

貳、材料與方法

一、實驗動物

實驗用美洲蟑螂飼養在定溫(25-28°C)、固定濕度(60-70%)，定時光週期(12小時光照，12小時黑暗)之動物房，並定時供給飲水與食物，以維持其正常生理功能。挑選附肢完整且觸角彎曲程度較少的年輕雄性成蟲進行實驗。

二、個體運動與觸角擺動的觀察

(一)實驗動物之固定

將蟑螂低溫麻醉後，剪去前翅，利用 AB 膠將蟑螂的中胸、後胸背側及後翅固定於前方具彈性的支架上，蟑螂的頭部、前胸及各附肢可自由活動。

(二)實驗裝置

實驗裝置可分為記錄個體運動與記錄觸角擺動兩部分。

1. 記錄個體運動部分

記錄昆蟲個體運動裝置是參考李等(1996)的實驗設計並稍作改良(圖二)。裝置的中央是一顆空心保麗龍球(直徑 14.9 cm，重量 6.2 g，以下簡稱圓球)，圓球下方的底座有氣流吹出，使圓球保持在飄浮的狀態，底座內側弧度與圓球的屈面相仿，因此限制圓球只能轉動而不會飛離底座。調整固定蟑螂的支架，使蟑螂位於圓球的上方，頭部朝前且六足能夠輕易地轉動圓球。將一光學滑鼠(M, Microsoft IntelliMouse explorer 3.0)放置於圓球前方，使光學滑鼠的偵測器非常接近圓球的最前端，讓圓球轉動的情形經由光學滑鼠偵測並傳送到個人電腦分析並儲存。改裝滑鼠的左鍵功能，使之能夠透過刺激器來控制。

記錄程式是利用 Visual C++ 6.0(Microsoft CO.)撰寫，實驗中刺激器(Sti 1, Electronic Stimulator, Nihon Kohden)每 33.4 毫秒送出一個訊號，相當於光學滑鼠左鍵被按下時，電腦立即記錄光學滑鼠目前的所在座標，並參考前一次座標即可計算這段時間內，圓球的運動距離與轉動角度，如此在實驗中蟑螂的位置，即可每 33.4 毫秒記錄一次並累計其資料。

裝置架設完成後，每回實驗之前，須要進行多次的校正工作。前進方向的校正時，將滑鼠在同一平面上向前移動 5 公分，記錄螢幕垂直座標的變化量，重複 15 次；左轉方向的校正時，將滑鼠在同一平面向左方移動 3 公分，記錄螢幕水平座標的變化量，重複 15 次，再以相同的方法做右轉的校正。根據下式：

$$\text{單位座標代表距離} = \frac{\text{移動距離}}{\text{座標變化}}$$

即可計算蟑螂的個體運動情形，並記錄之。

2. 記錄觸角擺動之方法

使用兩台攝影機(圖二中的 C1 與 C2, SONY D8 TRV-510)分別從蟑螂頭部的正上方與正前方同步拍攝，兩台攝影機的影像與電腦螢幕經由四分割器合併成一個影像後，除了輸出至錄影機(Rec, SHARP VC-A315)儲存供日後分析之外，另輸出到電視螢幕(TV, KOLIN CT-14BK)以確保能夠即時掌握實驗的狀況。

利用紅外線發射器(L1 與 L2)做為攝影機所需的光源。為了確保兩台攝影機所拍攝的畫面能夠同步，因此採用紅外線閃光攝影的技術，當紅外線光源開啟時，攝影機才能拍攝到蟑螂觸角的影像。光源的開關是由刺激器(STI 1)所控制，每 16.7 毫秒閃光一次，每次持續 1 毫秒。由於台灣地區的電視影像是屬於 NTSC 模式，每秒中可拍攝 29.97 張畫面(frame)，換言之，每張畫面持續時間是 33.367 毫秒。如果每 16.7 毫秒閃光一次，就會造成每張畫面上具有兩個影像。如此能夠突破 NTSC 模式每秒 29.97 張畫面的限制，達到每秒可拍攝將近 60 張影像的效果。

實驗裝置放置於長：寬：高=125：65：85 公分之封閉黑暗空間，以避免實驗中的蟑螂受到外界因子，如光線、氣流等的干擾或影響。此空間的上方有一日光燈泡 (照度約 70-75 lux, 圖二中未顯示)，提供實驗前之準備或實驗進行中光亮環境的光源。

(三)實驗進行之程序

固定於裝置上的蟑螂，經過至少 30 分鐘黑暗環境下的適應後，才開始實驗。

實驗進行時，依序以無照光、無照光+觸碰蟑螂身體、照光、照光+觸碰蟑螂身體四種狀態使蟑螂以不同速度行走，記錄時間分別為 10 分鐘、5 分鐘、10 分鐘、5 分鐘，處理間隔為 10 分鐘。同時記錄蟑螂的個體運動情形與觸角擺動的影像。

(四)不同實驗狀態下個體運動速度差異之分析

在各種實驗狀態下，分別計算各實驗片段蟑螂個體運動的部分(扣除靜止的資料)的平均運動速度與前 10%的平均運動速度，計算公式如下：

$$\text{平均運動速度} = \frac{\Sigma \text{移動距離}}{\text{資料數} \times \text{取樣時間間隔}}$$

$$\text{前10\%最大運動速度} = \frac{\Sigma \text{前10\%最大移動距離}}{\text{資料數} \times \text{取樣時間間隔}}$$

利用雙因子變異數分析(two-way ANOVA)檢驗照光與觸碰身體對蟑螂個體運動速度的影響。

(五)觸角影像的選取

個體靜止影像選取原則：

蟑螂至少維持 5 秒以上的連續靜止，選取 2-3.3 秒的影像進行分析(共計 40 張畫面)。若蟑螂長時間靜止，則每五秒選取一片段分析。

個體運動影像選取原則：

蟑螂至少維持 1.3 秒以上的連續運動，且運動速度穩定的影像進行分析(共計 40 張畫面)。

將符合選取原則的影像片段經由影像捕捉卡(DVRaptor, Canopus CO. Ltd.)輸入電腦，儲存為未壓縮的 avi 檔案格式，以便逐張(frame by frame)進行觸角擺動的分析。

(六)觸角擺動之分析

1.將觸角方向向量化

將影像檔逐張播放，依序記錄觸角座標，記錄程式亦是利用 Visual C++ 6.0 (Microsoft CO.)撰寫。由於蟑螂兩根觸角基部未完全接觸，因此，每根觸角的方向應取 2 個參考點計算。其中一點應接近觸角基部，另一點原則上越遠越好，但再考慮觸角末端因重力或快速擺動造成彎曲，所以不宜超過

1/3 觸角長度(從觸角基部算起)。本部分實驗所取的參考點如圖三(a)和(b)。

從上方攝影機的畫面(top view, 圖三 a), A-B 可代表右觸角投影到 XY 平面的方向(X_{TOP}, Y_{TOP}), 從前方攝影機的畫面(front view, 圖三 b), E-F 可代表右觸角的投影到 XZ 平面的方向(X_{FRONT}, Y_{FRONT})。以 X 座標為基準將這兩個向量合併, 即得右觸角三度空間的方向, 以 $\overline{R_ANT}=(X,Y,Z)$, 最後, 轉換成長度為 1000 的向量進行後續計算, 而左觸角的計算也是如此。

2. 觸角位置之定義與計算

本實驗將觸角擺動分為垂直方向擺動、水平方向擺動兩方面分別討論。

(1) 垂直擺動：

垂直擺動為觸角在三度空間擺動時上下擺動的部分, 代表意義為觸角舉起的高度。實驗分析項目包括觸角擺動平均高度(以下稱為「垂直擺動高度」)與垂直擺動幅度, 分別以觸角各取樣點與水平面(XY 平面)的夾角(圖四 $\angle AOB$)平均與標準差代表。角度計算公式如下：

$$\text{垂直擺動高度} = \sin^{-1}\left(\frac{Z}{1000}\right)$$

(2) 水平擺動：

水平擺動為觸角在三度空間擺動時左右擺動的部分, 代表意義為觸角向外張開的程度。實驗分析項目包括觸角平均水平位置(以下稱為「水平擺動位置」)與水平擺動幅度, 分別以觸角各取樣點與通過身體長軸的垂直面(YZ 平面)的夾角(圖四 $\angle AOC$)平均與標準差代表。角度計算公式如下：

$$\text{水平擺動位置} = \sin^{-1}\left(\frac{X}{1000}\right)$$

3. 左右觸角的夾角

計算左右觸角的夾角(將兩觸角基部的距離忽略不計), 計算公式如下(Lewis and Ward, 1989)：

$$\text{左右觸角夾角} = \cos^{-1}\left(\frac{\overline{R_ANT} \cdot \overline{L_ANT}}{1,000,000}\right)$$

三、觸角相關關節的活動情形之分析

由於所記錄到觸角的方向是頭擺動(或轉動)、HS 關節(頭部和柄節之間的關節)、SP 關節(柄節和梗節之間的關節)三者共同影響，要探討各關節活動情形前必須排除其他部位的影響，才能了解上述三者對觸角方向的影響各為何。本部分實驗僅探討右觸角。

(一)固定實驗動物

利用低溫將蟑螂麻醉後，剪去前翅，利用 AB 膠將蟑螂的胸部背側及後翅固定於不具彈性的支架上，蟑螂的頭部及各附肢可自由活動。

(二)實驗裝置

1.運動記錄部分

同「觸角擺動與個體運動的觀察」運動記錄部分的實驗裝置。

2.觸角擺動記錄部分

觸角影像記錄大部分的裝置與「觸角擺動與個體運動的觀察」運動記錄部分裝置相同。不同處為同時使用三台攝影機(SONY D8 TRV-510)分別從蟑螂頭部的正上方、正前方與正右方同步拍攝，但只聚焦在右觸角基部，以利拍攝右觸角基部變化，且有較大及清晰的影像。閃光時間改為每 33.4 毫秒一次，即每秒記錄 30 次右觸角的影像。

(三)實驗進行之程序

同「觸角擺動與個體運動的觀察」運動記錄部分實驗進行之程序。

(四)觸角影像的選取

同「觸角擺動與個體運動的觀察」運動記錄部分觸角影像的選取。

(五)觸角擺動之分析

將影像檔逐張播放，依序記錄右觸角(嚴格說應是鞭節的座標，但因這是觸角外觀上最明顯的部位，因此用「觸角」來稱呼)、柄節與頭部座標，每處取二

個參考點計算。本實驗所設定參考點如圖五(a) - (c)。

上方攝影機的畫面(top view, 圖五 a), (A-B)可代表右觸角投影到 XY 平面的方向(X_{TF}, Y_{TF}), (C-D) 可代表右柄節投影到 XY 平面的方向(X_{TS}, Y_{TS}), (E-F) 可代表頭部左或右轉的程度(X_{TH}, Y_{TH})。前方攝影機的畫面(front view, 圖五 b), (G-H)可代表右觸角投影到 XZ 平面的方向(X_{FF}, Z_{FF}), (I-J) 可代表右柄節投影到 XZ 平面的方向(X_{FS}, Z_{FS}), (K-L)可代表頭部旋轉的程度(X_{FH}, Z_{FH})。右方攝影機的畫面(right-side view, 圖五 c), (M-N)可代表右觸角投影到 YZ 平面的方向(Y_{RF}, Z_{RF}), (O-P) 可代表右柄節投影到 YZ 平面的方向(Y_{RS}, Z_{RS}), (Q-R)可代表頭部上下擺動的程度(Y_{RH}, Z_{RH})。仿造前述方法將各座標(頭部座標除外)合併, 即可得代表右觸角方向之向量 $\overline{R_ANT} = (X, Y, Z)$ (此方向即為前節「個體運動與觸角擺動的觀察」中所探討的觸角方向, 為頭部及觸角各關節活動共同影響下的最終方向)與代表受頭部擺(轉)動影響的右柄節方向之向量 $\overline{R_ANT}_{SC_H} = (X_{SC_H}, Y_{SC_H}, Z_{SC_H})$ 。最後, 轉換成長度為 1000 的向量進行後續計算。頭部座標直接換算成角度, 左右擺動角度 $\theta = \tan^{-1}(Y_{TH}/X_{TH})$; 上下擺動角度 $\phi = \tan^{-1}(Y_{RH}/Z_{RH})$; 旋轉角度 $\delta = \tan^{-1}(Z_{FH}/X_{FH})$ 。

由於蟑螂的胸部是被固定的, 因此頭部的方向即為頭部所擺(轉)動的方向。但右柄節方向與右梗節的方向則非如此。此時所記錄的右柄節方向除了 HS 關節活動之外, 還受到頭部擺(轉)動的影響。而右觸角的方向除了右梗節在 SP 關節擺動之外, 還受柄節的擺動和頭部的擺(轉)動雙重影響。因此, 要探討各個關節的活動情形與觸角擺動之關係前, 須要先將這些額外的影響因素消除。

1. 柄節相對於頭部擺動情形：

由於頭部左右擺動、上下擺動與旋轉均會影響柄節方向。因此, 要探討柄節相對於頭部的方向前, 應先扣除頭部擺動與轉動的影響。

(1) 受頭部旋轉之修正

頭部旋轉角度 $\delta = \tan^{-1}(Z_{FH}/X_{FH})$, 依下列公式(Friedberg *et al.*, 1992)：

$$\begin{bmatrix} X_{SC_H'} \\ Y_{SC_H'} \\ Z_{SC_H'} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \delta & 0 & -\sin \delta \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin \delta & 0 & \cos \delta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_{SC_H} \\ Y_{SC_H} \\ Z_{SC_H} \end{bmatrix}$$

運算後, 所得 $(X_{SC_H'}, Y_{SC_H'}, Z_{SC_H'})$ 即消除頭部旋轉之因素的柄節新向量。

(2) 頭部左右擺動之修正

頭部左右擺動角度 $\theta = \tan^{-1}(Y_{TH}/X_{TH})$ ，將作過頭部旋轉修正後的向量，依下列公式：

$$\begin{bmatrix} X_{SC_H''} \\ Y_{SC_H''} \\ Z_{SC_H''} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos\theta & -\sin\theta & 0 \\ \sin\theta & \cos\theta & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_{SC_H'} \\ Y_{SC_H'} \\ Z_{SC_H'} \end{bmatrix}$$

運算後，所得 $(X_{SC_H''}, Y_{SC_H''}, Z_{SC_H''})$ 為消除頭部旋轉與左右擺動之因素的柄節新向量。

(3) 頭部上下擺動之修正

頭部上下擺動角度 $\phi = \tan^{-1}(Y_{RH}/Z_{RH})$ ，將作過頭部旋轉與左右擺動修正後的向量，依下列公式：

$$\begin{bmatrix} X_{SC} \\ Y_{SC} \\ Z_{SC} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos\phi & \sin\phi \\ 0 & -\sin\phi & \cos\phi \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_{SC_H''} \\ Y_{SC_H''} \\ Z_{SC_H''} \end{bmatrix}$$

運算後，所得向量 $\overline{R_ANT}_{SC} = (X_{SC}, Y_{SC}, Z_{SC})$ 即為消除頭部旋轉與左右、上下擺動等影響因素的柄節向量，也就是柄節相對於頭部擺動的方向(即 HS 關節活動情形)。

2. 梗節相對於柄節擺動情形：

觸角方向(即梗節方向)除受梗節在 SP 關節擺動的影響之外，還受柄節擺動影響與頭部左右擺動、上下擺動與旋轉的影響。因此，須先將柄節和頭部的影響排除後才能探討梗節相對於柄節的擺動情形。本應該分別修正頭部的影響因素和柄節的影響因素，但先前測量的柄節向量 $\overline{R_ANT}_{SC_H}$ 為包含柄節方向和頭部左右、上下擺動影響的結果。因此，只須修正頭部旋轉對梗節的影響：

頭部旋轉角度 $\delta = \tan^{-1}(Z_{FH}/X_{FH})$ ，可依下列公式：

$$\begin{bmatrix} X_{PE_S'} \\ Y_{PE_S'} \\ Z_{PE_S'} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos\delta & 0 & -\sin\delta \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin\delta & 0 & \cos\delta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_{PE_S} \\ Y_{PE_S} \\ Z_{PE_S} \end{bmatrix}$$

公式修正頭部旋轉對梗節角度的影響。接下來修正柄節左右擺動造成的影響，修正角度為 $\tan^{-1}(Y_{TS}/X_{TS})$ ，最後再修正梗節受柄節上下擺動的影響擺動，修正角度

為 $\tan^{-1}(Z_{TS}/X_{TS})$ 。修正公式分別和計算修正柄節受頭部左右擺與上下擺動相同，僅須改變修正角度即可。由於無法定量柄節旋轉程度，且 HP 關節轉動不明顯，因此不修正梗節受柄節轉動的影響。最後得向量 $\overline{R_ANT_{PE}}=(X_{PE}, Y_{PE}, Z_{PE})$ 即為梗節相對於柄節的擺動狀況(即 SP 關節活動情形)。將觸角擺動方向與頭部擺(轉)動角度、柄節擺動方向、梗節擺動方向分水平擺度動和垂直擺動分析。