

中華民國第 59 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 動物與醫學科

探究精神獎

052011

難以「孑」擇 - 淡水渦蟲對食物記憶與捕食行為

學校名稱：新北市私立竹林高級中學

| | |
|---------------|--------------|
| 作者： 高一 陳澤葳 | 指導老師： 顏嘉怡 |
|---------------|--------------|

關鍵詞：淡水渦蟲、記憶行為、捕食行為

摘要

淡水渦蟲會捕食蚊幼蟲，有助病媒蚊防治。為了探討大量繁殖飼養時，長期餵食渦蟲固定食物是否會記憶，導致後續生物防治成效不佳，因此進行渦蟲對食物記憶與捕食行為試驗。根據群體與個體渦蟲對食物記憶行為結果，長期餵食紅蟲的渦蟲皆偏好選擇蝦肉，推測渦蟲對食物無記憶或具偏好行為。群體捕食行為試驗，當孑孓數量越少，渦蟲捕食前爬行速率越快；孑孓數量越多，渦蟲搶食隻數越少，第一隻渦蟲獲得相對能量收支越多；發現渦蟲捕食孑孓時，視覺訊號大於化學訊號刺激。觀察渦蟲捕食策略，分為主動捕食型、機會主義型I和II，且以機會主義型I為主。綜合評估，渦蟲對食物無記憶，有利於未來野外投放。未來持續探討利用渦蟲防治媒蚊疾病的應用。

壹、 研究動機

台灣常見蚊蟲傳染病有登革熱和日本腦炎等，這些疾病主要由斑蚊和家蚊傳播。王與郭於 2016 年提到淡水渦蟲會捕食蚊幼蟲，在病媒蚊的防治上具有高度潛能；而在 2016 新北創客活動中，我們與民眾討論時提到飼養孔雀魚時，幼魚餵食豐年蝦，長大後餵食一般觀賞魚飼料，明顯一般魚飼料對孔雀魚沒有吸引力，表示孔雀魚對某段時間吃過的食物具有記憶，成長後會根據幼年期的記憶做選擇。那渦蟲對食物是否也有記憶行為？

過去研究學習行為與記憶行為實驗多以條件反射方式進行訓練，如觀察蜘蛛是否具學習行為：以 LED 燈為條件刺激、電擊為非條件刺激，檢視蜘蛛是否會在訓練後五秒內做出條件反射 (賴, 1997)；而在研究渦蟲的記憶行為實驗中，則多以電擊刺激方式改變渦蟲對於暗處、負電區域、N 極、方向和石頭的偏好 (唐等, 2005; 黃, 2015; Abbott & Wong, 1994; Dirk, 2012)，和研究渦蟲斷裂生長狀況 (Chan & Marchant)；亦有文獻使用 Y 行迷宮給予電擊訓練蝸牛記憶方向 (林等, 2007) 或以 T 型迷宮進行工具制約實驗，分別給予渦蟲正增強物 (豬肝) 和負增強物 (光線) 來訓練渦蟲的記憶與學習行為 (鍾, 2004)，文獻多數研究使用 Y 型或 T 型迷宮進行正負強化訓練，確認渦蟲是否具有記憶與學習行為。

渦蟲是具有集束狀神經的無脊椎動物，在電擊時會產生痛覺，因此本實驗為利用長期餵食食物來訓練渦蟲記憶 (無使用電擊進行實驗)，本實驗進行食物記憶選擇共給渦蟲 3 種食物 (蝦肉、紅蟲和孑孓) 選擇，並利用十字迷宮和食物餵食器來進行渦蟲個體記憶行為實

驗 (表 1)。

我們想試驗渦蟲對長期餵食固定的食物是否具記憶行為，以了解長期以非孑孓之食物餵養渦蟲，是否會影響其未來投放至野外進行生物防治時，降低捕食孑孓的意願，因此我們設計了食物記憶行為實驗。

在學習飼養渦蟲期間，我們觀察將孑孓投入水中時，會有一隻渦蟲先行捕食，其他渦蟲會陸續加入搶食，過去研究 (彭等，2016) 指出渦蟲在群體攝食蛋黃屬分工行為，但我們發現蛋黃投入水中會游離，且渦蟲在捕食孑孓時更像搶食，因此本實驗也嘗試初步分析渦蟲捕食孑孓的行為。

表 1 記憶行為研究

| 物種 | 淡水渦蟲 (<i>Girardia tigrina</i>) | 淡水渦蟲 (<i>Dugesia japonica</i>) | 蜘蛛 | 蝸牛 |
|------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|-----------|
| 記憶內容 | 食物 (紅蟲、蝦肉) | 方向、正負極、光線和溫度 | 色光 | 方向 |
| 實驗方法 | 1.食物餵食器 2.十字迷宮 | 1. 電擊 2. T型迷宮 (正負增強物) | 電擊 | Y行迷宮 (電擊) |
| 參考資料 | 本研究 | (唐等，2005；黃，2015) | (賴，1997) | (林等，2007) |

貳、 研究目的

- 一、確認渦蟲對食物是否具有記憶行為。
- 二、經由動物行為學研究了解渦蟲捕食孑孓的策略。

參、 研究設備及材料

一、實驗動物 (表 2)

(一) 淡水三角渦蟲 (*Girardia tigrina*)

1. 來源：台灣台北市民權東路水族館。
2. 淡水三角渦蟲外觀成扁平葉狀，體長 5-30 mm，身寬 1-5 mm，顏色大部分為棕色。因頭部形狀呈三角形，故名淡水三角渦蟲。頭部三角形向外凸出的部位為耳突，有觸覺及視覺等感官受器，受器可以用來偵測水中的震動和獵物的位置及氣味，黑點部分為其眼點，由色素細胞與感光的神經元組成，具有感應光線的功能。

其咽自體腹面中央伸出，含消化液能注入獵物中進行消化（圖 1）。

3. 將渦蟲飼養於玻璃盒（圖 2），每日餵食紅蟲與蝦肉（大小約 0.6 cm）與換水。
4. 以下實驗均稱為渦蟲。

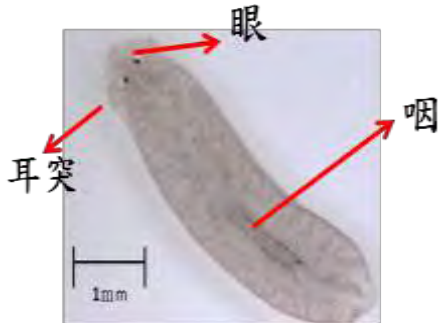


圖 1 淡水三角渦蟲



圖 2 飼養渦蟲的玻璃盒

(二) 白線斑蚊 (*Aedes albopictus*) 幼蟲

1. 來源: 國立台灣大學環境衛生研究所蟲媒傳染病實驗室提供。
2. 將子孓卵片放入恆溫箱中, 待其孵化後加入酵母菌飼養。
3. 成長期分為四期, 卵-幼蟲 (圖 3)-蛹-成蟲, 幼蟲又俗稱子孓。
4. 以下實驗均稱為子孓。



圖 3 白線斑蚊幼蟲

二、實驗設備及器材

| 名稱 | 備註 |
|--------------------------|------------------------|
| CCD 顯微數位攝影系統 JK-CCD41 | 購自瑞光儀器 |
| 電子秤、量筒、碼表 | |
| 燒杯 | 容量：50、250、600、1000 mL |
| 培養皿 (塑膠) | 購自 ExtraGene |
| 方形培養皿 (塑膠) | 購自瑞光儀器 13×13 cm |
| 曝氣水 | 靜置 1 天後之自來水 |
| 單刃刀片 | 購自 Ever-Ready |
| 恆溫箱 | 購自 CHANNEL |
| 玻璃盒 | HEAT RESISTANT (900mL) |
| 電腦 | 品牌 Asus |
| 手機 (錄影用) | 品牌 Apple |
| 方格紙 | 格子大小：1×1 mm |

| | |
|------------|-------------------------|
| 點滴瓶 | 100 mL |
| 玻璃瓶 | 購自 KIMBL |
| 微量吸管 (Tip) | NICHIRYO 0.1-10 μ L |
| 微量分注器 | NICHIRYO 2-20 μ L |
| L 型角鐵 | 五金行 |
| 冷凍白蝦肉 | 市集購買 |
| 冷凍紅蟲塊 | |

肆、研究過程或方法

一、實驗架構圖 (圖 4)

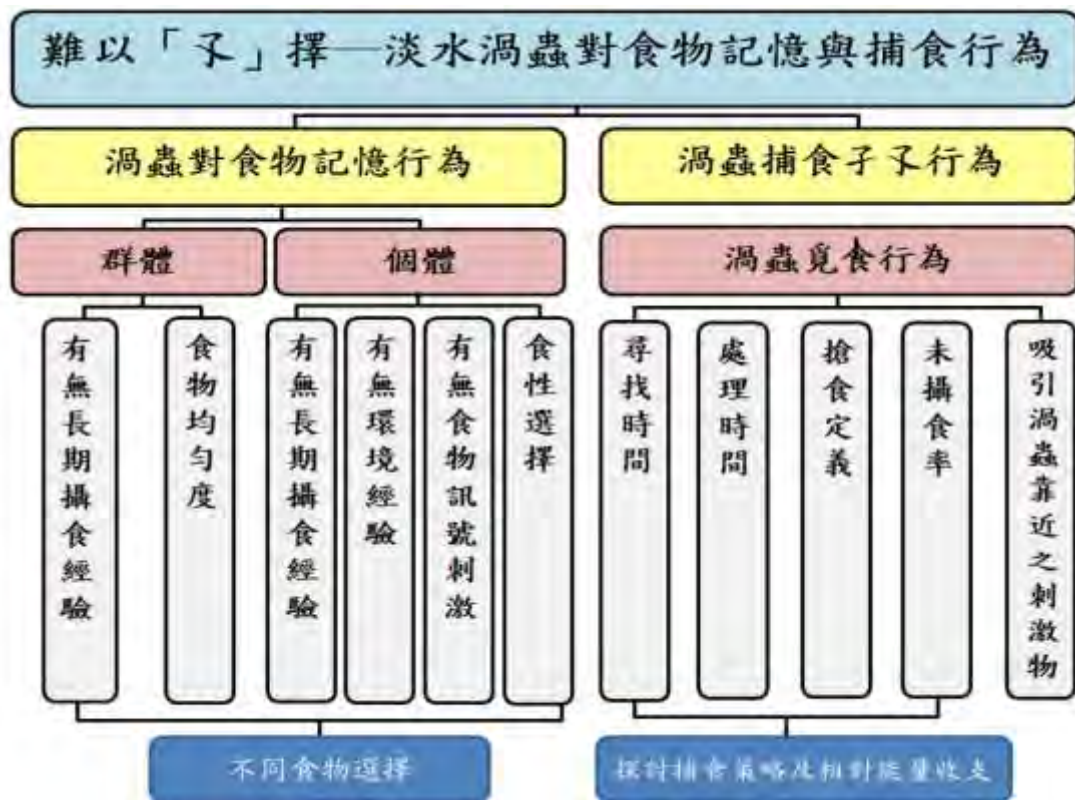


圖 4 實驗架構圖

二、渦蟲行為定義與試驗組別

長期餵食渦蟲組：100 隻渦蟲每天餵食紅蟲或蝦肉 1 次，約餵食 50 天以上。

未訓練渦蟲組：100 隻渦蟲未經長期餵食固定食物（輪流餵食紅蟲、蝦肉及子子）。

有環境經驗：在未放置食物的實驗裝置中適應 3 分鐘。

食物訊號刺激：渦蟲超過終點線後碰到食物。

食性選擇：渦蟲伸出咽攝食食物。

實驗動物生命齡期選擇：渦蟲生命週期約為 5 個月，所以本實驗訓練渦蟲 2-3 個月後進行食物記憶行為實驗。

三、實驗步驟

(一) 渦蟲對食物記憶行為實驗—群體

【實驗一】長期攝食經驗的渦蟲群體對食物是否具有記憶行為

目的：探討長期餵食單一食物是否會影響渦蟲於多樣食物環境中的選擇。

1. 實驗組：100 隻渦蟲每天餵食紅蟲 / 蝦肉 1 次，約餵食 50 天以上。

(1) 於玻璃盒角落分別放置含蝦肉 (組織塊)、紅蟲 (冷凍個體)、孑孓 (活體)或無食物之食物餵食器 (圖 5)。

(2) 分別將長期餵食紅蟲 / 蝦肉的渦蟲放入玻璃盒內，於恆溫箱 (24°C) 中進行 4 小時實驗。

(3) 4 小時後，將食物餵食器置於培養皿上，計數渦蟲數目。

(4) 實驗均進行 3 重複。

(5) 使用卡方檢定統計數據，將結果製成表格。

2. 對照組：100 隻渦蟲輪流餵食蝦肉、紅蟲和孑孓。

其餘同實驗組步驟。



圖 5 食物餵食器的擺放位置

【實驗二】食物均勻度是否影響渦蟲群體選擇 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

目的：為了避免食物大小影響渦蟲的選擇，將食物進行定量。

磨碎食物方式：冰箱中冷凍蝦肉、紅蟲和孑孓，將食物做成直徑 0.6 cm 圓餅狀 (圖 6)。

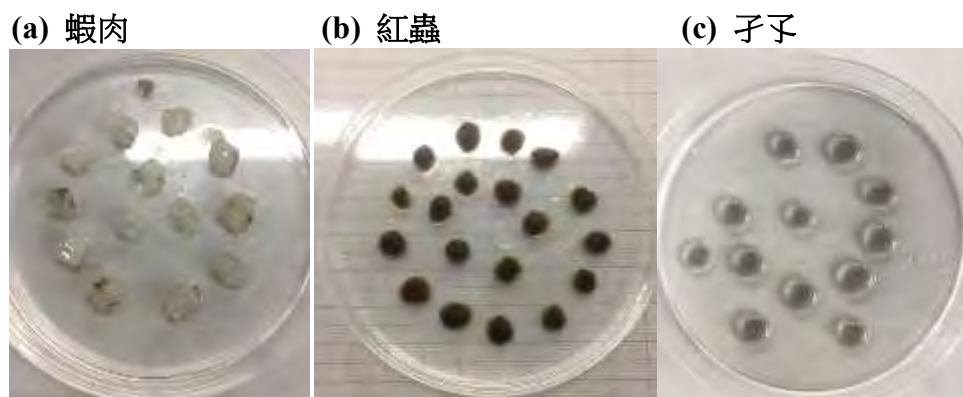


圖 6 磨碎後的食物

1. 實驗組：食物經磨碎處理。

- (1) 於玻璃盒角落分別放置磨碎之蝦肉、紅蟲、孑孓或無食物之食物餵食器。
- (2) 將渦蟲放入玻璃盒內，於恆溫箱 (24°C) 中進行 4 小時實驗。
- (3) 4 小時後，將食物餵食器置於培養皿上，計數渦蟲數目。
- (4) 實驗均進行 3 重複。
- (5) 使用卡方檢定統計數據，將結果製成表格。

2. 對照組：食物未經磨碎處理。

其餘同實驗組步驟。

(二) 渦蟲對食物記憶行為實驗—個體

為了避免渦蟲個體的食物選擇受群體影響，將渦蟲個體進行記憶行為實驗。

【實驗三】長期攝食經驗的渦蟲個體對食物是否具有記憶行為 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

目的：探討長期餵食紅蟲是否會影響渦蟲於多樣食物環境中的選擇。

1. 實驗組：20 隻渦蟲每天餵食紅蟲 1 次，約餵食 50 天以上。

- (1) 於培養皿放置 L 型角鐵，製成十字迷宮，分別放入食物，食物距離終點線 2 公分，起點 (十字迷宮中心) 則距離終點線 4 公分 (圖 7)。
- (2) 將 1 隻長期餵食紅蟲的渦蟲放入培養皿中起點。
- (3) 待渦蟲到終點線後，取出渦蟲，記錄渦蟲選擇之食物。

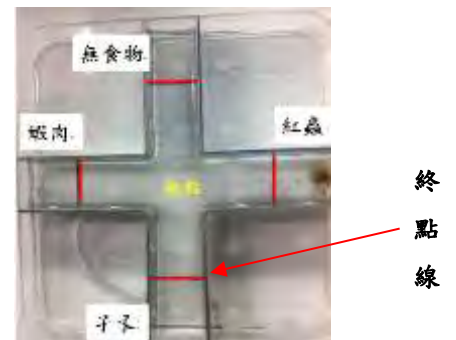


圖 7 十字迷宮裝置

- (4) 若 3 分鐘後渦蟲未進行選擇，則不進行計數。
- (5) 每隻渦蟲均進行 4 重複。
- (6) 使用卡方檢定統計數據，將結果製成表格。

2. 對照組：20 隻渦蟲未經過長期餵食紅蟲。

其餘同實驗組步驟。

【實驗四】有無環境經驗是否影響渦蟲食物選擇 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

目的：為了避免渦蟲未適應實驗環境而隨意爬行或停止不動。

1. 實驗組：20 隻有環境經驗之渦蟲。

- (1) 將 1 隻渦蟲放於培養皿中起點 (圖 7)，爬行 3 分鐘後即取出 (培養皿中不含食物，僅含 L 型角鐵)。
- (2) 於培養皿中放置食物 (圖 7)。
- (3) 將適應後的渦蟲放回培養皿中起點。
- (4) 實驗步驟同【實驗三】中實驗組 (3) - (6)。
- (5) 每隻渦蟲均進行 4 重複。

2. 對照組：20 隻無環境經驗之渦蟲。

其餘同實驗組步驟。

【實驗五】有無食物刺激是否會影響渦蟲選擇 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

目的：為了避免渦蟲因隨意爬行而到達終點線。

1. 實驗組：20 隻碰到食物之渦蟲。

- (1) 於培養皿放置 L 型角鐵，製成十字迷宮，分別放入食物，食物距離終點線 2 公分，起點則距離終點線 4 公分 (圖 7)。
- (2) 將 1 隻長期餵食紅蟲的渦蟲放入培養皿中起點。
- (3) 待渦蟲碰到食物後，取出渦蟲，計數渦蟲選擇之食物。
- (4) 若 3 分鐘後渦蟲未進行選擇，不進行計數。
- (5) 每隻渦蟲均進行 4 重複。
- (6) 使用卡方檢定統計數據，將結果製成表格。

2. 對照組：20 隻抵達終點線之渦蟲。

- (1) 其餘同實驗組步驟。
- (2) 步驟 (3) 中待渦蟲到達終點線後即取出。

【實驗六】食性選擇 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

目的：為了避免渦蟲碰觸食物並未要攝食此項食物。

1. 實驗組：20 隻攝食到食物之渦蟲。

- (1) 於培養皿放置 L 型角鐵，製成十字迷宮，分別放入食物，食物距離終點線 2 公分，起點則距離終點線 4 公分 (圖 7)。
- (2) 將 1 隻長期餵食紅蟲的渦蟲放入培養皿中起點。
- (3) 渦蟲將咽伸出攝食後，進行記錄，待渦蟲攝食完畢再移除。
- (4) 若 30 分鐘後渦蟲未進行選擇，不進行計數。
- (5) 每隻渦蟲均進行 4 重複。
- (6) 使用卡方檢定統計數據，將結果製成表格。

(三) 渦蟲捕食孑孓行為

【實驗七】5 隻渦蟲捕食 1 / 2 / 5 隻孑孓之行為

覓食行為定義：部分參考陳，1999

1. 相對尋找時間 (s) (searching time)：實驗開始，至第一隻渦蟲捕食孑孓 (碰到孑孓) 的時間換為相對指數 (表 2)。
2. 相對處理時間 (s) (handing time)：第一隻渦蟲捕食到孑孓，至孑孓不再左右擺動 (掙扎) 的時間換為相對指數 (表 2)。
3. 尋找速率 (cm/s) (search speed)：渦蟲尋找獵物時，單位時間內所移動的距離，除了第一隻渦蟲，其餘渦蟲速率分為第一隻渦蟲捕食到孑孓前、後的爬行速率 (若有搶食的渦蟲只記錄其攝食到孑孓前的爬行速率)。
4. 未攝食率 (%)：第一隻渦蟲捕食到孑孓後，其餘渦蟲未加入搶食，視為覓食放棄。未攝食率的計數為放棄的渦蟲隻數占實驗總隻數的渦蟲 (不含第一隻渦蟲) 百分比。
5. 搶食定義：第一隻渦蟲捕食到孑孓後，其餘渦蟲若在捕食位置待超過 2 分鐘，將其定

義為搶食，再將搶食的渦蟲隻數換為相對指數 (表 3)。

6. 搶食率 (%)：加入搶食的渦蟲隻數占實驗總隻數的渦蟲 (不含第一隻渦蟲) 百分比。

7. 相對能量收支：第一隻渦蟲覓食獲得相對能量所得扣除覓食花費相對指數 (尋找行為、處理行為的相對花費及相對搶食的渦蟲隻數)。

*第一隻渦蟲皆為捕食到子子的渦蟲

表 2 尋找時間及處理時間換算成相對指數

| 相對指數 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------|-------|---------|---------|----------|-----------|
| 尋找時間 (sec) | 1-300 | 301-600 | 601-900 | 901-1200 | 1201-1500 |
| 處理時間 (sec) | 1-300 | 301-600 | 601-900 | 901-1200 | 1201-1500 |

表 3 每組渦蟲搶食隻數換算成相對指數

| 相對指數 | 1.25 | 2.50 | 3.75 | 5 |
|----------|------|------|------|---|
| 每組渦蟲搶食隻數 | 1 | 2 | 3 | 4 |

目的：為了瞭解渦蟲群體捕食子子時的行為。

1. 實驗組：5 隻渦蟲捕食 1 / 2 / 5 隻子子。

(1) 將 10 mL 的曝氣水、5 隻渦蟲及 1 / 2 / 5 隻子子投入 5.5 cm 培養皿中 (圖 8)。

(2) 以錄影機錄影 1 小時。

(3) 以 Tracker (Open Source Physics) 分析渦蟲捕食子子路徑。

(4) 每個實驗均進行 5 重複。

2. 對照組：5 隻渦蟲。

同實驗組步驟。



圖 8 捕食行為實驗裝置

【實驗八】渦蟲捕食子子策略

目的：為了解群體渦蟲在捕食子子時的捕食策略。

捕食策略定義—

主動捕食型：直接靠近子子後攻擊 / 將黏液纏繞子子再吸食。

機會主義型 I：待孢子被渦蟲爬行殘留在壁上的黏液纏繞住後，再進行捕食。

機會主義型 II：渦蟲隨機捕食自行靠近的孢子個體。

1. 實驗組：群體渦蟲捕食群體孢子

- (1) 實驗裝置如圖 9、10，將 10 mL 曝氣水、群體渦蟲和群體孢子投入 5.5 cm 培養皿中。
- (2) 以 CCD 進行錄影，紀錄渦蟲在捕食到孢子個體時的捕食方式。
- (3) 統計在不同比例渦蟲捕食孢子實驗，出現三種捕食策略之百分比

【實驗九】推測渦蟲加入搶食原因 (表 4)

目的：為了瞭解當第一隻渦蟲捕食到孢子後，吸引其餘渦蟲靠近搶食之訊號刺激物。

1. 實驗組：20 隻渦蟲進行蒸餾水 / 渦蟲爬行黏液 / 渦蟲捕食黏液 / 孢子體液 / 孢子凍死個體選擇

- (1) 實驗裝置如圖 9-10，將 20 μL 蒸餾水滴在玻片中央 (渦蟲位置)。
- (2) 將蒸餾水 / 渦蟲爬行黏液 / 渦蟲捕食黏液 / 孢子體液其中兩項 (表 5)，各取 20 μL 滴於 A、B 區，待 10 分鐘黏液沾黏在玻片上。
- (3) 將 1 隻渦蟲放置在中央蒸餾水中。
- (4) 利用牙籤尾端將兩旁溶液同時通至中央 (渦蟲位置)。
- (5) 若 30 分鐘渦蟲未移動至任何一端溶液，不進行計數。
- (6) 每隻渦蟲均進行 3 重複 (每次實驗皆有將刺激物位置更換)。

2. 對照組：20 隻渦蟲進行蒸餾水選擇

- (1) 同實驗組步驟。
- (2) 步驟 (2) 兩側皆滴蒸餾水。

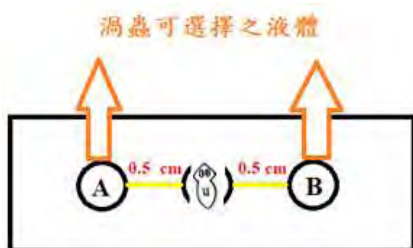


圖 9 裝置示意圖

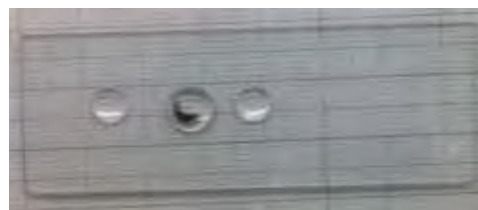


圖 10 實驗裝置

表 4 實驗組別及操作方法

| 實驗組別 (渦蟲可選擇之訊號刺激物) | |
|--------------------|----------------|
| 蒸餾水與蒸餾水 (對照組) | 蒸餾水與渦蟲爬行黏液 * |
| 蒸餾水與渦蟲捕食黏液 * | 渦蟲爬行黏液與渦蟲捕食黏液* |
| 孑孓體液與渦蟲爬行黏液 * | 孑孓體液與渦蟲捕食黏液 * |
| 蒸餾水與孑孓體液 | 孑孓體液與孑孓體液 |
| 蒸餾水與孑孓凍死個體 | |

*實驗使用黏液接為水溶性黏液

表 5 渦蟲爬行與捕食黏液及孑孓汁液食驗樣本處理方法

| 樣本名稱 | 樣本處理方式 |
|--------|--------------------------------------------------------------|
| 渦蟲爬行黏液 | 25 隻渦蟲爬行於 0.5 mL ddH ₂ O 玻璃罐中 24 小時後，移除渦蟲 |
| 渦蟲捕食黏液 | 25 隻渦蟲捕食 4 隻孑孓於 0.5 mL ddH ₂ O 玻璃罐中，捕食完畢後，移除渦蟲與孑孓 |
| 孑孓體液 | 將孑孓冷凍，再將其取出磨碎 |
| 孑孓冷凍個體 | 將孑孓冷凍，實驗時再將其刺洞使氣味可飄出 |

(四) 統計方式

1. 以 T 檢驗 (t-test) 與單因子變異數分析 (One-way ANOVA) ，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。
2. 利用卡方檢定 (Pearson Chi-Square) 之適合度考驗 (Test of Goodness-of-Fit)：渦蟲在個體記憶行為實驗中是否為隨機選擇，檢定水準為 $\alpha = 0.05$ 。

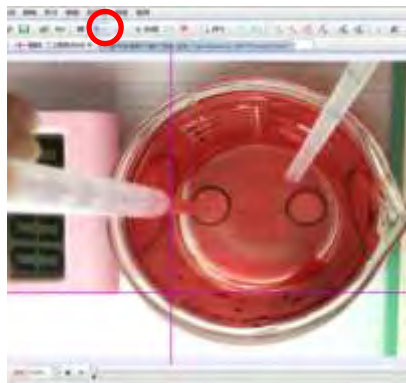
(五) 渦蟲捕食孑孓路徑分析方式

1. 以 Tracker (Open Source Physics) 分析渦蟲捕食孑孓路徑，再進行座標分析。

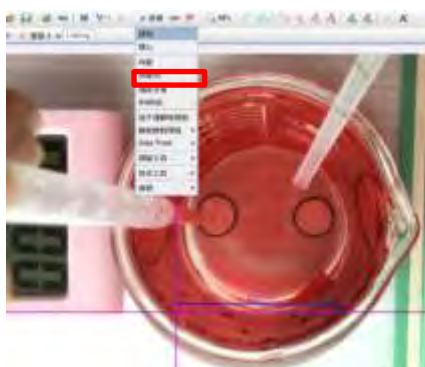
(a) 選取上方的顯示座標軸



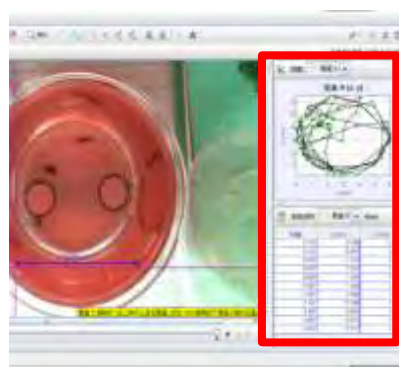
(b) 拉出量尺輸入實際長度



(c) 新增質點後，開始追蹤渦蟲路徑



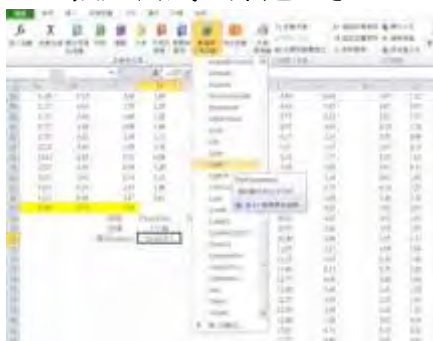
(d) 繪出渦蟲路徑並取用下方座標資料



2. 以 Excel 分析渦蟲爬行速率

$$\text{渦蟲爬行平均速率} = \frac{\text{渦蟲捕食孑孓前總路徑長}}{\text{渦蟲捕食孑孓前總時間}}$$

(e) 將渦蟲路徑座標點複製至 Excel
插入公式，點選 SQRT



(f) 輸入公式(SUMSQ((X2-X1),(Y2-Y1)))
加總所有距離並除上影片總時長

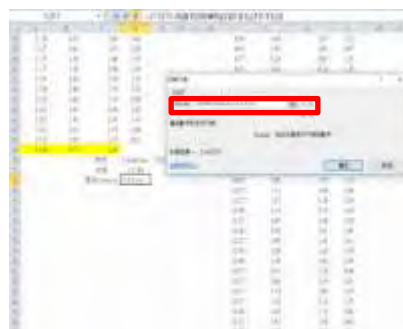
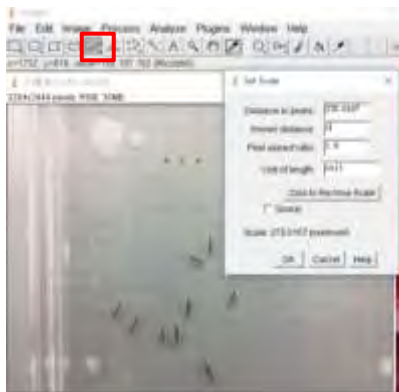


圖 11 以 Tracker 及 Excel 分析渦蟲捕食孑孓的爬行速率之操作步驟
操作步驟為 a ~ f

(六) 渦蟲面積計算方式

1. 使用 ImageJ 程式計算渦蟲面積

(a) 選取長度工具，設定比例尺 (set scale)



(b) 使用畫筆描繪渦蟲



(c) 點取 Threshold，調整至渦蟲呈現紅色



(d) 將渦蟲選取並加入 ROI Manager，再點選 Measure 計算渦蟲面積

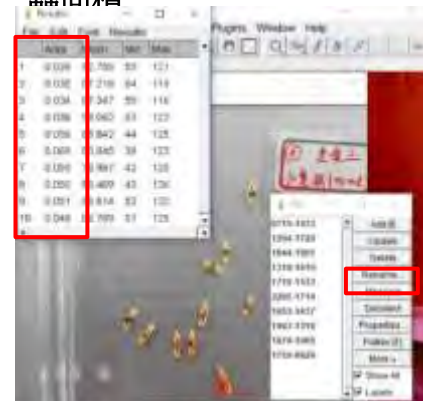


圖 12 以 ImageJ 計算渦蟲面積步驟

伍、 研究結果

一、 渦蟲對食物記憶行為實驗—群體

【實驗一】 長期餵食紅蟲或蝦肉的渦蟲群體對食物是否具記憶行為

利用 One-Way ANOVA 分析，圖 13 (a)-(c) 得知無論長期餵食渦蟲蝦肉、紅蟲或未經長期餵食固定食物，渦蟲選擇蝦肉的隻數均顯著高於其他食物 ($p < 0.01$) 且了解到未經長期餵食固定食物的渦蟲未選擇食物的隻數較多；圖 13 (d) 未經長期餵食固定食物的渦蟲組與長期餵食固定食物的渦蟲組皆在選擇蝦肉隻數上具有顯著差異 ($p < 0.05$)。

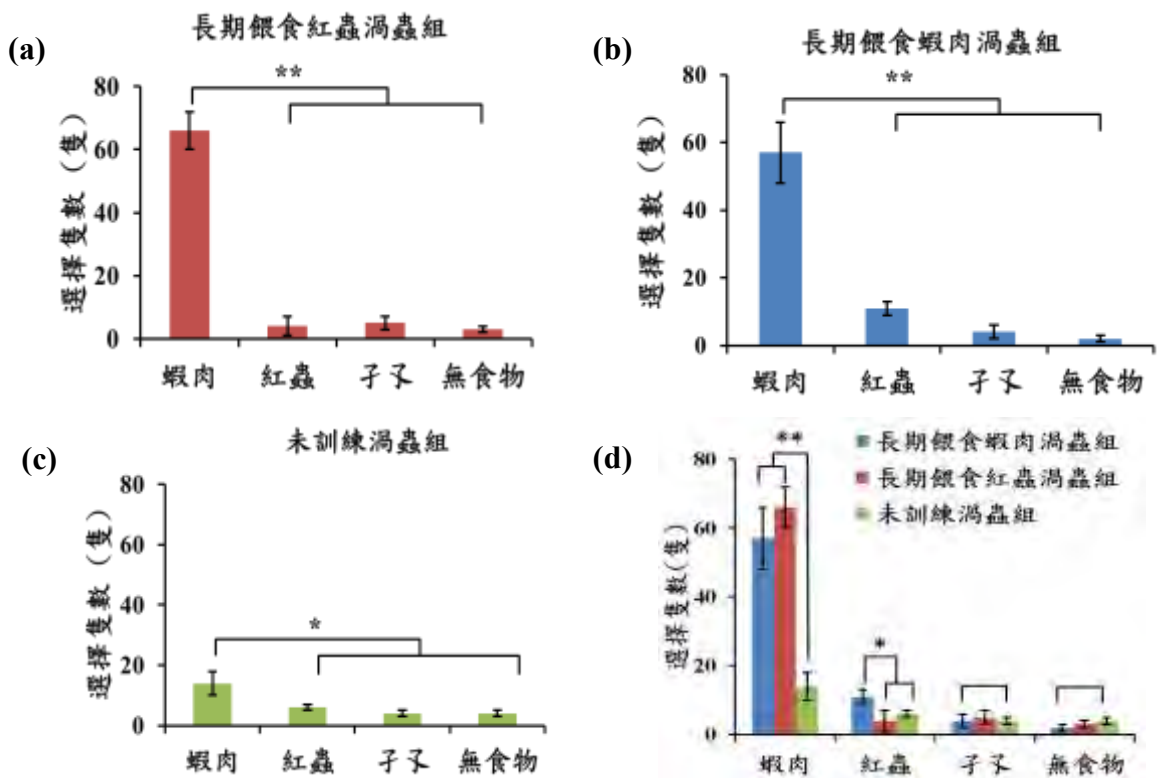


圖 13 長期餵食固定食物渦蟲群體的食物選擇結果

100 隻渦蟲每天餵食紅蟲 / 蝦肉 1 次，約餵食 50 天以上進行實驗。實驗中使用蝦肉 (組織) 紅蟲 (冷凍個體) 和孑孓 (活個體) 給渦蟲選擇；(a)(b) 為實驗組，(c) 為對照組，(d) 為將全部組別進行比較，實驗皆有 3 重複。利用 One-Way ANOVA 分析，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。

實驗討論

(一) 渦蟲對食物不具記憶

從圖 13 (d) 結果中發現長期餵食紅蟲 / 蝦肉或未經長期餵食固定食物的渦蟲，選擇蝦肉隻數皆有顯著增加的情形，故推測渦蟲對食物不具記憶。

(二) 渦蟲較偏好吃蝦肉

為了確認渦蟲非因組織（肉塊）散發氣味較快的關係而選擇蝦肉，因此在【實驗二】群體實驗中，將所有食物量化（磨碎組織食物），並比較其食物選擇的差異。

【實驗二】磨碎食物是否影響渦蟲群體選擇（以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗）

利用 T-test 分析，圖 14 得知有無磨碎食物不會影響渦蟲對於蝦肉的偏好 ($p > 0.05$)。

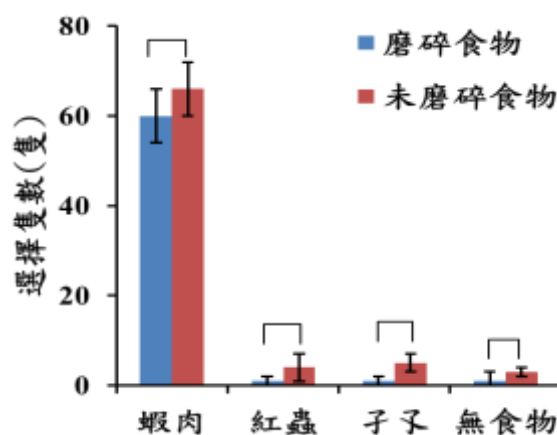


圖 14 有無磨碎食物對渦蟲選擇影響

100 隻渦蟲每天餵食紅蟲 1 次，約餵食 50 天以上。利用 t-test 分析，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。

實驗討論

(一) 無法確認渦蟲在 4hr 內未選擇蝦肉以外的食物

從圖 14 中發現渦蟲偏好選擇攝食蝦肉，但實驗為結果為 4hr 的結果，我們無法確認在 4hr 內渦蟲為選擇其他食物，因此在後續【實驗三】【實驗四】【實驗五】【實驗六】將渦蟲個體取出進行渦蟲個體對食物記憶行為實驗。

二、渦蟲對食物記憶行為實驗一個體 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

【實驗三】【實驗四】【實驗五】

利用卡方檢定 (表 6)，則發現渦蟲個體皆為隨機選擇食物 (蝦肉、紅蟲或孑孓) ($p > 0.05$)。

表 6 渦蟲個體隨機選擇食物結果

| | 未訓練渦蟲組 | 長期餵食紅蟲渦蟲組 (未適應) | 長期餵食紅蟲渦蟲組 (適應) | 長期餵食紅蟲渦蟲組 (碰到食物) |
|------------|--------|--------------------|-------------------|---------------------|
| χ^2 值 | 4.5 | 2.72 | 0.86 | 0.75 |
| df | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 顯著性 | NS | NS | NS | NS |

利用卡方檢定

實驗討論

(一) 渦蟲個體對食物為隨機選擇

從表 6 中發現渦蟲為隨機選擇，初步推測可能因渦蟲對實驗環境不熟悉、隨意爬行而選擇食物或碰觸食物並要吃此項食物，所以在【實驗四】【實驗五】【實驗六】中進一步探討有無適應實驗環境、有無碰觸到食物和有無攝食到食物是否會影響渦蟲的食物選擇。

(二) 渦蟲黏液會影響食物選擇結果

於【實驗四】發現，有適應實驗環境的渦蟲中 (20 隻) 有 18 隻渦蟲選擇適應期間走過的路徑，初步推測渦蟲爬行時留下黏液會影響其選擇，因此在後續實驗中皆利用無適應實驗環境之渦蟲進行實驗。

【實驗六】攝食組的渦蟲選擇結果 (以長期餵食紅蟲的渦蟲進行實驗)

根據圖 15 結果，渦蟲選擇蝦肉的隻數顯著高於其他食物，進一步進行卡方檢測，發現渦蟲不為隨選擇蝦肉、紅蟲或孑孓 ($\chi^2 : 58.81 ; df=2 ; p < 0.05$)。

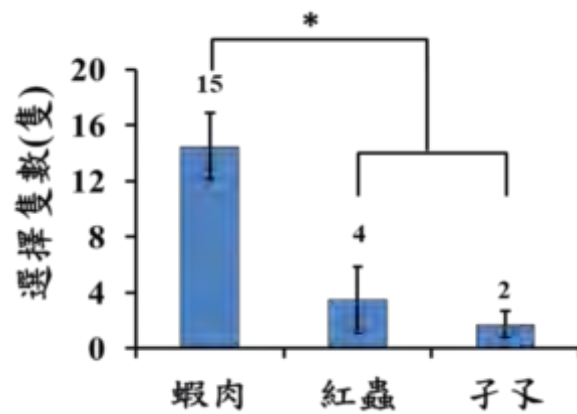


圖 15 攝食的渦蟲組食物選擇結果

20 隻長期為食紅蟲的渦蟲進行十字迷宮實驗，實驗皆有 3 重複。渦蟲咽部攝食食物後記錄渦蟲選擇此項食物。利用 One-Way ANOVA 分析，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。

實驗討論

(一) 渦蟲偏好蝦肉，餵食食物差異不影響其生長

長期餵食紅蟲的渦蟲再進行個體的記憶行為實驗，渦蟲選擇蝦肉也較多，因此後續進行餵食不同食物，對渦蟲成長狀況影響。從實驗結果圖 16 發現第 14、21 天餵食不同食物無顯著差異 ($p > 0.05$)，所以渦蟲偏好蝦肉不影響其生長。

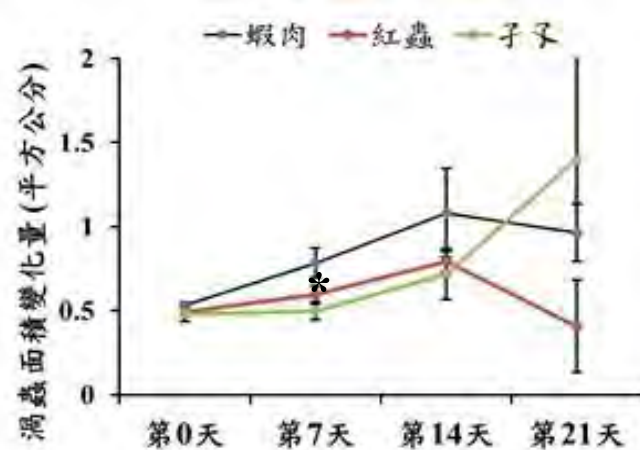


圖 16 餵食不同食物對渦蟲面積影響結果

10 隻渦蟲飼養於裝 20 mL 曝氣水玻璃罐，每禮拜餵食三次 0.2 g 的蝦肉、紅蟲和子子 (10 隻 3-4 齡子子) 實驗皆有 3 重複，利用 ImageJ 計算渦蟲面積。利用 One-Way ANOVA 分析，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。

三、 渦蟲捕食孑孓行為—群體與個體

【實驗七】5 隻渦蟲捕食 1 / 5 / 10 隻孑孓之行為

圖 17 中得知當孑孓數量越少，群體第一隻渦蟲捕食孑孓前的爬行速率越快，渦蟲捕食到孑孓的時間跟孑孓隻數無關；圖 18 得知孑孓數量越多，渦蟲搶食行為越少；由表 7 發現孑孓隻數越多相對渦蟲搶食隻數越少，第一隻渦蟲捕食孑孓的相對能量收支越多。

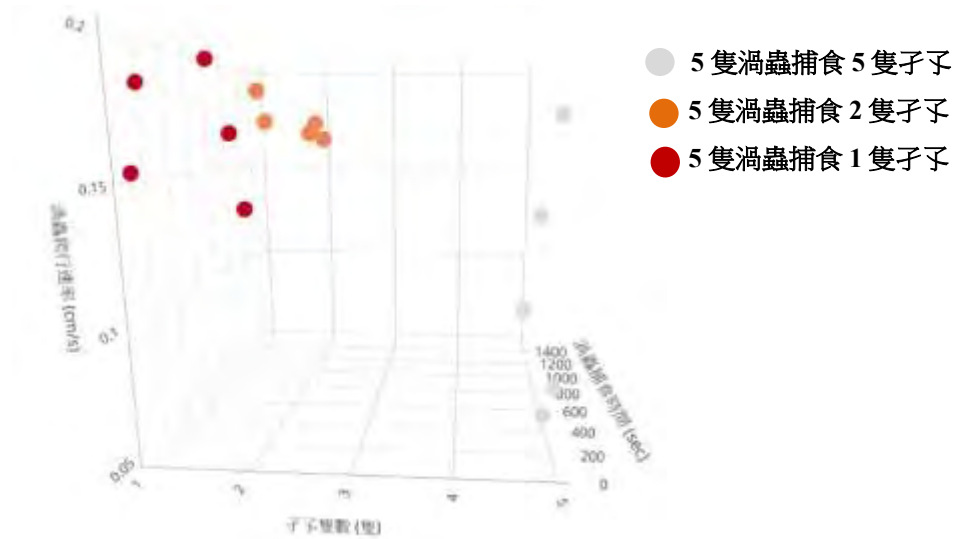


圖 17 第一隻渦蟲捕食孑孓所花費時間及爬行速率

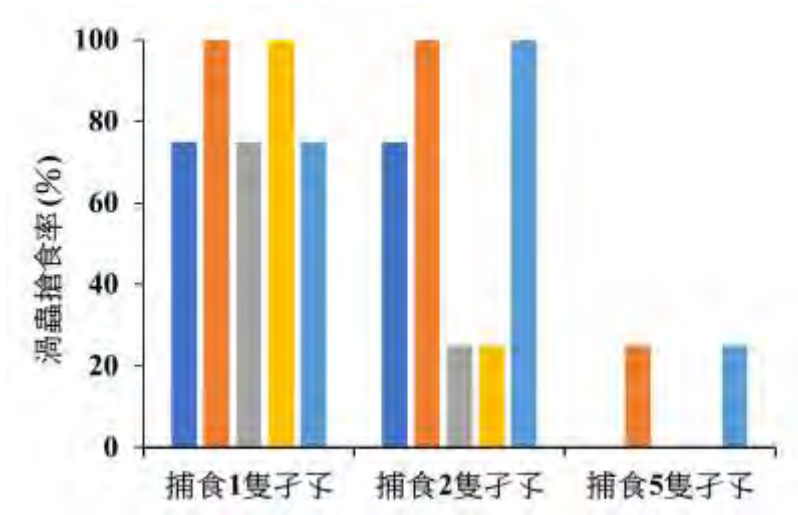


圖 18 各組渦蟲搶食率

實驗均使用 5 隻渦蟲；搶食率 (%)：加入搶食的渦蟲隻數占實驗總隻數的渦蟲 (不含第一隻渦蟲) 百分比。

表 7 第一隻渦蟲捕食子子的相對能量收支 (每組實驗均使用 5 隻渦蟲)

| 相對指數 | 捕食 1 隻子子 | 捕食 2 隻子子 | 捕食 5 隻子子 |
|-----------|----------|----------|----------|
| 能量獲得率 (+) | 15 | 15 | 15 |
| 尋找花費 (-) | 2.6 | 3.2 | 2.4 |
| 處理花費 (-) | 1 | 1 | 1.2 |
| 搶食隻數 (-) | 2.75 | 2.75 | 0.5 |
| 能量收支 | 8.65 | 8.05 | 10.9 |

第一隻渦蟲為捕食到子子的渦蟲；1 隻子子相對能含量為 15 (實際能量為 1.4×10^{-3} 卡)

實驗討論

(一) 吸引其餘渦蟲靠近搶食之刺激物

在實驗結果中，發現當有一隻渦蟲攻擊或食用子子後，其餘渦蟲會接續靠近加入食用，推測渦蟲在捕食到子子後會釋放某種物質吸引其餘渦蟲靠近搶食，或因渦蟲在捕食子子時，破壞其外殼導致子子氣銀飄出，因此進行【實驗九】探討。

(二) 渦蟲群體捕食子子會出現搶食的情形

於 5 隻渦蟲捕食 1 隻子子實驗結果，發現第二隻的渦蟲有搶奪的情形，當第一隻渦蟲捕食時，卻因第二隻渦蟲搶食，導致第一隻渦蟲捕食中斷，中間有嘗試恢復捕食，卻因第二隻渦蟲擋住子子，才離開捕食區域，因此推測渦蟲群體捕食行為可能為搶食。

(三) 渦蟲群體捕食子子行為與基底殘留黏液之關係

當渦蟲在有子子情況下，爬行速率會高於對照組 (圖 19)，推測是為了增加繞壁圈數，使其爬行時所殘留在壁上的黏液增加，子子更易在移動時被黏液纏住。因此在後續將對照組(無子子) 和實驗組的實驗裝置撒上銀光粉，並以紫外光照射，看其黏液分布情形，從圖 19-b 發現當渦蟲在有子子的情形下其爬行黏液較多。



圖 19 渦蟲爬行時黏液分布情形

(a) 對照組：3 隻渦蟲爬行 1 小時 (無子子)；(b) 實驗組：3 隻渦蟲捕食 1 隻子子 (約爬行 1hr)

【實驗八】渦蟲捕食孑孓策略

表 8 中發現渦蟲在群體捕食孑孓時，出現機會主義型 I 較其他捕食策略次數多。

表 8 渦蟲群體捕食孑孓時捕食策略出現次數百分比

| 捕食策略 | 出現次數百分比 |
|----------|---------|
| 主動捕食型 | 5% |
| 機會主義型 I | 70% |
| 機會主義型 II | 1% |

20 次捕食策略實驗結果將其統計整理換算成百分比

主動捕食型：直接靠近孑孓後攻擊 / 將黏液纏繞孑孓再吸食。

機會主義型 I：待孑孓被渦蟲爬行殘留在壁上的黏液纏繞住後，再進行捕食。

機會主義型 II：渦蟲隨機捕食自行靠近的孑孓個體。

實驗討論

(一) 機會主義型 I 花費能量較少

從表 8 發現群體渦蟲在捕食孑孓時機會主義型 I 出現次數較多，因此推測此策略渦蟲可花費較少能量捕食到孑孓。

【實驗九】推測渦蟲加入搶食原因

從圖 20 (a)-(b) 發現渦蟲在選擇左右為相同刺激物時具顯著差異 ($p < 0.05$);(c)-(d) 中發現，渦蟲選擇蒸餾水的隻數與孑孓體液具顯著差異 ($p < 0.05$) 而與孑孓冷凍個體無差異($p > 0.05$)；(e)-(f) 中發現，渦蟲選擇蒸餾水的隻數與捕食和爬行黏液具顯著差異 ($p < 0.05$)；(h) 發現渦蟲在選擇孑孓汁液與渦蟲爬行黏液無顯著差異 ($p > 0.05$) 而在 (i) 孑孓汁液與渦蟲捕食黏液具顯著差異 ($p < 0.05$)。

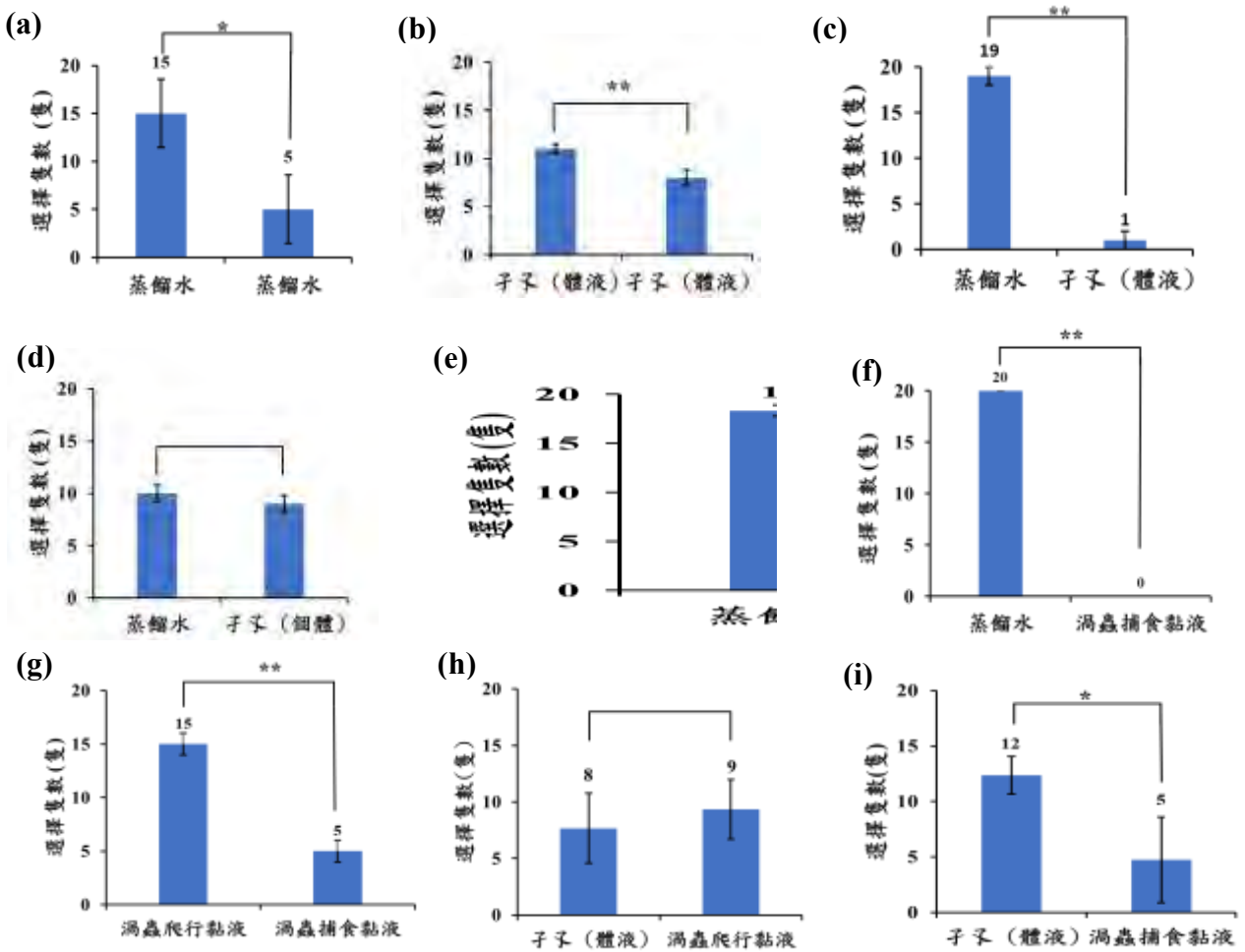


圖 20 渦蟲對不同刺激物選擇結果

20 隻渦蟲進行實驗，實驗皆有 3 重複，每次實驗有將刺激物交換方向 (避免渦蟲因對方向具偏好性)。(b)-(g) 實驗收集黏液的渦蟲與實驗的渦蟲位不同渦蟲。利用 t-test 分析結果，(*) 為顯著差異 $p < 0.05$ ，(**) 為顯著差異 $p < 0.01$ 。

實驗討論

(一) 渦蟲對方向具偏好

從圖 20 (a)-(b) 中發現渦蟲偏好爬向左邊，因此後續 (c)-(i) 訊號刺激物皆有進行位置更換。

(二) 視覺訊號刺激使渦蟲捕食動機較大

從圖 20 (c)-(d) 中發現渦蟲在選擇蒸餾水與孑孓體液具顯著差異，而在與孑孓冷凍個體無顯著差異，因此推測視覺訊號刺激使渦蟲捕食動機大於化學訊號刺激，未來可增加孑孓體液與孑孓冷凍個體選擇實驗。

(三) 渦蟲探索未知環境

從圖 20 (e)-(f) 中發現，渦蟲選擇蒸餾水的隻數與捕食和爬行黏液具顯著差異 ($p < 0.05$)，因此推測渦蟲為探索新環境。

(四) 渦蟲選擇爬行黏液之推測

從圖 20 (g) 中發現，渦蟲選擇爬行黏液與捕食黏液具顯著差異 ($p < 0.05$)，由【實驗八】發現渦蟲在爬行所分泌的黏液會殘留在壁上，孑孓在移動 (擺動) 過程會因沾黏到壁上的渦蟲爬行黏液而死，因此推測渦蟲選擇爬行黏液較多是因有機會撿到已被黏液殘繞而死的孑孓或因渦蟲捕食黏液中的酵素通知其餘渦蟲孑孓已被攝食完。

(三) 渦蟲是因孑孓體液飄出吸引其靠近搶食

從圖 20 (i) 孑孓汁液與渦蟲捕食黏液具顯著差異 ($p < 0.05$)，因此推測當第一隻渦蟲捕食到孑孓後其餘渦蟲靠近搶食是因當渦蟲在捕食孑孓時，將其外殼破壞導致其體液飄出，吸引其餘渦蟲靠近搶食。

陸、討論

一、探討渦蟲記憶行為研究困難與挑戰性

動物為了面對生存挑戰如攝食、交配等，因此發展出不同的腦神經系統，來解決生存問題。渦蟲是一種常用來做記憶行為的生物，因其神經結構較為簡單。先前研究多以電擊方法使渦蟲學習判斷方向 (Abbott & Wong, 2008)；亦有文獻探討渦蟲偏好選擇何種基質 (石頭) 作為其棲地 (Dirk, 2012) (表 9)。但以食物來進行渦蟲記憶行為實驗的相關研究較少。使動物在沒有負增強物 (電擊或光線) 下學習相當困難，也需要花費較多的時間，為了避免不準確的數據，我們使用了大量的渦蟲隻數進行實驗，在無法標記渦蟲個體情況下，我們逐一地統計個體的選擇和爬行的秒數。而隨渦蟲隻數的增加，個體之間的差異也顯著增加，更加深統計分析之困難度。

表 9 渦蟲記憶行為文獻回顧

| 目的 | 訓練時長 | 形成記憶 | 記憶時間 | 結論 | 參考資料 |
|-------------------|--------|-------------|------|------------------|--------------------|
| 電擊對渦蟲記憶影響 | 3 天 | 第 3 天形成記憶 | 3 天 | 渦蟲訓練 3 天後，記憶量達飽和 | 黃，2014 |
| 電擊渦蟲使爬向光亮處、溫水區和正極 | 4-5 天 | 第 4-5 天形成記憶 | — | 電擊使渦蟲形成記憶 | 唐等，2005 |
| 電擊渦蟲使其改變偏好方向 | 3 天 | 無記憶 | 無記憶 | 渦蟲訓練時間不足以形成記憶 | Abbott & Wong 2008 |
| 渦蟲長期餵食的食物是否具記憶 | 50 天以上 | 無記憶 | 無記憶 | 渦蟲對長期餵食的食物無記憶 | 本研究 |

—無研究

三、研究差異比較

在渦光食色研究中提到，渦蟲在攝食蛋黃 (蛋黃會游離) 時有利他主義的行為 (表 10)，而利他主義只有在真社會昆蟲 (有親緣關係) 才有，且此研究同時提到群體渦蟲在捕食時，有一隻渦蟲未攝食為警戒行為，但在實驗環境中無天敵，所以無需進行警戒，在本研究中發現渦蟲在捕食活體孑孓時為搶食且無觀測到有渦蟲進行警戒。

表 10 難以子擇與渦光食色研究比較

| 作品名稱 | 食物種類 | 結果 | 結論 | 參考文獻 |
|------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 難以子擇 | 活子子 | <ol style="list-style-type: none"> 1.當子子數量越少，群體第一隻渦蟲捕食子子前的爬行速率越快，捕食到子子時間無差異。 2.子子隻數越多相對渦蟲搶食隻數越少，第一隻渦蟲捕食子子的相對能量收支越多。 | <ol style="list-style-type: none"> 1.群體渦蟲捕食子子為搶食 2. 渦蟲捕食子子時策略分為主動捕食型、機會主義型 I 和機會主義型 II，主要為機會主義型 I。 3.第一隻渦蟲捕食到子子後將子子外殼破壞導致其體液飄出，吸引其餘渦蟲搶食 4.視覺訊號刺激使渦蟲捕食動機大於化學訊號刺激 | 本研究 |
| 渦光食色 | 蛋黃 | <ol style="list-style-type: none"> 1.渦蟲數目愈多，其平均游泳速率有愈慢的趨勢。 2.3 隻到 5 隻渦蟲實驗中，第一隻渦蟲的游泳速率明顯比其餘渦蟲快。 | 食物刺激下，當渦蟲個體數少於 4 隻時，渦蟲可能趨向利己主義，多於 4 隻便出現能分工的利他主義群體 | (彭等，2016) |

四、渦蟲的個體記憶行為實驗

文獻中顯示渦蟲對方向具偏好 (Abbott & Wong, 2008)，所以我們在進行實驗時，有將食物的位置進行更換排除其可能性。

在個體實驗結束後，以卡方檢定，發現渦蟲在【實驗三、四、五】中為隨機選擇食物，查找相關文獻發現，渦蟲可偵測食物的距離約為 3~4 mm (Pearl, 2009) 在鍾 (2004) 實驗設計中，渦蟲距離食物 8 cm，而在平時我們在 1000 mL 燒杯中飼養渦蟲時，發現渦蟲在大於 3~4 mm 的距離，當投入食物後渦蟲也會直線前往食物進行攝食，所以渦蟲與食物距離無關，與是否有攝食到食物有比較大的關聯，因此設計【實驗六】使渦蟲有攝食到食物進行個體記憶行為實驗。

五、淡水渦蟲搶食推測

在捕食行為實驗中發現 5 隻渦蟲捕食 1 隻孑孓實驗五重複可一日完成實驗，5 隻渦蟲捕食 2 孑孓三日完成，而在 5 隻渦蟲捕食 5 隻孑孓實驗進行 19 次才完成五重複實驗，因此孑孓充足時，渦蟲捕食時間隨即增長，符合群體大小效應 (Giraldeau & Pyke, 2019) 當獵物越少，競爭壓力上升，動物捕食到獵物所需時間會減短，**本研究為首次發現無脊椎動物中的淡水渦蟲符合此理論。**

六、淡水渦蟲捕食模式推論

當渦蟲發現孑孓已被其他渦蟲捕食後，其爬行速率會減慢，並放棄該次捕食機會，符合最佳覓食模式 (Optimal foraging theory) 中的最佳食性理論 (Optimal diet theory) (Stephens & Krebs, 1986) 當動物發現他們補實到的獵物所獲得的能量無法大於自己捕時所消耗的能量，他們會選擇放棄獵物。

七、淡水渦蟲探索行為假說

在渦蟲捕食孑孓影片分析中，發現渦蟲在群體中會先行繞壁。文獻中提到沿壁面偏好 (wall preference) 是一種對於陌生環境探索學習重要的行為 (Akiyama *et al.*, 2015)。本研究結果發現，渦蟲在有孑孓的狀態下爬行速率較快，繞壁同時，渦蟲爬行所分泌的黏液會殘留在壁上，而孑孓會在移動 (擺動) 的過程被壁上所殘留的渦蟲黏液纏住，渦蟲爬行時所分泌的黏液也可協助渦蟲減少捕食孑孓所消耗的能量，因此本實驗對渦蟲探索行為提出二擇一假說以解釋之：

假說一：渦蟲繞壁為布下陷阱待孑孓被黏液纏繞致死。

假說二：孑孓被渦蟲爬行殘留下的黏液纏繞致，渦蟲取食沾黏的孑孓為附加產品
渦蟲行為的機會主義 I。

假說一認為渦蟲只有在有孑孓情形下才會分泌爬行黏液，然而本實驗利用亮粉與紫外光檢測，發現渦蟲在未有孑孓情形下繞壁爬行時也會分泌黏液，因此本實驗證據支持假說二：孑孓被渦蟲爬行殘留下的黏液纏繞致，渦蟲取食沾黏的孑孓為附加產品渦蟲行為屬於機會主義 I。

八、淡水渦蟲捕食策略

過去未有人探討淡水渦蟲捕食行為模式，因此尋找其他動物捕食行為模式參考；不同陸生渦蟲捕食行為有兩種模式，一種為具追蹤獵物能力 (掠食型渦蟲)，另一種為伏擊捕食者 (埋伏型渦蟲)，在伏擊地點等獵物上門 (Fiore *et al.*, 2004)。我們根據影片觀察計錄，發現淡水渦蟲捕食孑孓的策略至少有 3 種 (主動捕食型、機會主義型 I 和機會主義型 II) 目前實驗結果發現渦蟲捕食策略為機會主義型 I 偏多。

九、推測渦蟲加入搶食原因

有些陸生渦蟲會檢測並跟蹤獵物留下的化學痕跡 (Fiore *et al.*, 2004)，在影片中發現第一隻渦蟲捕食孑孓後，其餘渦蟲會靠近獵物，卻無法進行吸食。從本研究【實驗九】結果發現渦蟲在選擇孑孓體液與渦蟲的捕食黏液兩項刺激物時，渦蟲選擇孑孓體液較多，因此我們推測渦蟲在捕食孑孓時，因破壞孑孓外殼，導致孑孓體液飄出，吸引其它渦蟲搶食。

十、推測渦蟲選擇爬行黏液較多之原因

【實驗九】中發現渦蟲在進行爬行黏液與捕食黏液兩項訊號刺激物進行選擇時，選擇爬行黏液較多，文獻中提到渦蟲在捕食孑孓時會額外分泌 8 種酵素 (徐，2018)，因此初步推測渦蟲可分辨爬行黏液與捕食黏液差別，而在飼養渦蟲期間有觀察到渦蟲會同類相食，在高音符絲鱉甲蝸牛同樣有同類相食行為 (陳，2019)，因此推測渦蟲為了避免同類相食而渦蟲選擇爬行黏液隻數較捕食黏液多。

柒、 結論

- 一、長期餵食渦蟲固定食物不會對擇食有影響，有利於未來野外投放。
- 二、渦蟲對食物不會有記憶選擇，有利於渦蟲於環境的存活，使用渦蟲作為生物防治具有環境永續之優點。
- 三、渦蟲捕食孑孓為搶食。

四、渦蟲捕食孑孓時策略分為主動捕食型、機會主義型 I 和機會主義型 II，主要為機會主義型 I。

五、第一隻渦蟲捕食到孑孓後將孑孓外殼破壞導致其體液飄出，吸引其餘渦蟲搶食。

六、視覺訊號刺激使渦蟲捕食動機大於化學訊號刺激。

捌、 未來展望

一、增加長期餵食孑孓的渦蟲組進行實驗。

二、嘗試以不同比例的渦蟲捕食孑孓組別，看是否會有其他捕食模式。

三、增加疏水性黏液給渦蟲進行選擇實驗。

四、持續探討利用渦蟲防治媒蚊疾病的應用性。

玖、 參考文獻

一、書籍

(一) Pearl, R. (2009) The movements and reactions of fresh-water planarians: a study in animal behavior. P 623-626.

(二) Pyke, G.H. & Giraldeau, L.(2019) Encyclopedia of Animal Behavior. (2nd ed.) P 191-200.

(三) Stephens, D. W., & Krebs, J. R. (1986). *Foraging theory*. Princeton University Press.

二、科展、小論文、期刊

(一) 王琳雅、郭應廷 (2016)。中華民國第 56 屆中小學科學展覽會作品說明書：「孑」地任務－渦蟲捕食白線斑蚊幼蟲之生物防治評估。

(二) 林暉烈、劉皓鳴、張育粥、姚靖軒 (2007)。中華民國第 47 屆中小學科學展覽會作品書：背著房子走天涯－蝸牛對光、電、環境刺激的反應。

(三) 徐亦萱 (2018)。中華民國第 58 屆中小學科學展覽會作品說明書：驚爆「膠」點－虎紋三角渦蟲黏液功能分析。

(四) 陳宜玲 (1999)。冬季大肚溪口東方環頸食性選擇之研究 (碩士論文)。取自臺灣博碩士論文系統。(系統編號 088THU00518002)

(五) 陳思竹 (2019)。2019 年臺灣國際科學展覽會研究報告：同類相食行為的新發現。

(六) 黃靖博 (2014)。中華民國第 54 屆中小學科學展覽會作品說明書：攔截記憶碼－探討渦蟲的學習與記憶

- (七) 彭慧文、曾昀婷、劉力文 (2016)。中華民國 56 屆中小學科學展覽會作品書：
渦·光·食·色!群體下的秘密－探討渦蟲個體與群體的游泳行為。
- (八) 唐僑志、李昱甫、劉希哲、廖奕翔 (2005)。中華民國第45屆中小學科學展覽會
作品說明書：身首異處，記憶猶存！？
- (九) 賴愉方、陳雅淳、王丹穎、文歡 (1997)。中華民國 47 屆中小學科學展覽會作品
書:蜘蛛的學習行為。
- (十) 鍾佩軒 (2004)。第三屆旺宏科學獎成果報告書： 渦蟲生態初探。
- (十一) Dirk, J. (2012). Substratum preference in the genus *Dugesia*.
- (十二) Yang, T. (2016). Number sense and foraging decision in cuttlefish, *Proceedings of the Royal Society B* 283(1837) : 20161379.
- (十三) Abbott, S. M., & Wong, G. K. (2008). The conditioning and memory retention of planaria (*Dugesia tigrina*) for directional preferences. *Bios*, 79(4), 160-171.
- (十四) Akiyama, Y., Agata, K., & Inoue, T. (2015). Spontaneous behaviors and wall-curvature lead to apparent wall preference in planarian. *PloS one*, 10(11), e0142214.
- (十五) Chan, J. D., & Marchant, J. S. (2011). Pharmacological and functional genetic assays to manipulate regeneration of the planarian *Dugesia japonica*. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (54), e3058.
- (十六) Fiore, C., Tull, J. L., Zehner, S., & Ducey, P. K. (2004). Tracking and predation on earthworms by the invasive terrestrial planarian *Bipalium adventitium* (Tricladida, Platyhelminthes). *Behavioural Processes*, 67(3), 327-334.

【評語】 052011

淡水渦蟲會捕食蚊幼蟲，有助病媒蚊防治，想利用渦蟲對長期餵食固定的食物是否具記憶行為，以了解長期以非孑孓之食物餵養渦蟲，是否會影響其未來投放至野外進行生物防治時，降低捕食孑孓的意願？並了解渦蟲捕食孑孓的策略。

1. 沒有說明哪一部分是新做的實驗，跟之前的內容大同小異。
2. 生態的現象觀察並沒有得到太多新穎的數據。
3. 應強調目前實驗的成果發現了什麼新東西，和之前的報告不同之處？

前言

淡水渦蟲會捕食蚊幼蟲，在蚊媒防治上具高度潛能 (王與郭，2016)。過去研究多了解渦蟲對方向、溫度及顏色等是否具有記憶，我們則是想了解渦蟲對食物是否具有記憶，探討長期以孑孓外之食物餵養渦蟲是否會影響未來進行生物防治時，降低捕食蚊幼蟲的意願。我們觀察將孑孓放入水中時，渦蟲間會有搶食行為。過去研究指出群體渦蟲攝食蛋黃屬分工行為 (彭等，2016)，而蛋黃在水中會游離，與我們觀察到的現象明顯不符，因此本實驗也嘗試初步分析渦蟲個體及群體捕食孑孓的行為。

研究器材與方法

一、研究器材

虎紋三角渦蟲 (*Girardia tigrina*) (圖1)、白線斑蚊幼蟲 (孑孓)、紅蟲、蝦肉、解剖顯微鏡、攝影機、玻璃盒及方形培養皿等。

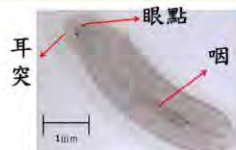
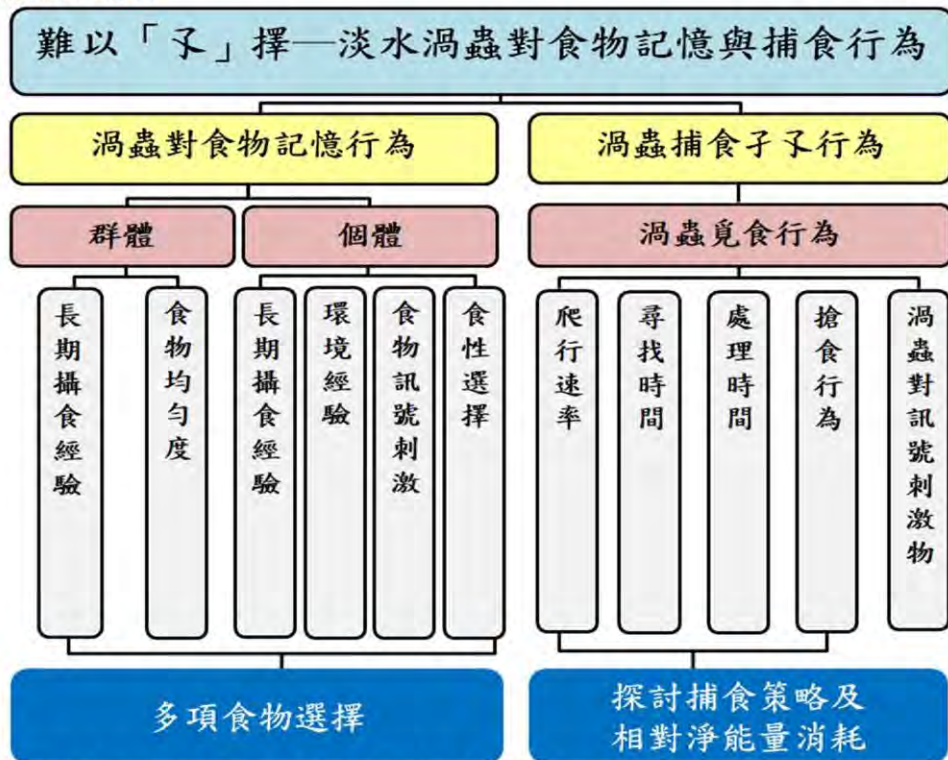


圖1 虎紋三角渦蟲

二、實驗架構圖



實驗渦蟲皆經過2天飢餓；本研究在渦蟲捕食行為僅針對其捕食孑孓行為

三、實驗組別定義

長期餵食渦蟲組: 100隻渦蟲每天餵食紅蟲或蝦肉1次，餵食50天以上。

未訓練渦蟲組: 100隻渦蟲未經長期餵食固定食物(輪流餵食紅蟲、蝦肉及孑孓)。

渦蟲生命齡期: 渦蟲生命週期約為5個月，所以本實驗訓練渦蟲2-3個月後進行食物記憶行為實驗。

四、統計方式

以T檢驗 (t-test) 與單因子變異數分析 (One-way ANOVA) 再利用 Tukey HSD 進行 post hoc 分析；利用 Pearson 卡方檢定 (Pearson Chi-Square) 之適合度檢驗 (Test of Goodness-of-Fit)：渦蟲在個體記憶行為實驗中是否為隨機選擇，檢定水準皆設為 $\alpha = 0.05$ ， $p < 0.05$ 為顯著差異(*)， $p < 0.01$ 為顯著差異(**)。

五、軟體分析

以 Tracker 分析渦蟲捕食孑孓路徑、座標，利用 Excel 計算渦蟲捕食孑孓時爬行速率。

研究結果

一、群體渦蟲對食物記憶行為

(一) 渦蟲選擇蝦肉的隻數均顯著高於其他食物 ($p < 0.05$) (圖2)。

(二) 食物均勻度不影響渦蟲選擇 ($p > 0.05$)。

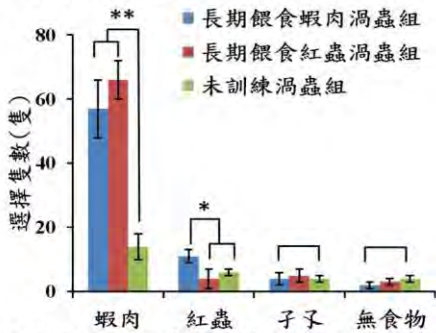


圖2 有無長期餵食固定食物對渦蟲選擇影響

二、個體渦蟲對食物記憶行為

(一) 長期攝食經驗、環境經驗及食物訊號刺激的渦蟲，皆為隨機選擇食物 ($p > 0.05$)。

(二) 長期餵食紅蟲的渦蟲食性選擇蝦肉隻數顯著高於其他食物 ($p < 0.05$) (圖3)。

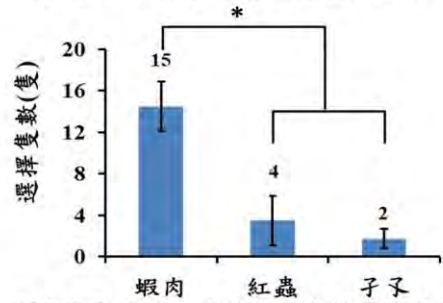


圖3 長期餵食紅蟲的渦蟲食性選擇結果

三、渦蟲捕食子子行為

當子子少時，群體第一隻渦蟲捕食子子時的爬行速率較快 (圖4)；子子數充足，搶食的渦蟲少 (圖5)，第一隻渦蟲捕食子子所相對淨能量消耗越低 (表1)。

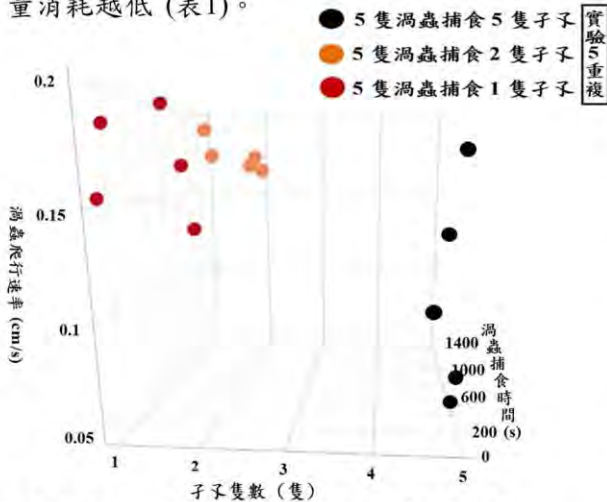


圖4 群體第一隻渦蟲捕食子子時間及爬行速率

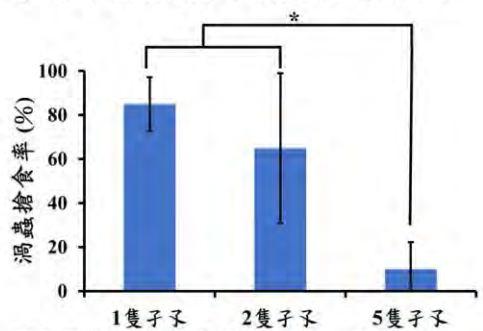


圖5 渦蟲捕食子子搶食率 (n=5)
搶食率：搶食的渦蟲隻數占實驗總隻數的渦蟲(不含第一隻渦蟲)百分比。

表1 群體第一隻渦蟲捕食子子的相對淨能量消耗

| 相對指數 | 1隻子子 | 2隻子子 | 5隻子子 |
|-------|-----------|-----------|----------|
| 尋找花費 | 2.6 | 3.2 | 2.4 |
| 處理花費 | 1 | 1 | 1.2 |
| 搶食隻數 | 2.75 | 2.75 | 0.5 |
| 淨能量消耗 | 6.35±1.38 | 6.95±1.85 | 4.1±1.49 |

實驗均使用5隻渦蟲
尋找花費：渦蟲捕食到子子前的時間換為相對指數。
處理花費：渦蟲捕食到子子至子子不再左右掙扎的時間換為相對指數。
搶食隻數：第一隻渦蟲捕食子子後加入搶食的渦蟲隻數換為相對指數。

四、渦蟲對不同訊號刺激物選擇結果 (圖6)

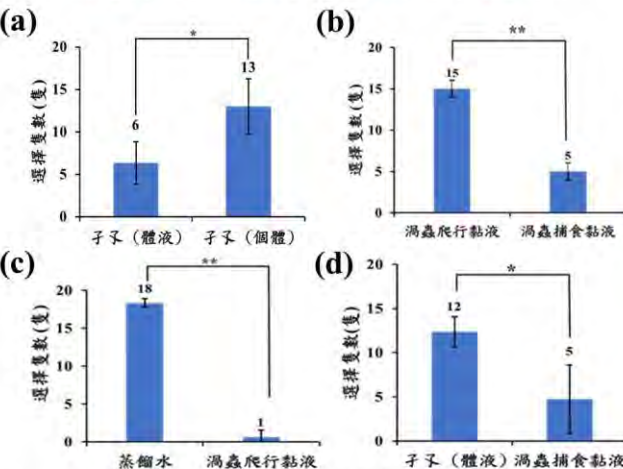


圖6 渦蟲對不同訊號刺激物選擇結果 (n=20)

本研究使用黏液皆為水溶性黏液，利用t-test分析。

五、渦蟲捕食子子策略

圖7中發現渦蟲在群體捕食子子時，出現機會主義型 I 占75%。



圖7 渦蟲群體捕食子子策略 (n=20)

主動捕食型：靠近子子後攻擊 / 將黏液纏繞子子再吸食。
機會主義型 I：待子子被渦蟲爬行殘留在壁上的黏液纏繞住後，再進行捕食。
機會主義型 II：渦蟲隨機捕食自行靠近的子子個體。

研究討論

一、文獻回顧

表2 渦蟲記憶行為研究比較

| 目的 | 訓練方法 | 訓練天數 | 記憶天數 | 結論 | 參考資料 |
|------|------|-------|------|-----|-----------------------|
| 改變趨性 | 電擊 | 3天 | 3天 | 有記憶 | 黃, 2014 |
| 改變趨性 | 電擊 | 4-5天 | — | 有記憶 | 唐等, 2005 |
| 改變方向 | 電擊 | 3天 | 無記憶 | 無記憶 | Abbott & Wong 2008 |
| 記憶食物 | 餵食 | 50天以上 | 無記憶 | 無記憶 | 本研究 |

二、淡水渦蟲搶食推測

子子越少，渦蟲捕食子子前的爬行速率越快，符合群體大小效應 (Pyke, 1984; Giraldeau & Pyke, 2019) 掠食者的生存競爭壓力隨著獵物密度改變。

三、視覺訊號刺激渦蟲捕食

渦蟲在選擇子子體液與冷凍個體具有顯著差異，因此推測視覺訊號刺激誘使渦蟲捕食意願大於化學訊號刺激。

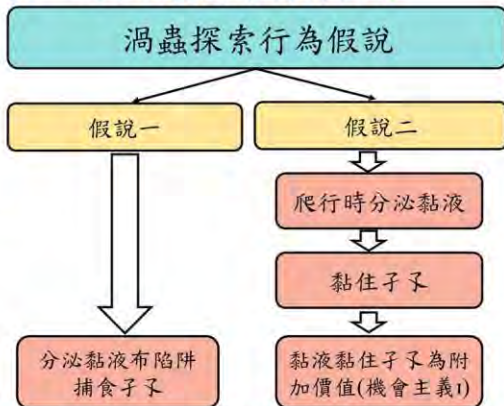
四、推測渦蟲選擇爬行黏液較多原因

渦蟲捕食子子時額外分泌8種酵素 (徐, 2018)，因此初步推測渦蟲可分辨爬行與捕食黏液之差異。

五、淡水渦蟲捕食模式推論

未搶食之渦蟲在子子被捕食後，爬行速率會減慢，放棄該次捕食機會，符合最佳食性理論 (Optimal Diet theory) (Stephens & Krebs, 1986)。

六、淡水渦蟲探索行為假說



研究貢獻

- 一、渦蟲對長期攝食的食物無記憶，多項食物選擇中對蝦肉具偏好行為。
- 二、本研究完整記錄渦蟲短時間內捕食子子行為、策略及爬行速率等。
- 三、發現無脊椎動物的渦蟲可能符合脊椎動物中的群體大小效應理論。

結論

- 一、渦蟲對食物不具有記憶，有利於環境的存活，作為生物防治具有環境永續之優點。
- 二、視覺訊號刺激可能使渦蟲捕食動機大於化學訊號刺激。
- 三、推測群體第一隻渦蟲捕食子子時其體液流出，吸引其餘渦蟲搶食。
- 四、渦蟲捕食子子策略至少3種，分為主動捕食型、機會主義型 I 與機會主義型 II，主要為機會主義型 I。

未來展望

- 一、增加長期餵食子子的渦蟲組進行實驗。
- 二、以不同比例的渦蟲捕食子子，觀察是否會有其他捕食模式。
- 三、了解疏水性黏液是否會吸引渦蟲搶食。
- 四、持續評估渦蟲防治媒蚊疾病的應用性。

參考資料

- 一、王琳雅、郭應廷(2016)。中華民國第56屆中小學科學展覽會作品說明書：「子」地任務—渦蟲捕食白線斑蚊幼蟲之生物防治評估。
- 二、Pyke, G. H. (1984). Optimal foraging theory: a critical review. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1), 523-575.

(詳細請見作品說明書)