

眼斑海葵魚之生殖行為及育苗研究

何源興^{1*} · 陳文義¹ · 施勝中¹ · 彭仁君² · 張文炳³

¹行政院農業委員會水產試驗所 東部海洋生物研究中心

²國立台東大學 生命科學研究所

³國立海洋生物博物館

摘 要

眼斑海葵魚 (Clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*) 屬於雀鯛科 (Pomacentridae) 之海葵魚亞科 (Amphiprioninae)。本研究自 2006 年 1 月 2 日至 2006 年 12 月 28 日止，共觀察產卵 28 次；當親魚有清理產卵床行為、雌魚腹部明顯膨大、生殖突起明顯突出，則判定種魚即將產卵；每次產卵間隔約 10 ~ 19 日，產卵時間在 09:00 ~ 15:00，主要集中在 11:00 ~ 14:30，產卵行為持續約 1 個多小時；每次產卵數約 300 ~ 1,000 顆，受精卵為橘紅色、橢圓形、分離之沉性黏著卵，受精卵之平均長徑為 2.32 ± 0.10 mm；平均短徑為 0.95 ± 0.07 mm；平均卵黃徑為 1.44 ± 0.12 mm；仔魚孵化平均體長為 4.35 ± 0.14 mm。產卵結束後親魚會有護卵行為，產卵到孵化期間雌雄護卵次數分別為 7 ± 5.7 及 40 ± 6.6 次/30 min，顯示護卵主要是由雄魚擔任。根據結果發現眼斑海葵魚胚胎孵化所需的時間與水溫成負相關變化，在水溫 29°C 及 23°C 下仔魚孵化天數分別為 6 及 8 天，兩者相差了 2 天的時間。仔魚孵化後第 11 天左右體色開始出現，並轉變為橘紅色，此時可以與海葵共生而不會受到海葵攻擊。

眼斑海葵魚仔魚初期餌料生物為輪蟲，投餵之密度不得低於 5,000 Rotifer / l，並添加微藻有穩定水質及滋養輪蟲之功效，同時餌料生物之提供應該注意各個餌料必須重疊使用。仔魚成長至 35 日左右開始可以接受人工飼料。在 160 日仔魚體長可達 38.25 ± 2.95 mm，此時魚苗之體色及斑紋已與成魚一致。

關鍵詞：眼斑海葵魚、生殖行為、初期發育、育苗

前 言

眼斑海葵魚 (Clown anemonefish) 俗名公子小丑，屬雀鯛科 (Pomacentridae) 之海葵魚亞科 (Amphiprioninae)，海葵魚屬 (*Amphiprion*) 之魚類，即一般俗稱之小丑魚，本亞科可分成海葵魚屬 (*Amphiprion*) 及棘頰海葵魚屬 (*Premna*)，前屬世界上有 27 種，後屬僅 1 種 (Daphne and Allen, 1997)，台灣目前之紀錄僅有海葵魚一屬共五種 (沈, 1993)；而眼斑海葵魚分佈於熱帶太平洋島嶼附近海域，台灣周邊海域數量較少。

根據研究發現，海葵魚為雌雄同體 (hermaphrodite) 雄性先成熟 (protandrous) 的魚類，在克氏海葵魚幼魚生殖腺中，發現牠同時具有卵巢與精巢，證明了海葵魚是兩性魚，而且生殖腺的發育是同時進行 (Allsop and West, 2003；Buston, 2003)。海葵魚性轉變之條件為一顆海葵的族群社會中個體之間的交互影響，稱為社會行為調節性轉變 (social control of sex change) (Hattori, 1991, 2001) 所以一顆海葵家族是由一對具有生殖能力的雌雄魚 (breeding pair) 與 0 ~ 4 尾無生殖能力 (non-breeder) 的小魚所組成。海葵魚的體型上位階越高者其體型越大，階級越往下其體型也就越小 (Buston, 2003)，同時在族群之中也有可能 4 ~ 5 齡魚仍然還未成熟之情形存在 (Ochi, 1985)。

*通訊作者 / 台東縣成功鎮五權路 22 號, TEL: (089) 850-090 轉 401; FAX: (089) 850-092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw

在天然海域中海葵魚產卵日大多集中在滿月之前後 6 天 (Randall, 1961)，產卵時間大部份集中在上午 (Allen, 1972)。在滿月夜裡的微光讓親魚更容易護卵，還有剛孵化的魚苗具有趨光性 (陳等, 2003; 何等, 2006)，月光可以吸引魚苗向海面游去，也可以讓魚苗更均勻的分散到各處 (Allen, 1972)，同時其他的海洋魚類及軟體動物也會選擇在滿月產卵，動物性及植物性浮游生物滿月光下也會較為聚集海面，如此海葵魚的魚苗就有更多食物攝食 (Korringa, 1947)。

台灣四面環海原本是海葵魚的天堂，唯近年來因人為濫捕及環境污染影響，海域生態遭到嚴重破壞，加上動畫電影『海底總動員』熱賣，使得眼斑海葵魚成為的熱門寵物和家喻戶曉的水中明星，但也造成野生眼斑海葵魚被大量捕捉的後遺症。有鑑於此，本所東部海洋生物研究中心了解海葵魚資源復育的迫切性，種苗大量生產相關資料及技術有待建立，因此本研究主要之目的是為確立眼斑海葵魚繁殖養殖技術，以提供相關技術給產業界，發展觀賞魚相關事業。

材料與方法

一、種魚培育

眼斑海葵魚購自坊間水族館總計 101 尾，其中僅有 15 尾活存，將活存之親魚飼養於備有溫控設備之 400 L 強化玻璃水槽，使用鹵素燈照明，水面光照度在 6,000 ~ 20,000 Lux，水深 50 cm，每日照明 9 hr，水溫維持在 23 ~ 30 °C，鹽度為 32 ~ 35 psu，缸中同時飼育巨大異幅海葵 (*Heteractis magnifica*) 數顆，平日交替以新鮮蝦肉、魷魚、魚肉及乾燥飼料等餵飼，並讓其自然配對繁殖。培育過程若發現種魚有死亡之情形馬上進行解剖，以了解種魚性別及生殖腺發育情形。未成熟魚、雄魚及雌魚體長與體重之關係，套用指數關係 (power relationship) 估算指數迴歸關係式。

二、親魚產卵與護卵

親魚於培育缸產卵後，開始記錄每對親魚每次的產卵日期、產卵時間、產卵間隔、孵化日期及孵化時間。觀察親魚產卵之行為模式，包括雌

雄種魚清理產卵床、產卵行為、排精行為、受精及護卵行為等，並以數位照相器材拍攝記錄。

從產卵次日起，每日分別於 8:00 (未開燈)、14:00 及 20:00 (關燈) 觀察護卵行為，每個時段連續觀察 30 分鐘，記錄親魚於該段時間內進入產卵床，以胸鰭、尾鰭煽動受精卵或是以吻部整理照顧受精卵的次數以及雌雄魚護卵方式，以了解不同性別與年齡間，護卵次數是否有所差異。

三、受精卵與胚胎發育

使用 40 倍光學顯微鏡，測量 30 粒受精卵之卵徑及油球徑，同時每日挾取受精卵數粒，利用吸管將受精卵吸至凹槽載玻片上，水量剛好蓋過受精卵為宜，拍攝胚胎發育過程，並同時記錄時間、水溫與胚胎發育之關係，直至受精卵孵化為止。

將親魚產卵槽水溫設定為 23 ± 1 °C、 26 ± 1 °C 及 29 ± 1 °C (配合不同季節控溫)，讓親魚分別於控制之水溫下產卵三次，並記錄受精卵從產出到孵化所需時間，以了解不同水溫下對受精卵孵化時間之影響。

四、仔稚魚苗形態變化及育苗

仔魚具趨光之習性，使用聚光燈及虹吸管收集仔魚進行培育，育苗水溫為 24 ~ 28 °C，鹽度為 33 ~ 35 psu，培育槽使用 0.5 ton FRP 桶，以輪蟲 (*Brachionus* sp.)、橈腳類 (Copepod) 及人工粒狀飼料作為仔魚之餌料，孵化後 1 星期內添加微藻於育苗系統中，此外，定期以立體顯微鏡拍攝仔稚魚之鰭部、體態與體色等成長過程之外形變化。

選擇一梯健康孵化之魚苗 200 尾，以 300 L 之圓形 FRP 桶進行養殖，投餵之餌料生物視魚體大小變化，每 20 天隨機採樣 10 尾魚苗，利用 2-Phenoxyethanol (2-PE) 麻醉後置於投影機下，以電子式游標尺測量其體長，並連續採樣至 240 天，以了解眼斑海葵魚成長過程全長之變化情形。

五、不同輪蟲密度對仔魚成長及活存率之影響

以不同密度之輪蟲來飼養眼斑海葵魚仔魚，3

日後計算活存率及成長率。輪蟲密度分別為 1,000、5,000 及 10,000 rotifer/L，共計三組三重複，每日上午抽樣 1 ml 水計數輪蟲之密度，並按試驗密度補加所需的輪蟲，讓每日上午輪蟲密度保持所設定之密度。試驗仔魚飼養於 100 L 之圓形 FRP 桶中桶進行養殖，使用天然海水，經過紫外線殺菌燈處理，水溫設定為 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ，鹽度維持在 33 ~ 34 psu，試驗期間各組皆添加微藻，讓透明度保持在 20 ~ 30 cm，每缸魚苗數為 50 尾，試驗結束各組採樣 10 尾仔魚量測體長，並記錄各組之活存率。試驗所得數據以 Statistical Analysis System (SAS-PC) 之單項變異數分析法 (one-way ANOVA table) 進行統計分析，再以 Duncan's New-multiple Range Test 比較處理組間差異之顯著性，顯著水準設定為 $p < 0.05$ 。

六、仔魚與海葵共生之時機

選取眼斑海葵魚 11 日齡仔稚魚，體色已轉變及體色未轉變各 20 尾，巨大異幅海葵 1 顆。將海葵置於 1,000 ml 之玻璃燒杯中，並加入天然海水至 500 ml，使仔稚魚可以隨時碰觸海葵，經多次預備試驗發現，仔稚魚放入燒杯後海葵馬上會有發射刺細胞的反應，因此設定仔稚魚放入燒杯之時間為 3 min 即可 (陳等, 2003; 何等, 2006); 將選取之眼斑海葵魚仔稚魚，分別置入上述燒杯，3 min 後，以滴管吸出仔稚魚，置於盛有乾淨海水之 1,000 ml 玻璃燒杯，並微量打氣，提供足量之橈腳類，觀察 2 hr 及 24 hr 仔稚魚之活存狀況並記錄之。試驗資料以無母數統計法 (Nonparametric statistics) 之二項族群兩比例值比較法 (Difference of Bernoulli Population in Proportions) (沈, 1997)，並利用 SAS 電腦程式分析檢定是否有差異。

結 果

一、種魚培育

試驗期間獲得的樣本數為 86 尾，依照體色及外型特徵，無法辨識性別，只有解剖觀察生殖腺以判斷性別，結果樣本中雄魚為 18 尾，雌魚為 20 尾，未成熟魚為 48 尾。雌魚之標準體長範圍為 5.8 ~ 8.8 cm，平均標準體長為 6.97 ± 0.78 cm，而體重

範圍為 4.15 ~ 17.25 g，平均體重為 7.81 ± 3.50 g；雄魚之標準體長範圍為 4.4 ~ 6.4 cm，平均標準體長為 5.63 ± 0.66 cm，而體重範圍為 1.48 ~ 4.95 g，平均體重為 3.48 ± 1.03 g；未成熟魚之標準體長範圍為 3.1 ~ 5.5 cm，平均標準體長為 4.11 ± 0.46 cm，而體重範圍為 2.83 ~ 0.95 g，平均體重為 1.62 ~ 0.40 g，如 Table 1 所示。

Figure 1 為眼斑海葵魚雌魚、雄魚及未成熟魚之體長與體重關係，其之關係式為：

$$W = 3.5039L^{0.3524}, R^2 = 0.9461, n=86.$$

Table 1 Summary data for sampling *Amphiprion ocellaris*

Items	Sexuality		
	Female	Male	Immature
Number	20	18	48
Weight (g)			
Mean	7.81 ± 3.50	3.48 ± 1.03	1.62 ± 0.40
Max	17.25	4.95	2.83
Min	4.15	1.48	0.95
Length (mm)			
Mean	6.97 ± 0.78	5.63 ± 0.66	4.11 ± 0.46
Max	8.8	6.4	5.5
Min	5.8	4.4	3.1

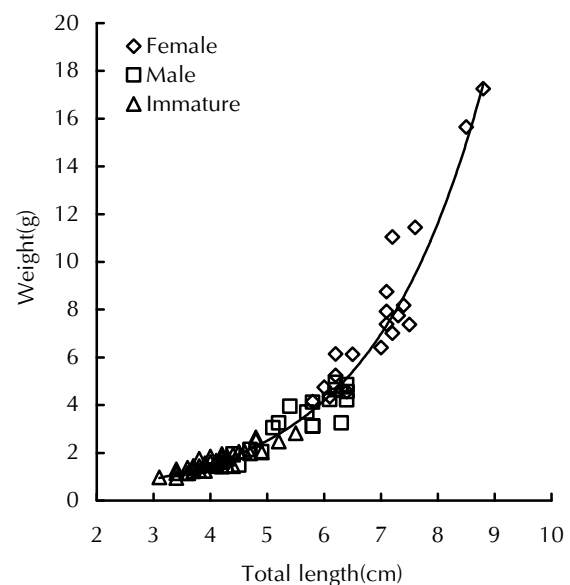


Fig. 1 Relationship between body length (cm) and body weight (g) indices of female, male and immature of *Amphiprion ocellaris*. X= body length, Y= body weight, N=86.

Table 2 Spawning records from one pair of brooders in 2006

No. of spawning	Spawning		Spawning interval (day)	Hatching		
	Date	Time		Date	Time of turning off the light	Days after spawning
1	Jan. 02	14:00~14:50	—	Jan. 10	18:00~19:00	8
2	Jan. 16	14:00~15:00	14	Jan. 24	18:00~19:00	8
3	Feb. 05	13:30~14:30	20	Feb. 13	18:00~19:00	8
4	Feb. 19	12:50~13:40	14	Feb. 28	18:00~19:00	9
5	Mar. 02	13:20~14:25	11	Mar. 12	18:00~19:00	10
6	Mar. 19	13:20~14:25	17	Mar. 28	18:00~19:00	9
7	Apr. 07	09:00~09:50	19	Apr. 15	18:00~19:00	8
8	Apr. 25	09:00~09:50	18	May 04	18:00~19:00	9
9	May 09	13:30~14:20	14	May 17	18:00~19:00	8
10	May 23	10:10~10:55	14	May 30	18:00~19:00	7
11	Jun. 06	09:45~10:25	14	Jun. 13	19:00~20:00	7
12	Jun. 17	12:20~13:15	11	Jun. 24	19:00~20:00	7
13	Jun. 28	13:20~14:10	11	Jul. 04	19:00~20:00	7
14	Jul. 09	13:45~14:30	11	Jul. 16	19:00~20:00	7
15	Jul. 23	11:00~11:50	14	Jul. 30	19:00~20:00	7
16	Aug. 03	12:20~13:10	11	Aug. 10	19:00~20:00	7
17	Aug. 14	13:30~14:30	11	Aug. 20	19:00~20:00	6
18	Aug. 25	10:30~11:20	11	Sep. 01	19:00~20:00	7
19	Sep. 05	14:10~14:50	11	Sep. 12	19:00~20:00	7
20	Sep. 16	11:20~12:15	11	Sep. 23	19:00~20:00	7
21	Sep. 29	11:20~12:15	13	Oct. 06	19:00~20:00	7
22	Oct. 10	13:35~14:30	11	Oct. 17	19:00~20:00	7
23	Oct. 20	13:30~14:30	10	Oct. 27	18:00~19:00	7
24	Oct. 31	13:30~14:30	11	Nov. 08	18:00~19:00	8
25	Nov. 16	13:00~14:00	16	Nov. 24	18:00~19:00	8
26	Nov. 29	13:20~14:30	13	Dec. 07	18:00~19:00	8
27	Dec. 13	12:30~13:20	14	Dec. 22	18:00~19:00	9
28	Dec. 28	13:30~14:30	15	Jan. 05	18:00~19:00	8
Average			13.0	7.6		

二、親魚產卵與護卵

本試驗觀察眼斑海葵魚親魚一對，自 2006 年 1 月 2 日至 2006 年 12 月 28 日計產卵 28 次 (Table 2)，產卵間隔約 10 ~ 19 日，平均產卵間隔為 13 天，平均孵化時間為 7.6 天，產卵時間在 09:00 ~ 15:00，大部份集中在 11:00 ~ 14:30，產卵行為持續約 1 個多小時，其繁殖行為模式如 Fig. 2 所示。產卵前 2 ~ 3 日親魚會選擇旁邊有海葵生長之岩石為產卵床，雌、雄魚會積極以其口啄除產卵床上之藻類及沉積物，此種清潔行為越接近產卵

時間會越頻繁，直至開始產卵才會停止。接近產卵前的 2 ~ 3 hr，雌魚、雄魚生殖突起明顯突出，雌魚之生殖突起，較雄魚粗大，且突起前端為圓鈍狀，而雄魚則為細尖狀，因此如觀察到親魚有清理產卵床行為、雌魚腹部明顯膨大、生殖突起明顯突出，則可判定種魚即將產卵。

親魚產卵結束後會在卵床上護卵，一般是以胸鰭煽動水流為主，親魚也會以口啄除死卵，越接近孵化日以胸鰭煽動水流之頻率增加，即使是在零照度的環境下，親魚以胸鰭煽動水流之行為仍持續至仔魚全部孵化。Figure 3 為眼斑海葵魚雌

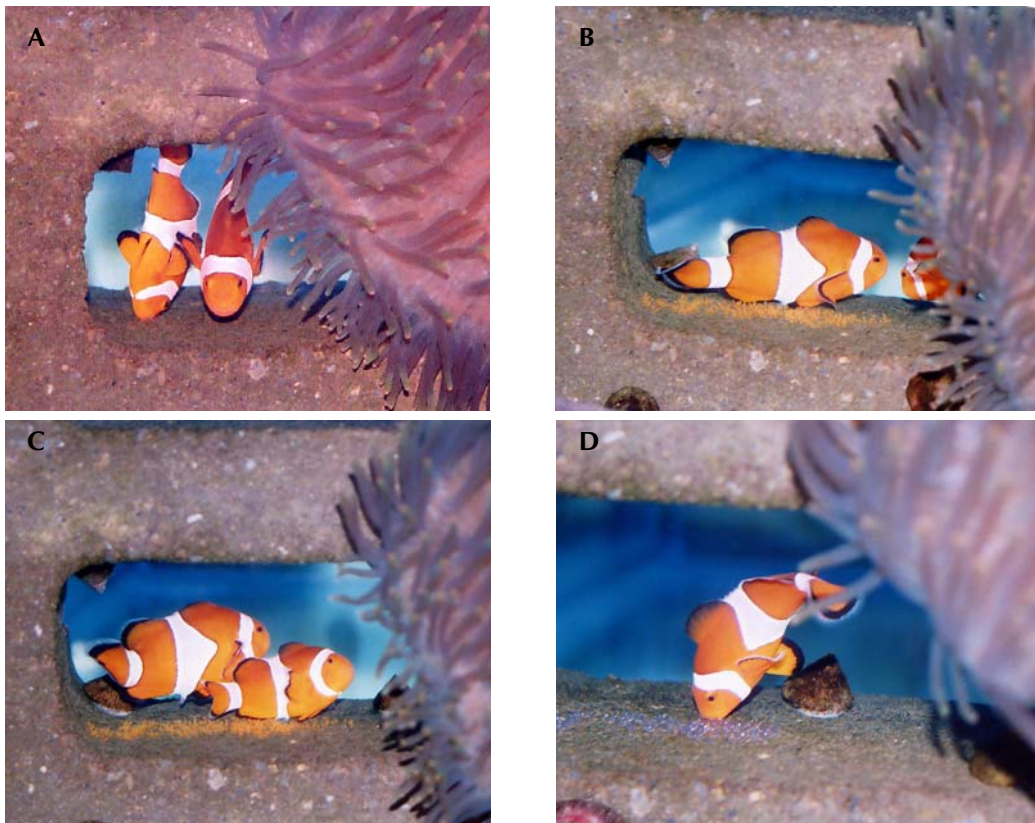


Fig. 2 Spawning behavior of *Amphiprion ocellaris*. A, Breeders clean the substrate together; B, Spawning female; C, Milt oozing from male; D, Breeders take care the fertilized eggs.

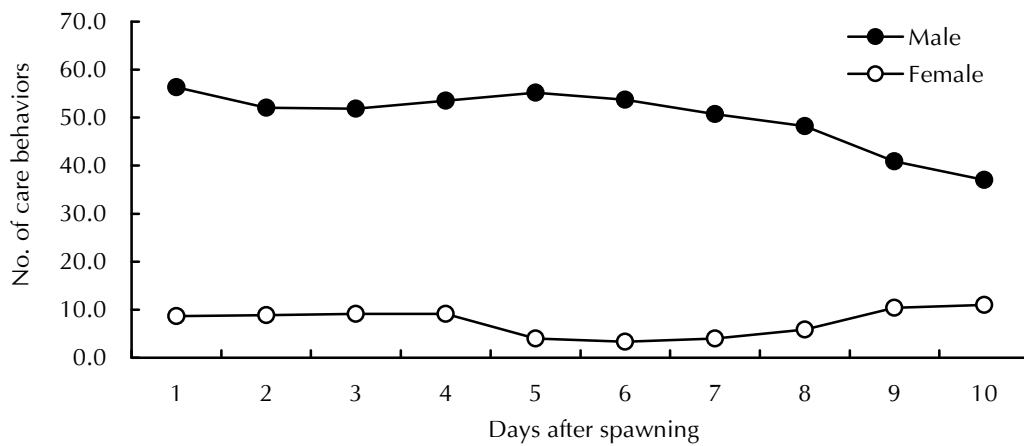


Fig. 3 The parental care behaviors for the ovum occurred times/30 minutes of *Amphiprion ocellaris*.

雄每 30 min 之平均護卵次數，在孵化期間內雄魚 30 min 內之護卵次數為 30 ~ 45.2 次，而雌魚則為 0.3 ~ 13.8 次，雌雄護卵次數有顯著差異 ($p < 0.05$)，且 2 及 3 齡親魚亦有相同的情形，推論眼斑海葵魚之護卵工作主要是由雄魚擔任。

三、受精卵與胚胎發育

眼斑海葵魚剛產出之卵粒為黃橙色到橘紅色，其實是反映卵黃之顏色所致，受精卵之平均長徑為 2.32 ± 0.10 mm；平均短徑為 0.95 ± 0.07 mm；

Table 3 Embryo development of *Amphiprion ocellaris*

Duration (h:min)	Water temperature (°C)	Description
00:00	28.0	Fertilized eggs (Long: 2.32 ± 0.1 mm; Diameter: 0.95 ± 0.07 mm; Yolk length: 1.44 ± 0.12 mm)
00:35	28.2	2-cell stage
01:05	28.2	4-cell stage
01:45	28.2	8-cell stage
02:10	29.0	16-cell stage
02:35	29.5	32-cell stage
03:00	29.8	64-cell stage
03:55	30.1	Morula stage
09:50	29.3	Gastrula stage
14:55	29.9	1/2 of yolk was covered with blastodisc
18:30	29.9	2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared
21:10	29.5	Optic vesicles appeared, 5 somites
25:20	29.5	Auditory vesicles formed
27:25	30.0	Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac
32:35	30.5	Heart-beat began and heart rate: 84–96 times/min
47:55	30.5	The head of embryo turned to the top of egg
57:50	29.5	Chromatoplasm precipitated on eyes
66:10	30.5	The original form of pectoral fin was visible
79:00	30.0	The original form of gill cover was visible
90:00	30.0	Guanine began to accumulate on eyes, but not to achieve the degree of coruscation
96:05	30.0	Pectoral fin swung sometime
114:35	29.9	Pectoral fin had the fin rays
124:25	29.9	Caudal fin had the fin rays
146:40	30.0	The time was 04:02 before hatching, and gill cover swung sometime
150:45	30.0	Hatching, 4.35 ± 0.14 mm in total length

平均卵黃徑為 1.44 ± 0.12 mm，內有 $0.03 \sim 0.25$ mm 之油球數個，受精卵呈長橢圓形，偏動物極之頂端具有棉絮狀之附著絲，其功用在使用使卵粒黏附於產卵床上。

眼斑海葵魚受精卵之胚胎發育過程如 Table 3 及 Fig. 4 所示，在不控溫下孵化水溫介於 $28.0 \sim 30.5$ °C，鹽度介於 $34 \sim 35$ psu 下，受精後 35 min，胚胎發育為 2 細胞期 (Fig. 4A)；1 hr 5 min 為 4 細胞期 (Fig. 4B)；1 hr 45 min 為 8 細胞期 (Fig. 4C)；2 hr 10 min 為 16 細胞期 (Fig. 4D)；2 hr 35 min 為 32 細胞期 (Fig. 4E)；3 hr 為 64 細胞期

(F)；3 hr 55 min 為桑實期 (Morula stage) (Fig. 4G)；9 hr 50 min 為原腸期 (Gastrula stage) (Fig. 4H)；14 hr 55 min 後，囊胚覆蓋卵黃二分之一 (Fig. 4I)；18 hr 30 min 後，囊胚覆蓋卵黃三分之二，且胚體出現 (Fig. 4J)；21 hr 10 min 後，眼胞已形成並具 5 體節 (Fig. 4K)；25 hr 20 min 後，耳胞形成 (Fig. 4L)；27 hr 25 min 後，眼胞內晶體形成，尾部也已形成並與卵黃囊分離 (Fig. 4M)；32 hr 35 min 後，已可見心臟搏動，每分鐘 $84 \sim 96$ 次，胚體偶而痙攣般扭動 (Fig. 4N)；47 hr 55 min 後，胚體頭部移至卵的前端，卵黃及胚體上已出現色素胞，

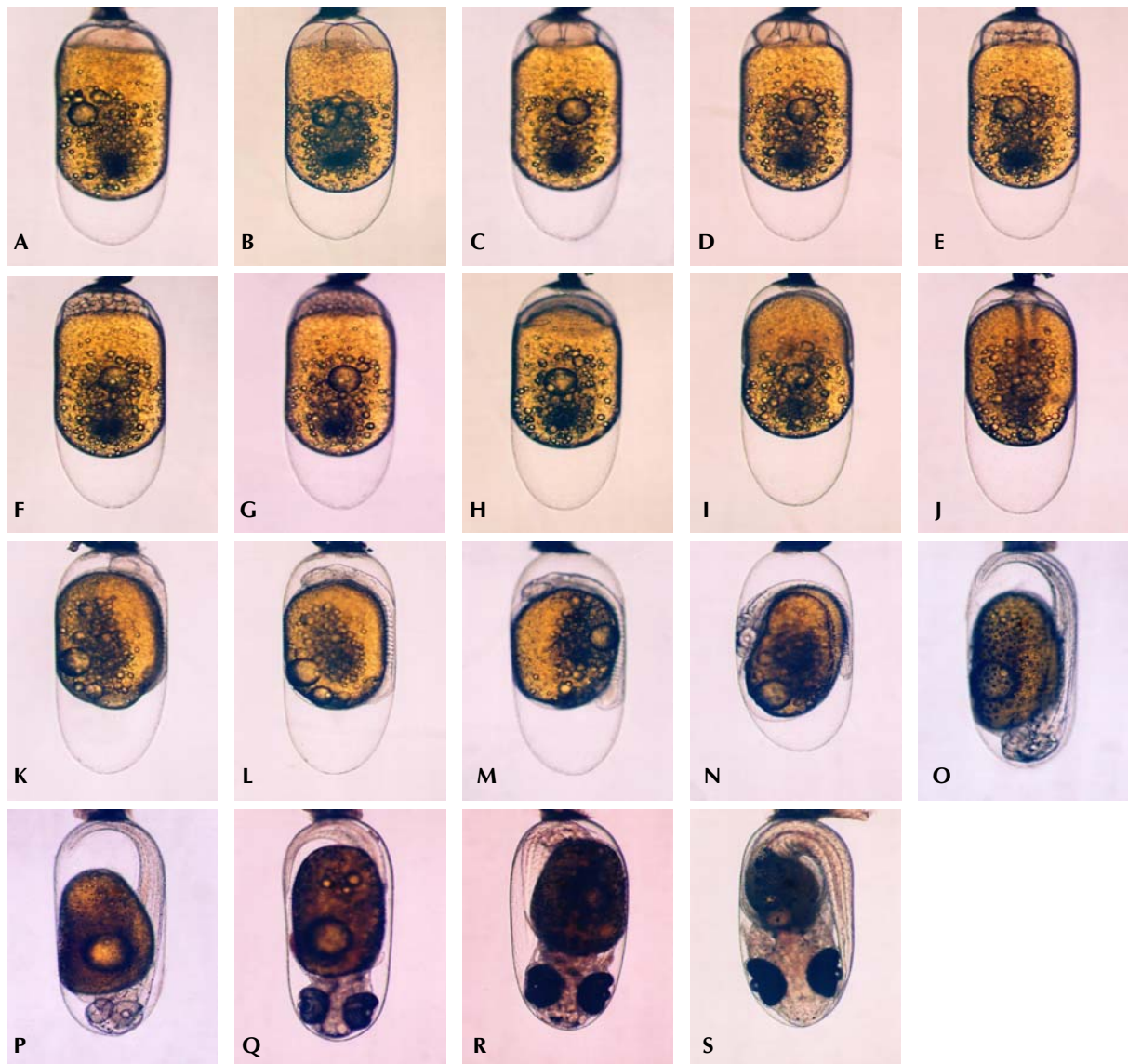


Fig. 4 Embryo development of *Amphiprion ocellaris*. A, Two-cell stage; B, Four-cell stage; C, Eight-cell stage; D, 16-cell stage; E, 32-cell stage; F, 64-cell stage; G, Morula Stage; H, Gastrula stage; I, 1/2 Of yolk was covered with blastodisc; J, 2/3 Of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared; K, Optic vesicles appeared, 5 somites; L, Auditory vesicles formed; M, Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac; N, Embryo moved spastically, and heart-beat began; O, The head of embryo turned to the top of egg, chromatophore was visible on embryo and yolk; P, Chromatoplasm precipitated on eyes; Q, The original form of pectoral fin was visible; R, Guanine accumulated on eyes; S, The time was 4,02 before hatching.

體液循環清晰可見 (Fig. 4O)；57 hr 50 min 後，胚體眼上已見色素沉著 (Fig. 4P)；66 hr 10 min 後，胸鰭原基已形成 (Fig. 4Q)；90 hr 後，胚體眼上已積聚烏糞素 (Fig. 4R)；146 hr 40 min 暨孵化前 4 hr，鰓蓋偶而擺動 (Fig. 4S)；剛孵化之仔魚體長為 4.35 ± 0.14 mm (Fig. 5A)。

Table 4 為不同水溫下，眼斑海葵魚受精卵胚胎發育與時間的關係，將親魚飼養於水溫 23 ± 1 、 26 ± 1 及 29 ± 1 °C 環境下，結果胚胎發育至 2 細胞期所需時間 分別為 0.75 ± 0.08 hr、 0.67 ± 0.08 hr 及 0.58 ± 0.08 hr；至桑實期所需時間分別為 7.0 ± 0.17 hr、 4.92 ± 0.17 hr 及 3.75 ± 0.17 hr，此時 23

Table 4 Embryo development under different temperature of *Amphiprion ocellaris*

Duration (h:min)			Description
23±1℃	26±1℃	29±1℃	
0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	Fertilized eggs (Long: 1.93–2.31 mm; Diameter: 0.82–0.98 mm; Egg yolk long: 1.37–1.76 mm; Oil globule: 0.03–0.24 mm)
0.75 ± 0.08	0.67 ± 0.08	0.58 ± 0.08	2-cell stage
2.0 ± 0.08	1.75 ± 0.08	1.0 ± 0.08	4-cell stage
2.67 ± 0.08	2.17 ± 0.08	1.67 ± 0.08	8-cell stage
3.33 ± 0.08	2.75 ± 0.08	2.08 ± 0.08	16-cell stage
4.25 ± 0.08	3.41 ± 0.08	2.33 ± 0.08	32-cell stage
5.33 ± 0.17	4.0 ± 0.08	2.92 ± 0.08	64-cell stage
7.0 ± 0.17	4.92 ± 0.17	3.75 ± 0.17	Morula stage
19.17 ± 0.83	16.25 ± 0.25	9.67 ± 0.17	Gastrula stage
26.5 ± 1.0	22.5 ± 0.25	14.75 ± 0.17	1/2 of yolk was covered with blastodisc
37.17 ± 1.0	31.41 ± 0.58	20.92 ± 0.25	Optic vesicles appeared, 5 somites
45.17 ± 1.17	38.33 ± 0.58	25.08 ± 0.25	Auditory vesicles formed
49.83 ± 1.17	41.5 ± 0.75	27.0 ± 0.41	Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac
87.17 ± 1.33	76.17 ± 0.83	56.92 ± 0.92	Chromatoplasm precipitated on eyes
99.0 ± 1.33	86.17 ± 1.0	65.41 ± 1.08	The original form of pectoral fin was visible
111.5 ± 1.33	97.25 ± 1.08	77.92 ± 1.08	The original form of gill cover was visible
131.0 ± 1.5	115.83 ± 1.17	95.0 ± 1.08	Pectoral fin swung sometime
150.08 ± 1.5	135.0 ± 1.5	112.08 ± 1.5	Pectoral fin had the fin rays
163.41 ± 1.5	146.5 ± 1.5	122.83 ± 1.58	Caudal fin had the fin rays
197.92 ± 1.67	173.67 ± 1.75	148.92 ± 1.67	Hatching, 4.35 ± 0.14 mm in total length

與 29℃ 下，胚胎發育所需時間已經相差 10 hr；在水溫 23 ± 1℃ 下，仔魚孵化所需時間為 197.92 ± 1.6 hr，大約是 8 天；在水溫 26 ± 1℃ 下，仔魚孵化所需時間為 173.67 ± 1.75 hr，大約是 7 天；在水溫 29 ± 1℃ 下，仔魚孵化所需時間為 148.92 ± 1.67 hr，大約是 6 天。根據結果發現眼斑海葵魚孵化所需的時間與水溫成負相關變化，在水溫 29、26 及 23℃ 下仔魚孵化天數分別為 6、7 及 8 天。

四、仔稚魚苗形態變化及育苗

剛孵化之仔魚平均體長為 4.35 ± 0.14 mm，根據觀察發現仔魚具驅光性，利用此特性使用聚光燈收集仔魚，隨著成長仔魚驅光性變弱。Figure 5

為眼斑海葵魚仔稚魚形態變化過程，根據觀察發現剛孵化仔魚 (Fig. 5A) 後會浮游於培育槽中上層，可以開始投餵輪蟲，以 150 目的浮游生物網，篩選出大小約為 120 ~ 150 μm 之輪蟲，以作為眼斑海葵魚仔稚魚之初期餌料生物。育苗水溫 28.0 ~ 30℃；孵化後第 1 日 (Fig. 5B) 仔魚口徑已達 530 ~ 670 μm，輪蟲投餵量保持在 5 ~ 10 隻/ml。孵化後第 2 日仔魚分佈於培育槽之中、上層較少，下層偏多；孵化第 3 日 (Fig. 5C)，仔魚全長 4.78 mm，胸鰭分化已具鰭條，尾鰭正開始要分化，其餘各鰭均成原鰭狀；孵化第 5 日仔魚 (Fig. 5D)，全長 5.28 mm，背鰭 IV + 15，臀鰭 II + 11，尾鰭軟條數為 16 (分節 11、不分節 5)；孵化第 7 日仔魚 (Fig. 5E)，全長 6.13 mm，背鰭 X + 15，臀鰭 II + 12，

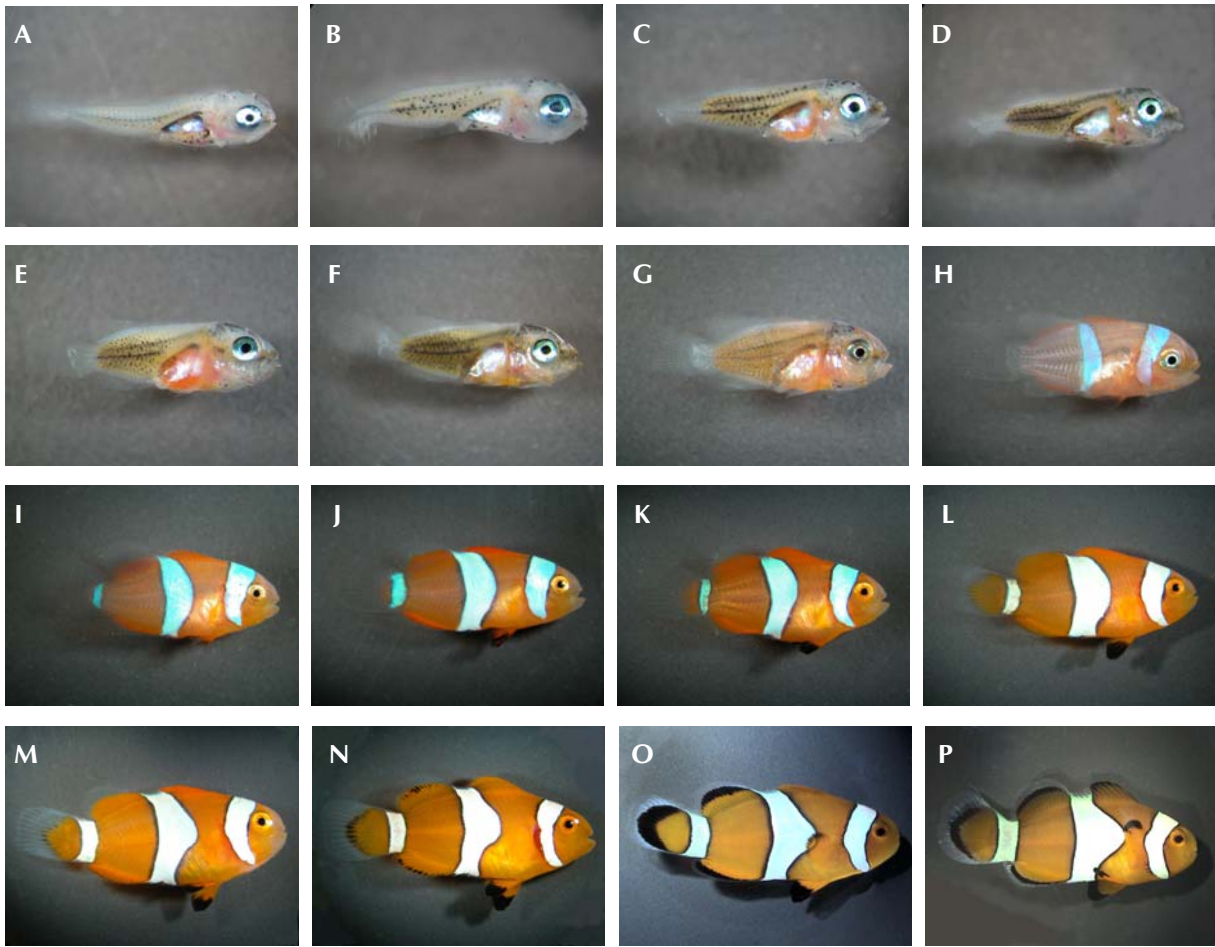


Fig. 5 The morphological changes of the *Amphiprion ocellaris* at larval and fry stage. A, Newly-hatched larva, 4.35mm in total length; B, One-day old larva, 4.37mm in total length; C, Three-day old larva, 4.78mm in total length; D, Five-day old larva, 5.28mm in total length; E, Seven-day old larva, 6.13mm in total length; F, Nine-day old larva, 6.40mm in total length; G, Eleven-day old larva, 7.25mm in total length; H, 13-day old larva, 8.34mm in total length; I, 16-day old larva, 11.15mm in total length; J, 19-day old larva, 13.58mm in total length; K, 23-day old larva, 13.94mm in total length; L, 26-day old larva, 16.02mm in total length; M, 36-day old fry, 18.72mm in total length; N, 44-day old fry, 21.77mm in total length; O, 59-day old fry, 25.60mm in total length; P, 160-day old fry, 38.58mm in total length.

尾鰭軟條數為 21 (分節 16、不分節 5)，至此仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已與成魚一致。

孵化第 9 日仔魚 (Fig. 5F)，全長 6.40 mm，直到第 12 日同一批次之所有仔魚才陸續發育至此一階段；從第 10 日起餌料方面開始兼投橈腳類；孵化第 11 日仔魚 (Fig. 5G)，全長 7.25 mm，體色開始轉變為橘紅色；孵化第 13 日仔魚 (Fig. 5H)，全長 8.34 mm，體側出現兩條白色橫帶；孵化第 16 日仔魚 (Fig. 5I)，全長 11.15 mm，尾柄部出現第三條白色橫帶，可以完全投予橈腳類；孵化第 19 日仔魚 (Fig. 5J)，全長 13.58 mm，腹鰭開始轉變為黑色；孵化第 23 日仔魚 (Fig. 5K)，全長 13.94 mm；

孵化第 26 日仔魚 (Fig. 5L)，全長 16.02 mm，腹鰭完全轉變為黑色；孵化第 36 日仔魚 (Fig. 5M)，全長 18.72 mm，此時可以兼投人工粒狀飼料；孵化第 44 日仔魚 (Fig. 5N)，全長 21.77 mm，尾鰭、臀鰭及從第二橫帶後之背鰭的透明部內側，開始轉變為黑色；孵化後第 45 日，魚苗之全長為 17.75 ~ 24.50 mm，已可以完全接受人工粒狀飼料；孵化第 59 日仔魚 (Fig. 5O)，全長 25.60 mm，尾鰭、臀鰭及從第二橫帶後之背鰭的透明部內側，完全轉變為黑色，胸鰭透明部內側，開始轉變為黑色；孵化第 160 日仔魚 (Fig. 5P)，全長 38.58 mm，胸鰭透明部內側，完全轉變為黑色第二橫帶前之背

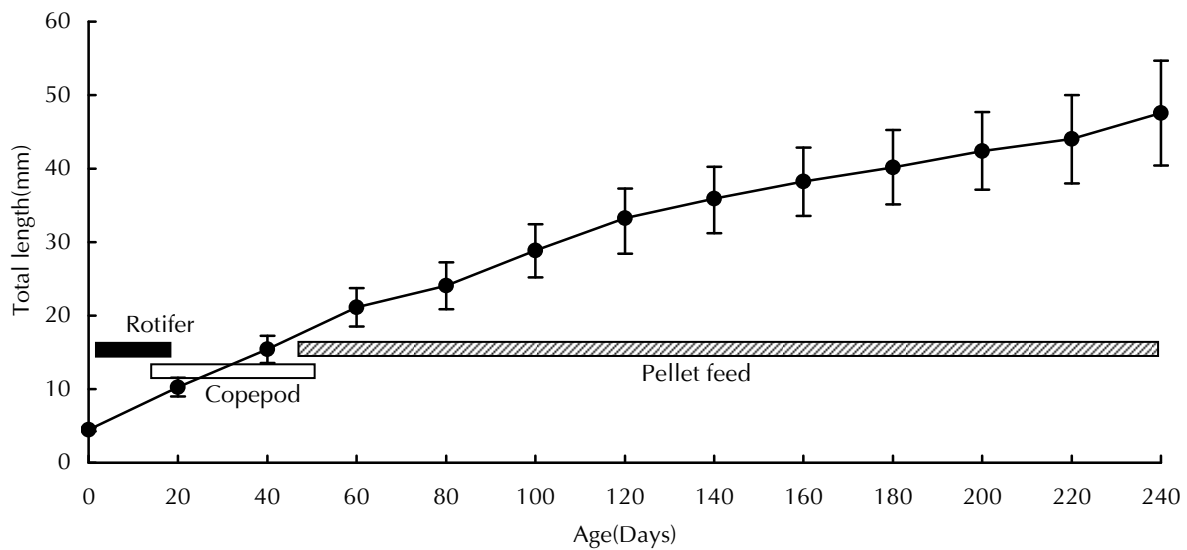


Fig. 6 Growth performance of *Amphiprion ocellaris* fed with different diets.

鰭外緣，已轉變為黑色，至此魚苗之體色斑紋，已與成魚一致。

Figure 6 為眼斑海葵魚仔稚魚之成長過程全長之變化與餌料種類，試驗中發現海葵魚育苗時必須注意投餌時機，在水溫 24 ~ 26 °C 下，剛孵化之魚苗最好馬上投餵輪蟲，因為魚苗孵化後不久即可開口攝食餌料生物，若是投餌太遲可能造成魚苗死亡；輪蟲投餌時間從第 1 天開始到第 15 天左右，其中第 10 天以後可以兼投小型之橈腳類，第 16 天開始可以完全投餵橈腳類，20 天第一次採樣結果標準體長為 10.26 ± 0.88 mm，35 天開始可以兼投人工飼料，大約在 45 天以後魚苗可以完全投餵人工飼料。100 天測量標準體長為 28.85 ± 1.96 mm；240 天試驗結束測量標準體長為 47.56 ± 4.67 mm。

五、不同輪蟲密度對仔魚成長及活存率之影響

Figure 7 為眼斑海葵魚仔魚在不同輪蟲密度下 3 天後之平均活存率與成長率，仔魚之平均初體長為 4.43 mm，投餵 3 天後，1,000 rotifer/L 組之仔魚平均體長為 5.62 mm，平均成長率最低 (26.81 %) 與 5,000 rotifer/L 組 (5.99 mm；35.3 %) 及 10,000 rotifer/L 組 (6.0 mm；35.48 %) 間有顯著差異 ($p < 0.05$)，而 5,000 rotifer/L 與 10,000 rotifer/L 兩組間則無顯著差異 ($p > 0.05$)。各組試

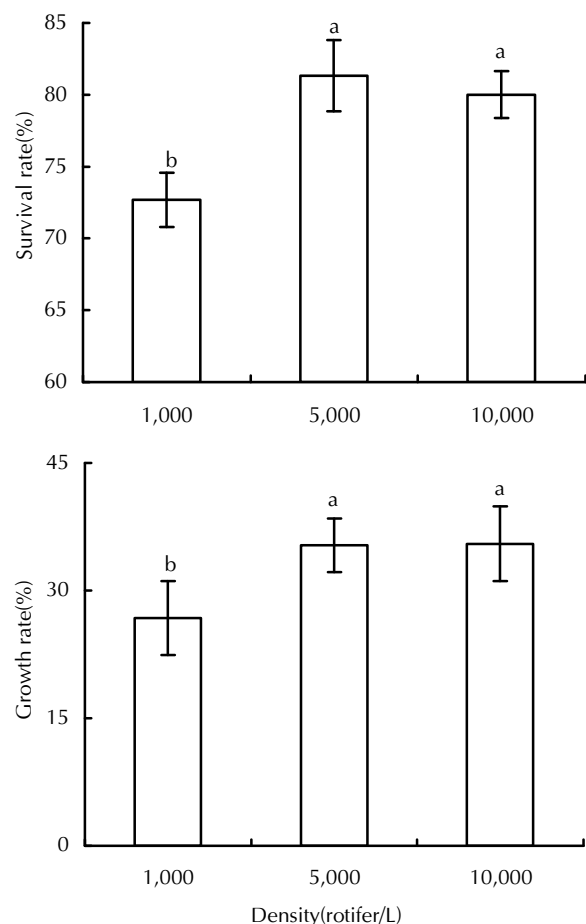


Fig. 7 Survival rate (up) and growth rate (down) of larvae of *Amphiprion ocellaris* fed with different density of rotifer (rotifer/L). Bar denoted by the different letter are significantly different ($p < 0.05$)

Table 5 Assay of symbiosis between sea anemone (*Heteractis magnifica*) and clownfish (*Amphiprion ocellaris*) larvae

Time elapsed (h)	Larvae ¹ before discoloration			Larvae after discoloration		
	Dead	Alive	Mortality ² (%)	Dead	Alive	Mortality ² (%)
2	18	2	90	2	8	10
24	20	0	100 ^a	3	17	15 ^b

¹The tested larvae were 11-day old.²Mortality with different superscripts are significantly different.

驗開始仔魚數為 50 尾，投餵 3 天後以密度 5,000 及 10,000 rotifer/L 組之平均活存率最高，分別為 81.33% 及 80%，兩組平均活存率間無顯著差異 ($p > 0.05$)，但與 1,000 rotifer/L 組平均活存率 72.67 % 間則有顯著差異 ($p < 0.05$)。

六、仔魚與海葵共生之時機

試驗結果如 Table 5 所示，實測 Z 值 (Standardization) = $6.78 > Z_{0.05/2} = 1.96$ ，兩者有差異存在，所以體色已轉變之仔魚，會對海葵的觸手免疫，而體色未轉變之仔魚接觸海葵時會遭受攻擊。觀察 2 hr 發現體色未轉變組之平均死亡率為 90%，而體色已轉變組之平均死亡率為 10%，觀察 24 hr 發現體色未轉變組之平均死亡率為 100%，而體色已轉變組之平均死亡率為 15%。故體色未轉變之仔魚接觸海葵時會遭受攻擊，而導致魚苗會有大量死亡之情形，觀察 24 hr 其死亡率高達 100%，而體色已轉變之仔魚，對海葵觸手發射的刺細胞已經開始有免疫的功能。

討 論

一、種魚培育

目前全世界已知的 28 種海葵魚中，至少有 8 種，其性徵分化是屬於由雄魚轉變為雌魚之雄性先熟型 (Protandrous hermaphrodites)，而其幼魚之生殖腺皆同時具有雌、雄生殖細胞，眼斑海葵魚亦屬之 (Hirose, 1995)。並且眼斑海葵魚生殖群聚中，功能性雄魚之最小個體與第 3 順位魚 (3rd-ranking fish) 之標準體長 (standard length)

差距不大，因此個別生殖群聚間，甚少交流，當群聚中雌魚死亡或撈除時，會依序由其中一尾雄魚變性為雌魚，此即所謂的社會管控 (social control) 現象。本研究之眼斑海葵魚即發現其中一尾雄魚變為雌魚而配對成功，此變性之雌魚會出現腹部明顯膨大之產卵徵兆，惟外部體色則沒有顯著變化，但部分海葵魚則會有明顯的兩色變異，例如粉紅海葵魚雄魚的尾鰭及背鰭軟條部外緣有橘色細紋 (龜井, 1989)，克氏海葵魚成熟雄魚尾鰭或是上緣及下緣具有鮮黃色澤 (Moyer and Bell, 1976; 蔡, 2005)，雌魚則呈乳白色。

本研究發現，眼斑海葵魚雌魚平均體長為 6.97 ± 0.78 cm，平均體重為 7.81 ± 3.50 g；雄魚平均體長為 5.63 ± 0.66 cm，平均體重為 4.95 ± 1.03 g，雌魚的體長、體重大於雄魚。雌性海葵魚為群聚中第一優勢魚，體型最大，第二 (或加上第三) 為雄魚，其餘無性別功能，雌魚失去時有依順序遞補變性的現象 (邵與陳, 1990)。從生殖腺組織學研究中發現，海葵魚群聚中體型最大的個體具有成熟卵巢 (Moyer and Nakazono, 1978)，而所有體型較小的個體，其生殖腺皆同時具有雌、雄生殖細胞，且在這些雌雄同體的生殖腺中，可以見到不同發育期之精巢組織，但卵巢組織中之卵母細胞卻都尚處於早期發育階段之圍核期 (Peri-nucleolus stage)，當體長達到特定體長以上且為群聚中體型最大時，卵母細胞則開始發育成熟、精巢組織則消失退化。眼斑海葵魚卵巢的產卵類型是屬於分批非同步型 (施, 1994)，卵巢中含有各種不同發育時期的卵母細胞，這種類型魚類在一個延續較長的產卵時期中多次分批產卵，根據本研究資料顯示眼斑海葵魚在水溫 $23 \sim 30^\circ\text{C}$ ，可終年不間斷產卵。

二、親魚產卵與護卵

觀察發現眼斑海葵魚的產卵行為與鞍斑海葵魚 (陳等, 2003)、克氏海葵魚 (蔡, 2005)、白條海葵魚 (錢, 2006) 及粉紅海葵魚 (何等, 2006) 相似, 不論是產卵前的清理產卵床行為, 雌雄的產卵行為, 還有親魚的護卵行為等都非常類似。

根據本研究之繁殖記錄發現, 眼斑海葵魚的產卵時間都在 9:00 ~ 15:00 之間完成, 其中 90% 主要集中在 11:00 ~ 14:30 之間, 此與一般海葵魚都是在上午左右產卵 (Allen, 1972)、克氏海葵魚 (蔡, 2005)、白條海葵魚產卵 (錢, 2006) 都集中於上午及鞍斑海葵魚集中於 14:00 ~ 16:00 之結果 (陳等, 2003) 有所差異。上述差異產生之原因可能包括: 魚種、地理位置及光照時間之不同所致。蔡 (2005) 及錢 (2006) 親魚養殖於台灣基隆, 每日提供光照 16 hr, Allen (1972) 的研究則是野外族群, 日照氣候穩定, 而本試驗及陳等 (2003) 親魚養殖於台灣台東, 提供光照 9 hr, 自 8:00 ~ 17:00, 是否因上述原因而產生產卵時間的差異, 則有待進一步研究。

根據本研究發現眼斑海葵魚親魚有護卵行為, 親魚產卵結束後會親自照顧受精卵, 其照顧受精卵的方式是以胸鰭擺動水流為主, 主要目的是為了增加溶氧及加速胚胎代謝物之擴散, 同時親魚也會以口啄除死卵, 以免病菌蔓延而影響孵化率。雖然雌、雄親魚都會護卵, 但主要的護卵工作是由雄魚擔任, 這與鞍斑海葵魚 (陳等, 2003) 及粉紅海葵魚 (何等, 2006) 之情形相同。

三、受精卵與胚胎發育

眼斑海葵魚之產卵數為 300 ~ 1,000, 與粉紅海葵魚產卵數之 300 ~ 700 (何等, 2006) 差異較低, 但與鞍斑海葵魚產卵數之 1,400 ~ 2,000 (陳等, 2003) 則少了許多, 主要原因是眼斑海葵魚體型與粉紅海葵魚相近, 粉紅海葵魚之最大體長為 10.0 cm, 而鞍斑海葵魚之最大體長為 13.0 cm (Lieske and Myers, 1994)。因此, 魚種或親魚體型大小不同, 可能影響產卵數之多寡。

海葵魚剛產出之受精卵為黃橙色到橘紅色, 其實是反映卵黃之顏色所致, 台灣產五種海葵魚受精卵皆呈長橢圓形 (陳等, 2003; 蔡, 2005; 錢,

2006; 何等, 2006), 偏動物極之頂端皆具有棉絮狀之附著絲, 固定受精卵在卵床上。

眼斑海葵魚胚胎適應水溫的範圍為 22 ~ 29 °C, 和一般典型暖水性海水魚類, 如藍身石斑 (*Epinephelus tukula*) 為 27 ~ 30 °C (葉, 2003)、點帶石斑 (*E. coioides*) 為 22.1 ~ 31 °C (Kawahara *et al.*, 1997) 及短鰭黃臘鰻 (*Trachinotus ovatus*) 為 24 ~ 25.5 °C (何等, 2005) 等類似。受精卵之孵化水溫維持在 29 ± 1 °C, 仔魚在產卵後約第 6 日孵化, 若孵化水溫降至 26 ± 1 °C, 則仔魚孵化時間為產卵後約第 7 日之晚間, 若孵化水溫降至 23 ± 1 °C, 則仔魚孵化時間為產卵後約第 8 日之晚間, 可見溫度愈高胚胎孵化所需的時間愈短 (張, 2003; Falk-Petersen, 2005)。提高孵化水溫之方式, 似乎可以將孵化時間提前, 可以減少人力之浪費, 且不影響仔魚孵化率 (何等, 2006)。

一般海水魚類受精卵孵化所需的時間約 1 天左右, 如鞍帶石斑在水溫 28 ~ 29 °C 孵化所需的時間為 19.6 hr (何等, 1997), 青點石斑在水溫 27.8 °C 孵化所需的時間為 20.17 hr (葉等, 1991), 黃錫鯛在水溫 20 ~ 24 °C 孵化所需的時間為 32 hr (林等, 1988), 上述魚種仔魚孵化後 2 ~ 3 天內浮游於水面, 而眼斑海葵魚受精卵孵化所需時間需 6 ~ 8 天, 剛孵化之仔魚其口器、消化道完整, 卵黃囊已消失殆盡, 因此可以很快攝食餌料生物, 不像上述海水魚要等到卵黃囊消失後才需進食。

本研究觀察眼斑海葵魚胚胎發育速度與 Liew *et al.* (2006)、何等 (2006) 及陳等 (2003) 之結果相近, 而與蔡 (2005) 觀察克氏海葵魚之結果不符, 可能原因有孵化水溫及受精卵大小問題, Falk-Petersen (2005) 認為囊胚的發育形成與種間或繁殖水溫有關, 較高水溫會加速胚胎發育。本研究與陳等 (2003)、何等 (2006) 及 Liew *et al.* (2006) 之胚胎發育水溫皆高於 26 °C, 較蔡 (2005) 試驗水溫 25 ± 0.5 °C 高, 因此造成胚胎發育速度上的差異。

四、仔稚魚苗形態變化及育苗

眼斑海葵魚之卵粒為沉性附著卵, 多數沉性卵從受精到孵出的時間較長 (朱, 1997), 因此在孵出時, 口、肛門都已開, 運動力也較強; 仔魚

孵化後可以馬上投餵輪蟲，於 8 hr 後鏡檢仔魚，已見其攝食輪蟲，因此眼斑海葵魚仔魚孵化後 8 hr 內，即可開始投餵初期餌料。Ballard (1976) 曾描述鞍斑海葵魚之生殖生態及育苗情形，當時以海膽及貽貝受精卵為仔魚初期餌料生物，雖已成功培育仔魚但活存率很低；本研究以 150 目的浮游生物網，篩選出背甲長 120 ~ 150 μm 可以通過 150 目浮游生物網之輪蟲，作為初期餌料生物，培育至 30 日齡之魚苗其活存率可高達 25 %。剛孵化之仔魚其口徑及口幅分別為 450 ~ 750 μm 與 450 ~ 500 μm ，所以 150 目的浮游生物網篩選出之輪蟲其大小適合做為眼斑海葵魚仔魚之初期餌料生物，而貽貝受精卵卵徑約 70 μm (Ballard, 1976)、海膽受精卵卵徑約 100 μm (Moyer and Nakazono, 1978) 且懸浮性較差，因此培育眼斑海葵魚仔魚，應以輪蟲作為初期餌料生物較合適，而貽貝及海膽之受精卵則較差。而 Coughlin (1994) 指出粉紅海葵魚仔魚於首次攝取外源性營養時，與他種魚類之仔魚比較時，有著極高之攝餌成功機率，即使他種魚類仔魚之首次攝餌體長大於粉紅海葵魚仔魚時，情況也是如此。

有學者指出，魚苗剛開口應提供符合本身卵黃囊組成相近的營養或是餌料生物，以利仔魚的代謝吸收，將可提高魚苗活存率 (Tocher and Sargent, 1984; Heming and Buddington, 1988)。因此為考慮育苗階段仔魚之營養需求，餌料生物之提供應該注意各個餌料生物的重疊使用，此育苗之方式在海水笛鯛、海鱸及石斑魚皆證明有正面的效果 (Toledo *et al.*, 1999; Su *et al.*, 2001)。眼斑海葵魚育苗過程也發現，第 11 天開始可以兼投橈腳類，亦即 11 ~ 15 天期間輪蟲及橈腳類都要投放，如此可以提高仔稚魚的育成率。

五、不同輪蟲密度對仔魚成長及活存率之影響

眼斑海葵魚仔魚初期游泳及攝食能力較差，可能導致種苗活存及成長低下的問題發生，在產業上為因應大量生產的需要，必須克服上述這些問題，以提高種苗之活存率及成長率。Puvanendran and Brown (1999) 以不同輪蟲密度投餵 Atlantic cod (*Gadus morhua*)，結果顯示以高密度(4 ~ 16 rotifer/ml) 組別比低密度 (<2 rotifer/ml) 有顯著

的活存率及成長率，其中 4 rotifer/ml 處理組之活存率最高。陳等 (2003) 在鞍斑海葵魚 (*A. polymnus*)，何等 (2006) 在粉紅海葵魚 (*A. perideraion*) 之生殖行為及育苗研究中發現，投餵初生魚苗所建議使用之輪蟲密度為 7 ~ 13 rotifer/ml。錢 (2006) 在白條海葵魚投餵輪蟲密度 10 rotifer/ml 處理組較投餵 1 rotifer/ml 與 5 rotifer/ml 處理組對有顯著的成長率，但投餵 5 rotifer/ml 處理組較 1 rotifer/ml 與 10 rotifer/ml 處理組對有顯著的活存率，因此錢 (2006) 建議在提高魚苗活存率為前提之下，以密度 5 rotifer/ml 處理組為佳。Gordon and Hecht (2002) 在觀察 *A. percula* 消化系統發育實驗中，投餵密度為 5 rotifer/ml。眼斑海葵魚仔魚初期投餵輪蟲密度建議為 5 rotifer/ml，且在飼育過程中添加微藻其活存率與無添加微藻組有顯著差異，在成長率上也是有顯著差異 (何, 2007)。

六、仔魚與海葵共生之時機

關於海葵魚仔魚與海葵共生之時機，Ballard (1976) 表示當仔魚仍處於浮游階段，接觸海葵時會遭受攻擊，而當仔魚開始行底棲生活時，才會對海葵的觸手免疫。Murata *et al.* (1986) 認為小丑魚與海葵間，在第一次遭遇時，有一種辨識物質存在，藉由這種化學物質的辨認，使小丑魚找到可和它共生的海葵，隨著海葵與小丑魚種類之不同，吸引的化學物質也有差異，而從 *Radianthus kuekenthali* 身上分析出，吸引粉紅海葵魚的有機化合物為 Amphikuemin (Konno *et al.*, 1990)。收集培育眼斑海葵魚之初孵仔魚時，可觀察到初孵仔魚約有 5 ~ 10% 之死亡率，推測部份仔魚於孵化後，碰觸海葵，而遭海葵刺絲胞攻擊所致。

謝辭

本研究經費由行政院農業委員會 93 農科-9.2.1-水 A6 及 94 農科-14.2.1-水 A4 計畫項下支助，執行期間承蒙蘇所長偉成、蘇副所長茂森及劉主任秘書燈城惠賜寶貴建議與鼓勵，東部海洋生物研究中心董家宏及李任棋先生協助仔稚魚培育，使本研究能順利完成，併此表達由衷之謝意。

參考文獻

- 朱祥海 (1997) 發生和變態. 魚類學, 173-186.
- 沈世傑 (1993) 台灣魚類誌. 國立台灣大學動物學系, 225.
- 沈明來 (1997) 兩獨立樣品比較. 實用無母數統計學與記數資料分析, 九州圖書文物有限公司, 台北, 147-183.
- 何源興, 陳文義, 廖一久 (1997) 鞍帶石斑 *Epinephelus lanceolatus* 之人工繁殖. 水產研究, 5(2): 129-139.
- 何源興, 陳哲明, 陳文義 (2005) 短鰭黃臘鰱的人工誘導產卵及其初期發育. 水產研究, 13(2): 25-32.
- 何源興, 陳哲明, 施勝中, 陳文義 (2006) 粉紅海葵魚之生殖行為及育苗研究. 水產研究, 14(2): 57-67.
- 何源興 (2007) 眼斑海葵魚之人工繁殖與育苗. 國立台東大學生命科學研究所碩士論文.
- 林金榮, 張仁謀, 劉繼源, 方玉昆, 陳其林, 莊成意, 涂嘉猷 (1988) 黃錫鯛之人為自然產卵及胚胎發育. 台灣省水產試驗所試驗報告, 45: 1-16.
- 邵廣昭, 陳麗淑 (1990) 克氏海葵魚. 海水觀賞魚 (一), 129.
- 施琬芳 (1994) 生殖. 魚類生理學, 334.
- 陳哲明, 何源興, 陳文義 (2003) 鞍斑海葵魚之生殖行為及育苗研究. 水產研究, 11(1 & 2): 29-38.
- 張賜玲 (2003) 日本鰻人工繁殖相關基礎面的研究. 國立台灣大學動物學研究所博士論文.
- 葉信利, 朱永桐, 丁雲源 (1991) 人工育成石斑種魚繁殖之研究—青點石斑胚胎之發育及與瑪拉巴石斑雜交之比較. 台灣省水產試驗所試驗報告, 50: 197-216.
- 葉信利 (2003) 誘導石斑魚性轉變之研究. 國立台灣海洋大學水產養殖研究所博士論文.
- 蔡宇鴻 (2005) 飼料中添加類固醇激素對克氏海葵魚性轉變之影響及生殖研究. 國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文.
- 錢昇威 (2006) 白條海葵魚胚胎與仔魚之發育及餵食不同微藻滋養之輪蟲對魚苗成長及活存研究. 國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文.
- 龜井良昭 (1989) ハナビラクマノミ *Amphiprion perideraion*. 海水魚の繁殖 (鈴木克美, 高松史朗編), 綠書坊, 日本, 69-71.
- Allen, G. R. (1972) The Anemonefishes. TFH Publications, Inc. Surray England, pp 288.
- Allsop, D. J. and S. A. West (2003) Constant relative age and size at sex change for sequentially hermaphroditic fish. J. Evol. Biol., 16: 921-929.
- Ballard, J. (1976) Breeding clownfish. Bull. S. Afr. Assoc. Biol. Res., 12: 101-106.
- Buston, P. (2003) Size and growth modification in clownfish. Nature, 424: 145-146.
- Coughlin, D. J. (1994) Suction prey capture by clownfish larvae (*Amphiprion perideraion*). Copeia, 1: 242-246.
- Daphne, G. F. and G. R. Allen (1997) Anemone fishes and their host sea anemones. Western Australian Museum., Australian, 160pp.
- Falk-Petersen, I. B. (2005) Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. Fish Shellfish Immun., 19: 397-412.
- Gordon, A. K. and T. Hecht (2002) Histological studies on development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. J. Appl. Ichthyol., 18: 113-117.
- Hattori, A. (1991) Socially controlled growth and size dependent sex change in the anemonefish *Amphiprion frenatus* in Okinawa. Jap. J. Ichthyol., 38: 165-177.
- Hattori, A. (2001) Social and mating systems of the protandrous anemonefish *Amphiprion perideraion* under the influence of a larger congener. Aust. Ecol., 25: 187-192.
- Heming, T. A. and R. K. Buddington (1988) Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Fish Physiology (eds S. Hoar and D.J. Randall), Vol. XIA, 407-446.
- Hirose, Y. (1995) Patterns of pair formation in protandrous anemonefishes, *Amphiprion clarkii*, *A. frenatus* and *A. perideraion*, on coral reefs of Okinawa, Japan. Environ. Biol. Fish., 43: 153-161.
- Kawahara, S., A. J. Shams, A. A. Al-Bosta, M. H. Mansor and A. A. Al-Baqal (1997) Effects of incubation and spawning water temperature, and salinity on egg development of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, Serranidae. Asian Fish. Sci., 9: 239-250.
- Konno, K., G. W. Qin, K. Nakanishi, M. Murata and Y. Naya (1990) Synthesis of amphikuemin and analogs: A synomone that mediates partner recognition between anemonefish and sea anemone. Heterocycles, 30: 247-252.
- Korringa, P. (1947) The mood and periodicity in breeding of marine animals. Ecol. Monographs., 17: 349-381.
- Lieske, E. and R. Myers (1994) Collins Pocket Guide. Coral reef fishes. Indo-Pacific & Caribbean including the Red Sea. Haper Collins Publishers., pp. 400.
- Liew, H. J., M. A. Ambak and A. B. Abol-Munafi (2006) Embryonic development of clownfish *Amphiprion ocellaris* under laboratory conditions. J. of Sustainability Science and Management., 1: 64-73.

- Moyer, J. T. and L. J. Bell (1976) Reproductive behavior of the anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-Jima, Japan. Jap. J. Ichthyol., 23: 23-32.
- Moyer, J. T. and A. Nakazono (1978) Protandrous hermaphroditism in six species of the anemonefish Genus *Amphiprion* in Japan. Jap. J. Ichthyol., 25: 101-106.
- Murata, M., K. Miyagawa-Kohshima, K. Nakanishi and Y. Naya (1986) Characterization of compounds that induce symbiosis between sea anemone and anemone fish. Science (Wash.), 234: 585-586.
- Ochi, H. (1985) Temporal patterns of breeding and larval settlement in a temperate population of the tropical anemonefish *Amphiprion clarkii*. Jap. J. Ichthyol., 32: 248-257.
- Puvanendran, V. and J. A. Brown (1999) Foraging, Growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different prey concentrations. Aquaculture, 175: 77-92.
- Randall, J. E. (1961) A contribution to the biology of the convict surgeonfish of the Hawaiian Islands, *Acanthurus triostegus sandvicensis*. Pac. Sci., 25: 215-272.
- Su, H. M., M. S. Su and I. C. Liao (2001) The Culture and Use of Microalgae for Larval Rearing in Taiwan, Aquaculture and Fisheries Resources Management, pp. 157-162.
- Tocher, D. R. and J. R. Sargent (1984) Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. Lipids, 19: 492-499.
- Toledo, J. D., M. Golez, M. Doi and A. Ohno (1999) Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus colonies*. Fish. Sci., 65: 390-397.

Spawning Behavior and Larval Rearing of the Clownfish (*Amphiprion ocellaris*)

Yuan-Shing Ho^{1*}, Sheng-Chung Shih¹, Wen-Yie Chen¹, Jen-Jiun Perng²
and Wen-Been Chang³

¹Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

²Institute of Life Science, National Taitung University

³National Museum of Marine Biology and Aquarium

ABSTRACT

Clownfish (*Amphiprion ocellaris*) belongs to the subfamily Amphiprioninae of the family Pomacentridae. Between January 2 and December 28, 2006, one pair of clownfish ovulated 28 times. Oviposition occurred after the breeders cleaned the spawning substrate together. The spawning intervals were 10 - 19 days. The timing of spawning started from 09:00 to 15:00 with a peak from 11:00 to 14:30, and the spawning behavior lasted for an hour. About 300 - 1000 eggs were released in each spawning. These adhesive demersal eggs were reddish orange and oval with size about $2.32 \pm 0.10 \times 0.95 \pm 0.07$ mm (Mean $\pm$ SD). The yolks were about 1.44 ± 0.12 mm in diameter and the newly hatched larvae were about 4.35 ± 0.14 mm in length. Parental care behaviors for the ovum occurred after spawning. The behavior occurred 7 ± 5.7 times / 30 minutes and 40 ± 6.6 times / 30 minutes for females and males, respectively. This indicated that parental care behavior mainly carried out by males. The time interval for the embryo to hatch was an inverse ratio to water temperature. The hatching period was 6 and 8 days under 29°C and 23°C water temperature, respectively. At day 11th after hatching, the body color of larvae turned to reddish orange and symbiosis with sea anemones.

The feedings for the initial larvae stage were rotifer. The density of rotifer would not be lower than 5000 rotifer / liter. In addition, microalgae was added to stabilize water quality and to nourish rotifers. The supply of feedings should be applied at the same time. At the 35th day after hatching, pellet diet could be applied to the fries. When the average body length of juvenile was 38.25 ± 2.95 mm at the 160th day, the pattern of band and color of juvenile were the same with adult.

Key words: *Amphiprion ocellaris*, spawning behavior, early development, larval rearing

*Correspondence: Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute, 22 Wu-Chuan Rd., Chengkung, Taitung 961, Taiwan. TEL: (089) 850-090 ext. 401; FAX: (089) 850-092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw