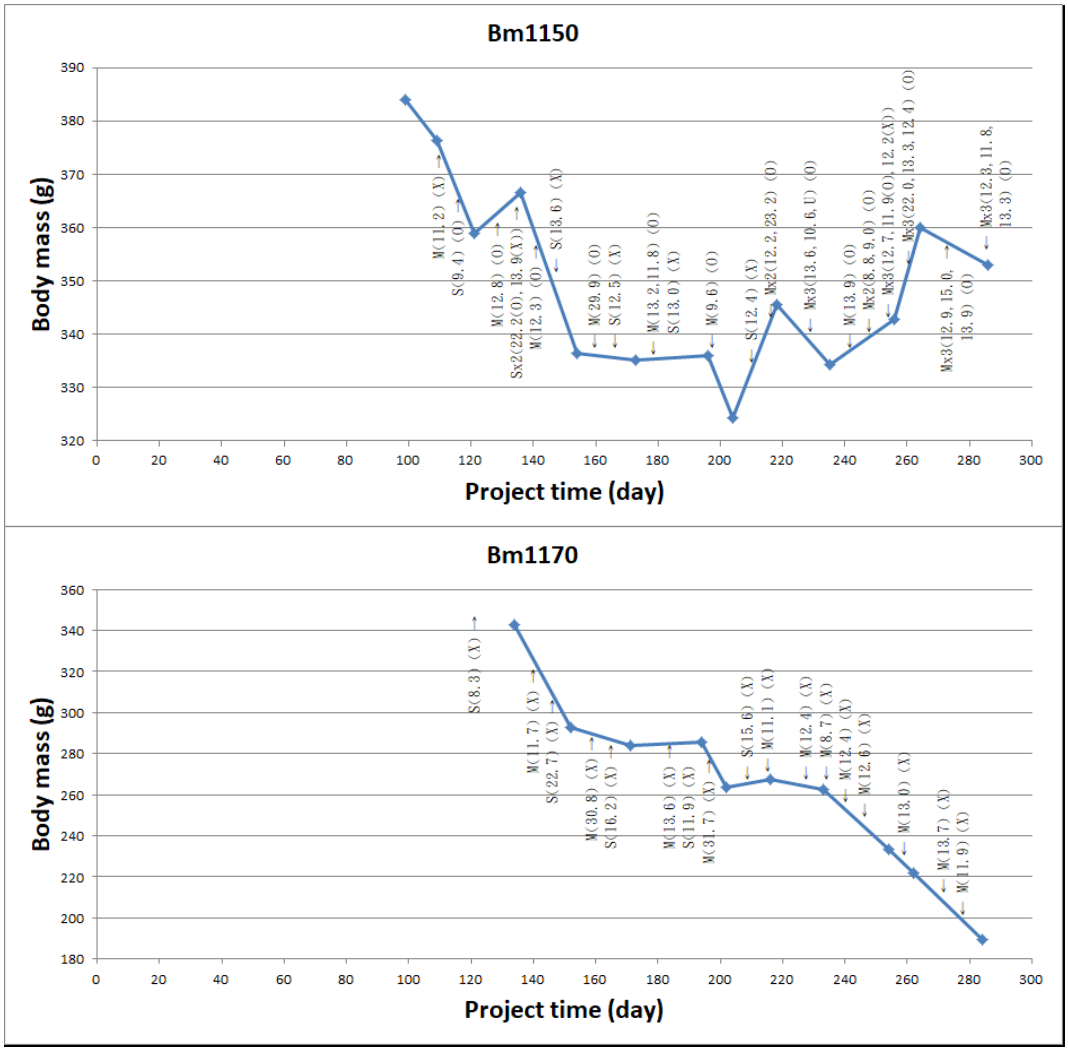

Bm1062
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1066
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1068
Body mass (g)
Project time (day)

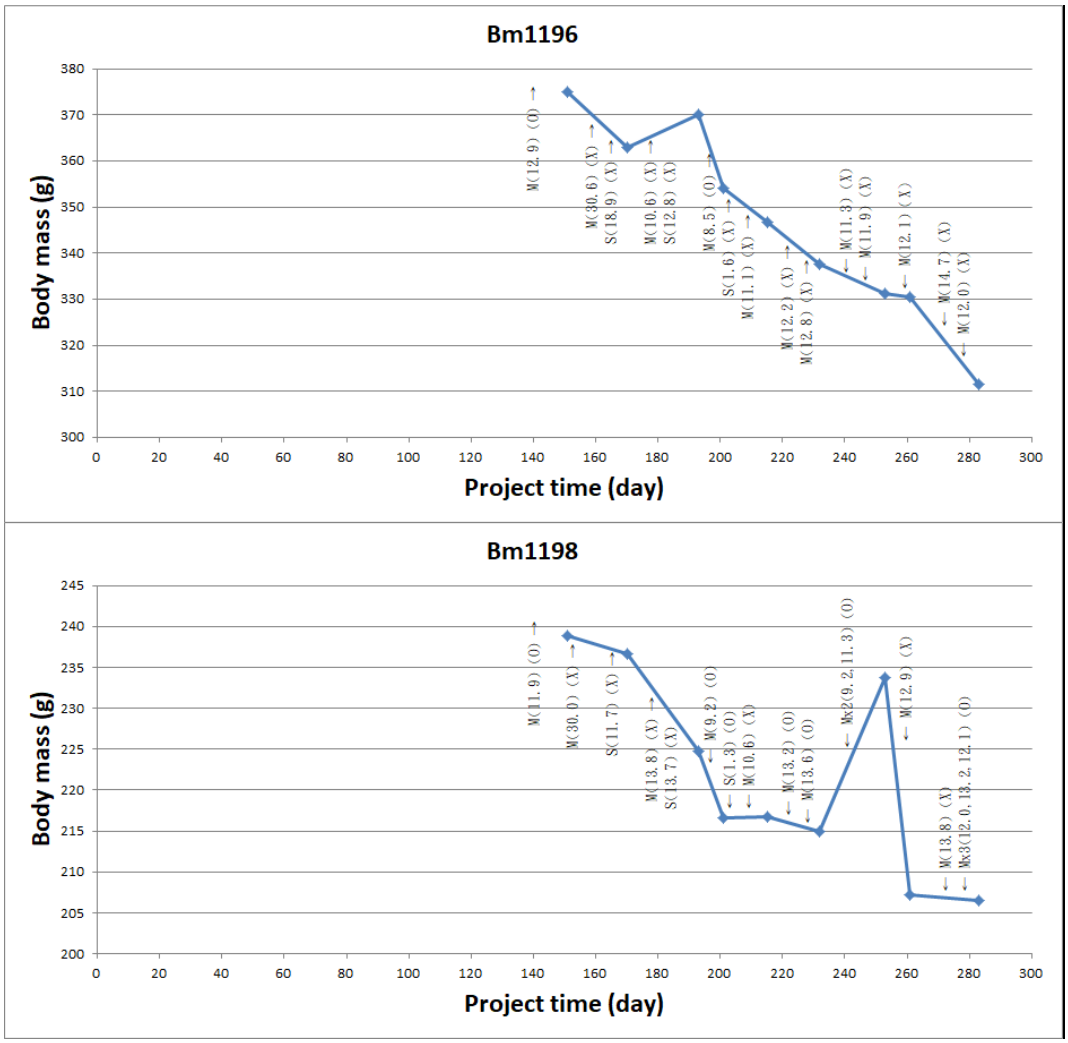

Bm1072
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1082
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1084
Body mass (g)
Project time (day)


Bm1098
Body mass (g)
Project time (day)
F(.2) (O) →
M(13.5) (O) →
S(11.9) (X) →
M(11.8) (X) →
S(8.3) (X) →
← M(12.2) (O)
← S(7.1) (X)
← M(11.5) (X)
← S(9.2) (X)
← M(12.9) (O)
← S(12.1) (X)
← M(12.8) (X)
S(9.6) (X)
← M(9.3) (X)
← S(8.6) (X)
← M(12.3) (X)
← M(11.1) (X)
← MM(12.3) (O)
← Mx2(11.6, 11.3) (O)
← M(12.8) (O)
← Mx2(12.1, 12.9) (O)
← M(14.2) (X)
← M(118.8) (X)
Bm1104
Body mass (g)
Project time (day)
F(3.7) (X) →
M(13.5) (O) →
S(16.7) (X) →
M(12.8) (X) →
S(15.3) (X) →
← M(11.2) (X)
S(17.8) (X) →
M(12.8) (X) →
S(13.1) (X) →
M(11.7) (X) →
S(11.2) (X) →
M(12.3) (X) →
S(13.0) (X)
← M(11.8) (X)
← Ss2(18.0, 11.1) (X)
← M(11.0) (X)
← M(10.5) (X)
← M(11.6) (X)
← M(15.6) (X)
← M(11.6) (X)
← M(12.9) (X)
← M(13.7) (X)
← M(12.1) (X)
Bm1106
Body mass (g)
Project time (day)
M(11.9) (X) →
S(8.5) (X) →
M(12.4) (O) →
S(8.2) (X) →
M(13.1) (X) →
← M(12.2) (X)
← S(11.4) (X)
← M(13.7) (X)
S(11.4) (X)
M(10.0) (X) →
← S(1.5) (X)
← M(11.7) (X)
← M(11.6) (X)
← M(13.3) (X)
← M(9.0) (X)
← M(13.1) (X)
← Mx2(12.1(O), 12.4(X))
← M(13.4) (X)
← M(12.1) (X)


Bm1118
Body mass (g)
Project time (day)
M(11.6) (X) →
S(15.1) (X) →
M(11.9) (O) →
S(16.0) (X) →
M(11.8) (O) →
S(14.9) (X) →
M(10.9) (O)
← S(10.8) (O)
← Mx2(13.2(O),12.1(X))
S(9.4) (X)
← M(33.7) (O)
← S(13.9) (X)
← M(11.5) (X)
← M(12.5) (X)
← M(11.7) (X)
← Mx2(12.0,13.3) (O)
← M(11.9) (O)
← Mx2(23.9,13.2) (O)
← Mx2(13.2(O),12.7(X))
← Mx2(12.4(O),22.8(X))
Bm1136
Body mass (g)
Project time (day)
M(13.6) (O)
→
S(9.3) (X) →
M(13.2) (O) →
S(17.7) (X) →
M(11.4) (O) →
S(12.3) (X) →
M(11.8) (X) →
S(10.5) (O) →
M(11.6) (X) →
S(8.9) (O)
← M(8.9) (X)
S(9.8) (O)
← M(12.1) (X)
← M(12.2) (X)
← M(11.7) (X)
← M(11.3) (X)
← M(13.4) (X)
← M(12.8) (X)
← M(14.2) (X)
← M(11.8) (X)
Bm1140
Body mass (g)
Project time (day)
M(11.6) (X)
→
Sx2(16.1,27.9) (X) →
M(12.2) (O)
→
S(25.5) (X) →
M(11.4) (O) →
S(22.8) (X) →
M(30.9) (X) →
S(15.8) (X) →
M(11.1) (X)
S(14.0) (X)
← M(32.0) (X)
← S(22.0) (X)
← M(13.0) (X)
← M(1.9) (O)
← M(12.4) (X)
← M(13.3) (X)
← M(12.3) (X)
← M(22.0) (X)
← M(14.6) (X)

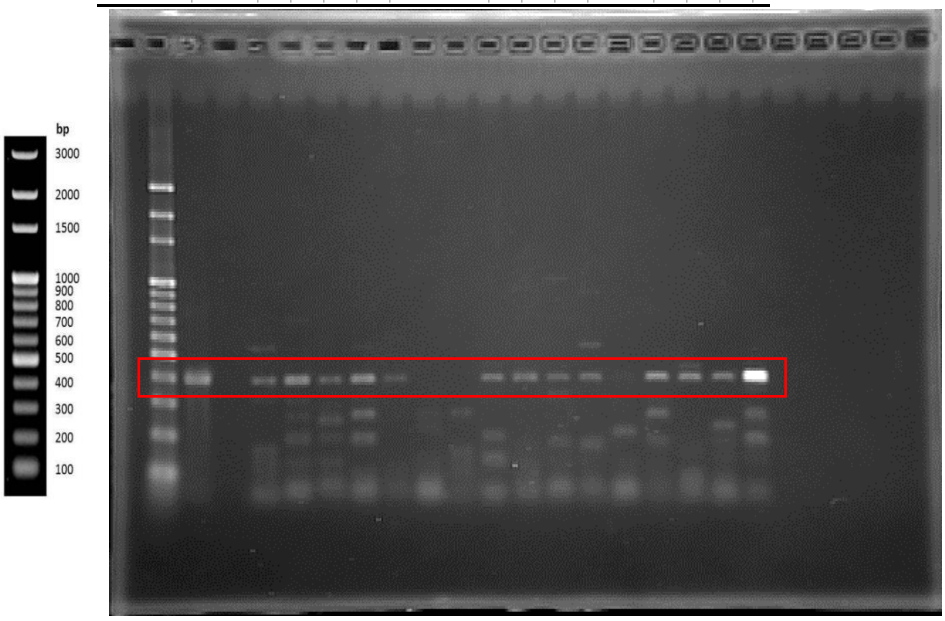

Bm1142
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1144
Body mass (g)
Project time (day)
Bm1148
Body mass (g)
Project time (day)


Bm1150
Body mass (g)
Project time (day)
390
380
370
360
350
340
330
320
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
W(11.2) (X)
S(9.4) (O)
W(12.8) (O)
Sx2(22.2(O), 13.9(X))
W(12.3) (O)
S(13.6) (X)
W(29.9) (O)
S(12.5) (X)
W(13.2,11.8) (O)
S(13.0) (X)
W(9.6) (O)
S(12.4) (X)
Wx2(12.2, 23.2) (O)
Wx3(13.6, 10.6, U) (O)
W(13.9) (O)
Wx2(8.8, 9.0) (O)
Wx3(12.7, 11.9(O), 12.2(X))
Wx3(22.0, 13.3, 12.4) (O)
Wx3(12.9, 15.0, 13.9) (O)
Wx3(12.3, 11.8, 13.3) (O)
Bm1170
Body mass (g)
Project time (day)
360
340
320
300
280
260
240
220
200
180
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
S(8.3) (X)
W(11.7) (X)
S(22.7) (X)
W(30.8) (X)
S(16.2) (X)
W(13.6) (X)
S(11.9) (X)
W(31.7) (X)
S(15.6) (X)
W(11.1) (X)
W(12.4) (X)
W(8.7) (X)
W(12.4) (X)
W(12.6) (X)
W(13.0) (X)
W(13.7) (X)
W(11.9) (X)


Bm1196
Body mass (g)
Project time (day)
M(12.9) (O) →
M(30.6) (X) →
S(18.9) (X) →
M(10.6) (X) →
S(12.8) (X)
M(8.5) (O) →
S(1.6) (X) →
M(11.1) (X) →
M(12.2) (X) →
M(12.8) (X) →
← M(11.3) (X)
← M(11.9) (X)
← M(12.1) (X)
← M(14.7) (X)
← M(12.0) (X)
Bm1198
Body mass (g)
Project time (day)
M(11.9) (O) →
M(30.0) (X) →
S(11.7) (X) →
M(13.8) (X) →
S(13.7) (X)
M(9.2) (O)
← S(1.3) (O)
← M(10.6) (X)
← M(13.2) (O)
← M(13.6) (O)
← Ms2(9.2,11.3) (O)
← M(12.9) (X)
← M(13.8) (X)
← Ms3(12.0,13.2,12.1) (O)

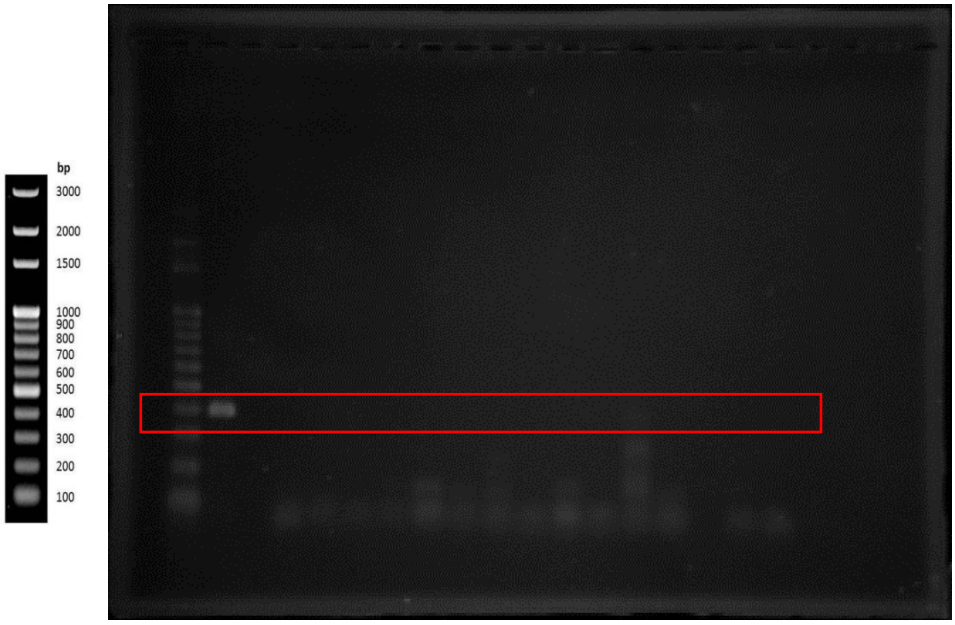
圖十、鎖鍊蛇咽喉黏膜檢體進行 PCR 檢測 *Salmonella* spp.之膠片結果舉例。

Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Sample	DNA marker	+ control	− control	Dr 316	Dr 318	Dr 320	Dr 322	Dr 324	Dr 326	Dr 328	Dr 330	Dr 332	Dr 334	Dr 336	Dr 338	Dr 342	Dr 344	Dr 358	Dr 366
Result		+	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+

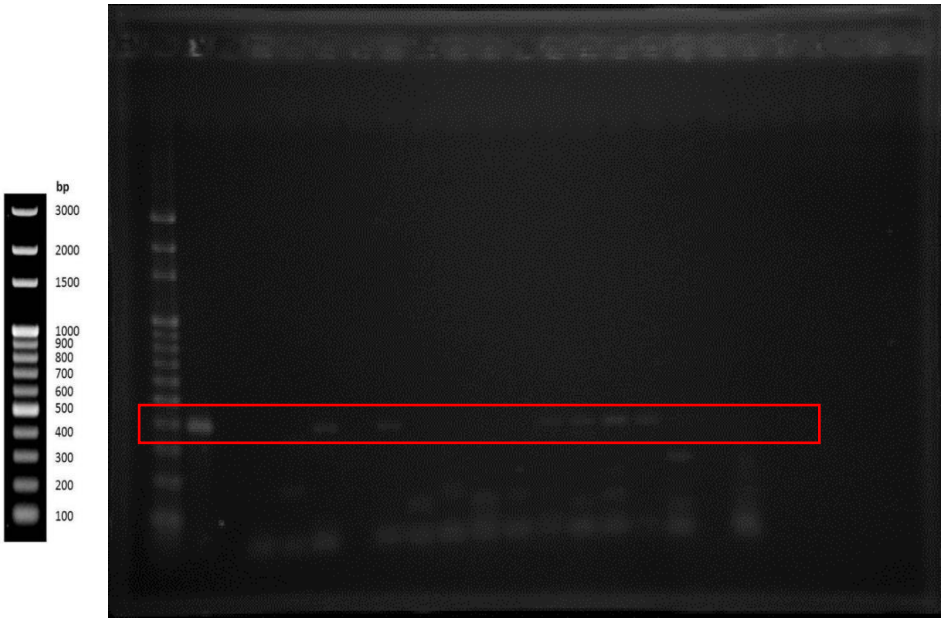


圖十一、雨傘節咽喉黏膜檢體進行 PCR 檢測 *Salmonella* spp.之膠片結果舉例。

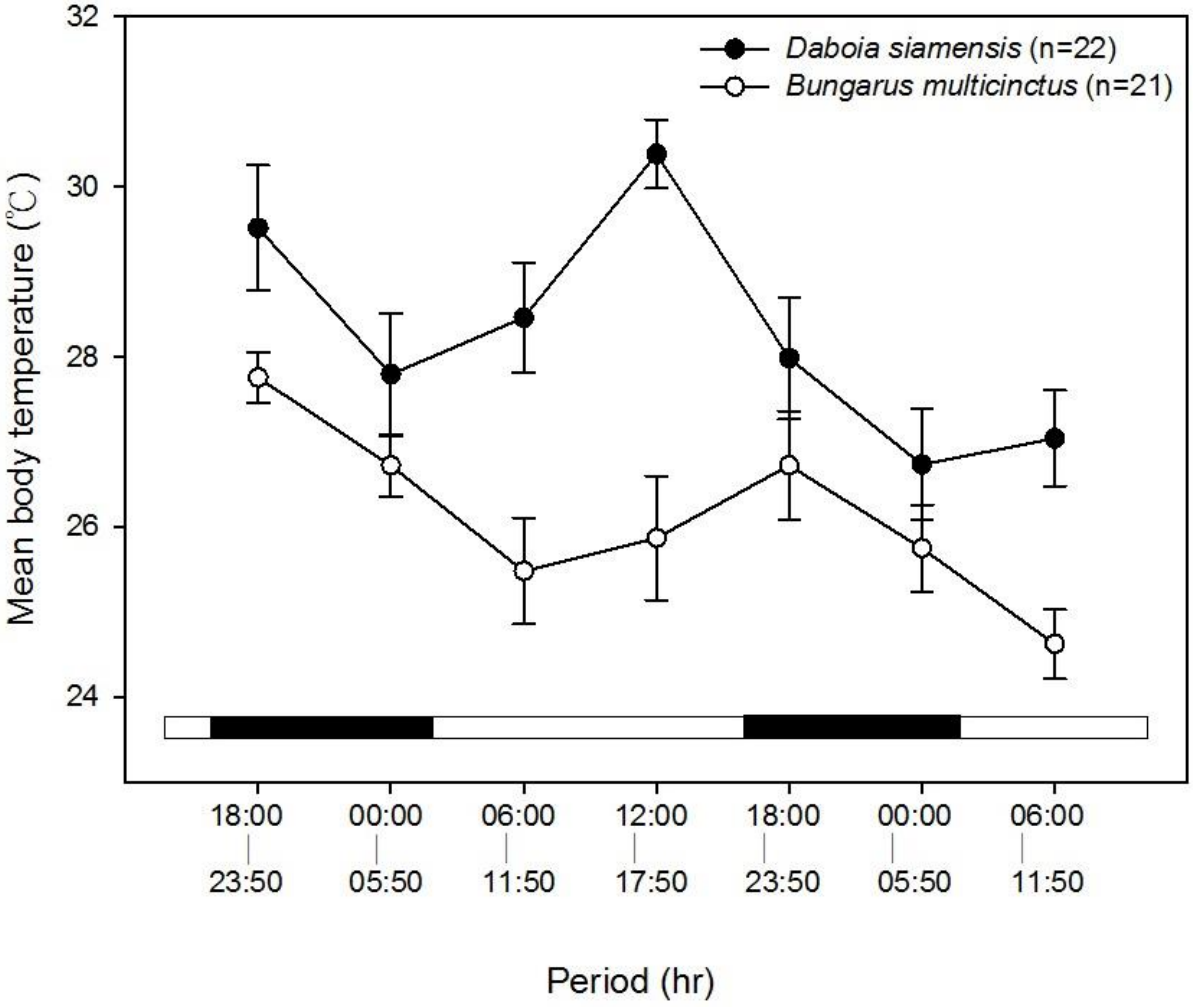
Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Sample	DNA marker	+ control	− control	Bm 1002	Bm 1020	Bm 1038	Bm 1040	Bm 1060	Bm 1062	Bm 1066	Bm 1068	Bm 1070	Bm 1072	Bm 1074	Bm 1076	Bm 1078	Bm 1082	Bm 1084
Result		+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−



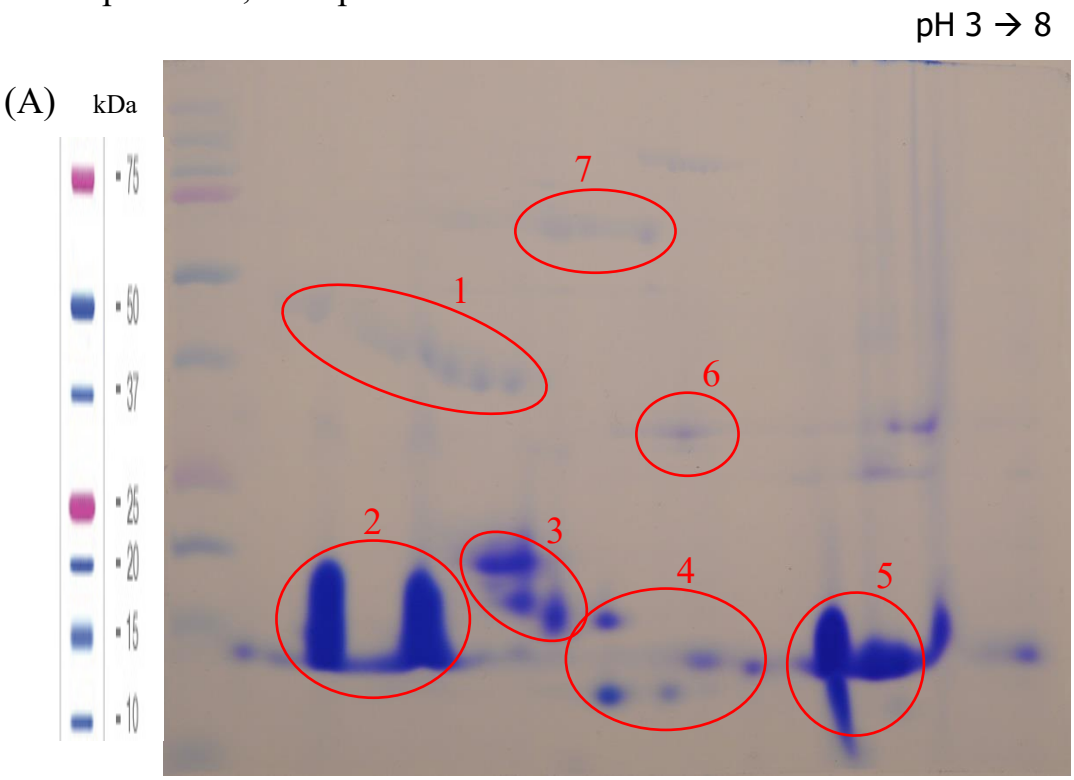
Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Sample	DNA marker	+ control	− control	Bm 1094	Bm 1098	Bm 1104	Bm 1106	Bm 1116	Bm 1118	Bm 1134	Bm 1136	Bm 1140	Bm 1142	Bm 1144	Bm 1148	Bm 1150	Bm 1170	Bm 1196	Bm 1198
Result		+	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	+	+	+	+	−	−	−



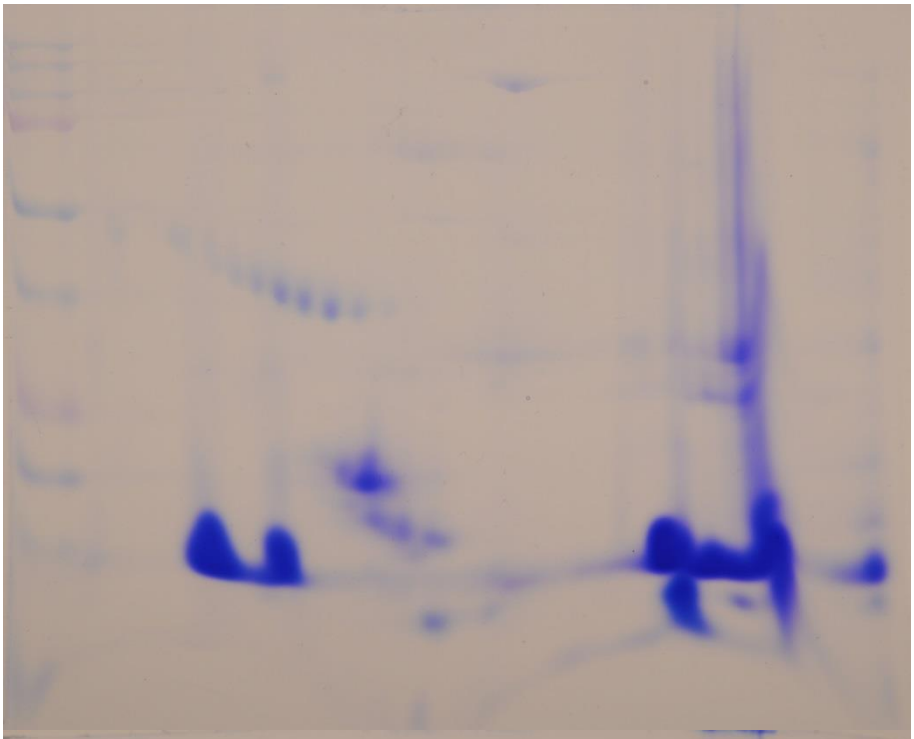
圖十二、鎖鍊蛇及雨傘節溫度選擇之比較。



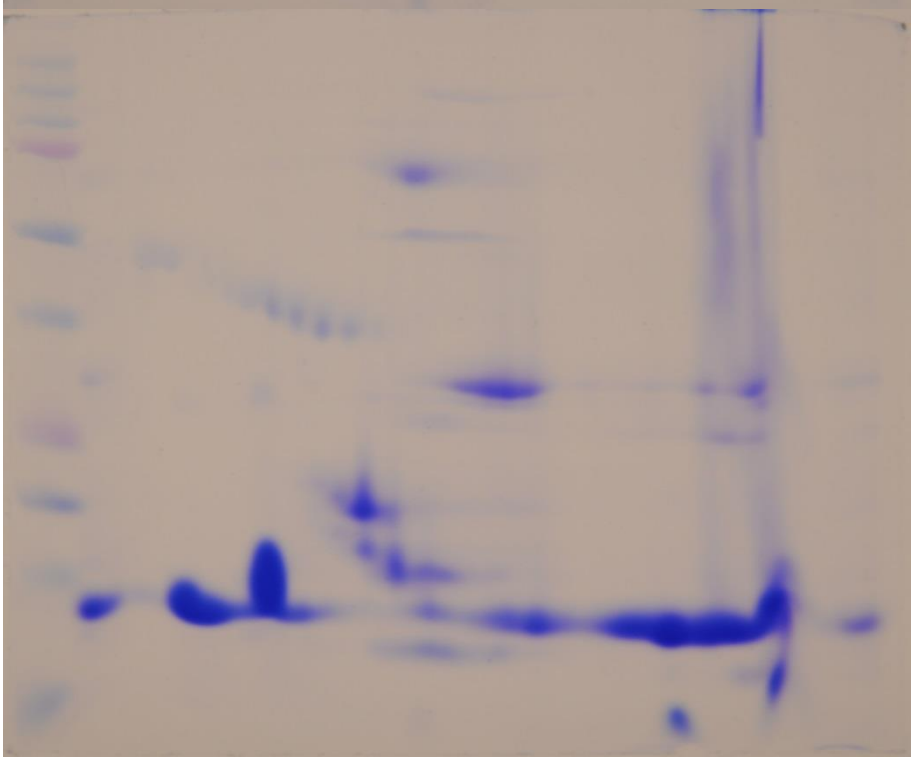
圖十三、不同飼養時期(A：2017 年 8 月、B：2017 年 10 月、C：2017 年 12 月、D：2018 年 2 月)採集之鎖鍊蛇(Dr318)蛇毒，進行二維蛋白質電泳結果之比較。Group 1 proteins: complexes of phospholipases A2 with other Proteins, Group 2: acidic phospholipases A2; Group 3: coagulation factor X activating-like enzymes (metalloproteases); Group 4: basic phospholipases A2; Group 5: vascular endothelial growth factors; group 6: serine proteases; Group 7: L-amino acid oxidases。



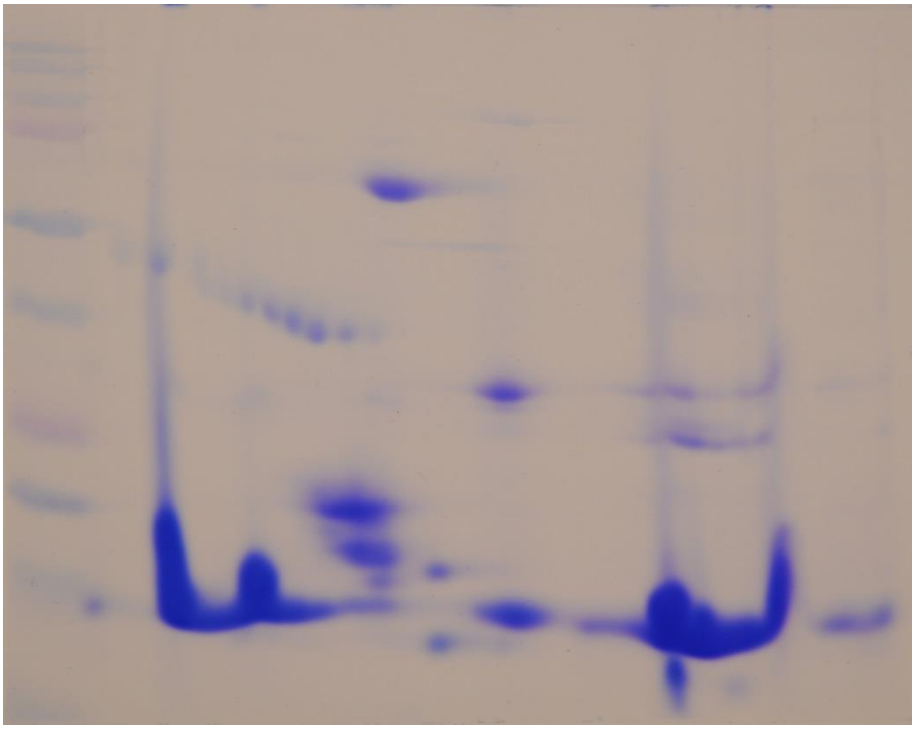
(B)



(C)



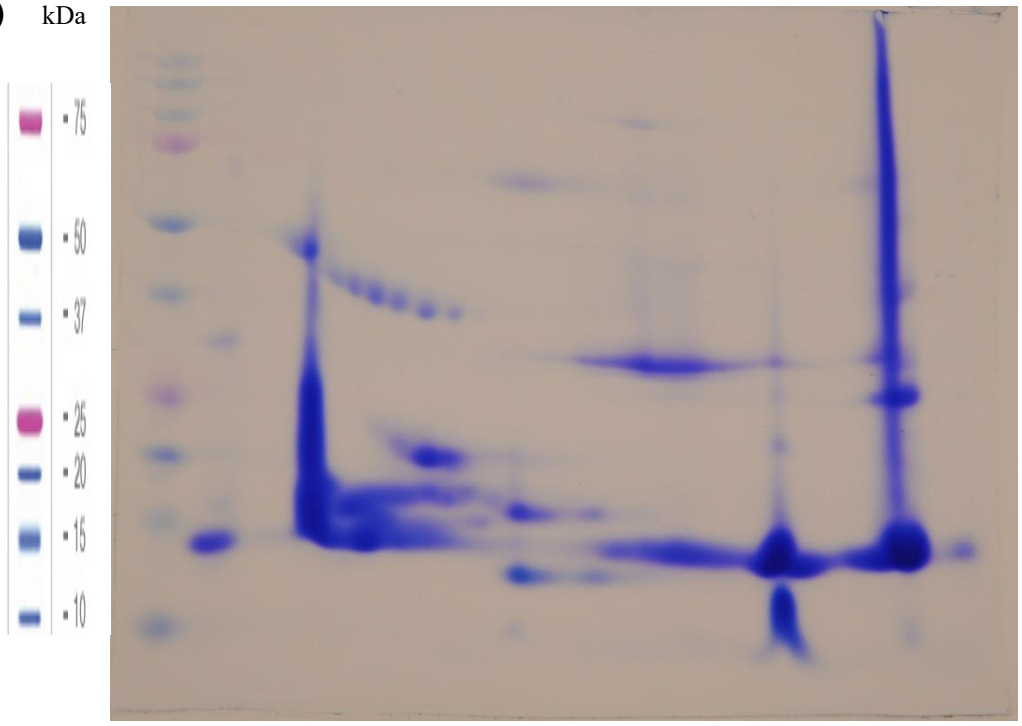
(D)



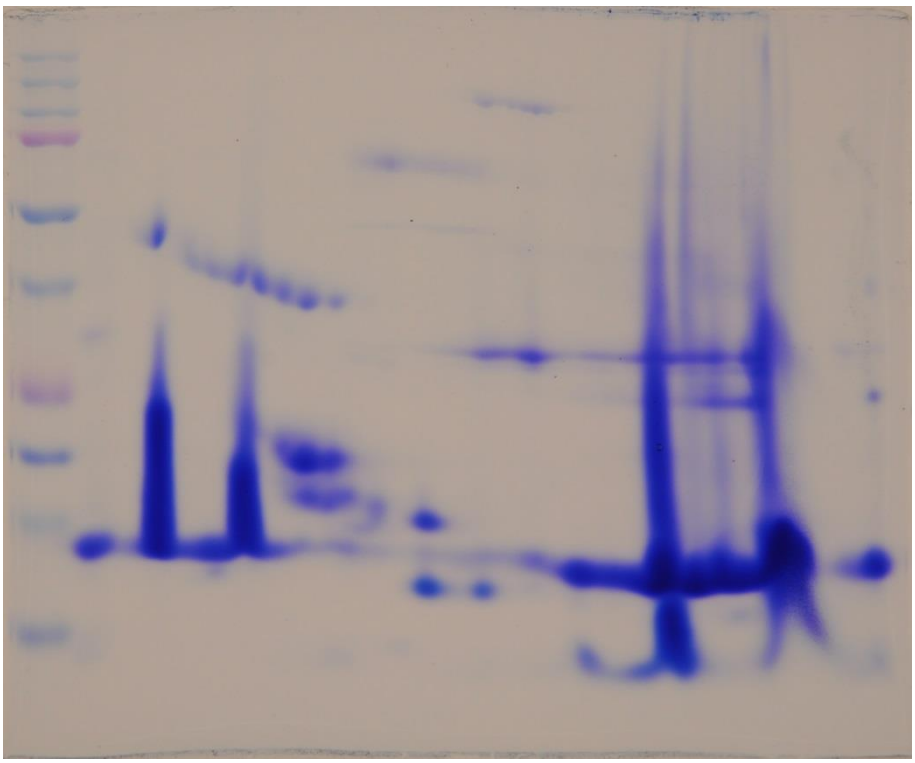
圖十四、不同飼養時期(A：2017 年 8 月、B：2017 年 12 月、C：2018 年 2 月)採集之鎖鍊蛇(Dr320)蛇毒，進行二維蛋白質電泳結果之比較。

pH 3 → 8

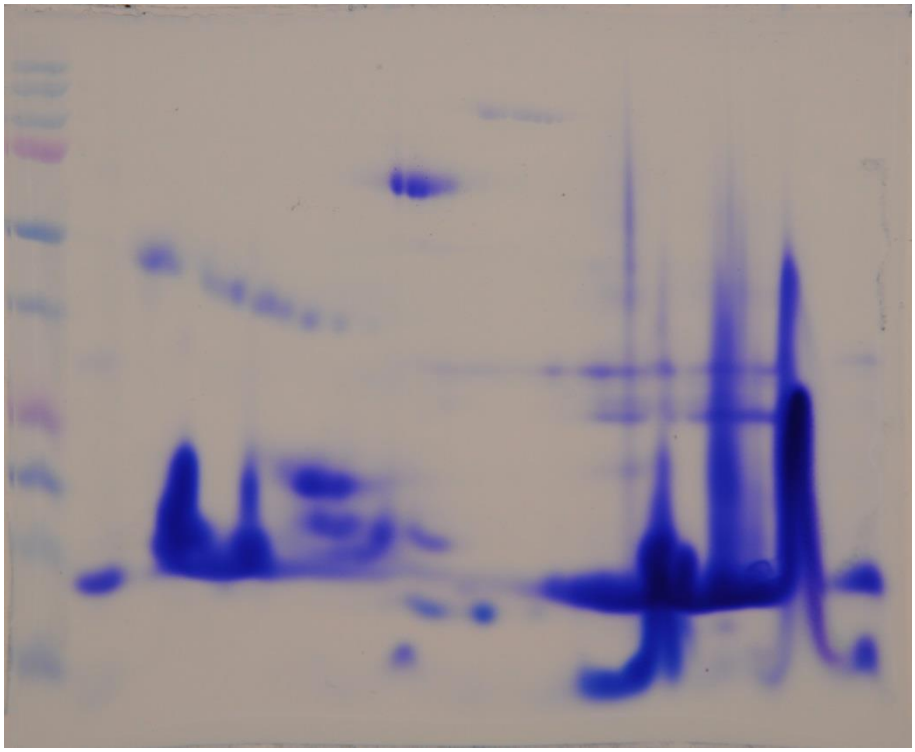
(A) kDa



(B)



(C)



行政院衛生署疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期中報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員一

順序	審查意見	答復說明
1	蛇隻來源應詳述，個體為採自野外或消防隊送交，須清楚交待。	謝謝委員指導。已詳述於報告之材料與方法以及表一、二中。
2	驅蟲利用何種方式進行，是否由合格獸醫師執行，建議亦於報告中敍明，疾病及寄生蟲檢測項目之說明亦同。	謝謝委員指導。已詳述於報告之材料與方法中。
3	“蛇香腸”之原料選取是否有充足的文獻及背景佐證？添加物物之種類及比例亦同，建議加強佐證。	謝謝委員指導。國外研究報告(Chanhome et al., 2001)曾提及以蛇香腸餵食蛇類的可能性，其他佐證文獻則尚未尋得。相關內容已詳述於報告之前言及材料與方法中。
4	研究及計劃起迄時間不相同，相關研究許可之申請是否涵蓋計劃前之相關操作，委託單位須注意相關規定(p. 6)。	謝謝委員指導。已完成實驗動物使用申請(屏科大 IACUC 同意編號：NPUST-106-033)以及保育類野生動物利用及繁殖申請(農委會同意文號：農授林務字第 1061702068, 1071700492 號)。主要實驗操作日期與項目均在申請範圍內。
5	相關操作缺乏文獻支持及佐證。	謝謝委員指導。已於報告中引用相關文獻資料。

疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期中報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員二

順序	審查意見	答復說明
1	須考慮鎖鍊蛇不足與適應等可適度完成。	謝謝委員指導。鎖鍊蛇數量已達設定值並且適應良好，如報告之結果所示。
2	雨傘節餵食仍未能突破，如仍不好，可能造成蛇隻損失，要及早因應。雨傘節量多，不難捕獲與採集蛇毒，如餵養不順，可者慮其他替代方案。	謝謝委員指導。目前為止已採集 34 隻雨傘節，其中 10 隻雨傘節因進食狀況不佳而於試驗中期即停止其實驗(並野放回野外)。在計畫中期，蛇香腸測試(約每二週或更久的時間進行餵食)告一段落後，我們為了停止蛇隻體重下降趨勢而開始儘量每週均餵食小鼠，並且每次不只餵食一隻小白鼠，而是提供多隻的小白鼠給雨傘節捕食。上述餵食增強作為確實能讓許多蛇隻在計畫後期的體重開始停止下降趨勢並且反轉為上升趨勢。已詳述於報告之討論中。
3	主持人在蛇類的生理與空間生態研究有相當的成果，唯病媒病原疾病調查與病理病變屍解等建議宜有相關蛇類病理專家(獸醫專長)與流行病學專家協助。	謝謝委員指導。本計畫操作已與屏科大獸醫學系吳弘毅副教授合作進行細菌(、病毒)及寄生蟲篩檢分析研究。此外，蛇類疾病診療已與屏科大工作犬訓練中心祈偉廉獸醫師合作進行。已詳述於報告之材料與方法中。

疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期中報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員三

順序	審查意見	答復說明
1	目前台灣開發之後的環境已非以前，請要將不同的因素列入模擬環境中考量。	謝謝委員指導。提供適當的基質類型、濕度與溫度區塊是飼養毒蛇所必需的。本計畫已考量相關環境因子並進行實驗設計探討。結果顯示，鎖鍊蛇偏好較乾且較高溫的基質環境，雨傘節偏好潮濕且較低溫的環境，這些試驗結果均與其生態習性相符。已詳述於報告之材料與方法以及結果中。
2	餵食材料要考量來源的方便性、一致性和品質。	謝謝委員指導。已考量方便性、一致性和品質因子，餵食餌料主要為品質一致的小白鼠或蛇香腸。已詳述於報告之材料與方法中。

行政院衛生署疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期末報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員一

順序	審查意見	答復說明
1	研究報告可供本署採行或參考之部分：鎖鍊蛇飼養有不錯的成果，飼養所需的基質類型、濕度與溫度等條件值得本署應用學習。	謝謝委員指導。
2	二維蛋白電泳分析結果實在無法有效說明不同時期蛇毒蛋白組成未有明顯差異，因為每次置入蛇毒蛋白量是一定(3 mg)，但ABCD四圖中7種蛇毒蛋白成分的量都不一致。	謝謝委員指導。已根據委員意見修改結果(第19 頁第 7-11 行)與討論(第 23 頁第二段)之相關內容。計畫期間不同次取毒之蛇毒蛋白組成之間仍可見不同之處。有待進行更多蛇毒樣品電泳分析以確認不同處於不同個體間是否一致。

行政院衛生署疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期末報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員二

順序	審查意見	答復說明
1	研究報告可供本署採行或參考之部分：推薦鎖鍊蛇的飼養，但蛇毒毒性是否有影響要再分析。雨傘節部分不推薦。	謝謝委員指導。
2	本報告提供鎖鍊蛇(Dr318)四個飼養時期與鎖鍊蛇(Dr320)三個飼養時期之蛇毒二維蛋白質電泳結果比較。所附圖之解析度不是很好，但仍可見不同，而本研究並未執行蛇毒生物毒性分析，請說明如何可以下"似乎未呈現出顯著的變化"結論?	謝謝委員指導。已根據委員意見修改結果(第 19 頁第 7-11 行)與討論(第 23 頁第二段)之相關內容。計畫期間不同次取毒之蛇毒蛋白組成之間仍可見不同之處。有待進行更多蛇毒樣品電泳分析以確認不同處於不同個體間是否一致。
3	報告照片顯示部分採樣或灌食餵藥人員未戴手套與穿著個人保護衣物等設施，有安全疑慮。	謝謝委員指導。本計畫執行時均遵照已建立的動物房毒蛇照養及採毒的標準作業流程(SOP)。採取待檢樣本之人員均有戴手套以避免樣品污染。所有人員均有穿著長筒膠鞋以進行安全防護。除了一人抓蛇外，其餘人員並未直接接觸蛇體。為確保能完全控制蛇類動作，抓蛇者以蛇勾輔助抓蛇而未使用防咬手套。相關說明於成果報告第 9 頁倒數第 3-7 行以及第 10 頁第 12 行。
4	本研究參考白肉雞PCR primer 序列，僅分析*Salmonella* spp.與*E. coli*兩菌(菌屬?)，請說明參考使用此序列是否妥適及此二菌是否為相關蛇隻經常性病原?	謝謝委員指導。已有文獻報告在蛇類呼吸道及系統性的感染中發現特定人畜共通細菌類群。革蘭氏陰性菌最常從蛇類口腔及泄殖腔採樣品中被分離到(Abba et al., 2017)。許多野生或圈養的爬行動物已被研究顯示為 *Salmonella* 的保菌者。Dehghani et al. (2016) 發現在伊朗圈養的蛇類之口腔樣本有 12.5 % 可發現 *E. coli*。因此 *Salmonella* spp.及 *E. coli*

順序	審查意見	答復說明
		為蛇類經常性病原。為監控蛇體的病原感染情況以維持動物體健康及避免人畜共通傳染，本研究遂定期進行 *Salmonella* spp.及 *E. coli* 篩檢並進行寄生蟲感染調查。相關說明於成果報告第 21 頁倒數第 1-2 行、第 22 頁第一段。 外溫的爬行動物之細菌篩檢以傳統培養基培養方式鑑種為主，較少報導以 PCR 方法鑑種。因此本計畫用 PCR 方法篩檢 *Salmonella* spp.與 *E. coli* 所用的核酸引子序列是參考已使用於鳥類或哺乳類者(Amit-Romach et al., 2004; Wang et al., 1996)。蛇類與鳥類在演化親緣上同屬爬行動物類群，上述的引子序列應至少可部份運用於篩檢蛇體之菌種。我們將在接下來的實驗中，再尋找其他文獻，以只限定於篩檢蛇類菌種的引子序列來進行原採集樣本的 PCR 篩檢步驟，其結果將可更強化實驗結果之確定性。相關說明於成果報告第 22 頁倒數第 1-3 行、第 23 頁第 1-4 行。
5	表四寄生蟲結果僅以"+"、"-"或未填寫呈現，需要有進一步的補充說明。對於寄生蟲與細菌檢測結果請依臨床檢驗報告呈現相對量化的結果(如: +++、++、+、±、-、ND 或細菌與蟲卵的數目等)。	謝謝委員指導。計畫執行期間，記錄寄生蟲篩檢結果時，由於主要為定性而非量化，故未精確計數蟲體或蟲卵的數量，因此未能將結果以相對量化的方式呈現。我們將在接下來的實驗中，重新計數原採集樣本之寄生蟲(蟲體或蟲卵)數量，以利呈現相對量化的結果。相關說明於成果報告第 23 頁第 4-8 行。
6	請更正"病原"而非"病源"；數字與單位前請空格。	謝謝委員指導。已將全文的"病源"更正為"病原"，並將數字與單位之間進行空格。

行政院衛生署疾病管制局 106 年度科技研究發展計畫

期末報告審查意見回覆

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000902

計畫名稱：106年度鎖鍊蛇及雨傘節委託繁養技術開發計畫

委員三

順序	審查意見	答復說明
1	研究報告可供本署採行或參考之部分：籠飼毒蛇之飼養環境介質使用及合適的飼養環境之參考溫度。	謝謝委員指導。
2	本篇為全程研究的期末報告，但格式的正確及排版的適當性，包含該有引用文獻處未見適當的文獻佐證(如：前言)、內文的文獻排列格式未依照年份(如：第9、11頁)、未依照作者中文姓氏筆畫(如：第25、26頁)、文中許多段落標題與內文分隔於不同頁面(如第9、13、17頁等)、錯字(如：孺鼠？或者應為乳鼠？)及名詞的不明確(如：何謂雞內金及阿魏？是否有化學成分或相關名稱？)或不統一等(如：二生爬行動物？或兩生爬行動物？)，等，在文內多處可見，請計畫執行單位須再仔細的校對並進行修正。	謝謝委員指導。已於成果報告第 6 頁第 2-5, 16-18, 21 行、第 7 頁第 3 行、第 8 頁第 14-15 行、第 9 頁倒數第 3-4 行、第 20 頁第 8-9 行、第 21 頁第 9-11 行、第 22 頁第一段、第 23 頁倒數第 5-8 行等處新增文獻佐證及敘述。全文的文獻已依照年份排序。中文參考文獻已依作者中文姓氏筆畫排序(第 29 頁)。文中段落標題與其內文均已調整於同頁面。孺鼠已更正為乳鼠(第 18 頁第 15-16 行)。不明確的名詞(雞內金、阿魏、小竇寇)已加以說明(第 15 頁倒數第 1-2 行、第 16 頁第 1-11 行)。二生爬行動物已更正為兩生爬行動物(第 7 頁第 13 行)。全文亦已加以仔細校對以避免不適當或不佳的呈現方式。
3	第12頁，動物房平時設定的氣溫及相對濕度的依據為何？40-70%的相對濕度是否會太乾？另本研究所進行的選溫研究結果，是否在後續已有套用到蛇類飼養空間的溫度設定，亦建議應該說明清楚。	謝謝委員指導。Chanhome et al. (2001)曾報導飼養泰國一些蝙蝠蛇科及蝮蛇科蛇類時，有些飼養房白天氣溫設為 26-27 ºC，相對濕度為 60-70 %。但晚上時(及其他飼養房整天的)溫濕度則隨著外界改變(17-38 ºC；21-84 %)。本計畫之動物房的氣溫及濕度是由多組冷氣機調控，並將其溫度設定在 26 或 27 ºC。由於動物房內定時會有外在新鮮空氣輸入以進行通氣，加上每個飼養箱底部均有加熱片增溫而屏東地區冬天時節亦不致太冷，因此各

順序	審查意見	答復說明
		飼養室內的溫度範圍經測量發現常年基本上保持在 25-30 ºC，而相對濕度範圍經測量發現常年基本上保持在 40-70 %。這樣的濕度適合操作人員作業且實質上對蛇隻並不會太乾，因為蛇飼養箱內還會提供較高的底質濕度以供蛇類選擇。聯結箱基質濕度至少有一箱會保持高濕度，因此當蛇類需要較高濕度環境，即會移往具有高基質的飼養箱處。本研究的選溫研究結果顯示鎖鍊蛇偏好溫度為 28.3 ± 3.2 ºC，而雨傘節者為 26.1 ± 2.6 ºC。選溫研究結果已有套用到蛇類飼養空間的溫度設定。本計畫已將每個飼養箱底部加熱片對應處的溫度設定為 32 ºC，因此蛇隻可在飼養箱內 25 ºC (未加熱區)至 32 ºC (加熱區)區域間進行選溫行為，亦即飼養環境的溫度區塊設置可適用於兩種蛇的選溫偏好。相關說明於成果報告第 20 頁第 7-23 行。
4	第9頁列出了計算蛇類體質量的公式，但全文前後翻找，卻未見使用該公式之處，卻在文章的結果處，出現了材料與方法中未見的"體重增加率"。	謝謝委員指導。已刪除體質量公式，並新增"體重增加率"公式於成果報告第 9 頁第 12-14 行。
5	第17頁"細菌篩檢及寄生蟲感染調查"之檢測及感染百分率計算，為何各條件下的樣本數差異與變化極大？建議在"材料與方法"中，應敘明取樣比較的基準及方式。	謝謝委員指導。細菌篩檢檢測頻度固定為每 2 個月一次，因此同種的各蛇隻歷次的樣本數一致。寄生蟲篩檢因不同蛇隻排遺時間不一致或不定，且有些排遺不易及時完整收集，因此樣本數變化較大。相關說明於成果報告第 10 頁第 13-18 行。
6	圖8、圖9中，所有圖X軸表示的Breeding time不知所云？是否為誤用？Y軸的Body mass均拼成Body msaa的狀況，需進行修正。	謝謝委員指導。已更正 X 軸標題為 Project time，用以表示各蛇隻於本計畫開始(2017/7/10)後的天數。Y 軸標題亦已修正為 Body mass。請見各圖及其圖說。
7	本計畫雖進行了諸多的比較及資料收集，可惜的是有些資料收集或比較的項目，比較的意義、實驗配對的設計方式或基準，在報告中並未說明清楚，例如：蛇毒	謝謝委員指導。本計畫比較(1)蛇隻對於不同類型基質的偏好、(2)不同溫度區塊之偏好、(3)不同製作方式蛇香腸的偏好、(4)不同飼養時間長度的蛇隻細菌或寄生蟲感染率之差異、(5)不同飼養時間長度的蛇毒蛋白成份之

順序	審查意見	答復說明
	成分品質是否維持不變，可能影響的變量未說明，比較的基準、對象及如此比較的意義為何？是否合理？亦未見；或水苔的高、中、低濕的基準及差異為何？蛇香腸附加味道的意義？與選取這些方式的意義何在？建議均應敘明。	差異。比較(1)的意義(第 7 頁第 6-10 行)及實驗設計(第 13 頁倒數第 1-5 行及第 14 頁第 1-3 行)、比較(2)的意義(第 7 頁第 6-10 行)及實驗設計(第 13 頁第 4-19 行)、比較(3)的意義(第 7 頁最後一段及第 8 頁第一段)及實驗設計(第 15 頁最後一段及第 16 頁)、比較(4)的意義(第 21 頁最後一段及第 22 頁第一段)及實驗設計(第 10 頁中段至第 12 頁中段)、比較(5)的意義(第 8 頁第二段)及實驗設計(第 14 頁第三段及第 15 頁第一段)均已加以說明清楚並合理。另已根據委員意見修改蛇毒成分結果(第 19 頁第 7-11 行)與討論(第 23 頁第二段)之相關內容，依照各蛋白類群分開比較。目前結果顯示計畫期間不同次取毒之蛇毒蛋白組成之間仍可見不同之處。 此外，水苔的高、中、低濕的相對濕度範圍值分別為 90-100 %、70-80 %、40-60 %。已說明於成果報告第 13 頁倒數第 2-3 行。 蛇香腸附加味道主在引起誘食的作用，其意義與討論說明於成果報告第 8 頁第 5-6 行及第 15 頁倒數第 1-3 行。
8	值得推薦之特殊績效：鎖鍊蛇與雨傘節之偏好溫度區間。	謝謝委員指導。