

中華民國第 62 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

腸道菌對黃斑黑蟋蟀社會互動行為影響之研究

學校名稱：慈濟學校財團法人慈濟大學附屬高級中學

作者： 高二 周佳儒 高二 詹淳茹	指導老師： 林麗君 柯政宏
-------------------------	---------------------

關鍵詞：黃斑黑蟋蟀、腸道菌、鳴叫行為

摘要

腸道微生物能透過菌腦腸軸影響神經系統，改變生物認知行為。本研究以不同食物餵食黃斑黑蟋蟀，探討飲食差異及腸道菌改變，對蟋蟀社會互動行為的影響。我們以高碳水化合物、高纖食物、高蛋白食物餵食蟋蟀，以蟋蟀獨處、求偶、示威鳴叫的聲學分析探討其社會互動行為的差異，再以蟋蟀糞菌、腸道菌混合食物餵食，分析糞菌與腸道菌對蟋蟀社會互動行為的影響。研究發現 1.食物會影響蟋蟀的社會互動行為，食用高碳水化合物蟋蟀有較高的存活率與高品質的社會互動。2. 食用高纖食物蟋蟀呈現同類互食及較低的社會互動。3.腸道菌移植策略能改變蟋蟀的社會互動行為，腸道中所分離出的植物乳桿菌對翠玲瓏與高蛋白組蟋蟀腸道產生作用，改善其社會互動行為的品質。

壹、前言

一、研究動機

昆蟲腸道做為連接宿主與外界環境的交界線，其中存在大量的腸道菌群，對宿主的營養代謝、生長、行為、調節免疫等，扮演重要的功能。昆蟲腸道是腸道菌群的定殖環境，因此攝取不同的食物將導致腸道菌相的差異。動物腸道對食物的消化與養分的吸收，不僅關於動物生存與健康，近幾年來腸道微生物相的探究，更讓我們了解到腸道菌相與動物行為、情緒息息相關（高中選修生物－動物的消化與吸收單元）。本研究以不同食物餵食黃斑黑蟋蟀，探討飲食差異及腸道菌的改變，對蟋蟀社會互動之鳴叫行為的影響。

二、研究目的

- （一）探討黃斑黑蟋蟀攝食不同食物的食物利用率及其存活率。
- （二）探討攝食不同類型食物是否影響黃斑黑蟋蟀的社會互動行為。
- （三）探討腸道菌相是否影響黃斑黑蟋蟀的社會互動行為。

三、文獻回顧

本研究以蟋蟀作為探討動物的菌腦腸軸對行為影響的生物實驗材料。以下說明菌腦腸軸、昆蟲腸道菌對行為影響的相關研究，以及蟋蟀鳴聲行為與其社會互動的關係。

- （一）菌腦腸軸與社會互動的相關研究

社會互動行為對於人類與群居動物來說是重要的生存適應能力。社交互動能力的缺損，

以人類而言：自閉症、憂鬱症、社交焦慮症等，這類的精神失調症候群，廣泛影響人類的社交行為。近幾年來，相關研究發現腸道菌群可能與精神失調症有高度相關性。透過「菌腦腸軸」（microbiota-gut-liver-brain axis）的研究，探討細菌對動物腸道神經、免疫、內分泌系統互動進而影響大腦、改變行為的機制，逐漸受到重視。

相關模式動物研究顯示，生物腸道微生物及其代謝物能直接或間接影響神經系統，進而改變生物體的認知與行為。科學家利用完全無菌鼠實驗，證實壓力荷爾蒙與社交行為的因果關係，並找到可以調控這條路徑的腸道菌種。Wu, WL. (2021) 發現無菌鼠的社交互動能力低於一般鼠，顯示微生物菌群可能影響小鼠的社交能力。研究中進一步驗證小鼠腸道中「糞腸球菌」（*Enterococcus faecalis*）代謝產物的作用，可以降低小鼠壓力荷爾蒙以及增加社交行為能力。其中，菌腦腸軸作用的機制為，腸道菌影響「下視丘／腦下垂體／腎上腺」軸（HPA axis），平衡皮質酮分泌，進而改變小鼠社交行為。

腸道微生物與神經生理學和行為關係的研究，大多數集中在哺乳動物模型，因其與人類健康有高相關性。然而，越來越多的證據指出控制昆蟲行為的機制可能與哺乳動物同源。Joanito et al. (2020) 指出社交低敏度蜜蜂的腦中出現與人類泛自閉症患者相同的大腦基因。因此了解昆蟲行為功能障礙，特別是社會性昆蟲腸道菌群與行為的相關性，有助於建立宿主對腸道菌定植的反應，了解更多複雜的腸道菌對調節神經功能的交互作用，從而獲得解決人類疾病與心理健康的策略。

昆蟲生命週期短、飼養容易，能在短時間內獲得大量的個體；昆蟲的開放循環系統也使研究器官、內分泌腺較為容易，以無脊椎動物作為實驗材料也較少涉及研究倫理的問題，因此昆蟲是絕佳的生物實驗材料。本研究以直翅目的黃斑黑蟋蟀作為探究實驗材料，黃斑黑蟋蟀作為現今飼料用昆蟲產業與食用昆蟲產業的重要物種，探討蟋蟀食性改變其腸道菌群對社會互動的作用，可作為未來運用於透過昆蟲飼料增進畜產動物健康，或應用於食用昆蟲蛋白的方式以增進人類健康的目標。以下，介紹昆蟲的腸道菌相與行為的相關研究。

（二）昆蟲腸道菌相與行為的關係

1. 昆蟲腸道構造及腸道菌群

昆蟲的腸道由前腸（foregut）、中腸（midgut）、後腸（hindgut）組成。前腸主要功能是磨碎、吸收、儲存食物，中腸是分泌消化酶、消化食物和吸收營養的主要部位，中腸有圍食膜的（peritrophic matrix）的構造，使微生物與上表皮細胞不會接觸。後腸將食物殘渣與代謝廢物排出，為大部分腸道菌群定殖處。生存在昆蟲腸道的微生物稱為昆蟲腸道菌群，是

昆蟲體內相互作用最強烈的群體（陳好欣等，2021）。昆蟲的腸道菌群最主要是細菌，與宿主共生並調節宿主的各種生命活動，腸道菌相受到宿主腸道環境多種因素影響，包含腸道結構、腸道 PH 值、消化酶的種類、及食物源類型。其中食物類型對於腸道菌相的影響十分顯著（譚清峰等，2021）。

2. 昆蟲腸道菌種類

張科等（2017）以基因分析探討蟋蟀（油葫蘆屬蟋蟀 *Teleogryllus*）腸道菌相，研究發現 99% 蟋蟀腸道細菌屬於變形菌門（*Proteobacteria*）、厚壁菌門（*Firmicutes*）和擬桿菌門（*Bacteroidetes*）。前中腸大部分菌屬有 2/3 與植物發酵相關，幫助蟋蟀消化植物，並取得營養。而在後腸所發現的菌種 1/3 與纖維素、半纖維素和果膠降解有關的細菌，可見得蟋蟀後腸可能是降解和利用植物細胞壁的主要場所。張科等（2020）在蟋蟀後腸中分離出能降解纖維素的細菌包含：腸桿菌屬、不動桿菌屬、松鼠葡萄球菌。蟋蟀腸道具纖維素降解細菌與其他植食性昆蟲纖維降解菌類似。蟋蟀後腸中有大量的纖維降解菌，說明生存在野外環境中的蟋蟀飲食習慣偏向植物食性，可能偶爾打鬥才取食肉類。

3. 昆蟲腸道菌與宿主行為之關係

對昆蟲而言，腸道微生物可協助昆蟲分解食物、降解來自環境中的化合物，供給營養釋放代謝物給昆蟲，進而影響昆蟲生理。目前已經有許多研究證實腸道菌對昆蟲生理、行為產生影響。沙漠蝗蟲腸道共生菌-成團泛菌（*pantoea agglomerans*），能利用腸道代謝物木質素衍生的香草酸來合成癒創木酚，癒創木酚是形成蝗蟲聚集費洛蒙的要素。聚集費洛蒙透過糞便揮發吸引蝗蟲，形成蝗蟲聚集的行為（王四寶、曲爽，2017）。

腸道菌群能通過參與宿主營養代謝影響宿主的攝食行為。接種醋酸桿菌的果實蠅拒絕含蛋白質的食物，而接種乳酸桿菌的果實蠅則喜好碳水化合物化合物的食物（陳好欣等，2021）。腸道菌的共生菌同樣也會影響宿主的覓食選擇。Schmid et al.（2014）以抗生素飼養測定蟋蟀食物消化率，研究發現腸道菌共生菌影響蟋蟀的飲食選擇，抗生素可有效降低蟋蟀腸道菌的數量，而且使蟋蟀產生不同的覓食選擇行為，母蟋蟀偏好食用種子、公蟋蟀偏好食用卵；顯示蟋蟀的進食選擇會受道腸道菌的影響。

昆蟲腸道菌在群體間的傳播，可分為垂直傳播、平行傳播。蜜蜂、白蟻等社會性群居性昆蟲可能在群體內通過糞食性（Coprophagy）和交哺作用（Trophallaxis）獲得，這類的社會性接觸可使個體獲得相關的腸道共生菌。另一種群居昆蟲（例如：蟑螂、蟋蟀）則可能在公共區域排便、攝取食物來傳播細菌，獨居性雌蜂也可能通過在卵附近排便將腸道共生菌傳

遞到子代。這種食糞或其他糞口途徑，對於群體間傳播微生物是相當重要的途徑（郭軍等，2015）。本研究也將運用蟋蟀糞便粉末、腸菌液餵食蟋蟀，進行不同食材組間蟋蟀的腸道菌傳播，以瞭解腸道菌對蟋蟀行為的影響情形。

綜合上述，昆蟲腸道菌協助宿主營養代謝、消化吸收、免疫防禦、改變其擇偶偏好、飲食偏好等生理行為，其研究日漸受到重視且被廣泛應用在醫藥領域、生物科技、農業經濟、畜產養殖上。

（三）黃斑黑蟋蟀鳴聲與社會互動行為分析

1. 黃斑黑蟋蟀的簡介

黃斑黑蟋蟀（*Gryllus bimaculatus*）屬於直翅目，地蟋蟀科，蟲體的頭部為圓形，稍短，比前胸背板稍窄或等寬。翅基部有 2 個黃斑。雄、雌蟲翅膀結構不同，雄蟲翅膀具明顯的渦紋，雌蟲則為直紋。雄蟲前翅第二肘脈特化為發音器，前足脛節基部有聽器。雄蟲可用上翅摩擦發音，有求偶、警示、領域宣示等作用（楊正澤，2002）。



圖 1-1 蟋蟀翅膀比較圖

2. 蟋蟀的鳴叫聲與互動行為的關係

蟋蟀屬於以鳴聲進行種間溝通的鳴蟲，雄蟲透過摩擦翅膀發聲，以達到呼喚雌蟲交配、宣示領域地盤與爭鬥威嚇的社會性溝通的目的。

雄蟲右前翅內側基部有成列鋸齒狀的弦器，左前翅內側有彈器，當鳴叫時雙翅舉起，右翅覆蓋左翅上並與背部形成一定角度，向左右兩側開合，左翅上的彈器摩擦右翅的弦器，造成翅膀前端鏡膜震動，形成鳴聲。

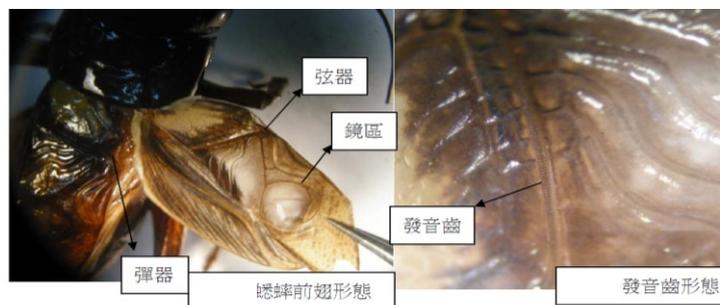


圖 1-2 蟋蟀翅膀上的發聲構造。引自：李俊康（2009），為何蟋蟀總是右翅在上？第 4 頁。

而雄蟲雙翅抬起的角度也與鳴叫聲的頻率和音量有關，翅膀抬起的角度不同，使前翅內的音齒與音鏗以不同的方式摩擦，當角度大時，翅膀摩擦空間範圍大，頻率可以比較快，形

成較急促、高昂的鳴叫聲。角度小時，翅膀摩擦的空間小，不易快速摩擦，形成平穩節奏與聲調較低沉的鳴聲。求偶時，雄蟋蟀翅膀與身體的角度約為 32 度角，此時雄蟋蟀的鳴聲節奏較慢而平緩；相較於鬥爭時，雄蟋蟀翅膀高舉與身體呈現 53 度角，發出較高的聲調與較大的鳴聲（沈旭等，2007）。

鳴聲行為依照其溝通目的，可分為獨處、求偶、示威等鳴聲類型。獨處鳴叫是宣示領域、召喚雌蟲的鳴叫類型，獨處鳴聲通常持續較長的時間、且聲音響亮。當身邊有雌蟲靠近時，雄蟲便會以較為短促的摩翅聲吸引雌蟲進行交配，求偶鳴聲的節奏較為短促。除了召喚雌蟲以外，雄蟋蟀間的爭鬥鳴聲也是常見的鳴叫類型，雄蟲為了驅逐對方摩翅示威，以示威鳴聲驅趕其他雄蟲，示威鳴聲短暫而有力。透過蟋蟀鳴聲的分析，而可以了解其在群體間的互動行為關係。本研究以蟋蟀的獨處鳴聲、求偶鳴聲、示威鳴聲作為分析蟋蟀的社會互動行為。

3. 蟋蟀鳴叫聲的聲學特徵

聲音的頻譜圖與波形圖，可以呈現蟋蟀唧聲的聲學特性，例如：聲音的高低與音量的大小。本研究以蟋蟀鳴叫聲的主頻率、音量與音節長度作為分析項目，探討蟋蟀獨處鳴叫、求偶鳴叫與示威鳴叫的聲音特徵，以了解其社會互動行為的差異。

獨處鳴叫是雄蟲在不受干擾時（例如：無競爭者、無雌蟲）所發出的鳴叫聲，波形圖（圖 2-1）呈現節奏平穩的，由週期重複典型 2~3 個音節所組成。從頻譜圖（圖 2-2）可看到聲波能量集中在一個峰能上。示威鳴叫出現於蟋蟀感受敵對威脅時所發出的鳴叫聲，聲音頻率較為急促，波形圖呈現規律緊密的音節，隨著敵對情況的緊急程度差異，示威鳴叫聲在音節、鳴叫間隔也會有所變化。情況緊急時，示威鳴叫顯得急促、聲音間隔縮小（圖 2-3）。求偶鳴叫聲是吸引雌蟲交配的鳴聲行為，求偶鳴叫最初節奏較為緩慢，逐漸轉為有規律節奏的鳴叫（圖 2-5）（陳道海等，2002）。

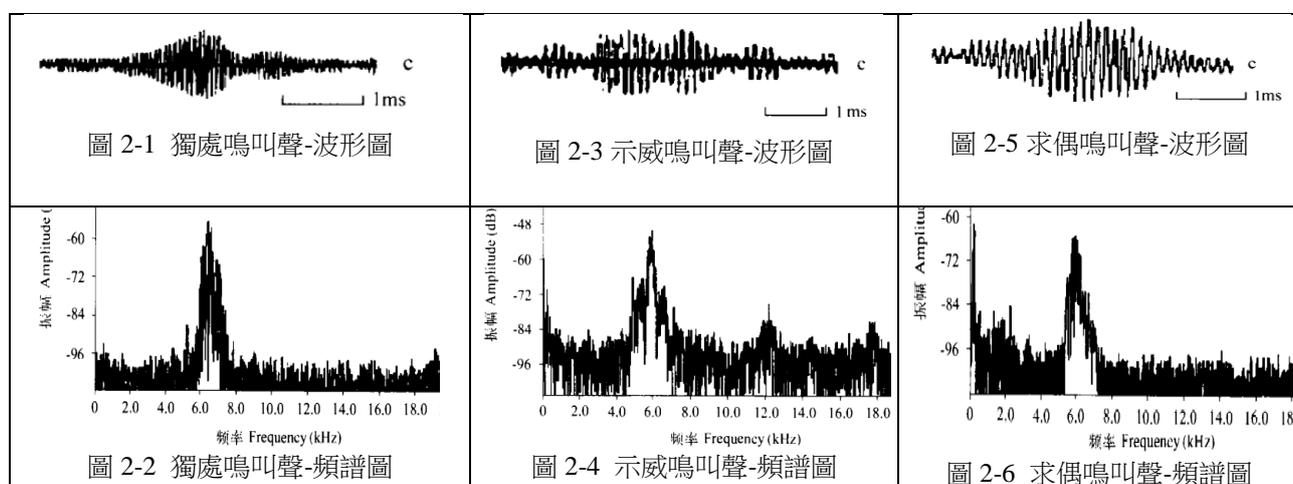


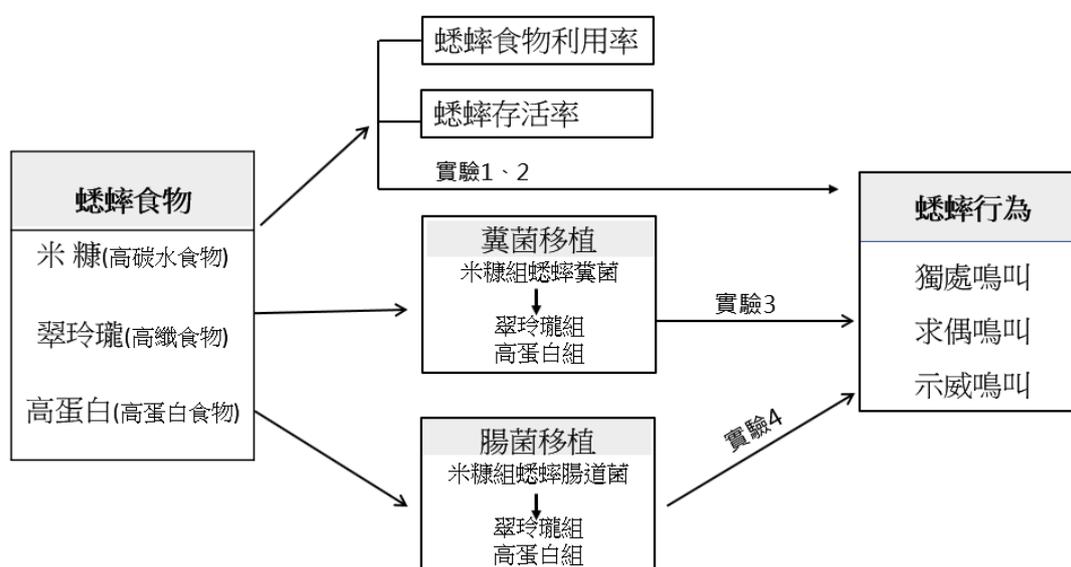
圖 2-1~圖 2-6 蟋蟀鳴聲分析圖。引自：陳道海等（2002），雙斑蟋鳴聲特徵與行為關係的初步研究，291-293 頁。註：雙斑蟋蟀（*Gryllus bimaculatus*）即為黃斑黑蟋蟀。

貳、研究設備及器材

- 一、蟋蟀樣本：人工飼育之黃斑黑蟋蟀（*Gryllus bimaculatus*），購自專業飼育繁殖場。
- 二、不同食材：米糠粉、高蛋白粉、翠玲瓏（鋪地錦竹草 *callisia repens*），俗稱蟋蟀草，是鬥蟋蟀的飼料。
- 三、觀察分析器材：觀察箱（36.5 x 21 x 22 cm³）、觀察盒（10 x 15 x 7cm³）、數位錄音筆、錄影機、溫濕度計、電子秤（50g / 0.001g）。
- 四、實驗儀器：離心機、滅菌釜、高速震盪儀、無菌操作台、解剖顯微鏡、微量滴管、三角玻棒、酒精燈、解剖用具。

參、研究過程與方法

一、實驗設計圖



二、實驗一：探討黃斑黑蟋蟀對三種食物的食物利用率與攝食後存活率

為了瞭解黃斑黑蟋蟀對三種不同營養成分食物（高碳水化合物-米糠、高纖食品-翠玲瓏、高蛋白食品-高蛋白粉）的消化吸收程度，分別進行飼養觀察與紀錄。

（一）飼養方式與環境布置：

1. 以透明塑膠飼養箱（32×20×25cm³）、底層放置全新乾淨蛋盒進行蟋蟀飼養。
2. 將 30 隻蟋蟀分為三組，每組各 10 隻公蟋蟀，各箱中投以米糠（粉末）、翠玲瓏（莖、葉）、高蛋白（粉末）餵食蟋蟀。另外，以米糠飼養雌蟋蟀 10 隻，做為進行蟋蟀求偶行為觀察之研究對象。
3. 每日以微量電子秤稱量 2 g 食物（米糠粉、翠玲瓏莖葉、高蛋白粉）、清水 10ml 餵食蟋蟀。
4. 每日收集蟋蟀糞便後，以酒精擦拭進行飼養箱清潔並更換底層蛋盒。



圖 3-1 三組蟋蟀飼養布置情境圖

(二) 食物利用率計算方式

1. 每日以箱為單位，量秤各組剩食重量後，計算出食物取食量（以餵食量減去剩餘食物量），共統計 10 日。例如：11 月 10 日米糠組，投食 2 g 米糠粉，剩食量為 1300 mg，則計算出取食量為 700 mg。
2. 收集並記錄各組蟋蟀糞便數量，再以微量天平量測各組糞便總重量。
3. 以食物利用率公式 $(1 - \text{糞便重量} / \text{取食量}) \times 100$ ，計算每組蟋蟀的食物利用率。

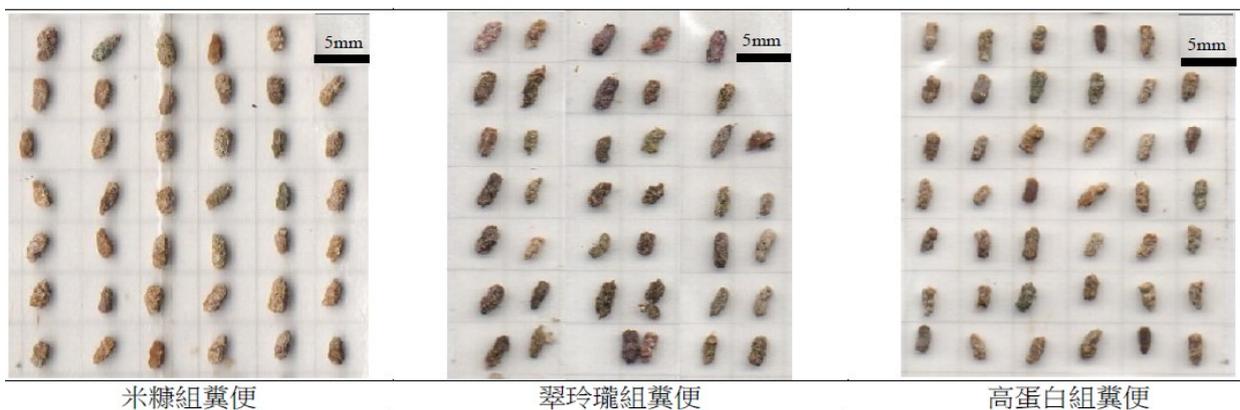


圖 3-2 三組蟋蟀糞便外觀

(三) 黃斑黑蟋蟀存活率統計

1. 餵食不同食物期間，紀錄各組蟋蟀存活狀況。
2. 統計飼養期間各組蟋蟀置養數量與存活數量的比例。

三、實驗二：探討攝食不同食物是否影響黃斑蟋蟀的鳴叫行為

錄音記錄三組蟋蟀之獨處鳴叫聲（calling song）、求偶鳴叫聲（courtship song）、示威鳴叫聲（rival song），分析三組蟋蟀社會互動行為的差異。

(一) 錄音方式說明

1. 將三組蟋蟀分別進行樣蟲標示編碼（1~10）。

- 三組飼養的雄蟋蟀分別排定時間輪流進行錄音。每隻雄蟲置入錄音盒內，錄製其自然鳴叫聲，10分鐘輪流一次，如遇蟋蟀未鳴叫，則待觀察其鳴叫時，再補錄音。運用數位錄音筆以 Wav 格式錄製蟋蟀鳴叫聲，並以康乃爾大學開發的 Raven lite 聲音分析軟體進行分析。



圖 3-3 蟋蟀標示編碼

(二) 錄音程序

- 獨處鳴叫：將單獨一隻雄蟲放在透明盒中，待蟋蟀發出叫聲時開始錄音。
- 示威鳴叫：將兩隻雄蟲放在透明盒中，待蟋蟀發出叫聲時開始錄音。錄製發出示威鳴叫的蟋蟀，另一隻蟋蟀則以毛筆輕刷翅膀抑制其發出聲音。
- 求偶鳴叫：將一隻雄蟲、一隻雌蟲放在透明盒，等雄蟋蟀發出叫聲時開始錄音。錄製完整的求偶呼叫聲，在求偶成功進行交配時中斷錄音。



圖 3-4 蟋蟀鳴聲錄製情境照片

(三) 鳴叫聲音檔處理方式

錄音檔先以 Audacity 音訊編輯軟體轉為單聲道音訊，再以 Raven lite 聲音分析軟體進行分析。每一段錄音檔選取最長鳴叫聲（長唧聲）的段落進行分析，檢測該段鳴叫聲能量最高處的聲音頻率為主頻率。統計每個鳴叫聲的主頻率、音量、與最長鳴叫聲的時間。

四、實驗三：移植真菌是否影響黃斑蟋蟀的鳴叫行為

在餵食不同食物後，食用米糠粉蟋蟀的存活率最高，顯示米糠粉的营养成分有利於蟋蟀的生長，因此，後續以米糠組蟋蟀真菌進行真菌移植，探究米糠真菌移植後，三組蟋蟀社會互動行為的差異。

(一) 研究設計

- 將已餵食翠玲瓏、高蛋白粉達 10 日之兩組蟋蟀，改以添加 0.1% 抗生素水餵養 10 日（抗生素：鹽酸四環素 Tetracycline HCL、安莫西林 Amoxicilin、紅黴素 Erythromycin）。米糠組作為對照組，不餵食抗生素水。

2.進行 10 日之餵養測定，實驗組蟋蟀腸道菌被清除後停止添加抗生素；再將米糠組蟋蟀糞便碾碎混合至翠玲瓏組、高蛋白組食物中，餵食混合米糠糞菌食物 10 日後，觀察並紀錄各組蟋蟀鳴叫行為表現。



圖 3-5 混合米糠組蟋蟀糞菌飼養實驗過程圖

(二) 蟋蟀糞便塗盤

餵食抗生素水前後，採集翠玲瓏、高蛋白組蟋蟀糞便塗盤，確認腸道菌清除效果。

- 1.蒐集翠玲瓏組、高蛋白組餵食抗生素水前與餵食後之蟋蟀糞便。
- 2.各取 0.1g 糞便搗碎成粉狀，分別加入 900 μ l 無菌生理食鹽水中混合均勻。
- 3.烏龜離心 30 秒，吸取 100 μ l 上清液，加入 900 μ l 無菌生理食鹽水中混合均勻。
- 4.重複步驟 2，十倍稀釋至 10^{-6} 倍。
- 5.將稀釋好之糞便菌液，吸取 100 μ l 至 LB 培養基，以滅菌三角玻棒塗抹均勻。
- 6.將菌盤放入恆溫培養箱（25 $^{\circ}$ C）恆溫培養。
- 7.紀錄菌盤結果，比較餵食抗生素水後腸道菌量的改變。

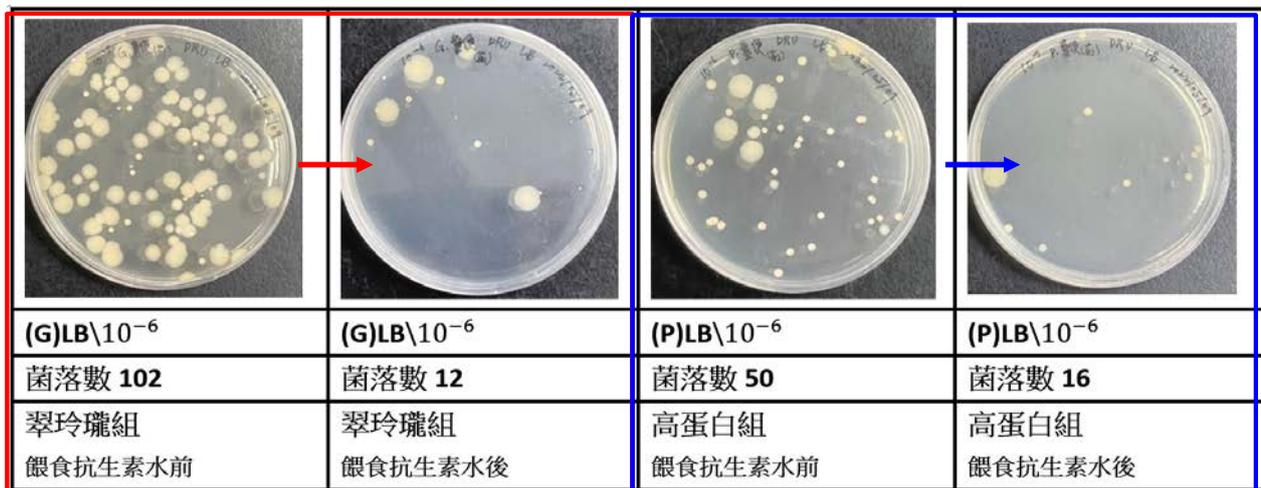


圖 3-6 餵食抗生素水前後，腸道菌變化情形



圖 3-7 蟋蟀糞便塗盤操作圖

(三) 錄音分析蟋蟀鳴叫聲的差異

在餵食混合米糠組糞便達 10 日後，錄製三組蟋蟀之獨處鳴叫聲、求偶鳴叫聲、示威鳴叫聲，分析三組蟋蟀社會互動行為的差異。

四、實驗四：移植腸道菌是否影響黃斑蟋蟀的鳴叫行為

以米糠組糞菌移植探究蟋蟀行為差異後；再進行實驗四，以米糠組腸道菌餵食另兩組蟋蟀，探究米糠組腸道菌移植後，三組蟋蟀社會互動行為的差異。

(一) 研究設計

- 1.將已餵食翠玲瓏、高蛋白粉達 10 日之兩組蟋蟀，改以添加 0.1% 抗生素水餵養 10 日。米糠組作為對照組，不餵食抗生素水。
- 2.進行 10 日之餵養測定，實驗組蟋蟀腸道菌被清除後停止添加抗生素；再將米糠組蟋蟀腸道菌菌液(1ml)滴入滅菌紗布(3×3cm²)，置入至翠玲瓏組、高蛋白組蟋蟀飼養箱中，餵食米糠組腸道菌菌液 10 日後，觀察並紀錄各組蟋蟀鳴叫行為表現。

(二) 蟋蟀糞便塗盤

餵食抗生素水前後，採集翠玲瓏、高蛋白組蟋蟀糞便塗盤，比對確認腸道菌清除效果。操作流程與前一步驟-四(二)相同，做法略。在確認腸道菌清除後，移植米糠組腸道菌。下圖為糞菌塗盤結果：

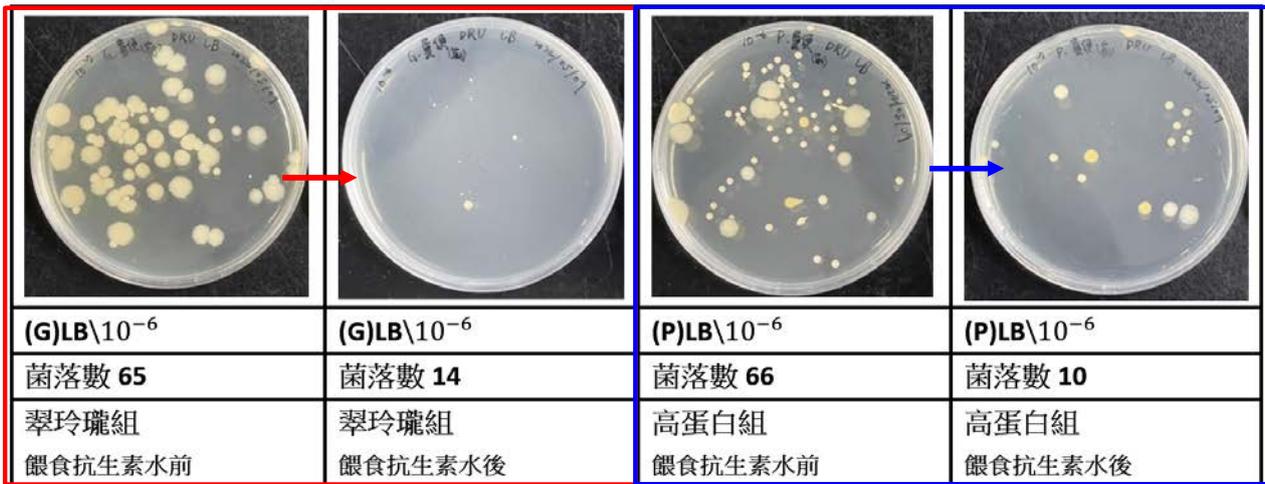


圖 3-8 餵食抗生素水前後，腸道菌變化情形

(三) 分離蟋蟀腸道菌

- 1.解剖蟋蟀後取出腸道組織，置入裝有滅菌生理食鹽水之 1.5ml 離心管中。
- 2.以滅菌鑷子將腸道搗碎，用 Vortex 震盪 5 s 均勻混合，再烏龜離心 5 s 使組織沈澱至離心管底部。
- 3.以微量吸管吸取 100μl 菌液，及 900 μl 滅菌生理食鹽水混合均勻，依此類推將菌液稀釋至 10⁻⁶、10⁻⁷ 倍。
- 4.吸取 100 μl 菌液，以三角玻棒於三種不同培養基(dTSA、LB、MRS)進行塗盤，恆溫培養 24 hr。

5.以 loops 挑選各組不同之細菌，劃成三區純化菌種。

6.用解剖顯微鏡觀察各組蟋蟀腸道菌的外型。



解剖蟋蟀，取出腸道組織

將蟋蟀腸道以滅菌解剖針搗碎

圖 3-9 分離蟋蟀腸道菌操作圖

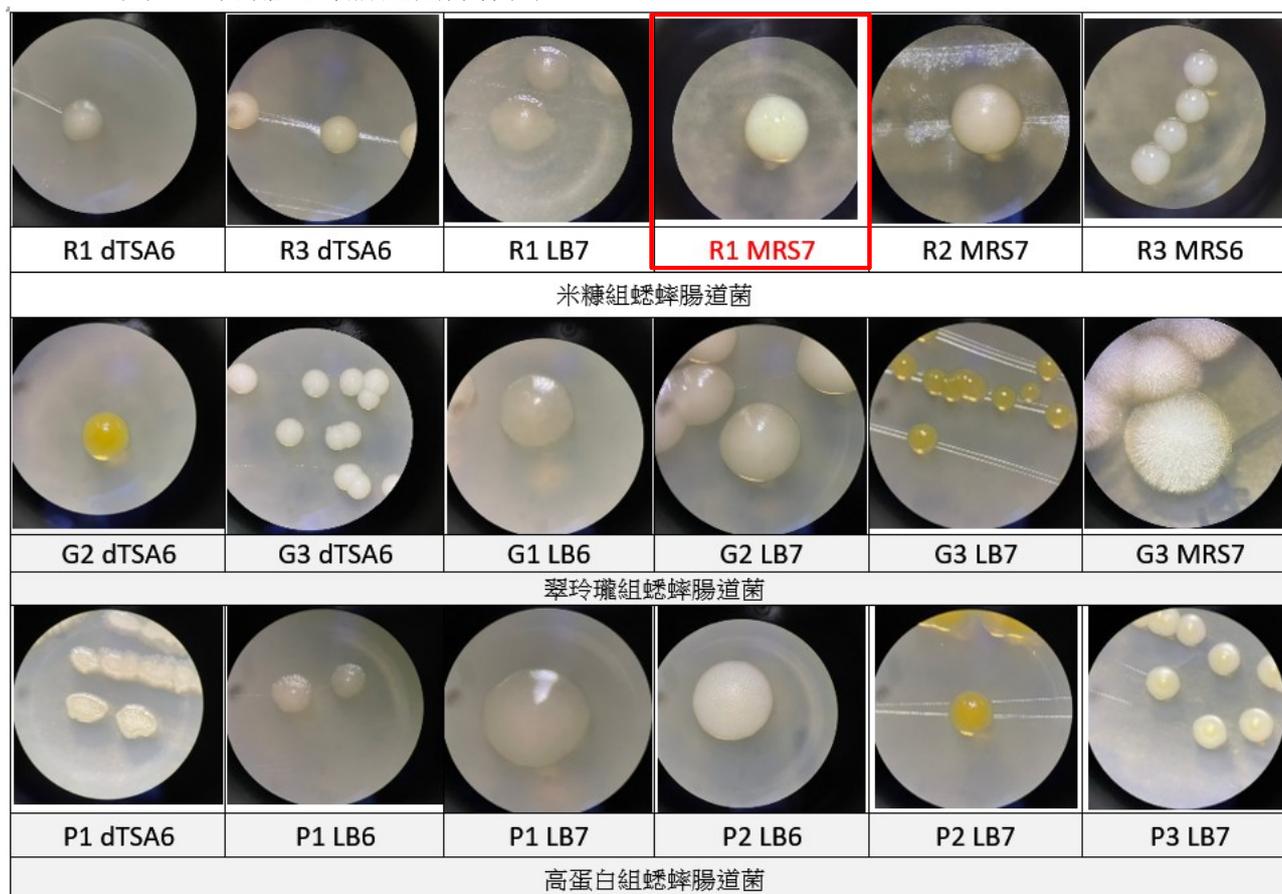


圖 3-10 蟋蟀腸道菌外型觀察

(四) 製作米糠組蟋蟀腸道菌液

- 1.從米糠組蟋蟀腸道分離出的菌中，挑選出翠玲瓏組、高蛋白組沒有的菌。比對菌的外觀，發現 R1MRS7 菌是另外兩組蟋蟀腸道菌所沒有的，因此選用 R1MRS7 菌，製成腸道菌液(註：R1MRS7 的菌種後經鑑定為植物乳桿菌 *Lactobacillus plantarum*)。
- 2.以 loops 挑選米糠組蟋蟀腸道菌(R1MRS7)，置入裝有 50 ml LB 培養液之 100 ml 血清瓶中混合均勻。
- 3.菌液恆溫培養 24 hr 後，將菌液混合 LB 配製好($OD_{600}=1$)，並分裝至 1.5 ml 離心管。
- 4.分裝好的米糠組蟋蟀腸道菌菌液冷藏保存，分批餵食蟋蟀。



圖 3-11 蟋蟀腸道菌液製作過程

(五) 錄音分析蟋蟀鳴叫聲的差異：在餵食米糠組蟋蟀腸道菌液達 10 日後，錄製三組蟋蟀鳴叫聲，分析互動行為差異。

肆、研究結果

一、黃斑黑蟋蟀對三種食物的食物利用率與攝食後存活率

(一) 蟋蟀對不同食物的利用率

食物利用率平均以翠玲瓏組最高 96.14 %、其次為米糠組 77.76 %，高蛋白組最低 67.29 %。翠玲瓏組的取食量大、糞便重量小（平均值 2.05 mg/顆）。在糞便外觀的觀察上，翠玲瓏組的排泄物摻雜水便，固態的糞便重量較輕。而同樣食用乾燥粉末型食物的米糠與高蛋白組中，高蛋白組的平均糞便重量大於米糠組（2.51 mg/顆 > 2.31 mg/顆），蟋蟀對高蛋白粉的消化率低於其他食物。

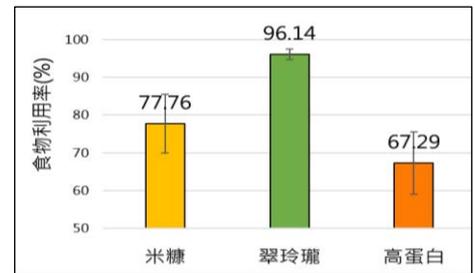


圖 4-1 不同組蟋蟀平均食物利用率

(二) 餵食不同食物蟋蟀的存活率

翠玲瓏組平均存活率最低 24.75%，米糠組最高 81%，高蛋白組 73.75%。飼養過程發現翠玲瓏組蟋蟀的活動力因餵食天數增加，活動力下降的情形、出現水便排遺的現象，且死亡個體多數蟲體被同伴吃掉而殘缺不全。其餘兩組，死亡蟲體完整的比例較高。翠玲瓏組蟋蟀疑為補充需要的營養，而吃掉死亡蟲體。

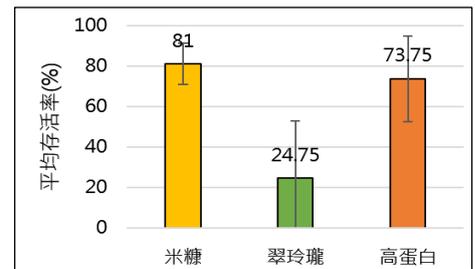


圖 4-2 不同組蟋蟀平均存活率比較圖

二、蟋蟀社會互動行為-鳴叫聲音差異比較

(一) 餵食不同食物蟋蟀的獨處鳴叫分析

1. 主頻率：米糠組 5798.20 Hz、翠玲瓏組 5721.83 Hz、高蛋白組 5831.63 Hz。高蛋白組平均主頻率最高，翠玲瓏組最低。三組主頻率無顯著差異（ $F=1.32$ ， $p=.276$ ）。

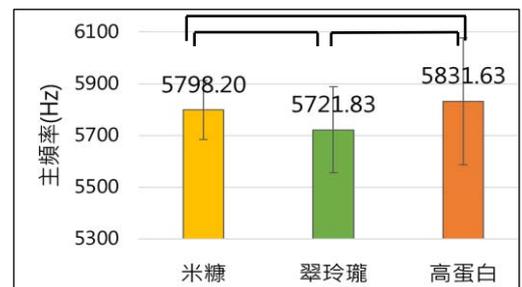


圖 4-3 不同組獨處鳴叫主頻率比較圖

表 4-1 蟋蟀獨處鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=12)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5798.20	113.86	5721.83	165.88	5831.63	244.88	1.32	.276

2. 音量

米糠組 71.63 dB、翠玲瓏組 59.53 dB、高蛋白組 73.37 dB。米糠組、高蛋白組蟋蟀平均音量值相近，而翠玲瓏組鳴聲音量最低。三組獨處鳴叫音量達顯著差異 (F=13.45, $p = .000$)，由於變異數不相等 (Levene 檢定=5.91, $p = .005$)，以 Games-Howell 進行比較。翠玲瓏組顯著低於米糠組 (-12.10 dB, $p = .012$)、高蛋白組 (-13.84 dB, $p = .005$)。

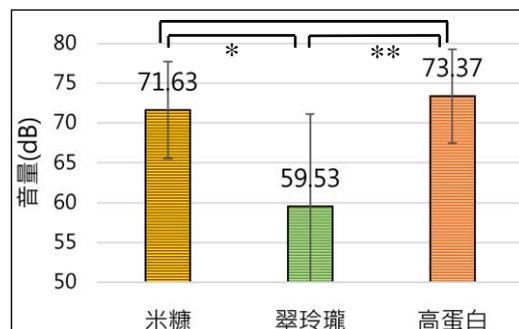


圖 4-4 不同食物組獨處鳴叫音量比較圖

表 4-2 蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=12)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 dB	71.63	6.05	59.53	11.59	73.37	5.89	13.45***	.000

*** $p < .001$

表 4-3 蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (dB)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	12.10*	.012
	高蛋白	-1.74	.638
翠玲瓏 (n=12)	米糠	-12.10*	.012
	高蛋白	-13.84**	.005
高蛋白 (n=19)	米糠	1.74	.638
	翠玲瓏	13.84**	.005

* $p < .05$, ** $p < .01$

3. 最長音節

米糠組平均最長鳴叫 132.98 s、翠玲瓏組 30.64 s、高蛋白組 87.68 s。三組處鳴叫時間最長的是米糠組蟋蟀，最長鳴叫音節可達 428.95s；翠玲瓏組音節最短。

三組最長音節達到顯著差異 (F= 9.57, $p = .000$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定=4.03, $p = .024$)，以 Games-Howell 進行差異比較。統計發現翠玲瓏組顯著小於米糠組 (-102.34 s, $p = .000$) 與高蛋白組 (-57.03 s, $p = .001$)。

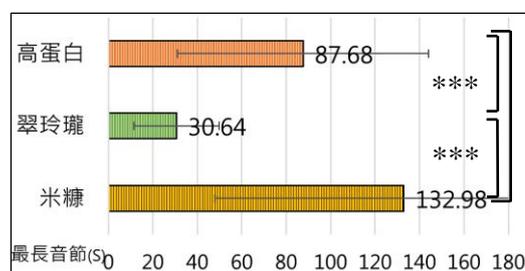


圖 4-5 不同組獨處鳴叫最長音節比較圖

表 4-4 蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=12)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	132.98	84.91	30.64	19.18	87.68	56.48	9.57***	.000

*** $p < .001$

表 4-5 蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	102.34***	.000
	高蛋白	45.30	.135
翠玲瓏 (n=12)	米糠	-102.34***	.000
	高蛋白	-57.03***	.001
高蛋白 (n=19)	米糠	-45.30	.135
	翠玲瓏	57.03***	.001

*** p<.001

4.鳴叫次數：獨處鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 20 筆音檔、翠玲瓏組 12 筆、高蛋白組為 19 筆。鳴叫次數的比例分別為，米糠組 39%、翠玲瓏組 24%、高蛋白組 37%。

(二) 蟋蟀社會互動分析-求偶鳴叫

1.主頻率

米糠組 5797.70 Hz、翠玲瓏組 5739.77 Hz、高蛋白組為 5695.11 Hz。米糠組主頻率最高，高蛋白組最低。三組蟋蟀求偶鳴叫主頻率無顯著差異 ($F= 2.29$, $p = .113$)。

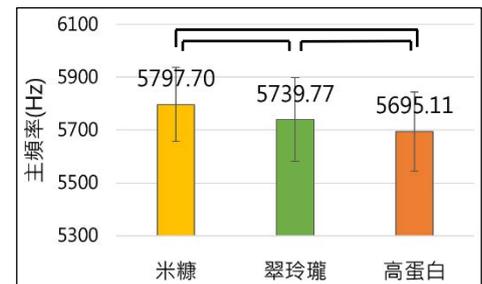


圖 4-6 不同食物組求偶鳴叫主頻率

表 4-6 蟋蟀求偶鳴聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=13)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5797.70	140.35	5739.77	158.06	5695.11	149.71	2.29	.113

2.音量：

在求偶鳴叫的音量部分，米糠組 64.94 dB、翠玲瓏組 62.37 dB、高蛋白組 63.94 dB。米糠組求偶鳴聲平均音量最高，而翠玲瓏組的鳴聲音量最低。三組求偶鳴聲的音量，無顯著差異 ($F=0.4$, $p = .672$)。

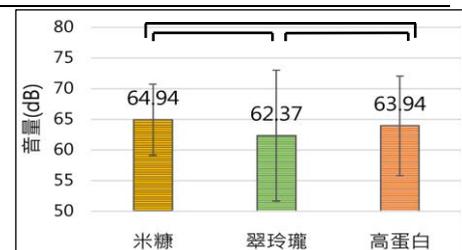


圖 4-7 不同組求偶鳴叫音量比較圖

表 4-7 蟋蟀求偶鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=13)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 dB	64.94	5.80	62.37	10.64	63.94	8.13	0.4	.672

3.最長音節

米糠組 117.71 s、翠玲瓏組 50.06 s、高蛋白組 65.92 s。米糠組蟋蟀求偶鳴叫較長，最長鳴叫音節可達 350s；翠玲瓏組蟋蟀平均音節最短。三組求偶鳴聲音節達顯著差異 ($F= 7.03$, $p = .002$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定 =3.96 , $p = .026$)，以 Games-Howell 進行差異比較。

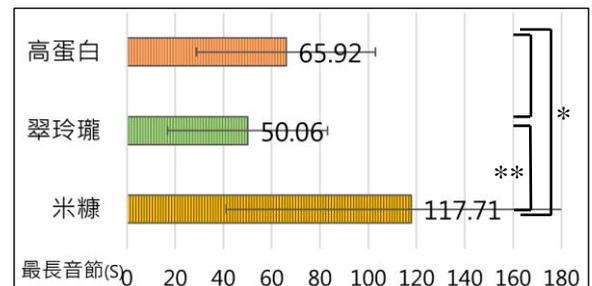


圖 4-8 不同食物組求偶鳴叫最長音節比較圖

統計結果發現米糠組顯著大於翠玲瓏組 (67.65 s , $p = .005$) 與高蛋白組 (51.78 s , $p = .031$)。

表 4-8 蟋蟀求偶鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=13)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	117.71	76.61	50.06	33.14	65.92	37.15	7.03**	.002

** p < .01

表 4-9 蟋蟀求偶鳴叫-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	67.65**	.005
	高蛋白	51.78*	.031
翠玲瓏 (n=13)	米糠	-67.65**	.005
	高蛋白	-15.87	.435
高蛋白 (n=18)	米糠	-51.78*	.031
	翠玲瓏	15.87	.435

*p<.05, ** p< .01

4.鳴叫次數：三組蟋蟀取得錄音檔次數：米糠組為 20 筆音檔、翠玲瓏組 13 筆、高蛋白組 18 筆。蟋蟀求偶鳴叫次數的比例分別為，米糠組 39%、翠玲瓏組 26%、高蛋白組 35%。

(三) 蟋蟀社會互動分析-示威鳴叫

1.主頻率：米糠組 5765.95 Hz、翠玲瓏組 5833.93 Hz、高蛋白組 5743.53 Hz。翠玲瓏組的平均主頻率最高。三組主頻率達顯著差異 (F= 4.08, p = .023)。由於變異數相等 (Levene 檢定=1.45, p = .244)，以 LSD 進行差異比較，翠玲瓏組顯著高於米糠組 (67.99 Hz, p = .039) 與高蛋白組 (90.4 Hz, p = .008)。



圖 4-9 不同食物組示威鳴叫主頻率比較圖

表 4-10 蟋蟀示威鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=19)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5765.95	108.01	5833.93	76.29	5743.53	86.63	4.08*	.023

*p<.05

表 4-11 蟋蟀示威鳴叫-主頻率平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (Hz)	p 值
米糠 (n=19)	翠玲瓏	-67.99*	.039
	高蛋白	22.42	.472
翠玲瓏 (n=15)	米糠	67.99*	.039
	高蛋白	90.4**	.008
高蛋白 (n=17)	米糠	-22.42	.472
	翠玲瓏	-90.4**	.008

*p<.05, ** p< .01

2.音量

示威鳴叫部分，米糠組平均音量為 62.86 dB、翠玲瓏組 66.21 dB、高蛋白組 67.91 dB。三組蟋蟀的示威鳴叫，音量平均的變異數分析未達顯著差異 (F=1.42, p = .251)。

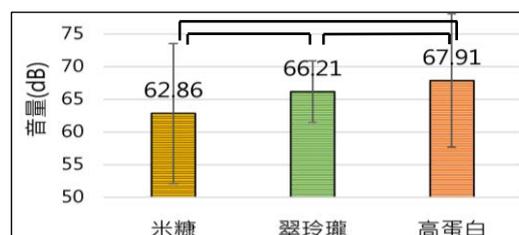


圖 4-10 同食物組示威鳴叫音量比較圖

表 4-12 蟋蟀示威鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=19)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (dB)	62.86	10.70	66.21	4.71	67.91	10.19	1.42	.251

3.最長音節

米糠組 19.87 s、翠玲瓏組 11.93 s、高蛋白組為 24.62 s。示威鳴叫較為短促，是因為雄蟲互相趨近彼此示警，通常對方聽到示威鳴叫聲後，隨即離開；因此示威鳴叫的音節長度較短。示威鳴叫時間最長的是高蛋白組蟋蟀，最長鳴叫音節可達 66 s；翠玲瓏組音節最短。

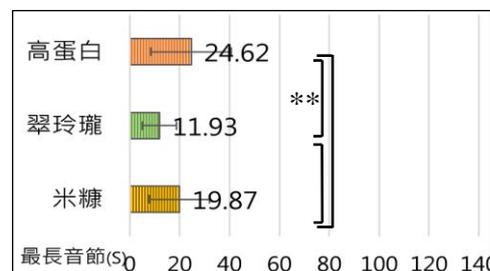


圖 4-11 不同食物組示威鳴叫音長比較圖

三組示威鳴聲最長音節達顯著差異 ($F=4.2$, $p=.021$)。由於變異數相等 (Levene 檢定=2.51, $p=.092$)，以 LSD 進行差異比較，統計結果發現翠玲瓏組示威鳴叫音長顯著小於高蛋白組 (-12.68 s, $p=.006$)。

表 4-13 蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=19)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 48)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節 S	19.87	12.12	11.93	6.78	24.62	16.09	4.20*	.021

* $p < .05$

表 4-14 蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=19)	翠玲瓏	7.94	.071
	高蛋白	-4.74	.259
翠玲瓏 (n=15)	米糠	-7.94	.071
	高蛋白	-12.68**	.006
高蛋白 (n=17)	米糠	4.74	.259
	翠玲瓏	12.68**	.006

** $p < .01$

4.鳴叫次數：示威鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 19 筆音檔、翠玲瓏 15 筆、高蛋白組 17 筆。示威鳴叫次數的比例分別為，米糠組 37%、翠玲瓏組 30%、高蛋白組 33%。

三、糞菌影響蟋蟀社會互動行為-鳴叫聲音差異比較

(一) 餵食混合糞菌食物之蟋蟀的獨處鳴叫分析

1.主頻率

各組主頻率平均值：米糠組 5816.75 Hz、翠玲瓏組 5755.53 Hz、高蛋白組 5813.06 Hz。米糠組平均主頻率最高，翠玲瓏組最低。三組蟋蟀獨處鳴叫主頻率無顯著差異 ($F=1.22$, $p=.302$)。

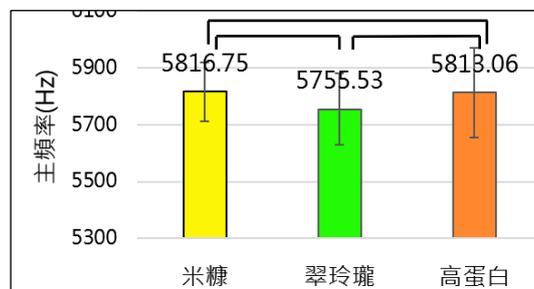


圖 4-12 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫主頻率比較

表 4-15 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 52)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5816.75	104.14	5755.53	126.69	5813.06	157.6	1.22	.302

2.音量

米糠組平均音量為 72.02 dB、翠玲瓏組 64.34 dB、高蛋白組 73.49 dB。米糠組、高蛋白組蟋蟀獨處鳴叫聲的平均音量值相近，而翠玲瓏組的鳴聲音量最低。三組平均音量達顯著差異 ($F=10.47$, $p = .000$)，由於變異數相等 (Levene 檢定=0.45, $p = .641$)，以 LSD 進行差異比較。統計結果發現米糠組顯著高於翠玲瓏組 7.67 dB ($p = .001$)、高蛋白組顯著高於翠玲瓏組 9.15 dB ($p = .000$)。

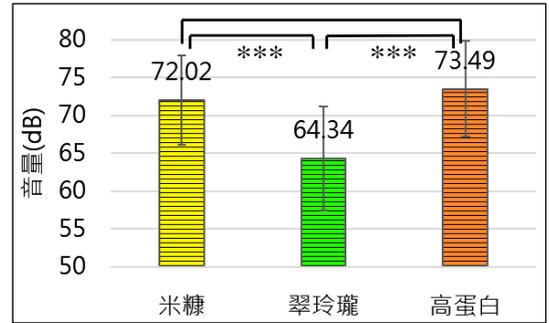


圖 4-13 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫音量比較圖

表 4-16 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2,52)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 dB	72.02	5.92	64.34	6.85	73.49	6.32	10.47***	.000

*** $p < .001$

表 4-17 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (dB)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	7.67***	.001
	高蛋白	-1.48	.477
翠玲瓏 (n=17)	米糠	-7.67***	.001
	高蛋白	-9.15***	.000
高蛋白 (n=18)	米糠	1.48	.477
	翠玲瓏	9.15***	.000

*** $p < .001$

3.最長音節

在最長音節部分，米糠組 108.17 s、翠玲瓏組 55.23 s、高蛋白組 91.54 s。獨處鳴叫時間最長的是米糠組蟋蟀，最長鳴叫音節可達 195 s，其次為蛋白組，最短的是翠玲瓏組。最長音節變異數分析達顯著差異 ($F= 10.42$, $p = .000$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定

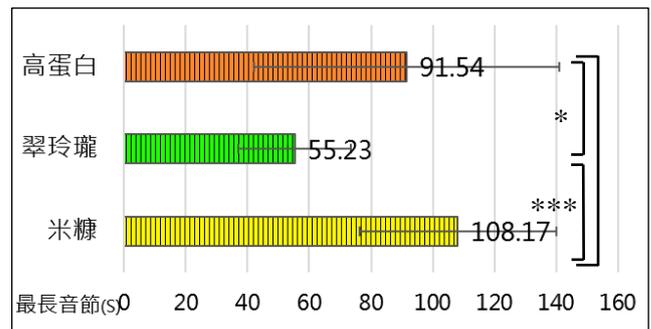


圖 4-14 餵食糞菌獨處鳴叫最長音節比較圖

=7.74, $p = .001$)，以 Games-Howell 進行差異比較。統計結果發現米糠組顯著多於翠玲瓏組 52.94 s ($p = .000$)、高蛋白組顯著多於翠玲瓏組 36.31 s ($p = .021$)。

表 4-18 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 52)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	108.17	31.93	55.23	18.21	91.54	49.35	10.42***	.000

*** $p < .001$

表 4-19 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	52.94***	.000
	高蛋白	16.63	.452
翠玲瓏 (n=17)	米糠	-52.94***	.000
	高蛋白	-36.31*	.021
高蛋白 (n=18)	米糠	-16.63	.452
	翠玲瓏	36.31*	.021

*p<.05, *** p<.001

4.鳴叫次數：獨處鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 20 筆音檔、翠玲瓏組 17 筆、高蛋白組 18 筆。獨處鳴叫次數的比例分別為，米糠組 36%、翠玲瓏組 31%、高蛋白組 33%。

(二) 餵食混合糞菌食物之蟋蟀的求偶鳴叫分析

1.主頻率：米糠組 5780.2 Hz、翠玲瓏組 5869.63 Hz、高蛋白組 5712.14 Hz。翠玲瓏組主頻率最高，高蛋白組最低。三組求偶鳴聲平均主頻率達顯著差異 (F=7.34, p = .001)。由於變異數相等 (Levene 檢定=0.268, p = .766)，以 LSD 進行差異比較。

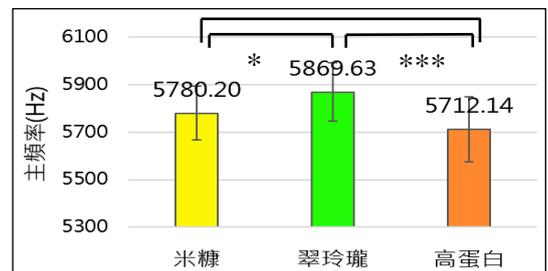


圖 4-15 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫主頻率比較

翠玲瓏組顯著高於米糠組 89.43 Hz (p = .038) 與高蛋白組 157.49 Hz (p = .000)。

表 4-20 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=22)		F 值 (2, 55)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5780.2	112.51	5869.63	122.61	5712.14	137.07	7.34***	.001

*** p<.001

表 4-21 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-主頻率平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (Hz)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	-89.43*	.038
	高蛋白	68.06	.084
翠玲瓏 (n=16)	米糠	89.43*	.038
	高蛋白	157.49***	.000
高蛋白 (n=22)	米糠	-68.06	.084
	翠玲瓏	-157.49***	.000

*p<.05, *** p<.001

2.音量：米糠組平均音量為 61.3 dB、翠玲瓏組 69.53 dB、高蛋白組 63.45 dB。翠玲瓏組求偶鳴聲音量最高。三組平均達顯著差異 (F=6.25, p = .004)。由於變異數相等 (Levene 檢定=2.94, p = .061)，以 LSD 進行差異比較。翠玲瓏組求偶音量顯著大於米糠組 8.24 dB (p = .001) 與高蛋白組 6.08 dB (p = .012)。

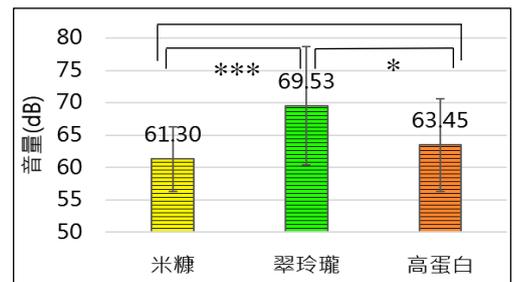


圖 4-16 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫音量比較圖

表 4-22 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=22)		F 值 (2, 55)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (dB)	61.3	4.94	69.53	9.1	63.45	7.19	6.25**	.004

** p < .01

表 4-23 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-音量平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (dB)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	-8.24***	.001
	高蛋白	-2.16	.331
翠玲瓏 (n=16)	米糠	8.24***	.001
	高蛋白	6.08*	.012
高蛋白 (n=22)	米糠	2.16	.331
	翠玲瓏	-6.08*	.012

*p < .05, ** p < .01, *** p < .001

3. 最長音節

米糠組 109.25 s、翠玲瓏組 62.31 s、高蛋白組 72.69 s。米糠組求偶鳴叫音節最長。三組音節平均數達顯著差異 (F= 4.86, p = .011)。由於變異數相等 (Levene 檢定 = 3.14, p = .051)，以 LSD 進行差異比較。

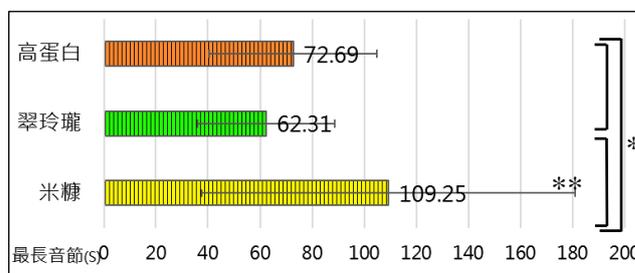


圖 4-17 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫最長音節比較圖

統計結果發現米糠組顯著大於翠玲瓏組 (46.93 s, p = .006) 與高蛋白組 (36.56 s, p = .018)。

表 4-24 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=20)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=22)		F 值 (2, 55)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (s)	109.25	71.78	62.31	26.28	72.69	32.11	4.86*	.011

* p < .05

表 4-25 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫聲-最長音節平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=20)	翠玲瓏	46.93**	.006
	高蛋白	36.56*	.018
翠玲瓏 (n=16)	米糠	-46.93**	.006
	高蛋白	-10.37	.519
高蛋白 (n=22)	米糠	-36.56*	.018
	翠玲瓏	10.37	.519

*p < .05, ** p < .01

4. 鳴叫次數：

求偶鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 20 筆音檔、翠玲瓏組 16 筆、高蛋白組 22 筆。求偶鳴叫次數的比例分別為，米糠組 34%、翠玲瓏組 28%、高蛋白組 38%。

(三) 餵食混合糞菌食物之蟋蟀的示威鳴叫分析

1.主頻率：米糠組 5790.86 Hz、翠玲瓏組 5713.06 Hz、高蛋白組 5816.47 Hz。蛋白組的平均主頻率最高。三組主頻率達顯著差異 ($F= 3.46$, $p = .039$)。由於變異數相等 (Levene 檢定= 0.028 , $p = .973$) , 以 LSD 進行差異比較, 高蛋白組顯著高於翠玲瓏組 103.41 Hz ($p = .014$)。

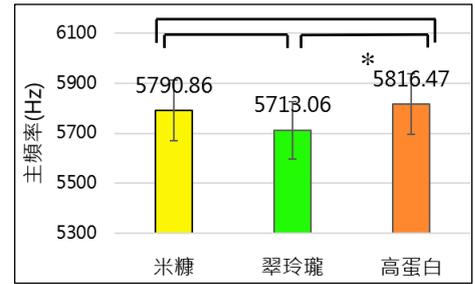


圖 4-18 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫主頻率

表 4-26 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=21)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 53)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5790.86	121.53	5713.06	114.84	5816.47	121.26	3.46*	.039

* $p < .05$

表 4-27 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫-主頻率平均數 LSD 事後檢定多重比較表* $p < .05$

組別	組別	平均差異 (Hz)	p 值
米糠 (n=21)	翠玲瓏	77.8	.055
	高蛋白	-25.62	.502
翠玲瓏 (n=16)	米糠	-77.8	.055
	高蛋白	-103.41*	.014
高蛋白 (n=19)	米糠	25.62	.502
	翠玲瓏	103.41*	.014

2.音量：在示威鳴叫的音量部分, 米糠組平均音量為 65.86 dB、翠玲瓏組平均音量為 64.17 dB、高蛋白組平均音量為 68.54 dB。三組示威鳴叫音量平均的變異數分析未達顯著差異 ($F=1.19$, $p = .312$)。

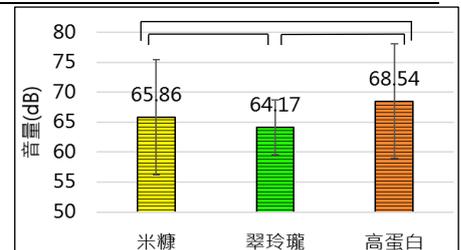


圖 4-19 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫音量

表 4-28 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=21)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 53)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (dB)	65.86	9.65	64.17	4.53	68.54	9.61	1.19	.312

3.最長音節

米糠組 20.45s、翠玲瓏組 12.81 s、高蛋白組 26.56 s。示威鳴叫音節最長的是高蛋白組, 最長音節可達 66.7 s; 翠玲瓏組鳴叫音節最短, 持續時間最短為 3.5 s。

最長鳴叫聲平均的變異數分析達顯著差異 ($F= 5.08$, $p = .01$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定= 3.65 , $p = .033$) , 以 Games-Howell 進行差異比較。統計結果發現翠玲瓏組顯著小於米糠組 7.63 s ($p = .043$)、與高蛋白組 13.75 s ($p = .01$)。

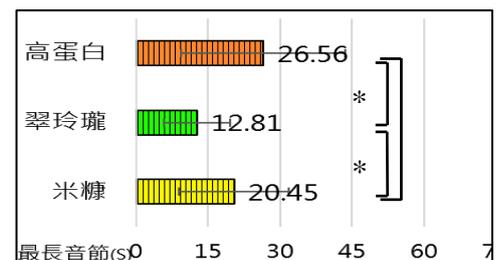


圖 4-20 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫最長音節

表 4-29 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=21)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=19)		F 值 (2, 53)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	20.45	11.41	12.81	6.91	26.56	17.08	5.08*	.01

* p < .05

表 4-30 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=21)	翠玲瓏	7.63*	.043
	高蛋白	-6.12	.396
翠玲瓏 (n=16)	米糠	-7.63*	.043
	高蛋白	-13.75*	.01
高蛋白 (n=19)	米糠	6.12	.396
	翠玲瓏	13.75*	.01

*p < .05

4.鳴叫次數：示威鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 21 筆音檔、翠玲瓏組 16 筆、高蛋白組 19 筆。示威鳴叫次數的比例分別為，米糠組 37%、翠玲瓏組 29%、高蛋白組 34%。

四、腸道菌影響蟋蟀社會互動行為-鳴叫聲音差異比較

(一) 餵食混合腸道菌食物之蟋蟀的獨處鳴叫分析

1.主頻率：米糠組 5829.06 Hz、翠玲瓏組 5748.88 Hz、高蛋白組 5766.78Hz。米糠組鳴叫聲的平均主頻率最高，翠玲瓏組最低。三組蟋蟀獨處鳴叫主頻率無顯著差異 (F= 1.5, p = .234)。

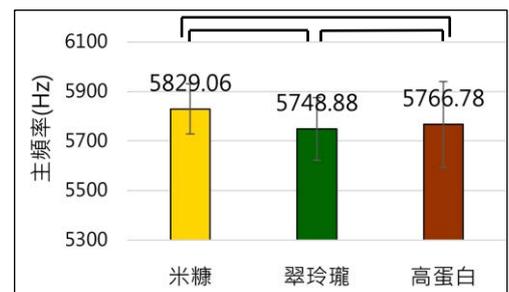


圖 4-21 餵食腸道菌獨處鳴叫主頻率比較圖

表 4-31 餵食腸道菌蟋蟀獨處鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=16)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5829.06	100.9	5748.88	125.53	5766.78	172.78	1.5	.234

2.音量：在獨處鳴叫的音量部分，米糠組平均音量為 70.17 dB、翠玲瓏組平均音量為 64.64dB、高蛋白組平均音量為 71.48dB。米糠組、高蛋白組獨處鳴叫聲平均音量值相近，翠玲瓏組平均音量最低。三組獨處鳴叫音量達顯著差異 (F=4.56, p = .015)，由於

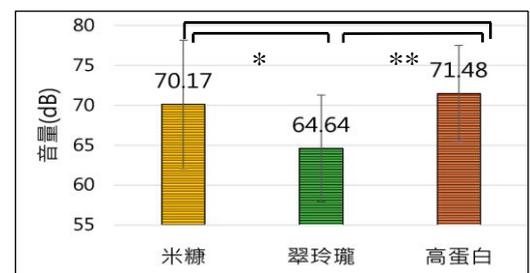


圖 4-22 餵食腸道菌獨處鳴叫音量比較圖

變異數相等 (Levene 檢定=.231, p = .794)，以 LSD 進行差異比較，統計結果發現米糠組顯著高於翠玲瓏組 5.53 dB (p = .028)、高蛋白組顯著高於翠玲瓏組 6.85 dB (p = .006)。

表 4-32 餵食腸道菌蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=16)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2,47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 dB	70.17	8.01	64.64	6.66	71.48	6.04	4.56*	.015

* p < .05

表 4-33 餵食腸道菌蟋蟀獨處鳴叫聲-音量平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (dB)	p 值
米糠 (n=16)	翠玲瓏	5.53*	.028
	高蛋白	-1.32	.583
翠玲瓏 (n=16)	米糠	-5.53*	.028
	高蛋白	-6.85**	.006
高蛋白 (n=18)	米糠	1.32	.583
	翠玲瓏	6.85**	.006

* $p < .05$, ** $p < .01$

3. 最長音節

米糠組 93.34 s、翠玲瓏組 51.69 s、高蛋白組 84.62 s。米糠組>蛋白組>翠玲瓏組。平均數達顯著差異 ($F=13.15$, $p = .000$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定 =5.67, $p = .006$)，以 Games-Howell 進行差異比較，米糠組顯著大於翠玲瓏組 41.65 s ($p = .000$)、高蛋白組顯著大於翠玲瓏組 32.93 s ($p = .003$)。

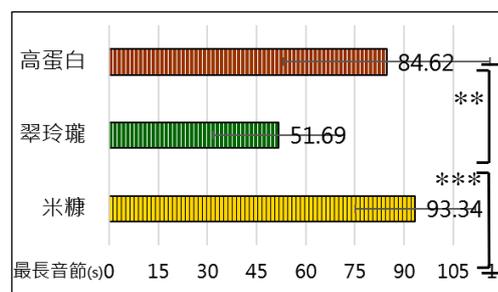


圖 4-23 餵食腸道菌獨處鳴叫最長音節

表 4-34 餵食腸道菌蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=16)		翠玲瓏 (n=16)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	93.34	18.34	51.69	19.97	84.62	31.44	13.15***	.000

*** $p < .001$

表 4-35 餵食腸道菌蟋蟀獨處鳴叫聲-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=16)	翠玲瓏	41.65***	.000
	高蛋白	8.72	.582
翠玲瓏 (n=16)	米糠	-41.65***	.000
	高蛋白	-32.93**	.003
高蛋白 (n=18)	米糠	-8.72	.582
	翠玲瓏	32.93**	.003

** $p < .01$, *** $p < .001$

4. 鳴叫次數：獨處鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 16 筆音檔、翠玲瓏組 16 筆、高蛋白組 18 筆。獨處鳴叫次數的比例分別為，米糠組 32%、翠玲瓏組 32%、高蛋白組 36%。

(二) 餵食混合腸道菌食物之蟋蟀的求偶鳴叫分析

1. 主頻率：米糠組 5770.56 Hz、翠玲瓏組 5808.4 Hz、高蛋白組 5696.88 Hz。翠玲瓏組平均主頻率最高，高蛋白組最低。三組平均數達顯著差異 ($F=3.83$, $p = .029$)。由於變異數相等 (Levene 檢定 =0.49, $p = .616$)，以 LSD 進行差異比較，翠玲瓏組顯著高於高蛋白組 111.52 Hz ($p = .010$)。

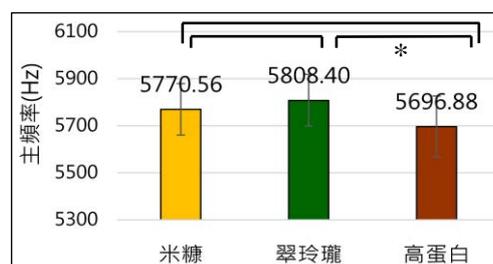


圖 4-24 餵食腸道菌求偶鳴叫主頻率比較圖

表 4-36 餵食腸道菌蟋蟀求偶鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=18)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5770.56	109.66	5808.4	110.5	5696.88	128.93	3.83*	.029

* p < .05

表 4-37 餵食腸道菌蟋蟀求偶鳴叫聲-主頻率平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (Hz)	p 值
米糠 (n=18)	翠玲瓏	-37.84	.359
	高蛋白	73.67	.068
翠玲瓏 (n=15)	米糠	37.84	.359
	高蛋白	111.52*	.010
高蛋白 (n=17)	米糠	-73.67	.068
	翠玲瓏	-111.52*	.010

*p < .05

2. 音量：

求偶鳴叫音量的平均值，米糠組 61.9 dB、翠玲瓏組 67.27 dB、高蛋白組 64.82dB。翠玲瓏組平均音量最高。三組求偶鳴叫音量平均數未達顯著差異 (F=2.14, p = .129)。

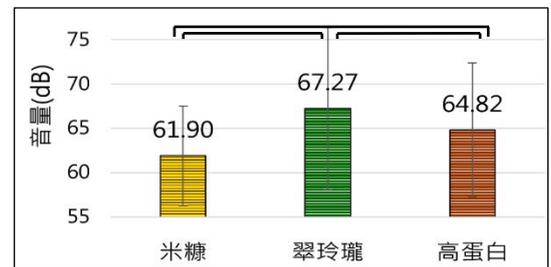


圖 4-2 餵食腸菌求偶鳴叫音量比較圖

表 4-38 餵食腸道菌蟋蟀求偶鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=18)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 dB	61.9	5.62	67.27	9.13	64.82	7.55	2.14	.129

3. 最長音節

米糠組 84.82 s、翠玲瓏組 58.67 s、高蛋白組 65.82 s。米糠組求偶鳴聲最長。三組最長音節達顯著差異 (F= 6.39, p = .003)。由於變異數相等 (Levene 檢定=0.03, p = .969)，以 LSD 進行差異比較，米糠組顯著大於翠瓏組 (26.15 s, p = .001) 與高蛋白組 (18.99 s, p = .014)。

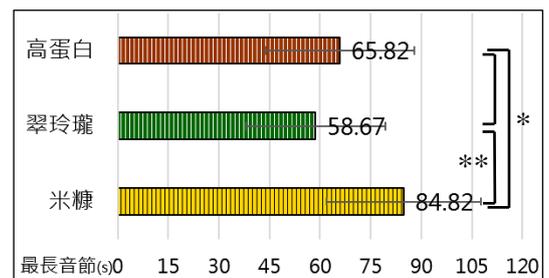


圖 4-2 餵食腸菌求偶鳴叫最長音節

表 4-39 餵食腸道菌蟋蟀求偶鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=18)		翠玲瓏 (n=15)		高蛋白 (n=17)		F 值 (2, 47)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (s)	84.82	22.79	58.67	20.75	65.82	22.07	6.39**	.003

** p < .01

表 4-40 餵食腸道菌蟋蟀求偶鳴叫聲-最長音節平均數 LSD 事後檢定多重比較表

組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=18)	翠玲瓏	26.15**	.001
	高蛋白	18.99*	.014
翠玲瓏 (n=15)	米糠	-26.15**	.001
	高蛋白	-7.16	.362

高蛋白 (n=17)	米糠	-18.99*	.014
	翠玲瓏	7.16	.362

* $p < .05$, ** $p < .01$

4. 鳴叫次數：求偶鳴叫聲取得錄音檔次數：米糠組為 18 筆音檔、翠玲瓏組 15 筆、高蛋白組 17 筆。求偶鳴叫次數的比例分別為，米糠組 36%、翠玲瓏組 30%、高蛋白組 34%。

(三) 餵食混合腸道菌食物之蟋蟀的示威鳴叫分析

1. 主頻率

三組主頻率平均值分別為：米糠組 5760.77 Hz、翠玲瓏組 5735.24 Hz、高蛋白組 5852.44 Hz。三組示威鳴叫主頻率平均未達顯著差異 ($F=3.17$, $p = .051$)。

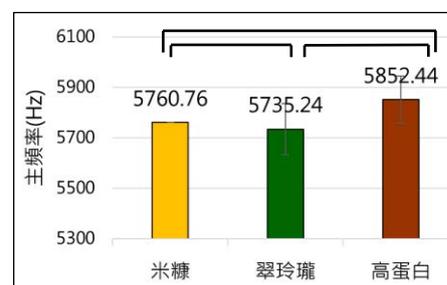


圖 4-27 餵食腸菌示威鳴叫主頻率比較

表 4-41 餵食腸道菌蟋蟀示威鳴叫聲-主頻率平均數分析表

組別	米糠 (n=17)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 49)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
主頻率 Hz	5760.77	101.99	5735.24	92.78	5852.44	207.47	3.17	.051

2. 音量

在示威鳴叫的音量部分，米糠組平均音量為 63.58dB、翠玲瓏組平均音量為 64.41 dB、高蛋白組平均音量為 68.06 dB。三組示威鳴叫音量平均的變異數分析未達顯著差異 ($F=2.29$, $p = .112$)。

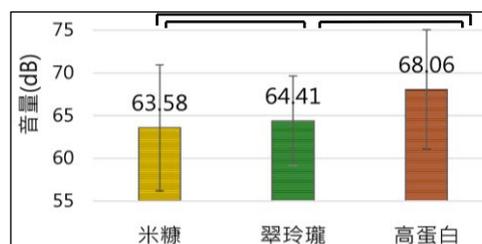


圖 4-28 餵食腸菌示威鳴叫音量比較圖

表 4-42 餵食腸道菌蟋蟀示威鳴叫聲-音量平均數分析表

組別	米糠 (n=17)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 49)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
音量 (dB)	63.58	7.36	64.41	5.25	68.06	7.01	2.29	.112

3. 最長音節

米糠組平均最長音節為 18.11s、翠玲瓏組 13.27 s、高蛋白組 24.27 s。三組中高蛋白組示威鳴叫時間最長；翠玲瓏組蟋蟀的鳴叫音節最短。三組示威鳴叫最長音節達顯著差異 ($F= 5.11$, $p = .010$)。由於變異數不相等 (Levene 檢定 $=3.35$, $p = .043$)，以 Games-Howell 進行差異比較，統計發現翠玲瓏組顯著小於高蛋白組 11.0 s ($p = .016$)。

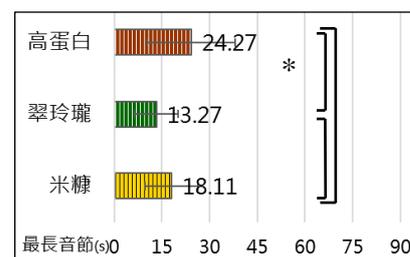


圖 4-29 餵食腸菌示威鳴叫最長音節

表 4-43 餵食腸道菌蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數分析表

組別	米糠 (n=17)		翠玲瓏 (n=17)		高蛋白 (n=18)		F 值 (2, 49)	p 值
	平均數	標準差	平均數	標準差	平均數	標準差		
最長音節	18.11	8.32	13.27	6.84	24.27	13.82	5.11*	.010

* $p < .05$

表 4-44 餵食腸道菌蟋蟀示威鳴叫聲-最長音節平均數 Games-Howell 事後檢定多重比較表

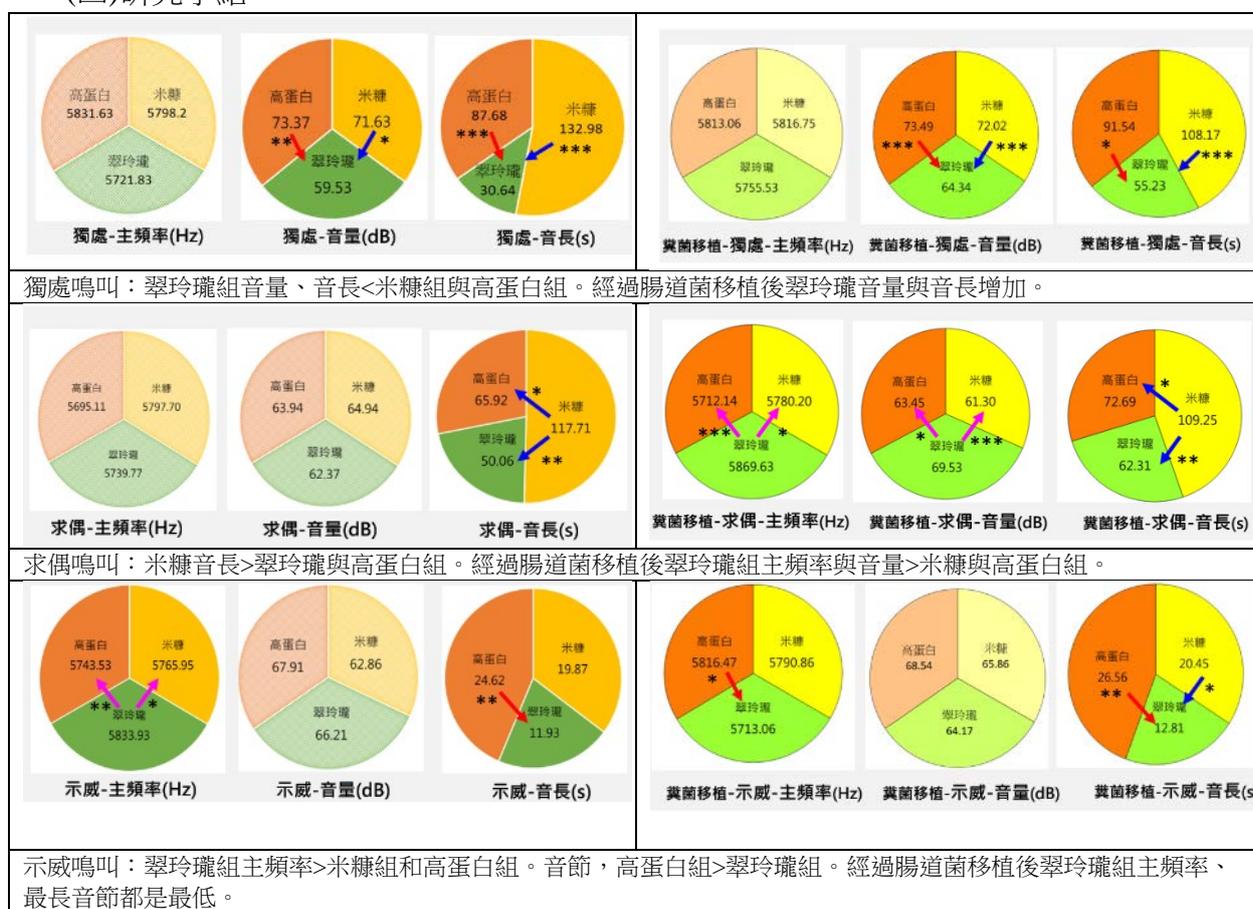
組別	組別	平均差異 (s)	p 值
米糠 (n=17)	翠玲瓏	4.84	.169
	高蛋白	-6.16	.259
翠玲瓏 (n=17)	米糠	-4.84	.169
	高蛋白	-11.0*	.016
高蛋白 (n=18)	米糠	6.16	.259
	翠玲瓏	11.0*	.016

*p<.05

4. 鳴叫次數

示威鳴叫聲錄取得錄音檔次數：米糠組為 17 筆音檔、翠玲瓏組 17 筆、高蛋白組 18 筆。示威鳴叫次數的比例分別為，米糠組 33%、翠玲瓏組 33%、高蛋白組 34%。

(四) 研究小結：



伍、研究討論

一、營養攝取對蟋蟀社會互動行為的影響

營養的攝取對個體生長與社會互動行為影響至深。本研究以不同類型食物（高碳水化合物、高纖食物、高蛋白食物）餵食蟋蟀，飲食成份影響黃斑黑蟋蟀的營養攝取量、存活率、以及社會互動行為。

食用不同食物對蟋蟀社會互動行為有所影響。Ng, S. H et al. (2018) 指出腸道菌可以幫助消化攝入的食物，腸道菌群的變化會導致腸道中進行代謝反應的基因發生變化，進而影響宿主食物利用的效率並影響其行為。

Harrison et al. (2014) 探討蟋蟀對營養的選擇與偏好，發現田間蟋蟀 (*Gryllus veletis*) 選擇攝食碳水化合物食物的比例大於蛋白質食物。而選擇高碳水化合物低蛋白飲食 (1 份蛋白：3 份碳水化合物) 的蟋蟀壽命比高蛋白飲食 (3 份蛋白：1 份碳水化合物) 蟋蟀長，且雄蟋蟀的求偶鳴叫行為也比較強烈，有較高亢、大聲的求偶鳴叫。這種高能量的求偶信號，需要比較大的能量成本，營養的成分與攝取量直接影響雄蟋蟀社會互動的表現。本研究發現，同樣為乾粉末形式食物的米糠粉與高蛋白粉相較，蟋蟀對於米糠粉的消化率較高，顯示蟋蟀對高碳水化合物食物的消化較為完全，米糠充分提供蟋蟀所需優質的營養成分，因此米糠組蟋蟀有較高的存活率。

Hunt J. et al. (2004) 指出高蛋白飲食加速雄蟋蟀的老化與死亡，因為高蛋白飲食雄蟋蟀在剛羽化為成蟲時投入較多的精力進行鳴叫。研究顯示了雄蟋蟀成年早期的鬥爭與求偶的活絡社會互動行為，消耗了較多的能量但也加速老化的速度。本研究中，從黃斑黑蟋蟀的存活率分析中，高蛋白組蟋蟀在飼養前期存活率與米糠組蟋蟀旗鼓相當，但餵食一段時間後存活率便逐漸下滑。

從本研究的蟋蟀鳴聲分析中，可以從聲學特徵中看到高蛋白組蟋蟀鳴聲展現鳴叫互動的力度與強度。高蛋白組 (編號：PM-W1-1) 蟋蟀，其獨處鳴叫音量高達 84 dB。從頻譜圖可以

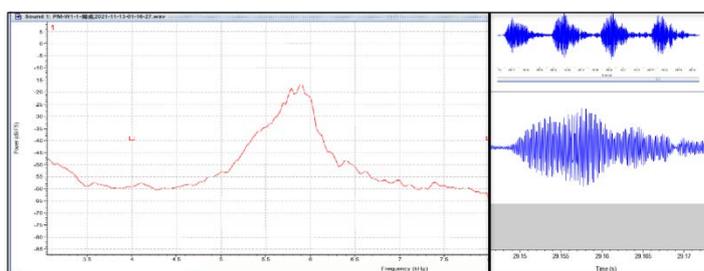


圖 5-1 PM-W1-1 的頻譜圖、波形圖

看到其主能量相當集中，顯見其發出鳴叫聲時，翅膀的摩擦振翅相當有力量。從波形圖可以看到其振翅摩擦有規律的震動，形成強而有力的節奏

Laksanavadee et al. (2011) 指出，昆蟲需要磷來建構所需的蛋白質，而植物膳食提供給昆蟲的磷，通常比昆蟲所需的還要低上 10~20 倍。高磷飲食的蟋蟀比低磷飲食蟋蟀生長速度較快，雄蟋蟀鳴聲數量與品質較佳，高磷飲食與雄蟋蟀的聲音訊號的質量有正相關。而本研究中黃斑黑蟋蟀的三種食物，米糠粉與高蛋白粉都屬於高磷食物，而翠玲瓏屬於肉質草本植物，磷的含量相較另外兩組低。本研究提供給蟋蟀食用的翠玲瓏植株，蟋蟀食用率達 96.14%，而食用單一莖、葉數日後，出現營養失衡的狀態，同類互食 (Cannibalism) 的現象增多。翠玲瓏組蟋蟀即使在食物充足的狀態下，仍會啃食體弱的同伴或者死亡個體。而米

糠組或高蛋白組蟋蟀在食物充足的條件下，同伴互食率較低，死亡的個體大都完整無被啃蝕的痕跡。

Harrison et al. (2014) 蟋蟀攝取營養的比例，會影響雄蟋蟀在鳴聲行為上的表現，攝取較多營養的蟋蟀有較豐富的鳴聲行為。飲食不均衡的蟋蟀，則出現同類互食的現象。Yeisson (2020) 指出飲食的低豐富度或者營養失衡的狀態下，會觸發蟋蟀的同類相食，在蛋白質短缺的環境下，蟋蟀的同類互食可藉由消耗其他蟋蟀來獲取幾丁質和蛋白質，以補充其缺失的營養素。本研究中觀察到翠玲瓏組蟋蟀的高互食率，與飲食失調有關。

本研究中翠玲瓏組雄蟋蟀的鳴叫次數偏低（鳴叫比例<33%），顯示營養失衡影響其社會互動的意願，飲食中較低的碳水化合物與蛋白質，降低蟋蟀對於需要高能量展現的社會互動行為表現。

二、腸道菌對蟋蟀鳴叫行為的影響

蟋蟀的鳴聲溝通內含豐富的社會互動訊息，不同的鳴聲代表包含領域宣示、求偶、驅敵等社會互動的目的。雄蟋蟀的聲音訊息越豐富代表其個體健康指數越高，也是雌蟋蟀首要的性擇對象（Wagner、Reiser，2002）。

本研究發現，食用米糠粉的蟋蟀有較高鳴叫意願，與較佳的社會互動表現。移植米糠組糞菌與腸道菌後，實驗組蟋蟀表現更多的社會互動行為，與更加的互動品質。在米糠組糞菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀的鳴叫行為次數增加，出現較多的鳴叫次數，獨處鳴叫（其中包含遠方求偶鳴叫之意圖）、求偶鳴叫比率增加。腸道菌移植後，蟋蟀腸道菌群豐富度增加，從翠玲瓏組蟋蟀求偶行為品質增加，可以推測蟋蟀腸道菌群的豐富度增加促成營養消化吸收力的提升，使蟋蟀增加求偶行為的行動。

錦竹草屬的翠玲瓏富含植物類固醇的植物蛻皮激素，這類的激素能刺激昆蟲的生長與代謝，研究指出植物蛻皮激素具有低劑量興奮劑的功效，在實驗鼠的研究上發現，植物蛻皮激素能提升其性活動（Niranjan et al.,2021）。翠玲瓏的植物化性對蟋蟀求偶行為表現有影響，本研究發現在消化力提升後，可看到翠玲瓏組蟋蟀表現出更為高亢的求偶鳴叫行為，鳴叫頻率與音量提高，顯著優於米糠組與高蛋白組。

從編號 GM-W1-3（糞菌移植翠玲瓏組蟋蟀）的求偶鳴叫頻譜圖（圖 5-3），可見鳴叫聲波的能量相當高，在波形圖（圖 5-4）可以看

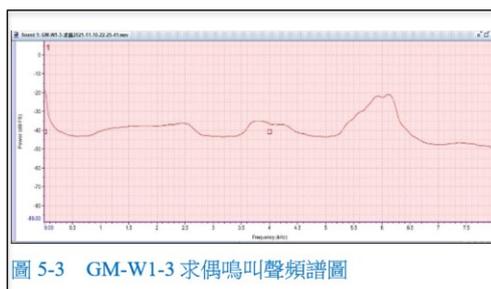


圖 5-3 GM-W1-3 求偶鳴叫聲頻譜圖

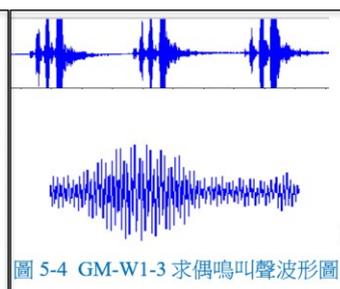


圖 5-4 GM-W1-3 求偶鳴叫聲波形圖

到求偶鳴叫聲以 3 個音節組成，且呈現紡錘型，由振幅大小可以看到鳴聲由小到大再轉小，

呈現編號 GM-W1-3 蟋蟀的求偶鳴叫呈現精力旺盛，且情緒高亢。

Darren (2009) 指出雄蟋蟀的求偶訊號包含雄性個體的質量，求偶鳴叫聲的聲音頻率與音量是雌蟋蟀擇偶選擇的因素。雌蟲偏好雄蟲的長唧聲，較長的求偶鳴叫聲可以獲得雌蟲的青睞，得到較多的交配機會。雄蟲具有吸引力的高亢求偶聲對雌蟲有吸引力，雌蟲偏好較快、較密集的鳴叫聲。就雌蟲的擇偶條件而言，頻率高而鳴叫聲密集的雄蟋蟀，可能代表精力比較充沛的健康個體。雌蟲透過雄蟋蟀的求偶鳴叫聲的聲音特徵，選擇有利的遺傳基因，進行交配 (Wagner & Reiser, 2002)。

在示威行為上，翠玲瓏組蟋蟀示威鳴叫的時間較短，鳴叫次數較低，顯示翠玲瓏組蟋蟀較少敵對示威行為；而示威行為中卻又出現高亢的示威鳴叫。翠玲瓏組蟋蟀在示威行為的表現上，呈現焦慮行為的特質。Strati, F. (2018) 指出社交缺乏症患者 (自閉症) 的腸道群中有較高的厚壁菌門梭菌屬細菌 (*Clostridial*)，較低比例的擬桿菌門細菌。另外，Ng, S. H et al. (2018) 的研究發現，食用高纖植物性食物的蟋蟀腸道，有較豐富能降解植物多醣的厚壁菌門細菌 (*Firmicutes*)。本研究中，飼育觀察中翠玲瓏組有較多的同類互食行為，代表其對環境資源競爭的壓力指數較高 (Yeisson, 2020)。研究發現與 Strati, F. (2018) 在社交缺乏症患者腸道菌群有較高比例的厚壁菌門細菌的研究結果相似。翠玲瓏組蟋蟀由於單一食用高纖維植物，腸道菌相有高比例的厚壁菌門梭菌屬細菌。

而本研究在進行糞菌移植與腸菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀呈現社會互動行為的改善，獨處鳴叫與求偶鳴叫的次數增加，求偶鳴叫頻率提高，產生較高的鳴叫聲。在糞菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀藉由糞食過程獲得高碳水化合物蟋蟀腸道菌，使擬桿菌門細菌數量增加 (Ng, S. H et al., 2018)。而腸菌移植，則使翠玲瓏組蟋蟀腸道增加植物乳桿菌，緩解焦慮行為，產生更高品質的社會互動行為。

本研究從米糠組蟋蟀腸道中所篩選出的腸道菌-植物乳桿菌，屬於一種腸道益生菌。植物乳桿菌具有抗發炎、調節免疫、緩解腸道發炎的作用。植物乳桿菌是目前作為治療自閉症兒童的所使用的一種精神益生菌 (Psychobiotics)，能調節免疫力與抗腸道發炎，有助於減緩壓力、焦慮。翠玲瓏組蟋蟀經過糞菌、腸菌的移植後，腸菌中增加能調整腸道功能的乳桿菌屬細菌，使翠玲瓏組蟋蟀對營養有更好的吸收力，增加蟋蟀的體力，而有更佳的社會互動品質。研究發現透過飲食控制與腸菌移植，使腸道菌群結構調整，進而改變宿主的社交互動行為。

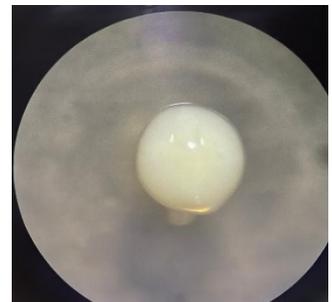


圖 5-2 本研究所篩選使用的米糠組腸道菌-植物乳

陸、結論

本研究探究營養對黃斑黑蟋蟀生長與社會互動的影響，並運用糞菌、腸菌移植的方式探討腸道菌群對蟋蟀社會互動行為的影響。

一、運用三種不同類型食物餵食蟋蟀，分別為高碳水化合物-米糠粉、高纖食物-翠玲瓏莖與葉、高蛋白食物-高蛋白粉，研究發現米糠組蟋蟀有較高的存活率，顯示米糠粉提供蟋蟀較佳的營養成分，使蟋蟀的生長狀況較佳。在社會互動行為部分，米糠組鳴叫聲的質量較高，特別是在求偶鳴叫上展現較多的耐心等待雌蟋蟀的回應，持續鳴叫的聲音最長紀錄接近6分鐘，相較於另外兩組蟋蟀呈現更多的求偶行為的嘗試與努力。

翠玲瓏組蟋蟀攝食單一植物的莖與葉，呈現較明顯營養失衡的狀態，相較於其他兩組，有較高的死亡率。在社會互動行為上，表現出較多焦慮類型行為，鳴叫次數的降低顯現出社交意願低落，同類互食現象則呈現較多對資源爭奪或攻擊性的壓力行為表現。鳴叫音量較低、較短，也呈現出對於社交互動能力的低落。

高蛋白組蟋蟀對蛋白粉營養的利用顯著低於另外兩組，顯示高蛋白粉較不容易被蟋蟀腸道吸收消化。但高蛋白質對於蟋蟀營養的提供，使蟋蟀展現與米糠組蟋蟀相近的社交互動品質，有高亢與響亮的鳴叫聲，在社交互動活絡，與其他雄蟋蟀互爭地盤、求偶鳴叫行為頻繁。

二、探究糞菌移植對於黃斑黑蟋蟀社會互動行為的影響。收集米糠組蟋蟀糞便後，分別混入另外兩組蟋蟀食物，探究餵食糞菌後，蟋蟀行為的改變。研究發現，糞菌移植的蛋白組蟋蟀呈現出更高的示威鳴叫聲。另外，糞菌移植的翠玲瓏組蟋蟀，社會互動行為的品質有所改變，呈現較高次數的鳴叫行為。在求偶行為的部分，相較於攝食糞菌前，翠玲瓏組蟋蟀展現出更為具吸引力的求偶鳴聲，聲音頻率提高，展現出雌蟋蟀所偏好的高頻求偶聲。

三、探究腸菌移植對於黃斑黑蟋蟀社會互動行為的影響。篩選米糠組腸道菌並移植腸菌後，探究蟋蟀行為的改變。研究發現，翠玲瓏組求偶鳴叫品質提升，有較佳的求偶行為表現。高蛋白組則在示威行為有所改變，示威鳴叫聲音更為高亢。植物乳桿菌對兩組蟋蟀腸道的作用，產生蟋蟀社會互動行為品質的改善。

本研究透過昆蟲進行營養對社會互動行為影響的探究，並進行糞菌、腸菌移植以了解腸道菌對昆蟲互動行為的影響。基於相關的研究發現，期待未來能對於昆蟲腸道菌相的生理行為學有更進一步的探討。

柒、參考資料

(文獻引用格式中網址部分，依照比賽細則已移除超連結)

- 王四寶、曲爽 (2017)。昆蟲共生菌及其在病蟲害防控中的應用前景。中國科學院院刊, 32(8), 863-872。取自：http://www.bulletin.cas.cn/publish_article/2017/8/20170808.htm
- 沈旭、王洪哲、那杰 (2007)。蟋蟀三種不同鳴叫聲的發聲結構研究。瀋陽師範大學學報, 25(2), 245-248。
- 李俊康 (2009)。為何蟋蟀總是右翅在上? 取自：<https://www.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?cat=85&a=6821&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=22&sid=5716>
- 郭軍、吳杰、劉先余、林連兵、劉珊、李繼蓮 (2015)。昆蟲腸道菌群的功能研究進展。應用昆蟲學報, 52(6), 1345-1352。
- 陳道海、林煥芳、李潔萍、丘占鋒 (2002)。雙斑蟋鳴聲特徵與行為關係的初步研究。動物學研究, 23(4), 288-295。取自：<https://www.zoores.ac.cn/article/exportPdf?id=887>
- 陳好欣、洪乙庭、馬威鈞、吳明城 (2021)。微生物於昆蟲飼養之研究進展。農業試驗所特刊 (昆蟲應用於動物飼料產業現況研討會專刊), 第 234 號, 31-42。
- 張科、劉伍限、鄭新華、劉冰許 (2017)。蟋蟀腸道細菌多樣性的宏基因組分析。應用昆蟲學報, 3, 417-425 頁。取自：<http://www.cqvip.com/QK/94734A/201703/672625500.html>
- 張科、蘇智鵬、許陽、李清利、王瑜、劉麗、李冰洁、周云霞、夏西超 (2020)。蟋蟀後腸纖維素降解細菌的分離與鑑定。生物資源, 42(2), 228-233。取自：<https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotol-AJSH202002010.htm>
- 楊正澤 (2002)。歌唱高手—蟋蟀。科學研習期刊, 41(4), 9-14。
- 譚清峰、李菁、楊雨欣、劉岳陽、劉晨 (2021)。昆蟲腸道菌群及其功能簡述。科技風, 26 期, 167-169。
- Darren Rebar, Nathan W. Bailey, Marlene Zuk (2009). Courtship song's role during female mate choice in the field cricket *Teleogryllus oceanicus*. *Behavioral Ecology*, 20(6), 1307–1314, from <https://doi.org/10.1093/beheco/arp143>
- Harrison SJ, Raubenheimer D, Simpson SJ, Godin JG, Bertram SM. (2014). Towards a synthesis of frameworks in nutritional ecology: interacting effects of protein, carbohydrate and phosphorus on field cricket fitness. *Proc Biol Sci*. 2014 Oct 7;281(1792):20140539. doi: 10.1098/rspb.2014.0539. PMID: 25143029; PMCID: PMC4150310.
- Joanito Liberti, Philipp Engel (2020), The gut microbiota — brain axis of insects. *Current Opinion in Insect Science*, 39,6-13, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214574520300183>
- Hunt J, Brooks R, Jennions MD, Smith MJ, Bentsen CL, Bussière LF. (2004). High-quality male field crickets invest heavily in sexual display but die young. *Nature*. 23;432(7020):1024-7. from <https://doi.org/10.1038/nature03084>
- Laksanavadee Visanuvimol, Susan M. Bertram (2011). How dietary phosphorus availability during development influences condition and life history traits of the cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Science*, 11(1), 63, from <https://doi.org/10.1673/031.011.6301>
- Ng, S. H., Stat, M., Bunce, M., & Simmons, L. W. (2018). The influence of diet and environment on the gut microbial community of field crickets. *Ecology and evolution*, 8(9), 4704–4720. from <https://doi.org/10.1002/ece3.3977>
- Niranjan D., Siddhartha K. M., Anusha B., Eunüs S. A., Anupam B. (2021). The phytochemical, biological, and medicinal attributes of phytoecdysteroids: An updated review. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 11(7), 1740-1766. From : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383520307644>
- Schmid RB., Lehman RM., Lundgren JG. (2014). Sex-specific interactions of microbial symbioses on cricket dietary selection. *Environ Entomol*. Aug;43(4), 896-902. doi: 10.1603/EN13311. Epub 2014 Jun 9. PMID: 24914929
- Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D. et al. (2017). New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome* 5, 24. from <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0242-1>
- Wagner, W. E. & Reiser, M. G. (2000). The importance of calling song and courtship song in female mate choice in the variable field cricket. *Animal Behaviour*, 59, 1219-1226.
- Yeisson Gutiérrez, Marion Fresch, David Ott, Jens Brockmeyer and Christoph Scherber (2020). Diet composition and social environment determine food consumption, phenotype and fecundity in an omnivorous insect. *R. Soc. open sci.* 7(4). from <http://doi.org/10.1098/rsos.200100>
- Wu, WL., Adame, M.D., Liou, CW. et al. (2021). Microbiota regulate social behaviour via stress response neurons in the brain. *Nature* 595, 409–414 (2021). from <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03669-y>

【評語】 052011

分析糞菌與腸道菌對蟋蟀社會互動行為的影響

1. 單純的探討糞菌與腸道菌對蟋蟀社會互動行為的影響，並沒有太大意外的發現，中規中矩，最好有更進一步的探討，如腸道菌如何影響這些社會行為？
2. 本科作品將研究重點擺在食物會影響蟋蟀的社會互動行為，從米糠組黃斑蟋蟀腸道中所篩選出的植物乳桿菌具有原創性，應是未來持續研究的重心。
3. 探討飲食差異及腸道菌改變，對蟋蟀社會互動行為的影響。實驗觀察仔細記錄詳實，惟多組實驗的結果分析未達顯著差異，宜詳加討論，檢討實驗設計，糞菌移植對於黃斑黑蟋蟀社會互動行為的影響十分有趣，而從米糠組蟋蟀腸道中所篩選出的腸道菌-植物乳桿菌之結果也顯示出本研究未來應用之潛力。

作品簡報

科別：動物與醫學學科
組別：高級中等學校組



腸道菌對黃斑黑蟋蟀 社會互動行為影響之研究



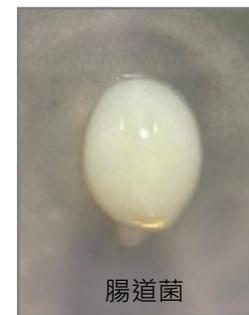
米糠粉-高碳水化合物



翠玲瓏-高纖食物



高蛋白粉-高蛋白食物



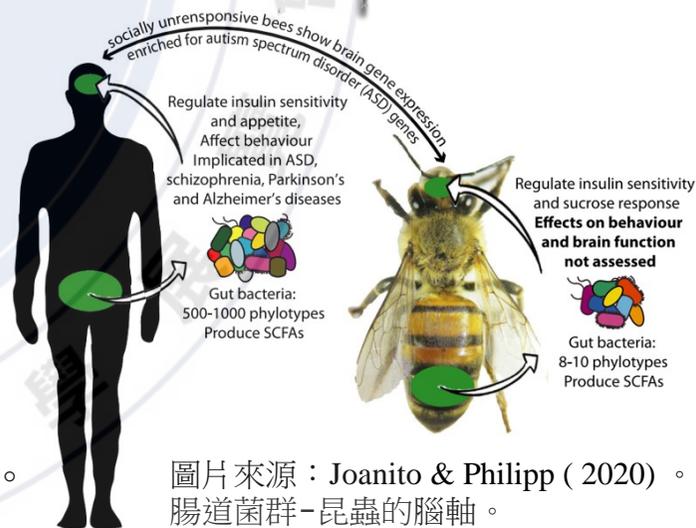
腸道菌

研究目的：探討食物類型與腸道菌移植是否影響蟋蟀社會互動行為



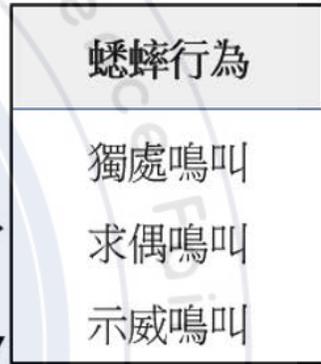
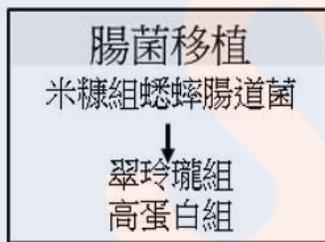
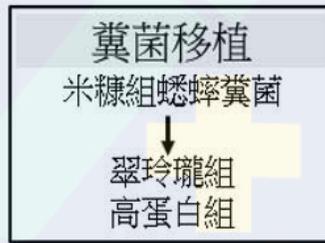
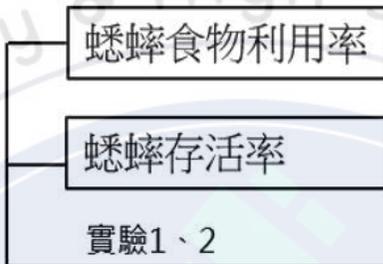
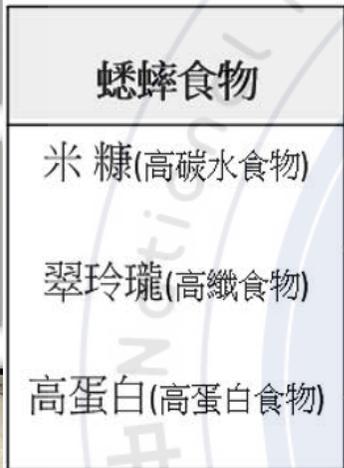
文獻探討：食物改變動物腸道菌相進而影響動物行為

菌腦腸軸 (microbiota-gut-liver-brain axis) 研究顯示：生物腸道微生物及代謝物能影響神經系統，改變生物認知行為。探討昆蟲腸道菌群與行為關係，有助分析菌腦腸軸運作機制。



圖片來源：Joanito & Philipp (2020)。腸道菌群-昆蟲的腦軸。

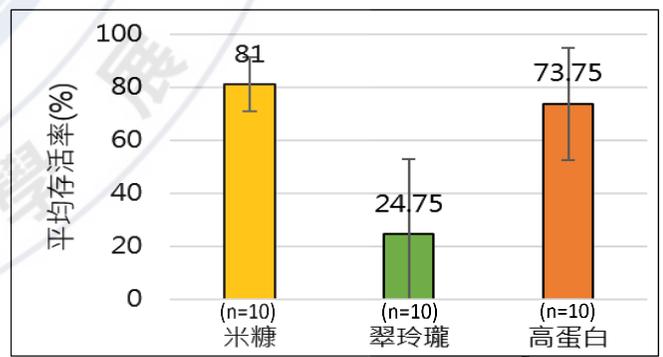
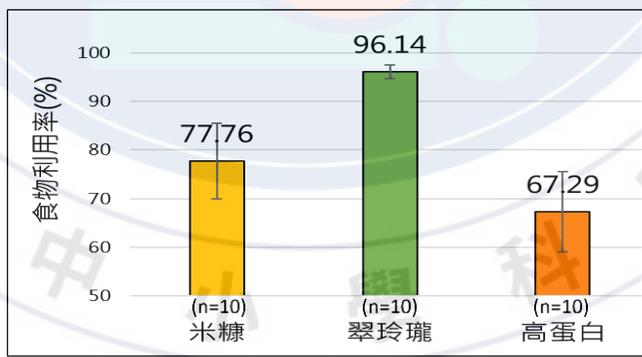
研究方法與過程：



研究結果：

實驗一：

- (一)食物利用率：
翠玲瓏組 > 米糠組 > 高蛋白組。
- (二)蟋蟀存活率：
米糠組 > 高蛋白組 > 翠玲瓏組。



研究結果：實驗二：食物/蟋蟀行為

(一)獨處鳴叫：翠玲瓏組音量、最長音節皆小於另外兩組。

(二)求偶鳴叫：米糠組最長音節 > 翠玲瓏和高蛋白組。

(三)示威鳴叫：翠玲瓏組主頻率 > 米糠組和高蛋白組。最長音節高蛋白組 > 翠玲瓏組。



獨處鳴叫

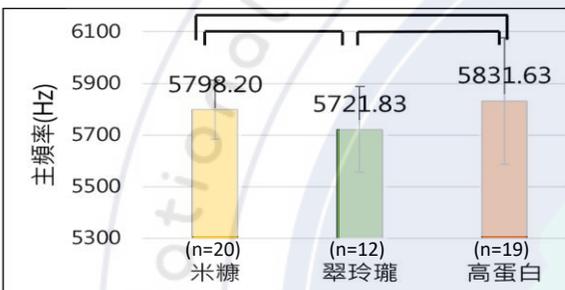


圖 4-3 不同組獨處鳴叫主頻率比較圖

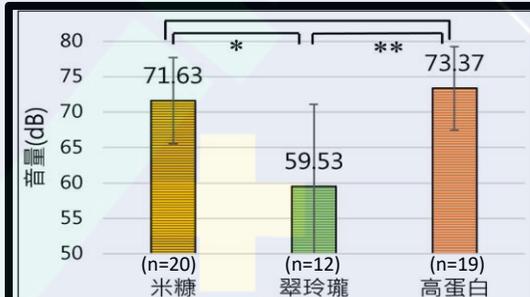


圖 4-4 不同食物組獨處鳴叫音量比較圖

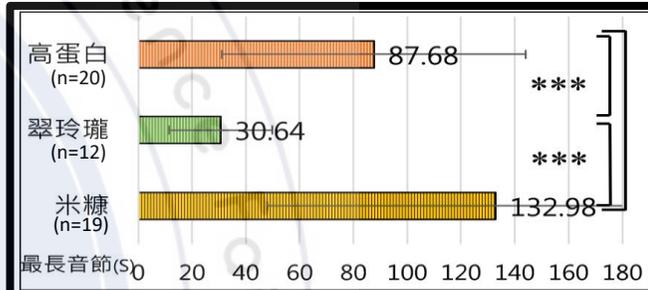


圖 4-5 不同組獨處鳴叫最長音節比較圖



求偶鳴叫

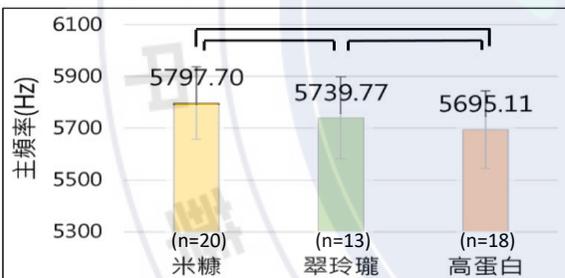


圖 4-6 不同食物組求偶鳴叫主頻率比較

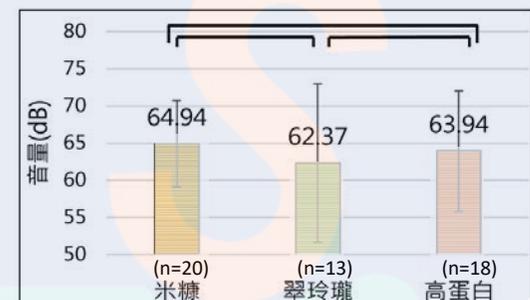


圖 4-7 不同食物組求偶鳴叫音量比較圖

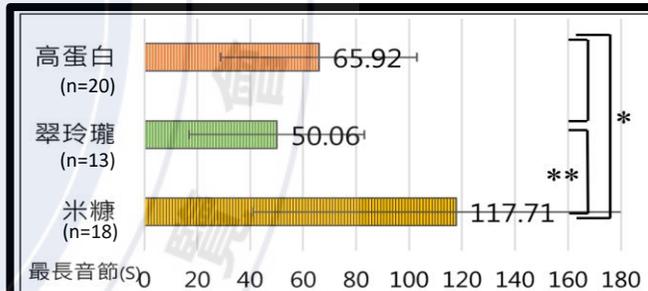


圖 4-8 不同食物組求偶鳴叫最長音節比較圖



示威鳴叫



圖 4-9 不同食物組示威鳴叫主頻率比較圖

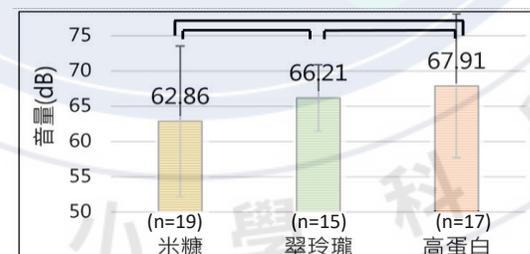


圖 4-10 不同食物組示威鳴叫音量比較圖

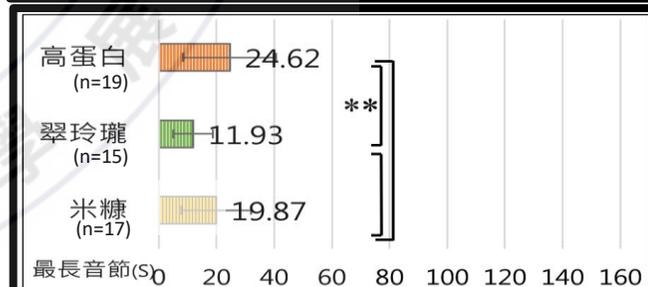


圖 4-11 不同食物組示威鳴叫音長比較圖

研究結果：實驗三：食物+糞菌移植/蟋蟀行為

- (一)獨處鳴叫：米糠組和高蛋白組音量與最長音節>翠玲瓏組。
- (二)求偶鳴叫：翠玲瓏組主頻率與音量>米糠與高蛋白組。
- (三)示威鳴叫：翠玲瓏組主頻率、最長音節都是最低。



獨處鳴叫



圖 4-12 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫主頻率比較

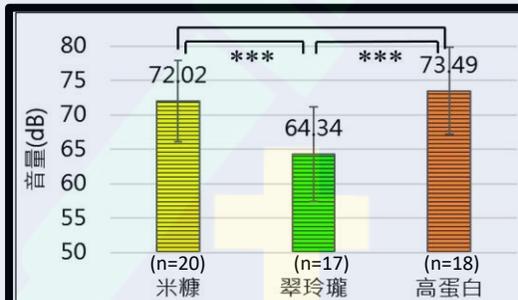


圖 4-13 餵食糞菌蟋蟀獨處鳴叫音量比較圖

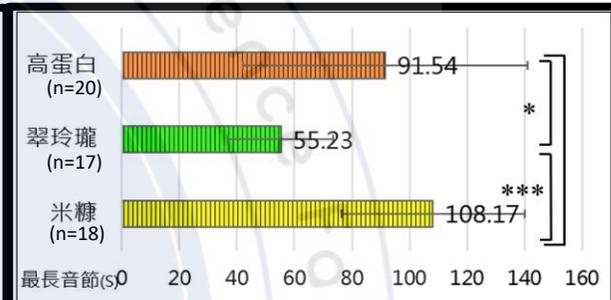


圖 4-14 餵食糞菌獨處鳴叫最長音節比較圖



求偶鳴叫

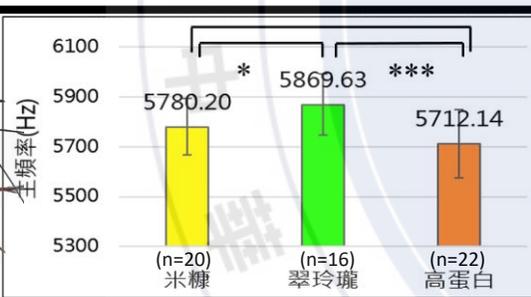


圖 4-15 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫主頻率比較

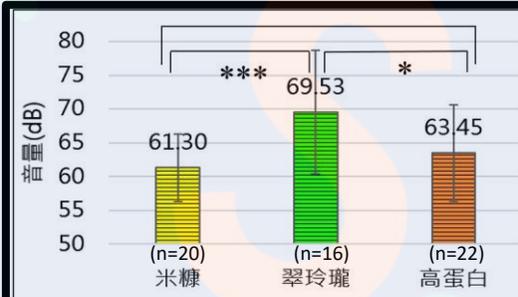


圖 4-16 餵食糞菌蟋蟀求偶鳴叫音量比較圖

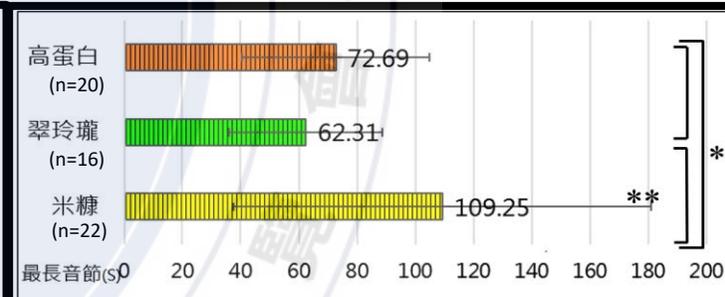


圖 4-17 餵食糞菌求偶鳴叫最長音節比較圖



示威鳴叫

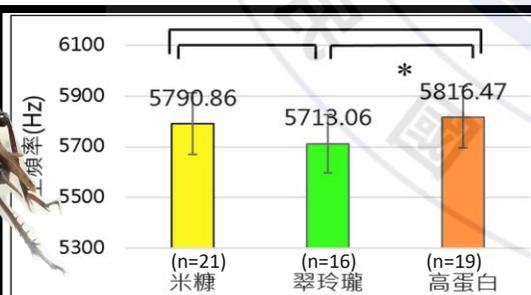


圖 4-18 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫主頻率

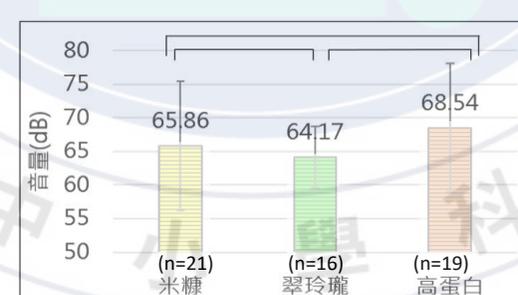


圖 4-19 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫音量

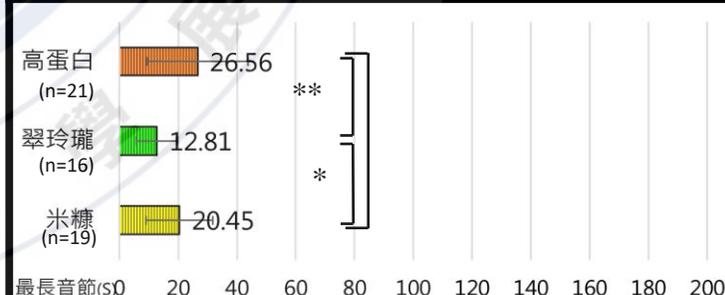


圖 4-20 餵食糞菌蟋蟀示威鳴叫最長音節

研究結果：實驗四：食物+腸道菌移植/蟋蟀行為

- (一)獨處鳴叫：米糠組和高蛋白組音量與最長音節 > 翠玲瓏組。
- (二)求偶鳴叫：翠玲瓏組主頻率 > 米糠與高蛋白組。翠玲瓏組音節最短。
- (三)示威鳴叫：高蛋白組顯著高於翠玲瓏組。



獨處鳴叫

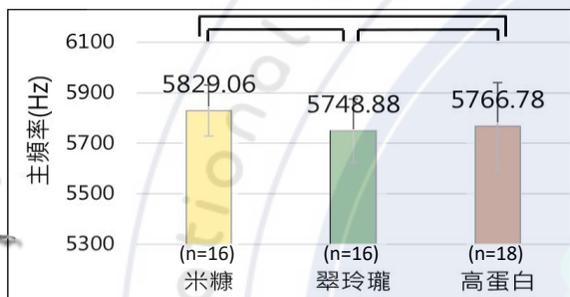


圖 4-21 餵食腸菌獨處鳴叫主頻率比較圖

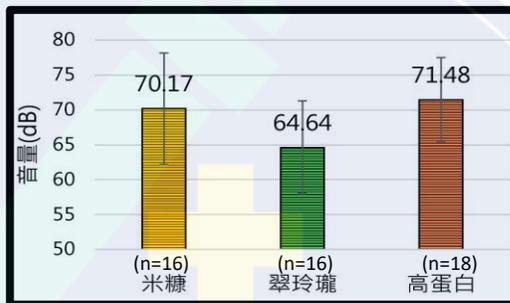


圖 4-22 餵食腸菌獨處鳴叫音量比較圖

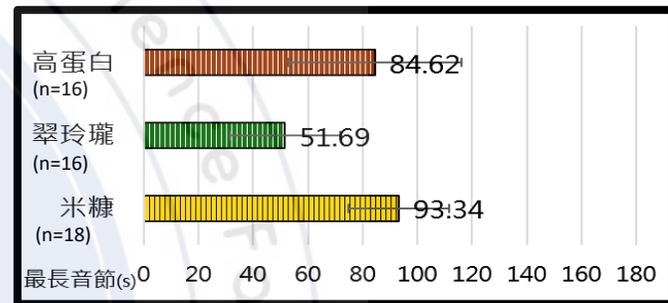


圖 4-23 餵食腸菌獨處鳴叫最長音節



求偶鳴叫

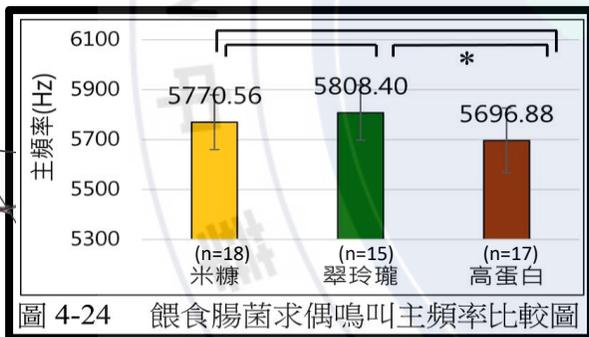


圖 4-24 餵食腸菌求偶鳴叫主頻率比較圖

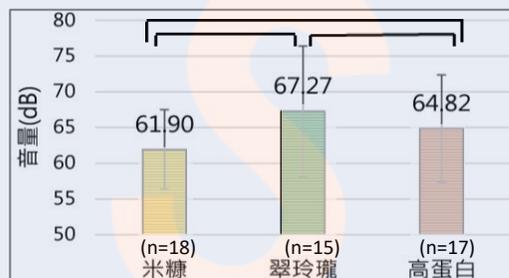


圖 4-25 餵食腸菌求偶鳴叫音量比較圖

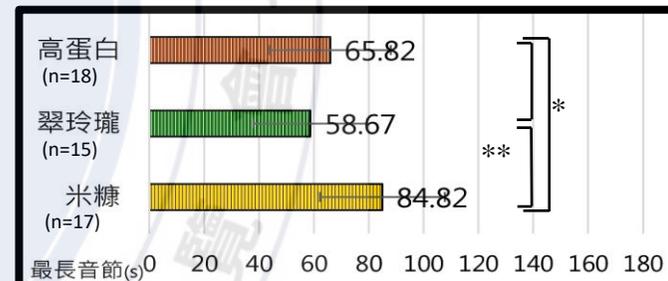


圖 4-26 餵食腸菌求偶鳴叫最長音節



示威鳴叫

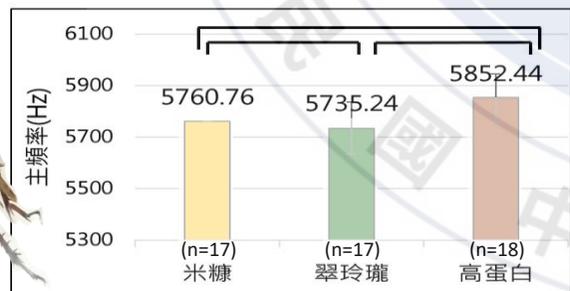


圖 4-27 餵食腸菌示威鳴叫主頻率比較

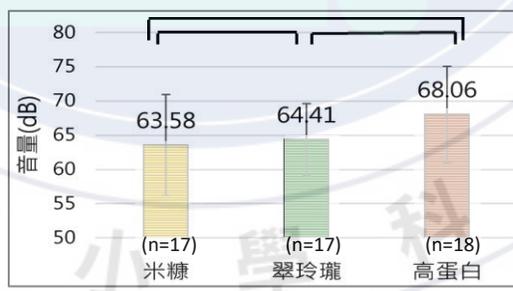


圖 4-28 餵食腸菌示威鳴叫音量比較圖

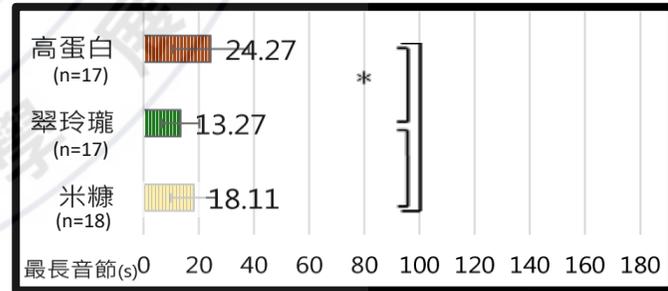
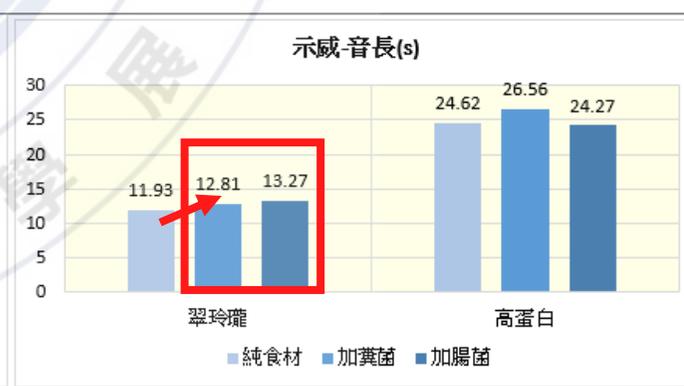
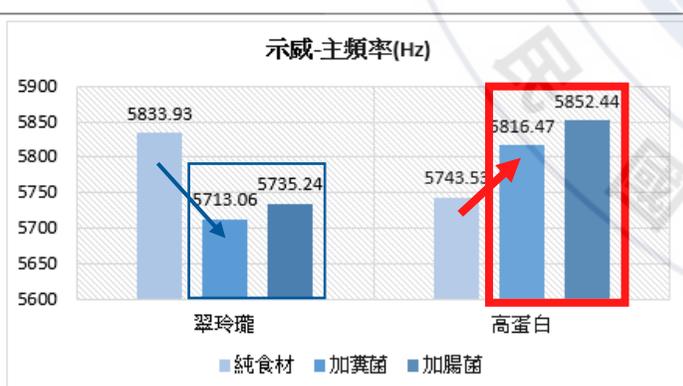
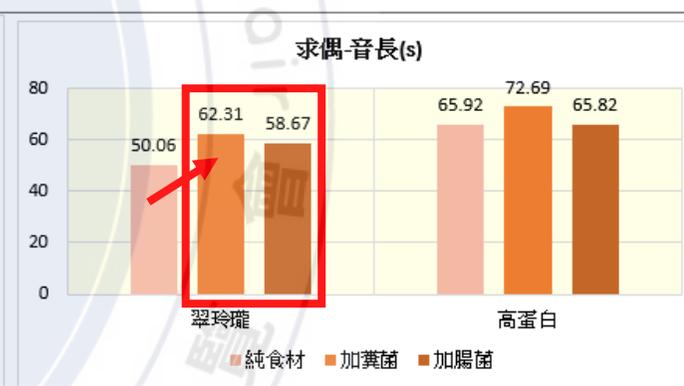
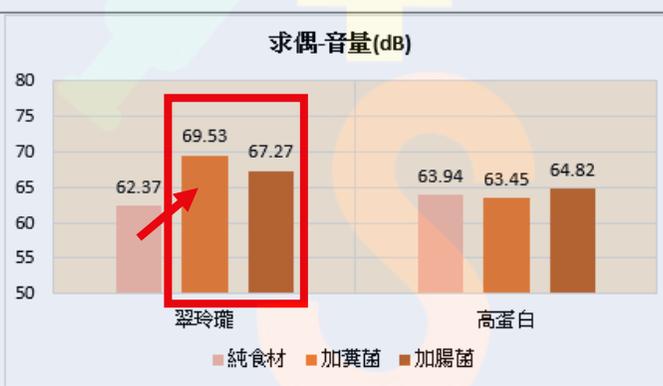
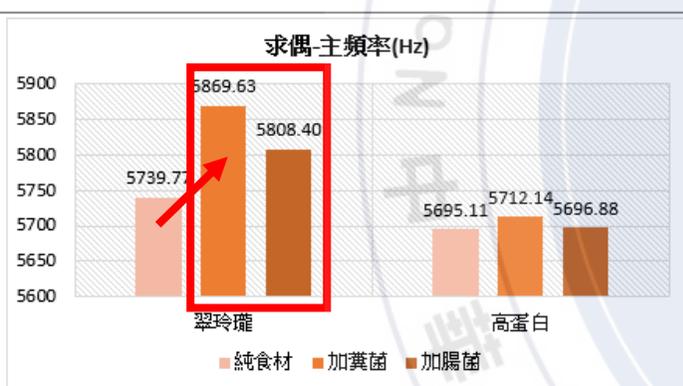
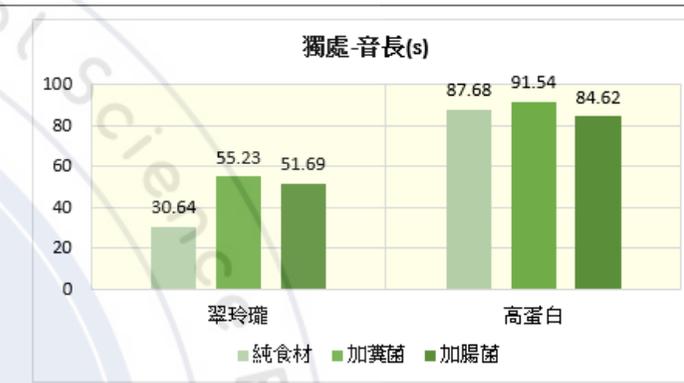
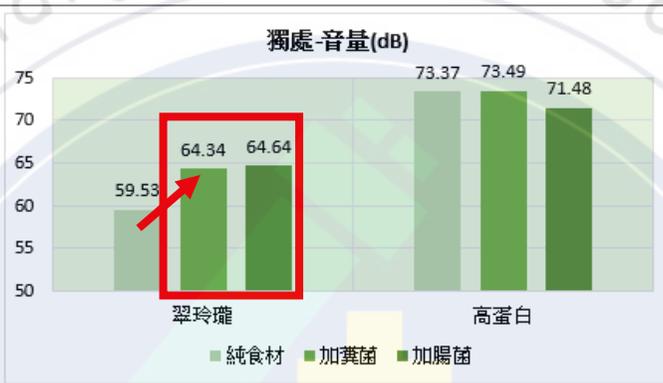


圖 4-29 餵食腸菌示威鳴叫最長音節

研究結果：純食材與糞菌、腸菌移植效果比較

1. 翠玲瓏組-獨處、求偶行為提升，示威行為降低。2. 高蛋白組-示威行為提升。



研究討論：

一、營養攝取對蟋蟀社會互動行為的影響：

1. 營養的攝取量直接影響雄蟋蟀存活率與社會互動的表現，高碳水化合物飲食蟋蟀存活率高，求偶信號較強烈(Harrison et al., 2014)。

2. Laksanavadee et al. (2011)指出，高磷飲食與雄蟋蟀的聲音訊號的質量有正相關。

3. 營養低豐富度或飲食失衡，導致同類互食率增加，為了爭奪環境有限資源，蟋蟀間社會互動壓力指數較高 (Harrison et al., 2014; Yeisson, 2020)。

• 本研究食用高碳水化合物食物的米糠組蟋蟀有較高的存活率。社會互動行為部分，米糠組鳴叫的質量較高，特別是求偶鳴叫。

• 本研究米糠粉與高蛋白粉都屬於高磷食物，而翠玲瓏屬於肉質草本植物，磷的含量相較另外兩組低。翠玲瓏組獨處鳴叫品質低於米糠組與高蛋白組。

• 本研究翠玲瓏組蟋蟀攝食單一植物，呈現營養失衡，有較高的死亡率。社會互動上表現出較多焦慮行為、同類互食與攻擊性的壓力行為。鳴叫音量質量較低，呈現社交互動能力低落。

研究討論：

二、糞菌與腸道菌移植對於蟋蟀社會互動行為的影響：

1. 糞菌、腸道菌移植後，蟋蟀鳴叫行為品質提升。

- 糞菌、腸道菌移植後的蛋白組蟋蟀呈現出更高的示威鳴叫聲。
- 糞菌、腸道菌移植後的翠玲瓏組蟋蟀，社會互動行為的品質有所改變，展現出更為具吸引力的求偶鳴聲及更高頻的獨處(遠方求偶)鳴聲。

2. 腸道菌的菌相與營養素的含量有關。

- 植食性蟋蟀腸道菌相有較豐富的厚壁菌門細菌；攝食高碳水化合物與高蛋白食物蟋蟀有較多擬桿菌門細菌(Ng, S. H et al., 2018)。
- 本研究中翠玲瓏組蟋蟀單一食用植物的莖與葉，腸道菌相應近於Ng, S. H et al. (2018)所指高植食性腸道菌相有較豐富的厚壁菌門細菌。

研究討論：

二、糞菌與腸道菌移植對於蟋蟀社會互動行為的影響：

3. 腸道菌群結構的調整可能改變宿主社交互動行為。社交缺乏症患者（自閉症）腸道有比例較高的厚壁菌門梭菌屬細菌 (Strati, F., 2018)。

4. 植物乳桿菌(精神益生菌)有助於調節腸道發炎、緩解壓力，是目前作為自閉症兒治療的腸道益生菌。

- 本研究在進行糞菌移植與腸菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀呈現社會互動行為的改善，獨處鳴叫與求偶鳴叫的次數增加，求偶鳴叫頻率提高，產生較高的鳴叫聲。在糞菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀藉由糞食過程獲得高碳水化合物腸道菌，使擬桿菌門細菌數量增加 (Ng, S. H et al., 2018)。
- 本研究進行糞菌、腸菌移植後，翠玲瓏組蟋蟀經過糞食過程獲得米糠組蟋蟀擬桿菌門細菌。而腸菌移植，使翠玲瓏組蟋蟀腸道增加植物乳桿菌，緩解焦慮行為，產生更高品質的社會互動行為。

研究結論：

- 一、不同類型食物餵食蟋蟀研究發現，米糠組鳴叫聲的質量較高，特別是在求偶鳴叫上展現較多的耐心等待雌蟋蟀回應。翠玲瓏組表現出較多焦慮類型行為、社交意願低落，同類互食現象則呈現壓力行為表現。高蛋白組展現與米糠組蟋蟀相近的社交互動品質。
- 二、糞菌移植的蛋白組蟋蟀呈現出更高的示威鳴叫聲。糞菌移植的翠玲瓏組蟋蟀，社會互動行為的品質有所改變，呈現較高次數的鳴叫行為。
- 三、腸菌移植後，翠玲瓏組求偶鳴叫品質提升，有較佳的求偶行為表現。高蛋白組則在示威行為有所改變，示威鳴叫聲音更為高亢。植物乳桿菌對兩組蟋蟀腸道的作用，產生蟋蟀社會互動行為品質的改善。

參考文獻

- 郭軍、吳杰、劉先余、林連兵、劉珊、李繼蓮 (2015) 。 昆蟲腸道菌群的功能研究進展。 應用昆蟲學報， 52 (6)， 1345-1352。
- 陳道海、陳道海、林煥芳、李潔萍、丘占鋒 (2002) 。 雙斑蟋鳴聲特徵與行為關係的初步研究。 動物學研究， 23 (4)， 288-295。 取自：<https://www.zoores.ac.cn/article/exportPdf?id=887>
- 陳妤欣、洪乙庭、馬威鈞、吳明城 (2021) 。 微生物於昆蟲飼養之研究進展。 農業試驗所特刊 (昆蟲應用於動物飼料產業現況研討會專刊)， 第234號， 31-42。
- 張科、劉伍限、鄭新華、劉冰許 (2017) 。 蟋蟀腸道細菌多樣性的宏基因組分析。 應用昆蟲學報， 3， 417-425頁。 取自：<http://www.cqvip.com/QK/94734A/201703/672625500.html>
- Harrison SJ, Raubenheimer D, Simpson SJ, Godin JG, Bertram SM. (2014) . Towards a synthesis of frameworks in nutritional ecology: interacting effects of protein, carbohydrate and phosphorus on field cricket fitness. *Proc Biol Sci.* 2014 Oct 7;281 (1792) :20140539. doi: 10.1098/rspb.2014.0539. PMID: 25143029; PMCID: PMC4150310.
- Laksanavadee Visanuvimol, Susan M. Bertram (2011) . How dietary phosphorus availability during development influences condition and life history traits of the cricket, *Acheta domesticus*, *Journal of Insect Science*, 11 (1)， 63, from <https://doi.org/10.1673/031.011.6301>
- Ng, S. H., Stat, M., Bunce, M., & Simmons, L. W. (2018) . The influence of diet and environment on the gut microbial community of field crickets. *Ecology and evolution*, 8 (9)， 4704–4720. from <https://doi.org/10.1002/ece3.3977>
- Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D. *et al.* (2017) . New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome* 5, 24. from <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0242-1>
- Yeisson Gutiérrez, Marion Fresch, David Ott, Jens Brockmeyer and Christoph Scherber (2020) . Diet composition and social environment determine food consumption, phenotype and fecundity in an omnivorous insect. *R. Soc. open sci.* 7 (4) . from <http://doi.org/10.1098/rsos.200100>

