
認識身旁的小傢伙(16)-- 美洲蟑螂分泌警告物質之研究(I)

毛靖雯 姚乃筠 蔡任圃*

臺北市立中山女子高級中學

壹、前言

費洛蒙(pheromone, 又稱訊息素)為生物種內個體間的訊息物質, 具有多種功能, 例如: 性費洛蒙可吸引異性; 追蹤費洛蒙可引導其他個體的行進路徑; 聚集費洛蒙可吸引族群聚集; 警告費洛蒙可引發其他個體逃亡或攻擊。其中「警告費洛蒙(alarm pheromone)」常見於社會性昆蟲, 例如蜂(*Vespula squamosa*)(Landolt, *et al.*, 1999)、蟻(Regnier and Wilson, 1968), 而非社會性昆蟲的相關研究較少。蜚蠊目(Order Blattaria)中, 目前已發現一種原始的蟑螂—七星蟑螂(seven-spotted cockroach, *Therea petiveriana*)在受到干擾時會舉起翅膀, 同時其腹部第2、3節間的囊袋可分泌警告性物質(Brossut, 1983; Erienne, *et al.*, 2002), 具有驅離同種個體的效應。德國蟑螂(*Blattella germanica*)的唾腺中亦發現有警告費洛蒙(Faulde, *et al.*, 1990), Nakayama 等人(1987)及 Rollo 等人(1995)則發現美洲蟑螂(*Periplaneta americana*)腹部含有警告費洛蒙, 可將同種個體由遮蔽物下驅散, 且無論何種性別

或年齡皆有效果, 但 Capinera(2008)指出這些研究是由死的蟲體萃取出警告費洛蒙, 活的蟲體是否會分泌警告費洛蒙仍無定論。Takahashi and Kitamura (1972)雖嘗試探討活的美洲蟑螂在受刺激時, 所分泌之警告費洛蒙的作用, 但因實驗設計與量化方法過於主觀, 結論不足為信。我們觀察到當蟑螂受刺激時(例如被鑷子夾起), 常會由口流出唾液, 肛門亦排出軟便, 可能像德國蟑螂的唾液含有警告物質一般(Faulde, *et al.*, 1990)。

綜上所述, 我們想深入探究美洲蟑螂是否可由活體分泌警告費洛蒙? 警告費洛蒙對個體逃亡行為與觸角運動有何效應? 是否具種間效應? 性別、年齡等因子扮演什麼角色? 可否經由軟便或唾液散發? 觸角也是其受器嗎? 為了解決這些疑問, 我們設計了許多研究方法進行探究, 也得到許多研究成果, 不但讓我們一窺昆蟲世界裡訊息傳遞的奧秘, 也可作為中學生物實驗課的探討活動與補充教材。我們發現美洲蟑螂的警告費洛蒙亦有種間作用, 也就是具欣諾蒙(synomones, 又稱互利素)的性質, 而本文統稱為警告物質。

*為本文通訊作者

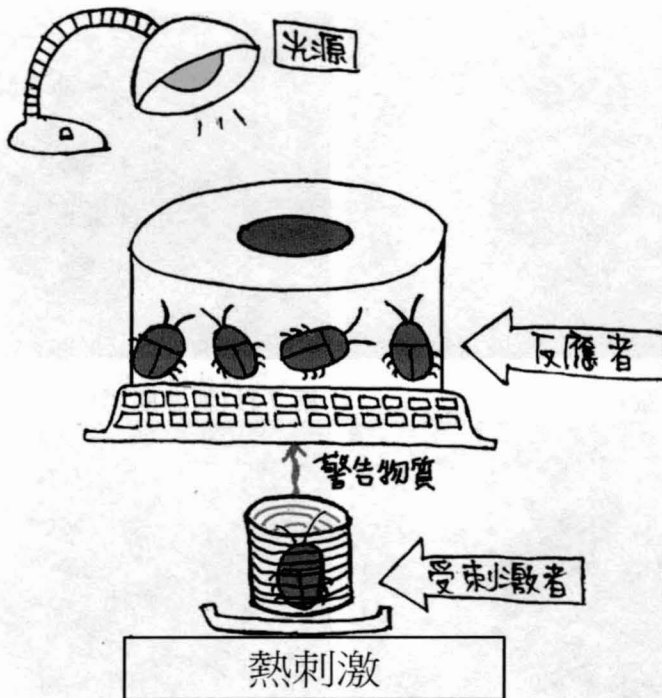
貳、實驗動物

美洲蟑螂(*Americana cockroach*，學名：*Periplaneta americana*)為本校人工飼養繁殖，以色澤明亮，身體外表無破損之成蟲作為實驗動物，且實驗過的動物不再進行實驗。研究進行前先以二氧化碳麻醉以利操作蟲體，之後靜置一個小時，待其回復到正常才進行實驗。探討種間作用的實驗動物，取用黃斑黑蟋蟀(*Gryllus bimaculatus*)探討警告物質是否具種間效應。

參、建立警告物質對蟑螂行為作用的觀察模式

一、記錄活體分泌之警告物質對其他個體的驅散效應

實驗裝置如圖一，以鐵紗網蓋住小培養皿，內含一隻雄蟲(受刺激而釋放警告物質者)，下方平鋪鋁箔紙，以紙筒罩住小培養皿，大培養皿(直徑 18.7 公分)覆蓋於塑膠網上，內裝四隻雄蟲(對警告物質反應者)，大培養皿上覆蓋圓型之紅色玻璃紙(直徑 6 公分)，此裝置上方以檯燈由上而下照明，誘使蟑螂個體停棲於紅色玻璃紙下，此時打開電磁爐加熱(持續 5 秒)，利用「熱」刺激小培養皿內的警告物質釋放者分泌警告物質，同時觀察、紀錄大培養皿內之反應者的移動情形，藉此證明此物質是否具有誘發驅離的作用。每次實驗後，皆以冷水冷卻實驗器材才再進行下一個實驗。



圖一 觀察「警告物質對蟑螂行為的效應」之裝置圖。

以錄影機由上向下垂直拍攝警告物質釋放者受熱刺激前、中各 5 秒、及刺激結束後 30 秒內，反應者的行為影片。影片以 Tracker-4.71 軟體(屬自由軟體，下載網址：www.cabrillo.edu/~dbrown/tracker)分析各反應者於不同時間時的頭部、尾部座標，並以警告物質釋放者的頭部座標為原點，計算 4 隻反應者的運動路徑與離心速度(正值為離心方向，負值為向心方向)(單位為體長/秒)，以及反應潛伏期(latency，由開始熱刺激至反應者開始移動之時間差，單位為秒)。

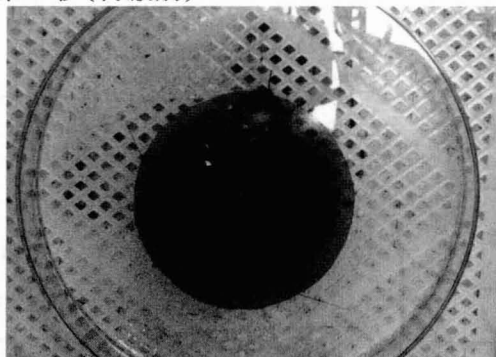
為了排除反應者可能受到熱氣或煙霧等因子的影響，我們也記錄、分析在小培養皿中無警告物質釋放者時，反應者在

熱刺激前、中、後的行為反應，作為本實驗之對照組。結果發現在無警告物質釋放者的情形下，加熱過程對反應者的移動速度與離心速度沒有影響，代表加熱器(電磁爐)產生的磁場變化或其他因子(熱、煙等)並不會引發蟑螂的運動、逃亡。

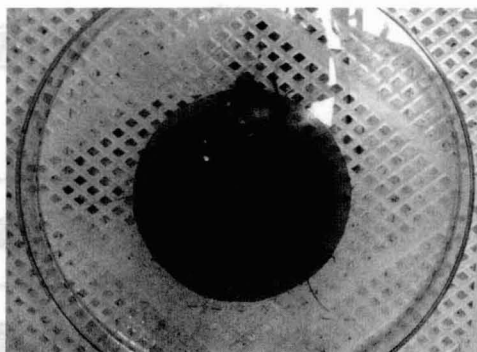
我們也利用溫度快速感應記錄器測量了實驗過程中小培養皿內的溫度變化，以瞭解實驗過程中，警告物質釋放者接受熱刺激的程度(圖三)。

在警告物質釋放者與反應者皆為雄蟲的情形下，測量、計算接受刺激前、後，反應者的運動座標變化，可發現反應者具有明顯的驅離反應(圖二)。

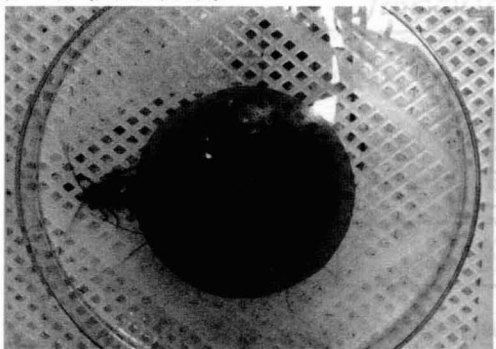
第 1 秒(刺激前)



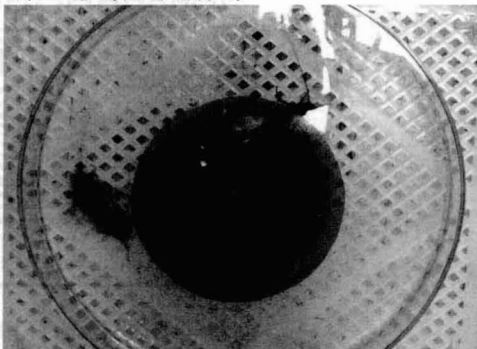
第 3 秒(刺激前)



第 5 秒(開始刺激)

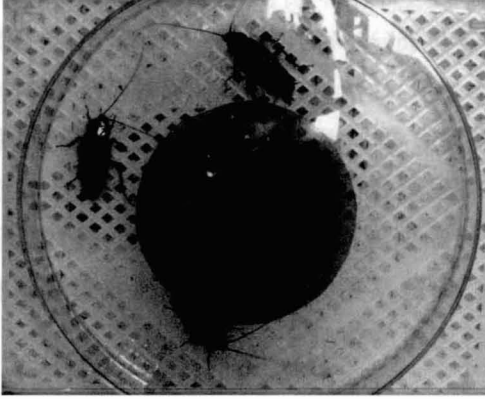


第 7 秒(刺激期間)

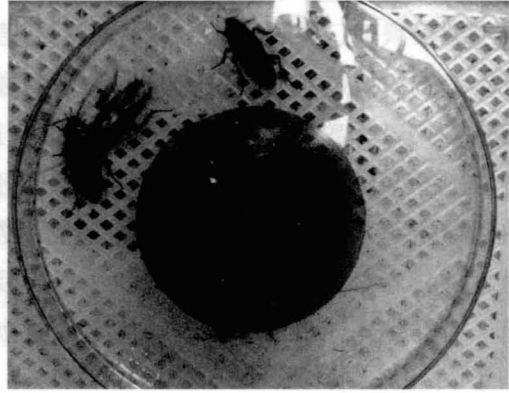


圖二 反應者在接收警告訊息後，產生驅離行為(警告物質釋放者與反應者皆為雄蟲)。

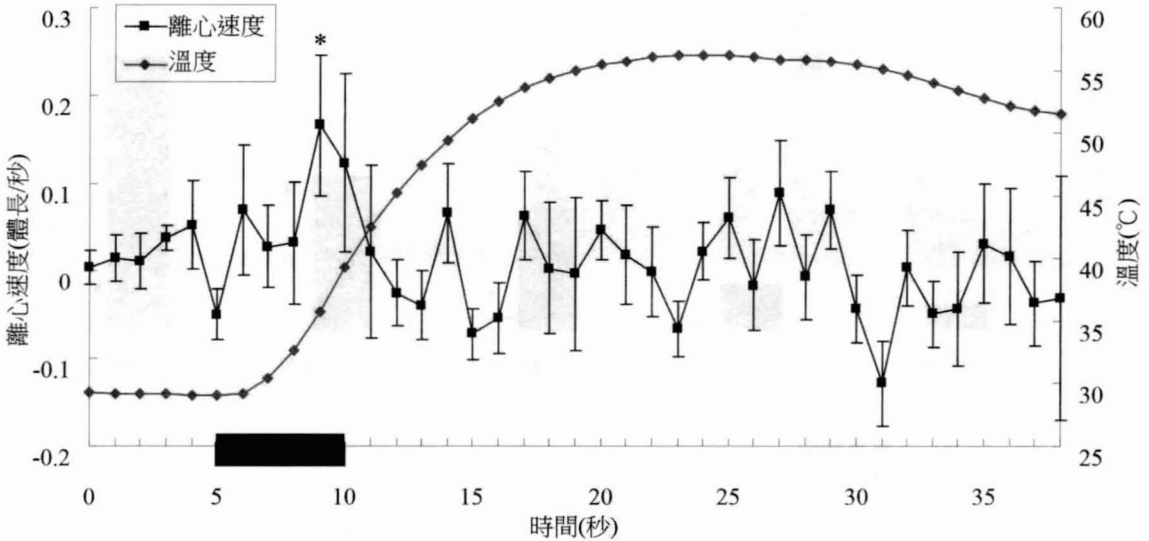
第 9 秒(刺激期間)



第 12 秒(刺激結束後)



圖二(續) 反應者在接收警告訊息後，產生驅離行為(警告物質釋放者與反應者皆為雄蟲)。



圖三 加熱刺激過程之溫度變化與雄性個體分泌警告物質對其他雄性個體離心速度的影響 (n = 20)。X 軸之粗線為熱刺激期間。

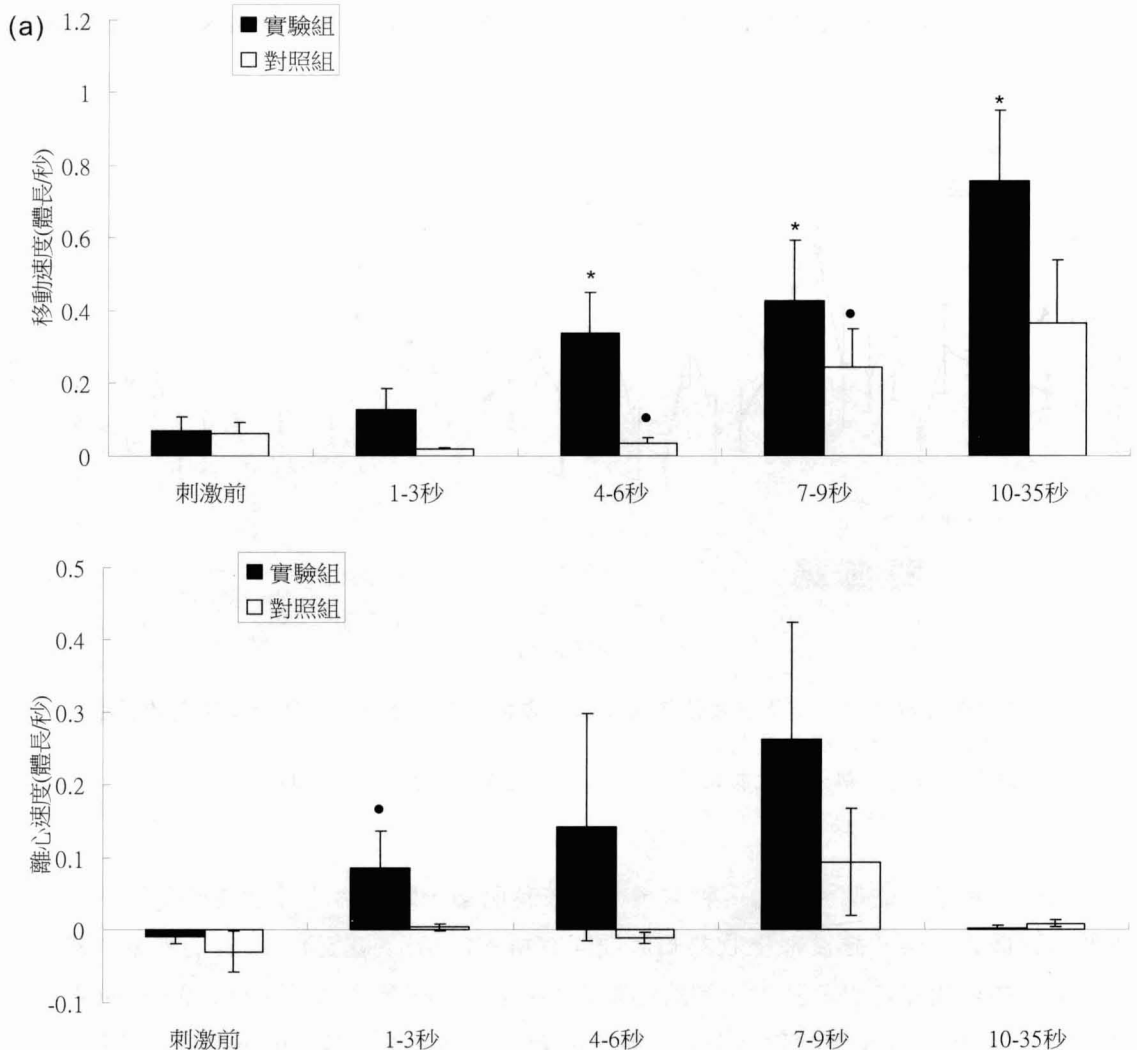
*：與第 0 秒時之離心速度相比達統計差異(單尾配對 t 檢定, $p < 0.05$)。

相對於刺激前的低活動力，刺激後行動較為明顯，瞬時離心速度在刺激的 5 秒期間波動達到最大，離心速度在接收熱刺激期間有增加的情形(圖五)，代表受刺激個體所發出的警告物質確實可引發其他個體的驅離行為，且其反應潛伏期為 3.71 ± 0.61 秒(平均 \pm 標準誤, $n = 20$)，故後續之數據分析，將比較刺激開始 1-3 秒與 4-6 秒期間的行為表現。

二、由活體萃取之警告物質的作用活性

於中型培養皿(直徑 9 公分)內平鋪濾紙(直徑 9 公分)，沾附適量 95%酒精(約 3 滴)，將一隻雄蟲置入，將此培養皿外側倒入熱水刺激，約 5 秒後取出濾紙，迅速放置於圖一裝置中的警告物質釋放者位置(取代警告物質釋放者)，同時記錄反應者的行為反應。對照組為將沾附 95%酒精(約 3 滴)的濾紙(未接觸任何蟲體)作為刺激物。

由活體所萃取之警告物質可增加其他個體移動速度與離心速度(圖四)，其結果與上述活體直接分泌警告物質的效應一致，代表我們所觀察到的驅散反應，確實為警告物質的作用，而非熱氣、氣流、聲音或蟲體的震動等因子的效應。



圖四 由蟲體萃取之警告物質對蟑螂移動速度(a)與離心速度(b)的影響(平均±標準誤, n=4)。

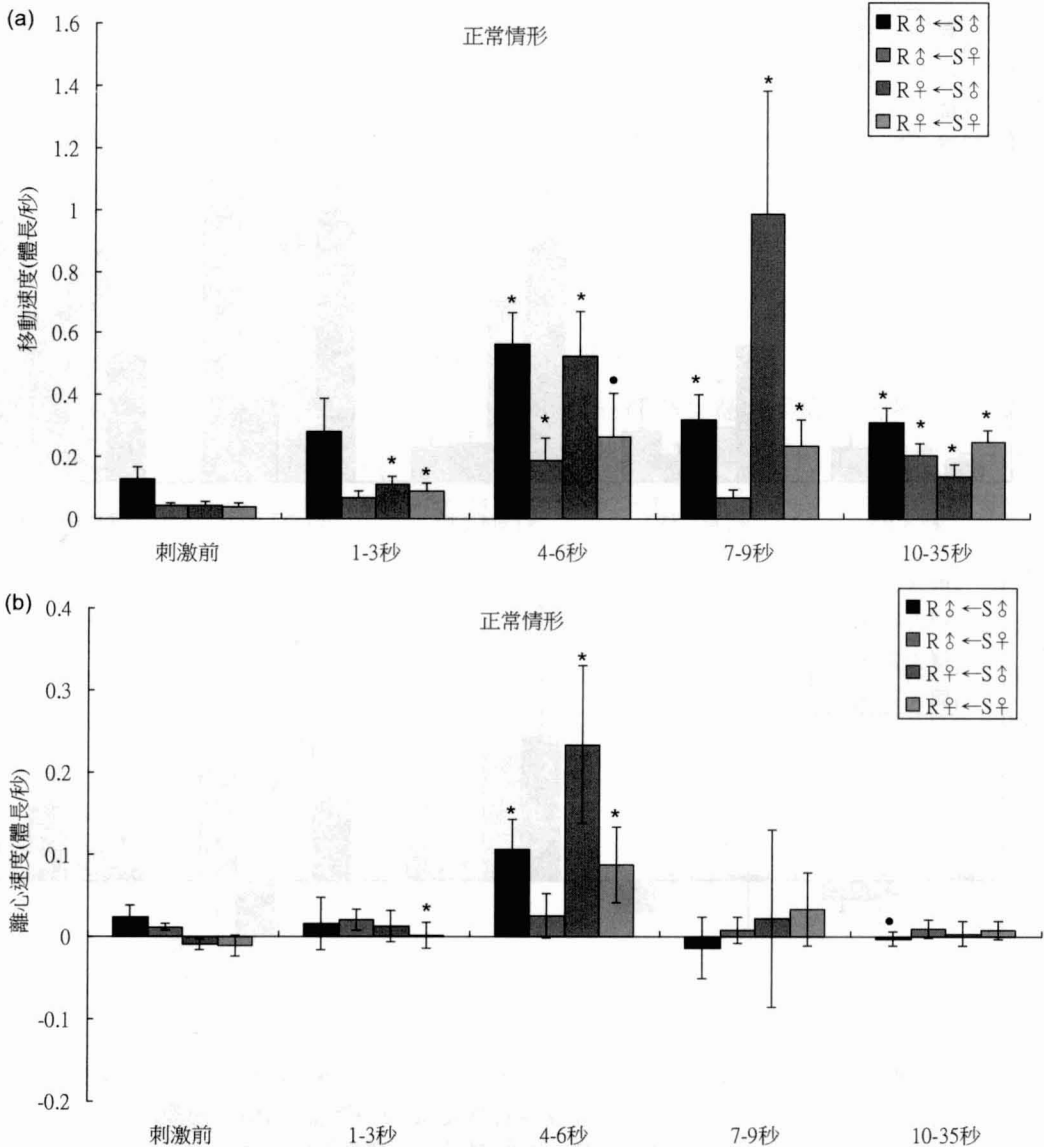
*: 與刺激前相比達統計差異(單尾配對 t 檢定, $p < 0.05$)。

•: 與刺激前相比接近統計差異(單尾配對 t 檢定, $0.05 < p < 0.08$)。

肆、探討警告物質作用的相關性質

一、性別在警告物質作用中的角色

實驗裝置如圖一，以「警告物質釋放者/反應者」的組合為雄/雄、雄/雌、雌/雄、雌/雌等成蟲性別配對進行實驗。結果發現無論是何種性別組合，警告物質皆可增加反應者的移動速度與離心速度(圖五)，但雌蟲所釋放的警告物質引發雄反應者($R\delta \leftarrow S\eta$)的驅離反應較弱(圖五 b)。



圖五 警告物質對蟑螂成蟲移動速度(a)與離心速度(b)的影響。

$R\delta \leftarrow S\delta$ ：刺激雄性個體，觀察雄性個體的反應(n=16)。 $R\delta \leftarrow S\eta$ ：刺激雌性個體，觀察雄性個體的反應(n=10)。

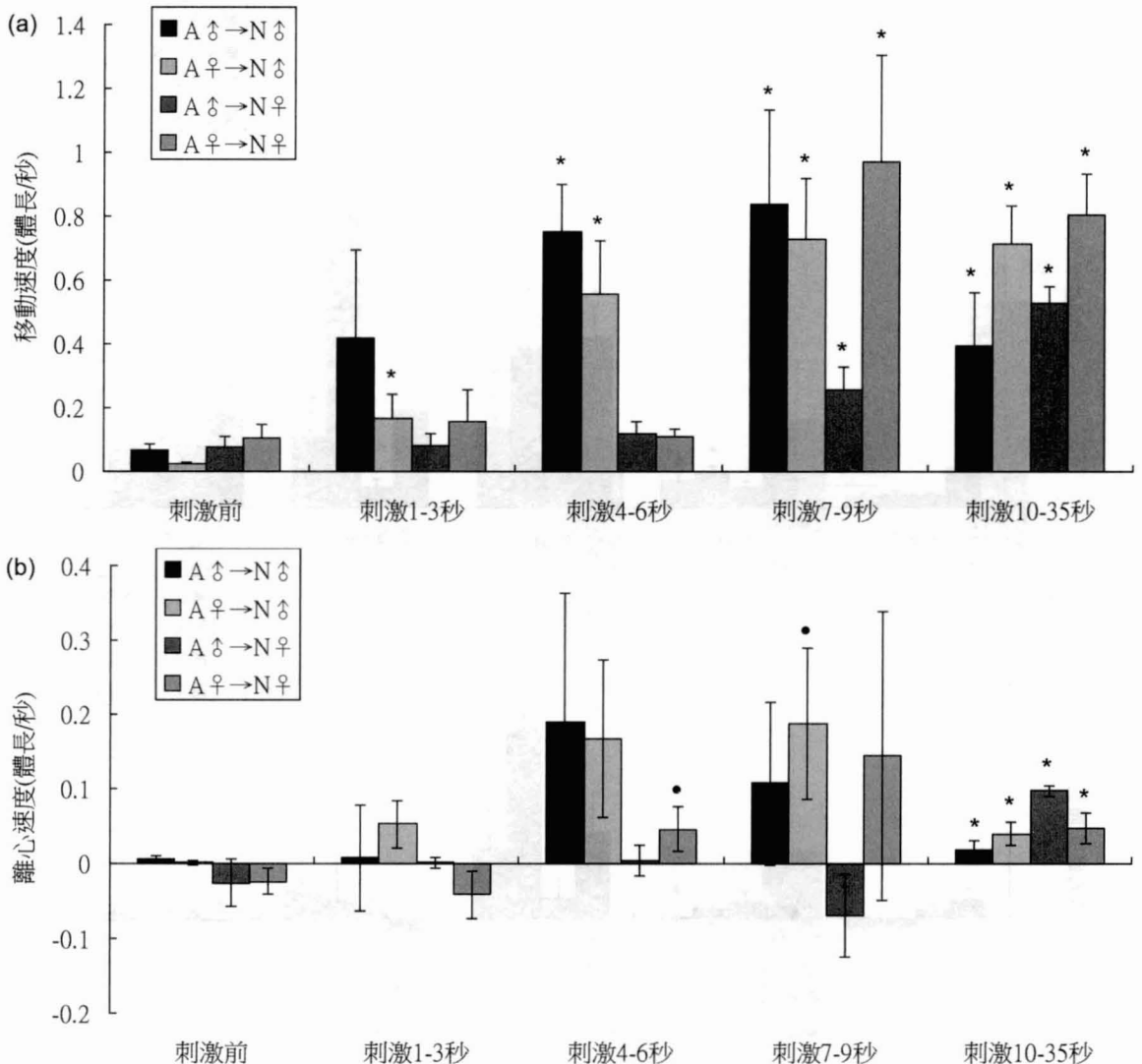
$R\eta \leftarrow S\delta$ ：刺激雄性個體，觀察雌性個體的反應(n=9)。 $R\eta \leftarrow S\eta$ ：刺激雌性個體，觀察雌性個體的反應(n=12)。

*：與刺激前相比達統計差異(單尾配對 t 檢定, $p < 0.05$)。

•：與刺激前相比接近統計差異(單尾配對 t 檢定, $0.05 < p < 0.08$)。

二、年齡在警告物質作用中的角色

實驗裝置如圖一，以「警告物質釋放者/反應者」的組合為雄若蟲/雄成蟲、雄若蟲/雌成蟲、雌若蟲/雄成蟲、雌若蟲/雌成蟲等配對進行實驗。成蟲所產生的警告物質，對不同性別之若蟲反應皆可引發逃亡、驅散行為，但雄性若蟲的反應時間較早，雌性若蟲的驅散反應較晚發生(圖六)。我們也發現若蟲與成蟲的逃亡模式不同，成蟲的路線為直線(離心方向)，若蟲為曲折路線(漩渦型的逃散方向)，因此若蟲離心速度的變化並不顯著。



圖六 成蟲分泌之警告物質對若蟲移動速度(a)與離心速度(b)的影響。

A♂→N♂：刺激雄性成蟲個體，觀察雄性若蟲個體的反應(n=8)。

A♂→N♀：刺激雌性成蟲個體，觀察雄性若蟲個體的反應(n=8)。

A♀→N♂：刺激雄性成蟲個體，觀察雌性若蟲個體的反應(n=8)。

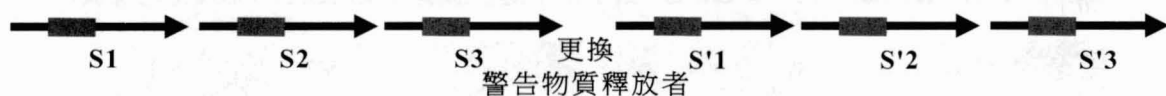
A♀→N♀：刺激雌性成蟲個體，觀察雌性若蟲個體的反應(n=8)。

*：與刺激前相比達統計差異(單尾配對t檢定，p<0.05)。

•：與刺激前相比接近統計差異(單尾配對t檢定，0.05<p<0.08)。

三、反應者是否具有習慣性

從實驗過程的觀察中發現，第二次的反應常較第一次弱，我們認為有以下兩種可能：一是反應者已產生習慣性，二則為警告物質釋放者的警告物質已消耗殆盡而無法分泌。為了驗證何者為真，我們設計以下實驗流程：裝置如圖一，實驗流程如上，即給予警告物質釋放者熱刺激 5 秒，紀錄反應者於熱刺激前、中各 5 秒與刺激結束後 30 秒內的行為反應，但重複上述流程三次(以 S1、S2、S3 表示，S 代表刺激)，每次間隔 3 分鐘，皆待反應者回到紅色玻璃紙下，再進行下一輪實驗；完成後，更換警告物質釋放者，並重複上述實驗步驟 3 次(表示為 S'1、S'2、S'3)(如圖七)。

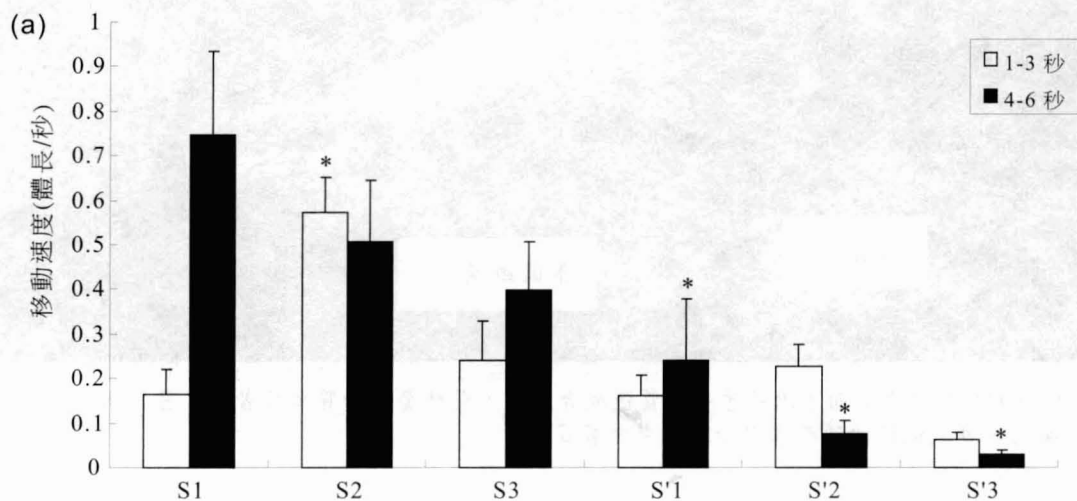


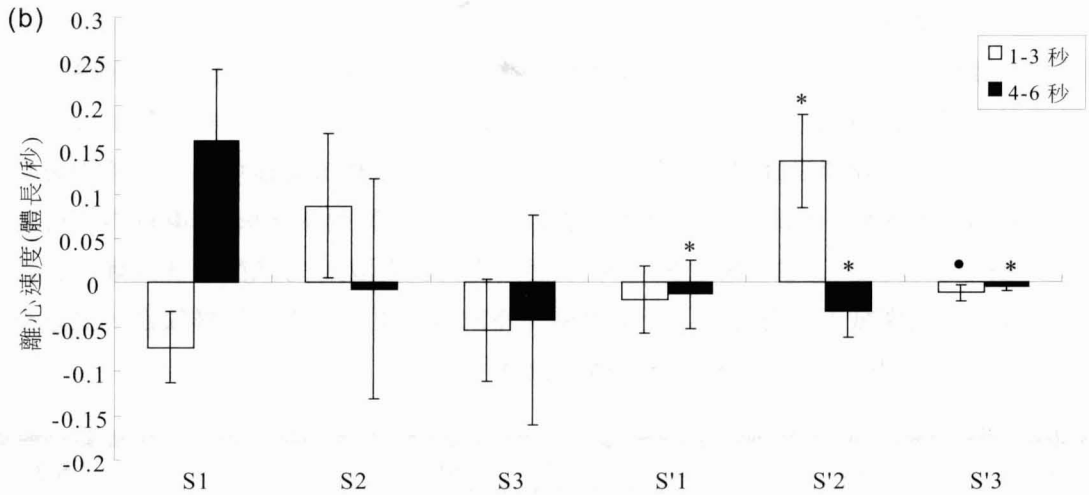
圖七 「對警告物質之習慣性的探討」實驗流程。紅色粗線代表熱刺激期間。

若警告物質釋放者與反應者皆為雄性個體的情形下，依序進行多次刺激後，反應者的運動速度逐漸減小(圖八 a)，即使更換警告物質釋放者後(S'1~S'3)，反應仍弱。第一次刺激(S1)時，反應者的離心速度最大，產生驅離的行為反應，但第二次刺激後(S2~S3)則反應銳減，且更換警告物質釋放者後(S'1~S'3)亦無反應(圖八 b)。我們推測反應者的反應減弱或消失並非警告物質釋放者的費洛蒙散發殆盡，而是反應者已產生習慣性。

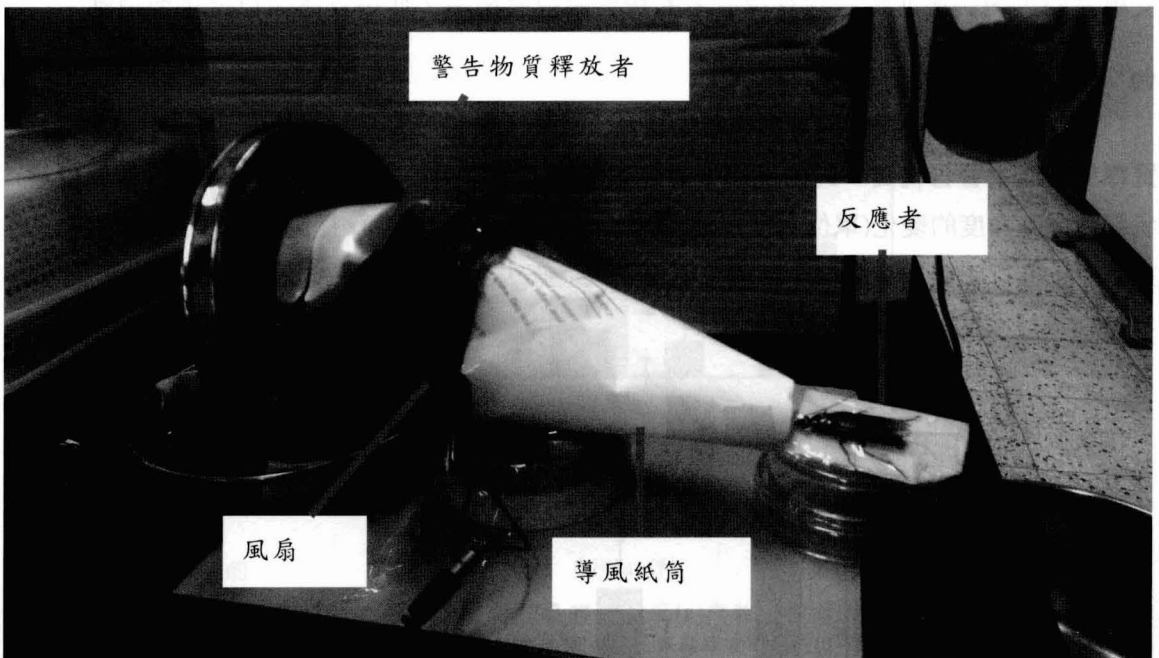
四、對觸角擺動的效應

觀察反應者觸角擺動的實驗裝置如圖九。以熱水流過「警告物質釋放者」，引發警告物質釋放者產生警告物質，經由風扇、導風紙筒輸送並作用於反應者，同時觀察、紀錄反應者觸角擺動角度的變化(單位為度)以及擺動角速率(單位為度/秒)。擺動角度以觸角與體軸的夾角變化進行比較。實驗中，為避免氣流干擾反應，全程啟動風扇，將此設為控制變因。

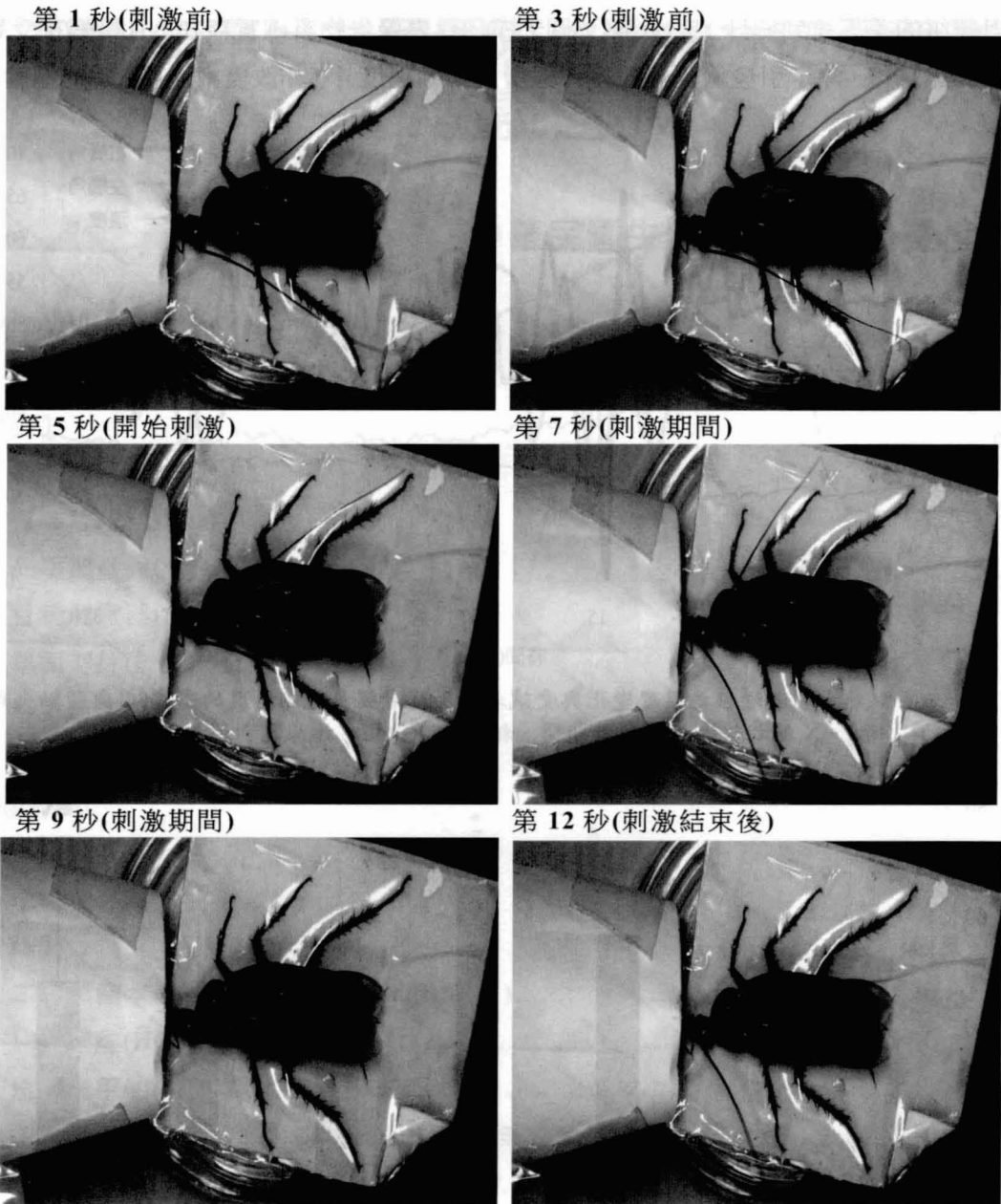




圖八 多次刺激對刺激後第 1 至 3 秒及第 4 至 6 秒期間之移動速度(a)與離心速度(b)的影響 (n=4)，警告物質釋放者與反應者皆為雄蟲。
 S1~S3：第一次至第三次刺激；
 S'1~S'3：更換警告物質釋放者後，第一次至第三次刺激。
 *：與 S1 相比達統計差異(單尾配對 t 檢定, $p < 0.05$)。
 ●：與 S1 相比接近統計差異(單尾配對 t 檢定, $0.05 < p < 0.08$)。



圖九 以 100°C 熱水由上而下流經警告物質釋放者周圍，引發警告物質釋放者產生警告物質，經由風扇、導風紙筒輸送而作用於反應者之裝置圖。

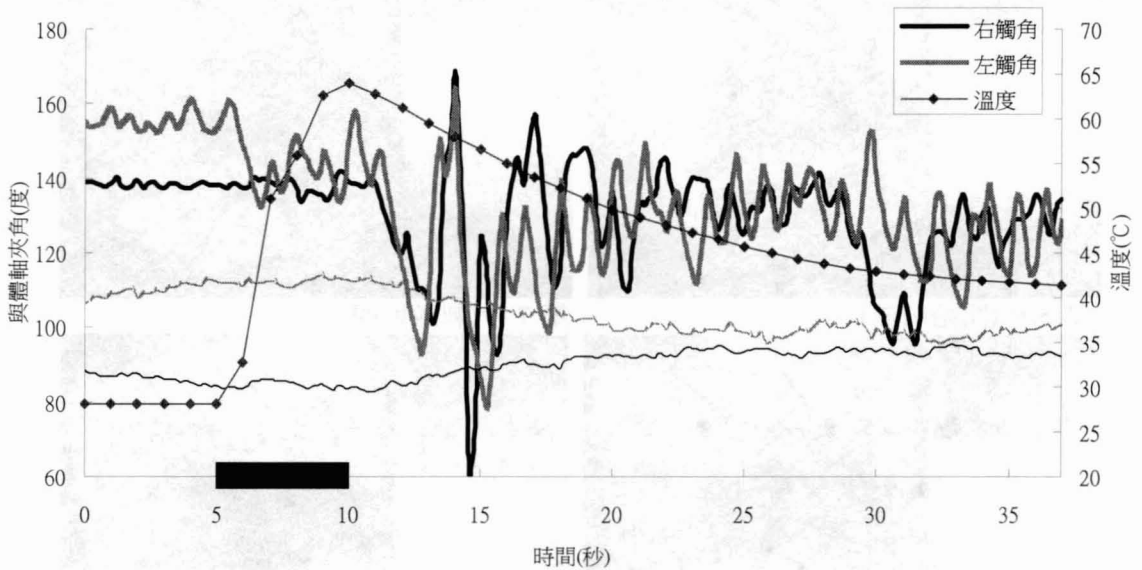


圖十 反應者在接收警告訊息後，觸角擺動模式發生改變(警告物質釋放者與反應者皆為雄蟲)。

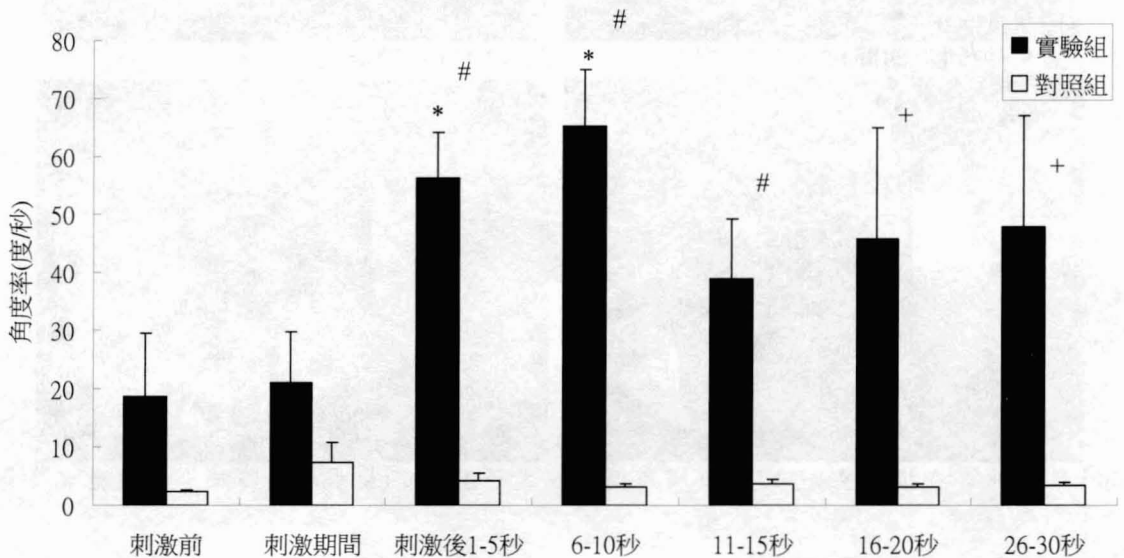
為了排除反應者可能受到熱氣或水氣等因子的影響，我們記錄、分析在小培養皿中無受刺激個體時，反應者在熱刺激前、中、後的擺動反應，作為本實驗之對照組。我們也利用溫度快速感應記錄器測量了實驗過程中小培養皿內的溫度變化，以瞭解實驗過程中，警告物質釋放者接受熱刺激的程度，溫度變化請見結果之圖十一。

在刺激警告物質釋放者期間，反應者的觸角擺動模式有明顯的改變(圖十、圖十一)，

且與對照組的差異達到統計上的意義(如圖十二)，代表警告物質確實存在，且蟑螂接受警告物質的訊息後，除了引發個體驅離行為與增加移動速度外，亦改變附肢(觸角)的擺動。



圖十一 以熱水刺激過程之溫度變化與受試者對反應者觸角擺動角度的影響(以與體軸夾角表示)。X 軸之粗線為熱刺激期間。粗線為實驗組，細線為對照組。



圖十二 以熱水刺激警告物質釋放者對反應者觸角擺動之角速率的影響(2 個體, 4 觸角, 平均 ± 標準誤)。時間解析度為 0.2 秒。

*: 與刺激前相比達統計差異(單尾 t 檢定, $p < 0.05$)

#: 與對照組相比達統計差異(單尾 t 檢定, $p < 0.05$)

+: 與對照組相比接近統計差異(單尾 t 檢定, $0.05 < p < 0.08$)

(待續)