

中華民國第 61 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

第三名

030305

who「焦」軟殼蝦？蛻殼與異性互動對螯蝦類
焦慮行為之初探

學校名稱：嘉義縣立永慶高級中學(附設國中)

作者： 國三 易辰澤 國三 陳珈萱	指導老師： 張珮珊 李雅婷
-------------------------	---------------------

關鍵詞：螯蝦蛻殼、異性互動、類焦慮行為

摘要

前人研究證實電擊與同性競爭會造成螯蝦焦慮，不過這些研究沒有考量蛻殼週期的干擾，異性互動的研究也少見，因此本研究將探討蛻殼與異性互動對螯蝦互動行為與類焦慮行為的影響。我們以互動缸來觀察公、母螯蝦的互動行為，透過十字迷宮進行類焦慮行為評估，再以 X 光拍攝胃石判讀蛻殼週期。結果顯示，蛻殼期與間期的公、母螯蝦有不同的互動行為，蛻殼蝦和異性互動總量低，且有互動之蛻殼蝦所誘發的類焦慮行為較為明顯，顯示蛻殼與與互動都會造成螯蝦焦慮。螯蝦體型會影響拒絕行為，大螯蝦以推離為主，小蝦則迴避比例較高，類焦慮行為則沒有顯著差異。此外，大公蝦與小母蝦互動較容易交配，但體型差異、是否交配與類焦慮行為的關聯尚待進一步釐清。

壹、研究動機與背景

因為學長們(郭，曾，2019)研究需求，二年前加入實驗室克氏螯蝦養殖的團隊，飼養並觀察螯蝦的行為成為我們的日常，幾次驚見公母螯蝦交配的歷程如圖一，令人特別興奮，也誘發我們進一步探索公、母螯蝦互動行為的興趣。



圖一、群體養殖缸公母螯蝦交配實景。

克氏螯蝦正式分類為節肢動物門，軟甲綱(Malacostraca)，十足目(Decapoda)，螯蛄科(Cambaridae)，原螯蝦屬(*Procambarus*)，克氏原螯蝦種(*Procambarus clarkii*)，是常見的淡水螯蝦，環境適應力很強，是台灣外來入侵種。近年來，科學家嘗試建立螯蝦動物模式，Fossat (2014) 的研究團隊首次發表螯蝦有類似人類的焦慮行為，他們透過電擊處理公螯蝦，並且將公螯蝦置於十字迷宮，藉由計算停留亮區時間比例來評估受電擊刺激之公螯蝦的行為變化。結果顯示，電擊後的公螯蝦確實會退縮而減少停留在亮區的時間，此即為螯蝦的類焦慮行為。科學家再進一步試驗人類抗焦慮藥物「苯二氮平類 (benzodiazepine, BZD)」能成功降低公螯蝦的焦慮感，證明誘發螯蝦焦慮的神經迴路可能與人類相似。這些關聯或許能夠讓螯蝦成為開發人類抗焦慮藥物相關實驗的初步篩選者，藉此減少對脊椎動物的需求。因此，除了物理性的電擊刺激之外，科學家嘗試讓公螯蝦彼此競爭，發現勝利公螯蝦對失敗者進一步的騷擾也會誘發公螯蝦焦慮感(Bacqué-Cazenave et al., 2017)。學長們(郭，曾，2019) 則是探討社會經驗的多寡與螯蝦類焦慮行為的關係，並增加母螯蝦的研究樣本。他們研究發現，群居或獨居的螯蝦與優勢同性別螯蝦的互動行為，以及互動競爭後所誘發的類焦慮行為差異不大，但是公、

母螯蝦間確實存在明顯的差異，尤其是小公蝦迴避行為顯著較多，而此迴避行為與螯蝦的類焦慮行為有中度相關，但是就平均值來看，小母蝦似乎比較焦慮，推測可能是公母螯蝦體內性激素所影響。

動物的行為本來就深受到神經和內分泌系統影響，在前人螯蝦類焦慮行為研究中，不論是透過物理性的電擊刺激，或個體間互動競爭的刺激，都可能是透過神經系統來影響螯蝦類焦慮行為的表現；蘇聖傑(2017) 研究發現雌性激素會影響神經傳遞物質(如多巴胺、正腎上腺素)的分解，為女性罹患焦慮症風險高於男性提供一個解釋，因此，公、母螯蝦類焦慮行為的差異可能與性激素相關(郭，曾，2019)。不過，即使克氏螯蝦的類焦慮行為與人類有相似之處，但是，身為節肢動物一員的螯蝦與人類仍存在一個極大的生理差異－「蛻殼(molt)」，由蛻皮激素(ecdysteroids)調節。螯蝦蛻殼前血淋巴中的蛻皮激素濃度會急速上升(Nakatsuji et al., 2000)，螯蝦蛻殼後，身體是柔軟的，也就是俗稱的「軟殼蝦」，是螯蝦最脆弱、最容易受到捕食者攻擊的階段，所以螯蝦一般在蛻殼前就會尋找隱蔽處，且在蛻殼後必須盡快建構一個新的碳酸鈣外殼，而「胃石(gastrolith)」在此歷程中扮演極為關鍵的角色。

胃石是螯蝦胃部的小石塊，為暫時儲存鈣離子的中繼站，科學家透過 X 光記錄螯蝦胃石大小變化即可區辨螯蝦的生理週期：在蛻殼前期(pre-molt)，螯蝦體內的蛻皮激素會誘發外骨骼中的碳酸鈣轉移至胃石暫存，大約蛻殼前 20 至 14 天就能記錄到細小胃石的影像，而此胃石會隨著時間推進而增大、硬化，至蛻殼前一天達到最大值。剛蛻殼(molting)的軟殼蝦會自胃石中重新轉移鈣離子以形成新的外骨骼，因為螯蝦會快速降解胃石使新殼硬化，是以蛻殼後 5 天內胃石小至無法偵測的這段期間稱為蛻殼後期(post-molt)。倘若軟殼蝦在外殼硬化過程受阻而死亡，解剖螯蝦頭胸部就能發現尚未消退的胃石構造，如圖二。此外，螯蝦體內若無明顯胃石存在即可判定螯蝦處於蛻殼間期 (inter-molt) (Tucker & Tucker, 2019；Nakatsuji et al., 2000)。除了胃石以外，抽血檢測蛻皮激素的濃度和紀錄蛻殼的日期也可以評估螯蝦的蛻殼週期，但前者需要較複雜的生理檢測技術，而後者的推估方法缺乏實質的科學證據，因此藉由 X 光影像技術來透過胃石的存在與否以判定螯蝦處於蛻殼期或蛻殼間期應該較有說服力(Nakatsuji et al., 2000)。



圖二、蛻殼後外殼硬化不遂之軟殼蝦。

重新審視學長們(郭，曾，2019) 先前探討同性螯蝦互動後所產生的焦慮反應的研究，或許有些螯蝦正值蛻殼期，可能會影響部分數據真實性而導致結果產生偏差，因此本研究把蛻殼週期這項會影響螯蝦焦慮的干擾因子納入，探討蛻殼對螯蝦內在焦慮與互動行為的影響。除了蛻殼的因素外，個體互動或許仍是影響螯蝦類焦慮行為的因素之一，然而學長們先前的研究僅探討同性別螯蝦的互動行為模式與類焦慮行為間的關係(郭，曾，2019)，對於異性螯蝦

的互動與焦慮的關聯並不清楚，誠如我們先前所述，異性螯蝦間除了競爭外，可能還有求偶與交配等行為，而這樣不同的行為模式是否會對螯蝦造成焦慮反應值得我們深入探索。

貳、研究目的

本研究主要探討不同生理階段，即蛻殼期 vs. 蛻殼間期之克氏螯蝦，與異性個體的互動行為及互動後誘發的類焦慮行為差異。待答問題如下：

一、不同蛻殼階段(蛻殼期 vs. 蛻殼間期)的克氏螯蝦的互動行為與其類焦慮行為有何差異？

Q1.1：如何判定蛻殼蝦 vs. 間期蝦以及評估兩者類焦慮行為的差異？

Q1.2：蛻殼蝦 vs. 間期蝦與異性個體的互動行為有何差異？

Q1.3：蛻殼蝦 vs. 間期蝦與異性互動後誘發的類焦慮行為有何差異？

Q1.4：有無與異性互動的蛻殼蝦 vs. 間期蝦之類焦慮行為有何差異？

預期結果一：

我們預期能藉由 X 光檢視螯蝦體內胃石的有無區辨蛻殼蝦與間期蝦。互動行為中，蛻殼蝦可能比較不傾向與異性互動，也可能會為了保護自己威嚇對方，或拒絕互動的行為比例較高。相反的，間期蝦可能會比較想和異性互動，推測交配相關行為比例較高。而互動行為可能會造成蛻殼蝦的類焦慮行為反應，而間期蝦則較願意探索十字缸。此外，互動與否可能也會影響類焦慮行為的表現。

二、間期蝦與不同體型異性個體的互動行為與誘發之類焦慮有何差異？

Q2.1：間期蝦與不同體型異性個體互動但沒有交配的互動行為與類焦慮行為有何差異？

Q2.2：間期蝦與不同體型異性個體互動且有交配的互動行為與類焦慮行為有何差異？

Q2.3：間期蝦有無與異性互動、互動中有無交配對其類焦慮行為有何影響？

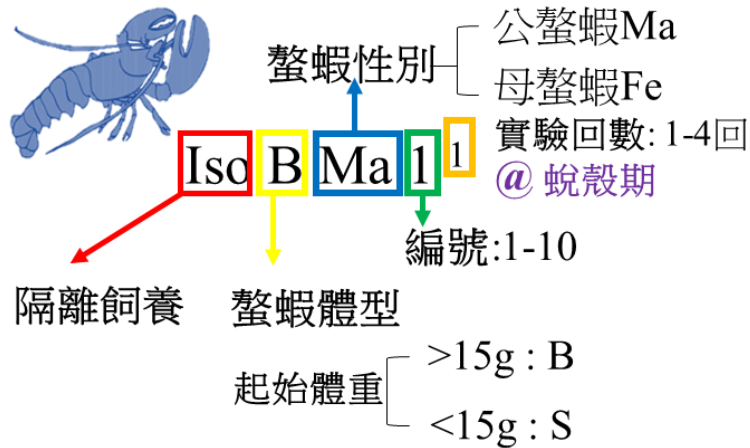
預期結果二：

異性螯蝦間的體型差異可能會影響互動行為和誘發的類焦慮行為，我們推測體型處於優勢的大螯蝦可能會較積極與異性個體互動，反之，體型較小的螯蝦，拒絕互動的行為比例可能較高。體型大小可能也會影響交配意願，我們推測體型大的螯蝦交配意願較高，如大公蝦的交配相關行為的比例會比小公蝦高，或者大母蝦的拒絕行為會比小母蝦的比例低等，而這部分的行為差異可能導致交配成功與否，進而影響螯蝦於十字迷宮的行為表現差異，我們推測小公蝦若成功與大母蝦交配，則會更願意探索環境，即比較不焦慮。

參、實驗材料

一、實驗動物：

本研究所使用的動物為克氏螯蝦(*Procambarus clarkii*)，購買自專家於北部溪流捕捉之野外族群，初始體長約 4~5 cm。剛進入實驗室的每隻螯蝦會進行公、母鑑定、體重測量，並給予命名編號，如圖三所示，隔離養殖一個月後才進行後續實驗。



圖三、螯蝦命名編號原則。

二、養殖環境建置：

為了盡量減少實驗前螯蝦間的互動，以確保實驗之準確性。實驗用螯蝦個別單獨養殖於二十個玻璃缸中(單一規格：L*W*H=30*15*24 cm³)，並於上方之螯蝦基本資料卡標註編號、養殖日期、蛻殼日期、性別與體重等養殖紀錄。每個玻璃缸上方開口覆蓋綠色止滑板遮蓋以防止螯蝦逃脫。玻璃缸內放入石頭或蚶殼一個(鈣離子來源)、自製庇護所(PVC水管)一個，提供螯蝦蛻殼或休憩時躲藏，如圖四。氧氣供給部分主要是以 PVC 管設計一組氣體分流裝置，一端連結大型不斷電打氣幫浦(EP-12000)，另一端則以透明塑膠管連結各個玻璃缸之生物棉培菌過濾器等來提高水中溶氧量，如圖四。每日定時餵食每隻螯蝦三至四顆飼料，若發現螯蝦脫殼，即將蝦殼取出，避免汙染水源或螯蝦攝入蝦殼上標記用立可百。玻璃缸的水 2 至 3 週更換一次，且會吸取缸底多餘的飼料與排泄物、清洗生化過濾棉以維護缸內水質。



圖四、螯蝦養殖系統。

三、十字迷宮製作：

因為本實驗需同時進行二隻螯蝦的十字迷宮試驗，因此委託工廠根據文獻(Fossat et al.,

2014)所繪製的設計稿(L*W*H=60*60*20 cm³、壁長 25cm、寬 10cm)再製作一個十字玻璃缸。十字迷宮有分亮臂與暗臂，亮臂部分以 LED 燈照明；暗臂部分則根據學長們(郭，曾，2019)的建議，裁切黑色 PP 板並以熱熔膠接合來遮光，而 PP 板交界處再用黑色絕緣膠帶補強。

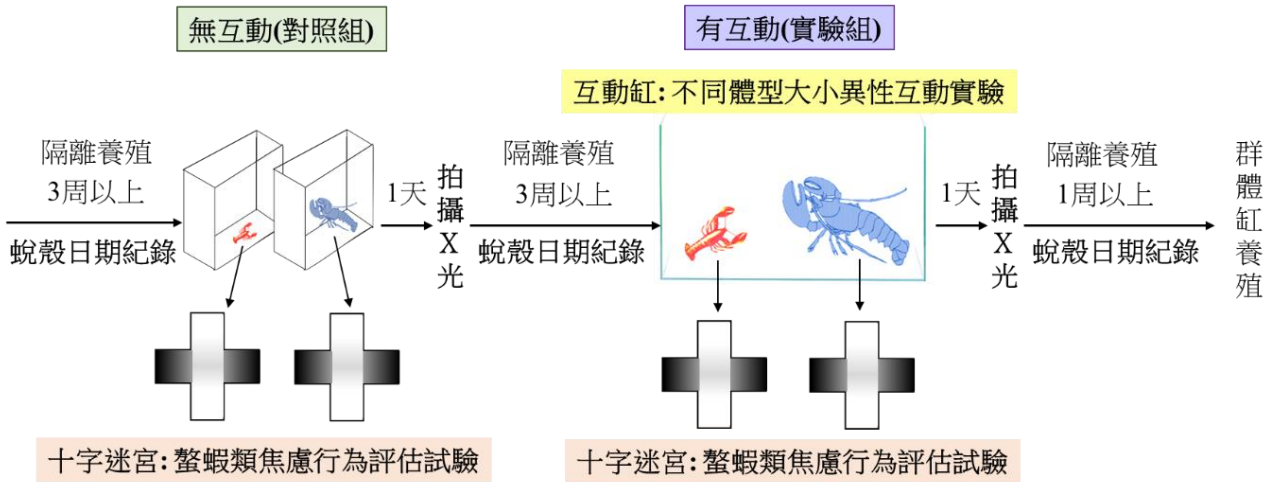
四、器材：

表一、實驗器材清單

實驗動物養殖用具							
1.	隔離獨居玻璃養殖缸 L*W*H=30*15*24 cm ³ ×20		2.	UC-1500 過濾系統			
3.	玻璃養殖缸 L*W*H=150*70*40 cm ³ (含不鏽鋼鐵架)		4.	內嵌式濾水與抽水馬達			
5.	EP-12000 不斷電打氣機		6.	AL40 打氣機			
7.	塑膠尺 30cm×2		8.	鐵尺 30cm×3			
9.	生物棉培菌過濾器(小水妖精)×2		10.	生物棉培菌過濾器(大水妖精)×20			
11.	燒杯 500ml		12.	淨水培菌生化過濾棉			
13.	不織布過濾棉		14.	水管 2m(20mm)×1			
15.	水瓢×2		16.	虹吸抽水管			
17.	底棲魚料×5 罐/包		18.	篩網×2			
19.	不鏽鋼夾×3		20.	電子秤			
21.	PVC 水管		22.	清潔刷			
23.	燒杯 250ml		24.	紗網			
25.	咕啞石		26.	蚶殼			
27.	標籤紙		28.	抹布×4			
29.	量筒 500ml /1000ml		30.	塑膠止滑板			
31.	束帶	32.	荷蘭沙	32.	鑷子×2	34.	打氣管(5mm)
實驗器材							
33.	玻璃互動缸 27*21*21 cm ³		34.	玻璃十字缸 L*W*H=60*60*20 cm ³ ×2			
35.	競技缸隔離板 L*W*H=6*5*8 cm ³		36.	紙箱 L*W*H=22*21.5*10 cm ³ ×24			
37.	移動式白板 L*W*H=67*2*160 cm ³ ×4		38.	鐵板 L*W*H=99*45.5*2 cm ³ ×2			
39.	環狀 LED 燈×8		40.	LAB QUEST 2 數據擷取介面			
41.	玻璃方形桌 L*W*H=67*67*51 cm ³ ×2		42.	ODO-BTA 溶氧計			
43.	LS-BTA 光感應器		44.	計時器×3			
45.	4K 攝影機×2		46.	平板×3			
47.	筆記型電腦×3		48.	透明資料夾頁			
49.	PP 瓦楞板		50.	影像擷取軟體、統計軟體 RStudio			
51.	冰鏟×2		52.	立可白			

肆、實驗過程與方法

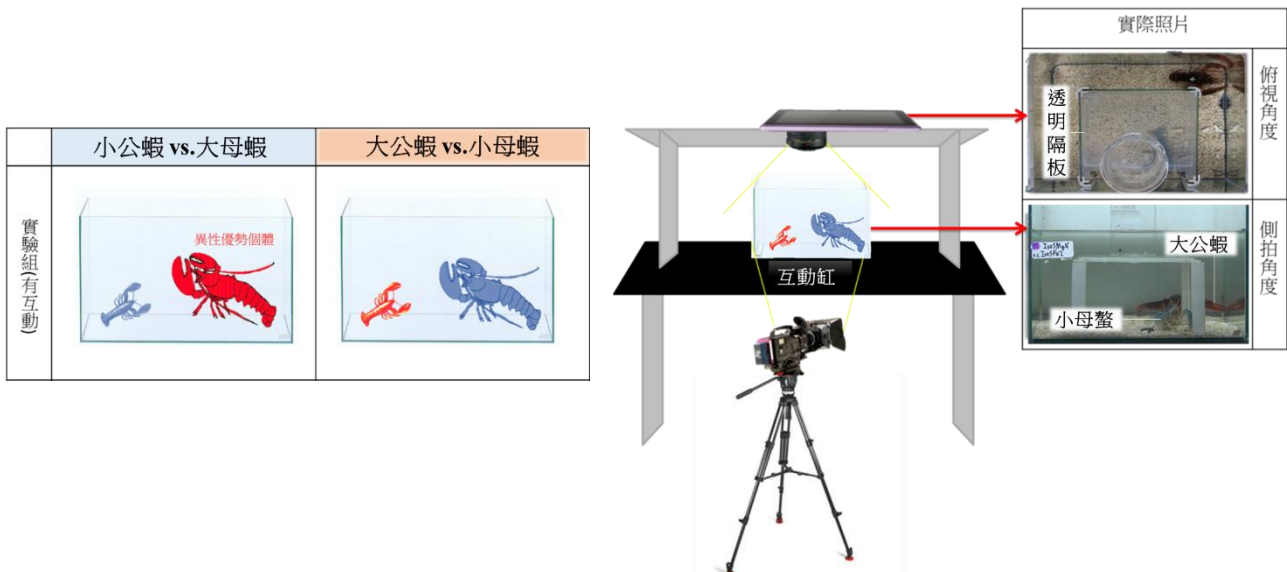
一、實驗設計與流程



圖五、螯蝦實驗流程圖

(一) 螯蝦面對不同體型異性個體的互動行為-互動缸實驗

本實驗以 $L*W*H=27*21*21\text{cm}^3$ 之魚缸作為公母螯蝦的互動缸，並針對體型差異分成二大組，分別為小公蝦大母蝦互動組與大公蝦小母蝦互動組，如圖六所示。首先，修正之前學長(郭，曾，2019)研究使用夾子夾取螯蝦進行實驗，我們改以冰鏟靠近螯蝦並等待螯蝦進入冰鏟後，再將準備互動之小螯蝦放入互動缸內的透明隔板區域，適應一分鐘，接著再於隔板外放入大螯蝦適應一分鐘後取出透明隔板開始進行互動實驗。以二台攝影機由側面與上方記錄互動缸內的事件 30 分鐘，如圖七。互動缸中的公、母螯蝦皆是本實驗的「行為觀察個體」，等待 30 分鐘後立即以冰鏟將公、母螯蝦各自移送到十字迷宮進行試驗，若互動過程中公母螯蝦有成功交配，則等待公母螯蝦交配完成分開後再移至十字迷宮。

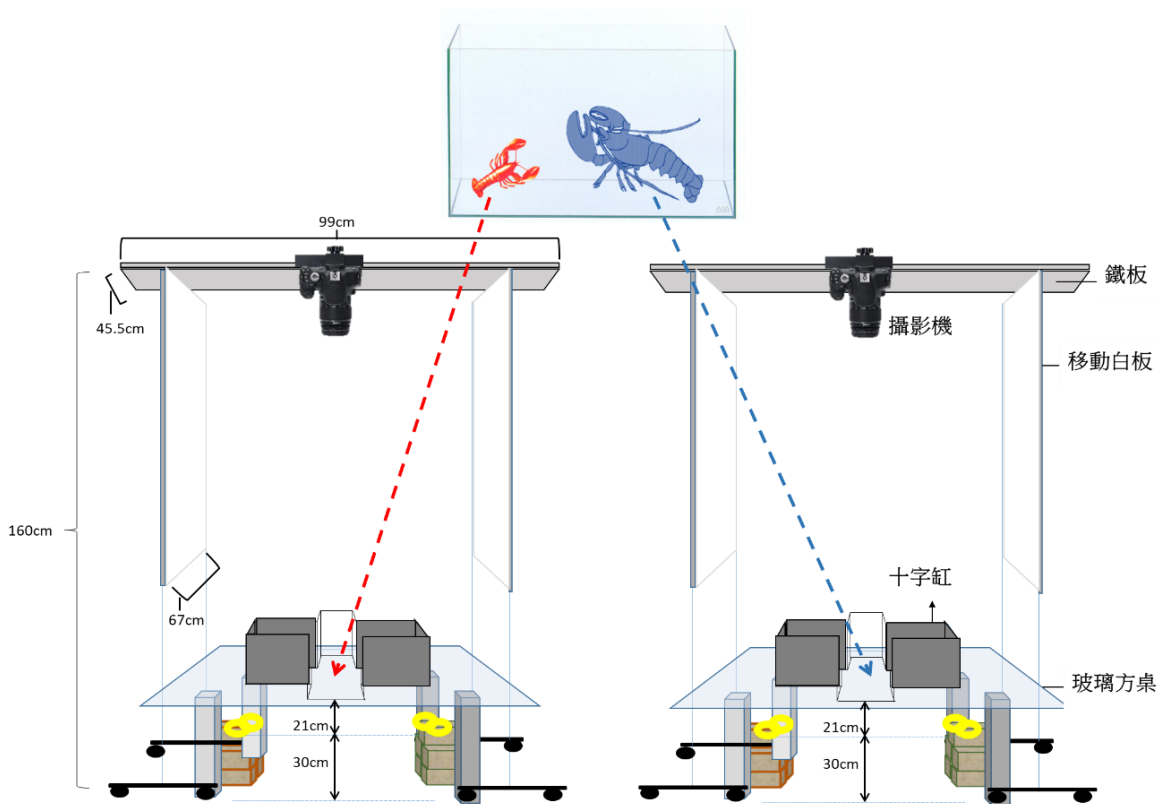


圖六、公母螯蝦分組互動實驗設計圖

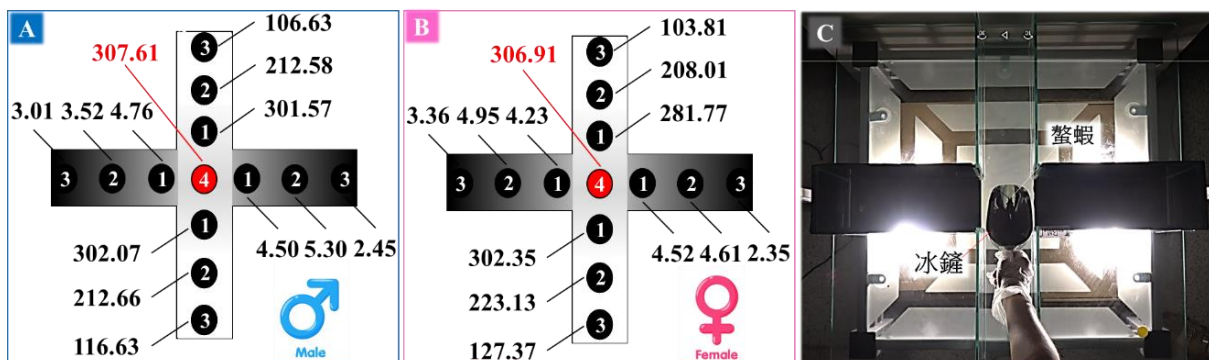
圖七、互動缸實驗裝置示意圖

(二) 螯蝦與異性個體互動後的類焦慮行為評估-十字迷宮實驗

十字迷宮實驗裝置如圖八，主要評估有互動的螯蝦(實驗組)在互動缸試驗後可能誘發的類焦慮行為。我們參考之前學長(郭，曾，2019)的研究裝置，以玻璃桌架高十字迷宮，下方以 LED 燈照明(以紙箱架高 30cm)，置於十字缸左右暗臂底下 21cm 處。實驗進行前以光強度感應器量測照度來控制亮臂之平均照度為 232.98 ± 10.39 Lux，暗臂為 3.87 ± 0.33 Lux (公螯蝦十字缸：亮臂 233.42 ± 15.18 ；暗臂 3.93 ± 0.43 。母螯蝦十字缸：亮臂 232.53 ± 14.19 ；暗臂 3.98 ± 0.50)，平均照度如圖九 A、B。再透過攝影機以俯視角度拍攝十字缸內螯蝦移動的路徑。每次試驗包含一組完成互動缸實驗的公、母螯蝦，我們同樣以冰鏟將待測試的公螯蝦、母螯蝦各別放置於十字迷宮中央正方形區域(如圖九 C)，上方均以攝影機記錄螯蝦於十字迷宮內的移動路徑 20 分鐘，完成試驗後再進行螯蝦體重測量和頭胸部背板編號標記。無互動的對照組螯蝦則直接從飼養缸移到十字迷宮進行類焦慮行為試驗。



圖八、公、母螯蝦的十字迷宮試驗裝置與設計

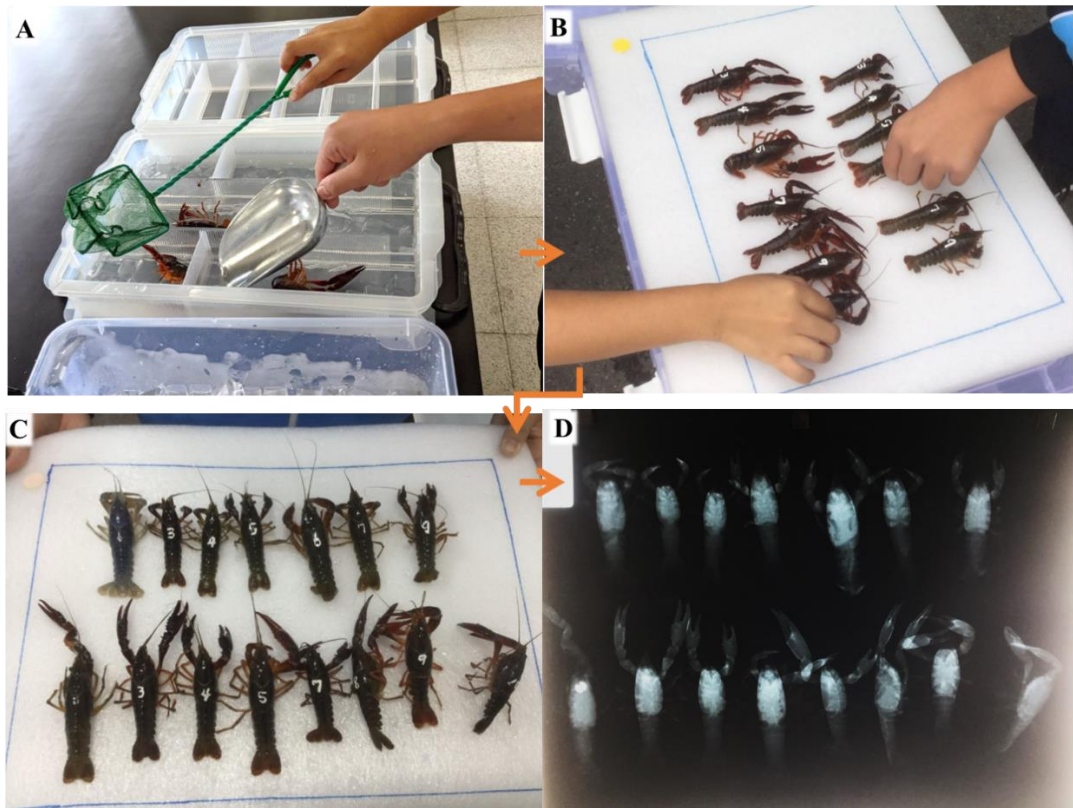


圖九、公、母螯蝦十字迷宮裝置照度與拍攝實景圖。A.公螯蝦十字迷宮各點平均照度；B.母螯蝦十字迷宮各點平均照度；C.待測螯蝦拍攝實景。

(三) 螯蝦生理週期(蛻殼期 vs.蛻殼間期)的判讀-X 光拍攝實驗

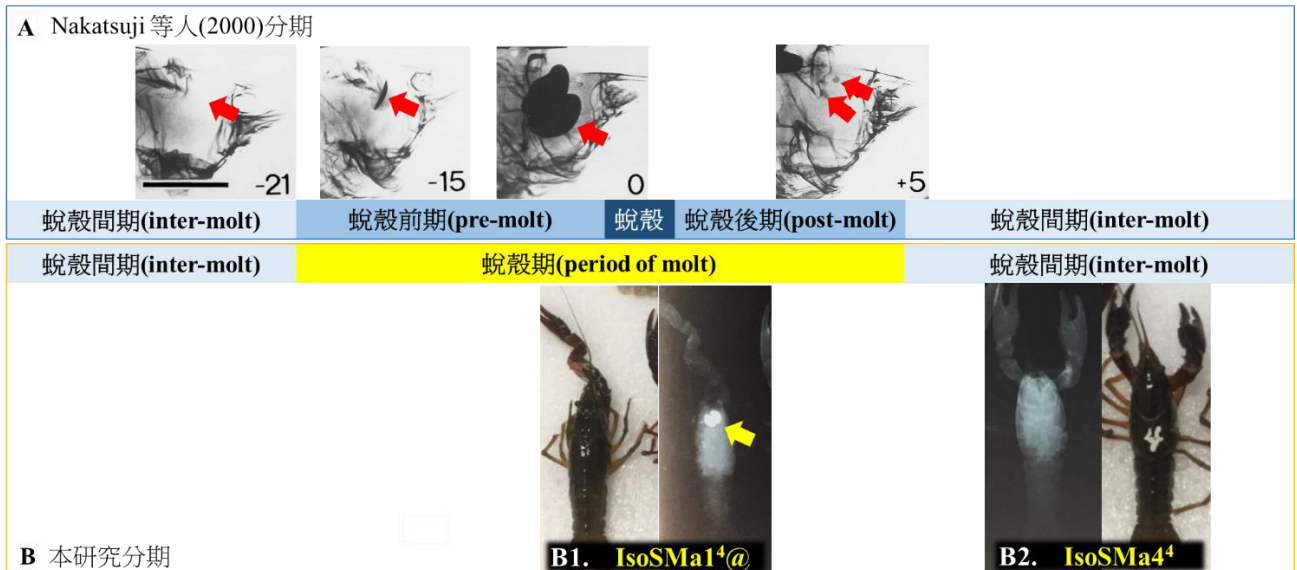
我們參考 Nakatsuji 等人(2000)以 X 光拍攝螯蝦以藉由胃石判定螯蝦的生理週期。為避免拍攝實驗操作影響互動與焦慮評估試驗，因此規劃在螯蝦結束十字迷宮試驗後，回原隔離缸休息一天才進行螯蝦的 X 光拍攝實驗。拍攝前各螯蝦先於實驗室內以冰塊進行鎮定，並分隔裝盒處理(圖十 A)，再立即將螯蝦送往醫事檢驗所進行 X 光攝影。

抵達檢驗所後則進行拍攝前準備作業，即以保麗龍板作為移動螯蝦及拍攝之平台，將螯蝦自冰鎮盒中移出，並依照公、母之序號排列於保麗龍板，如圖十 B、C，隨即移入至 X 光攝影室進行拍攝，結果如圖十 D。拍攝完畢後，待螯蝦甦醒期間進行體長與螯長度之測量與紀錄，隨後置入分隔塑膠盒帶回實驗室並送回原隔離缸休息、飼養確認健康狀況，一周後再移至大型群體缸飼養。



圖十、螯蝦 X 光拍攝實驗流程。A.螯蝦分隔冰鎮與裝盒處理；B.公、母螯蝦依序號排列於保麗龍板；C.螯蝦移至 X 光攝影室拍攝；D. X 光攝影結果。

在 Nakatsuji 等人(2000)的研究中，透過 X 光記錄的胃石的大小至少可將螯蝦的生理週期分成蛻殼前期(pre-molt)、蛻殼(molting)、蛻殼後期(post-molt)與蛻殼間期(inter-molt)，如圖十一 A。基於本研究的目的與需求，我們將蛻殼前期(pre-molt)、蛻殼(molting)、蛻殼後期(post-molt)統稱為「蛻殼期(period of molt)」，亦即在 X 光相片中有紀錄到胃石影像者，即判別為處於蛻殼期的螯蝦，簡稱「蛻殼蝦」，如圖十一 B1；反之若沒有胃石影像紀錄者，則判讀該螯蝦處於蛻殼間期，是為「間期蝦」，如圖十一 B2。



圖十一、螯蝦生理週期的分期與判讀。A. Nakatsuji 等人(2000)研究之螯蝦分期；B. 本研究之螯蝦分期，B1. 處於蛻殼期的螯蝦(蛻殼蝦)；B2.處於蛻殼間期的螯蝦(間期蝦)。

二、資料分析

(一) 互動缸之行為指標建立與分析

1. 行為指標建立

互動缸內公、母螯蝦與異性優勢螯蝦的互動多元，我們由各組別(大公蝦小母蝦互動組、小公蝦大母蝦互動組)挑選一個影片進行分析。首先，我們共同觀看二部影片，並從這二部影片中找出公、母螯蝦相似或各別相對顯著的行為，再透過討論來具體描述八大行為。因為實驗螯蝦均為成蝦，預期公、母螯蝦互動可能有交配行為，所以我們針對交配行為作比較深入的描述，所以八大行為中包含與交配比較相關聯的行為：公螯蝦為拱螯、固定、翻身等行為，母螯蝦則是抬腹、平舉等；另一部分則是傾向拒絕互動或交配的共同行為：如推離、迴避、搨尾等，其行為定義如下：

交配關聯行為

公螯蝦：

- (1) 拱螯：公螯蝦將雙螯拱起，使母螯蝦在螯的下方，以■表示。
- (2) 固定：①夾螯固定-公螯蝦夾住母螯蝦的任一隻螯，以■表示。
②附肢固定-公螯蝦夾住母螯蝦的任一隻附肢，以■表示。
- (3) 翻身：①翻身交配-公螯蝦翻轉母螯蝦的身體後進行交配，以■表示。
②翻身離開-公螯蝦翻轉母螯蝦的身體後逕自離開，以■表示。

母螯蝦：

- (4) 抬腹：母螯蝦腹部及尾部抬高，以■表示。
- (5) 平舉：母螯蝦雙螯同時向前舉起且相互平行，以■表示。

拒絕關聯行為：公、母螯蝦的共同行為

- (6) 推離：螯蝦用螯推開對方，以■表示。
- (7) 迴避：一隻螯蝦靠近另一隻螯蝦，被靠近之螯蝦快速離開，以■表示。
- (8) 搨尾：螯蝦的腹部、尾扇快速收縮捲曲，以■表示。



圖十二、公、母螯蝦九大互動行為實景圖。

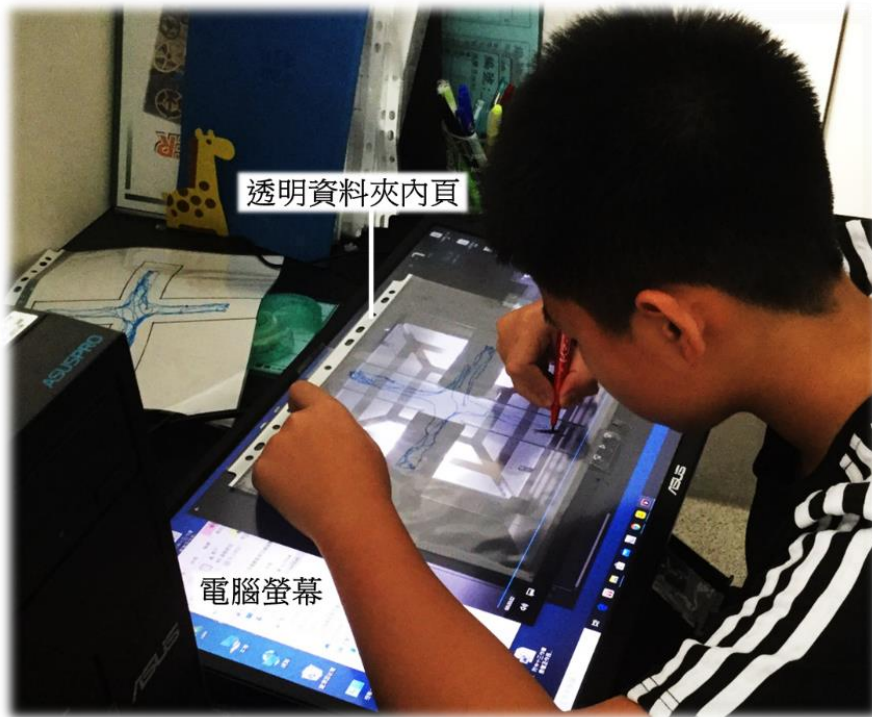
2. 公、母螯蝦互動行為分析

本分析目的是想瞭解公、母螯蝦面對異性個體的互動行為，因此公、母螯蝦皆為行為觀察個體，根據上述八大行為指標定義，我們以 Excel 製作時間模板(一格代表一秒)，針對同一實驗組錄影資料中，公、母螯蝦互動時展現且符合八大行為定義的行為進行該色塊標示(如圖十三)，再針對分析結果進行討論以達共識。接著計算各色塊於影片中出現的次數，作為各行為發生的總次數。最後，以各分析組別為單位，計算各行為發生的次數之百分比以繪製成圓餅圖，此外我們也分別計算公、母螯蝦於互動缸中各種互動行為的時間總合繪製成長條圖，作為社會互動總量，並以 RStudio 統計軟體進行統計分析。

(二) 十字迷宮路徑分析

1. 路徑圖繪製

路徑圖繪製主要參考之前學長(郭，曾，2019) 所發展的方法，即利用透明資料夾內頁，浮貼於電腦螢幕上並將螢幕平放(如圖十四)，運用電影與電視軟體播放檔案，等待校準十字缸位置後開始進行繪製。紅色◎代表螯蝦起始位置，再以藍色筆沿小螯蝦頭部中心繪製移動路徑，最後以紅色●代表螯蝦最終點。



圖十四、螯蝦十字迷宮移動路徑繪製實況。

2. 十字迷宮亮/暗臂時間百分比與統計分析

十字迷宮亮/暗臂時間分析也是參考之前學長(郭，曾，2019) 所發展的方法以，Excel 製作時間模板(一格代表一秒)，播放影像，運用時間模板，紀錄各隻螯蝦於十字迷宮亮、暗臂之移動、停止時間(以■表示亮臂；■表示暗臂)。以上述色塊標示 68 部公螯蝦與 68 部母螯蝦的移動路徑錄影檔，再計算各色塊數並加總亮臂之移動/靜止時間，除以分析總時間 1200 秒即為該隻螯蝦的亮臂時間百分比，最後再分別計算各組螯蝦的平均亮臂時間百分比、標準誤差，以繪製成長條圖，並以 RStudio 統計軟體進行統計分析。

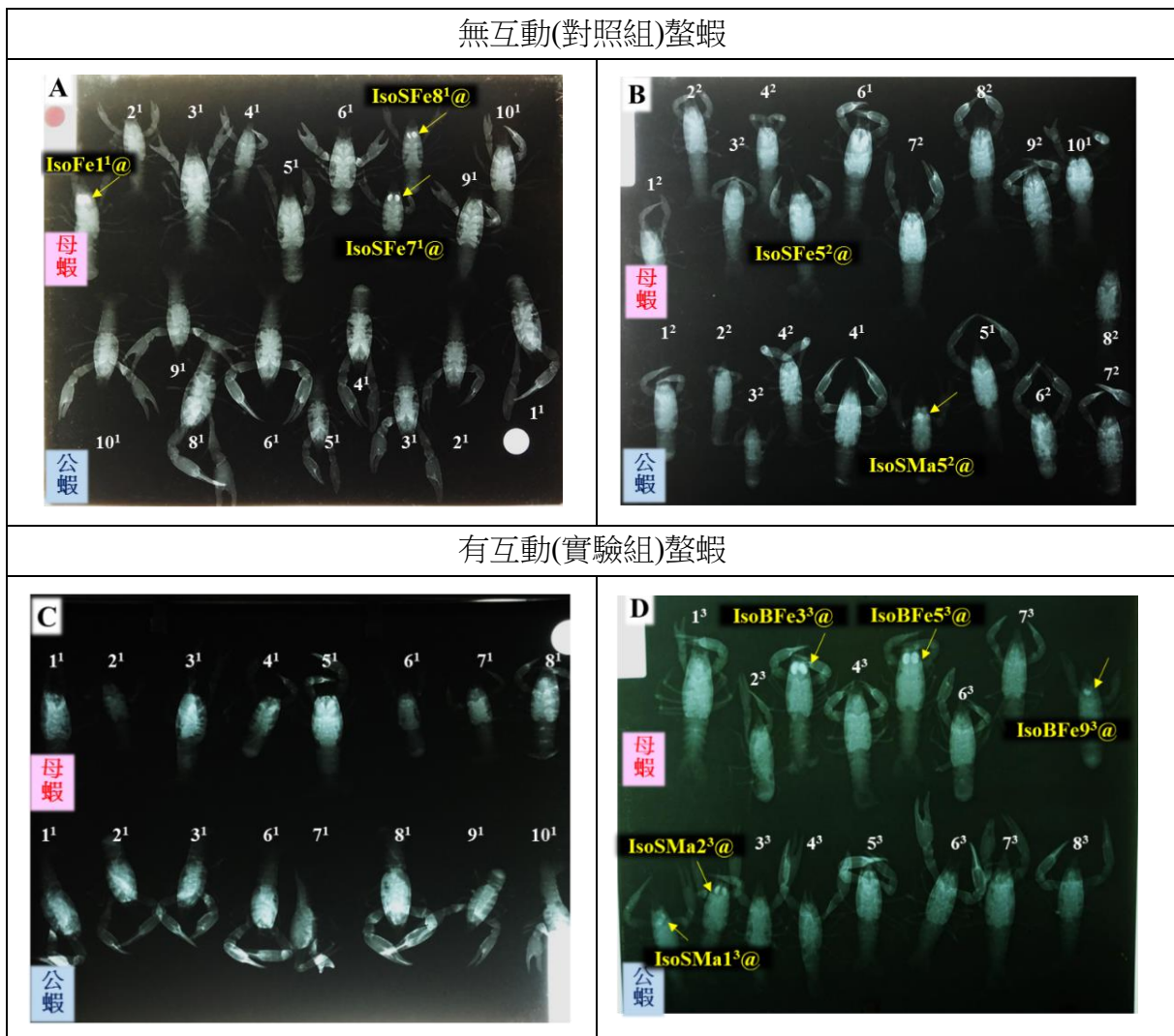
伍、研究結果

一、蛻殼蝦 vs. 間期蝦之互動行為與類焦慮行為的差異。

1.1：螯蝦生理階段的判讀與類焦慮行為的評估

1.1.1：克氏螯蝦之蛻殼期 vs. 蛻殼間期的判讀

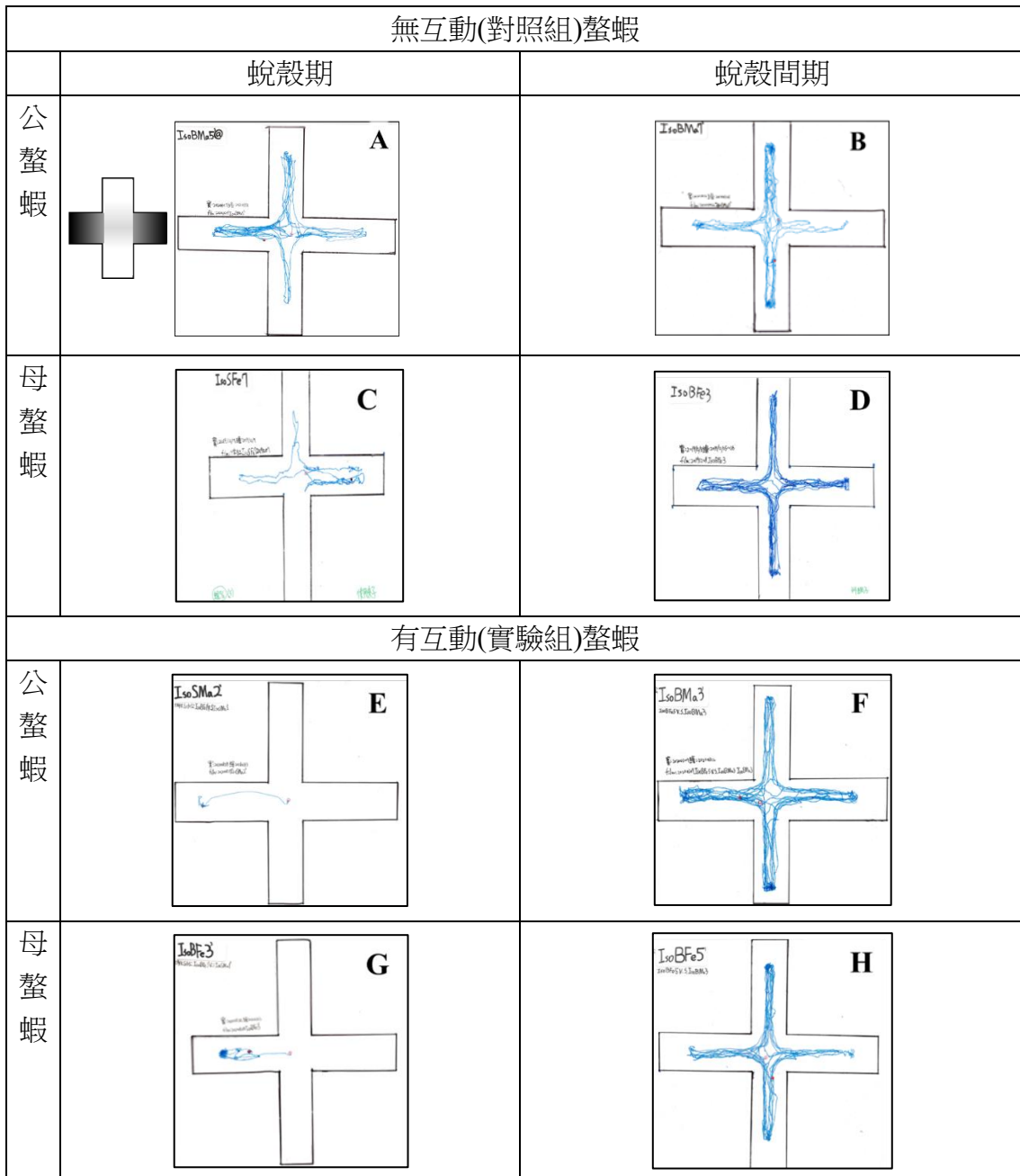
為瞭解蛻殼是否會誘發螯蝦的焦慮，我們以 X 光拍攝螯蝦並搭配其蛻殼日紀錄，來判讀螯蝦的生理階段，分別以無互動對照組螯蝦(圖十五 A、B)及有互動實驗組螯蝦(圖十五 C、D)作說明。在無互動螯蝦的 X 光相片中，第一回母螯蝦 IsoFe1¹@、IsoSFe8¹@、IsoSFe7¹@ (圖十五 A)，第二回公螯蝦 IsoSMa5²@ (圖十五 B) 都有明顯的胃石，顯示這幾隻螯蝦處於蛻殼期，是為蛻殼蝦。而母螯蝦 IsoSFe5²@ 胃石影響不是很明顯，但根據蛻殼紀錄，IsoSFe5²@ 在實驗前三天有蛻殼，該蝦應該接近蛻殼期末期，因此也判讀為蛻殼蝦，其它螯蝦則為間期蝦。在有互動螯蝦的 X 光相片中，第一回公母螯蝦都沒有明顯胃石(圖十五 C)，配合蛻殼日期紀錄，判定互動實驗當天這些螯蝦是處於蛻殼間期；第三回之公母螯蝦：IsoSMa1³@、IsoSMa2³@、IsoBFe3³@、IsoBFe5³@、IsoBFe9³@ 則有明顯胃石(圖十五 D)，即與異性螯蝦互動時處於蛻殼期，是為蛻殼蝦，其它螯蝦則是間期蝦。



圖十五、公母螯蝦的 X 光相片。A.無互動第一回螯蝦；B.無互動第二回螯蝦；C.有互動第一回螯蝦；D.有互動第三回螯蝦。黃色螯蝦編號均為蛻殼蝦，黃色箭頭所指為胃石影像。

1.1.2：蛻殼蝦 vs. 間期蝦的十字迷宮路徑圖

圖十六為有、無互動之公母螯蝦於十字迷宮的實驗結果(代表性數據)。無互動的蛻殼公蝦於暗臂探索的路徑稍多 (左暗臂藍色路徑重複繪製)、停留的時間也較多，如圖 A；蛻殼母蝦多停留於十字迷宮的暗臂區域，移動較少，如圖 C，展現出類焦慮的行為，探索環境意願低；間期公、母螯蝦移動路徑相似(B、D)，多傾向於十字迷宮之各亮臂與暗臂探索。公、母螯蝦與異性互動後(實驗組)的十字迷宮路徑與無互動之螯蝦相似，蛻殼公、母螯蝦多停留在暗臂(E、G)，而間期公、母螯蝦之路徑則遍及十字迷宮的亮暗臂(F、H)。綜合十字迷宮路徑圖顯示不論有、無互動或性別的差異，相較於間期螯蝦，處於蛻殼期的蛻殼蝦有類焦慮的行為展現，即多停留暗臂而較不願意在十字迷宮內探索，又以互動後之螯蝦的路徑差異較為明顯。

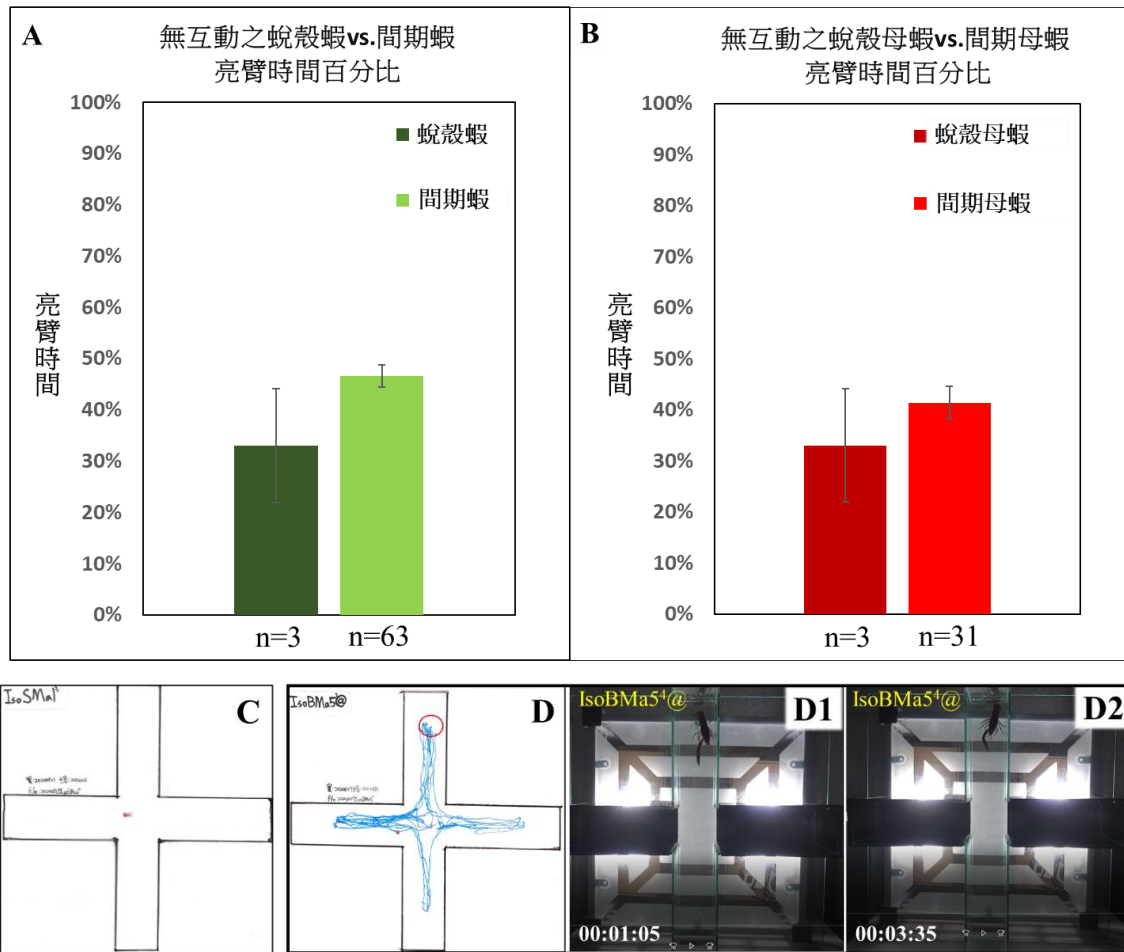


圖十六、螯蝦十字迷宮路徑圖。A. IsoBMa⁵@；B. IsoBMa⁷；C. IsoSFe⁷@；
D. IsoBFe³；E. IsoSMa²@；F. IsoBMa³；G. IsoBFe³@；H. IsoBFe⁵。

1.1.3：無互動的蛻殼蝦 vs. 間期蝦之類焦慮行為的差異

無互動的蛻殼蝦在亮臂活動的時間百分比平均值約 $33.03 \pm 11.09\%$ ，間期蝦則約 $46.59 \pm 2.14\%$ (圖十七 A)，顯示蛻殼蝦有稍微焦慮的趨勢；間期蝦則趨於探索環境，但可能因為蛻殼蝦樣本數太少，三隻蛻殼蝦組內差異過大，所以兩組沒有顯著差異 ($p=0.238$)。

若考量性別因素，無互動的蛻殼母蝦在亮臂活動的時間百分比約 $33.03 \pm 11.09\%$ ，間期母蝦則約 $41.42 \pm 3.0\%$ ，也沒有顯著差異 ($p=0.356$)，如圖十七 B，但相較於蛻殼母蝦，大約能看出間期母蝦有比較願意探索環境的趨勢。蛻殼公蝦在十字迷宮試驗時，一開始就停滯亮臂中央不動居多(如圖十七 C)，或移動至亮臂末端停滯許久，如圖十七 D，而導致亮臂時間百分比 100% 或 $>70\%$ ，推測這些公蝦可能過於焦慮，故圖十七 B 僅呈現母蝦分析結果。



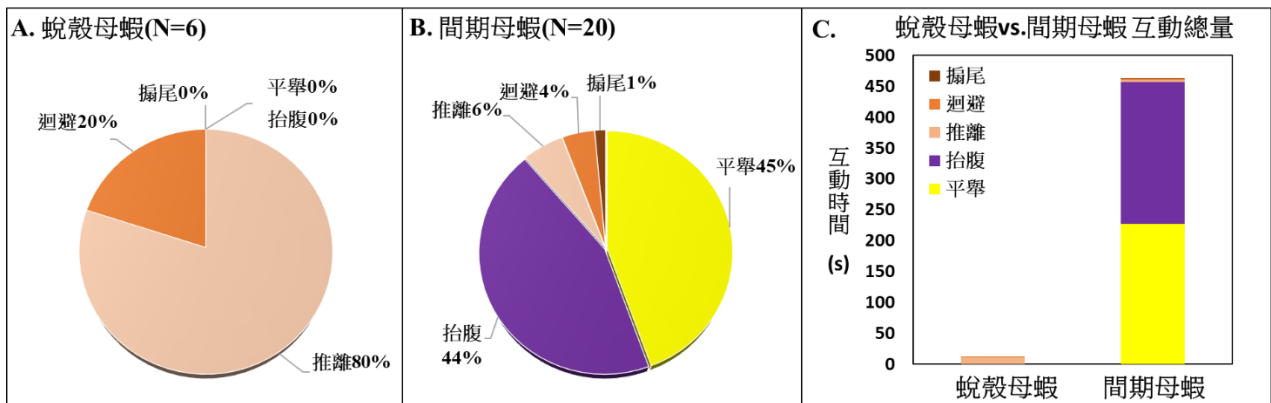
圖十七、無互動 (對照組)之蛻殼蝦與間期蝦十字迷宮路徑之亮臂百分比。A. 無互動之蛻殼蝦與間期蝦(蛻殼蝦僅有母蝦樣本)；B.無互動之蛻殼母蝦與間期母蝦；C.無互動之蛻殼公蝦 IsoSMa1³@停留於亮臂定點路徑圖；D.無互動之蛻殼公蝦 IsoBMa5⁴@多次停滯於亮臂末端路徑與實景圖。

1.2：蛻殼蝦 vs. 間期蝦與異性個體之互動行為的差異

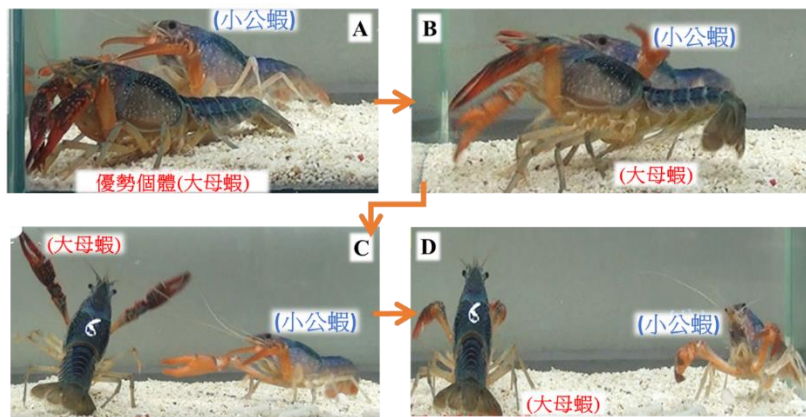
1.2.1：蛻殼母蝦 vs. 間期母蝦與異性個體之互動行為的差異

蛻殼母蝦(N=6)和間期公蝦互動的時候，推離佔 80%，是比例最高的，而其餘的互動只有迴避，顯然母螯蝦多以較直接的推離來拒絕公螯蝦得靠近。(如圖十八 A)，若母蝦有體型上的優勢，除了推離之外，亦有舉螯威嚇的行為發生，圖十九 C，且互動 30 分(1800 秒)的歷程，蛻殼母蝦與間期公蝦的互動總量相當少 (如圖十八 C)。

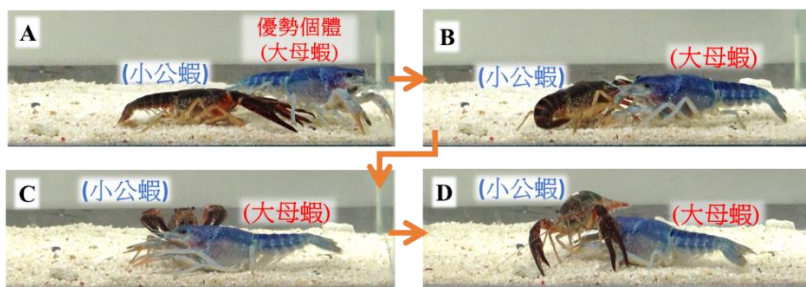
間期母蝦(N=20)與間期公蝦互動行為比較多元，平舉和抬腹共佔 89%，而推離 6%，迴避 4%，搨尾 1%等行為共只佔 11%，顯示母螯蝦更願意與公螯蝦進行社會互動(如圖十八 C)，且交配意願高，以大母蝦(IsoBFe1¹)與小公蝦(IsoSMa9¹)互動為例，小公蝦靠近時，大母蝦雙螯平舉並抬起腹部以表現順從願意交配(如圖二十 C)。



圖十八、母螯蝦與異性互動模式與總量比較。A. 蜕壳母蝦；B. 間期母蝦；C. 互動總量。



圖十九、蜕壳大母蝦與間期小公蝦的互動。小公蝦(IsoSMa5²)探索環境並嘗試靠近時(A、B)，大母蝦(IsoBFe6@²)馬上轉身並且舉起螯威嚇小公蝦(C)，小公蝦則退後迴避(D)。

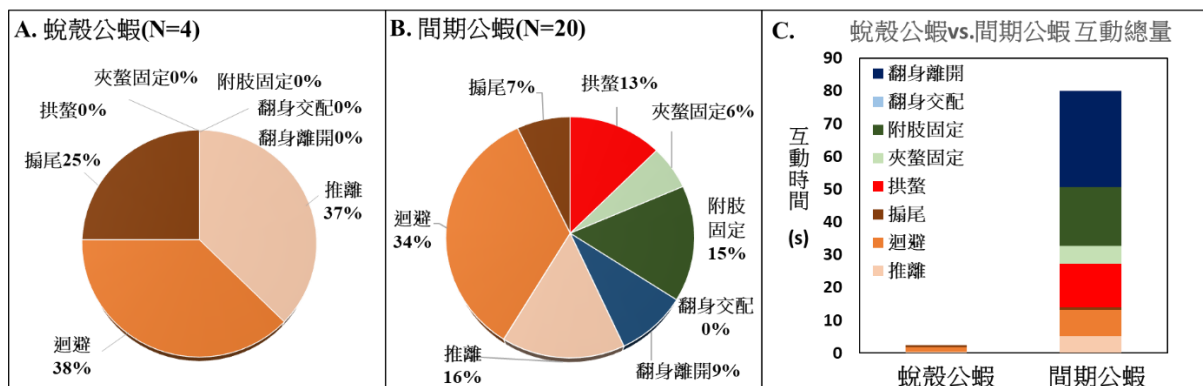


圖二十、間期大母蝦與間期小公蝦的互動。當間期小公蝦(IsoSMa9¹)靠近大母蝦(IsoBFe1¹)時(A、B)，大母蝦雙螯平舉並抬起腹部表示順從(C)，小公蝦拱螯並嘗試固定大母蝦(D)。

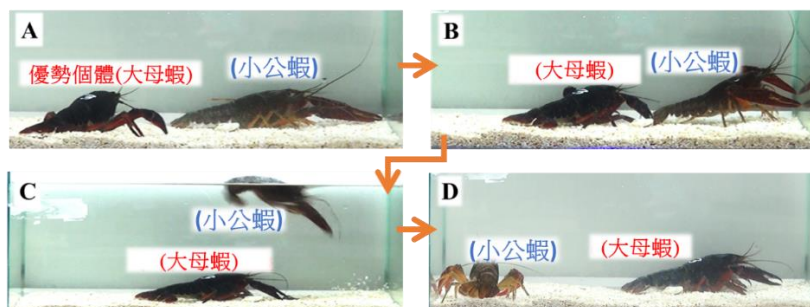
1.2.2：蛻殼公蝦 vs. 間期公蝦與異性個體之互動行為的差異

蛻殼公蝦(N=4)與間期母蝦的互動為推離 37%，迴避 38%，搗尾 25%，都是拒絕的行為(如圖二十一 A)，尤其是高比例的搗尾(如圖二十二 C)，且蛻殼公蝦與間期母蝦的互動總量極少(如圖二十一 C)，顯示公螯蝦可能不想、甚至害怕與母螯蝦接觸。

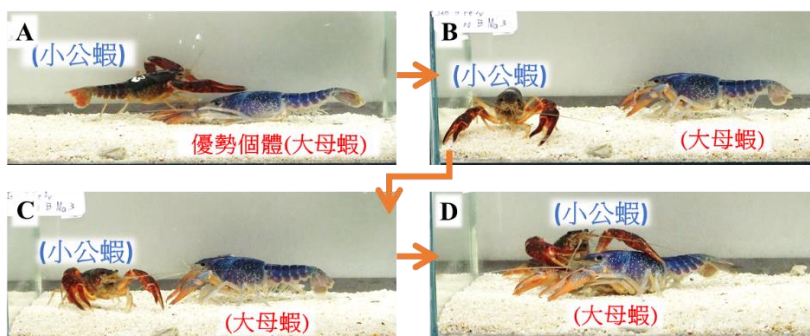
間期公蝦(N=20)和間期母蝦的互動行為包含拱螯 13%，固定 21%，翻身 9%，總共有 43%，且社會互動總量顯著比蛻殼公蝦多(如圖二十一 C， $p=0.018$)，顯示此時期之公螯蝦願意與母螯蝦互動，並嘗試交配，但沒有成功。不過間期公螯蝦也有一半比例的拒絕行為，例如搗尾 7%，推離 16%，迴避 34%，總共 57%(如圖二十一 B)。不過相較於蛻殼公蝦，在這些沒有交配成功的組別中，間期公蝦主要以迴避(如圖二十三 B)的方式拒絕母螯蝦靠近，直接推離對方的比例則較少。



圖二十一、公螯蝦與異性互動模式與總量比較。A.蛻殼公蝦；B.間期公蝦；C.互動總量。



圖二十二、蛻殼小公蝦與間期大母蝦的互動。大母蝦(IsoBFe3@³)靠近蛻殼小公蝦(IsoSMa1@³) (A、B)，小公蝦馬上搗尾離開(C)，之後與大母蝦保持距離(D)。



圖二十三、間期小公蝦與大母蝦的互動。大母蝦(IsoBFe5¹)以雙螯平舉和抬腹表達互動與交配意願(A)，小公蝦(IsoBMa3¹)先迴避大母蝦(B)，稍後小公蝦回頭主動靠近(C)大母蝦，展現拱螯行為接受大母蝦(D)，並打開螯嘗試固定母蝦。

1.2.3：蛻殼公/母蝦與異性個體之互動行為的差異

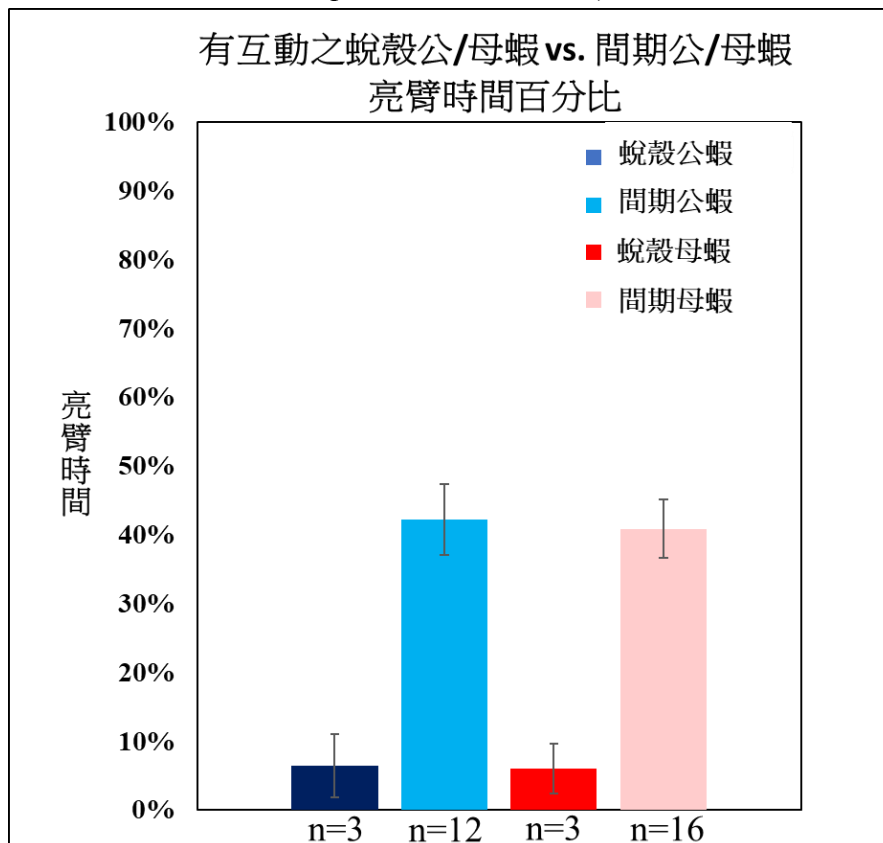
蛻殼螯蝦普遍互動總量少，且以推離和迴避拒絕與異性個體互動(公螯蝦：推離 37%，迴避 38%，圖二十一 A；母螯蝦：推離 80%，迴避 20%，圖十八 A)，推測可能是因為牠們要準備蛻殼或剛蛻完殼，身體狀態相對脆弱，而與其他個體保持距離以策安全。此外，蛻殼公蝦的搨尾比例甚高 25%，有接觸異性的推離行為則較母螯蝦少 43%，代表蛻殼公螯蝦更排斥異性個體的接觸。

1.2.4：間期公/母蝦與異性個體之互動行為的差異

間期螯蝦與異性個體互動總量很多，顯示互動意願很高，行為也相當多元(公螯蝦：拱螯 13%，固定 21%，翻身 9%，圖二十 B；母螯蝦：平舉和抬腹共佔 89%，圖十八 B)，不過相較於母螯蝦高度的互動意願，間期公蝦仍有一半比例的拒絕行為(搨尾、推離、迴避共 57%)，尤其是迴避行為比母螯蝦多出 30%，平均互動總量也較間期母蝦少，顯然間期公蝦與異性接觸的意願沒有像母螯蝦那麼高。

1.3：蛻殼蝦 vs. 間期蝦與異性互動後誘發之類焦慮行為的差異

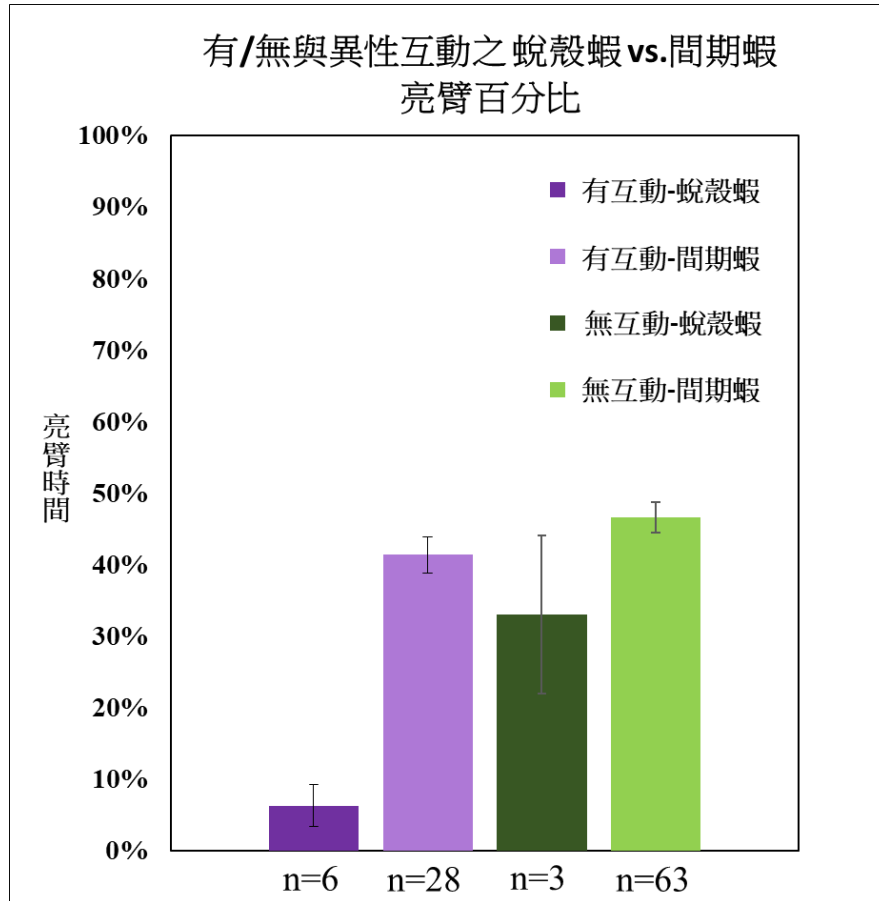
與間期母蝦互動後，蛻殼公蝦在亮臂活動的時間百分比僅約 $6.5 \pm 4.16\%$ ，間期公螯蝦則高達 $42.22 \pm 5.10\%$ ，二者具有顯著差異 ($p=0.030$)；母螯蝦與公螯蝦互動後也有相似的趨勢，蛻殼母蝦亮臂時間百分比也只有 $6.0 \pm 3.62\%$ ，間期母螯蝦也顯著比較高，約有 $40.91 \pm 4.20\%$ ($p=0.004$)，如圖二十四，而性別之間並無顯著差異 (蛻殼公、母螯蝦 $p=1.000$ ；間期公、母螯蝦 $p=0.8017$)。整體來說，不論是公螯蝦或母螯蝦，與異性互動後互動，處於蛻殼期的螯蝦(蛻殼蝦)很少在十字迷宮亮臂移動或探索，也就是蛻殼蝦展現較明顯的類焦慮行為。此外，為瞭解螯蝦各互動行為與類焦慮行為關聯，我們也進行相關分析，在定義的八大行為中，僅有公螯蝦固定行為與十字迷宮亮臂百分比有中度相關(夾螯固定 $p=0.055$ ， $r=0.505$ ；附肢固定 $p=0.031$ ， $r=0.556$)。



圖二十四、蛻殼期與蛻殼間期螯蝦與異性互動後之十字迷宮路徑的亮臂百分比。

1.4：有無與異性互動的蛻殼蝦 vs. 間期蝦之類焦慮行為的差異

間期蝦在與異性螯蝦(間期蝦)互動後，於十字迷宮亮臂時間百分比約有 $41.38 \pm 2.55\%$ ，而蛻殼蝦則僅有 $6.25 \pm 2.93\%$ ($p=0.0005$)，也比沒有互動的蛻殼蝦低很多，統計上趨近顯著($p=0.069$)，顯示蛻殼蝦與異性個體互動後有較強烈的類焦慮行為展現，更不願意探索十字迷宮。

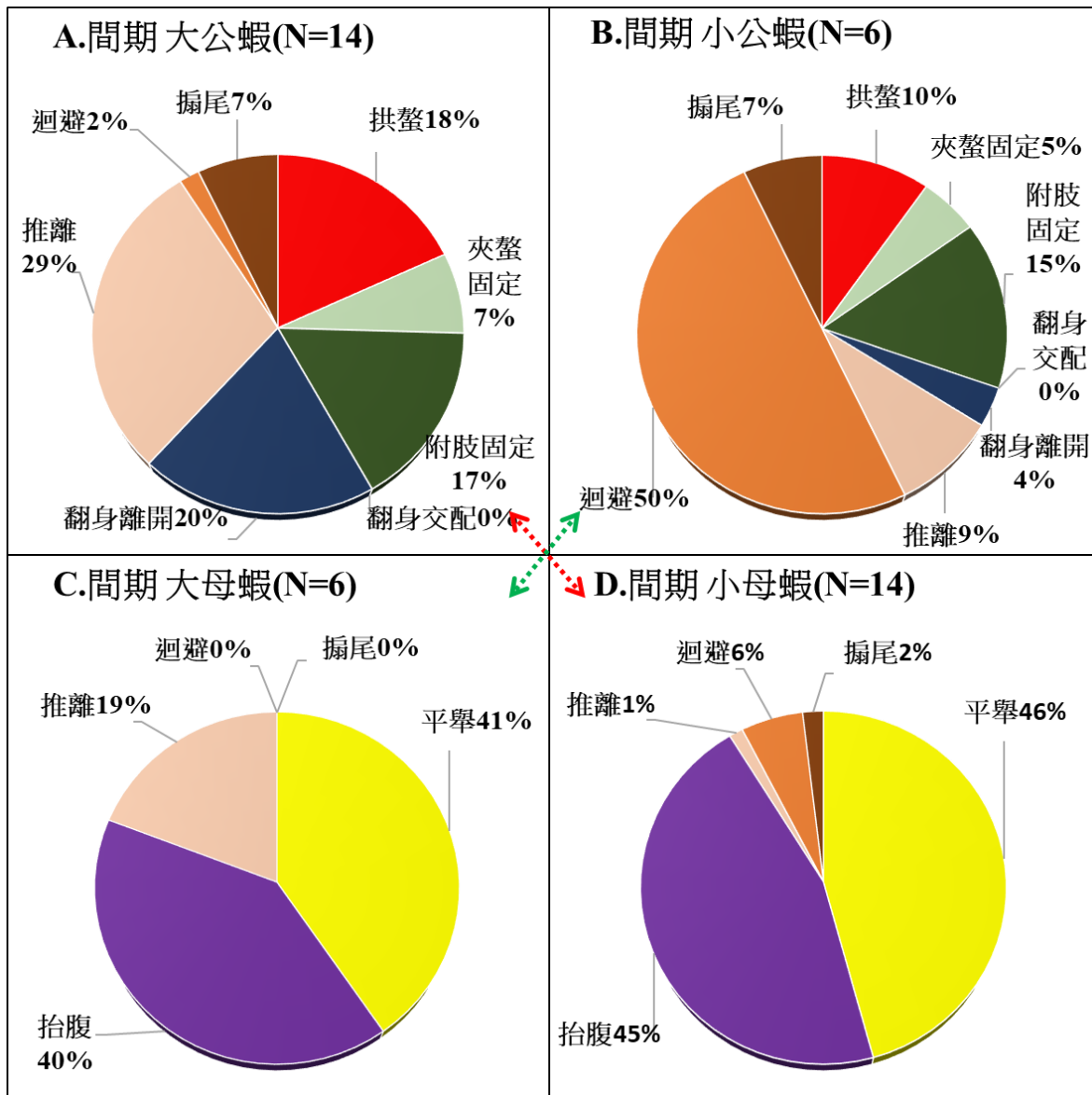


圖二十五、有、無互動之蛻殼期與蛻殼間期螯蝦於十字迷宮路徑之亮臂百分比。

二、間期蝦與不同體型異性個體的互動行為與誘發之類焦慮行為的差異。

2.1.1：間期蝦與不同體型異性個體互動但沒有交配之互動行為的差異

為了解體型差異是否影響螯蝦與異性的互動行為模式，我們進一步分析不同體型大小之公螯蝦與母螯蝦互動的行為差異。



圖二十六、不同體型大小之螯蝦與異性互動模式比較。A.大公蝦；B. 小公蝦；C.大母蝦；D. 小母蝦；✕表示互動搭配。

就大公蝦與小公蝦行為差異來看，間期的大公蝦(N=14)在與小母蝦互動期間，欲交配所展現的拱螯行為約 18%，固定小母蝦的行為佔約 24%，相較於以夾住小母蝦附肢的固定行為，大公蝦夾螯固定小母蝦的比例較低，而當大公蝦固定小母蝦後翻身比例有 20%，但都是翻身後離開因此沒有交配成功。此外，若大公蝦不願意與小母蝦進行較近距離的互動，則多以推離行為(29%)來拒絕小母蝦的接觸，採用迴避的比例則較少，僅有 2%，如圖二十六 A。小公蝦(N=6)和大母蝦的互動時，欲交配所展現的拱螯(10%)的與翻身行為(4%)的比例較低，且都是翻身後離開。而拒絕大母蝦互動的行為中，小公蝦採用迴避的比例最高(50%)，推離只有佔 9%，如圖二十六 B。

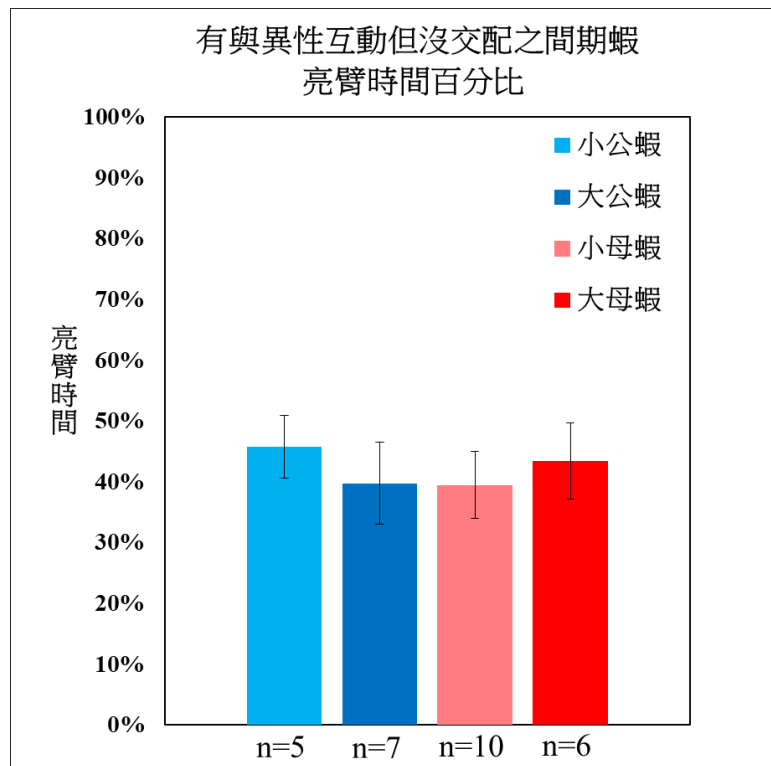
整體而言，大公蝦欲與小母蝦嘗試交配所展現的行為比例較高(拱螯、固定、翻身比例超過六成)，小公蝦這三種行為則僅有 34%。此外，體型大小也影響公螯蝦拒絕母螯蝦的方式，大公螯蝦多採主動推離行為(29%)來拒絕小母蝦的接觸，然小公螯蝦則以迴避行為為大宗(50%)。

不同體型大小之母螯蝦與異性的互動行為也有些許差異，間期的大母蝦(N=6)與小公蝦互動的時候，平舉和抬腹總共佔 81%，如圖二十六 C，略低於小母螯蝦(平舉和抬腹總共佔 91%，圖二十六 D)，顯示小母蝦比同一生理階段的大母蝦更積極的與大公蝦進行互動。此外，母螯蝦拒絕異性的行為模式與公螯蝦相似，大母蝦以推離為主，比小母蝦多 18%，圖二十六 C；而小母螯蝦以迴避方式(圖二十六 D)來應對。

最後，針對體型大小與公母螯蝦行為進行比較，發現母蝦欲交配之平舉與抬腹行為的展現比例相當高，大母蝦 81%、小母螯 91%，表示體型大小的影響不大；公螯蝦互動交配意願似乎較低，大公蝦欲交配行為(拱螯、固定、翻身)的展現比例約六成，小公蝦最低只有 34%，顯示與不同大小體型的母螯蝦互動會影響公螯蝦交配的意願。

2.1.2：間期蝦與不同體型異性個體互動但沒有交配之類焦慮行為的差異

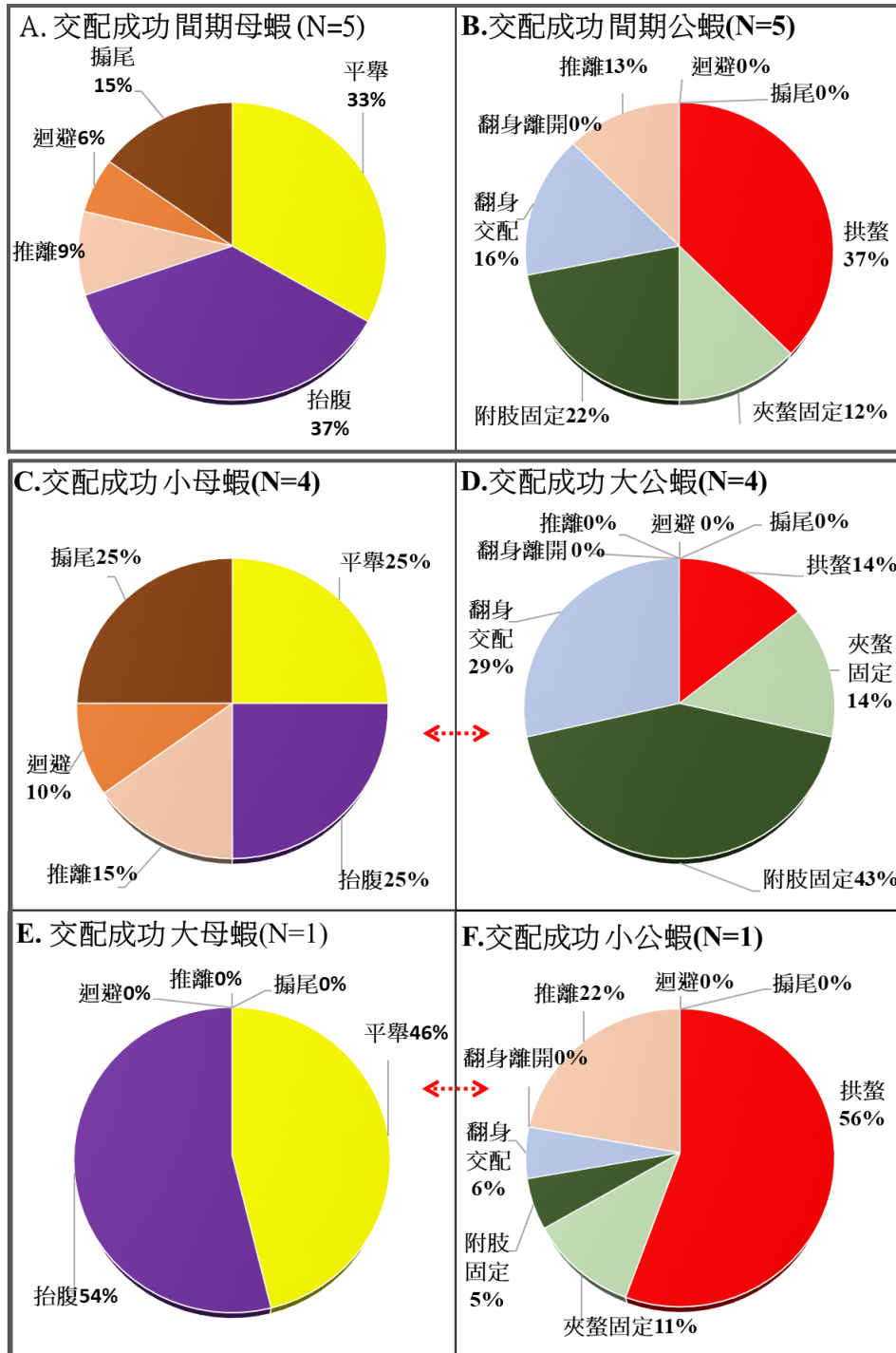
與異性互動後の間期小公蝦於十字迷宮亮壁活動時間百分比約 $45.72 \pm 5.13\%$ ，間期大公蝦約 $39.71 \pm 7.63\%$ ，二者沒有顯著差異($p=0.638$)；而與異性互動後の間期小母蝦亮壁百分比約 $39.41 \pm 5.51\%$ ，間期大母蝦平均值稍微高一些，約為 $43.4 \pm 6.28\%$ ，不過二者也沒有顯著差異($p=0.792$)，如圖二十七。顯示螯蝦與不同體型之異性互動本身可能不影響其在後續十字迷宮所展現的類焦慮行為。



圖二十七、間期蝦與不同體型異性互動後之十字迷宮路徑的亮臂百分比。

2.2.1：間期蝦與不同體型異性個體互動且有交配之互動行為的差異

在間期公母螯蝦 25 組的配對互動實驗中，只有 5 組有交配成功，成功交配的比例僅 20%，其中大公蝦與小母蝦的互動組合交配成功率較高，大母蝦與小公蝦成功交配只有一組。整體來看，間期母蝦(N=5)展現平舉與抬腹等欲交配的行為佔 70%，而公螯蝦(N=5)拱螯、固定、翻身等行為則佔 87%，如圖二十八。反觀沒有交配成功的組別則是母螯蝦的意願較高(圖二十六)，顯示間期公蝦與間期母蝦互動所展現之欲交配行為的比例可能是成功交配的關鍵。



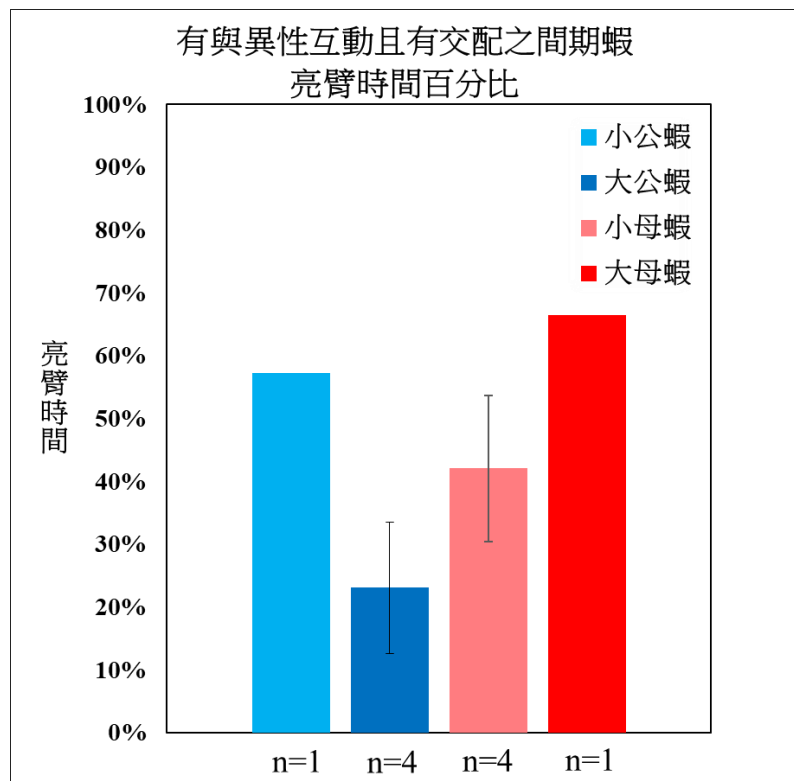
圖二十八、間期蝦與不同體型之異性螯蝦且交配成功之互動模式比較。A. 間期母蝦；B. 間期公蝦；C. 間期小母蝦；D. 間期大公蝦；E. 間期大母蝦；F. 間期小公蝦。

就大公蝦與小母蝦的互動來看，大公蝦拱螯行為只有 14%、不過固定行為比例高達 57%，附肢固定仍大於夾螯固定，翻身後立刻交配的成功率有 29%，沒有推離、迴避或扇尾等拒絕小母蝦的行為；小母蝦平舉和抬腹則佔 50%，然而推離、迴避拒絕大公蝦的行為有 25%，也有高比例的搨尾(25%)，顯示面對大公蝦的體型優勢有一定程度的緊張，所以大公蝦有高比例的固定行為，而由於大公蝦較能輕易的固定小母蝦並翻身，而能成功交配。

相較於大公蝦，小公蝦(N=1)拱螯行為佔 56%，顯示小公蝦更積極展現交配意願，大母蝦(N=1)展現雙螯平舉、抬腹之順從行為，小公蝦固定、翻身行為分別只有 16%、6%，不過在整個互動過程中，小公蝦仍有一定的推離比例 22%，不過這隻大母蝦不像小母蝦有五成的拒絕行為，而是一直維持雙螯、抬腹平舉，而這可能是此組能成功交配的關鍵。

2.2.2：間期蝦與不同體型異性個體互動且有交配之類焦慮行為的差異

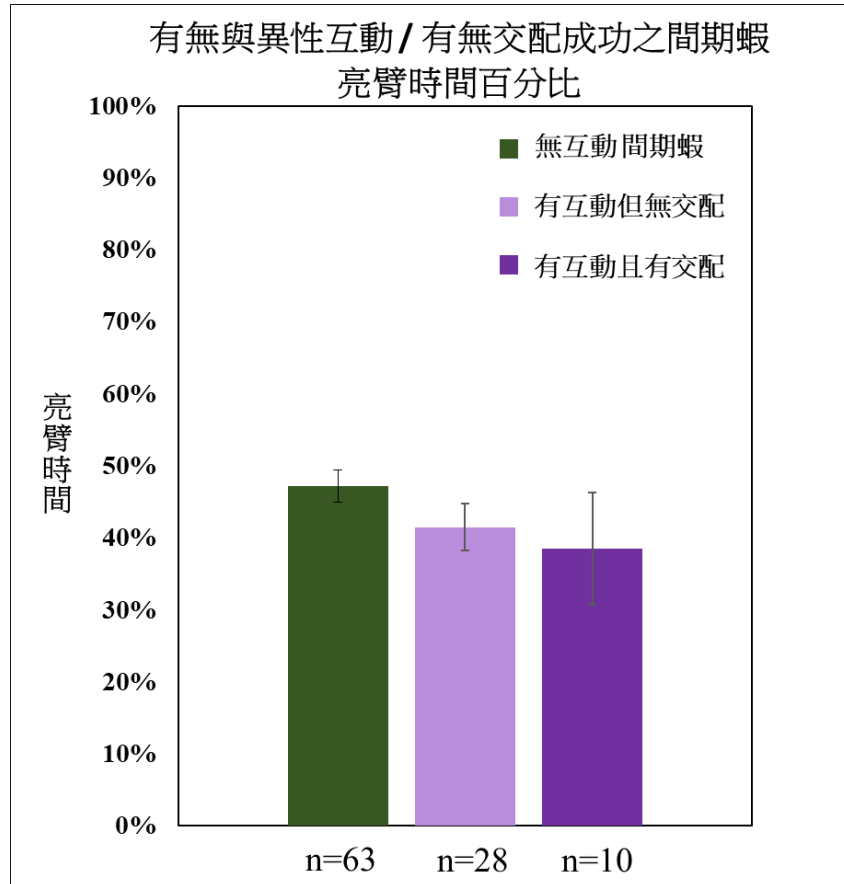
小公蝦成功交配後在十字迷宮亮臂活動百分比高達 57.3%，大母蝦甚至高達 67%，顯示此組公母螯蝦互動交配後更趨於探索環境；而大公蝦與小母蝦互動後，大公蝦在亮臂百分比約 $23.1 \pm 10.4\%$ ，小母蝦在亮臂活動的百分比約 $42 \pm 11.58\%$ ，如圖二十九。就平均值而言，大公蝦似乎在成功交配後有類焦慮行為的展現，然而大公蝦與小母蝦組內差異過大，再加上小公蝦與大母蝦組樣本數僅有一組，四者差異不明顯，所以無法判別異性體型差異與交配後誘發類焦慮行為的關聯。



圖二十九、螯蝦與不同體型異性互動交配後之十字迷宮路徑的亮臂百分比。

2.3：間期蝦有無與異性互動及互動中有無交配之類焦慮行為的差異

為瞭解間期蝦有、無與異性互動，以及與異性互動中有、無成功交配對間期蝦之類焦慮行為誘發的影響，因此我們不考量性別因素而將間期蝦分為無互動、有互動但沒交配、有互動且有交配三組進行比較。



圖三十、有無與異性互動、有無交配成功之間期蝦的十字迷宮路徑亮臂百分比。

無互動的間期蝦在亮臂活動的時間百分比約 $47.17\% \pm 2.20\%$ ，有互動但沒交配的間期蝦則較低，約 $41.47\% \pm 3.25\%$ ，但兩者沒有顯著差異 ($p=0.238$)；而有與異性互動且有交配成功的間期蝦之亮臂百分比為 $38.46\% \pm 7.77\%$ ，與無互動組也沒有顯著差異 ($p=0.475$)；此外，有互動但無交配、有互動且有交配之間期蝦的亮臂百分比相近，二者也沒有差異 ($p=1$)。以平均結果來看，無互動間期蝦會在十字迷宮的自由探索，而與異性互動後的間期蝦無論交配成功與否，似乎有誘發一些類焦慮行為，但是因為樣本數較少，尤其是交配成功組，其組內差異過大，所以就統計上來看三組之間並無顯著差異。

陸、討論

本研究主要探討蛻殼期 vs. 蛻殼間期之克氏螯蝦，與異性個體的互動行為及互動後誘發的類焦慮行為差異。就無互動的螯蝦來說，蛻殼蝦的類焦慮行為展現都比間期蝦明顯，雖然未達統計上顯著差異，不過 Bacqué-Cazenave (2019) 等人僅以公螯蝦的實驗結果發現，相較於間期公蝦，蛻殼公蝦有顯著的焦慮感，蛻殼激素的濃度與類焦慮行為有一定關聯。值得關注的是，在與異性互動的組別中，蛻殼公、母蝦確實有相當顯著的類焦慮行為展現，我們推測這是因為這時期的螯蝦可能是即將要蛻殼或是剛蛻完殼的「軟殼蝦」，為螯蝦最為脆弱階段，在野外也是最可能被同類捕食的時期，因此，相較於無互動組，蛻殼蝦若和其他同類個體互動，容易受傷甚至死亡，所以蛻殼蝦與異性個體互動後會誘發較強烈的類焦慮行為，此結果顯示除了前人研究指出的激素或蛻殼本身造成的內在壓力外(Bacqué-Cazenave et al., 2019)，與同類的互動也是很大的焦慮誘發因子。倘若螯蝦處於間期，是否與異性同類互動則不太影響螯蝦在十字迷宮的探索行為。回顧前人(Bacqué-Cazenave et al., 2017)與學長們(郭，曾，2019)的研究，對照組螯蝦之亮臂百分比約 30% 左右，考量到蛻殼因素的前人研究(Bacqué-Cazenave et al., 2019)與本研究至少都有 40%，顯示以螯蝦這類節肢動物為實驗模式必要排除蛻殼或相關激素的干擾，以免高估社交互動這類操縱變因所誘發的類焦慮程度。而我們的研究也顯示利用 X 光技術來顯影螯蝦胃石的存在與否有助於初步判斷螯蝦處於哪個蛻殼週期，以減少研究的干擾因子，不過我們定義的蛻殼期其實尚包含蛻殼前期、蛻殼後期，我們並無測量胃石大小來精確推算螯蝦週期，胃石若太小可能在 X 光片上不易精確判讀，這可能是我們各組組內變異較大的因素之一。在異性個體的互動行為方面，誠如先前所描述，蛻殼公、母蝦都滿抗拒與異性互動，推離、迴避異性個體為行為大宗。此外，若蛻殼蝦有體型優勢，也會在異性互動中出現少見的舉螯威嚇行為，體型較小的螯蝦也有較多的搥尾逃離情況。回顧學長們(郭，曾，2019)的研究，獨居母螯蝦之社會互動總量、亮臂百分比的組內變異極大(有二倍之差)，與推測應是有蛻殼母蝦的干擾。而間期公、母蝦交配關聯行為(母螯蝦的抬腹、平舉；公螯蝦之拱螯、固定、翻身行為)比例也大幅上升，整體互動總量也很高，顯示間期螯蝦比較願意與異性個體互動。此外，公螯蝦固定行為與類焦慮行為有中度相關，即公螯蝦若本身焦慮程度低，就會更願意主動靠近並固定母蝦以利交配。

我們進一步探討體型對間期螯蝦與異性互動行為模式的關聯。在沒有成功交配的配對中，我們發現大公蝦與大母蝦(優勢個體)拒絕與異性個體互動行為較少。而此體型的差異也影響螯蝦採取的拒絕行為，大公蝦與大母蝦以「推離」行為居多，推測是因為個體優勢才有辦法把小公蝦、小母蝦推走。反觀小蝦面對比自己體型大的異性個體時會傾向「迴避」行為，這可能是因小蝦自覺力氣較小而無法成功推開大蝦，所以採用迴避的方式來拒絕大蝦的靠近以保護自身安全。此外，大公蝦與小母蝦組別有較高的交配意願；反之，大母蝦與小公蝦螯蝦配對的交配意願較低，母螯蝦的體型大小似乎會影響公螯蝦交配的意願。這可能與螯蝦交配由雄性個體主動有關(Peddio et al., 2019)。探討完體型對螯蝦互動行為模式的影響後，我們持續檢視互動所誘發的類焦慮行為，我們發現螯蝦與不同體型之異性互動本身可能不影響後續十字迷宮中所展現的類焦慮行為，這與我們一開始的預期不太相符，雖然小體型螯蝦有較多「迴避」行為，然而「迴避」與「類焦慮行為」只有中度相關(郭，曾，2019)。而沒有成功交配似乎也不會誘發類焦慮，顯示「成功繁殖」可能對這些實驗螯蝦而言並非迫切需求。在 25 組的異性螯蝦互動實驗中，高達 8 成(20 組)未交配成功，其原因可能有以下幾點：一、互動

實驗與野外交配繁殖期不符，我們分別於 3、5、8、11 月進行四回螯蝦互動實驗，一般在台灣野外螯蝦的交配季節大約落在秋季，8 月實驗無任何交配成功組，可能實驗室飼養溫度過高導致螯蝦交配意願低落。二、實驗小螯蝦取自野生溪流，無法確認小蝦的實際齡期，小蝦可能未達性成熟。三、部分螯蝦帶有病菌，2020 年也是螯蝦疫情嚴峻的一年，十足目虹彩病毒肆虐(黃淑敏，2020)，來自野外的螯蝦染病機率高，螯蝦面對帶有病菌個體可能也懂得保持社交距離(霍利、巴克，2020)，進而影響交配意願。

有交配成功之螯蝦組別中。我們發現具體型優勢的大公蝦與大母蝦都很有交配意願，且大公蝦更積極與小母蝦互動，可能是雄性為交配主導方，大公蝦比小公蝦更容易將母螯蝦翻身，因此大公蝦與小母蝦互動的交配成功組別較多。而小公蝦可能需要花費較大力氣才能和大母蝦交配成功，抑或大母蝦要極度配合，唯一成功交配的小公蝦與大母蝦都很積極互動並展現交配關聯行為，或許是成功的交配經驗使雙方的信心提升，因此後續在十字迷宮中也樂於環境探索。不過此結果僅由一組螯蝦來表述，不代表所有小公蝦與大母蝦之交配成功組都會如此表現。再者，成功與小母蝦交配的四隻大公蝦有部分類焦慮行為展現，小母蝦亮臂百分比則約有 40%，與預期結果不符。目前尚不清楚為何交配成功的大公蝦反而顯現一些程度的類焦慮行為，未來需要更多的實驗證據來檢視此結果，而成功交配與否和類焦慮行為的關係也需要更進一步的探索。

柒、結論與未來展望

本研究證實蛻殼期與蛻殼間期的公、母螯蝦會有不同的互動行為，蛻殼蝦較不願意和異性互動，且後續誘發的類焦慮行為也較無互動組別明顯。顯示除了蛻殼激素誘發的內生性焦慮外，外在刺激-社交互動亦可能透過神經系統而誘發螯蝦類焦慮行為。間期螯蝦與不同體型異性互動行為亦有差異，但似乎不影響其在後續十字迷宮所展現的類焦慮行為。此外，大公蝦與小母蝦互動較容易交配成功，但異性體型差異與交配與否對其後續誘發的類焦慮行為關聯仍不是很明確。未來研究中，仍需要增加螯蝦樣本來進行試驗，並在以螯蝦為動物模式的互動實驗中考量蛻殼這項因素以提升實驗的準確性。

捌、參考文獻

- 國中自然科學一上 (2019)。4-3 生物的感應。臺北市：康軒文教
- 郭亮廷、曾崇御 (2019)。Who 焦蝦？社會經驗對螯蝦壓力反應行為初探。第 59 屆全國科學展覽作品。
- 黃淑敏 (2020)。守住疫病，產業即推進 以十足目虹彩病毒為例-臺灣因應蝦類新興疾病的防治對策。豐年雜誌，70(9)，8-14。
- 霍利、巴克 (2020)。龍蝦都懂社交距離。科學人雜誌，225。取自 <https://sa.ylib.com/MagArticle.aspx?id=4803>
- 蘇聖傑 (2017)。男女大不同：為何女生容易焦慮，男生容易衝動？取自 <http://drshengchieh.com/2017/10/06/>。
- Nakatsuji, T., Keino, H., Tamura, K., Yoshimura, S., Kawakami, T., Aimoto, S., & Sonobe, H. (2000). Changes in the amounts of the molt-inhibiting hormone in sinus glands during the molt cycle of the American crayfish, *Procambarus clarkii*. *Zoological science*, 17(8), 1129-1136.
- Fossat, P., Bacqué-Cazenave, J., De Deurwaerdère, P., Delbecque, J. P., & Cattaert, D. (2014). Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin. *Science*, 344, 1293-1297.
- Bacqué-Cazenave, J., Cattaert, D., Delbecque, J. P., & Fossat, P. (2017). Social harassment induces anxiety-like behaviour in crayfish. *Scientific reports*, 7(1), 1-7.
- Peddio, S., Sollai, G., Podda, C., Frau, G., Palmas, F., Sabatini, A., & Solari, P. (2019). The success in the short-distance communication for mating does not depend on chemical signals in the crustacean decapod *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Advances in Oceanography and Limnology*, 10(2).
- Bacqué-Cazenave, J., Berthomieu, M., Cattaert, D., Fossat, P., & Delbecque, J. P. (2019). Do arthropods feel anxious during molts?. *Journal of Experimental Biology*, 222(2).
- Tucker, E. A., & Tucker, M. E. (2019). Crayfish gastroliths. *Geology Today*, 35(1), 26-28.

【評語】 030305

1. 此作品討論克氏螯蝦的蛻殼週期與異性互動是否會引發螯蝦的類焦慮行為。過十字迷宮試驗進行螯蝦類焦慮行為之評估，最後利用影像分析、RStudio 進行統計分析，研究主題新穎，研究方法有趣。結果發現脫殼與互動會造成螯蝦焦慮，交配與類焦慮行為的關聯性則尚未釐清。
2. 內容結構清楚，詳盡的實驗流程，統計分析佳。
3. 在異性個體的互動行為方面，不知作者是否有考慮到螯蝦的性成熟這因子？若未到性成熟階段，螯蝦的行為可能會有很大差異。
4. 間期蝦與不同體型異性個體的互動行為研究之前，未知作者是否有比較間期蝦與「同體型」異性個體的互動行為？是否會有類焦慮行為產生？

作品簡報



Who

「

焦

」

軟

殼

蝦

？



蛻殼與異性互動對螯蝦類焦慮行為之初探

組別：國中組

科別：生物科

作品編號：030305





壹、研究動機與背景



◎前人研究

- **電擊**會誘發公螯蝦的類焦慮行為，且可透過人類抗焦慮藥物減輕之焦慮：類焦慮神經迴路與人類相似！
- **同性互動** (同體型/不同體型) 皆會誘發螯蝦的類焦慮行為，但公母組別有差：推論性激素影響焦慮。

◎本研究將評估：

- **異性互動 (外部刺激)** 對螯蝦類焦慮行為表現的影響
- **蛻殼週期 (內部刺激)** 對螯蝦類焦慮行為表現的影響

圖一、螯蝦類焦慮行為相關研究與誘發焦慮之可能因素分析。

貳、研究目的

本研究主要探討**蛻殼期**vs.**蛻殼間期**之克氏螯蝦，與異性個體的**互動行為**及互動後誘發的**類焦慮行為**差異。

待答問題如下：

- 一、不同生理週期(**蛻殼期**vs.**蛻殼間期**)之克氏螯蝦的**互動行為**與其**類焦慮行為**有何差異？
- 二、**間期蝦**與不同體型異性個體的**互動行為**與誘發之**類焦慮行為**有何差異？

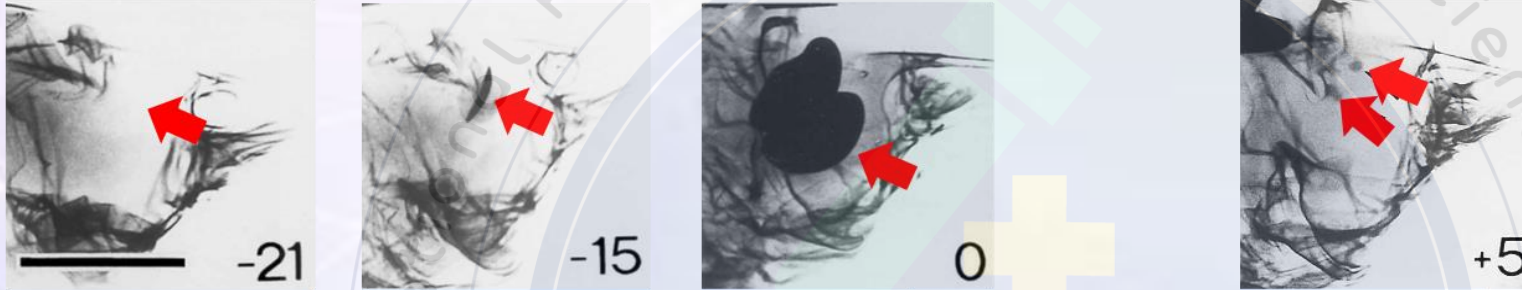
參、實驗材料

一、實驗動物: 克氏螯蝦(*Procambarus clarkii*) 的命名與蛻殼週期判讀

- ◎前人研究:
 - 胃石-暫時儲存鈣離子
 - X光拍攝螯蝦之胃石大小區別螯蝦生理週期:蛻殼前期、蛻殼、蛻殼後期、蛻殼間期
- ◎本研究分期:
 - 蛻殼期:包含前人定義之蛻殼前期、蛻殼、蛻殼後期
 - 蛻殼間期

A Nakatsuji 等人(2000)分期

胃石 (gastrolith)



蛻殼間期(inter-molt)

蛻殼前期(pre-molt)

蛻殼

蛻殼後期(post-molt)

蛻殼間期(inter-molt)

蛻殼間期(inter-molt)

蛻殼期(period of molt)

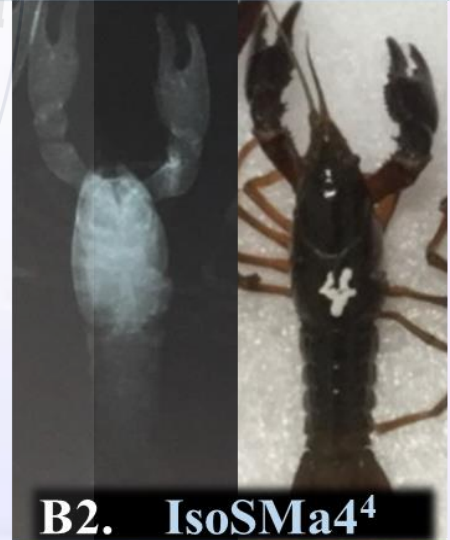
蛻殼間期(inter-molt)

B 本研究分期



B1. IsoS**Ma**1⁴@

蛻殼蝦



B2. IsoS**Ma**4⁴

間期蝦

C 螯蝦命名編號原則

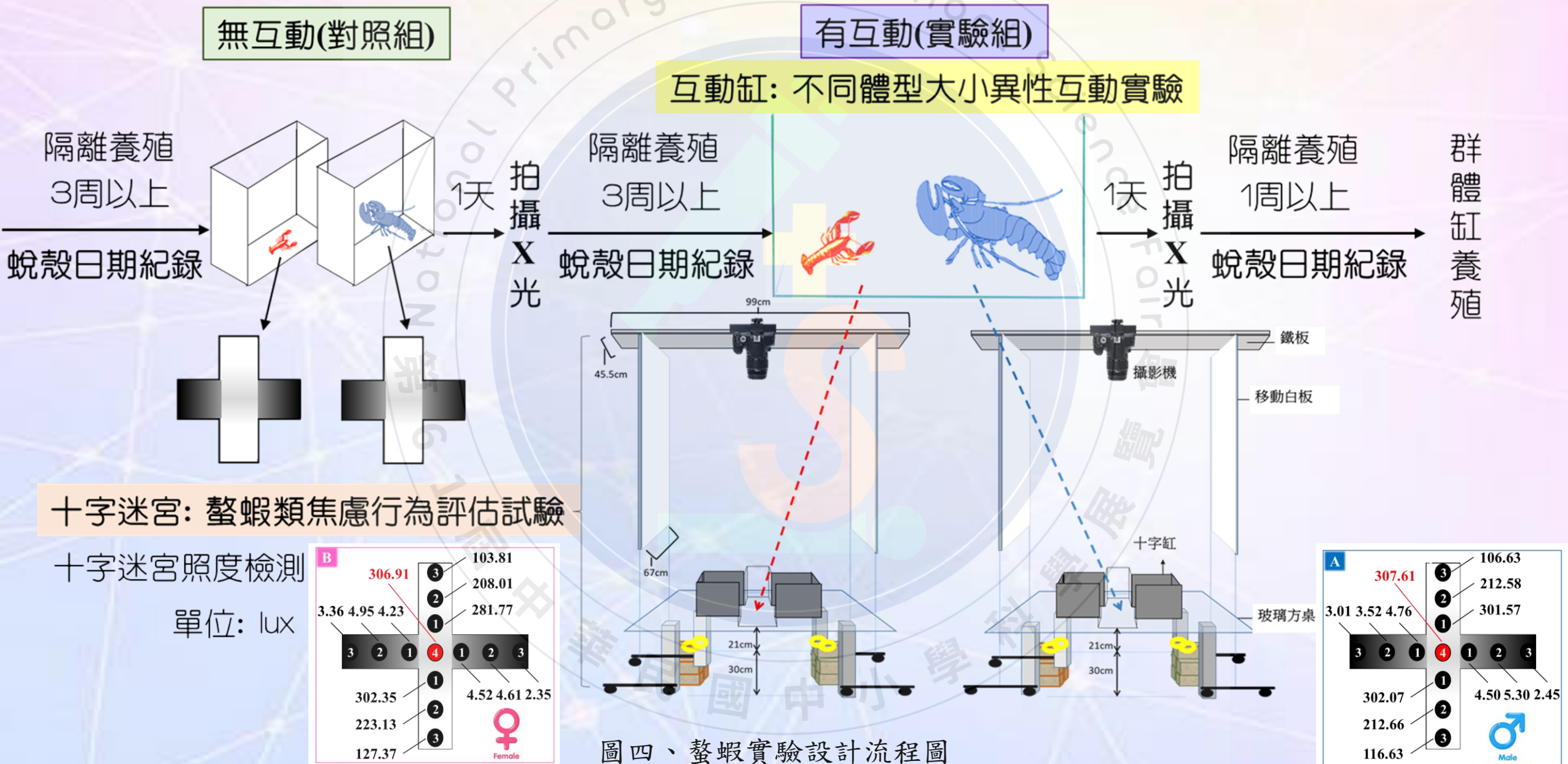
圖三、螯蝦生理週期的分期判讀與命名。A. Nakatsuji 等人(2000)研究之螯蝦分期；B. 本研究之螯蝦分期，B1. 處於蛻殼期的螯蝦(蛻殼蝦)；B2. 處於蛻殼間期的螯蝦(間期蝦)；C. 螯蝦的命名編號原則。



肆、實驗過程與方法



一、實驗設計與流程



肆、實驗過程與方法

二、實驗與資料分析方法

(一) 不同體型異性螯蝦間的互動行為-互動缸實驗 (二) 螯蝦互動後的類焦慮行為評估-十字迷宮實驗



圖五、螯蝦互動與類焦慮行為實驗與資料分析流程圖

伍、研究結果

一、蛻殼蝦vs.間期蝦之互動行為與類焦慮行為的差異 (一)蛻殼蝦vs.間期蝦與異性個體之互動行為的差異

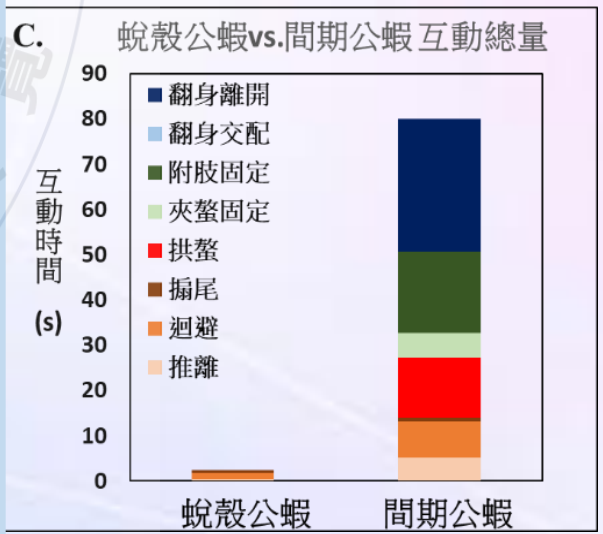
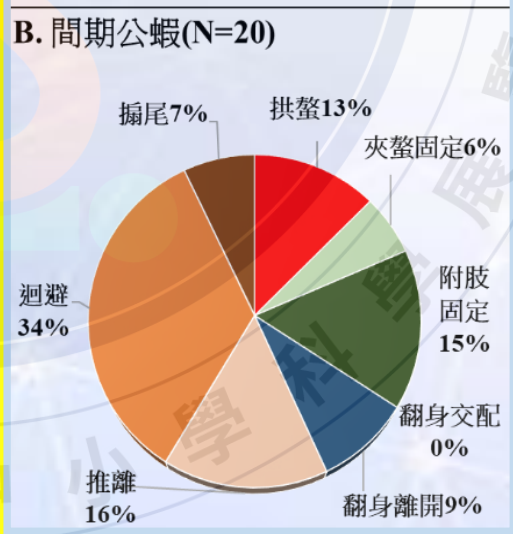
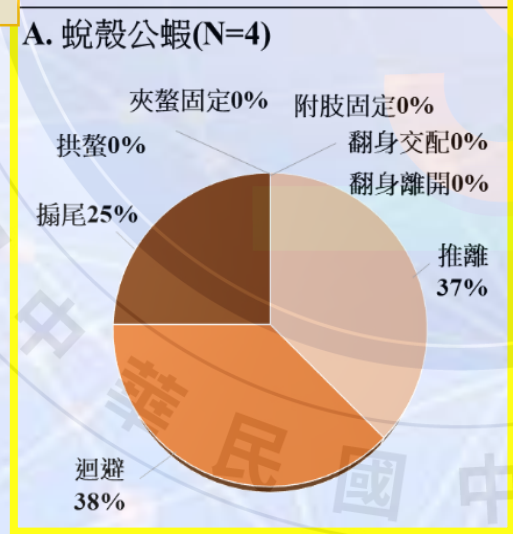
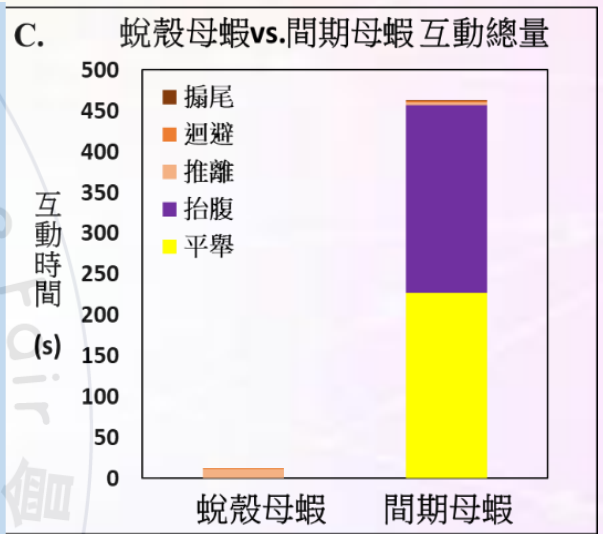
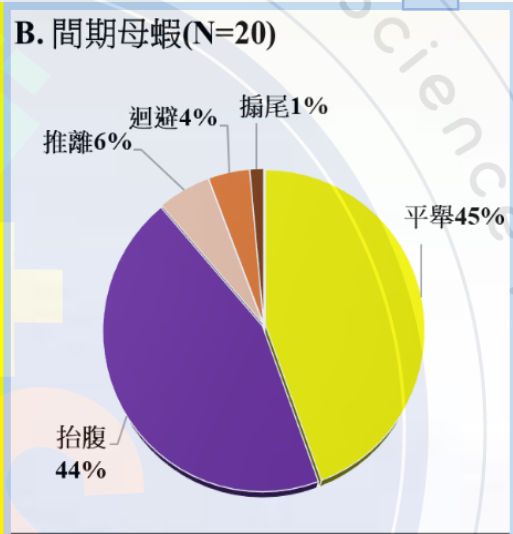
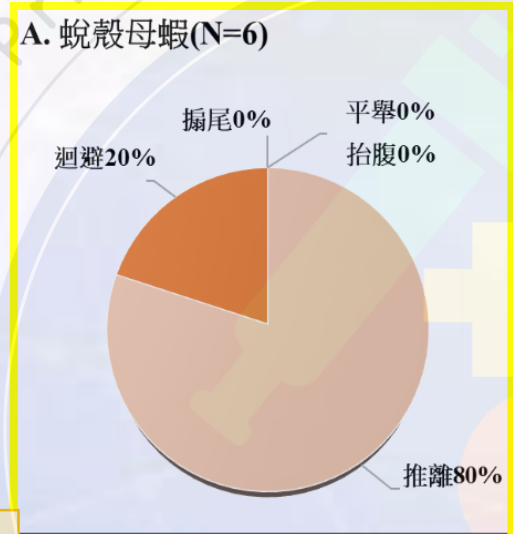
★間期公、母蝦與異性互動互動總量較多，且母蝦比公蝦展現更多交配關聯行為。

蛻殼蝦行為威嚇



★蛻殼公、母蝦和異性互動總量都很少，且有較高比例的推離和迴避行為，公蝦搨尾也很高。

蛻殼蝦行為搨尾



圖六、公、母螯蝦與異性互動模式與總量比較。A. 蛻殼公、母蝦；B. 間期公、母蝦；C. 互動總量比較。

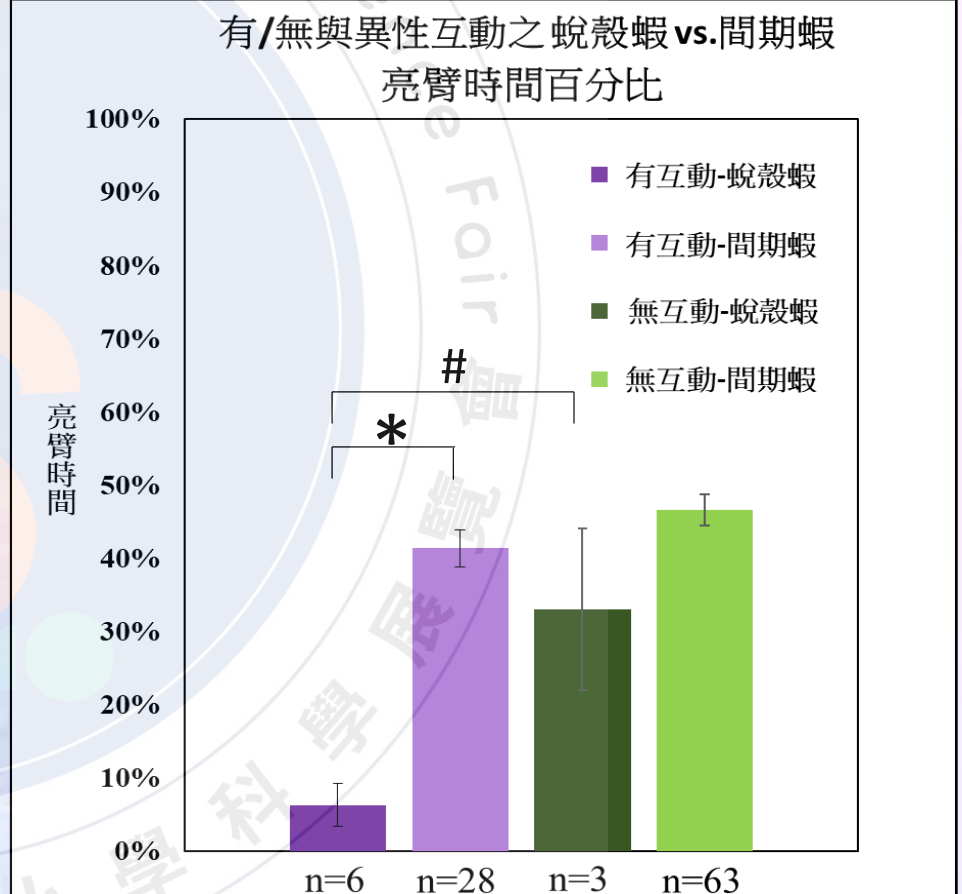
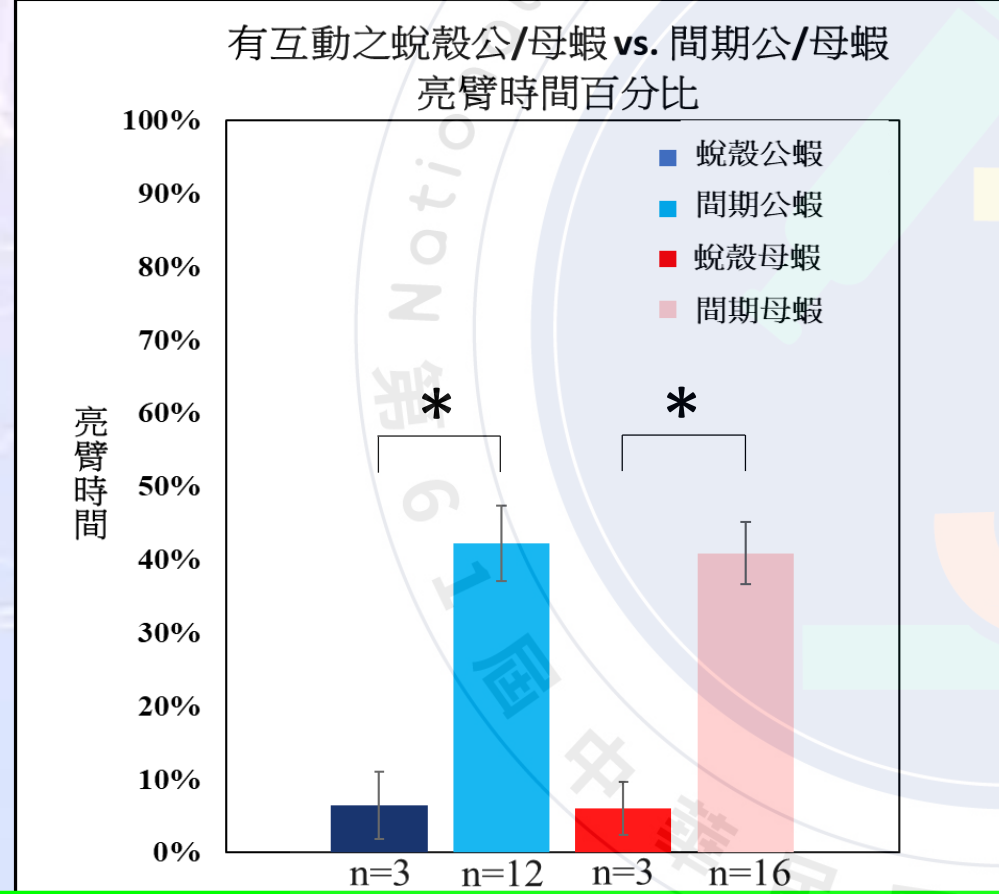
伍、研究結果

一、蛻殼蝦vs.間期蝦之互動行為與類焦慮行為的差異 (二)蛻殼蝦vs.間期蝦有無互動之類焦慮行為差異

●蛻殼公、母蝦與異性互動後誘發顯著的類焦慮行為

●蛻殼蝦與異性互動後有較強烈的類焦慮行為展現

圖七、蛻殼公母蝦與間期公母蝦與異性互動後十字迷宮路徑的亮臂百分比。



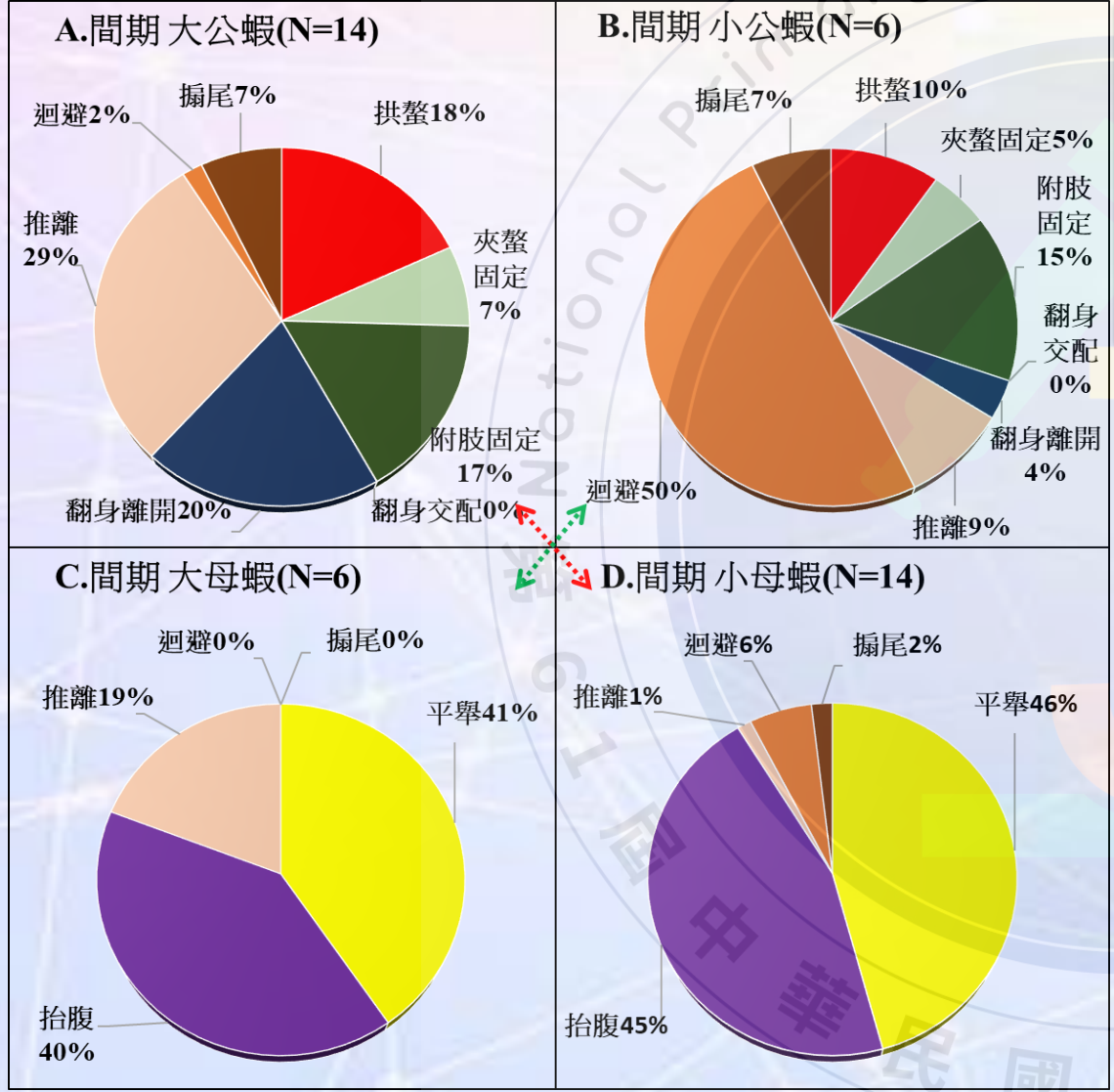
●公螯蝦(N=15):固定行為與亮臂百分比中度負相關。
⇒夾螯固定 $p = 0.055$, $r = -0.505$; 附肢固定 $p = 0.031$, $r = -0.556$

圖八、有、無互動之蛻殼蝦與間期蝦於十字迷宮路徑之亮臂百分比。#: $p = 0.069$

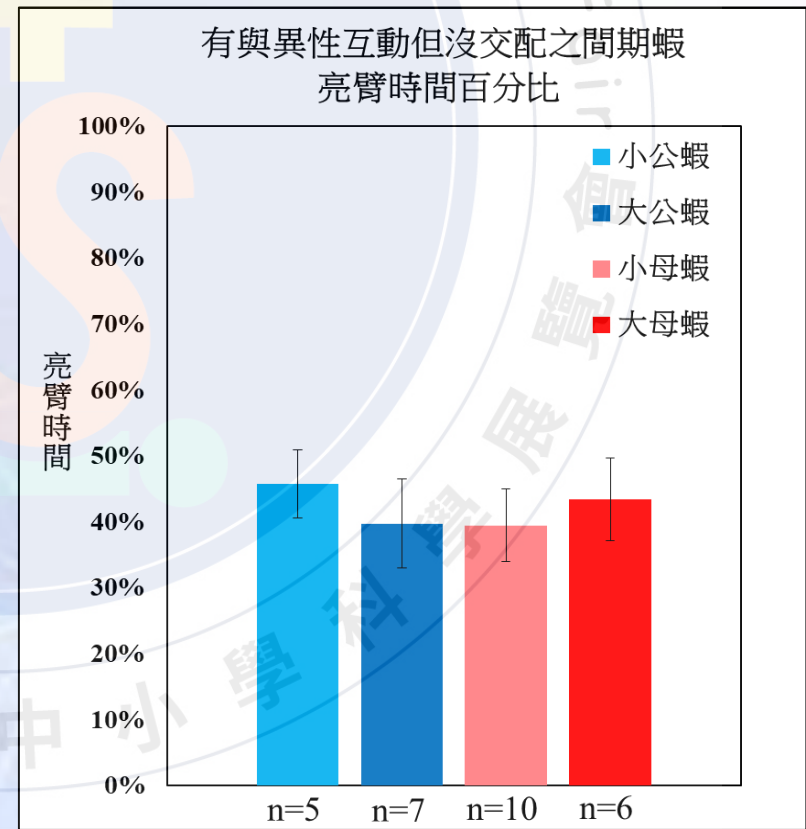
伍、研究結果

二、間期蝦與不同體型異性個體的互動行為與誘發之類焦慮行為有何差異？

有互動
但
沒有
交配
組



- 與不同大小體型的母螯蝦互動會影響公螯蝦交配的意願：大公蝦拱螯、固定、翻身的展現比例約六成，小公蝦只有34%。
- 體型大小影響公螯蝦拒絕方式：大公蝦採主動推離(29%)小母蝦，小公蝦則以迴避行為為大宗(50%)。



- 公母螯蝦與不同體型之異性互動可能不影響後續類焦慮行為的展現。

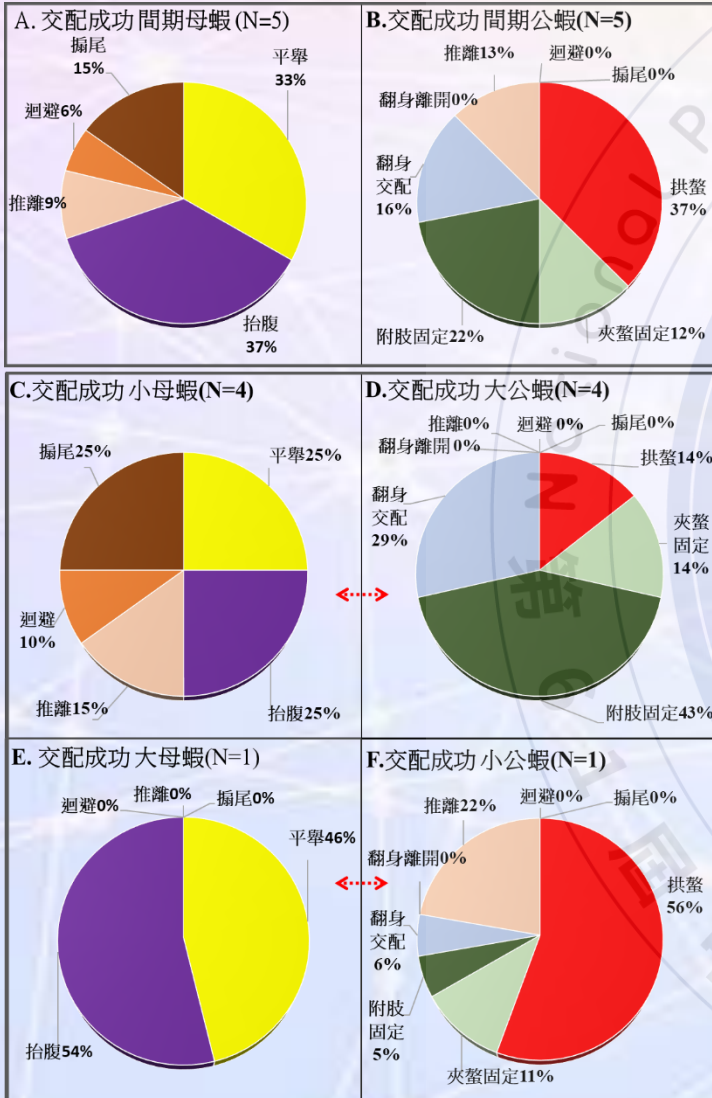
圖九、間期蝦與不同體型大小之異性互動的模式比較。

圖十、間期蝦與不同體型異性互動後之十字迷宮路徑的亮臂百分比。

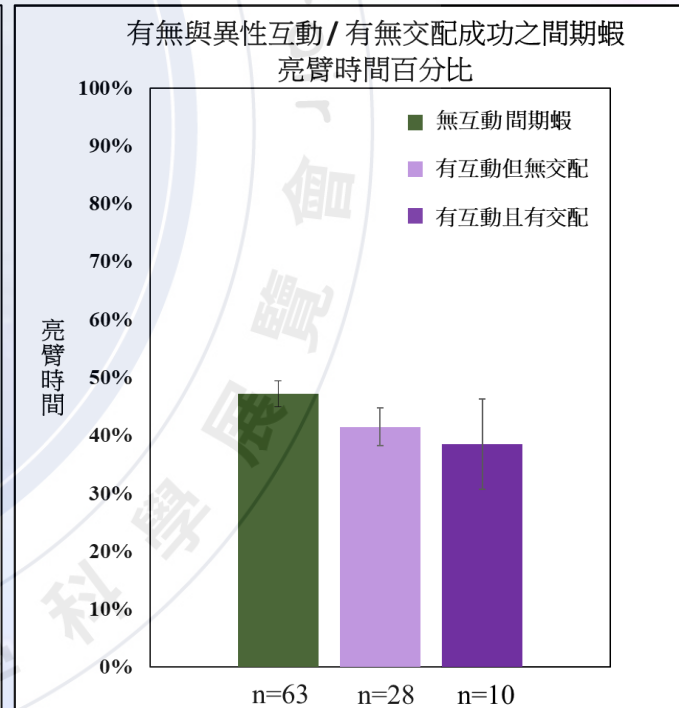
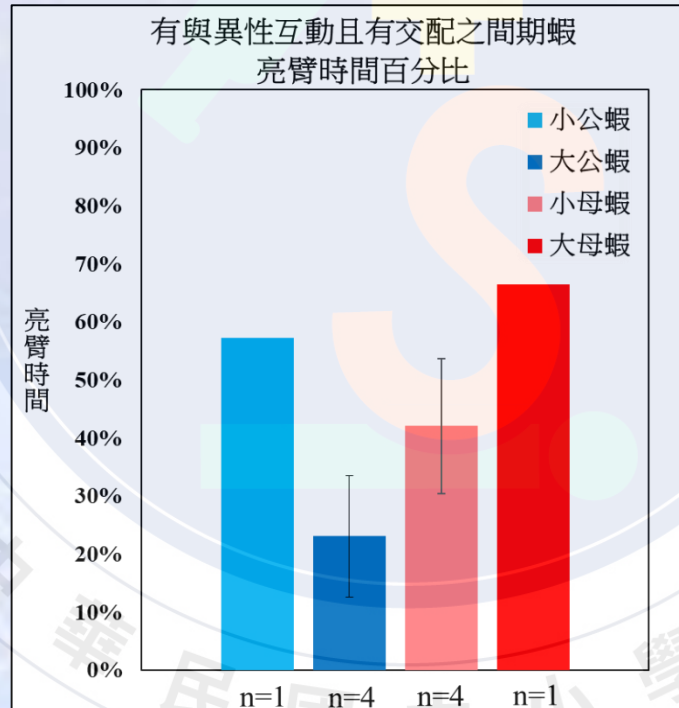
伍、研究結果

二、間期蝦與不同體型異性個體的互動行為與誘發之類焦慮行為有何差異？

有互動且
有交配組



●公螯蝦、母螯蝦互動展現欲交配行為比例是成功交配的關鍵。
大公蝦 vs. 小母蝦：小母蝦平舉和抬腹佔50%，大公蝦拱螯14%、固定行為57%，能固定小母蝦並翻身，而成功交配。
小公蝦 vs. 大母蝦：小公蝦拱螯56%，大母蝦維持雙螯平舉與抬腹，是成功交配的關鍵。



●與異性互動後的公、母螯蝦無論交配與否，似乎誘發一些類焦慮行為。(無顯著差異)

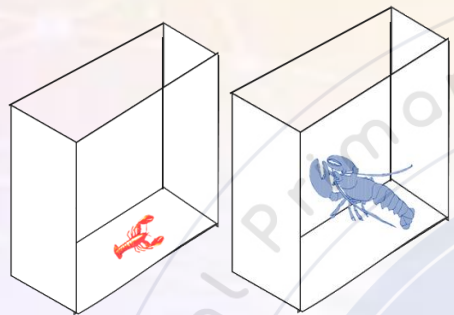
圖十一、間期蝦與不同體型異性螯蝦互動且交配成功之互動模式比較。

圖十二、間期蝦與不同體型異性互動交配後之十字迷宮路徑的亮臂百分比。

圖十三、間期蝦有無與異性互動、有無交配成功之十字迷宮路徑亮臂百分比。

陸、討論

外部刺激



無互動

亮臂%

有互動



●除激素或蛻殼(內在刺激)造成的壓力外，**與同類互動(外部刺激)也是焦慮誘發因子。**

蛻殼期

蛻殼

內部刺激

≡ 33.01%

微焦慮

≡ 6.25%

很焦慮

蛻殼蝦和其他螯蝦互動較容易傷亡，所以互動後會誘發較強烈的類焦慮行為。

蛻殼間期

≡ 45.59%

不焦慮

≡ 41.38%

不焦慮

有、無與異性同類互動則不太影響間期蝦在十字迷宮的探索行為。

排除蛻殼期螯蝦干擾之前人研究 ≡ 41.0%

(Bacqué-Cazenave et al., 2019)

前人研究 ≡ 30% 可能有蛻殼期螯蝦的干擾

(Bacqué-Cazenave et al., 2017)

前人研究 ≡ 25.7%
① 蛻殼期螯蝦干擾
② 同性互動:

競爭性↑: 焦慮↑

(郭亮廷, 曾崇御, 2019)



●以**螯蝦(節肢動物)**進行實驗**必要排除蛻殼**或相關激素的**干擾**，避免高估社交互動這類操縱變因所誘發的類焦慮程度。



柒、結論與未來展望



- 除了蛻殼激素誘發的內生性焦慮外，**外在刺激-社交互動**亦可能透過神經系統而**誘發**螯蝦的**類焦慮行為**。

⇒**蛻殼蝦**較不願意和異性螯蝦互動，互動後誘發的類焦慮行為也較無互動組別明顯

⇒以螯蝦為動物模式的互動實驗中考量蛻殼這項因素以提升實驗的準確性

- 間期蝦**與不同體型異性互動行為有差異，但似乎不影響其類焦慮行為的展現。

- 大公蝦與小母蝦互動較易交配成功，但體型差異與交配與否和類焦慮行為關聯待釐清。



捌、參考文獻



郭亮廷、曾崇御 (2019)。Who 焦蝦？社會經驗對螯蝦壓力反應行為初探。第59屆全國科學展覽作品。

Nakatsuji, T., Keino, H., Tamura, K., Yoshimura, S., Kawakami, T., Aimoto, S., & Sonobe, H. (2000). Changes in the amounts of the molt-inhibiting hormone in sinus glands during the molt cycle of the American crayfish, *Procambarus clarkii*. *Zoological science*, 17(8), 1129-1136.

Fossat, P., Bacqué-Cazenave, J., De Deurwaerdère, P., Delbecque, J. P., & Cattaert, D. (2014). Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin. *Science*, 344, 1293-1297.

Bacqué-Cazenave, J., Cattaert, D., Delbecque, J. P., & Fossat, P. (2017). Social harassment induces anxiety-like behaviour in crayfish. *Scientific reports*, 7(1), 1-7.

Peddio, S., Sollai, G., Podda, C., Frau, G., Palmas, F., Sabatini, A., & Solari, P. (2019). The success in the short-distance communication for mating does not depend on chemical signals in the crustacean decapod *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Advances in Oceanography and Limnology*, 10(2).

Bacqué-Cazenave, J., Berthomieu, M., Cattaert, D., Fossat, P., & Delbecque, J. P. (2019). Do arthropods feel anxious during molts?. *Journal of Experimental Biology*, 222(2).

Tucker, E. A., & Tucker, M. E. (2019). Crayfish gastroliths. *Geology Today*, 35(1), 26-28