

第十七屆旺宏科學獎

成果報告書

參賽編號：SA17-566

作品名稱：「賊」頭「賊」腦—探討烏賊的分數
數感及其相關特性

姓名：黃以慧

關鍵字：虎斑烏賊、數感、Weber' s Law

摘要

數感(Number sense)，為一種衡量數量的概念，能讓動物在各種行為中做出最佳決策，如蜜蜂能記住經過的地標數，甚至記住擁有較多蜜的花田的位置，而這些經驗能讓蜜蜂在覓食時更有效率。先前已有研究證實烏賊具有整數數感，因此我們設計了幾項二選一的捕食行為實驗(two-alternative forced choice design, 2AFC)，證實烏賊除了整數數感外也具有分數數感。

此外，我們的數據指出烏賊分數數感符合韋伯定律(Weber's Law)，並利用韋伯定律中的公式定義烏賊分數數感的極限，即為烏賊能分辨的最小相對差異量，經實驗發現，烏賊進行分數選擇時能分辨的最小相對差異量為 $1/6$ 。

人類數感可分為感數(subitization)及算數能力(counting)兩種特性，算數能力特性為當物體數量增加時，反應時間也隨之增長。從我們的數據中，也發現反應時間具增長的趨勢，證明烏賊的分數數感符合人類算數能力的特性。

Number sense is a conceptual understanding of numbers. There are many ecological situations that number sense can be useful in animals, such as honey-bees use this ability to count landmarks and use numerical information in foraging tasks. The previous study has shown that cuttlefishes own "Integer number sense". Therefore we establish a behavioral test of two-alternative forced choice (2AFC) to further verify. Our study shows cuttlefish have not only "Integer number sense" but "Fraction number sense". The number sense of fraction in cuttlefish is follow the Weber's Law, which cuttlefish can distinguish prey groups based on differences in number. We use Weber's Law to define the threshold of number difference that cuttlefish can distinguish. Our data shows that number difference of cuttlefish is $1/6$.

"Subitization" and "Counting" are two feature in human's number sensing. Subitization is the process of glancing at a group consisting of a few objects and knowing how many there are without actually counting. Our research shows cuttlefish need longer time to make a decision when the objects are more in 2AFC. This findings suggest that cuttlefish have "Fraction number sense" and the number sense of fraction in cuttlefish is a kind of "Counting" ability

壹、研究動機

在選修生物第九章:動物的神經與內分泌的上課過程中，曾經提到烏賊的巨大神經元，讓我們對屬於無脊椎動物中腦神經系統最發達的族群且較少相關研究的烏賊產生濃厚興趣，在翻閱文獻時發現科學人雜誌中有一篇文章-「烏賊也知1 2 3」，文章旨在探討烏賊的數感及相關特性，並利用選擇行為實驗證實烏賊具有數感。研究指出烏賊在一和二隻蝦子中會偏好選擇二隻蝦子，而實驗設計只改變蝦子數量大小，我們不禁好奇生物界中的動物體型有大小之分，因此動物在獵食時可能不只考慮獵物數量，如果加入體型的變因，是否會改變烏賊的選擇？

貳、研究目的

一、烏賊是否具有分數數感

整數數感行為實驗設計上只有改變隻數多寡，為了探討獵物除了隻數也有體長上的不同，因此我們增加了獵物體長的變因，並以分數概念進行量化，證實烏賊除了整數數感外也具有分數數感。

二、若烏賊具有分數數感，則其辨別極限為何？

(一)烏賊分數數感是否符合韋伯定律

我們以韋伯定律定義辨別極限，韋伯定律意指當數量差相同，感受卻有所差異的現象，以人類來說，當一邊為一顆蘋果跟兩顆蘋果，另一邊為五十顆和五十一顆蘋果時，兩者的差異量皆為一顆蘋果，但我們較容易分辨前者的大小，較難分辨後者且思考時間會遠大於前者，這是因為兩者具有相同絕對差異 一顆蘋果，卻具有不同的相對差異所造成的現象。因此我們將選擇行為實驗對烏賊的難度以相對差異量量化，當相對差異量減少則烏賊便越難分辨，並定義烏賊捕食時利用視覺的辨別能力極限，即為絕對差異量固定時的最小相對差異量。

$$\text{相對差異} = \frac{\text{絕對差異}}{\text{標準刺激}}$$

圖一、相對差異與絕對差異的定義公式

	絕對差異	相對差異
定義	兩邊選擇數量的差異	兩邊選擇數量的差異/標準刺激
特性	多數人類及動物的數感較不重視	多數人類及動物的數感較重視，且反應時間會隨著相對差異減少而增加
舉例	一顆和兩顆蘋果的絕對差異為 1	一顆和兩顆蘋果的相對差異為 1/2

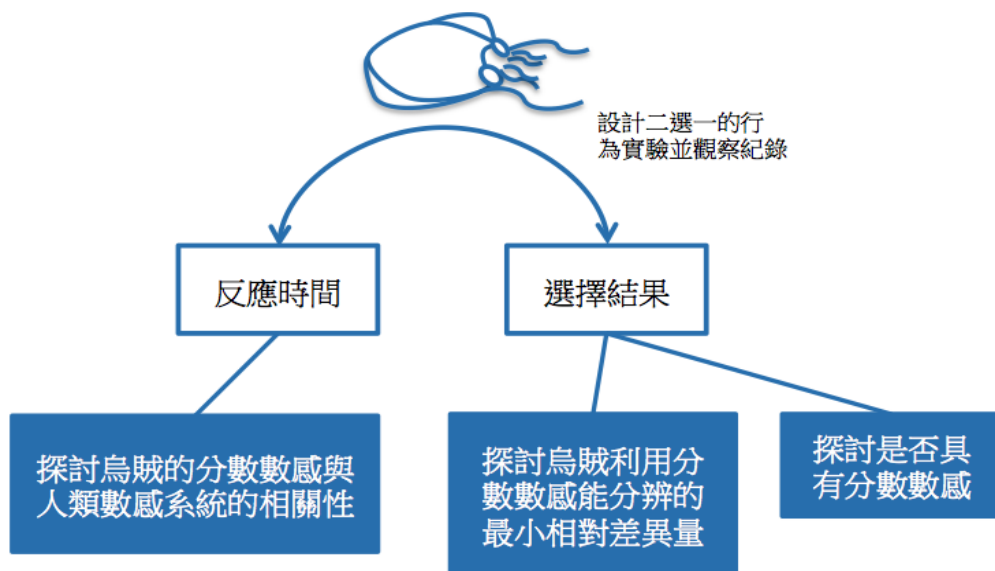
表一、絕對差異和相對差異的比較

(二)烏賊分數數感的辨別極限

在烏賊整數數感實驗中，可以得知烏賊在蝦子數量為 5 vs. 6 時已無法分辨兩者大小，此極限的相對差異量為 1/6，為烏賊整數數感能分辨的最小相對差異量。根據這個結果，我們推測分數數感同樣具有極限，且此極限將會在相對差異量為 1/6 時發生。

三、探討烏賊的分數數感與人類數感系統的相關性

根據過去研究證實，人類數感可分為兩個系統—感數(subitization)和算數(counting)能力，能一眼分辨物體數量的為感數能力，通常數量小於或等於 4，且 1-4 區間內即使物體數量增加，反應時間也不會明顯改變。算數能力則大多在大於 4 的範圍內應用，當物體數量增加時，反應時間也會隨之成長。


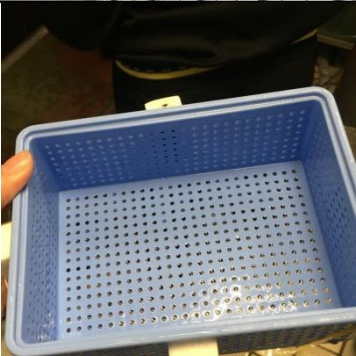



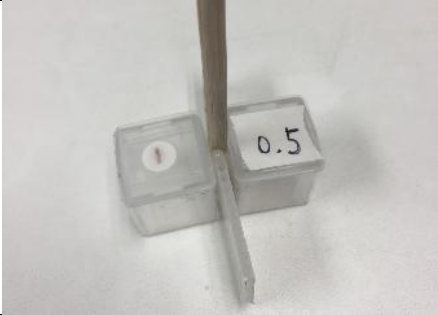

圖二、研究架構圖

參、研究設備及器材

一、實驗器材

表二、實驗器材之表格

名稱	照片	詳細說明
海水飼養箱		海水溫度:26°C 室內溫度:21°C
烏賊數感行為測試盒		其他材料: 橡皮筋、保麗龍(保持浮力) 用途: 在烏賊出生幾週後就將其分裝至各個塑膠盒中,能確保烏賊在實驗時不受干擾,且符合烏賊獨居的天性。
黑殼蝦		虎斑烏賊之食物 來源:養殖場

實驗裝置		透明密封的塑膠盒 隔板:做為判定反應時間結束的假想線。
取蝦工具		
防水相機		品牌:OLYMPUS 型號:TG-3 CMIIT
正立共軛焦顯微鏡		觀察烏賊 optic lobe 組織切片

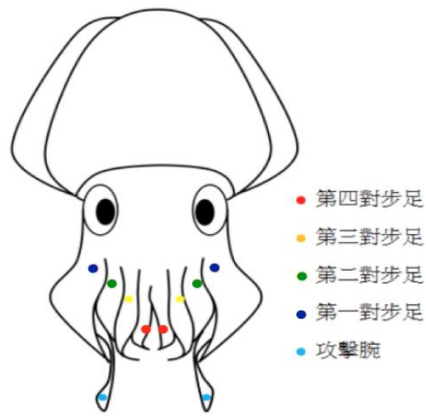
二、實驗動物

(一)簡介

模式生物為來自台灣基隆的虎斑烏賊(*Sepia pharaonis*)，俗名花枝，是台灣常見之烏賊種類，屬於頭足綱動物，且具有十分複雜的腦神經系統，更是無脊椎動物中擁有最發達腦區組織的物種，在過去研究文獻中指出，烏賊在攝食行為中，主要利用視覺判斷。

(二)捕食構造-攻擊腕

烏賊具有十隻腕，腕足上都有成排的吸盤，能緊緊抓住獵物。兩隻較長的腕為攻擊腕，而左右最外側的腕稱第一腕，往內命名至第四腕。平時烏賊會將攻擊腕收在第三腕及第四腕的兩個收納袋中，待獵食時會快速地伸出攻擊腕將獵物拉近，再用其他八隻腕緊抓獵物啃食。



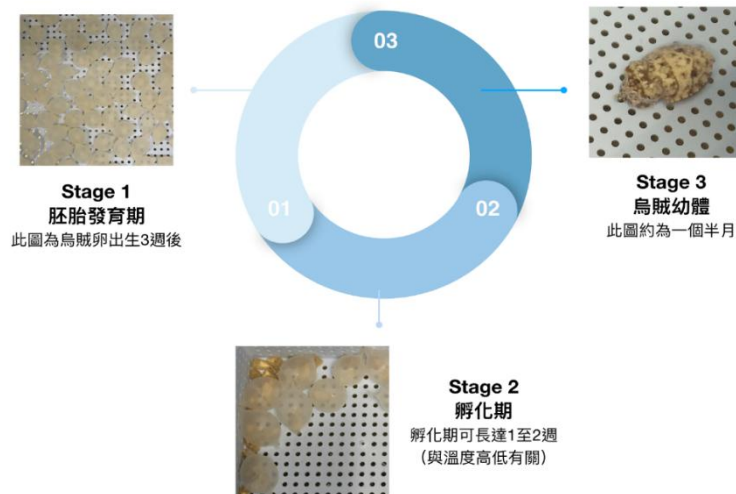
圖三、烏賊腕足命名圖

(三)飼養

在養殖方面，初期採群養的方式，開始正式進行選擇實驗後，則會在海水箱中利用塑膠盒隔開以單獨飼養，除了符合烏賊獨居的天性，也可避免實驗進行時受到其他烏賊的干擾。

(四)生活史

烏賊成體會將卵產於海床的硬底質上，因此常可在近海漁撈拖網中的沉木與岩石上發現其相連成團狀的卵，而卵團中的每一個卵則呈檸檬狀，胚胎位於卵莢內發育，一個卵莢內只有一顆受精卵。其孵化速度受溫度影響，溫度越高卵孵化速度越快，孵化期通常可長達一至二周。而我們開始進行實驗的烏賊日齡皆為30天左右，約日齡50天左右即有烏賊死亡，壽命比野生烏賊短。



圖四、烏賊生活史

肆、研究過程及方法

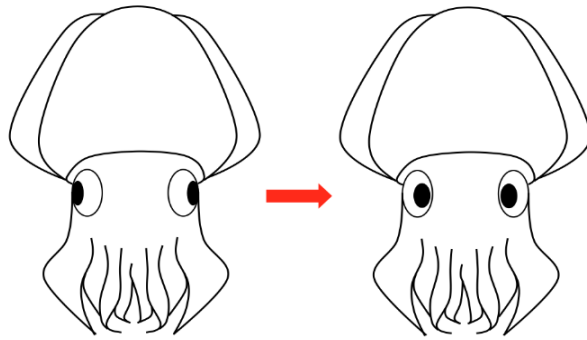
一、實驗設計

(一) 變因

我們參考了先前的烏賊整數數感研究，設計一系列的 2AFC，將體長差異以分數概念量化，並定義長度 L 的蝦子為 1，長度 $L/2$ 的蝦子為 0.5，設計出四項 2AFC: 1vs. 1.5、1.5vs. 2、2vs. 2.5、2.5vs. 3，每隻烏賊同個實驗重複 18 次以提高數據可信度。為了避免混淆量化蝦子體型用的分數與蝦子隻數，本篇內容中表示蝦子體型的分數會以阿拉伯數字表示，蝦子的隻數則以國字表示。

(二) 紀錄數據

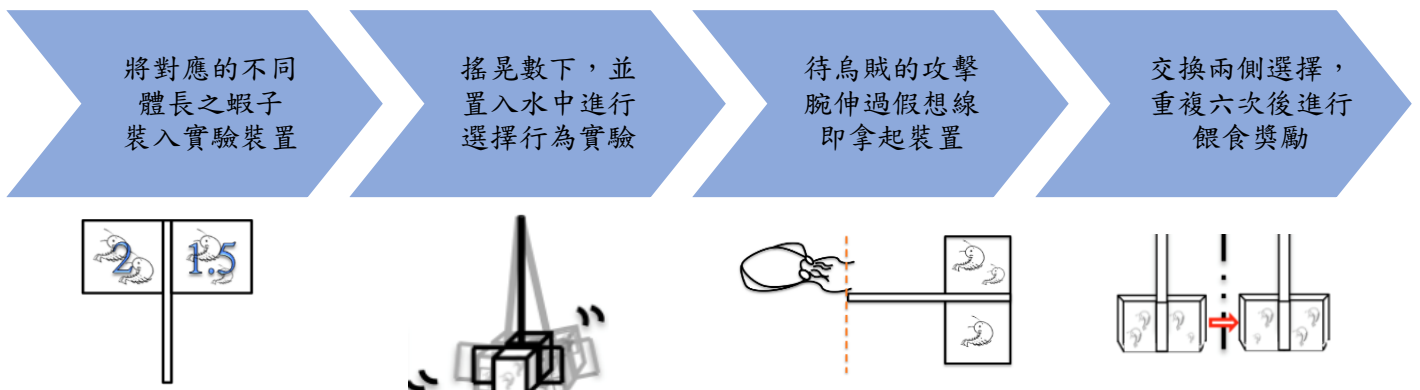
為了探討烏賊分數數感與人類數感系統的相關性，我們除了紀錄烏賊的選擇結果以判斷烏賊是否具分數數感，還需分析烏賊選擇的反應時間。我們在文獻中看到烏賊發現獵物時會有明顯眼睛聚焦的動作(圖五)，我們將其定義為反應的開始，烏賊的攻擊腕超過假想線則定義為反應的結束。



圖五、烏賊眼睛聚焦示意圖

二、實驗流程

在實驗正式開始前，會先進行三天的訓練。我們會將實驗裝置放入水中讓烏賊習慣裝置，以免在正式實驗中受到驚嚇而影響選擇行為實驗。

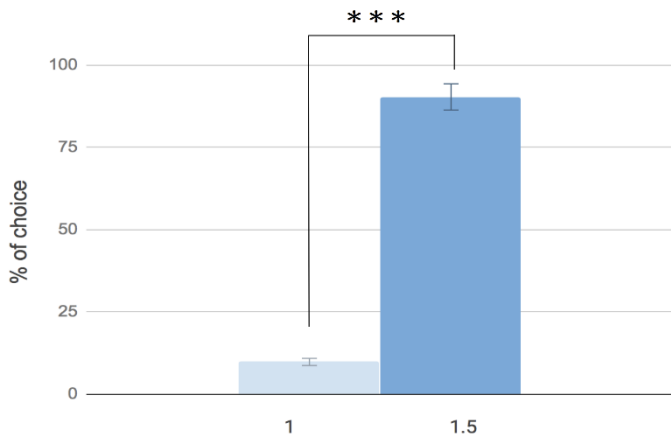


伍、研究結果

一、烏賊具有分數數感

(一) 1 vs. 1.5

此實驗絕對差異量為 0.5，相對差異量為 1/3，因此推測為四項實驗中難度最低的選擇。

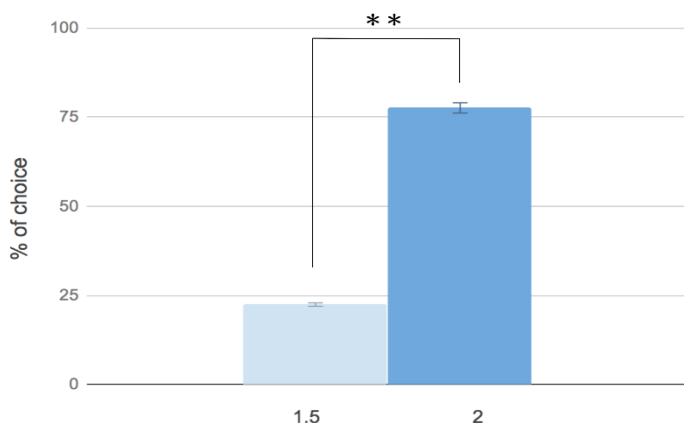


圖六、烏賊在 1 vs. 1.5 的蝦子 2AFC 實驗中選擇的次數 (縱軸: 選擇次數的百分比, 橫軸: 蝦子的數量),

在 1 vs. 1.5 的 2AFC 選擇實驗中，烏賊傾向選擇 1.5 的蝦子，代表它能分辨 0.5 的差異。但由於兩個盒子內的蝦子隻數不同，分別為一和二隻，故為了確定烏賊是否能分辨 0.5 的差異而非利用隻數判斷，我們繼續設計了蝦子隻數皆為二隻的 1.5 vs. 2 的選擇行為實驗。

(二) 1.5 vs. 2

此實驗絕對差異量為 0.5，相對差異量為 1/4。此選擇行為實驗兩邊的蝦子隻數皆為二隻，能改善 1 vs. 1.5 中蝦子隻數不同的設計，但其絕對差異量保持不變。

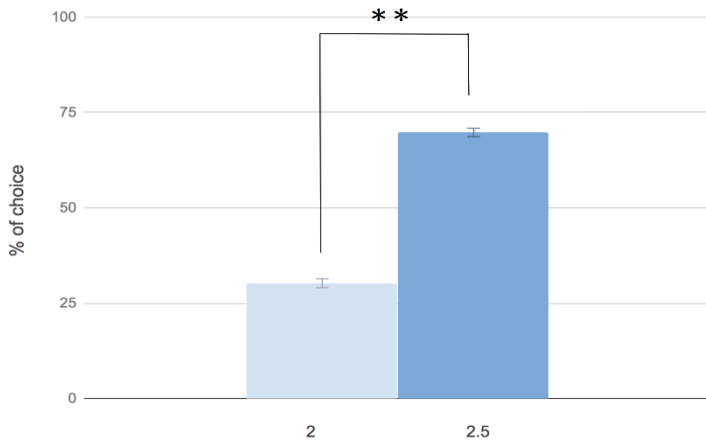


圖七、烏賊在 1.5 vs. 2 的蝦子 2AFC 實驗中選擇的次數 (縱軸: 選擇次數的百分比, 橫軸: 蝦子的數量),

我們的數據顯示，在 1.5 vs. 2 的 2AFC 實驗中，烏賊也同樣偏好選擇多了 0.5 的蝦子，且兩組數據具有 p 值小於 0.01 的顯著差異。這代表烏賊在兩方選擇皆為二隻蝦子時，還能分辨 0.5 隻蝦子的差異。由此實驗結果，我們證實烏賊確實具有分數數感。

(三) 2 v.s. 2.5

在上述的兩項實驗中，烏賊皆選擇數量較大的一方，為了增加實驗結果的可信度，我們進行了第三項的選擇行為實驗。此實驗絕對差異量為 0.5，相對差異為 1/5。

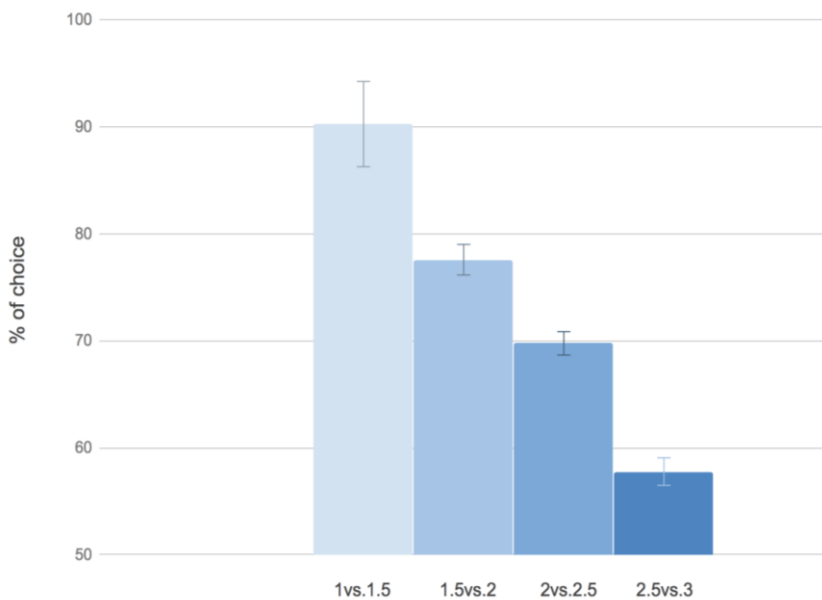


綜合前兩項實驗數據及此組數據，可以看出三組實驗中的兩組數據皆具有顯著差異，此結果意味著烏賊確實可以分辨蝦子 0.5 的差異量，並推論烏賊具有分數數感。

圖八、烏賊在 2 vs. 2.5 的蝦子 2AFC 實驗中選擇的次數(縱軸:選擇次數的百分比, 橫軸:蝦子的數量)，n=5, ** $p < 0.01$

二、烏賊分數數感辨識的極限

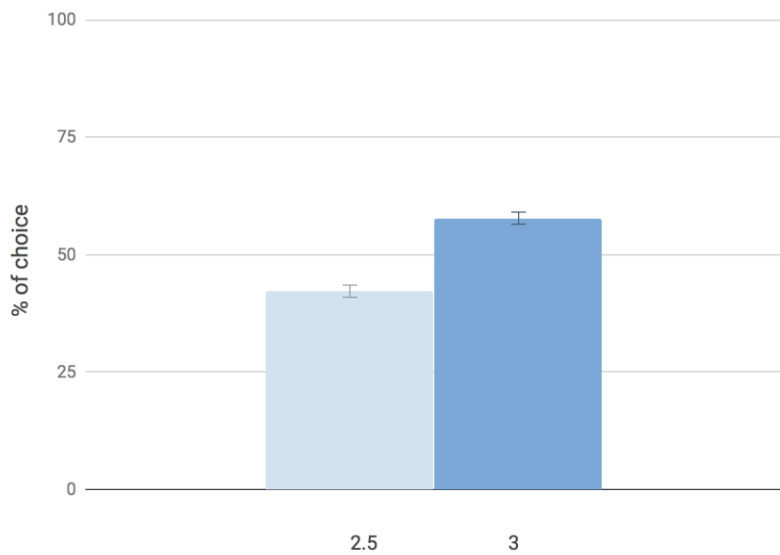
(一) 四次選擇實驗次數比較



圖九、烏賊在四次的選擇實驗中選擇較多一方的次數比較圖(縱軸:四項實驗中選擇較大一方的次數比例, 橫軸:四次獵物數量不同的實驗)

由上圖我們可以看出在我們四項固定絕對差異的實驗中，烏賊都偏好選擇多了 0.5 的蝦子，並且兩邊選擇的相對差異量從 1/3 到 1/6 逐漸減少，烏賊選擇較多蝦子的次數比例也下降，表示烏賊越難分辨蝦子的多寡，符合韋伯定律。

(二) 2.5 v.s. 3



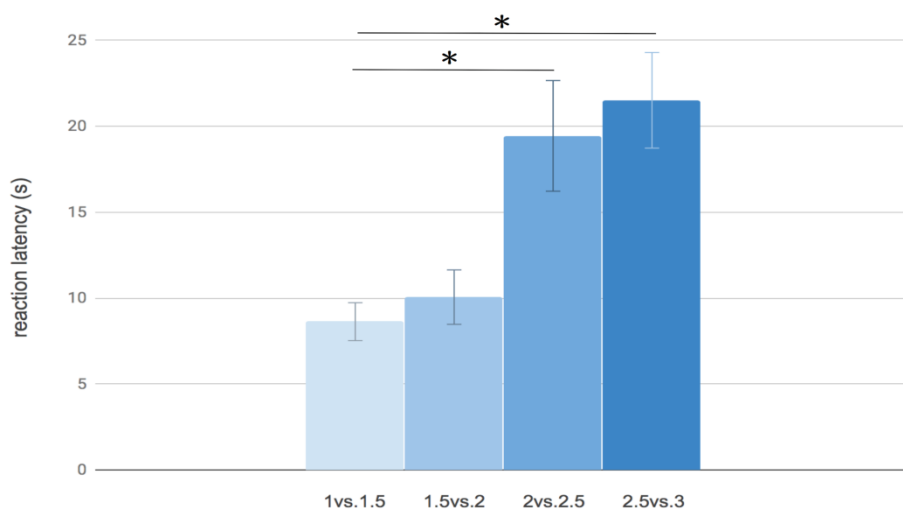
圖十、烏賊在 2.5 vs. 3 的選擇實驗中的次數比較圖(縱軸:選擇次數的百分比,橫軸:蝦子的數量), $n=5, p>0.1$

在(圖六)、(圖七)及(圖八)中,可以看出此三項實驗的選擇結果具有顯著差異,而到了第四項實驗 2.5 vs. 3(圖十)的時,兩方選擇比例為:57.7% vs. 42.2%,兩組數據開始無顯著差異。故數據顯示出,烏賊的分數數感具有限制,其極限發生在 2.5 vs. 3 的實驗上,此實驗的相對差異量 $1/6$ 即為烏賊分數數感能分辨的最小相對差異量。

此結果同時也符合我們的推測,因為整數數感分辨的極限發生在 5 vs. 6 的實驗上,其相對差異量為 $1/6$, 因此烏賊整數數感及分數數感的分辨極限以最小相對差異量表示是相同的。

三、烏賊的分數數感屬於算數能力

相關文獻中指出,當選擇的相對差異減少時,烏賊較難分辨其大小,且會花較多時間思考判斷,因此我們觀察反應時間的變化,以測試烏賊是否符合其特性。



圖十一、此圖為四次選擇行為實驗的平均反應時間長條圖(縱軸:反應時間;橫軸:四次具有不同相對差異的選擇行為實驗, $n=6, 6, 5, 5$)

由上圖可看出 1vs. 1.5 及 2vs. 2.5、2.5vs. 3 具顯著差異,代表反應時間隨著相對差異量減少而增加,符合我們的假設,同時也符合人類算數能力的特性,故可推測在捕食行為實驗中,烏賊是經過計算數量後才進行選擇,並非像感數能力一樣可不經計算即判斷大小。

陸、討論

一、研究內容

本研究建構在先前烏賊整數數感的實驗基礎上，旨在探討烏賊的分數數感，及測定烏賊利用分數數感能分辨的最小相對差異量，找出烏賊分數數感的辨別極限。

(一)烏賊的分數數感

從研究結果一能看出，烏賊在前三次的選擇行為實驗中皆偏好數量較多的蝦子，這意味著烏賊確實具有分數數感，能分辨每次選擇行為實驗中固定的 0.5 絕對差異。

(二)烏賊分數數感能分辨相對差異量的區間

從研究結果一能發現烏賊分數數感符合韋伯定律，在選擇時較重視相對差異而非絕對差異，因此我們固定絕對差異並改變相對差異，找到烏賊能分辨的最小相對差異即為其極限。先前的整數數感實驗中，推測烏賊能分辨的最小相對差異量為 $1/6$ ，也就是到五隻和六隻蝦子時，烏賊因為較難分辨大小而使選擇偏好較不明顯，且相對差異減少時會使反應時間增長，因此我們將一樣的定義方式套用到分數數感實驗，發現烏賊能分辨的最小相對差異量跟整數數感相同。

1、烏賊的分數數感符合韋伯定律

從(圖十一)上能看出烏賊的反應時間隨著相對差異減少而增大，而且從(圖九)能看到當相對差異變小，烏賊的確越難分辨出數量較多的蝦子，符合韋伯定律中動物數感重視相對差異而非絕對差異的特性，因此我們進而延伸探討最小相對差異。

2、烏賊利用分數數感能分辨的最小相對差異量為 $1/6$

在(圖十)的 2.5 跟 3 的捕食行為實驗中，烏賊選擇兩邊的次數接近 1:1，且兩組數據無顯著差異，因此 2.5 跟 3 的捕食行為實驗之相對差異量，也就是 $1/6$ 即為烏賊利用分數數感能分辨的最小相對差異量，同時符合整數數感實驗中推測的最小相對差異量，此現象也符合韋伯定律中相同感覺道的最小可覺差通常相同的現象。

(三)烏賊分數數感屬於算數能力

從(圖九)可看出當相對差異量減少，烏賊除了越難分辨兩者大小，還會花較多時間進行思考及判斷，表示烏賊在計算數量並非一眼就能判斷大小，因此我們證實烏賊分數數感屬於人類數感系統中的算數能力，與整數數感相同。

二、延伸探討

除了發現分數數感與整數數感諸多相同處，我們在實驗過程中發現了幾項有趣的現象，並延伸出一些議題進行討論

(一)烏賊的 2AFC 及數感分類

1、烏賊會受什麼因素影響而導致不經過思考即進行選擇

先前的文獻經過觀察後記錄下烏賊的捕食行為，發現當獵物放入水中，烏賊會先注意到獵物，通常會轉身面對獵物或是眼睛聚焦，經過思考後進行獵食，但在我們的實驗中，可觀察到有些烏賊一開始面對著實驗裝置，並未有明顯的注意及思考行為即作出選擇。未來希望能設計更完整的實驗方法以改善此現象，例如每次實驗裝置皆放在相同的相對位置，

或許可以減少上述現象或讓反應時間的計算更加精確。

2、獵物體型大小與捕食行為的關聯性

文獻探討中，發現先前有人曾研究烏賊的捕食行為，他們觀察到烏賊的捕食行為大致分為兩種，一種稱為 jump，是烏賊以全身撲向獵物的行為，另一種稱為 tentacles，是僅靠攻擊腕做出攻擊的行為。研究發現，在捕食體型大的獵物時，烏賊會傾向使用 jump，目的在於防止獵物的逃脫，在捕食體型小且移動速度快的獵物時，則會傾向使用 tentacles。在我們各組 2AFC 實驗中，亦有觀察到以上的兩種捕食方式，推測與獵物體型有關，特殊的捕食策略和文獻敘述吻合，希望未來進一步能找出此掠食策略和烏賊數感的關聯性。

3、烏賊選擇與否的原因探討

在做實驗的過程中，發現烏賊並不是每次都會做出選擇，我們認為這可能是因為以下兩點原因所致。首先是實驗裝置中的蝦子大小，我們根據先前的經驗，挑選蝦子時都以烏賊的三分之一體長以下作為標準，但對於身體狀況不佳的烏賊來說，可能是它無法攻擊的大小，從而影響它的實驗狀況。二是烏賊的注意與否，烏賊在注意到獵物時，會有稱為 attention 的眼球聚焦動作，緊盯獵物並進行捕食，反之，若沒有注意到獵物，不論放置多久都不會做出選擇，推測這也是影響烏賊進行實驗的原因。

4、固定總獵物體長，並改變獵物總隻數的捕食行為實驗延伸

在我們的實驗 1.5vs.2 及 2.5vs.3 的設計上，我們控制兩邊蝦子隻數並改變體長上的量，而 1vs.1.5 及 2vs.2.5 則是兩邊隻數及體長都不相同，為了觀察更完整的分數數感捕食行為，未來希望能設計並進行固定總獵物體長但獵物總隻數不同的實驗，例如一隻大蝦 vs. 一隻小蝦或兩隻大蝦 vs. 四隻小蝦。

其中，曾有文獻研究設計過類似的行為實驗，旨在探討烏賊在不同的飢餓程度下對獵物大小的偏好，在烏賊飢餓（早晨）和飽食（下午）兩個狀態下分別進行實驗。

第一步檢測烏賊在不同飢餓程度的獵物數量偏好，以一隻對兩隻小蝦和一隻對兩隻大蝦兩組捕食實驗進行，並分別在兩種不同飽足狀態下進行測試。結果顯示無論獵物大小和飢餓程度如何，烏賊偏好較大數量的一方。

而另一實驗則以兩方總體長相等的前提進行，一邊放上兩隻小蝦，一邊放上一隻大蝦。此文獻數據顯示烏賊在飢餓狀態偏好較大的獵物，而在飽食狀態則偏好選擇較小的獵物。我們可以將其解釋為烏賊具有風險評估的能力，且在較餓的狀況下才會去挑戰較大的風險。

根據以上結果可以得知，儘管烏賊的捕食策略在各種飢餓程度上，會偏好選擇較大的獵物和較大的數量，但當在少量大型獵物和大量小型獵物之間進行選擇時，烏賊的獵食決定取決於它們的飢餓程度。

5、烏賊分數數感為天生

在文獻中我們可以得知，數感系統分為兩大部分，一為天生數感，即為動物一出生就具備，不需要經過任何的訓練即可判斷，例如讓實驗動物觀看它的獵物，進行選擇兩邊大小的實驗。另一為非天生數感，也就是在經過訓練過後才獲得的數感能力，例如：讓實驗動物觀看三個黑點和兩個黑點，當他選擇三個黑點時即進行餵食，並以此類推讓動物選擇兩方總數不同的黑點。經過一段時間的訓練後，動物只要看到便會選擇數量較大一邊的黑點，此即為非天生數感。烏賊的食物為蝦子，對蝦子進行獵食為天生反應，並且在實驗前並沒有進行任何的訓練，實驗結果卻也顯示為其具有數感，則我們可以說烏賊的數感能力為天生數感。

表三、天生數感及訓練後數感的比較

	天生具備的數感	訓練後的數感
例如	實驗動物分辨三個食物以及四個食物。	實驗動物分辨三個點點及四個點點選擇四個點點則給予獎勵。
自然環境中的表現	在自然環境中也會有相同表現。	在實驗中可能產生卓越的數感能力，但這在真實生活中無法發生。
不同實驗動物的研究	因為是使用不同的誘餌產生的結果，不能夠相互比較。	可使用相同的誘餌來互相比較物種間的差異。
實驗動物所需樣本數	需大量樣本。	如有其中一個體可達成，則可假設此物種可達成。
受試者須花的時間	短。	長，因為要學習。

(二)烏賊 2AFC 與解剖學、分子生物學的關聯

1、烏賊捕食選擇行為的個體差異與生理構造的相关性

在經過多次實驗後，我們發現有些烏賊能快速且正確的選擇較多的蝦子，一些烏賊反應時間較久且容易選擇較少的蝦子，但每隻烏賊選擇數量多的蝦子之次數比例，皆高於選擇數量少的次數，只是比例有高低之分。因此我們好奇烏賊在行為上表現出不同的差異，是否因生理上的差異而造成？

(1)烏賊視覺對於捕食行為的重要性

先前有研究分別探討對烏賊進行致盲、移除腕足、移除攻擊腕後的捕食行為，不同於我們的二選一行為實驗，此研究只利用一隻腹部綁線的蝦子作為誘餌，並發現烏賊在致盲後對蝦子的攻擊率會大幅下降，攻擊率大約 34.5%，而烏賊在移除腕足及攻擊腕後，其攻擊率不受太大影響，兩者攻擊率都能達到 100%，由實驗結果能得知，烏賊主要由視覺控制及引發捕食行為，且當視覺受到干擾時會降低其精準度。另外，此研究還將烏賊的捕食行為連結至生理構造上，透過移除烏賊特定腦區再進行捕食行為實驗，發現烏賊對蝦子的攻擊行為不變，但要追蹤超出視野範圍的蝦子時就會受到阻礙。由上述的研究結果能推論出，會影響視覺的特定腦區與烏賊捕食行為有極大的關聯，也就是說，烏賊的視覺對於其捕食行為是十分重要的。

此外，研究還發現烏賊在剛接受到視覺刺激的前五秒會引發具方向性的眼球運動-聚焦，在我們的實驗中也能發現多數烏賊在注意到獵物後會有此眼球運動，還有改變體色，及移動身體的行為。

綜合以上，我們決定進一步將 2AFC 中選擇結果較符合我們預期的烏賊，及結果較不符合預期的烏賊，取出其腦部進行冷凍切片，再透過正立螢光顯微鏡及共軛焦顯微鏡觀察，希望能找出烏賊分數數感在行為和腦部生理構造上的相關性。

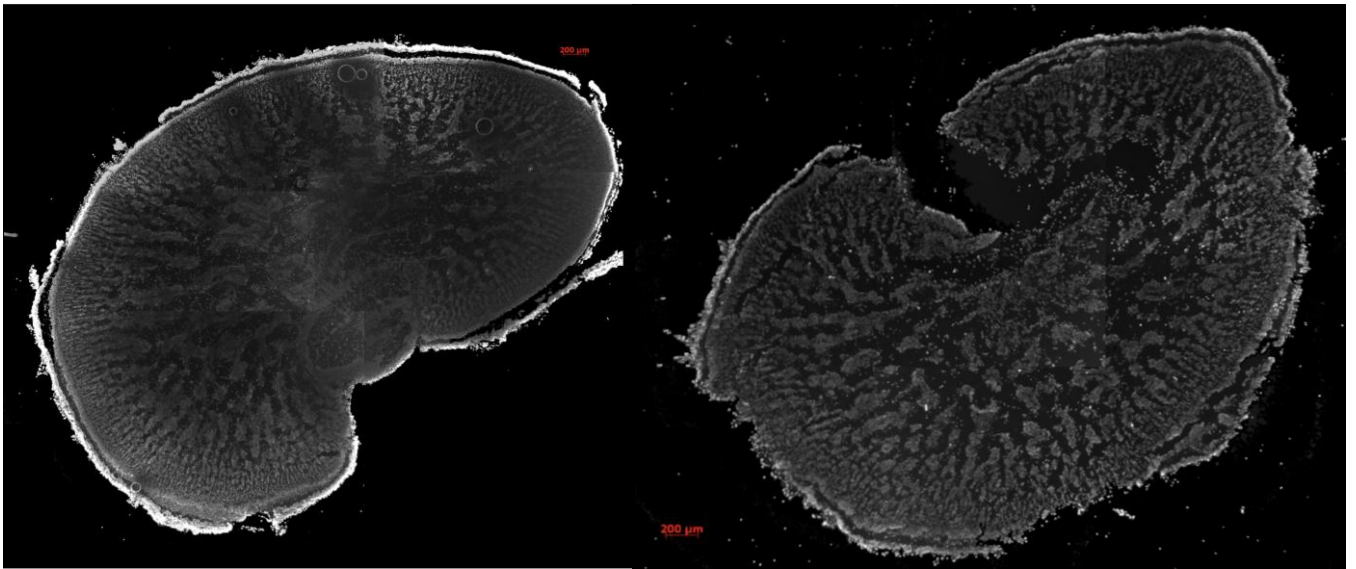
(2)烏賊處理視覺訊號的腦區-optic lobe

眼睛後方有許多神經束直接連至腦區，左右眼後方各一個，形狀類似人類腎臟，外層為 cortex，內層為 cell island，前者也稱深層視網膜，可直接從視網膜接收視覺信號，它由兩個細胞豐富的顆粒層和一個富含纖維的叢狀區域組成。



圖十二、烏賊的視覺神經系統
綠色虛線處為烏賊的眼睛，黃色處為處理視覺訊號的腦區，紅線為切片方向

(3)以正立螢光顯微鏡(Upright Fluorescent Microscope Zeiss)觀察

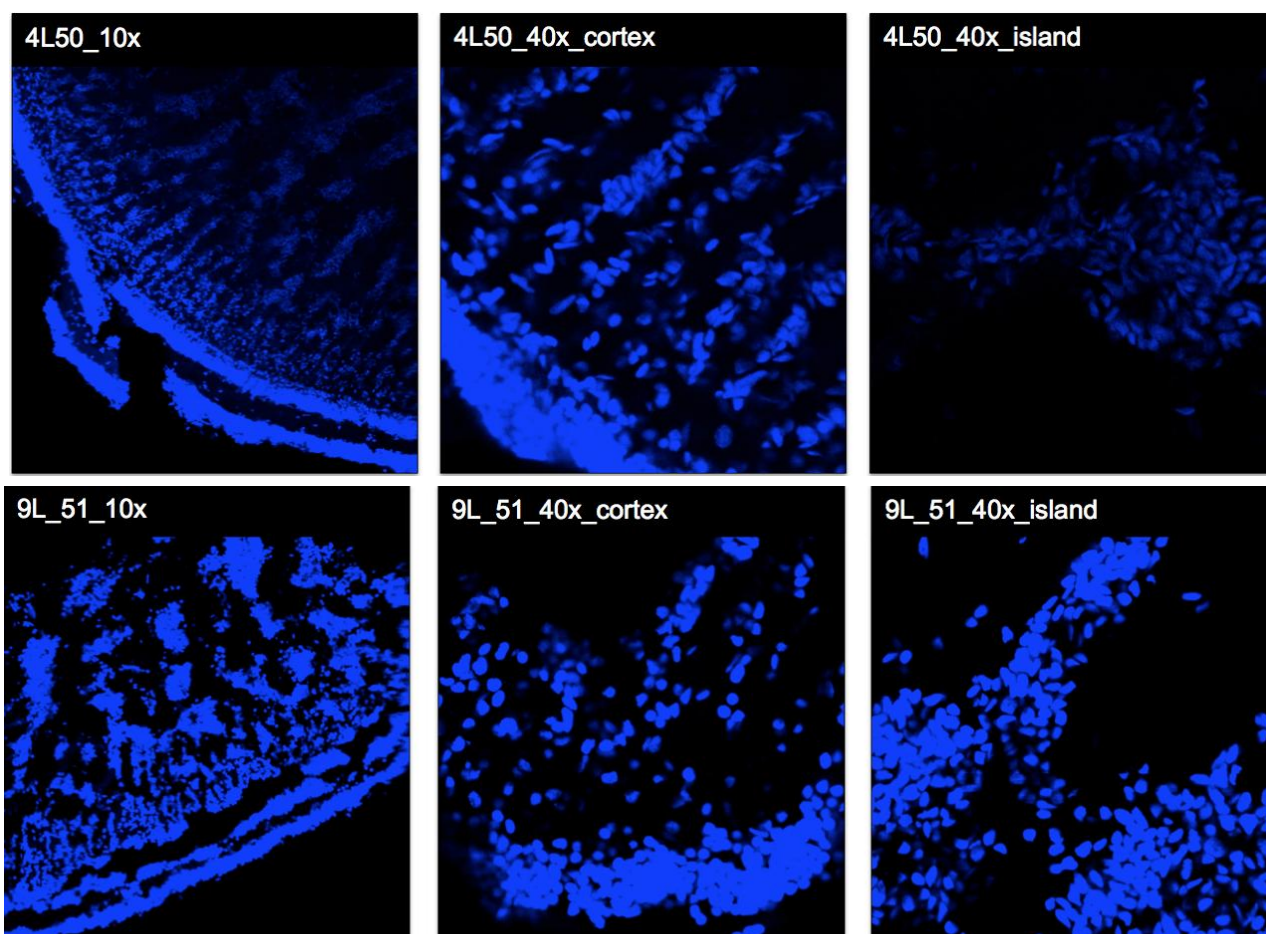


圖十三、左圖為我們預測較為聰明的編號4號烏賊之 optic lobe，
右圖為較為笨拙之編號9號烏賊的 optic lobe

已知烏賊主要利用視覺進行獵食，故我們將2AFC中個體差異較大的烏賊，取出腦部切片，進行正立螢光顯微鏡觀察，觀察主要處理視覺訊號的腦區 optic lobe。圖中的 optic lobe 外層較亮區為 cortex 皮層，cortex 內的組織則為 cell island。目前經影像比較後發現，兩圖結構上尚未發現有明顯差異。

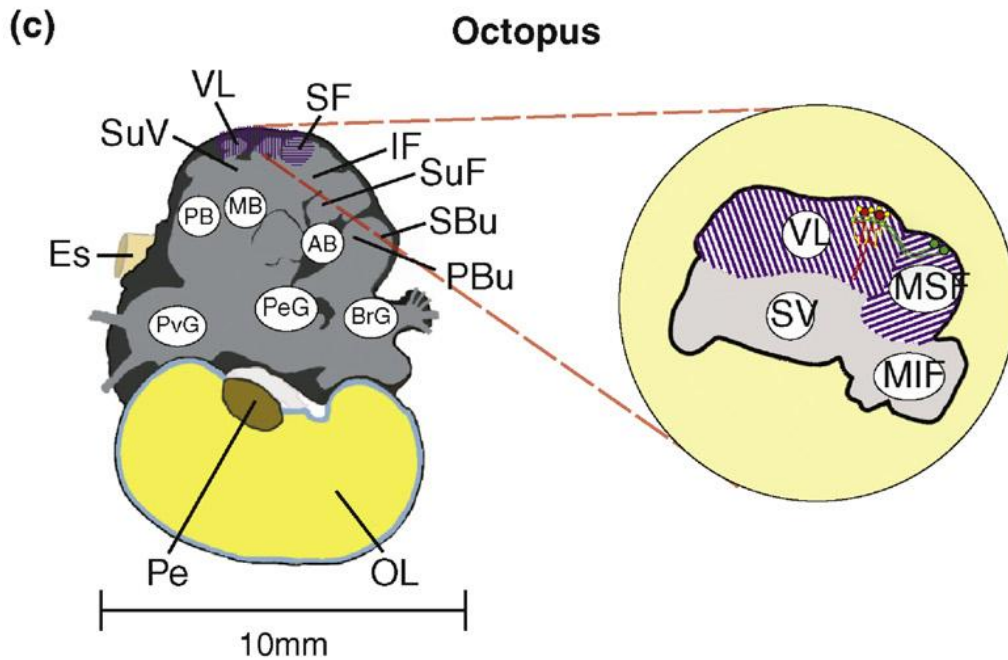
(4)以正立共軛焦顯微鏡(Confocal microscope Zeiss)觀察

為了觀察烏賊腦圖更細微的差異，我們利用共軛焦顯微鏡進行觀察，其原理為以波長 405nm 的雷射光取代傳統螢光顯微鏡的汞燈，並對樣本做光學切片式的斷層掃描分析，能直接將焦面的螢光訊息傳入感測器中並濾除非同一焦面的光，提升傳統螢光顯微鏡影像的品質。我們將烏賊的 optic lobe 冷凍切片後，以螢光染劑(depi)進行染色再以正立共軛交顯微鏡觀察。



圖十四、上圖為編號 4 號烏賊左腦 3 張不同倍率、不同組織的照片，下圖為編號 9 號烏賊左腦 3 張不同倍率、不同組織的照片；上面兩張圖的左邊第一張為倍率 10x 拍攝的照片；中間為倍率 40x 拍攝的 cortex 組織；右圖為倍率 40x 拍攝的 cell island 組織

由上圖並未看出明顯結構上的差異，期望未來能增加切片隻數，找出烏賊在腦部生理構造上和選擇行為相關的負責神經迴路。而在 2AFC 捕食選擇行為上，我們觀察到較聰明的烏賊通常食慾較好、體型較大且身體健康狀況較良好，因此在進行選擇實驗時較有捕食慾望，會較容易選擇數量多的蝦子，且反應時間較短；健康狀況較差的烏賊則相反，反應時間通常較久，因此我們推測烏賊在捕食選擇行為中的個體差異，也可能受到健康狀況及捕食慾望的影響。除此之外，有文獻提到頭足綱動物主要掌管長期記憶及學習的腦區為 vertical lobe[13]，未來期望可建立烏賊 optic lobe 與 vertical lobe 之間負責數感相關的神經迴路關聯性。



圖十五、章魚腦區構造圖 (OL: 主要處理視覺訊號的視葉-optic lobe;
VL: 掌管長期記憶及複雜記憶的腦區-vertical lobe)[11]

2、烏賊分數數感的分子機制

頭足綱動物的基因組因為較龐大且具高重複性，因此分子機制的相關文獻較少。近期有章魚的基因序列被定序完成[14]，大部分基因組皆類似其他無脊椎動物，但卻發現有兩種以前被認為是脊椎動物才有的分子物質存在，分別為 protocadherins(一種與神經發育有極大關聯的蛋白質)及 C2H2 鋅指轉錄因子[14]，且在特定部位如:皮膚、吸盤、及神經系統有高度表達，推測可能與頭足綱動物有學習及記憶能力有關，而目前科學家們正致力於頭足綱動物在各種行為和分類上的分子機制研究，但礙於頭足綱不是適合的模式生物，所以進度較緩慢，期望未來能在數感的分子與神經迴路機制上，有更進一步的深入探討和貢獻。

柒、結論

- 一、烏賊除了已被證實的整數數感外，還具分數數感。
- 二、烏賊分數數感符合韋伯定律，且對於兩刺激的分辨極限為相對差異量 $1/6$ ，同時符合整數數感的極限。
- 三、烏賊的分數數感具有人類算數能力的特性。

捌、未來展望

- 一、設計更多實驗以更了解烏賊的分數數感

目前設計的實驗無法明確判別烏賊判斷數量的依據是隻數多寡抑或是體積大小，未來希望能以討論二的(一)中的第四點為邏輯，進行更完善的實驗。

- 二、建立完善精細的烏賊行為實驗模型:

目前關於頭足綱動物的研究較少，尤其是烏賊的相關研究最為稀少，但卻有許多科學家認

為這類生理結構較簡單卻能表現出複雜行為的動物有許多應用之處[15]，包括應用在機器人學，或是其毒素可能對醫學有所貢獻，因此未來如果能更加了解烏賊的數感認知，或許可建立一套完善的實驗模型，可用於尋找與烏賊學習記憶相關的神經迴路或是分子機制，將會對頭足綱的神經生物學及分子生物學的發展有所幫助。

三、解決人工養殖烏賊的困境：

因近年台灣沿海捕撈的烏賊數量逐年減少，烏賊的人工養殖技術愈受重視，但礙於烏賊捕食時只偏好活的獵物，致使烏賊的人工養殖遇到飼料成本過高的問題。綜合我們的研究及相關文獻，我們更了解烏賊的數感會使其作出最有效益的捕食行為，希望未來能將數感結合人工養殖，或許能解決目前烏賊人工養殖遇到的瓶頸。

玖、參考資料

- 一、焦傳金、楊璨伊 (2016) · 烏賊會算術—烏賊的數感與風險評估 · 科學月刊 · 取自 http://scimonth.blogspot.tw/2016/11/blog-post_80.html
- 二、焦傳金、楊璨伊(2017) · 烏賊也知 1、2、3 · 科學人雜誌，183，73-76。
- 三、Agrillo, C., & Bisazza, A. (2014). Spontaneous versus trained numerical abilities: a comparison between the two main tools to study numerical competence in non-human animals.
- 四、Duval, P., Chichery, M. P., & Chichery, R. (1984). Prey capture by the cuttlefish (*Sepia officinalis*)—an experimental study of two strategies.
- 五、Liu, Y. C., Liu, T. H., Su, C. H., & Chiao, C. C. (2017). Neural Organization of the optic lobe changes steadily from late embryonic stage to adulthood in cuttlefish, *Sepia pharaonis*.
From <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00538/full>
- 六、Messenger, J. B. (1968). Visual attack of cuttlefish *Sepia officinalis*.
- 七、Mario Pahl, Aung Si, & Shaowu Zhang. (2013). Numerical cognition in bees and other insects. From <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3629984/>
- 八、Yang, T. I., & Chiao, C. C. (2016). Number sense and state-dependent valuation in cuttlefish. From <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/283/1837/20161379>
- 九、Stanislas Dehaene. (2011). *The Number Sense: How the Mind Creates Mathematics*, Revised and Updated Edition.
- 十、Feigenson, L., & Dehaene, S., & Spelke, E., (2004). Core systems of number.
- 十一、Edelman, D. B., & Seth, A. K. (2009) *Animal consciousness: a Synthetic approach*.
- 十二、CE O'Brien, & K Roumbedakis, & IE Winkelmann. (2018) *The Current State of Cephalopod Science and Perspectives on the Most Critical Challenges Ahead From Three Early-Career Researchers*.
- 十三、B Hochner, & T Shomrat. (2013) *The neurophysiological basis of learning and memory in advanced invertebrates: the octopus and the cuttlefish.*
- 十四、CB Albertin, & O Simakov, & T Mitros, ZY Wang, JR Pungor. (2015) *The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological*

novelties.

十五、CB Albertin, & L Bonnaud. (2012) Cephalopod genomics: a plan of strategies and organization

十六、Noa L.B. Trade-off between transcriptome plasticity and genome evolution in Cephalopods.

附錄：

一、四次選擇行為實驗之原始數據

(一) 1 vs. 1.5

烏賊編號	選擇1.5次數/ 全部次數
1	16/18
2	15/18
3	18/18
4	16/17
5	17/18
6	17/18
7	15/18
8	14/14
9	14/17
10	13/14
11	5/6
12	7/9

(二) 1.5 vs. 2

烏賊編號	選擇2的次數/ 全部次數
1	5/7
2	14/18
3	5/6
4	6/7
5	9/11
7	6/9

(三) 2 vs. 2.5

烏賊編號	選擇2.5的次數/ 全部次數
1	10/18
2	12/18
3	10/17
4	16/18
5	12/15

(四) 2.5 vs. 3

烏賊編號	選擇3的次數/ 全部次數
1	12/18
2	14/18
3	7/18
4	8/18
5	11/18