

國立台灣師範大學生命科學系 碩士論文

蓋斑鬥魚 (*Macropodus opercularis*) 形態、行為特徵與賀爾蒙分泌量對生殖成功率之重要性

The importance of morphology, behavior and hormone profiles to reproductive success in paradise fish (*Macropodus opercularis*)

研究生：胡家怡

Chia-Yi Hu

指導教授：許鈺鸚 博士

Yuying Hsu, Ph.D.

中華民國一百零一年八月

致謝

終於，我的論文進展到寫致謝這一步了。我的研究能夠呈現於此，最感謝的是指導老師—許鈺鸚教授在這幾年不厭其煩的教導。感謝老師大膽的放手讓我進行我感興趣的研究主題，從一開始的實驗設計，到實驗過程遇到的大大小小問題，至最後分析資料與撰寫論文的階段，老師總是花非常多的時間跟我討論，指點我邏輯思考上的問題，指引我可以嘗試的方向，並給予我許多建議。在這樣的過程中，我學習到一個研究如何從無到有，更學習到嚴謹的研究態度，以及面對研究時應具有的批判性思考，非常感謝老師。其次，我要感謝兩位口試委員，台灣師範大學生命科學系李壽先教授與東海大學生命科學系卓逸民教授，給予我研究上諸多寶貴的意見與指教。另外，我要特別感謝台北市立動物園連振暉獸醫師，提供我蓋斑鬥魚的來源並協助捕捉蓋斑鬥魚；感謝 Dr. Ryan Earley 教導我賀爾蒙的定量分析技術；以及感謝 Alan Watson 指正我的英文發音，並且多次幫我潤飾、修改論文與研討會的英文摘要與英文報告。

感謝跟我同時進入實驗室的夥伴兼戰友—黃郁雲、李誠裕，除了在課業與研究上互相琢磨砥礪外，你們更是我這幾年研究生活中的歡笑來源與精神陪伴，沒有你們在我低潮時的鼓勵，我恐怕沒有辦法完成這份論文。感謝實驗室吳雅婷助理、林利貞學姊、以及陳昱儒、郭傲寰、黃暉霖、謝秉惠、王侑萱等學弟妹在我做實驗階段以及爆炸的最後一學期給予我許多協助與建議，並容忍我起伏很大的情緒。除此之外，還要感謝碩一進實驗室時帶領我們的藍怡婷與張靖學姊，以及同時進實驗室的另一位夥伴余明義，跟你們的腦力激盪帶給我實驗草創期非常大的幫助，那時的「六人時期」更是現在回憶起來最吵雜最搞笑的時光。最後，感謝我媽、我姊與其他家人在精神上與經濟上的支持，讓我無後顧之憂的完成研究所學業，也讓我知道再怎麼辛苦都有個避風港可以稍微偷懶。

感謝以上所有人，我很幸運的有你們幫忙才能完成這份論文。最後的最後，我要好好稱讚一下自己，感謝你在挫折中沒有放棄，You did it！

摘要

動物的生殖成功率經常與其形態特徵、行為表現以及賀爾蒙分泌量呈現相關性。雖然有許多研究分別探討生殖成功率與不同性狀間的關係，多種特徵以及雄性與雌性之特徵如何共同影響生殖成功率卻鮮少同時被探究。本研究將雌、雄蓋斑鬥魚 *Macropodus opercularis* 進行配對，檢測 (1) 行為表現與形態特徵與賀爾蒙間的相關性；(2) 雌、雄個體的形態、行為特徵以及賀爾蒙對生殖成功率的相對重要性。我以雌、雄魚產卵與否、產卵潛伏期 (雌、雄魚開始互動至缸中有卵出現的間隔天數) 以及產卵量作為生殖成功率指標；以標準體長、肥滿度、尾鰭長代表形態特徵；以攻擊性 (攻擊頻率) 及親代照顧表現 (泡巢面積) 作為行為特徵；並測量睪固酮 (T)、睪丸硬甾酮 (KT)、雌二醇 (E2) 與皮質醇 (Cort) 等四種賀爾蒙來進行探討。結果顯示 (1) KT 越高且 T 越低之雌魚的產卵量越高，然而與 KT 較高且 T 較低之雄魚配對的雌魚則產卵量較低；(2) T 越高的雄魚泡巢面積越小，而與泡巢面積較小的雄魚配對之雌魚會較慢產卵；(3) Cort 越高的雌魚配對後會越慢產卵；(4) 與肥滿度較高的雄魚配對之雌魚有較低的比例會產卵，而與標準體長越長的雄魚配對之雌魚會產下較少的卵；(5) 尾鰭越長的雄魚攻擊性越低，而標準體長越長的雌魚攻擊性越高。由本研究得知，親代照顧表現越高以及 T 分泌量越高的雄魚生殖成功率越高，而體型越大、KT 分泌量越高之雄魚的生殖成功率則越低；此外，KT 分泌量越高之雌魚的生殖成功率越高，T 與 Cort 分泌量越高之雌魚的生殖成功率則越低。總結而言，雌、雄蓋斑鬥魚的攻擊性以及親代照顧表現與其形態特徵以及賀爾蒙基礎分泌量呈現相關性，而配對的生殖成功率同時與雌、雄魚的多個特徵有關，其中形態特徵及賀爾蒙與生殖成功率有較緊密的關係；而雄魚的特徵在配對生殖成功率上扮演著較雌魚特徵重要的角色。

關鍵詞：生殖成功率、形態特徵、攻擊性、親代照顧、賀爾蒙

Abstract

An individual's reproductive success can depend on its morphological, behavioral and hormonal traits. Although many studies have explored the importance of each of these three individually to reproductive success, how they combine and how males' and females' traits combine to influence reproductive success are rarely explored. I paired up male and female paradise fish *Macropodus opercularis* to investigate (1) whether male and female fishes' behavioral traits are related to their morphological traits and hormone levels, and (2) the relative importance of the three types of traits in both the male and the female in determining the reproductive success of a mating pair. I used standard length, condition factor and caudal fin length to represent the fishes' morphology; aggressiveness (attack frequency) and parental care (bubble-nest area) to represent their behaviors; levels of testosterone (T), 11-ketotestosterone (KT), 17 β -estradiol (E2) and cortisol (Cort) to represent their hormones, and likelihood of spawning, latency to spawn and the number of eggs they produced to represent reproductive success. I had five main sets of results. (1) Egg production was associated positively with the female's KT levels and the male's T levels, but negatively with female's T levels and the male's KT levels. (2) Males with high levels of T built small bubble-nests. Moreover, female partners of males which built smaller bubble-nests spawned more slowly. (3) Females with higher levels of Cort were slower to spawn. (4) Female partners of males with greater condition factor were less likely to spawn, and partners of males with longer standard length produced fewer eggs. (5) Males with longer caudal fins were less aggressive, and females with longer standard length were more aggressive. Overall, this study showed that males which provided more parental care or had higher levels of T had higher reproductive success, but that larger males or those with higher levels of KT had lower

reproductive success. Moreover, females with high levels of KT had high reproductive success, but those which had higher levels of T or Cort had lower reproductive success. In conclusion, the morphological traits and hormone levels of male and female paradise fish were related to their aggressiveness and parental effort. A pair's reproduction was correlated with both the male and female fishes' traits. Morphological traits and hormone levels were more important than aggressiveness and parental effort, and males' traits had a stronger association with reproduction than females'.

Keyword: reproductive success, morphology, aggressiveness, parental care, hormone

目錄

第一章 前言.....	1
第一節 與生殖成功率有關之形態與行為特徵.....	1
第二節 形態特徵與行為特徵間之相關性.....	5
第三節 影響形態、行為特徵以及生殖成功率之內分泌機制.....	6
第四節 研究目的.....	11
第二章 研究材料與方法.....	12
第一節 實驗物種.....	12
第二節 實驗設計與流程.....	14
第三節 實驗方法.....	17
第四節 資料分析.....	21
第三章 結果.....	24
第一節 不同性別個體間之差異性.....	24
第二節 不同來源個體/配對間之差異性.....	24
第三節 形態、攻擊頻率、泡巢面積與賀爾蒙間之關聯性.....	24
第四節 形態、攻擊頻率、泡巢面積以及賀爾蒙與生殖成功率之關聯性.....	25
第四章 討論.....	27
第一節 雌、雄魚睪丸硬甾酮以及睪固酮與生殖成功率之關聯性.....	27
第二節 雄魚睪固酮與親代照顧表現以及生殖成功率間之關聯性.....	29
第三節 雌魚皮質醇與生殖成功率之負向關聯.....	31
第四節 雄魚形態特徵與生殖成功率之關聯性.....	31
第五節 雌、雄魚形態特徵與攻擊性之關聯性.....	32
第六節 族群間之差異性.....	33
第七節 結論.....	35
第五章 參考文獻.....	36
圖表.....	48
附錄.....	61

第一章 前言

本研究主要在探討生殖成功率與配對個體的形態特徵、行為表現以及生理狀態（賀爾蒙量）間的關聯性。雖然已經有許多研究探討動物特徵與其生殖成功率間的關聯，多種特徵（如形態特徵、行為特徵、賀爾蒙）以及雄性與雌性之特徵如何共同影響生殖成功率卻鮮少被探究。在前言部分，首先我會整理相關之前人研究，敘述已知的與生殖成功率有關之形態與行為特徵，並說明造成這些相關性可能之原因。而由於不同的特徵間常常彼此相關，隨後我會闡述動物形態與行為特徵間可能的關聯。此外，個體的生理狀態可能影響其形態與行為，因此我接著會闡述並舉例說明各種賀爾蒙與動物形態以及行為間的關聯性，然後再探討賀爾蒙對生殖成功率的重要性。最後說明我的研究要回答的問題。

第一節 與生殖成功率有關之形態與行為特徵

同物種之不同個體的形態特徵以及行為表現常常有所不同，而許多研究顯示，有著不同形態、行為特徵的個體在生殖成功率上也往往存在著差異。目前關於這兩類特徵與生殖成功率間之相關性研究，大部分都著重在動物的體型與第二性徵，以及動物在繁殖季會頻繁表現出的攻擊行為與親代照顧行為，因此以下我針對前人的研究結果進行整理，分別舉例並說明動物的「體型」、「第二性徵」、「攻擊性」與「親代照顧行為」等四種形態、行為特徵與生殖成功率間之相關性：

一、體型與生殖成功率之相關性

許多探討雄性體型與生殖成功率的相關性研究都指出，在同物種中，體型越大的個體經常有越高的生殖優勢，但此優勢通常是因為體型越大的個體有較高的攻擊性或社會位階而獲得較高的生殖成功率（Jacob et al. 2009）。例如，在銅斑蛇（*Agkistrodon contortrix*）的研究發現，體型越大（吻肛長越長）的雄蛇在打鬥

中有較高的機率會獲得勝利，且獲勝的個體會較快靠近雌蛇並且展示求偶以及看守配偶（mating guarding）的行為（Schuett 1997）。此外，體重越重的雄性棕袋鼯（*Antechinus stuartii*）可以較快靠近雌性並較有能力在交配中驅逐其它雄性個體（Fisher & Cockburn 2006）。上述這些結果都顯示，體型大小為影響個體在族群中優勢程度、位階、以及接近異性之優先順序的重要因素（Beaugrand et al. 1991；Schuett 1997；Qvarnström & Forsgren 1998）。除此之外，還有研究顯示體型較大的雄性個體有較高的存活率（如赤蛙屬青蛙 Genus *Rana*，Altwegg & Reyer 2003），也較能吸引雌性與其交配（如斑點鮎魚 *Cottus bairdi*，Downhower & Brown 1980），這些都可能讓體型較大的雄性有較高的生殖成功率。

在雌性方面，體型較大個體之生殖優勢可能來自於這些雌性有較多的能量可以製造卵，或是有較大的生殖腺體、腹部空間可以貯存卵（Howard & Kluge 1985；Preziosi et al. 1996）。例如，在泰國蚓螈（*Ichthyophis kohtaoensis*）的研究發現，雌螈的身體體積越大，其每窩的卵數越高（Kupfer 2009）。而雌果蠅（*Drosophila melanogaster*）的體型越大（翅膀長度越長），其於5天內所產下的後代數量越高（Lefranc & Bundgaard 2000）。此外，許多其它昆蟲之雌蟲所產下之卵數以及幼蟲數也都與雌蟲體重乾重呈現正相關（見 Honěk 1993，文獻回顧）。

二、第二性徵與生殖成功率之相關性

許多動物在性成熟後會表現出第二性徵，相較於雄性，不同雌性個體間之第二性徵的差異程度較小，因此第二性徵對生殖成功率之影響在雄性動物中較容易被偵測出來（Ketterson et al. 2005）。一般來說，第二性徵（如雄獅的鬃毛、雄孔雀華麗的尾羽、雄魚鮮豔的體色）越明顯的雄性可能因為對雌性的吸引力越大、獲得的交配次數越高而有較高的生殖成功率（Basolo 1990）。例如，在人為改變長尾寡婦鳥（*Euplectes progne*）尾羽長度的實驗中發現，尾羽被加長的雄鳥獲得的交配次數顯著多於尾羽被剪短的雄鳥，也較能吸引雌鳥於其領域中築巢

(Andersson 1982)。另外，腹部紅色色斑較鮮豔的雄性三棘魚 (*Gasterosteus aculeatus*) 可吸引較多雌魚至其巢中產卵而獲得較多的卵 (Bakker & Mundwiler 1994)。然而，先前也有研究發現，具有明顯第二性徵的個體在吸引雌性的同時會付出極大的代價 (Balmford et al. 1993)，第二性徵發育得越好越不利一般特徵的發育，或是會影響自身的活動能力 (如漂蛻屬糞金龜 genus *Onthophagus*, Emlen 2001；劍尾魚 *Xiphophorus helleri*, Prenter et al. 2008)。對此，Zahavi (1975) 提出了「優良基因假說 (Good gene hypothesis)」，認為具有明顯第二性徵的個體在維持生存外還有多餘的能量可以承擔第二性徵，其本身可能有較好的健康狀況或基因品質 (Møller & Nielsen 1997)，因此後代可以藉著遺傳到優良的基因而有較好的生存能力與存活率，直接與生殖成功率呈正相關。現今已有不少研究證實此假說，例如，將同隻雌性三棘魚 (*Gasterosteus aculeatus*) 的卵與不同雄魚 (腹部色斑鮮豔程度不同) 的精子進行人工授精，再人為將子代感染寄生蟲後，發現色斑較鮮豔之雄魚的子代有較好的抗寄生蟲能力，表示具鮮豔色斑的親代雄魚可能有較優良的基因 (Barber et al. 2001)。雄性斑馬雀 (*Taeniopygia guttata*) 嘴喙的鮮豔程度會受到其體內類胡蘿蔔素影響，當個體的健康狀況不佳時，類胡蘿蔔素會被用於免疫反應而無法呈色在嘴喙上，因此健康狀況越好的雄雀有越鮮豔的嘴喙 (McGraw & Ardia 2003)，雌雀則會花較多時間在有鮮豔嘴喙的雄雀附近活動 (Blount et al. 2003)。

三、攻擊性與生殖成功率之相關性

在第一章之第一節「體型與生殖成功率之相關性」的敘述中提到，雄性的體型可能為影響其在族群中的位階以及影響其接近異性之優先順序的重要因素；但在控制住體型可能對生殖成功率的影響後，攻擊性越高的雄性仍經常有越高的生殖成功率。造成此正相關的原因包括攻擊性越高的雄性個體在同性競爭 (intrasexual competition) 中較易獲勝而有較多機會接近雌性 (Wong & Candolin

2005)、攻擊性越高的雄性對雌性較具吸引力而能得到較多的交配次數、以及與攻擊性越高之雄性配對的雌性可能產下較多的卵。例如，攻擊性較高的雄性黃斑黑蟋蟀 (*Gryllus bimaculatus*) 在同性競爭中的獲勝機率較高而為族群中的優勢個體，雌蟲與其交配的次數顯著高於與弱勢雄蟲交配的次數 (Rantala & Kortet 2004)，而且與攻擊性較高之雄蟲交配的雌蟲產卵量也較高 (Bretman et al. 2006)。在藍鰭盧氏鱒 (*Lucania goodei*) 中，攻擊頻率越高的雄魚對雌魚展現出的求偶行為頻率越高，而且與攻擊頻率越高的雄魚交配之雌魚也會產下較多的卵 (McGhee et al. 2007)。然而，之前有學者提出攻擊性越高的雄性對雌性不一定越具吸引力之論述，認為在某些動物中，由於雄性會於交配過程攻擊雌性，亦即雌性可能在交配時受到嚴重的傷害甚至死亡 (Le Boeuf & Mesnick 1991)，因此在此情況下的雌性可能為了降低受傷的風險而不偏好攻擊性較高的雄性 (Qvarnström & Forsgren 1998)。例如，先前研究已發現雄性泰國鬥魚 (*Betta splendens*) 在交配過程中會對雌魚展現攻擊行為 (如展示、啄咬等行為)；而 Clotfelter et al. (2006) 的研究顯示，與攻擊性越高 (鰓蓋展示頻率越快) 的雄魚配對之雌魚的產卵量越低，推測雌魚可能為了降低受傷的風險而較快結束與雄魚的交配行為，因此而有較低的產卵量。

探討雌性攻擊性與生殖成功率間之相關性的研究並不多。在侏儒變色龍 (*Bradypodion pumilum*) 研究中，雄性變色龍對於攻擊性較高之雌性 (對雄性表現出較高頻率之搖擺、張嘴威嚇與啄咬等行為) 展現出的求偶行為以及企圖交配行為的頻率皆較低 (Stuart-Fox & Whiting 2005)，顯示雌性攻擊性與生殖成功率間的負相關性。

四、親代照顧行為與生殖成功率之相關性

動物的親代照顧行為可能表現在合子形成前 (prezygotic) 或合子形成後 (postzygotic) 的階段；動物可能在交配前表現出築巢、爭奪巢穴等行為，或在

交配過後，表現出提供子代食物以及保護等等育幼、禦敵的行為 (Kvarnemo 2010)。前人研究指出，無論是哪個階段的親代照顧行為，個體的親代照顧表現 (parental care) 皆與生殖成功率呈正相關。例如，在由雄性築巢的莫三比克吳郭魚 (*Oreochromis mossambicus*) 研究中，有較高比例的雌性選擇在較大的巢穴中產卵 (Nelson 1995)；同樣地，有較高比例的雌性淡水蝦虎 (*Padogobius martensi*) 會與佔領了較大巢穴之雄蝦虎交配產卵 (Bisazza et al. 1989)。埋葬蟲 (*Nicrophorus vespilloides*) 幼蟲在受到親代照顧的情況下，其平均體重以及存活率皆顯著高於未受到親代照顧的幼蟲 (Eggert et al. 1998)。而在由雌性提供親代照顧的跳蛛 (*Psecas chapoda*) 研究則顯示，人為將守衛卵囊的雌蛛移除後，無雌蛛守衛的卵囊較易受到天敵 (如螳蛉 *Zeugomantispa virescens*) 攻擊 (Vieira & Romero 2008)。以上所述之親代照顧行為 (親代照顧表現) 與生殖成功率間的正相關性除了出現在上述的物種之外，也普遍出現在魚類 (見 Barbosa & Magurran 2006, 文獻回顧)、兩生類 (如 Simon 1983) 與爬蟲類 (如 Shine 1988) 中，而在依賴長時間親代照顧才得以存活的鳥類 (如 Wolf et al. 1988) 與哺乳動物 (如 Charpentier et al. 2008) 中更是明顯。

第二節 形態特徵與行為特徵間之相關性

動物個體的體型與第二性徵間常常呈現正相關，這可能是因為體型越大、第二性徵越明顯的個體有較好的身體狀況與基因品質 (參考第一章之第一節之「二、第二性徵與生殖成功率之相關性」)，這些個體也通常有較好的生存能力得以度過嚴苛的環境 (如帆鰭茉莉魚 *Poecilia latipinna*, Snelson 1985; Altwegg & Reyer 2003; Cervo et al. 2008)。除此之外，動物在行為特徵上的差異也會受到身體狀況與基因品質的影響，因此個體的攻擊性與體型 (例子參考第一章之第一節之「一、體型與生殖成功率之相關性」)、第二性徵 (如雄性三棘魚腹部的紅色色斑 *Gasterosteus aculeatus*, Baube 1997; 雄性紅寡婦鳥的長尾羽 *Euplectes ardens*,

Pryke et al. 2002) 間通常呈正相關；親代照顧表現與體型 (如小長臂蝦虎 *Pomatoschistus minutus*, Lindström & Hellström 1993；泰國鬥魚 *Betta splendens*, Jaroensutasinnee & Jaroensutasinnee 2001)、第二性徵 (如雄性北美紅雀的鮮紅羽色 *Cardinalis cardinalis*, Linville et al. 1998) 間也通常為正相關

在攻擊性與親代照顧行為間的相關性部分，目前許多研究都顯示，攻擊性越高的個體通常有越好的抵禦天敵及保護巢穴的能力；但是，因為攻擊性越高的個體可能會花費較多的時間與能量在建立位階上，較少的時間與能量在築巢或育幼行為上，因此當我們探討個體攻擊性與親代照顧行為間的相關性時，此相關性可能會隨著我們所測量之親代照顧行為的不同而不同。例如，在西方知更鳥 (*Sialia mexicana*) 的研究發現，攻擊性越高的雄性有越好的抵禦入侵者能力，但是，其提供食物給孵卵中之雌鳥的頻率則顯著較低 (Duckworth 2006)。

第三節 影響形態、行為特徵以及生殖成功率之內分泌機制

內分泌系統為調控動物形態特徵、行為表現以及生殖成功率之重要的生理機制之一 (Moore & Hopkins 2009)。其中，由下視丘—腦下垂體—性腺軸線 (hypothalamus-pituitary-gonad axis, HPG axis) 分泌的性賀爾蒙 (如雄性激素、雌性激素) 在脊椎動物的生殖上扮演了重要的角色，此類賀爾蒙會促進動物第二性徵的發育 (Borg 1994; Hews & Moore 1995)、刺激精卵生成 (Moyes & Schulte 2007)、並且影響動物在交配前後的行為表現 (Borg 1994; Munakata & Kobayashi 2010)。除了性賀爾蒙，脊椎動物在壓迫環境下的壓力反應則由下視丘—腦下垂體—腎上腺軸線 (hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA axis) 所調控，其分泌的壓力激素 (如糖皮質素) 會抑制胰島素的作用並且促進血糖濃度上升以維持動物在能量上的恆定，但是於此同時，壓力激素可能影響到動物的活動能力 (Moyes & Schulte 2007)，進而影響動物的生殖行為與生殖成功率 (Wingfield et al. 1998; McEwen 2000; Moore & Jessop 2003; Wingfield & Sapolsky 2003)。以

下我針對前人的研究作個總整理，分別舉例並說明雄性激素、雌性激素以及醴皮質素與動物形態、行為特徵間的關聯，並綜合探討這三類賀爾蒙對動物生殖成功率可能之影響：

一、雄性激素與形態、行為特徵之相關性

睪固酮 (testosterone) 為普遍存在於四足類脊椎動物體內的雄性激素，而由睪固酮轉化而成的睪丸硬甾酮 (11-ketotestosterone) 則為硬骨魚類主要的雄性激素 (Borg 1994; Geraudie et al. 2010)，一般認為其對硬骨魚類有比較大的影響力 (Kazeto et al. 2011)。雄性激素可能影響雄性與生殖成功率有關的特徵表現 (Wingfield 1994, 2005; Moore & Hopkins 2009)，通常雄性激素分泌量越高的個體有越明顯的第二性徵 (McGraw et al. 2006)。例如，先前研究發現，睪固酮分泌量越高的雄性紅松雞 (*Lagopus lagopus scoticus*) 有較大且較鮮豔的紅色頭冠，而以注射的方式外加睪固酮也會促使雄雞的頭冠轉趨鮮豔 (Mougeot et al. 2007)。此外，雄性激素也通常與雄性的攻擊性呈正相關 (Mehta & Josephs 2010)。例如，在加州鼠 (*Peromyscus californicus*) 的研究顯示，接受睪固酮注射後的雄鼠會較快攻擊對手 (Trainor et al. 2004)。而雄性黑眼燈草雀 (*Junco hyemalis*) 因為被施打促性腺釋放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 而分泌睪固酮時，睪固酮分泌量越高的雄雀有越高的攻擊性 (對入侵者的聲音表現出越高頻率的領域行為; McGlothlin et al. 2007)。但是，雄性激素與雄性親代照顧行為間的相關性則較不明確 (Ketterson et al. 1992; Moore & Hopkins 2009)。例如，雄性黑眼燈草雀 (*Junco hyemalis*) 的睪固酮分泌量越高，其回巢餵食子代的頻率越低 (McGlothlin et al. 2007)。然而在硬骨魚類中，雄性激素對雄性親代照顧行為的影響可能有促進的作用 (大於抑制的作用; Ros et al. 2003; Desjardins et al. 2008)。例如，在以合作生殖方式育幼的慈鯛科魚類 (*Neolamprologus pulcher*) 中，較為優勢且有較高度親代照顧表現之雄性的睪

固酮與睪丸硬甾酮皆顯著較高 (Desjardins et al. 2008)。

雌性動物同樣會分泌雄性激素，但其分泌量通常低於雄性 (Borg 1994)。先前的研究顯示，雄性激素對雌性的形態特徵並無明顯的影響 (Munakata & Kobayashi 2010)，但雄性激素與雌性攻擊性以及親代照顧行為間通常呈正相關 (Ketterson et al. 2005; Møller et al. 2005; Desjardins et al. 2008)。例如，雌性黑眼燈草雀 (*Junco hyemalis*) 在接受睪固酮注射後，對入侵其領域的陌生個體會展現較高頻率的攻擊行為 (Zysling et al. 2006)。而睪固酮分泌量較高的雌性慈鯛科魚類 (*Neolamprologus pulcher*) 也有較高程度的親代照顧表現 (Desjardins et al. 2008)。

二、雌性激素與形態、行為特徵之相關性

雌二醇 (17 β -estradiol) 為雄性與雌性動物體內主要的雌性激素，為睪固酮經過芳香烴酶 (aromatase) 催化而生成的賀爾蒙 (Moyes & Schulte 2007)。目前尚無研究探討雌性動物體內的雌性激素分泌量與形態特徵間之相關性，但有不少魚類與兩生類的研究顯示，外加在水體環境中的雌性激素可以促使個體表現出雌性的第二性徵。例如，於非洲樹蛙 (*Hyperolius argus*) 蝌蚪所生存的水體環境中施加雌二醇後，這些個體無論是變態 (metamorphosis) 成雄蛙或雌蛙皆會表現出雌性的第二性徵 (紅棕色帶有白斑的體色; Hayes & Menendez 1999)。而雄性動物體內的雌性激素與第二性徵表現則通常不呈現任何相關性 (如寶石姬地鳩 *Geopelia cuneata*, Casagrande et al. 2011)。但在行為特徵方面，雌二醇與個體的攻擊性可能有正向關係。例如，在麻雀 (*Melospiza melodia morphna*) 的研究發現，當雄雀體內的雌二醇生成途徑被芳香烴酶抑制物 (aromatase inhibitor) 抑制後，其對入侵者的攻擊頻率顯著低於沒被經過抑制處理的組別 (控制組) 低，而經過抑制處理後再注射雌二醇之雄雀的攻擊行為頻率則與控制組無顯著差異 (Soma et al. 2000)。此外，先前研究還發現雌性激素會影響雌性的生殖行為，

尤其是影響雌性對雄性表現出的懇求行為（solicitation behavior，可引起雄性表現騎乘、交配等反應之行為）以及雌性對雄性求偶表現出之接受行為（receptive behavior；Erskine 1989；Ramsey et al. 2011）。然而，目前還沒有研究探討雌性激素與動物親代照顧行為間的關聯性。

三、醅皮質素與形態、行為特徵之相關性

醅皮質素可分為存在於兩生類、爬蟲類、鳥類與啮齒類動物體內的皮質酮（corticosterone），以及主要存在於硬骨魚類與靈長類體內的皮質醇（cortisol）（Wendelaar Bonga et al. 1994；O'Connor et al. 2011）。當動物處在較壓迫的環境時會分泌較多的醅皮質素，因此過去認為醅皮質素的分泌為動物表現出的壓力反應（Bonier et al. 2009），近年來則發現醅皮質素在動物的行為表現上扮演著重要的角色（Moore & Hopkins 2009）。

先前研究發現，醅皮質素與動物攻擊性的相關性在長期與短期的賀爾蒙處理下呈現相反的效應：短期醅皮質素處理會促進動物的攻擊性，長期醅皮質素處理則會降低動物的攻擊性。例如，雄性小鼠在接受皮質酮注射的 10 分鐘後，其對入侵者的攻擊頻率顯著高於注射前的攻擊頻率（Haller et al. 1997）。雄性彩虹鱒（*Oncorhynchus mykiss*）在接受短期（1 小時）的皮質醇處理後，其對入侵者展現出的攻擊頻率與未接受處理（控制組）之雄魚無異，但接受長期（48 小時）皮質醇處理的雄魚其攻擊頻率顯著低於控制組（Øverli et al. 2002）。此外，醅皮質素與個體的親代照顧表現通常呈負相關。例如，在人為施加壓力的情況下，雌、雄家麻雀（*Passer domesticus*）皆會分泌較多的皮質酮，而皮質酮分泌量越高的個體會表現出越低程度的育幼行為（回巢餵食雛鳥的頻率越低；Ouyang et al. 2011）。雄性小嘴鱸（*Micropterus dolomieu*）在接受皮質醇的注射後則有顯著較高的棄巢比例（Dey et al. 2010）。另外，有學者對這種醅皮質素與親代照顧表現間的負相關性提出不同的因果關係論點，認為動物表現親代照顧行為極為耗費能

量且會讓自己處在壓迫的狀態，因此表現較高程度親代照顧行為的個體會分泌較多的糖皮質素 (O'Connor et al. 2011 ; Tubert et al. 2012)。

四、雄性激素、雌性激素、糖皮質素與生殖成功率之相關性

前人的研究顯示，雄性激素可以促進雄性的精子生成 (spermatogenesis) 與精子成熟 (Borg 1994 ; Moore & Hopkins 2009 ; Kazeto et al. 2011)，並且在雄性性成熟以及第二性徵的發育過程中扮演著重要的角色 (Borg 1994 ; Kazeto et al. 2011)，因此雄性激素通常直接與雄性的生殖成功率呈正相關 (Ketterson et al. 1992)。而雄性激素也可能與雌性的生殖成功率呈正相關。例如，在短鰭鰻 (*Anguilla australis*) 的研究發現，睪丸硬甾酮可以促進雌鰻的卵巢發育以及卵黃生成前期 (previtellogenin) 卵母細胞 (oocyte) 的發育 (Rohr et al. 2001 ; Katezo et al. 2011)，顯示睪丸硬甾酮可能可以直接促進雌性的生殖成功率。此外，將雌鱒魚 (*Pimephales promelas*) 血漿中的睪固酮進行不同程度的抑制後，睪固酮越高的雌魚每天的產卵量越高 (Ankley et al. 2008)。

在雌性激素方面，雌性激素可能直接與雌性的生殖成功率呈正相關。例如，雌二醇可以刺激雌性短鰭鰻 (*Anguilla australis*) 卵黃生成素 (vitellogenin) 的表現，進而促進卵母細胞的發育 (Rohr et al. 2001 ; Kazeto et al. 2011)。而將雌鱒魚 (*Pimephales promelas*) 血漿中的雌二醇進行不同程度的抑制後，雌二醇越高的雌魚每天有越高的產卵量 (Ankley et al. 2008)。然而，目前還沒有足夠的研究可以證實雄性的雌性激素與其生殖成功率直接相關，但由於雌性激素可能與雄性的攻擊性有關 (參考第一章之第三節之「二、雌性激素與形態、行為特徵之相關性」)，因此雌性激素可能藉由影響雄性特徵而進一步影響到生殖成功率。

動物在壓力狀態下可能為了維持生存而抑制生殖行為 (Husak & Moore 2008 ; Bonier et al. 2009 ; Moore & Hopkins 2009 ; O'Connor et al. 2011)，因此糖皮質素可能與動物的生殖成功率呈負相關。例如，家麻雀 (*Passer domesticus*)

的研究顯示，雌雀在親代照顧階段前的皮質酮分泌量越高，其繁殖季最終的離巢雛鳥數量越低（Ouyang et al. 2011）。然而，Bonier et al.（2009）在綜合了許多的研究結果後發現，糖皮質素與動物生殖成功率間的相關性容易受到生殖階段以及當下環境壓力的影響，因此在不同物種間沒有呈現一致性。

第四節 研究目的

雖然過去已有許多研究探討動物形態特徵、行為表現以及內分泌機制與生殖成功率間的相關性，但鮮少有研究同時測量此三類特徵來瞭解這三者與生殖成功率的關聯，此外，也少有研究同時測量雄性與雌性動物的特徵來探討它們與配對後之生殖成功率的關聯性，進而瞭解雌、雄特徵對生殖成功率的相對重要性（Moore & Hopkins 2009）。因此本研究的目的為探討與動物生殖成功率有關的形態、行為特徵以及內分泌（賀爾蒙）機制。在此研究中，我同時檢測兩種形態特徵（體型、第二性徵）、兩種行為特徵（攻擊性、親代照顧行為）以及四種賀爾蒙（睪固酮、睪丸硬甾酮、雌二醇、皮質醇）與生殖成功率的關聯性以探討：（1）雌、雄動物的行為特徵與上述之形態特徵、賀爾蒙是否有關；（2）雌、雄動物的形態、行為特徵以及賀爾蒙對生殖成功率之相對重要性。

第二章 研究材料與方法

第一節 實驗物種

本研究使用蓋斑鬥魚 *Macropodus opercularis* (Linnaeus, 1758; 鱸形目 Perciformes、絲足鱸科 Osphronemidae) 做為研究物種。此魚屬於迷鰓魚 (anabantoid fish) 之一 (Kang & Lee 2010), 其第一對鰓弓特化成呼吸輔助器官—迷器 (labyrinthiform) 而可直接到水面呼吸空氣 (Hall 1968; Lagler et al. 1977)。主要的棲息地分布在中國東南方至北越等熱帶、副熱帶地區 (Jan & Wu 1994; Young 1995), 環境年均溫介在 16–26°C 之間 (Huang & Cheng 2006)。

蓋斑鬥魚在台灣為原生魚種 (Wang et al. 1999; Huang & Cheng 2006), 普遍被稱為台灣鬥魚或三星攀鱸 (Huang & Cheng 2006), 主要分布在台灣西部的低地池塘、溝渠與農田等靜水域 (Young 1995; Wang et al. 1999)。該魚每年在台灣繁殖季可由 3 月持續至 10 月, 環境月均溫為 $25.5 \pm 3.8^{\circ}\text{C}$ (1981–2010, Central Weather Bureau 2012); 其中生殖行為密集出現在 5 月至 7 月 (Huang & Cheng 2006), 這段時間的環境月均溫則為 $27.5 \pm 2.2^{\circ}\text{C}$ (1981–2010, Central Weather Bureau 2012)。過去幾十年, 由於環境污染及土地過度開發, 蓋斑鬥魚在台灣數量逐漸稀少 (Huang & Cheng 2006), 行政院農委會於 1990 年 8 月 31 日起, 將蓋斑鬥魚列為「珍貴稀有保育類野生動物」(Jan & Wu 1994; Wang et al. 1999)。然而, 近幾年來由於人工復育使其族群漸趨穩定, 行政院農委會於 2009 年 4 月 1 日將其從保育類名錄中除名。

雌、雄蓋斑鬥魚約在孵出 6 個月後達到性成熟 (Miklósi et al. 1992), 此時不論性別, 魚體側皆可見數條藍黑色條紋間雜著紅色條紋, 兩側鰓蓋上則分別有一明顯的暗綠色圓斑 (Hall 1968)。成年蓋斑鬥魚平均標準體長 (standard length, 吻部前端至尾鰭基部的長度) 為 5–6 公分 (Huang & Cheng 2006), 外形呈現雌雄二型性 (Hall 1968): 性成熟後的雄魚其背鰭、臀鰭與尾鰭會向後延伸成絲狀,

並於繁殖季時呈現鮮豔的體色，而雌魚的背鰭、臀鰭與尾鰭不會延伸成絲狀，體色也較為暗淡。無論環境中有無異性，雄性蓋斑鬥魚進入繁殖季後會吐泡於水面並將泡泡聚集成堆，少數雌魚也會於繁殖季時展現這種築泡巢行為（bubble-nest building；Young 1995；Huang & Cheng 2006）。由於泡巢為此築巢個體的領域，因此於此同時泡巢擁有者會對進入其泡巢周邊區域者進行展示與攻擊（Davis & Kassel 1975；Miklósi et al. 1997a）。交配時，雌魚會進入雄魚泡巢下方，雄魚隨即將身體凹成 U 型纏繞雌魚，將雌魚翻轉使雌魚以腹部朝水面的姿勢產卵，並進行體外受精（Hall 1968；Tsai 1992；Jan & Wu 1994）。交配結束後，雌、雄魚會以口啣的方式將四散在水中的卵集中至泡巢。先前研究已知，泡巢可使魚卵以及剛孵出的仔魚浮在水面，泡內空氣更可提供仔魚呼吸所需的氧氣（Jaroensutasinee & Jaroensutasinee 2001）；而由於面積越大的泡巢含有越多的氧氣，進而可支持較多的卵與仔魚，因此補充泡巢為蓋斑鬥魚重要的親代照顧行為表現（Jaroensutasinee & Jaroensutasinee 2001；Huang & Cheng 2006）。然而，在過去以一雄一雌蓋斑鬥魚進行配對的研究發現，雄魚在此階段會攻擊雌魚並將雌魚驅離泡巢（Young 1995）。

本研究使用的蓋斑鬥魚分為「實驗室」與「動物園」兩個來源。「實驗室」之蓋斑鬥魚為本實驗室 2003 年取自台北市立動物園的蓋斑鬥魚後代，養殖在本實驗室放置於戶外的四個玻璃纖維強化塑膠（fiberglass reinforced plastics, FRP）養殖缸（圓錐台狀：上圓直徑 144 公分，下圓直徑 103 公分，高 93.5 公分，每缸維持水量約 1,131 公升；圖一 a），水溫、光照皆隨外在環境變化而改變。養殖缸內混養有黑殼蝦（*Neocaridina denticulata*）以及蜷螺類生物（如扁螺 *Adeorbis plana*），並且於缸底置有大量的莫絲（*Taxiphyllum barbieri*），於水面則還置有大萍（*Pistia stratiotes*）。夏天每兩天餵食一次市面販售之小粒浮水性飼料（VISA, Taiwan），每禮拜更換 1/3 的水量；冬天則一禮拜餵食一次，每個月更換 1/3 的水量。「動物園」之蓋斑鬥魚則生活在台北市立動物園野生動物檢疫救傷中心附近之橢圓形池塘（長徑約 11.3 公尺，短徑約 5.6 公尺，水深約 1.0 公尺）。池內有

大量的水生植物與挺水性植物，魚類則僅有於 2006 年野放至此的蓋斑鬥魚，為無人照顧之族群。

第二節 實驗設計與流程

本研究將一雌一雄蓋斑鬥魚進行配對，以三種生殖成功率指標（產卵與否、產卵潛伏期：雌、雄個體開始互動至缸中有卵出現時的間隔天數、產卵量）來探討這些指標與雌、雄個體之形態、行為特徵以及賀爾蒙之相關性。

我首先於相同來源（實驗室/動物園）捕捉標準體長大於 4 公分且已表現出第二性徵的雌、雄成魚進行配對（Davis & Kassel 1975；Miklósi et al. 1997b）。在實驗室配對的部分，我於第一組實驗開始前的一個禮拜把各養殖缸的環境分隔成兩半以將雌、雄個體隔離開來。分隔的方式為將養殖缸中的蓋斑鬥魚及其它生物撈出之後，於缸內放置兩張大型深綠色網袋（長 186 公分、寬 120 公分，一長邊開口呈袋狀；圖一 b），每一網袋可撐開成半個養殖缸的體積（圖一 a）；隨後再把蓋斑鬥魚以外的生物分成兩部分放入網袋，並把原來缸中之雌、雄魚放至不同的網袋內以隔離飼養，此種隔離狀態一直維持到研究結束，因此越晚進行實驗的個體在養殖缸中被隔離的時間越長。之後每次進行實驗室配對的實驗前，我會將欲捕捉個體之網袋從水裡撈起至網袋底部離水面還有 3 公分的距離，徒手在網中的魚群內抓取個體，配對之雌、雄魚會取自不同養殖缸。在動物園配對方面，我則是採用放置蝦籠的方式來進行捕捉，每次使用一或兩個蝦籠，一個月捕捉一次，每次最多捉回 8 對蓋斑鬥魚。而無論是來自實驗室養殖缸或動物園池塘之實驗個體皆會帶回實驗室並單獨放置於裝有已曝氣過之 500 毫升自來水的白色透光聚丙烯（polypropylene, P.P.）盒（ $12 \times 12 \times 8.5$ 立方公分，一個盒子放置一個個體）：盒與盒間放置黑色不透明隔板以避免不同個體間的視覺接觸，待個體適應至不再表現出壓迫行為（縮在盒子角落、不游動、不吃食飼料）後，即於日後進行實驗（大部分配對約適應 1—4 天，動物園配對則最長適應 14 天）。同時在

此階段，我將捕捉自動物園的雌、雄個體進行配對以於日後進行實驗，配對方式無任何選擇偏好。實驗室室溫維持在 $25.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ ，光：暗周期為 14：10 小時，並於每天上午 9 點餵食市面販售之小粒浮水性飼料。

實驗處理開始的前 1 天，我先將實驗個體放入經過碳酸氫鈉 (sodium bicarbonate, NaHCO_3) 調整 pH 值至中性 ($\text{pH} = 7$) 的 MS-222 溶液 (500 毫克/公升, Sigma-Aldrich®) 中進行麻醉 (平均麻醉時間：雄魚 57.07 ± 2.13 秒；雌魚 53.81 ± 2.11 秒)，再使用準確度達 0.01 公厘之數位游標尺測量實驗個體的標準體長 (單位：公厘)。而過去研究指出，延伸成絲狀的尾鰭為雄性蓋斑鬥魚的第二性徵之一 (Hall 1968)，因此我還測量了雄魚的尾鰭長度 (caudal fin length, 尾鰭基部至尾鰭最末端的長度；單位：公厘) 作為其第二性徵的指標。

實驗第 1 天，我將選定配對之雌、雄個體放置於交配缸 ($45 \times 21 \times 25$ 立方公分，水深為 20 公分；圖二) 之左、右區 (每區無選擇偏好的放入雄魚或雌魚)。交配缸三面圍以深綠色不透明塑膠瓦楞板，並於離缸底 5 公厘的距離放置一層黑色塑膠網 (網格：4 × 4 平方公厘) 以讓排泄廢物落到網下。缸子中央以深綠色不透明隔板將缸子分成左、右兩區，兩區的配置呈鏡像對稱。在此兩區的側面缸壁各自裝設有外掛式過濾器 (出水量 120—190 公升/小時)，而在距離缸壁 5 公分處置有一深綠色的孔洞隔板，其下半部開有 9 條縱向長條孔洞 (每條為 1×11 平方公分)，上半部有 54 個平均分佈的小孔洞 (直徑 3 公厘)。放置此隔板的目的是為了將過濾器與魚的活動範圍隔開，以減少過濾時對實驗個體的干擾。由於 Huang & Cheng (2006) 的研究顯示，在水面上放置浮水性植物或人工製品之保麗龍可促使蓋斑鬥魚築泡巢，因此我在雌、雄個體活動範圍的水面中央各放置一片直徑為 25 公厘之塑膠綠菊草 (仿 *Cabomba caroliniana*)。而由前置實驗得知，蓋斑鬥魚會利用陶磚的孔洞作為遮蔽處，因此我於缸中雌、雄個體的區域內各放置一具有兩橢圓形孔洞 (長徑 4.3 公分，短徑 2.4 公分，深 8 公分) 之陶磚 ($8 \times 4 \times 13$ 平方公分) 作為實驗個體之遮蔽物。實驗進行時之光：暗周期為 14：10 小時，水溫則依環境溫度變動。

由於無法確知實驗個體在原棲息環境（實驗室戶外缸/動物園池塘）是否剛生殖完成，而雌魚每次產卵的平均間隔天數據報導為 6—7 天（[http://www.sec.ntnu.edu.tw/Monthly/95\(286-295\)/294-pdf/03.pdf](http://www.sec.ntnu.edu.tw/Monthly/95(286-295)/294-pdf/03.pdf)），因此我讓雌、雄個體在交配缸中（持續以深綠色不透明隔板隔開）適應 10 天（第 1 天到第 10 天），以允許實驗個體的生理狀態有足夠時間進入下一次的生殖週期。過去在迷鯽魚類的研究中，許多都指出雄性為主要表現交配前築巢行為的性別，因此我於實驗的第 2 天至第 10 天，連續 9 天以數位相機拍下雄魚的泡巢以便日後計算其面積（方法詳見下一節「實驗方法」），每日拍照完畢後即以魚網將泡巢移除；而在這 9 天，我也同時對雌魚進行與雄魚相同之拍攝與移除泡巢的步驟。先前有研究（Miklósi et al. 1997b）顯示，蓋斑鬥魚在前次打鬥中獲勝/落敗的經驗效應（winner/loser effect）會在 6 天內消退，因此我選擇在第 7 天收集實驗個體的賀爾蒙樣本（方法詳見下一節「實驗方法」；Earley & Hsu 2008），以降低實驗魚於原棲地環境的打鬥經驗可能對體內賀爾蒙所造成的影響。而為了讓實驗個體適應賀爾蒙取樣的操作步驟，減低此操作步驟對賀爾蒙分泌量的影響，我在第 2 天至第 6 天，連續 5 天對實驗個體進行與收集賀爾蒙樣本當天（第 7 天）同樣的操作步驟（Scott et al. 2008；Wong et al. 2008），但是只有於第 7 天所收集到的水體樣本才被用來進行賀爾蒙分析。第 8 天則分別對雌、雄個體進行鏡像測試（mirror test），錄影記錄其對鏡像的攻擊行為（方法詳見下一節「實驗方法」；Earley et al. 2000）。由於在魚類，雌性的繁殖力（fecundity）通常與體型大小有關（Clotfelter et al. 2006），因此我在第 8 天，於鏡像測試後以電子秤（EK-200i，A&D Ltd.，Taiwan）測量實驗個體的體重（單位：克）。第 9 天除了以數位相機拍下雌、雄魚的泡巢以及用魚網將泡巢移除之外，未對實驗個體進行任何其它操作。第 10 天時則在拍攝完泡巢後（未再移除泡巢）將雌、雄個體間的隔板移除，並關閉外掛式過濾器以避免過濾器日後吸附魚卵。每天的實驗操作皆於上午 9 點開始，記錄完交配缸內的水溫（平均 $27.4 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ，範圍為 $24-29^{\circ}\text{C}$ ）後進行當天的實驗操作，並且於實驗步驟操作完畢後餵食實驗個體，餵食時間依操作步驟的不同介

於上午 9 點至 10 點半。

前置實驗觀察發現，蓋斑鬥魚皆於下午時間（約下午 2 點之後）開始交配產卵，每次交配時間為 2—4 小時；因此我自第 10 天開始（移除雌、雄個體間隔板後），每天於上午 9 點至晚上 7 點的時間內隔 2 小時檢查一次交配缸中是否有魚卵出現，直到實驗結束。每組配對最後會被記錄為（1）有產卵，或是（2）未產卵兩種結果。從隔板被移除（第 10 天）至觀察到有魚卵那天的間隔天數為「產卵潛伏期」；例如，若於第 15 天觀察到交配缸中有魚卵，產卵潛伏期即為 5 天。此外，我並於次日上午 9 點確認雌魚是否結束產卵，若所有卵皆已被集中至泡巢內且雄魚一直驅趕雌魚使雌魚完全無法接近泡巢，則確認為產卵結束。隨之將雌、雄個體移出交配缸放回白色透光聚丙烯盒，於當天計數魚卵數量並結束實驗。實驗完成之蓋斑鬥魚會送給他人飼養而不會放回原環境，故不會有重覆取樣的可能。過去有報導指出，蓋斑鬥魚會在配對後的 2—9 天內交配產卵（[http://www.sec.ntnu.edu.tw/Monthly/95\(286-295\)/294-pdf/03.pdf](http://www.sec.ntnu.edu.tw/Monthly/95(286-295)/294-pdf/03.pdf)），因此本研究的蓋斑鬥魚配對若至實驗第 24 天（雌、雄魚間隔板被移除 14 天後）仍未交配，我則會在第 24 天將實驗結束並解剖雌、雄個體，觀察其性腺以確認性別的判定是否正確。

第三節 實驗方法

一、泡巢面積記錄與分析

泡巢面積記錄方式是於第 2 天至第 10 天時，將可浮在水面之塑膠尺放置於雄魚的泡巢旁後，以數位相機（Sony Cyber-shot DSC-W5，300 萬畫素，Sony，Japan）從水面正上方拍照（Huang & Chen 2006；Huang & Chang 2011），鏡頭前端與水面距離約 20 公分。每個個體會有 9 份泡巢照片（第 2 天至第 10 天），我使用 ImageJ（v. 1.45b，NIH，USA）逐一估算每份照片中之泡巢面積（估算步驟

見附錄一)，並使用此 9 個泡巢面積之平均值（單位：平方公分）進行後續的統計分析。

二、賀爾蒙收集、萃取與分析

本研究固定於實驗第 7 天的上午 9 點至 9 點半對實驗個體進行水體樣本的收集。魚類在水中會經由鰓、皮膚、排泄物、特化器官等等構造釋放固醇類賀爾蒙 (Scott & Sorensen 1994)，而個體釋放到水中的賀爾蒙量往往與血液中的賀爾蒙量呈現高度正相關 (Scott et al. 2001)，因此本實驗分析實驗個體釋放至水體中的賀爾蒙量，以避免抽血可能造成之傷害。收集方式為將實驗個體靜置於裝有 400 毫升，已曝氣過之自來水的 600 毫升燒杯中 30 分鐘。由於交配缸有 3 面被圍以深綠色瓦楞板，僅有 1 面可讓實驗個體看到外面環境，因此為使個體處於與交配缸同樣顏色的空間並避免外界干擾，燒杯有 3/4 面以深綠色防水膠帶纏繞。我以魚網將實驗個體從交配缸撈出放入燒杯中（平均處理時間：雄魚 20.23 ± 0.58 秒；雌魚 21.23 ± 0.79 秒），30 分鐘後再使用魚網將魚由燒杯中撈出放回交配缸。在收集賀爾蒙水樣的步驟中，每隻個體從交配缸中被撈起至被置入燒杯所花費的時間並未對賀爾蒙分泌量造成顯著之影響（雄魚：睪固酮 $r = -0.016$ ， $P = 0.907$ ；睪丸硬甾酮 $r = -0.209$ ， $P = 0.123$ ；雌二醇 $r = -0.237$ ， $P = 0.079$ ；皮質醇 $r = 0.130$ ， $P = 0.338$ ；雌魚：睪固酮 $r = -0.141$ ， $P = 0.302$ ；睪丸硬甾酮 $r = -0.218$ ， $P = 0.106$ ；雌二醇 $r = -0.156$ ， $P = 0.250$ ；皮質醇 $r = -0.182$ ， $P = 0.180$ ）。

隨後將燒杯內的水以濾紙（Quantitative filter paper No.1，Advantec MFS，USA）過濾。接著用真空幫浦（Rocker 300 Vacuum pump，Taiwan）將過濾後的水通過 RP-18 固相萃尿管柱（LiChrolut® RP-18 solid phase extraction column，Merck）。管柱使用前先使用 2 毫升甲醇（methanol）潤洗兩次，再用 2 毫升二次水（ddH₂O）潤洗一次，接著關上管柱閥門，加入 2 毫升二次水保持管柱濕潤後開始萃取水樣。所有水樣通過管柱後，再加入 2 毫升二次水潤洗兩次以確保無水

樣殘留在管柱內，隨後以石蠟膜（Parafilm® M）封口並存放入-80°C 冰箱。

洗提賀爾蒙時，我先以 2 毫升二次水清洗 RP-18 固相萃取管柱兩次，再連續加入 2 毫升乙酸乙酯（ethyl acetate）兩次將管柱中的賀爾蒙洗提至 12 × 75 公厘（6 毫升）的玻璃試管中。最後以二氧化氮氣體（純度 99.99%）在 37°C 的水浴下將洗提出的賀爾蒙液加速揮發成賀爾蒙粉末。乾燥後的賀爾蒙粉末加入由酵素免疫分析套組（Cayman Chemical's ACE™ EIA Kits, Cayman）提供的 600 微升酵素免疫緩衝液（enzyme-immunoassay buffer, EIA buffer），使其再懸浮（resuspend）以得到要用來進行分析的賀爾蒙樣本，於定量分析前先以石蠟膜封口存放於-20°C 冰箱。

酵素免疫分析套組是利用酵素免疫分析法（enzyme immunoassay, EIA）來進行賀爾蒙之定量分析。在各種賀爾蒙分析套組所提供的 96 孔分析孔盤中，每個孔洞皆塗有可結合辨識特定賀爾蒙分子辨識抗體血清（specific antiserum to hormone）之小鼠單株免疫抗體（mouse anti-rabbit IgG）。參照操作手冊步驟，首先將每隻實驗個體的賀爾蒙樣本取 50 微升注入孔洞，並進行二重複試驗，隨後在每個孔洞中加入 50 微升乙醯膽鹼酯酶顯跡物（acetylcholinesterase tracer, AChE tracer）以及 50 微升抗體血清（antiserum）；接著以塑膠膜將 96 孔盤封盤，並將孔盤放置於震盪器上經過一段時間的培養：睪固酮與雌二醇需在室溫下培養 2 小時、睪丸硬甾酮需在 4°C 的環境下培養 18 小時、皮質醇則需在 4°C 的環境下經過隔夜培養（overnight）。培養過後，將 96 孔盤經由分析套組提供的清洗緩衝液（wash buffer）清洗 5 次並以紙巾吸去多餘液體，隨之在每個孔洞中加入 200 微升的 Ellman's 試劑，封盤後以鋁箔紙避光，依操作手冊將其放置於震盪器上 45—90 分鐘。最後使用酵素免疫分析儀（Bio-Tek ELx808™ Series Ultra Microplate Reader）以 405 奈米的光波長讀取樣本吸光值。此種計算賀爾蒙濃度的原理是利用樣本中賀爾蒙與乙醯膽鹼酯酶顯跡物中的標準賀爾蒙（由分析套組提供）進行競爭，若樣本中的賀爾蒙濃度越高，標準賀爾蒙結合於固著抗體的量會越少，所激發出的顏色（黃色）就會比較淺，反之黃色會較深；因此藉由顏色深淺變化與

標準賀爾蒙濃度曲線（每盤有一標準曲線）顏色做對照，即可由吸光值計算出樣本中的賀爾蒙濃度。

除了欲分析的實驗個體樣本外，每個 96 孔盤上還使用集合樣本（pooled sample）進行二重複試驗以做為此盤的控制。集合樣本的來源為本實驗室 2007 年萃取自 14 隻雄蓋斑鬥魚以及 14 隻雌蓋斑鬥魚的賀爾蒙樣本，將其各取出 600 微升混合而成。最後每種賀爾蒙各分析 5 盤，每盤的分析內（intra-assay）變異係數分別為：睪固酮（2.3%、2.0%、1.9%、6.2%、4.0%）；睪丸硬甾酮（2.5%、2.4%、3.8%、3.0%、3.8%）；雌二醇（2.1%、6.4%、6.2%、2.4%、2.6%）；皮質醇（1.5%、4.1%、3.2%、3.9%、5.7%）。分析間（inter-assay）變異係數為：睪固酮（11.3%）；睪丸硬甾酮（3.7%）；雌二醇（20.0%）；皮質醇（5.0%）。而靈敏度（sensitivity）的範圍則為：睪固酮（6.0—32.0 pg/ml）；睪丸硬甾酮（1.3—5.0 pg/ml）；雌二醇（19.0—129.0 pg/ml）；皮質醇（35.0—180.0 pg/ml）。本研究中賀爾蒙的定量單位為每毫升多少皮克（pg/ml）。

為了確認本研究使用的酵素免疫分析套組可確實測量蓋斑鬥魚的賀爾蒙，我在進行賀爾蒙定量分析的同時還對蓋斑鬥魚賀爾蒙進行了兩種驗證（validation）（Earley & Hsu 2008）：（1）將集合樣本經過序列稀釋（serial dilution）後，比對其濃度曲線與標準賀爾蒙濃度曲線的平行度（parallelism）、（2）測定集合樣本的定量恢復度（quantitative recovery）。

在比對平行度方面，首先取出 400 微升集合樣本（1：1）進行序列稀釋，稀釋方式為將 200 微升的集合樣本（1：1）與 200 微升的酵素免疫緩衝液混合配製成 1：2 的稀釋倍率，再取 200 微升 1：2 稀釋倍率溶液與 200 微升酵素免疫緩衝液混合成 1：4 的稀釋倍率，依此方式配製至 1：128 稀釋倍率；隨後將此 8 種不同稀釋倍率的集合樣本（1：1—1：128）依循上述定量分析的步驟進行二重複試驗。結果顯示，所有賀爾蒙的序列稀釋濃度曲線斜率皆與標準賀爾蒙濃度曲線斜率沒有顯著差異（Zar 1998, p. 360；睪固酮： $t_{11} = 0.102$, $P = 0.920$ ；睪丸硬甾酮： $t_{12} = 0.052$, $P = 0.960$ ；雌二醇： $t_9 = -0.001$, $P = 0.999$ ；皮質醇： $t_{10} = 0.107$,

$P = 0.917$)。在定量恢復度方面，則是將 120 微升集合樣本與 120 微升標準賀爾蒙溶液混合。由於標準賀爾蒙有 8 種稀釋倍率，因此最終有 8 種混合濃度的定量恢復樣本與未經稀釋的集合樣本依循上述定量分析的步驟進行二重複試驗。在此種配製方法下，預期的恢復濃度 (expected recovery concentration) 可由已知濃度的集合樣本 (1:1) 以及標準賀爾蒙溶液推得。結果顯示，各賀爾蒙觀察到的最低恢復度分別為 103.3%(睪固酮)、99.2%(睪丸硬甾酮)、78.9%(雌二醇)、99.0% (皮質醇)。所有賀爾蒙的預期恢復濃度與實際恢復濃度皆呈現線性關係，其在線性關係上的斜率分別為 1.028(睪固酮)、1.150(睪丸硬甾酮)、0.813(雌二醇)、1.008 (皮質醇)。綜合以上兩種驗證結果，此酵素免疫分析套組可有效地測量蓋斑鬥魚釋放至水中的睪固酮、睪丸硬甾酮、雌二醇以及皮質醇濃度。

三、鏡像測試

鏡像測試進行方式是首先在雌、雄個體的區域中央處各置入一深綠色不透明隔板，並於兩區域的外側面 (即交配缸的兩個側面) 各置入一面鏡子 (魚被隔在內側區域；圖三)。5 分鐘之後移除隔板，並以錄影機 (JVC Everio Hard Drive Camcorder, JVC, Japan) 錄影記錄雌、雄個體對自己鏡像之反應 30 分鐘，30 分鐘後測試結束，鏡子會在隔板未插回去的情況下被緩慢的抽離。蓋斑鬥魚在看到鏡像後會快速的朝鏡像游去，我記錄實驗個體在第一次朝鏡像游去後的 10 分鐘內張嘴啄咬鏡像的次數，以此攻擊頻率 (attack frequency) 作為攻擊性指標。

第四節 資料分析

本研究記錄的測量值除了上述提到的特徵外，我還依據魚類的「體重—體長關係公式：肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公分)³) × 10²」將雌、雄魚的體重以體長標準化成肥滿度 (condition factor; Fulton 1904)。過去研究顯示，個體的肥滿度越高表示其在控制體長的情況下有較重的體重，即其體內貯存有較多能

量，為體型較胖或較壯的個體（Dibattista et al. 2007；Froese 2006），因此在本研究中，我將肥滿度作為體型的指標之一，公式則調整為（體重（克）/標準體長（公厘）³）× 10⁵ 以使數字接近整數。

由於並非所有測量值在經過 S-W 檢定法（Shapiro—Wilk test）檢驗過後都符合常態分布，因此我使用無母數統計方式（nonparametric analysis）來進行差異性與相關性的分析，並且在符合前提假設下，使用迴歸分析（regression analysis）檢測多個特徵間以及特徵與生殖成功率間的關聯性。

一、不同性別個體間的差異性

我以威爾卡森符號等級檢定（Wilcoxon signed-rank test）檢測蓋斑鬥魚的形態（包含標準體長、體重、肥滿度）、攻擊頻率、賀爾蒙分泌量（包含睪固酮、睪丸硬甾酮、雌二醇、皮質醇）等特徵在雄魚與雌魚間是否具有差異。

二、不同來源個體/配對間的差異性

我在此部分將雌、雄個體分開來進行分析，以曼惠二氏檢定（Mann—Whitney test）檢測來自實驗室與來自動物園的實驗個體是否於形態、攻擊頻率、泡巢面積、以及賀爾蒙分泌量上有所差異。

在生殖成功指標部分，我使用卡方分析（Chi-square test）檢測不同來源的實驗配對在產卵比例上的差異；使用對數等級檢定（log-rank test，又稱為 Mantel—Cox test）檢測不同來源的配對在產卵潛伏期上的差異；以及在有產卵的組別中，使用曼惠二氏檢定檢測不同來源的配對在產卵量上的差異。

三、形態、攻擊頻率、泡巢面積與賀爾蒙間的關聯性

雖然本研究目的在探討雌、雄蓋斑鬥魚的形態、攻擊頻率、賀爾蒙分泌量以及雄魚泡巢面積與生殖成功率之關聯性，但由於個體的形態、攻擊頻率、泡巢面

積與賀爾蒙間可能彼此相關，因此我以斯皮爾曼等級相關 (Spearman rank correlation) 分別呈現雌、雄魚的這些特徵間之相關性。

此外，由於雌、雄魚的行為特徵 (雄魚的攻擊行為、親代照顧表現與雌魚的攻擊行為) 可能同時受到形態與賀爾蒙的影響，我使用迴歸分析分別探討雌、雄個體之形態特徵與賀爾蒙分泌量對其攻擊頻率以及泡巢面積的重要性。在此部分，個體的攻擊頻率皆經過平方根 (square-root) 轉換，泡巢面積則經過立方根 (cube-root) 轉換以符合迴歸分析的常態分佈假設。

四、形態、攻擊頻率、泡巢面積以及賀爾蒙與生殖成功率的關聯性

由於配對之雌、雄個體的各项特徵可能共同影響生殖成功率，因此我在此部分將雌、雄個體的特徵同時放入迴歸模式進行分析。我使用多元邏輯迴歸 (multiple logistic regression) 檢測配對之雌、雄個體的形態、攻擊頻率、賀爾蒙以及雄魚泡巢面積與實驗配對產卵與否的關聯性。我使用 Cox 迴歸 (Cox regression) 檢測配對之雌、雄個體的形態、攻擊頻率、賀爾蒙以及雄魚泡巢面積與配對之產卵潛伏期的關聯性，產卵潛伏期越短表示雌魚在配對後越快產卵，而在 Cox 迴歸模式中，正的係數代表越快產卵，負的係數代表越慢產卵。在有產卵的組別，我則以多元線性迴歸 (multiple linear regression) 檢測配對之雌、雄個體的形態、攻擊頻率、賀爾蒙以及雄魚泡巢面積與產卵量的關聯性。

在本研究所有的迴歸模式中，我皆加入實驗個體的「來源」以及實驗期的「平均水溫」作為控制因子。尾鰭長以除以標準體長的方式 (Chastel et al. 1995; Peig & Green 2009) 標準化後放入迴歸模式。賀爾蒙分泌量則皆以除以體重的方式標準化 (Scott & Ellis 2007; Scott et al. 2008)，定量的單位為 pg/ml/g，即在控制體重的情況下，此個體釋放至水中的賀爾蒙為「每毫升多少皮克」，而標準化後的賀爾蒙會經過自然對數 (natural-log) 轉換以符合常態分布。所有統計分析皆使用 JMP 統計套裝軟體 (v. 7.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.) 來進行。

第三章 結果

第一節 不同性別個體間之差異性

本研究總樣本數為 58 組蓋斑鬥魚配對（雌、雄魚各 58 隻）。實驗使用之雄魚與雌魚的各測量值整理於表一。結果顯示，雄魚與雌魚在部分特徵上有著顯著的差異（表一）：雄魚的標準體長（ $P < 0.001$ ）、體重（ $P < 0.001$ ）與肥滿度（ $P < 0.001$ ）皆顯著大於雌魚；然而雄魚的攻擊頻率（ $P < 0.001$ ）卻顯著小於雌魚。在賀爾蒙方面，雄魚的睪丸硬甾酮（ $P < 0.001$ ）顯著高於雌魚的分泌量，雄魚的雌二醇（ $P = 0.019$ ）則顯著低於雌魚的雌二醇（表一）。然而，在經過 Bonferroni 調整後（ $\alpha = 0.0063$ ），雌、雄魚在雌二醇上的差異未達顯著標準。

第二節 不同來源個體/配對間之差異性

本研究分析之 58 組配對中有 31 組來自實驗室，27 組來自動物園，不同來源的實驗個體在部分特徵上呈現顯著的差異。在雄魚方面（表二），動物園雄魚的攻擊頻率（ $P = 0.003$ ）、睪丸硬甾酮（ $P = 0.024$ ）以及皮質醇（ $P = 0.002$ ）的分泌量皆顯著高於實驗室雄魚；然而在經過 Bonferroni 調整後（ $\alpha = 0.0050$ ），雄魚的睪丸硬甾酮在不同來源間之差異未達顯著標準。在雌魚方面（表二），動物園雌魚的攻擊頻率（ $P = 0.009$ ）顯著高於實驗室雌魚；不過在經過 Bonferroni 調整後（ $\alpha = 0.0063$ ），此差異未達顯著標準。

在生殖成功指標部分（表三），不同來源的實驗配對在產卵比例（ $P = 0.347$ ）以及產卵潛伏期（ $P = 0.278$ ）上沒有顯著差異；但是在有產卵的組別（實驗室 $n = 22$ ，動物園 $n = 22$ ）中，來自動物園的配對有顯著較高的產卵量（ $P = 0.020$ ）。

第三節 形態、攻擊頻率、泡巢面積與賀爾蒙間之關聯性

一、形態、攻擊頻率、泡巢面積以及賀爾蒙間的相關性分析

雄魚特徵間的相關性（表四）主要呈現在賀爾蒙量與其它特徵之間：標準體長越長之個體的睪固酮（ $P = 0.021$ ）與雌二醇（ $P = 0.012$ ）分泌量越高；攻擊頻率越高之個體的睪丸硬甾酮量越高（ $P = 0.029$ ）；而泡巢面積越大的個體其雌二醇量越高（ $P = 0.002$ ）。然而，在經過 Bonferroni 調整後（ $\alpha = 0.0015$ ），這些相關性皆未達顯著標準。

雌魚特徵間的相關性（表五）則主要呈現在形態與其它特徵之間：標準體長越長之個體的攻擊頻率（ $P = 0.005$ ）與雌二醇分泌量（ $P = 0.023$ ）越高；體重越重之個體的攻擊頻率也越高（ $P = 0.002$ ）。然而，在經過 Bonferroni 調整後（ $\alpha = 0.0026$ ），僅有體重與攻擊頻率間的正相關性達到顯著標準。

二、形態、賀爾蒙與行為特徵的關聯性

單位尾鰭長度越長之雄魚攻擊頻率越低（ $P = 0.024$ ），而單位體重睪固酮分泌量越高之雄魚築出的泡巢面積越小（ $P = 0.016$ ；表六）。此外，標準體長越長之雌魚的攻擊頻率越高（ $P = 0.014$ ；表六）。

第四節 形態、攻擊頻率、泡巢面積以及賀爾蒙與生殖成功率之關聯性

一、形態特徵與生殖成功率的關聯性

雄魚的肥滿度越高，與其配對之雌魚有越低的比例會產卵（ $P = 0.003$ ；表七）。雌、雄魚的形態特徵（標準體長、肥滿度以及雄魚單位尾鰭長）與產卵潛伏期無顯著關聯（ $P \geq 0.173$ ；表七）。而雄魚的標準體長越長，此配對之產卵量越少（ $P = 0.024$ ；表七）。

二、攻擊頻率與生殖成功率的關聯性

雌、雄魚的攻擊頻率與雌魚配對後產卵與否 ($P \geq 0.459$)、產卵潛伏期 ($P \geq 0.644$) 以及產卵量 ($P \geq 0.294$) 皆無顯著關聯 (表八)。

三、雄魚泡巢面積與生殖成功率的關聯性

雄魚泡巢面積與雌魚配對後產卵與否無顯著關聯 ($P = 0.067$; 表九)。而雄魚泡巢面積在 Cox 迴歸模式中的正向係數 ($P = 0.007$) 顯示雄魚的泡巢面積越大，與其配對之雌魚在配對後會越快產卵 (表九)。雄魚泡巢面積與配對之產卵量則無顯著關聯 ($P = 0.645$; 表九)。

四、賀爾蒙與生殖成功率的關聯性

雌、雄魚的四種賀爾蒙與雌魚配對後產卵與否皆無顯著關聯 ($P \geq 0.115$; 表十)。雌魚單位體重皮質醇在 Cox 迴歸模式中的負向係數 ($P = 0.015$) 顯示，當雌魚單位體重皮質醇分泌量越高時，其配對後會越慢產卵 (表十)。在產卵量方面，雄魚單位體重睪固酮越高，與其配對之雌魚的產卵量越高 ($P = 0.004$)，但雄魚的單位體重睪丸硬甾酮越高，與其配對之雌魚的產卵量則越低 ($P = 0.001$)；相反地，雌魚單位體重睪固酮越高，其配對後的產卵量越低 ($P = 0.011$)，雌魚單位體重睪丸硬甾酮越高，其配對後的產卵量則越高 ($P = 0.006$; 表十)。

第四章 討論

本研究結果顯示，蓋斑鬥魚的行為特徵（雌、雄魚攻擊性與雄魚親代照顧表現）與其形態特徵以及賀爾蒙基礎分泌量有關，且雌、雄魚的許多特徵都與配對後之生殖成功率有很高的關聯，此外，還發現不同的蓋斑鬥魚族群在部分特徵表現以及生殖成功率上有所差異。總結而言，本實驗可得到以下六個結論：(1) 蓋斑鬥魚的睪丸硬甾酮以及睪固酮與配對之產卵量呈現出相反的關聯性，且雄魚與雌魚之此二激素與產卵量也呈相反的關聯：亦即體內睪丸硬甾酮量越高且睪固酮量越低之雌魚的產卵量越高，然而與體內睪丸硬甾酮量較高且睪固酮量較低之雄魚配對的雌魚則產卵量較低；(2) 體內睪固酮量越高的雄魚泡巢面積越小，而與泡巢面積越小之雄魚配對的雌魚會較慢產卵；(3) 體內皮質醇量越高的雌魚配對後會越慢產卵；(4) 體型越大的雄魚生殖成功率越低：亦即與肥滿度較高之雄魚配對的雌魚有較低的比例會產卵，而與標準體長越長之雄魚配對的雌魚會產下較少的卵；(5) 尾鰭越長的雄魚攻擊性越低，而標準體長越長的雌魚攻擊性越高；(6) 相對於實驗室族群，動物園雌、雄魚有較高的攻擊性，雄魚還有較高的睪丸硬甾酮與皮質醇分泌量，且來自動物園的雌、雄魚在配對後也有較高的產卵量。接下來，我將對上述這些結果加以討論。

第一節 雌、雄魚睪丸硬甾酮以及睪固酮與生殖成功率之關

聯性

本研究發現雄性與雌性蓋斑鬥魚的睪丸硬甾酮與其配對後之產卵量有不同的關聯性：雌魚睪丸硬甾酮分泌量越高，其配對後的產卵量越高，然而，雄魚睪丸硬甾酮分泌量越高，與其配對之雌魚的產卵量則會越低。在硬骨魚，睪丸硬甾酮可以刺激雄性性腺的分化以及其精子生成，對雄性精子的量與品質有直接且正面的影響(Borg 1994; Gabor & Groger 2010; Kazeto et al. 2011; Butts et al. 2012)。

而近十年來，陸續有研究發現睪丸硬甾酮可能也會影響雌性的性腺發育與卵子生成(oogenesis)。例如，注射睪丸硬甾酮於尚未達到性成熟之雌性短鰭鰻(*Anguilla australis*)後，睪丸硬甾酮可以促進其卵黃生成前期卵母細胞的生長與發育(卵母細胞直徑增加；Rohr et al. 2001；Kazeto et al. 2011)。在圓鱈(*Gadus morhua*)的體外(*in vitro*)細胞研究也發現，經過睪丸硬甾酮浸置處理的卵母細胞體積會有顯著的增加(Kortner et al. 2008)。因此我推測在蓋斑鬥魚中，睪丸硬甾酮可能可以促進雌魚的卵子生成，影響雌魚的繁殖力進而影響到雌魚配對後的產卵量。而在雄性方面，目前沒有任何研究顯示雄魚體內的睪丸硬甾酮能直接影響配對雌魚性腺的發育或卵子生成，但是，有研究顯示睪丸硬甾酮與雄性魚類的生殖行為以及繁殖階段的攻擊行為有很高的關聯性(Borg 1994；Munakata & Kobayashi 2010)，因此雄性的睪丸硬甾酮可能藉由影響雄魚的行為表現而進一步影響到雌魚的產卵量。例如，對已被去勢且不再表現第二性徵與生殖行為的雄性三棘魚(*Gasterosteus aculeatus*)施加雄烯二酮(11-ketoandrostenedione，會於雄魚的精巢外轉化成睪丸硬甾酮)會使雄魚再次展現第二性徵以及領域性、築巢、求偶等等行為(Kindler et al. 1991；Gabor & Groger 2010)。而提供在築巢階段的雄性蟾蜍魚(*Opsanus beta*)加入睪丸硬甾酮的食物後，雄魚的攻擊性會顯著增加(攻擊叫聲頻率增加；Remage-Healey & Bass 2006)。在本研究的相關性分析結果(表四)中，雄性蓋斑鬥魚的睪丸硬甾酮量與其對鏡像的攻擊頻率呈顯著正相關，亦即睪丸硬甾酮越高的雄魚攻擊性越高。此外，本實驗觀察到雄性蓋斑鬥魚在與雌魚的交配行為(雄魚纏繞雌魚並且同時排放精卵)間隔中會攻擊雌魚，推測對鏡像展現較高頻率攻擊行為的雄魚在與雌魚交配的過程中，也可能會對雌魚展現較高的攻擊性，因此雌魚可能為了降低在交配中受傷的風險而較快結束與雄魚的交配行為或產下較少的卵(關於攻擊性的詳細討論見第四章之第四節「雄魚形態特徵與生殖成功率之關聯性」)。

在睪固酮方面，本研究結果顯示雌魚的睪固酮分泌量越高，其配對後的產卵量越低，然而，雄魚睪固酮分泌量越高，與其配對之雌魚的產卵量則會越高。目

前在硬骨魚中，鮮少有研究探討雌魚睪固酮基礎分泌量與其產卵量間之關聯，但是，已有實驗明確指出外加的睪固酮可能會抑制雌性卵巢的發育。例如，在雌雄同體且以自體受精方式產生後代的紅樹林鱒魚 (*Kryptolebias marmoratus*) 研究發現，受到甲基睪固酮 (methyltestosterone, 人工合成之睪固酮, 作用與睪固酮相同) 浸置處理的卵在孵化成仔魚的一個月後，其卵巢即會停止發育，而這些個體在達到性成熟後皆為雄性 (Kanamori et al. 2006)。因此我推測睪固酮可能在雌性蓋斑鬥魚的卵巢發育上扮演著抑制的角色，而造成睪固酮分泌量越高的雌魚產卵量越低。在雄性方面，目前也沒有任何研究顯示雄魚體內的睪固酮能直接影響配對雌魚性腺的發育或卵子生成，但無論是在魚類或在其他動物的研究都已發現，雄性動物體內周期性變動的睪固酮量與生殖行為有很高的關聯性 (Borg 1994)。例如，已知溯溪洄游行為是櫻鮭 (*Oncorhynchus masou*) 在繁殖季重要的生殖行為之一，實驗操作將睪固酮施加於已被去勢的雄性櫻鮭後，可促使其在人工水道表現出溯溪洄游的行為 (Munakata et al. 2001)。因此我認為較高的睪固酮分泌量可能經由調控雄魚的生殖行為來吸引雌魚 (Borg 1994; Munakata & Kobayashi 2010)，進而使雌魚產下較多的卵；此假說可藉由瞭解具不同睪固酮分泌量之雄魚是否表現出不同的生殖行為來進行初步的檢測。

第二節 雄魚睪固酮與親代照顧表現以及生殖成功率間之關聯性

本研究發現睪固酮分泌量越高的雄性蓋斑鬥魚有越低的親代照顧表現(泡巢面積越小)。對此結果，根據 Wingfield et al. (1990) 提出的「挑戰假說 (Challenge hypothesis)」論述，雄性在繁殖季時會因為爭奪資源而與同性出現頻繁的競爭與打鬥，這種同性競爭會刺激雄性分泌睪固酮，而通常睪固酮分泌量越多的個體攻擊性越高，但這些個體的親代照顧表現較低 (Hegner & Wingfield 1987)，顯示睪固酮對雄性攻擊性以及親代照顧表現之影響可能為相反的效應。由先前研究已知

雄性蓋斑鬥魚在交配前會表現出築巢行為，於此同時，還會為了競爭配偶與保護巢位而攻擊任何靠近泡巢的同種雄魚，亦即蓋斑鬥魚在築巢的階段會同時展現出攻擊性與親代照顧行為。本研究中，雄性蓋斑鬥魚之睪固酮量雖與其親代照顧表現（泡巢面積）呈顯著負相關，卻並未與其攻擊性呈現任何的關聯性，不符合「挑戰假說」的論點。因此，我推測可能是因為在蓋斑鬥魚中，睪固酮為調控雄魚表現築巢行為（親代照顧行為）之內分泌激素，較高的睪固酮分泌量會抑制雄魚的親代照顧行為，而雄魚的攻擊性以及攻擊行為則可能由其它激素（如睪丸硬甾酮）所調控。

此外，本研究還發現雌魚與泡巢面積較大之雄魚配對後會較快產卵，即雄魚的親代照顧表現與配對之生殖成功率呈正相關。許多先前研究都指出個體的生殖成功率往往與其巢穴品質呈正相關，且此關係大多是來自於巢穴品質對子代孵化率、生長速率以及存活率之正面影響（Jaroensutasinee & Jaroensutasinee 2001；D'Alba et al. 2009）。但是，本研究使用的親代照顧行為指標為配對之雌、雄個體還處於互相隔離狀態（於同交配缸中以一不透明隔板隔開）時雄魚所築之泡巢的面積，由於泡巢於照相之後便被移除，此泡巢面積應該不會直接影響配對產卵與否、配對後多久產卵或產卵量。因此本研究結果中雄魚之泡巢面積與其生殖成功率間的正相關可能是來自於一些間接因素。過去研究顯示，動物的築巢行為需耗費許多時間與能量，表現越高程度築巢行為之個體會相對的花較少時間於覓食上，並且可能於築巢過程中因為降低警戒而有較高的被捕食風險（Eggert et al. 1998；Kvarnemo 2010），顯示動物的築巢行為可能為傳遞個體身體狀況與生存能力的誠實訊息（honest signal），亦即只有能夠快速獲得足夠食物與能避開掠食者的高品質個體才能築出大面積、高品質的巢穴。雄性蓋斑鬥魚在交配前，即使是在沒有雌性的情況下也會展現築巢行為，表示雄魚是否展現築巢行為不需要異性的刺激，而可能是與其生理是否進入繁殖狀態有關。此外，我於實驗過程中觀察到雄性蓋斑鬥魚一旦開始築巢，其於日夜皆會不間斷的表現出築巢行為，而且不一定吃食飼料，顯示吐泡巢對蓋斑鬥魚而言是一個高代價的行為；野外的個體還

可能於築巢的過程中被天敵所捕食。所以綜合上述的觀察，我認為在與雌魚互動前即築出大面積泡巢之雄性蓋斑鬥魚可能有較好的身體狀況、生存能力與基因品質，並可能藉由一些互動（如生殖行為、再度築出較大的泡巢、攻擊行為等等）展示出其優勢而讓雌魚較快產卵。這些互動可能用來吸引雌魚交配（擇偶偏好，mate preference），可能用來強迫雌魚交配，或者兩者並行；要區分這些可能性則需要更進一步的研究。

第三節 雌魚皮質醇與生殖成功率之負向關聯

結果顯示，皮質醇分泌量越高的雌性蓋斑鬥魚配對後會越慢產卵。一般來說，高糖皮質素分泌量顯示動物個體或族群處在較不好的環境而有相對較低的適存度（Cort-Fitness hypothesis；Wingfield & Salpolsky 2003；Husak & Moore 2008；Bonier et al. 2009）。許多研究指出糖皮質素分泌量對動物的生殖成功率有負面的影響，糖皮質素分泌量較高的個體其生殖行為會受到較高程度的抑制，且會較慢與異性交配或與異性交配的時間間隔較長（見 Sapolsky et al. 2000，文獻回顧；Husak & Moore 2008）。例如，在家麻雀（*Passer domesticus*）的研究中，雄麻雀皮質酮的分泌量越高，與其配對之雌雀會越慢產卵；而雌麻雀的皮質酮越高，其在繁殖季有越慢交配的趨勢（Ouyang et al. 2011）。而若對雌性的斑馬雀（*Taeniopygia guttata*）施加皮質酮，經過長期（15 天）皮質酮處理之雌雀會較慢產卵，而且有產卵的比例也會顯著低於未受處理之雌雀（Salvante & Williams 2003）。綜合上述結果，本研究所呈現出的雌魚皮質醇分泌量越高會越慢產卵之結果與前人的研究相似。

第四節 雄魚形態特徵與生殖成功率之關聯性

除了第二節討論的雄魚親代照顧表現與生殖成功率之正向關聯外，本研究還發現雄魚的肥滿度越高，與其配對之雌魚有越低的比例會產卵，而且與標準體長

越長之雄魚配對的雌魚有越低的產卵量，顯示雄性蓋斑鬥魚的體型與生殖成功率間呈現負向關聯。前人研究指出，體型越大的雄性有越高的攻擊性、越好的獲得資源能力以及生存能力 (Beaugrand et al. 1991; Schuett 1997; Jacob et al. 2009)，因此體型常常成為雌性評估雄性基因品質與競爭能力的依據 (Zahavi 1975)，許多研究也發現體型越大、攻擊性越高的雄性對雌性較具吸引力 (Wong & Candolin 2005; 見 Hunt et al. 2009, 文獻回顧)，並且有較高的生殖成功率 (Downhower & Brown 1980; Rantala & Kortet 2004; McGhee et al. 2007)。然而，本研究的結果並不符合上述發現。Qvarnström & Forsgren 於 1998 年提出了攻擊性較高的雄性動物對雌性不一定較具吸引力的論點，認為在具高攻擊性或者雄性會於交配過程攻擊雌性的物種中，雌性因為可能於交配過程受到雄性攻擊而受傷甚至死亡，所以不偏好攻擊性較高的雄性。根據我的實驗觀察，蓋斑鬥魚的交配過程長達 2—4 個小時，其間可發生數十次的雄魚纏繞雌魚並且排放精卵之交配行為，於每次的交配行為間隔中，雄魚會試圖將雌魚驅離卵與泡巢而對雌魚展現出展示、啄咬等攻擊行為，而這些攻擊行為可能導致雌魚受到嚴重的傷害 (Hall 1968)。如在與蓋斑鬥魚有極為相似行為表現的泰國鬥魚 (*Betta splendens*) 研究中即發現，與攻擊性較高的雄魚配對之雌魚的產卵量較低，而這可能是雌魚為了降低受傷的風險而較快結束與雄魚的交配行為所導致 (Clotfelter et al. 2006)。本研究並未偵測到標準體長較長或肥滿度較高之雄魚有較高的攻擊性，這可能是因為個體對鏡像所展現出的攻擊性與其對異性所展現出的攻擊性不完全相同所造成 (Meliska et al. 1980)。但是，我推測在蓋斑鬥魚中，體型越大 (標準體長越長、肥滿度越高) 的雄魚在交配時展現出的攻擊行為可能會對雌魚造成較嚴重的傷害，雌魚會為了降低受傷的風險而較不會與體型較大的雄魚交配或較快結束與雄魚的交配行為，因此造成本研究所觀察到的與體型較大之雄魚配對的雌魚有較低的產卵量且產卵量較低。

第五節 雌、雄魚形態特徵與攻擊性之關聯性

本研究結果顯示標準體長越長的雌性蓋斑鬥魚攻擊性越高，而單位尾鰭長度越長（第二性徵越明顯）的雄性蓋斑鬥魚攻擊性則越低。過去雖然有許多研究探討雄性體型與其行為特徵間的相關性，卻鮮少有研究探討雌性體型與其行為特徵間的關聯。然而無論性別，體型越大的個體通常有越好的身體狀況與基因品質，其它的形態與行為特徵也可能同樣受到基因或身體狀況的影響而有較高程度的表現（Snelson 1985；Linville et al. 1998；Pryke et al. 2002；Altwegg & Reyer 2003；Cervo et al. 2008），因此雌魚標準體長與攻擊性間之正相關性並不意外。而在雄魚方面，由於過去許多關於雄性第二性徵的研究都指出，有明顯第二性徵的雄性通常有較好的身體狀況與基因品質（Zahavi 1975；Møller & Nielsen 1997），即第二性徵的表現常常與其他可代表個體身體狀況/基因品質的特徵（如體型、攻擊性）呈正相關（Pryke et al. 2002；Cervo et al. 2008）。然而，本研究所觀察到之雄魚第二性徵與攻擊性間之負向關聯不同於前人的研究結果。對此，我推測在蓋斑鬥魚中，雄魚延長的尾鰭可能會干擾其自身的活動能力（Prenter et al. 2008），或由於尾鰭較長的雄魚在面對對手（在本研究為實驗個體自身的鏡像）時，可能需耗費較多的能量表現「正面展示行為（frontal display，面對對手並將尾鰭、背鰭、臀鰭張開至最大的展示行為；Hall 1968）」；因此在單位時間內，尾鰭越長的雄魚可能因為越累或活動能力受到干擾而表現出較低頻率的攻擊行為。雖然雄性蓋斑鬥魚的第二性徵看似不利於個體的攻擊行為表現，但與尾鰭越長之雄魚配對的雌魚有較高的趨勢會產下較多的卵（ $P = 0.070$ ；表七），表示此第二性徵對生殖成功率可能有正向的影響，因此能在演化過程中被保留下來。

第六節 族群間之差異性

本研究使用實驗室與動物園兩個不同族群的蓋斑鬥魚進行實驗，發現動物園族群之雌、雄魚有較高的攻擊性，雄魚還有較高的睪丸硬甾酮以及皮質醇分泌量。對此結果，我認為很有可能是兩族群在食物資源量上的差異所導致。由於實

實驗室養殖缸與動物園池塘均在戶外，而實驗室的蓋斑鬥魚族群除了環境中的食物（如蚊子）外，每兩天還會接受人為餵食一次，動物園族群則除了環境中的食物無其它的食物來源，因此動物園族群的食物資源應較缺乏且不穩定，個體對食物資源的競爭也應該較為激烈；故相對於實驗室的個體，來自動物園的雌、雄魚有較高的攻擊性並不意外。此外，來自動物園的個體也可能因長期生活在高競爭、高壓迫的環境而有較高的皮質醇分泌量（雌魚皮質醇分泌量雖未達統計上顯著標準，但相較於實驗室雌魚，動物園雌魚的皮質醇有顯著較高的趨勢， $P = 0.066$ ；表二）。而在睪丸硬甾酮部分，過去有研究顯示雄性魚類的攻擊性與睪丸硬甾酮有很高的關聯性（Borg 1994；Munakata & Kobayashi 2010），本實驗在相關性分析的結果（表四）也指出雄性蓋斑鬥魚的睪丸硬甾酮量與攻擊頻率呈正相關（ $P = 0.029$ ），推測來自高競爭之動物園族群的雄魚可能因此而呈現較高的睪丸硬甾酮分泌量。但是，是雄魚的睪丸硬甾酮分泌量越高導致攻擊性上升，還是因有較高的攻擊性而影響到睪丸硬甾酮的分泌則需更進一步的研究。

另外，本研究顯示來自動物園族群之雌、雄魚在配對後有較高的產卵量。在魚類，產卵量通常與雌性的體型呈正相關（Clotfelter et al. 2006），然而在本研究中，雌性蓋斑鬥魚的標準體長、體重或肥滿度在兩族群間皆無顯著差異（表二），且動物園雌魚在這些特徵上之測量值還小於實驗室的雌魚，表示動物園雌魚的體型小但會產下顯著較多的卵。對此結果，我認為可以用「末期投資假說（Terminal investment hypothesis）」的概念來解釋。過去有研究發現，動物個體在生活史的不同時期（有不同的情況或需求）對於要把資源投資在生殖或生長上會有不同的權衡（trade-off；Stearns 1989），此即動物的生活史理論（Life-history theory）；「末期投資假說」則由生活史理論延伸而來，認為當個體處在生殖價值減少（如衰老）、不利存活或沒有存活機會的情況下，其會投資較多的能量或甚至把能量全投資在生殖上以獲得自己生命期限內的最大適存度（fitness；Hanssen 2006；Valando et al. 2006）。根據此概念，我推測由於動物園族群對食物資源的競爭較為激烈，平時個體能獲得的食物資源以及生長即較受限制，因此相對於實驗室族

群，動物園的個體處在生殖價值較低的情況，因此其可能傾向把能量投資在每次的生殖上，以確保還存活時能盡可能的獲得最大的適存度。

第七節 結論

由本研究得知，無論是雄性或雌性蓋斑鬥魚，其行為特徵（攻擊性、親代照顧表現）皆可能與形態特徵以及賀爾蒙基礎分泌量有關，且雌、雄魚的許多特徵都與配對後之生殖成功率呈現關聯性，其中，形態特徵及賀爾蒙與生殖成功率有較緊密的關係；而雄魚的特徵在生殖成功率上也扮演著較雌魚特徵重要的角色。本研究結果指出雄性與雌性蓋斑鬥魚的雄性激素（睪丸硬甾酮、睪固酮）與生殖成功率呈現相反的關聯性，就我所知，本研究是第一個呈現不同的雄性激素對生殖成功率可能有相反的影響力，以及同個雄性激素對生殖成功率的影響在不同性別間可能有相反效應之研究，之後可以對此部分進行更詳細的探究。最後，本研究為探討蓋斑鬥魚特徵表現與生殖成功率間之關聯性的基礎研究，未來可以進一步探討蓋斑鬥魚在特徵上的表現程度以及在雌、雄間的差異性（如雌雄二型性）是否可以被性擇（sexual selection）或天擇（natural selection）所解釋。

第五章 參考文獻

- Altwegg, R. & Reyer, H.-U.** 2003. Patterns of natural selection on size at metamorphosis in water frogs. *Evolution*, 57, 872-882.
- Andersson, M.** 1982. Female choice selects for extreme tail length in a widowbird. *Nature*, 299, 818-820.
- Ankley, G. T., Miller, D. H., Jensen, K. M., Villeneuve, D. L. & Martinovic, D.** 2008. Relationship of plasma sex steroid concentrations in female fathead minnows to reproductive success and population status. *Aquatic Toxicology*, 88, 69-74.
- Bakker, T. C. M. & Mundwiler, B.** 1994. Female mate choice and male red coloration in a natural three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population. *Behavioral Ecology*, 5, 74-80.
- Balmford, A., Thomas, A. L. R. & Jones, I. L.** 1993. Aerodynamics and the evolution of long tails in birds. *Nature*, 361, 628-631.
- Barber, I., Arnott, S. A., Braithwaite, V. A., Andrew, J. & Huntingford, F. A.** 2001. Indirect fitness consequences of mate choice in sticklebacks: offspring of brighter males grow slowly but resist parasitic infections. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 268, 71-76.
- Barbosa, M. & Magurran, A. E.** 2006. Female mating decisions: maximizing fitness? *Journal of Fish Biology*, 68, 1636-1661.
- Basolo, A. L.** 1990. Female preference for male sword length in the green swordtail, *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae). *Animal Behaviour*, 40, 332-338.
- Baube, C. L.** 1997. Manipulations of signalling environment affect male competitive success in three-spined sticklebacks. *Animal Behaviour*, 53, 819-833.
- Beaugrand, J., Goulet, C. & Payette, D.** 1991. Outcome of dyadic conflict in male green swordtail fish, *Xiphophorus helleri*: effects of body size and prior dominance. *Animal Behaviour*, 41, 417-424.
- Bisazza, A., Marconato, A. & Marin, G.** 1989. Male competition and female choice in *Padogobius martensi* (Pisces, Gobiidae). *Animal Behaviour*, 38, 406-413.
- Blount, J. D., Metcalfe, N. B., Birkhead, T. R. & Surai, P. F.** 2003. Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches.

Science, 300, 125-127.

- Bonier, F., Martin, P. R., Moore, I. T. & Wingfield, J. C.** 2009. Do baseline glucocorticoids predict fitness? *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 634-642.
- Borg, B.** 1994. Androgens in teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 109, 219-245.
- Bretman, A., Rodríguez-Muñoz, R. & Tregenza, T.** 2006. Male dominance determines female egg laying rate in crickets. *Biology Letters*, 2, 409-411.
- Butts, I. A. E., Love, O. P., Farwell, M. & Pitcher, T. E.** 2012. Primary and secondary sexual characters in alternative reproductive tactics of Chinook salmon: associations with androgens and the maturation-inducing steroid. *General and Comparative Endocrinology*, 175, 449-456.
- Casagrande, S., Dijkstra, C., Tagliavini, J., Goerlich, V. C. & Groothuis, T. G. G.** 2011. Differential effects of testosterone, dihydrotestosterone and estradiol on carotenoid deposition in an avian sexually selected signal. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 197, 1-13.
- Central Weather Bureau.** 2012. The climate and weather in Taiwan area. Available at <http://www.cwb.gov.tw/V7/index.htm>.
- Cervo, R., Dapporto, L., Beani, L., Strassmann, J. E. & Turillazzi, S.** 2008. On status badges and quality signals in the paper wasp *Polistes dominulus*: body size, facial colour patterns and hierarchical rank. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275, 1189-1196.
- Charpentier, M. J. E., van Horn, R. C., Altmann, J. & Alberts, S. C.** 2008. Paternal effects on offspring fitness in a multimale primate society. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 1988-1992.
- Chastel, O., Weimerskirch, H. & Jouventin, P.** 1995. Body condition and seabird reproductive performance: a study of three petrel species. *Ecology*, 76, 2240-2246.
- Clotfelter, E. D., Curren, L. J. & Murphy, C. E.** 2006. Mate choice and spawning success in the fighting fish *Betta splendens*: the importance of body size, display behavior and nest size. *Ethology*, 112, 1170-1178.
- D'Alba, L., Monaghan, P. & Nager, R. G.** 2009. Thermal benefits of nest shelter for

incubating female eiders. *Journal of Thermal Biology*, 34, 93-99.

Davis, R. E. & Kassel, J. 1975. The ontogeny of agonistic behavior and the onset of sexual maturation in the paradise fish, *Macropodus opercularis* (Linnaeus) *Behavioral Biology*, 14, 31-39.

Desjardins, J. K., Stiver, K. A., Fitzpatrick, J. L., Milligan, N., Kraak, G. J. & Balshine, S. 2008. Sex and status in a cooperative breeding fish: behavior and androgens. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62, 785-794.

Dey, C. J., O'Connor, C. M., Gilmour, K. M., van Der Kraak, G. & Cooke, S. J. 2010. Behavioral and physiological responses of a wild teleost fish to cortisol and androgen manipulation during parental care. *Hormones and Behavior*, 58, 599-605.

Dibattista, J. D., Feldheim, K. A., Gruber, S. H. & Hendry, A. P. 2007. When bigger is not better: selection against large size, high condition and fast growth in juvenile lemon sharks. *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 201-212.

Downhower, J. F. & Brown, L. 1980. Mate preferences of female mottled sculpins, *Cottus bairdi*. *Animal Behaviour*, 28, 728-734.

Duckworth, R. A. 2006. Behavioral correlations across breeding contexts provide a mechanism for a cost of aggression. *Behavioral Ecology*, 17, 1011-1019.

Earley, R. L. & Hsu, Y. 2008. Reciprocity between endocrine state and contest behavior in the killifish, *Kryptolebias marmoratus*. *Hormones and Behavior*, 53, 442-451.

Earley, R. L., Hsu, Y. & Wolf, L. L. 2000. The use of standard aggression testing methods to predict combat behaviour and contest outcome in *Rivulus marmoratus* dyads (Teleostei: Cyprinodontidae). *Ethology*, 106, 743-761.

Eggert, A.-K., Reinking, M. & Müller, J. K. 1998. Parental care improves offspring survival and growth in burying beetles. *Animal Behaviour*, 55, 97-107.

Emlen, D. J. 2001. Costs and the diversification of exaggerated animal structures. *Science*, 291, 1534-1536.

Erskine, M. S. 1989. Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Hormones and Behavior*, 23, 473-502.

Fisher, D. O. & Cockburn, A. 2006. The large-male advantage in brown antechinuses: female choice, male dominance, and delayed male death.

Behavioral Ecology, 17, 164-171.

- Froese, R.** 2006. Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 241-253.
- Fulton, T. W.** 1904. Twenty-second Annual Report, Part III. In: *The Rate of Growth of Fishes*, pp. 141-241. Edinburgh: Fisheries Board of Scotland.
- Gabor, C. R. & Grober, M. S.** 2010. A potential role of male and female androgen in species recognition in a unisexual-bisexual mating complex. *Hormones and Behavior*, 57, 427-433.
- Geraudie, P., Gerbron, M. & Minier, C.** 2010. Seasonal variations and alterations of sex steroid levels during the reproductive cycle of male roach (*Rutilus rutilus*). *Marine Environmental Research*, 69, Supplement 1, S53-S55.
- Hall, D. D.** 1968. A qualitative analysis of courtship and reproductive behavior in the paradise fish, *Macropodus opercularis* (Linnaeus). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 25, 834-842.
- Haller, J., Albert, I. & Makara, G. B.** 1997. Acute behavioural effects of corticosterone lack specificity but show marked context-dependency. *Journal of Neuroendocrinology*, 9, 515-518.
- Hanssen, S. A.** 2006. Costs of an immune challenge and terminal investment in a long-lived bird. *Ecology*, 87, 2440-2446.
- Hayes, T. B. & Menendez, K. P.** 1999. The effect of sex steroids on primary and secondary sex differentiation in the sexually dichromatic reedfrog (*Hyperolius argus*: Hyperolidae) from the Arabuko Sokoke Forest of Kenya. *General and Comparative Endocrinology*, 115, 188-199.
- Hegner, R. T. & Wingfield, J. C.** 1987. Effects of experimental manipulation of testosterone levels on parental investment and breeding success in male house sparrows. *The Auk*, 104, 462-469.
- Hews, D. K. & Moore, M. C.** 1995. Influence of androgens on differentiation of secondary sex characters in tree lizards, *Urosaurus ornatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 97, 86-102.
- Honěk, A.** 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos*, 66, 483-492.

- Howard, R. D. & Kluge, A. G.** 1985. Proximate mechanisms of sexual selection in wood frogs. *Evolution*, 39, 260-277.
- Huang, W. B. & Cheng, F. L.** 2006. Effects of temperature and floating materials on breeding by the paradise fish (*Macropodus opercularis*) in the non-reproductive season. *Zoological Studies*, 45, 475-482.
- Huang, W. B. & Chang, C. C.** 2011. Effects of parental care and body size on the reproductive success of the paradise fish *Macropodus opercularis* (L.) in a small area. *Zoological Studies*, 50, 401-408.
- Hunt, J., Breuker, C. J., Sadowski, J. A. & Moore, A. J.** 2009. Male-male competition, female mate choice and their interaction: determining total sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 13-26.
- Husak, J. F. & Moore, I. T.** 2008. Stress hormones and mate choice. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 532-534.
- Jacob, A., Evanno, G., Renai, E., Sermier, R. & Wedekind, C.** 2009. Male body size and breeding tubercles are both linked to intrasexual dominance and reproductive success in the minnow. *Animal Behaviour*, 77, 823-829.
- Jan, J. P. & Wu, S. L.** 1994. *Ecology and Conservation of Macropodus opercularis*. Taichung: Taichung Mountain Environment Protection Association.
- Jaroensutasinee, M. & Jaroensutansinee, K.** 2001. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. *Journal of Fish Biology*, 58, 1311-1319.
- Kanamori, A., Yamamura, A., Koshiha, S., Lee, J. S., Orlando, E. F. & Hori, H.** 2006. Methyltestosterone efficiently induces male development in the self-fertilizing hermaphrodite fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Genesis*, 44, 495-503.
- Kang, C. K. & Lee, T. H.** 2010. The pharyngeal organ in the buccal cavity of the male Siamese fighting fish, *Betta splendens*, supplies mucus for building bubble nests. *Zoological Science*, 27, 861-866.
- Kazeto, Y., Tosaka, R., Matsubara, H., Ijiri, S. & Adachi, S.** 2011. Ovarian steroidogenesis and the role of sex steroid hormones on ovarian growth and maturation of the Japanese eel. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127, 149-154.
- Ketterson, E. D., Nolan Jr., V. & Sandell, M.** 2005. Testosterone in females:

mediator of adaptive traits, constraint on sexual dimorphism, or both? *American Naturalist*, 166, S85-S98.

Ketterson, E. D., Nolan, V., Wolf, L. & Ziegenfus, C. 1992. Testosterone and avian life histories – effects of experimentally elevated testosterone on behavior and correlates of fitness in the dark-eyed junco (*Junco Hyemalis*). *American Naturalist*, 140, 980-999.

Kindler, P. M., Bahr, J. M. & Philipp, D. P. 1991. The effects of exogenous 11-ketotestosterone, testosterone, and cyproterone acetate on prespawning and parental care behaviors of male bluegill. *Hormones and Behavior*, 25, 410-423.

Kortner, T. M., Rocha, E., Silva, P., Castro, L. F. & Arukwe, A. 2008. Genomic approach in evaluating the role of androgens on the growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*) previtellogenic oocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 3, 205-218.

Kupfer, A. 2009. Sexual size dimorphism in caecilian amphibians: analysis, review and directions for future research. *Zoology*, 112, 362-369.

Kvarnemo, C. 2010. Parental Care. In: *Evolutionary Behavioral Ecology* (Ed. by D. F. Westneat & C. W. Fox), pp. 451-467. New York: Oxford University Press.

Lagler, K. F., Bardach, J. E., Miller, R. R. & Passino, D. R. M. 1977. *Ichthyology*, 2nd edn. New York: John Wiley and Sons.

Le Boeuf, B. J. & Mesnick, S. 1991. Sexual behavior of male northern elephant seals: I. lethal injuries to adult females. *Behaviour*, 116, 143-162.

Lefranc, A. & Bundgaard, J. 2000. The Influence of male and female body size on copulation duration and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 132, 243-247.

Lindström, K. & Hellström, M. 1993. Male size and parental care in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Ethology Ecology and Evolution*, 5, 97-106.

Linville, S. U., Breitwisch, R. & Schilling, A. J. 1998. Plumage brightness as an indicator of parental care in northern cardinals. *Animal Behaviour*, 55, 119-127.

McEwen, B. S. 2000. Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biological Psychiatry*, 48, 721-731.

McGhee, K. E., Fuller, R. C. & Travis, J. 2007. Male competition and female choice interact to determine mating success in the bluefin killifish. *Behavioral*

Ecology, 18, 822-830.

- McGlothlin, J. W., Jawor, J. M. & Ketterson, E. D.** 2007. Natural variation in a testosterone-mediated trade-off between mating effort and parental effort. *The American Naturalist*, 170, 864-875.
- McGraw, K., Correa, S. & Adkins-Regan, E.** 2006. Testosterone upregulates lipoprotein status to control sexual attractiveness in a colorful songbird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60, 117-122.
- McGraw, K. J. & Ardia, D. R.** 2003. Carotenoids, immunocompetence, and the information content of sexual colors: an experimental test. *American Naturalist*, 162, 704-712.
- Mehta, P. H. & Josephs, R. A.** 2010. Testosterone and cortisol jointly regulate dominance: evidence for a dual-hormone hypothesis. *Hormones and Behavior*, 58, 898-906.
- Meliska, C. J., Meliska, J. A. & Peeke, H. V. S.** 1980. The relationship of mirror-elicited display to combat behaviors in *Betta splendens*. *Behavioral and Neural Biology*, 30, 207-217.
- Miklósi, Á., Csányi, V. & Gerlai, R.** 1997a. Antipredator behavior in paradise fish (*Macropodus opercularis*) larvae: the role of genetic factors and paternal influence. *Behavior Genetics*, 27, 191-200.
- Miklósi, Á., Haller, J. & Csányi, V.** 1997b. Learning about the opponent during aggressive encounters in paradise fish (*Macropodus opercularis* L.): when it takes place? *Behavioural Processes*, 40, 97-105.
- Miklósi, Á., Topál, J. & Csányi, V.** 1992. Development of open-field and social behavior of the paradise fish (*Macropodus opercularis* L.) *Developmental Psychobiology*, 25, 335-344.
- Møller, A. P., Garamszegi, L. Z., Gil, D., Hurtrez-Boussès, S. & Eens, M.** 2005. Correlated evolution of male and female testosterone profiles in birds and its consequences. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58, 534-544.
- Møller, A. P. & Nielsen, J. T.** 1997. Differential predation cost of a secondary sexual character: sparrowhawk predation on barn swallows. *Animal Behaviour*, 54, 1545-1551.
- Moore, I. T. & Hopkins, W. A.** 2009. Interactions and trade-offs among physiological determinants of performance and reproductive success.

Integrative and Comparative Biology, 49, 441-451.

- Moore, I. T. & Jessop, T. S.** 2003. Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Hormones and Behavior*, 43, 39-47.
- Mougeot, F., Pérez-Rodríguez, L., Martínez-Padilla, J., Leckie, F. & Redpath, S. M.** 2007. Parasites, testosterone and honest carotenoid-based signalling of health. *Functional Ecology*, 21, 886-898.
- Moyes, C. D. & Schulte, P. M.** 2007. *Principles of Animal Physiology*, 2nd edn. San Francisco: Pearson.
- Munakata, A., Amano, M., Ikuta, K., Kitamura, S. & Aida, K.** 2001. The involvement of sex steroid hormones in downstream and upstream migratory behavior of masu salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 129, 661-669.
- Munakata, A. & Kobayashi, M.** 2010. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 456-468.
- Nelson, C. M.** 1995. Male size, spawning pit size and female mate choice in a lekking cichlid fish. *Animal Behaviour*, 50, 1587-1599.
- O'Connor, C. M., Yick, C. Y., Gilmour, K. M., van der Kraak, G. & Cooke, S. J.** 2011. The glucocorticoid stress response is attenuated but unrelated to reproductive investment during parental care in a teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 170, 215-221.
- Ouyang, J. Q., Sharp, P. J., Dawson, A., Quetting, M. & Hau, M.** 2011. Hormone levels predict individual differences in reproductive success in a passerine bird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278, 2537-2545.
- Øverli, Ø., Kotzian, S. & Winberg, S.** 2002. Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 42, 53-61.
- Peig, J. & Green, A. J.** 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos*, 118, 1883-1891.
- Prenter, J., Taylor, P. W. & Elwood, R. W.** 2008. Large body size for winning and large swords for winning quickly in swordtail males, *Xiphophorus helleri*. *Animal Behaviour*, 75, 1981-1987.
- Preziosi, R. F., Fairbairn, D. J., Roff, D. A. & Brennan, J. M.** 1996. Body size and

fecundity in the waterstrider *Aquarius remigis*: a test of Darwin's fecundity advantage hypothesis. *Oecologia*, 108, 424-431.

- Pryke, S. R., Andersson, S., Lawes, M. J. & Piper, S. E.** 2002. Carotenoid status signaling in captive and wild red-collared widowbirds: independent effects of badge size and color. *Behavioral Ecology*, 13, 622-631.
- Qvarnström, A. & Forsgren, E.** 1998. Should females prefer dominant males? *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 498-501.
- Ramsey, M. E., Wong, R. Y. & Cummings, M. E.** 2011. Estradiol, reproductive cycle and preference behavior in a northern swordtail. *General and Comparative Endocrinology*, 170, 381-390.
- Rantala, M. J. & Kortet, R.** 2004. Male dominance and immunocompetence in a field cricket. *Behavioral Ecology*, 15, 187-191.
- Remage-Healey, L. & Bass, A. H.** 2006. From social behavior to neural circuitry: steroid hormones rapidly modulate advertisement calling via a vocal pattern generator. *Hormones and Behavior*, 50, 432-441.
- Rohr, D. H., Lokman, P. M., Davie, P. S. & Young, G.** 2001. 11-Ketotestosterone induces silvering-related changes in immature female short-finned eels, *Anguilla australis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 130, 701-714.
- Ros, A. F. H., Canario, A. V. M., Couto, E., Zeilstra, I. & Oliveira, R. F.** 2003. Endocrine correlates of intra-specific variation in the mating system of the St. Peter's fish (*Sarotherodon galilaeus*). *Hormones and Behavior*, 44, 365-373.
- Salvante, K. G. & Williams, T. D.** 2003. Effects of corticosterone on the proportion of breeding females, reproductive output and yolk precursor levels. *General and Comparative Endocrinology*, 130, 205-214.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M. & Munck, A. U.** 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21, 55-89.
- Schuett, G. W.** 1997. Body size and agonistic experience affect dominance and mating success in male copperheads. *Animal Behaviour*, 54, 213-224.
- Scott, A. P. & Ellis, T.** 2007. Measurement of fish steroids in water—a review. *General and Comparative Endocrinology*, 153, 392-400.

- Scott, A. P., Hirschenhauser, K., Bender, N., Oliveira, R., Earley, R. L., Sebire, M., Ellis, T., Pavlidis, M., Hubbard, P. C., Huertas, M. & Canario, A.** 2008. Non-invasive measurement of steroids in fish-holding water: important considerations when applying the procedure to behaviour studies. *Behaviour*, 145, 1307-1328.
- Scott, A. P., Pinillos, M. & Ellis, T.** 2001. Why measure steroids in fish plasma when you can measure them in water? In: *Perspectives in Comparative Endocrinology* (Ed. by T. Goos, R. K. Rastogi, H. Vaudry & R. Pierantoni). Bologna: Monduzzi Editore.
- Scott, A. P. & Sorensen, P. W.** 1994. Time course of release of pheromonally active gonadal steroids and their conjugates by ovulatory goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 96, 309-323.
- Shine, R.** 1988. The evolution of large body size in females: a critique of Darwin's "fecundity advantage" model. *American Naturalist*, 131, 124-131.
- Simon, M. P.** 1983. The ecology of parental care in a terrestrial breeding frog from New Guinea. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 14, 61-67.
- Snelson, F. F.** 1985. Size and morphological variation in males of the sailfin molly, *Poecilia latipinna*. *Environmental Biology of Fishes*, 13, 35-47.
- Soma, K. K., Tramontin, A. D. & Wingfield, J. C.** 2000. Oestrogen regulates male aggression in the non-breeding season. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267, 1089-1096.
- Stearns, S. C.** 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3, 259-268.
- Stuart-Fox, D. M. & Whiting, M. J.** 2005. Male dwarf chameleons assess risk of courting large, aggressive females. *Biology Letters*, 1, 231-234.
- Trainor, B. C., Bird, I. M. & Marler, C. A.** 2004. Opposing hormonal mechanisms of aggression revealed through short-lived testosterone manipulations and multiple winning experiences. *Hormones and Behavior*, 45, 115-121.
- Tsai, Y. N.** 1992. The Formosan fighting fish and fighting fish family. In: *Taipei Zoo Quarterly*, pp. 4-7. Taipei: Taipei Zoo.
- Tubert, C., Lo Nostro, F., Villafañe, V. & Pandolfi, M.** 2012. Aggressive behavior and reproductive physiology in females of the social cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Physiology and Behavior*, 106, 193-200.

- Velando, A., Drummond, H. & Torres, R.** 2006. Senescent birds redouble reproductive effort when ill: confirmation of the terminal investment hypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273, 1443-1448.
- Vieira, C. & Romero, G. Q.** 2008. Maternal care in a neotropical jumping spider (Salticidae). *Journal of Zoology*, 276, 237-241.
- Wang, T. Y., Tzeng, C. S. & Shen, S. C.** 1999. Conservation and phylogeography of Taiwan paradise fish, *Macropodus opercularis* Linnaeus. *Acta Zoologica Taiwanica*, 10, 121-134.
- Wendelaar Bonga, S. E., Balm, P. H. M. & Lamers, A. E.** 1994. The involvement of ACTH and MSH in the stress response in teleost fish. *Netherlands Journal of Zoology*, 45, 103-106.
- Wingfield, J. C.** 1994. Regulation of territorial behavior in the sedentary song sparrow, *Melospiza melodia morphna*. *Hormones and Behavior*, 28, 1-15.
- Wingfield, J. C.** 2005. A continuing saga: the role of testosterone in aggression. *Hormones and Behavior*, 48, 253-255.
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M. & Ball, G. F.** 1990. The "challenge hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *American Naturalist*, 136, 829-846.
- Wingfield, J. C., Maney, D. L., Breuner, C. W., Jacobs, J. D., Lynn, S., Ramenofsky, M. & Richardson, R. D.** 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: the "emergency life history stage". *American Zoologist*, 38, 191-206.
- Wingfield, J. C. & Sapolsky, R. M.** 2003. Reproduction and resistance to stress: when and how. *Journal of Neuroendocrinology*, 15, 711-724.
- Wolf, L., Ketterson, E. D. & Nolan Jr., V.** 1988. Paternal influence on growth and survival of dark-eyed junco young: do parental males benefit? *Animal Behaviour*, 36, 1601-1618.
- Wong, B. B. M. & Candolin, U.** 2005. How is female mate choice affected by male competition? *Biological Reviews*, 80, 559-571.
- Wong, S. C., Dykstra, M., Campbell, J. M. & Earley, R. L.** 2008. Measuring water-borne cortisol in convict cichlids (*Amatitlania nigrofasciata*): is the procedure a stressor? *Behaviour*, 145, 1283-1305.

- Young, S. S.** 1995. Notes on the early developmental stages of paradise fish (*Macropodus opercularis* (L.)) in captivity. *Acta Zoologica Taiwanica*, 6, 83-89.
- Zahavi, A.** 1975. Mate selection—a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*, 53, 205-214.
- Zar, J. H.** 1998. *Biostatistical Analysis*, 3rd edn. New Jersey: Pearson Education.
- Zysling, D. A., Greives, T. J., Breuner, C. W., Casto, J. M., Demas, G. E. & Ketterson, E. D.** 2006. Behavioral and physiological responses to experimentally elevated testosterone in female dark-eyed juncos (*Junco hyemalis carolinensis*). *Hormones and Behavior*, 50, 200-207.



圖表

表一

雌、雄蓋斑鬥魚各特徵測量值之平均值 \pm 標準差 (範圍); 以威爾卡森符號等級檢定 (Wilcoxon signed-rank test) 比較配對的雌、雄個體在各特徵上之差異性 (樣本數皆為 58 組配對)。

		Male	Female	Comparisons	
				Z	P
Morphology	SL	51.21 \pm 0.37 (44.40–59.46)	46.48 \pm 0.45 (41.41–55.69)	-778.50	< 0.001*
	BM	4.37 \pm 0.10 (2.81–7.14)	3.17 \pm 0.11 (2.10–6.08)	-746.50	< 0.001*
	CF	3.23 \pm 0.03 (2.80–3.70)	3.10 \pm 0.03 (2.64–3.84)	-414.50	< 0.001*
	CFL	40.32 \pm 0.74 (28.64–52.97)	N/A		
Attack frequency		52.64 \pm 6.67 (0.00–245.00)	88.95 \pm 8.33 (0.00–237.00)	514.50	< 0.001*
Bubble-nest area		8.21 \pm 1.28 (0.00–33.72)	N/A		
Hormone levels	T	108.27 \pm 4.94 (64.10–250.80)	111.36 \pm 6.18 (3.90–308.40)	176.00	0.175
	KT	70.82 \pm 4.94 (19.66–220.96)	49.69 \pm 3.13 (1.42–148.89)	-796.50	< 0.001*
	E2	79.69 \pm 5.25 (24.40–200.00)	98.78 \pm 9.77 (13.90–533.60)	292.50	0.019
	Cort	2843.42 \pm 326.22 (287.00–10761.00)	2869.64 \pm 314.60 (261.00–10855.00)	43.50	0.740

α 值 (0.05/8 = 0.0063) 經過 Bonferroni 調整後為較保守的 0.0063。肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公厘)³) \times 10⁵。(SL: 標準體長; BM: 體重; CF: 肥滿度; CFL: 尾鰭長; T: 睪固酮; KT: 睪丸硬甾酮; E2: 雌二醇; Cort: 皮質醇; * P < 0.0063)

表二

實驗室與動物園之雌、雄蓋斑鬥魚各特徵測量值之平均值 ± 標準差；以曼惠二氏檢定 (Mann-Whitney test) 比較不同來源的實驗個體在各特徵上之差異性 (自由度皆為 1)。

		Sources		Z	P
		Lab (n = 31)	Zoo (n = 27)		
Male	SL	51.40 ± 0.62	51.00 ± 0.39	0.148	0.882
	BM	4.46 ± 0.17	4.28 ± 0.11	-0.101	0.919
	CF	3.24 ± 0.04	3.21 ± 0.04	-0.452	0.651
	CFL	39.55 ± 0.89	41.21 ± 1.20	1.083	0.279
	Attack frequency	32.87 ± 5.03	75.33 ± 11.79	2.939	0.003*
	Bubble-nest area	10.12 ± 1.98	6.02 ± 1.45	-1.201	0.230
	T	104.44 ± 6.03	112.66 ± 8.10	0.818	0.413
	KT	61.62 ± 5.43	81.39 ± 8.24	2.260	0.024
	E2	83.74 ± 7.00	75.05 ± 7.95	-0.850	0.396
	Cort	1855.95 ± 280.39	3977.19 ± 551.84	3.040	0.002*
Female	SL	46.99 ± 0.80	45.89 ± 0.29	-0.000	1.000
	BM	3.37 ± 0.19	2.93 ± 0.05	-0.694	0.488
	CF	3.16 ± 0.05	3.03 ± 0.03	-1.637	0.102
	Attack frequency	67.71 ± 9.94	113.33 ± 12.38	2.627	0.009
	T	106.05 ± 7.38	117.45 ± 10.26	0.639	0.523
	KT	47.38 ± 3.42	52.34 ± 5.48	0.234	0.815
	E2	113.72 ± 16.59	81.62 ± 8.00	-1.730	0.084
		Cort	2122.00 ± 279.97	3728.04 ± 556.10	1.839

雄魚特徵比較之 α 值 ($0.05/10 = 0.0050$) 經過 Bonferroni 調整後為較保守的 0.0050；雌魚特徵比較之 α 值 ($0.05/8 = 0.0063$) 經過 Bonferroni 調整後為較保守的 0.0063。肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公厘)³) × 10⁵。(SL：標準體長；BM：體重；CF：肥滿度；CFL：尾鰭長；T：睪固酮；KT：睪丸硬甾酮；E2：雌二醇；Cort：皮質醇；* $P < 0.0050$)

表三

實驗室與動物園的蓋斑鬥魚配對有產卵之組數比例、產卵潛伏期之中間值（範圍）、以及產卵量之平均值 \pm 標準差。以卡方分析（Chi-square test）比較不同來源的配對在產卵比例上之差異；以對數等級檢定（log-rank test）比較不同來源的配對在產卵潛伏期上之差異；以曼惠二氏檢定（Mann-Whitney test）比較不同來源的配對在產卵量上之差異。在蓋斑鬥魚配對是否產卵以及產卵潛伏期上，實驗室與動物園的樣本數分別為 31 組與 27 組配對，在產卵量上的樣本數則各為 22 組配對（自由度皆為 1）。

	Sources		χ^2 or <i>Z</i>	<i>P</i>
	Lab	Zoo		
Likelihood of spawning	22/31	22/27	0.883	0.347
Latency to spawn	4 (1-12)	2 (1-10)	1.178	0.278
Number of eggs	741.68 \pm 78.19	982.05 \pm 65.33	2.336	0.020*



表四

雄性蓋斑鬥魚形態、攻擊頻率、泡巢面積與賀爾蒙分泌量間之相關性（樣本數皆為 58 隻個體，斯皮爾曼等級相關 Spearman rank correlation）。

	Attack frequency	Bubble-nest area	Hormone levels				
			T	KT	E2	Cort	
Morphology	SL	$r_s = 0.122$ ($P = 0.363$)	$r_s = 0.218$ ($P = 0.101$)	$r_s = 0.302$ ($P = \mathbf{0.021}$)	$r_s = 0.221$ ($P = 0.096$)	$r_s = 0.327$ ($P = \mathbf{0.012}$)	$r_s = -0.072$ ($P = 0.591$)
	BM	$r_s = 0.177$ ($P = 0.185$)	$r_s = 0.207$ ($P = 0.119$)	$r_s = 0.193$ ($P = 0.146$)	$r_s = 0.150$ ($P = 0.261$)	$r_s = 0.193$ ($P = 0.148$)	$r_s = -0.068$ ($P = 0.612$)
	CF	$r_s = 0.109$ ($P = 0.414$)	$r_s = -0.038$ ($P = 0.775$)	$r_s = -0.227$ ($P = 0.086$)	$r_s = -0.158$ ($P = 0.236$)	$r_s = -0.224$ ($P = 0.092$)	$r_s = -0.009$ ($P = 0.948$)
	CFL	$r_s = 0.034$ ($P = 0.802$)	$r_s = -0.001$ ($P = 0.997$)	$r_s = 0.155$ ($P = 0.246$)	$r_s = 0.165$ ($P = 0.216$)	$r_s = -0.165$ ($P = 0.215$)	$r_s = -0.063$ ($P = 0.639$)
Attack frequency		$r_s = 0.238$ ($P = 0.072$)	$r_s = 0.173$ ($P = 0.195$)	$r_s = 0.288$ ($P = \mathbf{0.029}$)	$r_s = 0.033$ ($P = 0.804$)	$r_s = 0.114$ ($P = 0.394$)	
Bubble-nest area			$r_s = -0.052$ ($P = 0.698$)	$r_s = 0.122$ ($P = 0.362$)	$r_s = 0.398$ ($P = \mathbf{0.002}$)	$r_s = -0.120$ ($P = 0.369$)	

斯皮爾曼等級相關係數 (r_s) 之正/負號代表兩變數間的相關性為正相關/負相關。 α 值 ($0.05/33 = 0.0015$) 經過 Bonferroni 調整後為較保守的 0.0015。肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公厘)³) $\times 10^5$ 。(SL：標準體長；BM：體重；CF：肥滿度；CFL：尾鰭長；T：睪固酮；KT：睪丸硬甾酮；E2：雌二醇；Cort：皮質醇)。

表五

雌性蓋斑鬥魚形態、攻擊頻率與賀爾蒙分泌量間之相關性(樣本數皆為 58 隻個體, 斯皮爾曼等級相關 Spearman rank correlation)。

		Attack frequency	Hormone levels			
			T	KT	E2	Cort
Morphology	SL	$r_s = 0.362$ ($P = 0.005$)	$r_s = 0.070$ ($P = 0.599$)	$r_s = 0.139$ ($P = 0.297$)	$r_s = 0.299$ ($P = 0.023$)	$r_s = 0.055$ ($P = 0.681$)
	BM	$r_s = 0.403$ ($P = 0.002^*$)	$r_s = 0.025$ ($P = 0.854$)	$r_s = 0.140$ ($P = 0.294$)	$r_s = 0.167$ ($P = 0.210$)	$r_s = 0.057$ ($P = 0.673$)
	CF	$r_s = 0.048$ ($P = 0.718$)	$r_s = -0.163$ ($P = 0.221$)	$r_s = -0.061$ ($P = 0.651$)	$r_s = -0.059$ ($P = 0.663$)	$r_s = -0.075$ ($P = 0.576$)
Attack frequency			$r_s = 0.178$ ($P = 0.183$)	$r_s = 0.123$ ($P = 0.358$)	$r_s = -0.047$ ($P = 0.728$)	$r_s = 0.120$ ($P = 0.369$)

斯皮爾曼等級相關係數 (r_s) 之正/負號代表兩變數間的相關性為正相關/負相關。 α 值 ($0.05/19 = 0.0026$) 經過 Bonferroni 調整後為較保守的 0.0026。肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公厘)³) $\times 10^5$ 。(SL: 標準體長; BM: 體重; CF: 肥滿度; T: 睪固酮; KT: 睪丸硬甾酮; E2: 雌二醇; Cort: 皮質醇; * $P < 0.0026$)

表六

雄性蓋斑鬥魚形態、賀爾蒙分泌量與行為特徵（攻擊頻率、泡巢面積）之關聯性，以及雌性蓋斑鬥魚形態、賀爾蒙分泌量與行為特徵（攻擊頻率）之關聯性；多元線性迴歸（multiple linear regression）。

Variable	df	Males' attack frequency (n = 58)			Males' bubble-nest area (n = 58)			Females' attack frequency (n = 58)		
		b ± SE	F	P	b ± SE	F	P	b ± SE	F	P
Source_Lab [†]	1	-3.09 ± 0.97	10.218	0.003*	0.17 ± 0.29	0.338	0.564	-2.56 ± 1.12	5.281	0.026*
Temperature	1	0.67 ± 0.63	1.121	0.295	-0.25 ± 0.19	1.734	0.194	1.08 ± 0.63	2.920	0.094
SL	1	0.19 ± 0.16	1.399	0.243	0.04 ± 0.05	0.685	0.412	0.37 ± 0.14	6.522	0.014*
CF	1	4.23 ± 2.38	3.148	0.082	-0.40 ± 0.71	0.317	0.576	0.97 ± 2.13	0.206	0.652
CFL/SL	1	-10.61 ± 4.54	5.454	0.024*	0.85 ± 1.35	0.391	0.535			
T/BM	1	1.52 ± 2.55	0.358	0.552	-1.90 ± 0.76	6.306	0.016*	0.38 ± 2.14	0.032	0.860
KT/BM	1	1.37 ± 1.67	0.673	0.416	0.73 ± 0.50	2.168	0.147	-0.72 ± 1.87	0.150	0.700
E2/BM	1	-0.56 ± 1.20	0.216	0.644	0.68 ± 0.36	3.589	0.064	-0.28 ± 1.12	0.063	0.802
Cort/BM	1	-0.49 ± 0.51	0.939	0.338	-0.02 ± 0.15	0.015	0.902	0.45 ± 0.55	0.672	0.417

[†]基線組（baseline）為來自動物園的實驗個體。

攻擊頻率經過平方根（square-root）轉換、泡巢面積經過立方根（cube-root）轉換以符合常態分布。尾鰭長以標準體長標準化、賀爾蒙量以體重標準化並經過自然對數（natural-log）轉換以符合常態分布。肥滿度 = (體重(克)/標準體長(公厘)³) × 10⁵。

(SL：標準體長；CF：肥滿度；CFL：尾鰭長；T：睪固酮；KT：睪丸硬甾酮；E2：雌二醇；Cort：皮質醇；BM：體重；*P < 0.05)

表七

雌、雄蓋斑鬥魚的形態與實驗配對是否產卵、產卵潛伏期以及產卵量之關聯性；分析方式依序為多元邏輯迴歸 (multiple logistic regression)、Cox 迴歸 (Cox regression) 以及多元線性迴歸 (multiple linear regression)。

Variable	df	Likelihood of spawning (n = 58)			Latency to spawn (n = 58)			Number of eggs (n = 44)		
		b ± SE	LRχ ²	P	b ± SE	LRχ ²	P	b ± SE	F	P
Source_Lab [†]	1	-1.11 ± 0.78	2.135	0.144	-0.45 ± 0.36	1.583	0.208	-173.93 ± 100.54	2.993	0.092
Temperature	1	-1.17 ± 0.54	5.450	0.020*	-0.33 ± 0.23	2.088	0.148	90.22 ± 68.15	1.753	0.194
M_SL	1	-0.02 ± 0.14	0.028	0.868	0.02 ± 0.06	0.160	0.689	-47.18 ± 19.98	5.575	0.024*
M_CF	1	-5.43 ± 2.06	8.878	0.003*	-1.00 ± 0.73	1.859	0.173	-49.64 ± 252.34	0.039	0.845
M_CFL/SL	1	3.29 ± 3.99	0.681	0.409	0.53 ± 1.68	0.101	0.750	919.33 ± 492.40	3.486	0.070
F_SL	1	0.13 ± 0.12	1.254	0.263	0.04 ± 0.05	0.719	0.397	-6.62 ± 14.09	0.221	0.641
F_CF	1	0.14 ± 1.83	0.005	0.941	0.13 ± 0.67	0.035	0.851	357.83 ± 204.33	3.067	0.088

[†]基線組 (baseline) 為來自動物園的實驗配對。

Cox 迴歸模式的意義為在某個時間點下發生事件 (產卵) 的機會比，高產卵機會 (係數為正) 表示實驗配對越快產卵。底線「_」前的字母「M」與「F」分別代表「雄魚」與「雌魚」。尾鰭長以標準體長標準化。肥滿度 = (體重 (克) / 標準體長 (公厘)³) × 10⁵。(SL: 標準體長; CF: 肥滿度; CFL: 尾鰭長; *P < 0.05)

表八

雌、雄蓋斑鬥魚的攻擊頻率與實驗配對是否產卵、產卵潛伏期以及產卵量之關聯性；分析方式依序為多元邏輯迴歸 (multiple logistic regression)、Cox 迴歸 (Cox regression) 以及多元線性迴歸 (multiple linear regression)。

Variable	df	Likelihood of spawning (n = 58)			Latency to spawn (n = 58)			Number of eggs (n = 44)		
		b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	F	P
Source_Lab [†]	1	-0.68 ± 0.73	0.901	0.343	-0.30 ± 0.35	0.749	0.387	-151.48 ± 118.19	1.643	0.208
Temperature	1	-0.69 ± 0.42	2.825	0.093	-0.27 ± 0.21	1.726	0.189	158.26 ± 72.20	4.805	0.034*
M_Attck frequency	1	0.01 ± 0.01	0.548	0.459	0.00 ± 0.00	0.214	0.644	1.12 ± 1.05	1.131	0.294
F_Attack frequency	1	-0.00 ± 0.01	0.047	0.828	0.00 ± 0.00	0.190	0.663	-0.70 ± 0.92	0.586	0.449

[†]基線組 (baseline) 為來自動物園的實驗配對。

Cox 迴歸模式的意義為在某個時間點下發生事件 (產卵) 的機會比，高產卵機會 (係數為正) 表示實驗配對越快產卵。底線「_」前的字母「M」與「F」分別代表「雄魚」與「雌魚」。(*P < 0.05)

表九

雄性蓋斑鬥魚的泡巢面積與實驗配對是否產卵、產卵潛伏期以及產卵量之關聯性；分析方式依序為多元邏輯迴歸(multiple logistic regression)、Cox 迴歸 (Cox regression) 以及多元線性迴歸 (multiple linear regression)。

Variable	df	Likelihood of spawning (n = 58)			Latency to spawn (n = 58)			Number of eggs (n = 44)		
		b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	F	P
Source_Lab [†]	1	-1.05 ± 0.69	2.453	0.117	-0.60 ± 0.33	3.266	0.071	-185.57 ± 106.58	3.032	0.089
Temperature	1	-0.57 ± 0.42	1.970	0.160	-0.15 ± 0.21	0.530	0.467	145.86 ± 70.38	4.295	0.045*
M_Bubble-nest area	1	0.07 ± 0.04	3.351	0.067	0.05 ± 0.02	7.382	0.007*	2.33 ± 5.02	0.215	0.645

[†]基線組 (baseline) 為來自動物園的實驗配對。

Cox 迴歸模式的意義為在某個時間點下發生事件 (產卵) 的機會比，高產卵機會 (係數為正) 表示實驗配對越快產卵。底線「_」前的字母「M」代表「雄魚」。(*P < 0.05)

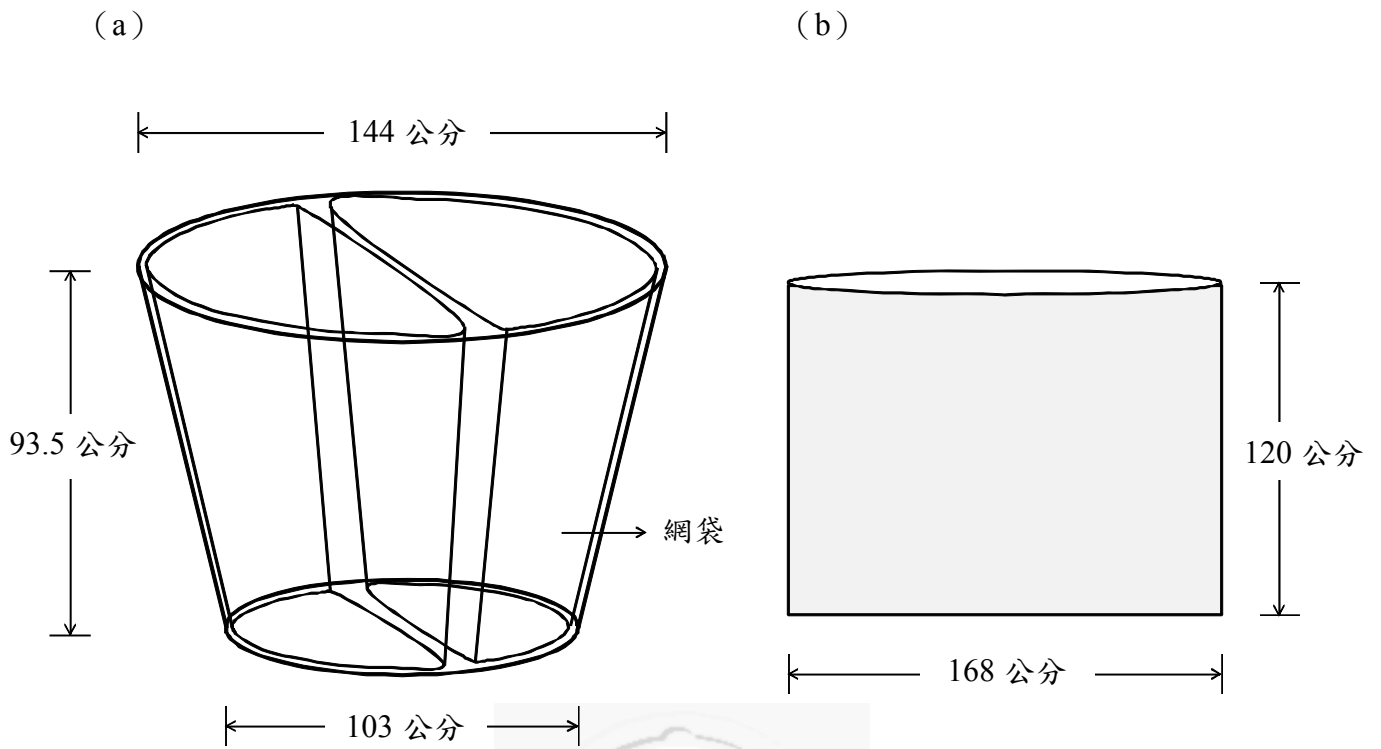
表十

雌、雄蓋斑鬥魚的賀爾蒙分泌量與實驗配對是否產卵、產卵潛伏期以及產卵量之關聯性；分析方式依序為多元邏輯迴歸 (multiple logistic regression)、Cox 迴歸 (Cox regression) 以及多元線性迴歸 (multiple linear regression)。

Variable	df	Likelihood of spawning (n = 58)			Latency to spawn (n = 58)			Number of eggs (n = 44)		
		b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	LR χ^2	P	b ± SE	F	P
Source_Lab [†]	1	-1.51 ± 0.90	3.042	0.081	-0.67 ± 0.39	2.979	0.084	-286.79 ± 128.70	4.966	0.033*
Temperature	1	-0.60 ± 0.57	1.130	0.288	-0.22 ± 0.25	0.753	0.386	182.06 ± 71.63	6.460	0.016*
M_T/BM	1	0.17 ± 2.43	0.005	0.946	0.18 ± 1.09	0.028	0.866	846.80 ± 274.68	9.504	0.004*
M_KT/BM	1	-0.32 ± 1.71	0.034	0.854	-0.06 ± 0.83	0.005	0.946	-932.70 ± 264.02	12.480	0.001*
M_E2/BM	1	1.51 ± 1.30	1.363	0.243	0.56 ± 0.56	1.017	0.313	45.92 ± 142.81	0.103	0.750
M_Cort/BM	1	0.52 ± 0.60	0.777	0.378	0.28 ± 0.25	1.282	0.258	111.45 ± 80.20	1.932	0.174
F_T/BM	1	-2.27 ± 2.17	1.152	0.283	-1.56 ± 0.96	2.676	0.102	-669.45 ± 248.21	7.274	0.011*
F_KT/BM	1	1.37 ± 2.14	0.412	0.521	0.79 ± 0.93	0.759	0.384	839.53 ± 286.05	8.614	0.006*
F_E2/BM	1	1.03 ± 0.96	1.205	0.272	0.59 ± 0.50	1.332	0.249	121.01 ± 116.59	1.077	0.307
F_Cort/BM	1	-0.94 ± 0.63	2.480	0.115	-0.60 ± 0.25	5.925	0.015*	-24.10 ± 74.52	0.105	0.748

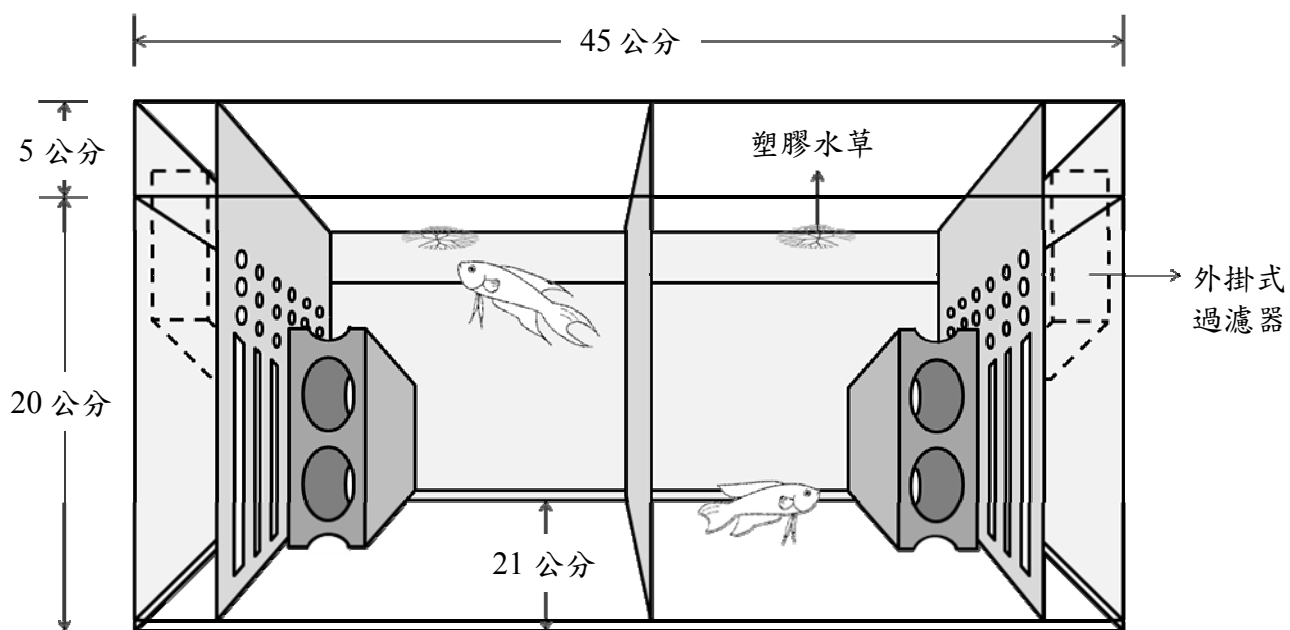
[†]基線組 (baseline) 為來自動物園的實驗配對。

Cox 迴歸模式的意義為在某個時間點下發生事件 (產卵) 的機會比, 高產卵機會 (係數為正) 表示實驗配對越快產卵。底線「_」前的字母「M」與「F」分別代表「雄魚」與「雌魚」。賀爾蒙量以體重標準化並經過自然對數 (natural-log) 轉換以符合常態分布。(T: 睪固酮; KT: 睪丸硬甾酮; E2: 雌二醇; Cort: 皮質醇; BM: 體重; * $P < 0.05$)



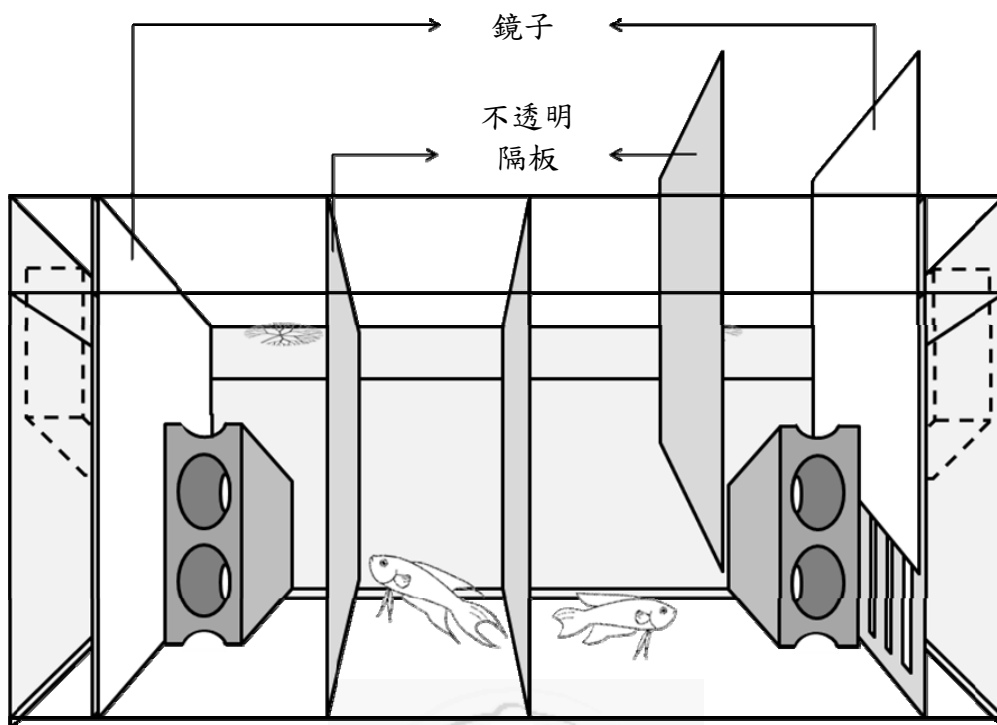
圖一

(a) 實驗室養殖缸示意圖。上圓直徑 144 公分，下圓直徑 103 公分，高 93.5 公分；內置有兩大型網袋各撐開成半個養殖缸的體積，以將雌、雄魚分開飼養。(b) 網袋示意圖。長 168 公分，高 120 公分，一長邊開口呈袋狀。



圖二

交配缸設置示意圖。交配缸大小為 $45 \times 21 \times 25$ 立方公分，水深 20 公分，中央置有一可移動的不透明隔板將缸子分成左、右兩區。兩區配置呈鏡像對稱：距側面缸壁 5 公分處各放置一挖有孔洞的不透明隔板，水面中央各放置一片塑膠水草，角落置有一用做遮蔽物的陶磚，側面缸壁的外側則各裝設一外掛式過濾器。



圖三

鏡像測試 (mirror test) 設置示意圖。左、右兩區的中央處各置入一可移動的不透明隔板，並在外側面的孔洞隔板前各放置一面鏡子，實驗個體則會被隔在內側的區域。

附錄

附錄一

使用 ImageJ 軟體估算泡巢面積之步驟：

1. 開啟欲分析之泡巢照片 (**File** → **Open**)。
2. 將照片大小調整為原始檔的 75% (**Image** → **Zoom** → **Set**，輸入「75%」)。
3. 以 ImageJ 選單上的直線工具拉出與照片中塑膠尺 (1 公分) 同長的直線，再將塑膠尺長度與畫素值進行轉換校正 (**Analyze** → **Set scale**，輸入「1」於 **Known distance** 以及輸入「cm」於 **Unit of length**)。
4. 利用 ImageJ 選單上不同的選擇工具將泡巢手動圈選加入 ROI (Region of Interest) Manager 清單。
5. 將所有圈選起來的泡巢面積資料匯出儲存至 Excel (**Analyze** → **Tools** → **ROI Manager** → **Measure**)。

