

蟑螂求偶行為與性費洛蒙的實驗和觀察方法

---- 只要有心，一定能做的實驗(五) ----

林金盾

國立臺灣師範大學 生物學系

前言：

在大學服務的教授們除需要致力於學術研究和教學授課外，也要參與社會服務工作。雖然現階段我國已經實施開放式師資培育的制度，各個大學都有教育學程可以培育中小學師資，師大並不必對中等教育負完全的責任，但是目前站在第一線的教育工作者，絕大多數依然是師大的子弟，因此，我們仍然有責任分擔一些服務性的工作。到中等學校去參加科展評審、教學輔導或教學研習會，也是我們例行的服務工作之一。因此，有機會聽到有些生物老師告訴我說：「同一本教科書教久了就想做點新鮮事，來增加自己的成就感。可是，做實驗嘛，沒有儀器，到野外做調查嘛，很不方便。希望能介紹一些用現在中等學校的設備就能夠做的實驗，讓有心的生物老師可以指導學生或自己動手做，以增加一點教學樂趣和成就感，甚至可以培養學生的實驗能力，以選拔參加科展的適當人才。」這個問題讓我想起了，家家都有，人人能捉，取之不絕，用之不盡的實驗好材料 ---- 美洲蟑螂，真正的學名為 *Periplaneta americana*。

美洲蟑螂是蟑螂中體型最大，胸背板上有白色的環紋構造，又稱為環紋蜚蠊。這種昆蟲大家都認得，而且個體大又容易養，可

以說是昆蟲實驗的理想對象。過去由於種種的誤導，造成一般人將蟑螂誤為「髒亂」、「噁心」的代名詞，其實蟑螂約在二億五千萬年前就出現於地球上，對地球的貢獻很大（尤其在自然界的物質循環上，擔任清除者的角色其貢獻更為明顯），也是很愛清潔的可愛小動物（不信的話，別急著追殺，先活捉一隻放入透明瓶子中看看，如果細心觀察，可以發現它們比人類愛乾淨，每天除找東西吃和休息、睡覺外，都在清理自己的身體），所以，我非常樂意利用研究、教學與服務之剩餘時間，介紹一些用美洲蟑螂為實驗材料，有趣而且確實可行的實驗方法，讓有心的生物老師參考（林，1992a,b; 1995; 2001）。

費洛蒙是英文 pheromone 的音譯字，意思是指動物在不同個體之間，藉嗅覺作用而傳遞訊息的一種化學物質，包括人類在內的哺乳動物也有費洛蒙的分泌和作用。曾有報導指出某生理學家，曾經為二九位患有頑固性月經不調的女性進行過一次特殊的實驗。她讓這些受試者連續半年以上無意間聞得到一般男性穿過的內衣，結果發現部份病人的月經有逐漸恢復正常的現象。小兒科期刊也曾報導，如果常將母親的內衣和嬰兒的內衣放在一起，使嬰兒穿上染有「媽媽味道」的內

衣時，這些嬰兒較容易安然入睡。有一隊共 10 個人組成赴南極考察的澳國男性科學家，在考察期間曾經有一段時期個個情緒低落，容易焦慮煩躁，甚至失眠健忘，服用任何藥物都無濟於事。後來有一位生理學家大膽的假設和小心的驗證，進而要求政府派出四位女科學家定期前往考察站訪問。奇妙的事發生了，所有的「患者」未經任何治療就很快康復了。這些事實可能都和人類分泌極微量的費洛蒙有關，只是很難偵測出來而已。目前科學家正在研究並試圖合成這種「人類費洛蒙」，以提高「單一性別」職場的工作效率或治療相關病症。

動物之間的溝通方式有很多種，其中利用嗅覺訊息是很普遍的一種。尤其是昆蟲，常利用外分泌腺所分泌的費洛蒙 (pheromone) 來表達『警報 (alarm)』、『勢力圈設定 (territorial marking)』、『性的感受度 (sexual receptivity)』、『性別 (gender)』或『年齡 (age)』等訊息。蟑螂用於溝通訊息的費洛蒙有很多種，包括聚集費洛蒙 (aggregation pheromones)、間隔費洛蒙 (spacing pheromones)、異洛蒙 (allomones)、雄性費洛蒙 (male-produced sex pheromones) 和雌性費洛蒙 (female-produced sex pheromones)。性費洛蒙會誘導昆蟲的定向行為 (orientation) 和性行為的表現，雄性蟑螂對雌性費洛蒙非常敏感，約在 30 公尺外的地方就可以察覺 (Seelinger, 1984) 而產生行為的表現，而且表現的行為很明顯，也很容易量化數據，所以蟑螂是觀察昆蟲求偶行為與性費洛蒙關係的好材料。現在介紹一些用蟑螂

為材料的實驗，說明雄性蟑螂的許多行為，確實受雌性蟑螂分泌之性費洛蒙的影響。

器材：

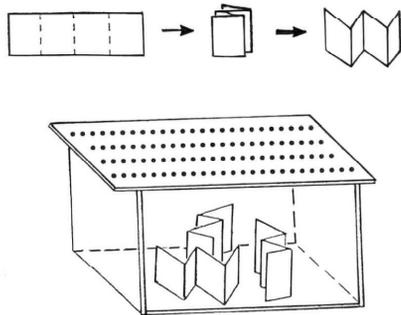
透明飼養箱（例如舊的養魚用玻璃缸或透明的塑膠瓶、海苔罐等），處女蟑螂，處男蟑螂，M 型紙片，濾紙，計時器，正己烷 (n-hexane)，有蓋試管，蒸發皿，冷藏庫，丙酮，麥克筆，鑷子。

方法：

一、飼養蟑螂的方法

裝海苔用的透明塑膠罐（或舊的養魚玻璃缸）是飼養蟑螂的好場所，先用電鑽（或燒紅的鐵釘）在空的透明塑膠罐四周各鑽幾個小洞（直徑約 2 mm 左右即可），讓空氣能流通（如果用魚缸的話，上面用鐵絲網蓋住即可），再放些 M 型紙片（或波浪型紙板）讓蟑螂能躲起來，就完成了一個簡單的飼養箱（圖一）。至於一個箱子要養幾隻呢？那必須看箱子的大小而定。一般說來，以不要太擁擠為原則，因為空間太大隻數太少時，蟑螂的稚蟲生長較慢，但是在太擁擠的環境，也生長得不好，甚至相互殘殺吞食，尤其是剛蛻皮或受傷的個體，最容易被攻擊。

蟑螂是雜食性的昆蟲，什麼都吃，所以，很好養。但是，為了清潔並避免引起蚊蠅或螞蟻的干擾起見，最好餵食乾燥的顆粒狀飼料（養雞或養狗用的飼料亦可）。另外用一個矮塑膠瓶（或空的塑膠牛奶瓶切掉一部份即可），放入一些棉花再加些清潔的水，供蟑螂飲水之用。



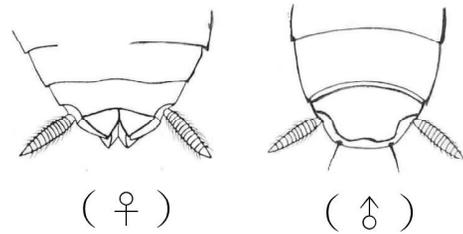
圖一：M型紙片(或波浪型紙板)和飼養箱的製作方法。

二、收集蟑螂性費洛蒙的方法

1. 準備甲、乙、丙三個乾淨的飼養箱，分別置入 M 型紙片、飼料和飲水。
2. 選擇健康且為最後一齡的蟑螂稚蟲（蟑螂孵化後共蛻皮 8-10 次之多，共需經過 6 個月之久才能變為成蟲），體長約 2.5-3.0 公分，肥大而未長翅者，小心移入甲箱中，並且每天注意觀察是否蛻皮而長出翅來？一旦長翅就是成蟲階段，立刻分離到別的箱子裡，強迫「處男」和「處女」蟑螂分開並隔離飼養。例如將處男蟑螂（從未交配過的雄性蟑螂稱為處男蟑螂）移到乙箱；處女蟑螂（從來交配過的雌性蟑螂稱為處女蟑螂）移到丙箱，讓他們永遠保持『單身』的狀態，以利日後的觀察。

< 想想看 >：

- (1) 雌雄蟑螂如何區分呢？請參考圖二，特別注意比較尾端的差異，雄性蟑螂多了一對小突起物稱為性毛(styilet)，連尾毛共四根小毛狀突起。
- (2) 為什麼在本實驗中蟑螂長出翅時，雌雄就要分離而不可混合飼養呢？



圖二：雌雄蟑螂的差異。左為雌蟑螂；右為雄蟑螂。

3. 乙丙箱中均放一些濾紙（或吸附力較強的吸水紙也可以）摺成波浪狀（或 M 型），以利蟑螂躲藏並收集其分泌的性費洛蒙。
4. 經過 10-14 天之間就可以取出濾紙（或吸水紙）做生物檢定實驗，以確認是否已經分泌性費洛蒙，以利日後的實驗。

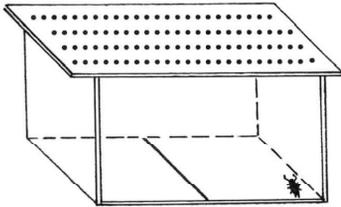
< 想想看 >：

- (1) 乙丙箱中的濾紙（或吸水紙），所含的化學成份是否相同呢？
- (2) 為什麼要連續收集 1-2 星期的性費洛蒙才做生物檢定實驗呢？

三、性費洛蒙的生物檢定實驗

1. 找大小約 10 X 25 cm 的箱子（裝鞋子的廢紙箱也可以）若干個，箱子底部畫一線將箱底分成兩區，由丙箱所集性費洛蒙的濾紙放入箱中的一區，另一區放入一隻處男蟑螂（圖三）。
2. 計時並觀察處男蟑螂的行為，記錄這隻蟑螂每分鐘越過橫線的次數及特殊的行為表現，例如舉高雙翅、腹部突然向後伸長等。如果熟悉觀察要領，可以同時放 3-5 隻，同時計算其越過橫線的次數和特殊行為。

3.用濾紙沾蒸餾水，當對照組重複上述的實驗步驟，記錄結果並和實驗組比較。如果使用很多箱或同一個箱子內放很多隻處男蟑螂同時進行，可獲得較多的結果，有利於實驗數據的量化。



圖三：驗證性費洛蒙的生物檢定實驗箱。

< 想想看 >：

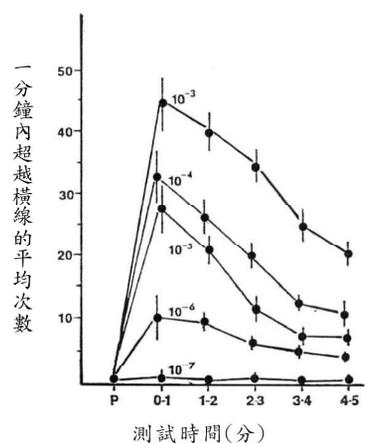
- (1)如果用乙箱的濾紙和處女蟑螂，重複上述的實驗步驟，結果會相同嗎？為什麼？
- (2)先作生物檢定實驗，對下列所述「性費洛蒙的萃取與濃縮」有關係嗎？

四、性費洛蒙之萃取與濃縮

- 1.將置入處女蟑螂連續十天後的濾紙取出，捲成圓筒型移入有蓋的試管中。
- 2.倒入正己烷(n-hexane)當做萃取溶劑，將管中的濾紙淹滿，然後加蓋靜置2小時左右，吸出溶劑到另一新的試管，再浸泡含費洛蒙的濾紙數次，即可得含較高濃度性費洛蒙的萃取液，次數越多，含量（濃度）應該越高。
- 3.取0.5 ml 萃取液滴在5.5公分直徑的濾紙上做上述的『生物檢定實驗』，以確認萃取液中含性費洛蒙。
- 4.如果萃取液含性費洛蒙濃度太低，必須進行濃縮步驟。最簡單的濃縮方法是用蒸發皿

裝1 ml 萃取液，放在溫水（30℃）加溫，使正己烷慢慢揮發到總體積1 ml 變為0.5 ml，再試試生物檢定實驗。其他尚可利用真空抽氣法使正己烷快速揮發，或用氮氣乾燥法加速正己烷蒸發也可。

- 5.經過測試，確認自己萃取的溶液中含有效的性費洛蒙時，可用低溫4℃冷藏封存。含性費洛蒙萃取液的有效期通常可保存數個月之久。
- 6.做實驗觀察時，每次取0.1 ml測試即可。如果預備的性費洛蒙濃度夠高時，利用連續稀釋法（取0.1 ml 加入溶劑0.9 ml 即稀釋為10⁻¹倍，再取10⁻¹溶液依此類推），配合反應結果可以找出反應所需性費洛蒙的有效最低濃度（threshold concentration）。由不同濃度的藥劑可引起不同程度的反應，說明昆蟲的行為受費洛蒙的影響，也具有劑量效應（dose response）（圖四）。



圖四：人工合成高濃度的性費洛蒙（p-eriplanone B）對雄性蟑螂行為的效應。數據為5隻處男蟑螂同一箱內重複10次測試5分鐘的平均值和標準差，p為對照組（Bell, 1981）。

<想想看>：

- (1) 能不能模擬圖四人工合成性費洛蒙的試驗，試試你所濃縮的性費洛蒙？
- (2) 你濃縮的性費洛蒙最高濃度相當於圖四的何種濃度？
- (3) 能否利用相同的性費洛蒙濃度證明性費洛蒙對蟑螂的影響，也因晝夜不同而產生不同效應？能否找出晝夜差異的有效最低濃度？
- (4) 處男蟑螂對性費洛蒙有沒有適應現象？如何利用生物檢定實驗來證明？

五、性費洛蒙誘導之化學定向行為 (chemo-orientation)

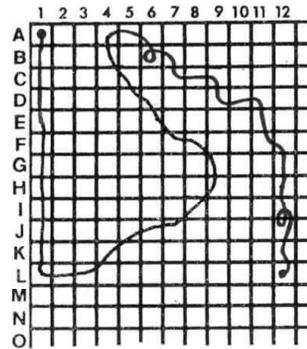
1. 準備有效(濃度高較明顯)的性費洛蒙及處女和處男蟑螂各若干隻。
2. 取一個大一點的透明容器，放入一隻處男蟑螂，令其適應環境 30 分鐘後，通常會躲在角落休息如圖三。
3. 在容器中央放入沾有性費洛蒙的濾紙，並開始記錄時間及蟑螂的反應，經過多少分鐘後，蟑螂才找到性費洛蒙？在尋找過程中，觸角有何變化？頭部有何反應？腹部有何反應？

<想想看>：

- (1) 如果將觸角切除或用蠟封住觸角上的毛狀物，處男蟑螂的反應又如何？
- (2) 如果費洛蒙的濃度增加時，處男蟑螂的反應如何？
- (3) 不同時期(年齡)的處男蟑螂，對性費洛蒙的反應有何不同？
- (4) 可否將處男蟑螂尋找性費洛蒙的行走路線

畫出(例如圖五)？除了用肉眼觀察然後用手畫以外，有沒有更好的方法？

- (5) 以處女蟑螂取代處男蟑螂重複上述實驗，其結果有何不同？



圖五：用方格子在透明箱底可以描繪蟑螂尋找費洛蒙的路徑圖。

六、性費洛蒙誘導之求偶行為

1. 在小型的透明容器中放入一隻處男蟑螂(剛長出翅不久者較佳)，令其適應而安定。
2. 用濾紙揉成小紙球並沾較濃的性費洛蒙再放入容器中，觀察處男蟑螂的求偶過程。
3. 將一對處男和處女蟑螂放在同一小型容器中，觀察其求偶行為並記錄過程中的行為表現。

<想想看>：

- (1) 不同時期(年齡)的處男或處女蟑螂對求偶行為的表現有何不同？為什麼不同？
- (2) 會描述蟑螂的求偶行為並一一記錄下來嗎？例如觸角擺動的次數與角度、雌雄個體的姿勢、雌雄接觸的部位及順序、雄蟑螂雙翅位置的變化、雌個體外交接器的變化、雄個體的腹部變化情形等。

* 如需詳細分析觸角擺動的次數和角度等較

快速而複雜的動作時，可用針孔攝影方式將影像錄在影帶內，再慢慢重播計算。如果事先在蟑螂身體上做螢光標記，再將影像數位化輸入電腦，由軟體程式來計算，就更完整且精確，更具研究價值。

(3)能否證明視覺對蟑螂求偶行為的影響很小？

七、完成交尾對性費洛蒙分泌量的影響

1.將上述求偶行為觀察步驟中完成交尾之雌蟑螂隔離，重複『二：收集性費洛蒙實驗』及『三：生物檢定實驗』，可以發現雖然條件相同（例如用於收集的雌蟑螂隻數、收集的日數、濾紙數及處男蟑螂的年齡），但作用的效果差很多。每次實驗完畢，應將實驗工具或容器用丙酮清洗乾淨並收存，以利下次實驗。

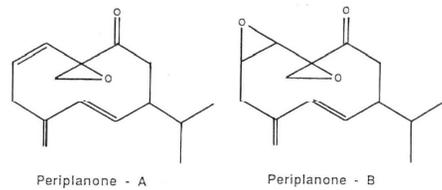
<想想看>：

- (1)交尾是否影響雌性蟑螂分泌性費洛蒙的濃度？
- (2)實驗過程中沾過性費洛蒙的實驗工具或容器，為什麼在實驗之後必須用丙酮清洗？不洗會如何？

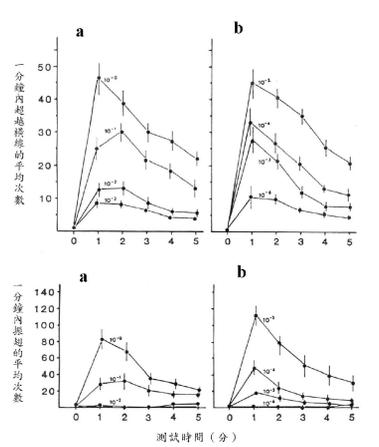
結果和討論：

本文所介紹的費洛蒙指雌性費洛蒙，目前已知美洲蟑螂雌性費洛蒙的成份分為A，B兩種（圖六），而periplanone-B已有化學合成出售，以供實驗。本文中圖四就是利用人工合成的性費洛蒙所做的結果，而圖七是Tobin等人（1981）利用萃取液和合成費洛蒙

所做的數據，由結果可知，萃取液的濃度最高可達合成性費洛蒙濃度的千分之一。由化學構造可以知道美洲蟑螂的性費洛蒙屬於有機物質，periplanone-A為C₁₅H₂₀O₂而periplanone-B為C₁₅H₂₀O₃，二者只差一個氧原子。一般認為性費洛蒙A為性費洛蒙B的還原產物，有些人（Seelinger and Gagel, 1985）認為性費洛蒙-B用於從遠方誘引雄蟑螂靠近，而性費洛蒙A則誘引近距離的接觸。

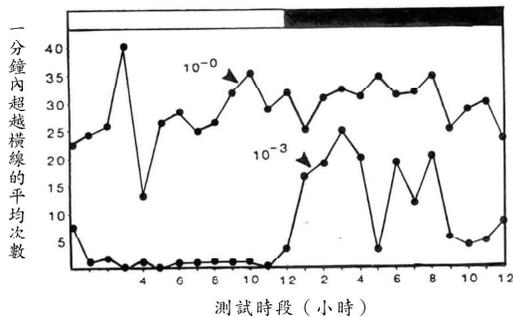


圖六：美洲蟑螂雌性費洛蒙的化學構造。



圖七：處男蟑螂對萃取液（a）和合成（b）性費洛蒙的反應。上圖的每一點代表處男蟑螂每分鐘內超越橫線次數的平均值及標準差，下圖的每一個點代表處男蟑螂每分鐘振翅反應次數的平均值及標準差，橫座標為測試時間（Tobin et al., 1981）各為5隻10次的測試結果。

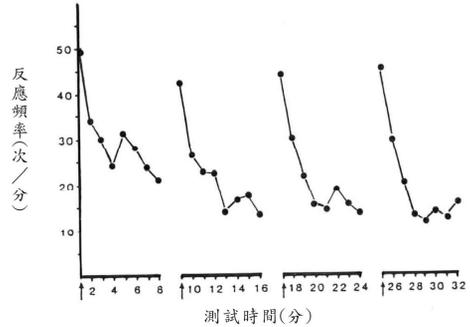
處男蟑螂對性費洛蒙的反應，受不同光週期的影響很大，所以誘發相同程度反應所需性費洛蒙的濃度相差很多。蟑螂屬於夜行性昆蟲，有光的時段其活動量較小，黑暗的時段其活動量較大，處男蟑螂對性費洛蒙的反應，在黑暗時段較為有效。圖八的結果證明明暗的不同所需濃度在千倍左右 (Hawkins and Rust, 1977)。



圖八：比較處男蟑螂在明暗環境對性費洛蒙反應的不同。利用萃取液原汁測試時，誘發處男蟑螂不論在明處（白色區域）或暗處（黑色區域）都產生最大反應，所以超越橫線次數的平均值沒有區別，但是利用原汁稀釋一千倍後（ 10^{-3} ）再處理處男蟑螂誘發其反應，則在明處幾乎沒有反應，在暗處則和原汁誘發的反應相近 (Hawkins and Rust, 1977)。

俗說：「入芝蘭之室，久而不聞其香；入鮑魚之室，久而不聞其臭。」這是嗅覺適應的現象。處男蟑螂對性費洛蒙也有適應的現象。如將處男蟑螂連續接觸性費洛蒙 25 分鐘左右，就會產生完全適應而失去反應的現象。如果每次間隔暴露 30 秒（每一分鐘有一

半時間接觸，另一半時間沒有），連續處理時，反應的頻率會快速下降，但是只要隔開 1 分鐘就會立刻恢復有效的反應（圖九）。



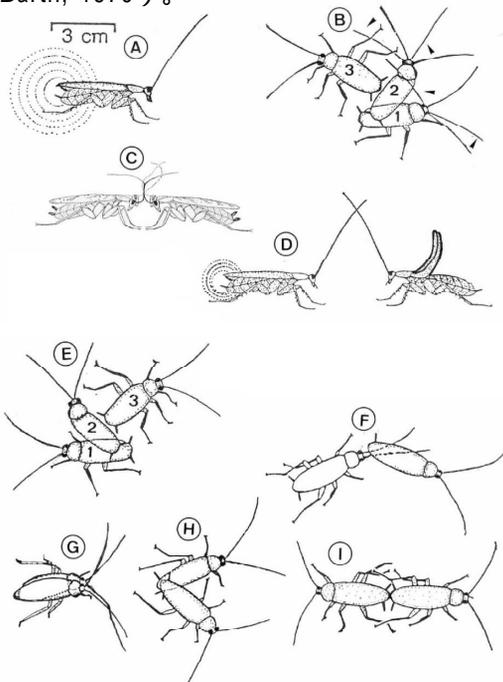
圖九：處男蟑螂對性費洛蒙萃取液（ 10^{-3} ）的適應現象。圖中箭頭為首次反應，然後連續 8 分鐘，處男蟑螂對相同濃度的性費洛蒙萃取液的反應越來越小，但間隔 1 分鐘之後，立刻又恢復顯著性的反應 (Hawkins and Rust, 1977)，各為 5 隻 10 次的測試結果。

處女蟑螂分泌性費洛蒙的質與量和她的年齡有密切的關係。通常在最後一次蛻皮而長翅為成蟲後，青春激素 (juvenile hormone) 會刺激處女蟑螂分泌性費洛蒙，分泌最旺盛的時期為長翅後第八天左右，直到交尾結束因為青春激素濃度下降，使性費洛蒙分泌量銳減。因此，收集處女蟑螂性費洛蒙的最佳時期為長翅後到交配前的 1-2 週內，這就是本文建議處女蟑螂隔離 10-14 天，收集性費洛蒙做生物檢定實驗的真正原因。

蟑螂的觸角具有多種功能，例如嗅覺、觸覺、溫度覺、濕度覺及一般機械感覺。美洲蟑螂的觸角在成蟲時期，長約 50 mm 而共有 160 節左右，觸角上有很多具有多孔壁的

感覺毛，可以偵測氣體分子。如果用膠狀液將感覺毛黏貼在一起，或將觸角切除，那麼處男蟑螂對處女蟑螂所釋放的性費洛蒙的感覺功能會喪失，很難偵測到雌蟑螂的位置，也不會引起求偶交配的行為。

美洲蟑螂的求偶交配過程並不單純，常隨著年齡、個體和對象的不同，過程有簡有繁之別，但是大體上都包括圖十的各個步驟 (Barth, 1970)。



圖十：圖解美洲蟑螂的求偶交配過程。♂代表處男蟑螂，♀代表處女蟑螂。

A：徵婚中的♂先發「通告」，而分泌雌性費洛蒙，散布於空氣中。

B：30 公尺方圓的♀感受到訊息時，會快速擺動觸角，以偵測♂的位置，然後身體轉動，頭部朝往♂的方向並緩步前進。在前進過程中，有些♂較性急而動作較快，偶爾會振動雙翅。

C：找到♀時，相互用觸角撫摸對方，做進

一步發展的試探。

D：「同意」時，會散出更多的性費洛蒙，以「指導」♂的動作。此時♂多半將雙翅豎起並不動的振動。

E：轉身 180° 並以尾部去接觸♀，做出最親密的動作，刺激♀體。

F：靠近♀的尾部並舔其尾部。

G：♀邊舔♂尾部，♂邊爬上♀身上，同時♂會以「倒車入庫」的姿勢後退，以迎合♀的動作。

H：♂伸長腹部並上挺以顯露交接器，♀尾部下壓而觸及♂尾部。

I：交接器接觸妥當後，♂轉身 180° 只用尾部和♀的尾部互相連接一起並持續進行交配過程。完成交配行為後，♂♀分開。

由圖十的簡介，可以明瞭在蟑螂世界的男女很像小說或電影的情節，男女主角戀愛過程中，女主角總是主動而男主角被動。即使雄蟑螂可以多次交配，以達多子多孫的目的，但是在求愛的歷程，他會傻傻的、癡癡的、很有耐心的等待徵婚訊息，等待雌蟑螂的「通告」、「同意」和「指導」，再按照合法的步驟進行，不會無理強求，所以由此可見蟑螂的世界比一些社會新聞中的人類還要文明多了。

看過這篇「只要有心，一定能做的實驗(五)」之後，是否想養幾隻蟑螂試試看？不管試驗的結果如何，歡迎來和本人分享成功的結果或討論失敗的經驗 (E-mail:t43004@cc.ntnu.edu.tw)。

參考資料：

1. Barth, R. H. 1970. The mating behavior of *Periplaneta americana* and *Blatta orientalis* (Blattaria, Blattinae) with notes on 3 additional species of *Periplaneta* and interspecification of female sex pheromones. *Z. Tierpsychol.* 27:722-748.
2. Bell, W. J. 1981. Pheromones and behavior in the American cockroach, Ed. By W. J. Bell and K. G. Adiyodi. London: Chapman & Hall.
3. Bell, W. J., Burns, R. E. and Barth, R. H. 1974. Quantitative aspects of the male courting response in the cockroach *Byrsotria fumigata* (Guerin) (Blattaria). *Behav. Biol.* 10:419-433.
4. Hawkins, W. A. 1978. Effects of sex pheromone on location in the male American cockroach *Periplaneta americana*. *J. Chem. Ecol.* 4:149-160.
5. Hawkins, W. A. and Rust, M. K. 1977. Factors influencing male sexual response in the American cockroach. *J. Chem. Ecol.* 3:85-99.
6. Rust, M. K. 1976. Quantitative analysis of male responses released by female sex pheromone in *Periplaneta americana*. *Anim. Behav.* 24:52-67.
7. Seelinger, G. 1984. Sex-specific activity patterns in *Periplaneta americana* and their relation to mate-finding. *Z. Tierpsychol.* 65: 309-314.
8. Seelinger, G. and Gagel, S. 1985. On the function of sex pheromone components in *Periplaneta americana*: improved odour source localization with periplanone-A. *Physiol. Entomol.* 10:221-225.
9. Shorey, H. H. 1976. Animal communication by pheromones. New York : Academic Press.
10. Tobin, T. Seelinger, G. and Bell, W. J. 1981. Comparison of responses elicited by periplanone-B and extract of the American cockroach sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* 38: 12-24.
11. 林金盾 1992a. 昆蟲單極神經原之細胞體的染色和觀察方法 只要有心，一定能做的實驗(一)。中等教育(生物教育專刊)，43(2)：31-35。
12. 林金盾 1992b. 蟑螂胸部神經節的神經細胞體之染色和觀察方法 - 只要有心，一定能做的實驗(二)。菁莪季刊，14：18-26。
13. 林金盾 1995. 蟑螂的空間偏好 只要有心，一定能做的實驗(三)。中等教育(生物教育專刊)，46(5)：37-41。
14. 林金盾 2001. 蟑螂附肢的再生實驗和觀察方法 只要有心，一定能做的實驗(四)。科學教育月刊，237：41-44。