

中華民國第 53 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物（生命科學）科

佳作

040703

斑斑可考

—環境因子對蛇目蝶眼紋發育影響之初步探討

學校名稱：高雄市立高雄高級中學

作者： 高二 劉嘉晉 高二 蔡榮漾 高二 林品宏	指導老師： 謝佳昌
---	------------------

關鍵詞：眼紋、環境因子、蛇目蝶

摘要

蛇目蝶眼紋大小的生長模式十分複雜，與環境因子有很大關聯；本實驗旨在探討不同環境因子與眼紋大小、不同環境因子與白帶之間的關係，實驗結果顯示溫度為影響眼紋大小最顯著的因子。我們更進一步找出溫度影響眼紋大小的關鍵齡期。溫度與眼紋大小的關係多呈現顯著的正相關，亦即溫度越高，眼紋就越大。我們可以建立一個眼紋發育與溫度的關係模式；並且發現同一蝶種不同眼紋發育趨式並不相同；同時發現溫度對不同蝶種的影響亦不相同。

壹、研究動機

去年暑假我們在山裡看到一種蝴蝶，它的翅膀上有著數對圓形的斑紋，好奇的我們於是回家上網搜尋這種蝴蝶的資料，並且和我們的老師討論。透過資料我們發現它是一種蛺蝶科(Nymphalidae)的蝶類，部份蛺蝶科的雙翅上會有眼紋大小(eyespot)，尤其以蛇目蝶最為明顯。對於眼紋大小有著濃厚興趣的我們，決定進一步了解蝴蝶的眼紋大小。而後我們很意外的察覺到相同蝶類的不同個體之眼紋大小有明顯的不同。我們很好奇是什麼因素造成的呢?透過資料我們得知，除了基因外，環境也是影響眼紋大小發育的重要因素，於是我們決定分別以切翅眉眼蝶(*Mycalesis zonata* Matsumura, 1909)、稻眉眼蝶(*Mycalesis gotama nanda* Fruhstorfer, 1908)和小波紋蛇目蝶(*Ypthima baldus zodina* Fruhstorfer, 1911)為研究對象，試圖找出何種環境因子對眼紋大小發育有明顯的影響，並且瞭解眼紋發育的關鍵時期。

貳、背景介紹

根據生物學界對眼紋大小形成機制的研究，眼紋大小是翅膀樣式完成初期，藉眼紋大小中心 - 焦點細胞(foci cell)分泌的形態素(morphogen)擴散濃度梯度，再由不同梯度決定色素形成，最後便造成一般肉眼可見的環狀眼紋大小(Nijhout, 1996; Nijhout,1980; French,1997; Brakefield *et al.*, 1994)，且蝴蝶的表型(包括眼紋大小)在發育過程中會受到環境因子(如溫度、溼度、光照…等)影響(Nijhout, 1999; Kooi and Brakefield, 1999)，進而使某些蝶類有明顯的冬型及夏型蟲之分。

在本研究中所探討的蝴蝶共有三種，分別是切翅眉眼蝶(*Mycalesis zonata* Matsumura, 1909)、稻眉眼蝶(*Mycalesis gotama nanda* Fruhstorfer, 1908)和小波紋蛇目蝶(*Ypthima baldus zodina* Fruhstorfer, 1911)，選擇此三種蝴蝶中，有二種在演化上為同屬，親緣關係較近，三種蝴蝶的生活環境雖然重疊，但對環境因子有不同的偏好。因此，我們可以比較其眼紋的發育模式是否與其演化適應有關。

(一) 分類地位：

切翅眉眼蝶和稻眉眼蝶同屬，而小波紋蛇目蝶與前兩者不同屬，故可探討不同屬與同屬的差異。

(二) 生長環境：

1. 稻眉眼蝶：

成蝶活動於明亮開闊的林蔭下或是林中開闊的林道周遭，常可見成蟲停棲於林道潮濕路面吸食水分或停於路旁草叢上，主要活動在平地到海拔 1500 公尺以下山區。廣泛分布於台灣全島，日本、韓國、中國大陸、中南半島、及喜馬拉雅地區均有分布。

2. 切翅眉眼蝶：

其生長環境及習性大致與稻眉眼蝶相同，在活動範圍上，較偏好蔭暗處，主要活動在平地到海拔 1500 公尺以下山區。僅分布在台灣全島及中國大陸華南。

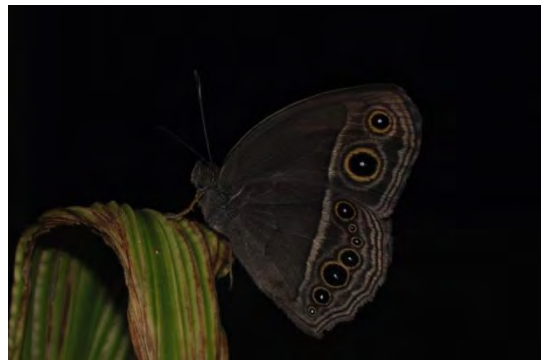
3. 小波紋蛇目蝶：

常見成蟲於路旁兩側草叢上活動。雌蟲喜歡在林蔭下活動，常可見本種成蟲與其他蝶類聚集於腐熟落果或樹液流出處，吸食汁液，活動於台灣全島平地到低山地區，海拔 2000 公尺以下山區均有分布。除台灣外，尚分布於中國大陸、中南半島、緬甸、阿薩姆至喀什米爾的喜馬拉雅地區。

(資料來源：http://turing.csie.ntu.edu.tw/ncnudlm/query_html/query_index.htm)



圖一、切翅眉眼蝶冬型成蟲



圖二、切翅眉眼蝶夏型成蟲

註：冬型蟲指沒有白帶且眼紋較不明顯的個體，夏型蟲指有白帶且眼紋明顯的個體；在此實驗中，僅切翅眉眼蝶有冬夏型之分。

參、研究目的

一、探討環境因子對眼紋大小發育的影響：

- (一) 找出光照與稻眉眼蝶眼紋大小之相關性。
- (二) 找出濕度與切翅眉眼蝶眼紋大小之相關性。
- (三) 找出溫度與稻眉眼蝶、切翅眉眼蝶和小波紋蛇目蝶之眼紋大小的相關性。

二、探討環境因子對翅上白帶發育的影響：

- (一) 找出光照對稻眉眼蝶白帶發育的影響。
- (二) 找出濕度對切翅眉眼蝶白帶發育的影響。
- (三) 找出溫度對切翅眉眼蝶、稻眉眼蝶白帶發育的影響。

三、找出環境因子影響眼紋發育的關鍵齡期。

四、建立環境因子對眼紋大小發育影響之模式。

肆、研究設備及器材

一、樣本收集：

(一) 切翅眉眼蝶(*Mycalesis zonata* Matsumura, 1909)：

自台南崁頭山、高雄石洞、高雄六龜、南投埔里收集數隻切翅眉眼蝶成蝶，並讓其交配產下後代。本實驗係取其第一子代作為樣本。

(二) 稻眉眼蝶(*Mycalesis gotama nanda* Fruhstorfer, 1908)：

自南投埔里收集一隻稻眉眼蝶母蝶。本實驗係取其子代作為樣本。

(三) 小波紋蛇目蝶(*Ypthima baldus zodina* Fruhstorfer, 1911)：

自高雄石洞收集數隻小波紋蛇目蝶成蝶。本實驗係取其子代作為樣本。

二、食草選擇：

我們以禾本科(Poaceae)之大黍(*Panicum maximum* Jacq.)及颱風草(*Setaria palmifolia* Stapf)作為蝴蝶幼蟲的食草。



圖三、禾本科(Poaceae)之大黍(*Panicum maximum* Jacq.)

(本圖摘自：<http://tw.myblog.yahoo.com/kming-blog/article?mid=22405>)

三、設備與材料：

飼養幼蟲之透明盒子(15*7.8*4.5cm 含蓋)

蝴蝶飼養箱

飼養網箱

控溫生長箱(型號：YIH DER LE-509RD；FIRSTEK GC-101H)

保溫燈(促進蝴蝶交配)

含糖飲料和乳酸飲料(成蟲食物)

相機(SONY Cyber-shot DSC-T700)

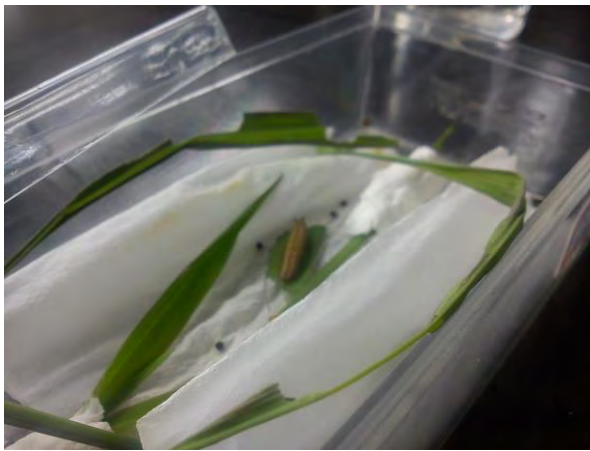
掃描器(HP Scanjet G3110)



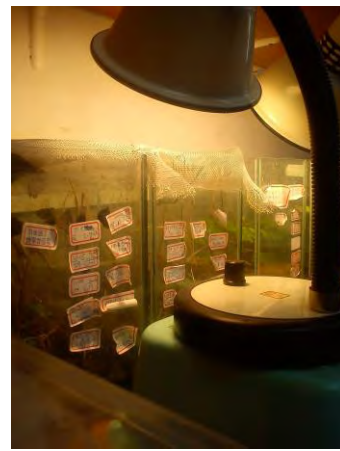
圖四、控溫生長箱
(YIH DER LE-509RD)



圖五、控溫生長箱
(FIRSTEK GC-101H)



圖六、幼蟲生長情形

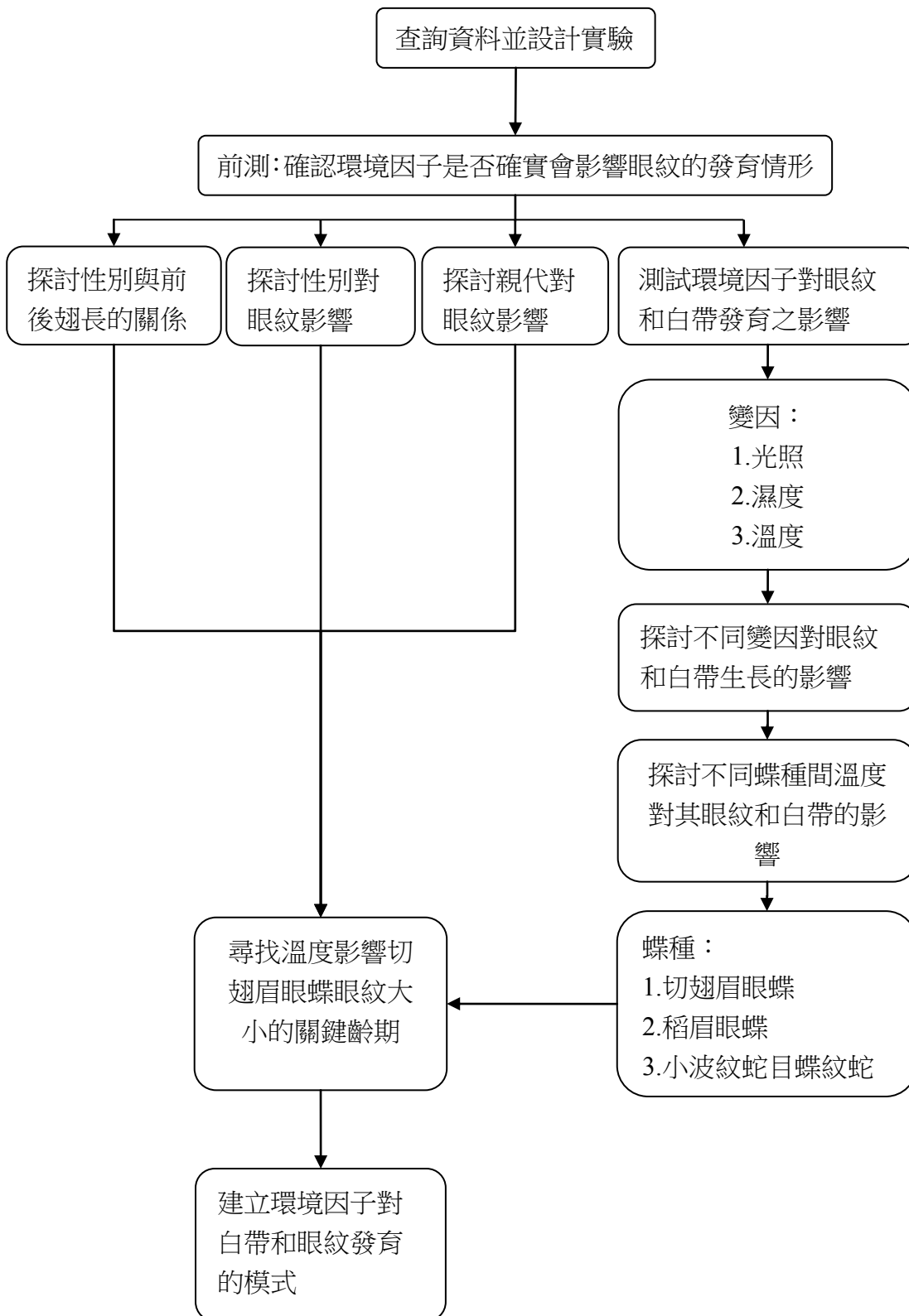


圖七、蝴蝶生長箱與保溫燈

四、軟體：

- (一) Image J(量取蝴蝶眼紋大小)
- (二) Microsoft Office Excel(T-test，迴歸統計分析)

伍、研究過程與方法



圖八、實驗架構圖

一、前測：

為確認溫度(環境因子)是否確實會影響眼紋大小的發育情形，我們將原本飼養於室溫下的切翅眉眼蝶幼蟲分成兩組，一組放入 30°C 的控溫生長箱，另一組則放入 20°C，並觀察記錄其眼紋大小，以瞭解環境因子是否影響眼紋大小的發育。

二、檢測遺傳差異以及性別差異，並且探討是否以眼紋大小與前後翅長的比例作研究用分析之參數：

此實驗中檢測不同親代所產下子代在眼紋發育上是否有差異，並檢測不同性別的成蝶眼紋表現是和有所差異。此外，同時檢測是否以眼紋大小與前後翅長的比例(眼紋大小/前後翅長)作為實驗分析之數據。

(一)比較不同親代所產下之子代，其眼紋大小是否有差異：

- 1.利用 T-test 檢定親代是否會影響其前、後翅長
- 2.利用 T-test 檢定親代是否會影響其眼紋大小與前後翅長的比例

(二)比較性別與眼紋大小是否具有相關性：

- 1.利用 T-test 檢定性別是否會影響其前、後翅長
- 2.利用 T-test 檢定性別是否會影響其眼紋大小與前後翅長的比例

三、測試環境因子對眼紋大小發育的影響：

本實驗之目的意在比較及探討不同環境因子與眼紋大小和白帶發育的相關性，以及找出影響較大環境因子，以便進行接下來的實驗。

(一) 光照與眼紋大小和白帶發育之相關性：

將稻眉眼蝶的卵放置於 25°C，並分為兩組，一組給予遮光處理，另一組給予一天 12 小時光照和 12 小時黑暗，待羽化後分別測量其眼紋大小和白帶。利用 T-test 檢定光照是否對眼紋和白帶發育造成顯著影響。

(二) 溼度與眼紋大小和白帶發育之相關性：

將切翅眉眼蝶的卵分成兩組，在室溫下，一組加蓋作為潮溼組；另一組置於通風良好的網箱中，作為乾燥組。利用 T-test 檢定溼度是否對眼紋和白帶發育造成顯著影響。

(三) 溫度與眼紋大小和白帶發育之相關性：

將稻眉眼蝶的卵分成三組，分別置於 20°C、25°C 和 30°C 生長箱中，待羽化後分別測量其眼紋大小和白帶，並比較各組間眼紋大小和白帶的生長情形，進而探討溫度與眼紋大小和白帶生長的相關性。利用迴歸分析瞭解溫度是否對眼紋和白帶發育有顯著的影響，並探討溫度與眼紋大小和白帶之關係。

四、尋找眼紋大小受影響之關鍵齡期：

(一) 溫度影響最顯著的眼紋大小：

從實驗中找出受溫度影響最顯著的眼紋大小，以分析該眼紋大小進行實驗，尋找出眼紋大小受影響之關鍵齡期。

(二) 關鍵齡期的尋找：

切翅眉眼蝶的幼蟲依其不同的生長階段共分為六個齡期，我們的分組係以一個齡期為一

組，第七組則為蛹期。當每一組幼蟲生長到特定齡期，便將該組由 30°C 的生長箱改置於 25°C。本實驗係要找到溫度影響切翅眉眼蝶眼紋大小發育的關鍵齡期。

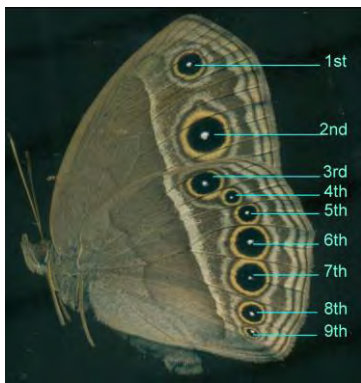
五、比較溫度對三種蛇目蝶類眼紋大小和白帶的影響：

在分析稻眉眼蝶之溫度與光照兩種環境因子後，為確認溫度對不同的蝶種是否會有不同影響，我們在本實驗中加入兩種蝶類，分別是切翅眉眼蝶以及小波紋蛇目蝶，而處理方式則和稻眉眼蝶相同。

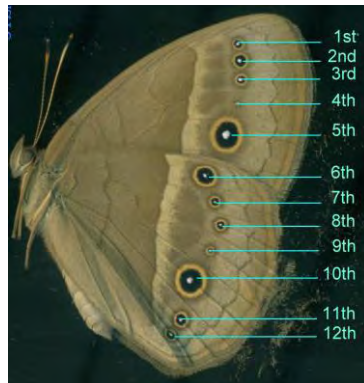
六、測量方法：

本實驗以 Image J 為測量軟體，在掃描蟲隻之前，將其置於低溫減低其活動性，並使用掃描器取得影像。各種量取蝴蝶的示意圖如下：

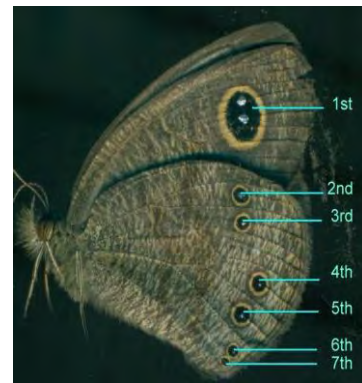
(一) 眼紋序列：



圖九、切翅眉眼蝶



圖十、稻眉眼蝶

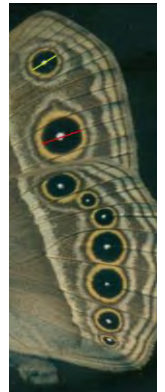


圖十一、小波紋蛇目蝶

(二) 眼紋大小測量：

1. 切翅眉眼蝶、姬蛇目蝶：

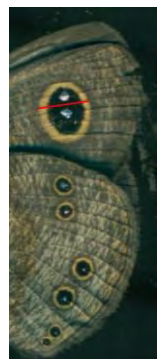
眼紋大小的測量包括二個部分，一是測量眼紋大小黑色的部分，一是測量眼紋大小黃色外圍的部分。1st 黑代表(圖十二)黃線部分(去掉眼紋大小黃色部份的眼紋大小直徑)，2nd 黃代表紅線部分(包括黃色部份眼紋大小直徑)，其他則依此類推。我們以平行翅脈且經中心白點處之長度為眼紋大小直徑。又由於切翅眉眼蝶冬型蟲的眼紋大小過小，故我們只量取各眼紋大小包刮黃色部份的直徑進行分析。



圖十二、切翅眉眼蝶眼紋測量示意圖

2. 小波紋蛇目蝶

小波紋蛇目蝶的 1st 有兩個白點，與切翅眉眼蝶、稻眉眼蝶不同，故我們將其 1st 直徑定為兩白點中央之翅脈長(圖十三紅線部分)。



圖十三、小波紋蛇目蝶眼紋測量示意圖

(三) 前後翅以及白帶測量：

每隻羽化的蝴蝶體型大小測量方式如圖(十四~十六)，黃線部分為前翅長，紅線部分為後翅長。



圖十四、切翅眉眼蝶

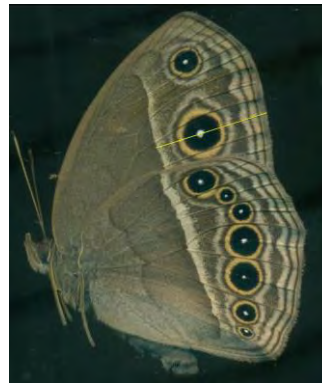


圖十五、稻眉眼蝶

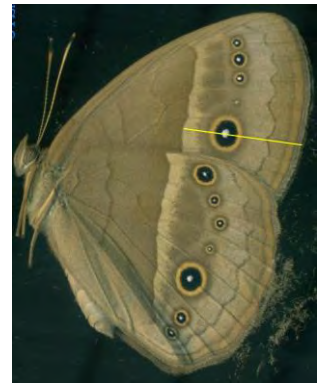


圖十六、小波紋蛇目蝶

白帶的測量分成白帶到翅緣的長度以及白帶寬二項，圖(十七~十八)黃線部分我們訂為白帶到翅緣長度(過切翅眉眼蝶 2nd；稻眉眼蝶 5th 且平行翅脈)，而白帶寬則量取白帶最寬部分。又小波紋蛇目蝶並無白帶，故不予測量之。



圖十七、切翅眉眼蝶



圖十八、稻眉眼蝶

八、統計方法：

(一) T-test—兩個母體平均數差異的檢定

利用 T-test 欲探究兩組變數的平均是否有不同，若檢驗出來的 P 值(雙尾) <0.05 (預設值)，則代表兩組變數的平均數有顯著差異。

(二) 簡單線性迴歸分析

若欲分析的變數只有一個自變數和另一個依變數時，且兩者的關係趨近於比例關係時使用，例如後面的實驗中探討自變數「溫度」對「眼紋比例大小」的關係，便會使用簡單線性迴歸分析。

(三) 複迴歸分析(多元迴歸分析)

同時探索兩個(含)以上自變數對一個依變數的關係，即屬於複迴歸分析或多元迴歸分析。多元迴歸分析中自變數有兩個(含)以上，依變數僅有一個。

以後面的實驗為例，探討多個自變數對一個依變數的關係，便可使用複迴歸分析。利用此方式，同時觀測出一物種個體上的多個眼紋是否環境因子影響，而且共同的發展趨勢。

陸、研究結果

一、前測

為確認環境因子（溫度）是否確實會影響眼紋大小的發育情形，我們將原本飼養於室溫下的切翅眉眼蝶幼蟲分成兩組，一組放入 30°C 的控溫生長箱，另一組則放入 20°C，並觀察記錄其眼紋大小，以瞭解環境因子是否影響眼紋大小發育。我們分析其各眼紋大小與溫度，並 T-test 檢測所得 P 值統整成如下表格(表一)。樣本數請參照附錄。

表一、前測：T-test 檢測溫度對切翅眉眼蝶眼紋大小是否有顯著影響

	1st 黃	2nd 黃	3rd 黃	4th 黃	5th 黃	6th 黃	7th 黃	8th 黃	9th 黃	前翅長	後翅長
P 值	<0.05	0.0001	<0.05	0.0159	0.0017	<0.05	<0.05	<0.05	0.0002	<0.05	<0.05

註 1：為了數據呈現方便，所有的數據皆四捨五入至小數點後四位，之後的表格以此類推。

註 2：上表中「黃」部分，即指測量方法中 1st 黃、2nd 黃.....等等，之後的表格以此類推。

註 3：P 值表示是否會有顯著差異，為了解釋數據方便，我們將具有顯著差異(<0.05)的數值均以綠色底標註之，之後的表格以此類推。

結論：由表(一)我們發現，溫度確實會影響切翅眉眼蝶的眼紋大小，於是我們想要更進一步探討其他環境因子和眼紋發育間是否有關；亦或是環境因子與不同蝶種眼紋大小的關係是否會有異同，所以決定進行接下來的實驗。

二、親代與性別的差異是否造成眼紋大小不同：

為了確認不同性別的個體間、不同親代產下之子代間是否有差異，我們以切翅眉眼蝶為檢測對象，利用 T-test 檢定分別檢測親代與性別的差異是否會影響眼紋大小，樣本數請參照附錄。

(一)T-test 檢定親代差異是否會影響眼紋大小：

表二、T-test 檢測切翅眉眼蝶不同親代是否影響子代之眼紋大小

	母蝶甲 vs 母蝶乙	母蝶乙 vs 母蝶丙	母蝶甲 vs 母蝶丙
25°C 組	0.4252	x	x
第 1 組	x	x	x
第 2 組	0.4553	x	x
第 3 組	0.6192	x	x
第 4 組	0.1113	0.5680	0.2691
第 5 組	x	x	x
第 6 組	0.4376	x	x
第 7 組	0.0006	x	x
30°C 組	x	0.5057	x

註 1：我們所飼育的切翅眉眼蝶來自三隻母蝶(來源地相同)，分別將它標記為母蝶甲、母蝶和母蝶丙，並以 T-test 檢測不同親代產下子代的眼紋是否會有大小上的差異，以了解親代這項變因是否會影響眼斑發育。

註 2：切翅眉眼蝶分為 7 組，每一組對應幼蟲不同的齡期，當幼蟲發育至該時期，便將該組置於 25°C。例如：「第 1 組」係指當卵變成一齡蟲時，從 30°C 的溫度控管箱移至 25°C 的溫度控管箱，其他以此類推。

註 3：x 處表示，其中之一的親代所產生的子代數量零隻或是只有一隻，無法做親代差異的比較。

結論：根據此表我們可以知道，除了第七組的親代對眼紋大小會有顯著性差異之外，其他組的親代對眼紋大小的影響並不大。整體而言，親代差異並不影響眼紋的發育。

(二) T-test 檢定切翅眉眼蝶的性別差異是否會影響其實際眼紋大小：

表三、T-test 檢測性別與眼紋實際大小比較所得 P 值

	1st.黃	2nd.黃	3rd.黃	4th.黃	5th.黃	6th.黃	7th.黃	8th.黃	9th.黃
第 1 組	0.4038	0.2022	0.0998	0.1758	0.2108	0.7717	0.0007	0.3863	0.0151
第 2 組	0.9631	0.1763	0.3926	0.5941	0.2514	0.3295	0.3953	0.3717	0.1207
第 3 組	0.1736	0.5835	0.7200	0.3666	0.436	0.2754	0.0121	0.4032	0.4219
第 4 組	0.145	0.8615	0.3196	0.2415	0.0437	0.2363	0.3563	0.2988	0.0464
第 5 組	0.6841	0.5571	0.0234	0.4895	0.8069	0.1437	0.0224	0.7919	0.9974
第 6 組	0.1395	0.296	0.1689	0.1624	0.0239	0.1259	0.0507	0.2885	0.5138
第 7 組	0.0248	0.0414	0.0082	0.0083	0.0261	0.003	0.0491	0.0793	0.0161
25°C組	0.5084	0.0122	0.0008	0.1883	0.0033	0.002	0.0228	0.0799	0.5378
30°C組	0.2677	0.0021	0.0085	0.0002	0.0116	0.0014	0.0149	0.0048	0.0186

結論：檢測後我們發現，大約有一半的眼紋會因性別的不同而有大小上的差異。所以性別會影響眼紋實際大小，故若我們直接以眼紋實際大小作為實驗數據，就無法排除性別這項變因，所以我們無法直接使用眼紋實際大小作為實驗數據。

(三) T-test 檢定性別差異是否會影響其前、後翅長：

表四、T-test 檢測不同性別前後翅長比較後所得 P 值

	前翅長	後翅長
25°C組	0.1315	0.0511
第 1 組	0.1558	0.0513
第 2 組	0.0025	<0.05
第 3 組	0.0089	0.0007
第 4 組	0.1202	0.0096
第 5 組	0.0170	0.0203
第 6 組	0.0585	0.0309
第 7 組	0.0632	0.0217
30°C組	0.0068	<0.05

結論：除了第 4、6、7 組的性別與前翅長以及 25°C組和第一組的性別與前後翅長無顯著差異之外，其他組的性別均和前、後翅長有顯著的差異，整體而言性別會影響其前、後翅長。而後我們想到，或許眼紋會因為翅膀大小上的差異，而有比例上的不同，故我們進一步探討性別差異是否會影響其眼紋大小的比例(眼紋大小/前後翅長)。

(四)T-test 檢定性別差異是否會影響其眼紋大小/前後翅長：

表五、T-test 檢測不同性別眼紋大小/前後翅長比較後所得 P 值

	25°C組	第 1 組	第 2 組	第 3 組	第 4 組	第 5 組	第 6 組	第 7 組	30°C組
P 值(雙尾)	0.0213	0.1232	0.2132	0.9872	0.6517	0.6569	0.5658	0.0732	0.0838

註：因為若檢測所有的眼紋，數據會太過龐大，又切翅眉眼蝶的 2nd 黃為其最大最明顯的眼紋，故我們取 2nd 黃作為該實驗的測試眼紋。

結論：檢測後我們發現，僅「25°C」這組的眼紋大小/前後翅長數值會因性別不同而有所差異，其餘的組別並無差別，故實驗所分析的數值取其眼紋大小除以前、後翅長會較為準確。

三、測試環境因子對眼紋比例大小發育的影響：

(一) 光照與眼紋比例大小發育之相關性：

將稻眉眼蝶的卵飼育於 25°C 控溫生長箱，並分為兩組，一組給予遮光處理，另一組給予一天 12 小時光照和 12 小時黑暗，待羽化後分別測量其眼紋比例大小，並以 T-test 檢測兩組之間是否有顯著差異。樣本數請參照附錄。

表六、光照對稻眉眼蝶眼紋比例大小的影響(T-test)

	P 值	
	黑	黃
1st	0.8813	0.7237
2nd	0.1778	0.1815
3rd	0.0865	0.0430
4th	0.1700	0.1669
5th	0.0435	0.0669
6th	0.7030	0.3595
7th	0.1469	0.1676
8th	0.2308	0.1517
9th	0.0238	0.1677
10th	0.0336	0.0582
11th	0.9736	0.2644
12th	0.6986	0.2264

結論：根據(表六)我們看到，僅 3rd 黃、5th 黑、9th 黑與 10th 黑的眼紋大小與光照有顯著影響；我們認為光照與稻眉眼蝶的眼紋大小間整體而言並無顯著關係。

(二) 溼度與眼紋大小發育之相關性：

將切翅眉眼蝶的卵分成兩組，在室溫下，一組加蓋作為潮溼組；另一組置於通風良好的網箱中，作為乾燥組。利用 T-test 檢定溼度是否對眼紋發育造成顯著影響。

表七、T-test 檢測不同濕度下切翅眉眼蝶眼紋大小/前後翅長比較所得 P 值

	1st 黃	2nd 黃	3rd 黃	4th 黃	5th 黃	6th 黃	7th 黃	8th 黃	9th 黃
P 值	0.2780	0.7322	0.4290	0.8512	0.7267	0.9176	0.5158	0.6275	0.6030

結論：溼度對切翅眉眼蝶的各眼紋大小發育影響皆不顯著，樣本數請參照附錄。

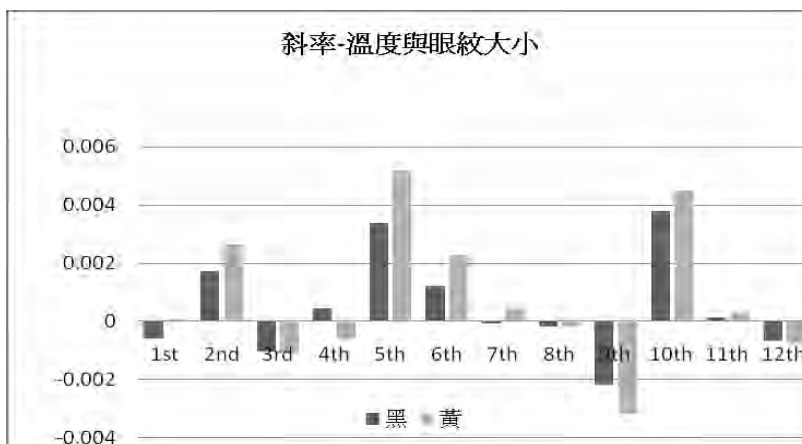
(三) 溫度與眼紋大小發育之相關性：

分別記錄的稻眉眼蝶於 30°C、25°C 和 20°C 下的各種形質，經整理後，進行迴歸分析，探討溫度與眼紋大小發育之相關性。

1. 稻眉眼蝶：

表八、溫度與稻眉眼蝶眼紋大小發育之相關性(迴歸分析)

	斜率		P 值		R ²	
	黑	黃	黑	黃	黑	黃
1st	-0.0006	0.0001	0.2706	0.9316	0.0483	0.0003
2nd	0.0017	0.0027	0.0052	0.0021	0.2732	0.3195
3rd	-0.0010	-0.0011	0.0208	0.0578	0.1958	0.1365
4th	0.0005	-0.0006	0.5313	0.3970	0.0286	0.0517
5th	0.0034	0.0052	0.0087	0.0064	0.2446	0.2620
6th	0.0012	0.0023	0.0976	0.0109	0.1059	0.2322
7th	-0.0001	0.0004	0.8774	0.4636	0.0010	0.0217
8th	-0.0001	-0.0002	0.6973	0.8035	0.0062	0.0025
9th	-0.0022	-0.0032	0.0001	0.0004	0.4652	0.4134
10th	0.0038	0.0045	0.0002	0.0010	0.4343	0.3580
11th	0.0001	0.0003	0.7814	0.5748	0.0031	0.0128
12th	-0.0007	-0.0008	0.1520	0.1270	0.0836	0.0943



結論：

表(八)中 2nd 黑、3rd 黑、5th 黑、9th 黑、10th 黑以及 2nd 黃、5th 黃、6th 黃、9th 黃和 10th 黃的眼紋大小與溫度皆有顯著關係，且由圖(十九)可以看出，其中有呈正相關者也有呈負相關者；溫度只會影響稻眉眼蝶部份眼紋，其結果與文獻中溫度與眼紋大小呈正相關的說法不同。

圖十九、稻眉眼蝶迴歸分析(X：溫度，Y：眼紋大小)斜率圖

2.切翅眉眼蝶：

表九、溫度對切翅眉眼蝶眼紋大小發育之相關性(迴歸分析)

	斜率	R ²	P 值
1st 黃	0.0090	0.7345	<0.05
2nd 黃	0.0177	0.7341	<0.05
3rd 黃	0.0140	0.7161	<0.05
4th 黃	0.0034	0.4089	<0.05
5th 黃	0.0040	0.4015	<0.05
6th 黃	0.0139	0.6905	<0.05
7th 黃	0.0161	0.7816	<0.05
8th 黃	0.0124	0.7363	<0.05
9th 黃	0.0055	0.7399	<0.05

註.因冬型蟲的眼紋沒有黑色的部份，故進行迴歸分析只分析眼紋的黃色部份。

結論：經測量後我們發現，切翅眉眼蝶的眼紋大小與溫度皆有顯著關係，其眼紋大小皆與溫度呈正相關，亦符合我們所看到的文獻資料；溫度對各眼紋大小的影響程度並不相同，從數據中我們可以看到，溫度對切翅眉眼蝶 2nd 黃的影響最為顯著，所以我們取其進行關鍵齡期實驗。

3.小波紋蛇目蝶：

表十、溫度對小波紋蛇目蝶眼紋大小發育之相關性(迴歸分析)

小波紋	斜率		P 值		R ²	
	黑	黃	黑	黃	黑	黃
1st	0.099	0.1495	0.098	0.0360	0.0668	0.1051
2nd	0.0095	-0.0042	<0.05	<0.05	0.4083	0.5893
3rd	-0.0209	-0.0326	<0.05	<0.05	0.6249	0.7230
4th	-0.0289	-0.0298	<0.05	<0.05	0.7082	0.7244
5th	-0.0604	-0.0301	<0.05	<0.05	0.8416	0.8035
6th	0.0111	0.0315	<0.05	<0.05	0.7018	0.7090
7th	0.0205	0.0289	0.0102	0.0020	0.1612	0.2250

註：當 P 值計算數值小於 0.0001 時，我們便以「<0.05」表示之，之後的表格之 P 值計算數值若有相同情況便以此類推。

結論：表(十)中除了 1st 黑之外，溫度與眼紋大小皆有顯著關係，且其眼紋大小皆與溫度成正相關，又除了 1st 外，其餘的數值皆有一定的解釋能力，故我們從此表推測，小波紋蛇目蝶的 2nd、3rd、4th、5th、6th、7th 眼紋大小與溫度皆有顯著關係，溫度越高，眼紋大小越大，但溫度對不同位置的眼紋大小影響程度不盡相同；為何僅 1st 與溫度沒有顯著關係呢？前面提到，小波紋蛇目蝶的 1st 眼紋大小較為特殊，故其受溫度影響模式亦有可能與其它眼紋大小不同，值得我們更深入探討。

總結論：

在溫度與眼紋大小發育之相關性的實驗中，我們可以比較溫度與三種蝶類的相關性，發現：溫度只會對稻眉眼蝶部份眼紋造成影響；溫度會對切翅眉眼蝶的所有眼紋造成影響；除了 1st 黑之外，溫度對小波紋蛇目蝶其餘的眼紋皆會造成影響。也就是說，溫度對切翅眉眼蝶眼紋比例大小的影響最大。

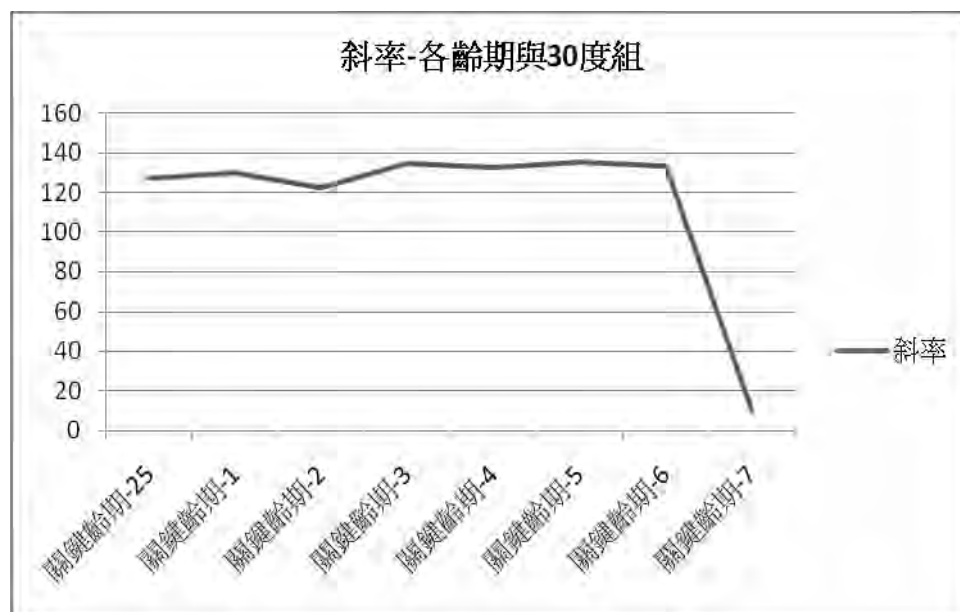
四、關鍵齡期之探討：

(一) 溫度影響最顯著的眼紋大小：

從探討溫度與眼紋大小發育之相關性的實驗中我們可以得知，溫度對切翅眉眼蝶眼紋的影響最為顯著，且溫度影響切翅眉眼蝶最顯著的眼紋為 2nd 黃，所以在關鍵齡期的數據分析中，我們便取切翅眉眼蝶的 2nd 黃作為其眼紋分析的對象。

(二) 關鍵齡期的尋找：

我們將切翅眉眼蝶的卵分為 7 組，以一個齡期為一組，第一到六組為幼蟲期，第七組則為蛹期，每一組對應幼蟲不同的生長時期，自其被產下後即置於 30°C，當幼蟲生長至其所在組別對應的時期，便改置於 25°C；本實驗係要找到溫度影響切翅眉眼蝶眼紋大小發育的關鍵齡期，待幼蟲發育至成蟲時，整理數據，並以 X 軸代表組別，Y 軸代表眼紋大小，進行迴歸分析，結果呈現如圖(二十三)。樣本數請參照附錄。



圖二十三、各齡期與 30 度 C 組比較所得斜率

結論：根據此圖，除了「關鍵齡期-7」之外，其他組與 30°C 組的斜率皆介於 120~140 之間，直到「關鍵齡期-6」至「關鍵齡期-7」的時候，斜率的大小驟減，代表說從卵開始放在 30°C，至六齡時移至 25°C 的這組與 30°C 組的差異甚大；而從卵開始放在 30°C，至蛹期時移至 25°C 的這一組數值卻十分接近 30°C 組。於是我們可以推論，六齡是溫度影響眼紋大小最關鍵的齡期。

五、探討環境因子對白帶發育的影響：

本實驗探討環境因子對白帶發育的影響，其中白帶發育是探討兩項因素：白帶到翅緣長/前後翅長以及白帶寬/前後翅長。分析過程及結果如下所示。

(一) 找出光照對稻眉眼蝶白帶發育的影響：

將稻眉眼蝶的卵放置於 25°C，並分為兩組，一組給予遮光處理，另一組給予一天 12 小時光照和 12 小時黑暗，待羽化後分別測量其白帶到翅緣長，以及其白帶寬。利用 T-test 檢定光照是否對白帶發育造成顯著影響。

表十一、光照對稻眉眼蝶白帶發育影響(T-test)

	P 值
白帶到翅緣長/前後翅長	0.1638
白帶寬/前後翅長	0.3239

結論：在做了光照對稻眉眼蝶白帶發育影響的分析之後，我們發現其 P 值皆>0.05，代表光照與白帶發育之間並無太大關聯。

(二) 找出濕度對切翅眉眼蝶白帶發育的影響：

將切翅眉眼蝶的卵分成兩組，在室溫下，一組加蓋作為潮溼組；另一組置於通風良好的網箱中，作為乾燥組，待羽化後分別測量其白帶到翅緣長/前後翅長，以及其白帶寬/前後翅長。利用 T-test 檢定溼度是否對白帶發育/前後翅長造成顯著影響。

白帶寬/前後翅長的部份由於冬型蟲沒有白帶，故無法測量冬型蟲的白帶寬度，也無法使用 T-test 檢測之。於是我們將此實驗各組的夏型蟲與冬型蟲的數量整理並呈現其比例於表(十二)。

表十二、濕度對切翅眉眼蝶各組的夏型蟲與冬型蟲比例

	夏型蟲：冬型蟲
潮溼組	2：3
乾燥組	1：1

註：冬型蟲指沒有白帶且眼紋較不明顯的個體，夏型蟲指有白帶且眼紋明顯的個體；在此實驗中，僅切翅眉眼蝶有冬夏型之分。

結論：由表中可知，不論潮溼組或乾燥組皆同時擁有冬型蟲與夏型蟲，其中乾燥組的夏型蟲與冬型蟲比例為 2：3，而潮溼組的夏型蟲與冬型蟲比例為 1：1。故可推知，乾燥環境會使夏型蟲所佔的比例較大，也意味著白帶的數量較多；潮溼的環境會使夏型蟲所佔的比例較小，也就意味著白帶數量較少，潮溼環境可能會抑制白帶的發育。

另外，在做了濕度對切翅眉眼蝶白帶到翅緣長的分析之後，我們發現白帶到翅緣長/前後翅長 P 值>0.05，代表溼度對白帶發育並無顯著影響。

(三)找出溫度對切翅眉眼蝶、稻眉眼蝶白帶發育的影響：

將稻眉眼蝶的卵以及切翅眉眼蝶的卵各分成三組，分別置於 20°C、25°C 和 30°C 生長箱中，待羽化後分別測量其白帶到翅緣長/前後翅長，以及其白帶寬/前後翅長，並探討溫度與白帶生長的影響。由於小波紋蛇目蝶並無白帶，故無法探討。又只有 30°C 組的切翅眉眼蝶具有白帶寬度，20°C 組及 25°C 組的切翅眉眼蝶皆無白帶寬度，故無法以迴歸分析檢測溫度對白帶寬度的影響；但白帶到翅緣長係 20°C、25°C 和 30°C 皆有，故我們進行分析，呈現如下。

1. 切翅眉眼蝶

分析所得結果：

溫度對白帶到翅緣長/前後翅長的影響(迴歸分析)：所得 P 值為 0.0056

註 1：冬型蟲指沒有白帶且眼紋較不明顯的個體，夏型蟲指有白帶且眼紋明顯的個體；在此實驗中，僅切翅眉眼蝶有冬夏型之分。

結論：溫度對切翅眉眼蝶的分析中，白帶到翅緣長/前後翅長的 P 值 <0.05 ，說明白帶到翅緣長/前後翅長與溫度有顯著影響，所以我們進而用迴歸分析，得出 R^2 值為 0.2289，斜率為 0.0029，可說明溫度越高，白帶到翅緣長/前後翅長越長。再者，我們培育出來的蝴蝶中，只有 30°C 組的切翅眉眼蝶具有白帶寬度，20°C 組及 25°C 組的切翅眉眼蝶皆無白帶寬度，可說明低溫會抑制白帶的發育。

2. 稻眉眼蝶

表十四、迴歸分析溫度對稻眉眼蝶白帶發育影響之 P 值

	P 值
白帶寬	0.3051
白帶到翅緣長	0.3259

結論：在做了溫度對稻眉眼蝶白帶發育影響的分析之後，我們發現無論是白帶到翅緣長/前後翅長或白帶寬/前後翅長，因其 P 值皆 >0.05 ，皆與溫度無顯著影響，但是眼紋卻非如此，可推測溫度影響眼紋及溫度影響白帶發育可能存在不同的模式。

六、眼紋大小與溫度關係模式之建立

藉由前面溫度與眼紋大小的相關性實驗所得之數據，我們從中挑出切翅眉眼蝶眼紋大小隨溫度變化最明顯者，再找出稻眉眼蝶與之對應的眼紋大小，最後小波紋蛇目蝶的部分，因為和上述兩者不同屬，所以無法找出相對應的眼紋大小是哪一個，便挑出眼紋大小隨溫度變化最顯著者，並進行分析，樣本數請參照附錄。

表十六、迴歸分析(X:溫度 Y:眼紋比例大小)相關資料整理表

斜率	切翅眉眼蝶		稻眉眼蝶		小波紋蛇目蝶	
前翅第一明顯	2nd 黃	0.0177	5th 黃	0.0052	1st 黃	0.0015
後翅前二明顯	6th 黃	0.0138	9th 黃	-0.0032	4th 黃	0.0067
後翅前二明顯	7th 黃	0.0161	10th 黃	0.0045	5th 黃	0.0066
P 值	切翅眉眼蝶		稻眉眼蝶		小波紋蛇目蝶	
前翅第一明顯	2nd 黃	<0.05	5th 黃	0.0064	1st 黃	0.0426
後翅前二明顯	6th 黃	<0.05	9th 黃	0.0004	4th 黃	<0.05
後翅前二明顯	7th 黃	<0.05	10th 黃	0.0010	5th 黃	<0.05
R ²	切翅眉眼蝶		稻眉眼蝶		小波紋蛇目蝶	
前翅第一明顯	2nd 黃	0.7341	5th 黃	0.2620	1st 黃	0.1343
後翅前二明顯	6th 黃	0.6905	9th 黃	0.4134	4th 黃	0.7816
後翅前二明顯	7th 黃	0.7816	10th 黃	0.3580	5th 黃	0.8637

做了那麼多的分析，我們有沒有可能把上述的眼紋大小統合在一起，量化它，找出一個眼紋大小方程式？只要知道其溫度，再輸入想要得知的眼紋大小(ex.1st、2nd、3rd)，便可以得知其眼紋大小比例的大小。

為了簡化，我們僅探討前翅上最明顯的 1 個眼紋、後翅上最明顯的 2 個眼紋，來瞭解眼紋與溫度之間的關係。

(一) 切翅眉眼蝶

表十七、切翅眉眼蝶迴歸方程式相關資料

R 平方	調整的 R 平方	顯著值
0.7473	0.7332	<0.05

公式：

$$E = -0.3619 + 0.0177 * T + 0.1042 * Eb1 + 0.0755 * Eb2 - 0.0039 * T * Eb1 - 0.0017 * T * Eb2$$

註 1：Ef (eyespot forewing)：前翅眼紋大小變化最明顯者的大小

Eb1(eyespot backwing 1)：後翅眼紋大小變化第一明顯者的大小

Eb2(eyespot backwing 2)：後翅眼紋大小變化第二明顯者的大小

T：溫度(°C)

註 2：

Variable 1	}	baseline group(參考組) - Ef
		dummy variable(虛擬變數) - backwing eyespots
		- Eb1
		- Eb2
Variable 2	}	temperature (T)

假如今天我想要知道切翅眉眼蝶在 30°C 時，E_f 的眼紋比例大小，則將 T 帶入 30，E_{b1} 和 E_{b2} 皆代入 0

$$E(\text{此指 } E_f) = -0.3619 + 0.0177 * 30 + 0.1042 * 0 + 0.0755 * 0 - 0.0039 * 30 * 0 - 0.0017 * 30 * 0 \\ = 0.1691$$

若是想知道 30°C 下切翅眉眼蝶 E_{b1} 的眼紋比例大小，則將 E_{b1} 代入 1，E_{b2} 帶入 0，即可求得：

$$E = -0.3619 + 0.0177 * 30 + 0.1042 * 1 + 0.0755 * 0 - 0.0039 * 30 * 1 - 0.0017 * 30 * 0 \\ = 0.1563$$

(二) 稻眉眼蝶

表十八、稻眉眼蝶迴歸方程式相關資料

R 平方	調整的 R 平方	顯著值
0.8890	0.8824	<0.05

公式：

$$E = -0.0314 + 0.0066 * T + 0.1546 * E_{b1} + 0.0799 * E_{b2} - 0.0098 * T * E_{b1} - 0.0009 * T * E_{b2}$$

(三) 小波紋蛇目蝶

表十九、小波紋蛇目蝶迴歸方程式相關資料

R 平方	調整的 R 平方	顯著值
0.8618	0.8538	<0.05

公式：

$$E = 0.1425 + 0.0015 * T - 0.1861 * E_{b1} - 0.1813 * E_{b2} + 0.0052 * T * E_{b1} + 0.0052 * T * E_{b2}$$

結論：由這三個方程式中，可以看到 T 這項變因的係數由大至小排列分別為：切翅眉眼蝶、稻眉眼蝶、小波紋蛇目蝶，係數越大者，代表溫度對其眼紋影響較大，也就是溫度每提升一度，其眼紋隨之而變大或變小較明顯。再者是 E_f、E_{b1}、E_{b2} 的大小，切翅眉眼蝶和稻眉眼蝶皆呈現 E_{b2} > E_f > E_{b1}；小波紋蛇目蝶，則是 E_f > E_{b2} > E_{b1}。

(四) 探討物種間的差異性

在得到三個物種分別的眼紋大小關係式之後，我們又知道切翅眉眼蝶和稻眉眼蝶同屬於眉眼蝶屬，那麼這兩種物種是否會擁有共同的眼紋大小關係式？縱然在分析所得的斜率圖看來，切翅眉眼蝶與稻眉眼蝶看似大不相同，但稻眉眼蝶所做出來的分析相關係數不高，代表此分析不甚準確，所以切翅眉眼蝶和稻眉眼蝶是有可能擁有相關眼紋大小關係式的，為了找出答案，我們消除「物種」變數後，使用 Partial F test 檢測消除物種變因前後所得的兩方程式是否能有相似的解釋能力。

先將三個物種視為不同變數，求出其迴歸方程式，稱之為「總迴歸方程式」：

表二十、總迴歸方程式相關資料

R 平方	調整的 R 平方	顯著值
0.6005	0.5871	<0.05

公式：

$$E=0.0147*T-0.0416*Eb1-0.0694*Eb2+0.3352*S2+0.3150*S3-0.0002*T*Eb1+0.0032*T*Eb2-0.0123*T*S2-0.0107*T*S3$$

註：

Variable 1	}	baseline group(參考組) -Ef
		dummy variable(虛擬變數) -backwing eyespots
		- Eb1
		- Eb2
Variable 2	}	temperature (T)
Variable 3	}	baseline group(參考組) -切翅眉眼蝶
		dummy variable(虛擬變數)-species
		- species 2：稻眉眼蝶(S2)
		- species 3：小波紋蛇目蝶(S3)

在求得此方程式後，我們想瞭解三種蝶目蝶的眼紋是否有相同的發育模式，因此我們試著將「物種」此一參數由模式移除，簡化模式。

1.切翅眉眼蝶+稻眉眼蝶+小波紋蛇目蝶

表二十七、總迴歸方程式(考慮物種變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表二十八、合併上述三種蝴蝶-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	5	0.4443	0.0889	35.1736	<0.05
殘差	272	0.6872	0.0025		
總和	277	1.1315			

$$F=\{[SSR(full)-SSR(reduced)]/k\}/MS(full)$$

$$=\{[0.6795-0.4443]/4\}/0.0017=34.8585 \text{ 與 } F(0.05),4,268=2.41 \text{ 作比較，得知 } F > F(0.05),4,268$$

結論：若把切翅眉眼蝶、稻眉眼蝶及小波紋蛇目蝶的眼紋大小方程式合併之後，此關係式與合併前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，三者間沒有相似的解釋能力。

我們再將其他種的蝴蝶兩兩配對，試著想要找出溫度對眼紋比例大小發育模式相近的兩物種。

2. 切翅眉眼蝶+稻眉眼蝶

表二十一、總迴歸方程式(考慮物種變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表二十二、合併切翅眉眼蝶與稻眉眼蝶-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.5684	0.0812	38.9327	<0.05
殘差	270	0.5631	0.0021		
總和	277	1.1315			

Partial F test

$$F = \{[SSR(\text{full}) - SSR(\text{reduced})] / k\} / MS(\text{full})$$

$$= \{[0.6795 - 0.5684] / 2\} / 0.0017 = 32.9357 \text{ 與 } F(0.05), 2, 268 = 3.03 \text{ 作比較}$$

得知 $F > F(0.05), 2, 268$

結論：故可推知，若把切翅眉眼蝶和稻眉眼蝶的眼紋大小方程式合併之後，此關係式與合併前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

3. 切翅眉眼蝶+小波紋蛇目蝶

表二十三、總迴歸方程式(考慮物種變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表二十四、合併切翅眉眼蝶與小波紋蛇目蝶-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.4637	0.0662	26.7819	<0.05
殘差	270	0.6678	0.0025		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(\text{full}) - SSR(\text{reduced})] / k\} / MS(\text{full})$$

$$= \{[0.6795 - 0.4637] / 2\} / 0.0017 = 63.9733 \text{ 與 } F(0.05), 2, 268 = 3.03 \text{ 作比較，得知 } F > F(0.05), 2, 268$$

結論：故可推知，若把切翅眉眼蝶和小波紋蛇目蝶的眼紋大小方程式合併之後，此關係式與合併前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

4. 稻眉眼蝶+小波紋蛇目蝶

表二十五、總迴歸方程式(考慮物種變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表二十六、合併稻眉眼蝶與小波紋蛇目蝶-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.6650	0.0950	54.9867	<0.05
殘差	270	0.4665	0.0017		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(\text{full}) - SSR(\text{reduced})] / k\} / MS(\text{full})$$

$$= \{[0.6795 - 0.6650] / 2\} / 0.0017 = 4.2906$$

與 $F(0.05), 2, 268 = 3.03$ 作比較，得知 $F > F(0.05), 2, 268$

結論：故可推知，若把稻眉眼蝶和小波紋目蝶的眼紋大小方程式合併之後，此關係式與合併前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

總結論：縱使我們選了三種同科的蝴蝶，其中甚至有兩隻同屬，他們倆倆之間，並沒有一個總方程式足以解釋三項物種溫度影響眼紋發育的模式。

(五) 探討眼紋間的差異性

繼找尋物種間差異性後，我們觀察方程式中的 E_f 、 E_{b1} 、 E_{b2} 變數，並思索：會不會在溫度對眼紋比例大小影響模式中，某兩個、甚至三個眼紋會有同樣的影響模式？若是後翅兩個眼紋 E_{b1} 、 E_{b2} 有著相似的溫度影響眼紋比例大小發育模式，而後翅兩者又與前翅的 E_f 不同，或許可以推測溫度影響眼紋比例大小模式中，前翅和後翅兩者是不一樣的，於是，我們繼續如下的分析：

先將三個眼紋視為不同的變異數，得出完整的方程式：

表二十九、總迴歸方程式相關資料

R 平方	調整的 R 平方	顯著值
0.6005	0.5871	<0.05

公式：

$$E = -0.2609 + 0.0147 * T - 0.0416 * Eb1 - 0.0694 * Eb2 + 0.3352 * S2 + 0.3150 * S3 - 0.0002 * T * E2 + 0.0032 * T * Eb1 + -0.0123 * T * S2 - 0.007 * T * S3$$

1. Ef+Eb1+Eb2

表三十六、總迴歸方程式(考慮眼紋變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表三十七、合併 Ef、Eb1、Eb2-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	5	0.5024	0.1005	43.4493	<0.05
殘差	272	0.6291	0.0023		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(full) - SSR(reduced)]/k\} / MS(full)$$

$$= \{[0.6795 - 0.5024]/4\} / 0.0017 = 26.2437$$

與 $F(0.05), 4, 268 = 2.41$ 作比較，得知 $F > F(0.05), 4, 268$

結論：故可推知，若把方程式中 Eb1 及 Eb2 變數消除後(也就是看 Ef、Eb1 及 Eb2 是否有相同的溫度影響眼紋比例大小模式)，此關係式與變數消除前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

2. Ef+Eb1

表三十、總迴歸方程式(考慮眼紋變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表三十一、合併 Ef 與 Eb1-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.5832	0.0833	41.0309	<0.05
殘差	270	0.5483	0.0020		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(full) - SSR(reduced)]/k\} / MS(full)$$

$$= \{[0.6795 - 0.5832]/2\} / 0.0017 = 28.5355$$

與 $F(0.05), 2, 268 = 3.03$ 作比較，得知 $F > F(0.05), 2, 268$

結論：故可推知，若把方程式中 Eb1 變數消除後(也就是看 Ef 和 Eb1 是否有相同的溫度影響眼紋比例大小模式)，此關係式與變數消除前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

3. Ef+Eb2

表三十二、總迴歸方程式(考慮眼紋變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表三十三、合併 Ef 與 Eb2-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.6662	0.0952	55.2368	<0.05
殘差	270	0.4652	0.0017		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(\text{full}) - SSR(\text{reduced})] / k\} / MS(\text{full})$$

$$= \{[0.6795 - 0.6662] / 2\} / 0.0017 = 3.9219$$

與 $F(0.05), 2, 268 = 3.03$ 作比較，得知 $F > F(0.05), 2, 268$

結論：故可推知，若把方程式中 Eb2 變數消除後(也就是看 Ef 和 Eb2 是否有相同的溫度影響眼紋比例大小模式)，此關係式與變數消除前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

4. Eb1+Eb2

表三十四、總迴歸方程式(考慮眼紋變因)相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	9	0.6795	0.0755	44.7633	<0.05
殘差	268	0.4520	0.0017		
總和	277	1.1315			

表三十五、合併 Eb1 與 Eb2-迴歸方程式相關資料

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	7	0.5229	0.0747	33.1381	<0.05
殘差	270	0.6086	0.0023		
總和	277	1.1315			

$$F = \{[SSR(\text{full}) - SSR(\text{reduced})] / k\} / MS(\text{full})$$

$$= \{[0.6795 - 0.5229] / 2\} / 0.0017 = 46.4252$$

與 $F(0.05), 2, 268 = 3.03$ 作比較，得知 $F > F(0.05), 2, 268$

結論：故可推知，若把方程式中 Eb1 和 Eb2 變數消除後(也就是看 Eb1 和 Eb2 是否有相同的溫度影響眼紋比例大小模式)，此關係式與變數消除前的方程式比較，在解釋溫度與眼紋發育上，兩者間沒有相似的解釋能力。

總結論：由以上分析我們可以知道，溫度對眼紋比例大小發育影響的模式中，同在後翅的兩個眼紋 Eb1 和 Eb2 並沒有相似，與我們的猜測相悖，且三個眼紋 Ef、Eb1 與 Eb2 之中兩兩皆無相似性，可推測溫度影響眼紋比例大小的發育模式，應該是對各眼紋獨立影響，而非以前後翅做區別。

柒、討論

一、溼度與光照實驗：

濕度與光照兩個環境因子對眼紋大小的影響並不顯著，這結果與我們所得的文獻並不相符，我們猜想應是我們所做的實驗濕度差異不夠大，造成變化不顯著；可能因為我們是在後段的齡期放入；亦或是在濕度這個變因中，存在著另一個「濕度關鍵齡期」；亦有可能是此兩變因確實與眼紋比例大小無顯著關係，值得我們進一步設計實驗以釐清之。

二、溫度與小波紋蛇目蝶眼紋大小的相關性：

溫度與小波紋蛇目蝶的關係除了第一眼紋比例大小外，其餘與溫度皆有顯著關係。為什麼會如此呢？因為小波紋蛇目蝶第一眼紋大小具有兩個小白點，與其他兩物種的第一眼紋比例大小均不同，故溫度影響第一眼紋比例大小的確有可能與其他眼紋比例大小不同，且小波紋蛇目蝶與其他兩物種皆不同屬，可能物種的不同會影響眼紋比例大小；切翅眉眼蝶跟小波紋蛇目蝶除卻第一眼紋的所有眼紋比例大小都與溫度有顯著關係，並且皆呈現正相關，與文獻相符。

三、關鍵齡期實驗：

從前面的實驗數據中，我們得知溫度的影響最為顯著，故我們取其作為關鍵齡期實驗的變因；在我們查得的文獻中有兩種說法，一種推測關鍵齡期應是在幼蟲前期，另一種則推測在幼蟲後期，為什麼會有這兩種南轅北轍的說法呢？百思不得其解的我們益發的想找出溫度影響眼紋發育的關鍵齡期，最後實驗結果關鍵齡期落在六齡，推翻了前者的說法並與後者的說法相符。亦就是說，若我們在寒冷的冬天的時候看到一隻眼紋大小很大的切翅眉眼蝶飛過眼前，我們可以推測其六齡最晚應該落在夏秋之際，溫度尚暖之時。

四、探討物種間的差異性：

(一)在演化上：

分析後所得結果為三種蝴蝶皆不具有相似的溫度影響眼紋比例發育模式，觀察此三種蝴蝶，三者皆同科，其中兩者甚至同屬，但相近的親緣關係仍擁有不同的溫度影響模式。以切翅單環蝶和稻眉眼蝶為例，會不會在生物演化上，這兩種蝴蝶分支的一項重要原因便是溫度影響其眼紋的模式？如果答案為是，便可解釋本實驗的結果，甚至可推知此項原因可能是影響蝴蝶演化的因子中，最接近現代的。

(二)在棲地類型及生活習性上：

三蝶種的棲地、分布地有很大重疊，但習性卻略有不同，可能是因為三者習性上的差異，長久演化造成眼紋發育模式的不同。

(三)翅與眼紋：

溫度影響眼紋比例大小發育的模式並不會因前翅或後翅而有所差異，而應該是獨立的對各眼紋各有影響，這可以說明了為什麼眼紋不是前翅全部比後翅大；或者反之後翅全部比前翅大，也解釋了同一翅上各式各樣的眼紋比例大小。

捌、結論

一、探討環境因子對眼紋大小發育的影響：

- (一)光照與稻眉眼蝶眼紋大小相關性並不高。
- (二)濕度與切翅眉眼蝶眼紋大小相關性極低。
- (三)溫度與稻眉眼蝶、切翅眉眼蝶和小波紋蛇目蝶之眼紋大小的相關性：
 - 1.溫度與稻眉眼蝶眼紋大小關係部分呈正相關，部分呈負相關。
 - 2.溫度與切翅眉眼蝶眼紋大小關係呈正相關。
 - 3.溫度與小波紋蛇目蝶眼紋大小發育呈正相關。

二、探討環境因子對白帶發育的影響：

- (一) 光照對稻眉眼蝶白帶發育並無顯著關係。
- (二) 潮濕環境可能會抑制白帶的發育。
- (三) 找出溫度對白帶發育的影響：
 - 1.切翅眉眼蝶：低溫會抑制白帶的發育。
 - 2.稻眉眼蝶：白帶到翅緣長以及白帶寬皆與溫度無顯著關係。

三、溫度影響切翅眉眼蝶眼紋大小發育的關鍵齡期為第六齡期。

四、溫度對眼紋大小發育影響之模式：

(一) 切翅眉眼蝶：

$$E=-0.3619+0.0177*T+0.1042*Eb1+0.0755*Eb2-0.0039*T*Eb1-0.0017*T*Eb2$$

(二) 稻眉眼蝶：

$$E=-0.0314+0.0066*T+0.1546*Eb1+0.0799*Eb2-0.0098*T*Eb1-0.0009*T*Eb2$$

(三) 小波紋蛇目蝶：

$$E=0.1425+0.0015*T-0.1861*Eb1-0.1813*Eb2+0.0052*T*Eb1+0.0052*T*Eb2$$

(四) 總迴歸方程式：

$$E=0.0147*T-0.0416*Eb1-0.0694*Eb2+0.3352*S2+0.3150*S3-0.0002*T*Eb1+0.0032*T*Eb2-0.0123*T*S2-0.0107*T*S3$$

註 1 :

Variable 1	{	baseline group(參考組) -Ef
		dummy variable(虛擬變數) -backwing eyespots
		- Eb1
		- Eb2
Variable 2	{	temperature (T)

註 2 :

Variable 1	{	baseline group(參考組) -Ef
		dummy variable(虛擬變數) -backwing eyespots
		- Eb1
		- Eb2
Variable 2	{	temperature (T)
Variable 3	{	baseline group(參考組) -切翅眉眼蝶
		dummy variable(虛擬變數)-species
		- species 2 : 稻眉眼蝶(S2)
		- species 3 : 小波紋蛇目蝶(S3)

玖、未來展望

一、關鍵齡期：

(一)在關鍵齡期的實驗中，我們僅以切翅眉眼蝶此一物種進行研究與分析，最後得出來的結果雖為六齡，但我們想更進一步知道是否所有蛇目蝶其溫度影響眼紋大小的關鍵齡期皆落在六齡，亦或是不盡相同。..

(二)藉由實驗，我們得知溫度這項變因，在影響眼斑發育時會有一個影響特別明顯的關鍵齡期；或許可以再更進一步設計實驗，了解其他環境因子，例如：濕度、光照、甚至食草.....等是否也會存在其關鍵齡期，可進一步設計實驗探討之。

二、環境因子影響眼紋：

由於本研究中光週期的實驗室用一般日照(白光)，那麼若是使用不同頻率的光波呢?會不會像植物光合作用一樣，不同頻率的光對眼紋的發育也有不同的影響，若是有，將可為眼紋發育提出更多的說法。

三、母蝶影響眼紋：

而在我們的實驗中，親代的不同對眼紋大小比例大小的影響，並沒有顯著差異。由於我們的切翅眉眼蝶母蝶是從高雄石洞和台南崁頭山所捕獲的，有沒有可能因為這兩處地緣關係較近，所以母蝶的差異不大，換句話說，如果我們取的是北部的蝴蝶呢？取的是別的國家的切翅眉眼蝶呢？或許拿距離較遠的地區的母蝶作比較，就能見到母蝶對眼紋大小比例大小的顯著影響了。

四、建立溫度影響眼紋發育之模式：

另外，本實驗在探討不同眼紋發育模式時，只選取其中三個眼紋進行檢驗；能否檢驗更多的眼紋，以及克服不同科之間，眼紋跟眼紋之間沒有對應到的問題，值得更進一步探討。

五、分子層級的探討：

本研究並得出結論之後，更有趣的便是眼紋變化中，小至分子層級的改變了，若是能知道環境因子影響眼紋發育、白代發育的模式中，分子層級的改變，例如色素的改變，眼紋如何形成，環境影響眼紋的機制，其過程為何。此方向的研究，可一窺繽紛絢麗的眼紋世界。

拾、參考資料

- Brakefield PM, Reitsma N (1991).** Phenotypic plasticity, seasonal climate and the population biology of *Bicyclus* butterflies (Satyridae) in Malawi.
- Brakefield PM. (1979).** Spot number in *Maniola jurtina*-Variation between generations and selection in marginal populations.
- Dr. Peter Fauth (2010).** Sensitive Period of Temperature-Induced Color Variation in Monarch Larvae (*Danaus plexippus*). This thesis is submitted in partial satisfaction of the requirements for the degree of Bachelor of Arts or Bachelor of Sciences from the Department of Biology, Hartwick College. Journal of Biology Research XI 2010.
- French V, Brakefield PM (1995).** Eyespot development on butterfly wings : the facial signal.
- Joji M Otaki (2012).** Structural analysis of eyespots: dynamics of morphogenic signals that govern elemental positions in butterfly wings. *BMC Systems Biology* 2012, 6:17
- Koch PB, Brakefield PM, Kesbeke F. (1996)** Ecdysteroids control eyespot size and wing color pattern in the polyphonic butterfly *Bicyclus anynana* (Lepidoptera: Satyridae)
- Kooi RE, Brakefield PM (1999)** The critical period for wing pattern induction in the polyphonic tropical butterfly *Bicyclus anynana* (Satyridae)
- Martin Olofsson mail, Adrian Vallin, Sven Jakobsson, Christer Wiklund (2010). Marginal Eyespots on Butterfly Wings Deflect Bird Attacks Under Low Light Intensities with UV Wavelengths
- PAUL M. BRAKEFIELD and NICO REITSMA (1991).** Phenotypic plasticity, seasonal climate and the population biology of *Bicyclus* butterflies (Satyridae) in Malawi. *Ecological Entomology* (1991) 16, 291-303
- Paul M. Brakefield, Julie Gates, Dave Keys, Fanja Kesbeke, Pieter J. Wijnngaarden, Antonia Monteiro, Vernon French & Sean B. Carroll (1996).**
Development, plasticity and evolution of butterfly eyespot patterns. Institute of Evolutionary and Ecological Sciences, University of Leiden, Kaiserstraat 63, Postbus 9516, 2300 RA Leiden, The Netherlands. NATURE VOL 384 21
- White G. Zijlstra, Bas J. Zwaan & Paul M. Brakefield (2001).** Bad cold for a butterfly?
PROC EXPER. APPL ENTOMOL, NEV AMSTERDAM – VOLUME 12 - 2011
- Wijnngaarden PJ, Brakefield PM (2000).** The genetic basis of eyespot size in the butterfly *Bicyclus anynana* : an analysis of line crosses.
- 關宏軒 (2003).** 從型態與生理證據重新探究密紋波眼蝶複合群的分類問題。
- 梁文敏, 葉懿諄** 第十五單元、線性迴歸(四)—複回歸分析
- 徐堉峰 (2004)** 近郊蝴蝶 新北市：聯經出版事業股份有限公司。
- 徐堉峰 (2002)** 台灣蝶圖鑑 第二卷 南投縣：國立鳳凰谷鳥園。
- 蝴蝶生態面面觀** http://turing.csie.ntu.edu.tw/ncnudlm/query_html/query_index.htm

拾壹、附錄

一、切翅單環蝶不同親代所產子代樣本數

	甲	乙	丙	總和
第 1 組	6	6	0	12
第 2 組	14	0	0	14
第 3 組	9	8	0	17
第 4 組	12	4	0	16
第 5 組	7	6	4	17
第 6 組	6	1	0	7
第 7 組	0	8	5	13
25 度組	5	2	0	7
30 度組	0	2	9	11
總和	59	37	18	114

二、切翅單環蝶不同性別樣本數

	公	母	總和
第 1 組	5	9	14
第 2 組	9	8	17
第 3 組	7	9	16
第 4 組	7	10	17
第 5 組	3	4	7
第 6 組	5	6	11
第 7 組	2	5	7
25 度組	5	7	12
30 度組	6	5	11
總和	49	63	112

三、切翅單環蝶溼度實驗樣本數

濕	8
乾	10
總和	18

四、姬蛇目蝶樣本數表

	正常光照	黑暗	總和
20 度 C	7	0	7
25 度 C	15	3	18
30 度 C	5	1	6
總和	27	4	31

五、小波紋蛇目蝶樣本數表

20 度 C	27
25 度 C	5
30 度 C	10
總和	42

【評語】 040703

研究環境因子對蛇目蝶眼紋大小的生長模式，依溫度、濕度及光照的條件進行探討，發現溫度高低與眼紋大小成正相關。在型態發育上有觀察結果，但對何種溫度會影響、眼紋大小對其生活及生存等功能的說明是後續探討很重要的方向。