

白條海葵魚之生殖行為及育苗研究

何源興^{1*} · 施勝中¹ · 鄭明忠¹ · 江玉瑛¹ · 董家宏¹ · 李任棋¹ · 陳文義¹ · 張文炳^{2,3}

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 國立海洋生物博物館

³ 國立東華大學海洋生物多樣性及演化研究所

摘 要

本研究自 2006 年 1 月 2 日至 2006 年 11 月 20 日止, 進行 1 對白條海葵魚 (*Tomato anemonefish*; *Amphiprion frenatus*) 之生殖行為及幼苗之培育研究。研究期間共產卵 21 次; 產卵間隔約 16.4 日, 產卵時間在日間, 主要集中在 10:10 ~ 14:30, 生殖行為持續 1 小時左右; 每次產卵數約 800 ~ 2,500 顆, 受精卵為橘紅色、長橢圓形、分離之沉性黏著卵, 受精卵之平均長徑為 2.70 ± 0.12 mm、平均短徑為 0.96 ± 0.03 mm、平均卵黃長徑為 1.75 ± 0.06 mm; 仔魚孵化平均體長為 4.48 ± 0.14 mm。產卵結束後親魚有護卵行為, 產卵到孵化期間雌雄護卵次數分別為 7.67 ± 2.40 及 56.92 ± 13.14 次 / 30 分鐘, 護卵主要是由雄魚擔任。白條海葵魚胚胎孵化所需的時間與水溫成反比。仔魚孵化後第 7 天左右體色開始出現, 並轉變為橘紅色, 成長至第 9 天時體側即可明顯發現二條橫帶, 此時可以與海葵共生而不會受到海葵攻擊。

白條海葵魚仔魚初期餌料生物系列為輪蟲與橈腳類, 添加微藻有穩定水質及滋養輪蟲之功效, 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 18 日左右開始可以接受人工飼料。在 260 日仔魚體長可達 55.57 ± 2.91 mm, 此時魚體色及斑紋已與成魚一致。

關鍵詞: 白條海葵魚、生殖行為、胚胎發育、形態變化、育苗。

前 言

白條海葵魚 (*Tomato anemonefish*; *Amphiprion frenatus*) 俗名紅小丑, 屬雀鯛科 (*Pomacentridae*) 海葵魚亞科 (*Amphiprioninae*), 海葵魚屬 (*Amphiprion*) 之魚類, 即一般俗稱小丑魚。海葵魚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), 台灣周邊海域目前記錄僅有海葵魚一屬共五種; 而白條海葵魚分佈於西太平洋熱帶海域, 包括台灣南部、蘭嶼、綠島及澎湖海域 (邵等, 2003)。

海葵魚的體型大者位階越高, 體型小者, 位

階越低 (Buston, 2003), 通常成熟年齡為 2 ~ 3 齡, 但在族群中也有可能 4 ~ 5 齡魚仍未成熟之情形發生 (Ochi, 1985)。白條海葵魚及眼斑海葵魚 (*A. ocellaris*) 性轉變是無法從體色外觀上來判斷 (錢, 2006; 何等, 2007), 而鞍斑海葵魚 (*A. polymnus*) 雄魚體中央垂直鞍狀白斑較小, 若轉變為雌魚則垂直鞍狀白斑會變為粗大 (陳等, 2003), 粉紅海葵魚 (*A. perideraion*) 雄魚尾鰭及背鰭軟條部之外緣具有橘色細紋, 若轉變為雌魚則橘色細紋會慢慢消失 (龜井, 1989; 何等, 2006), 克氏海葵魚 (*A. clarkii*) 則可以從尾鰭上下緣之顏色來判斷性轉變, 尾鰭呈黃色為雄性魚, 若轉變為雌魚則黃色會慢慢消失 (蔡, 2005)。

在熱帶海域中白條海葵魚全年有生殖行為, 而在亞熱帶及溫帶海域一般產卵行為僅發生在水溫較高的春天及夏天 (Fautin and Allen, 1997)。海葵魚親魚會在珊瑚礁上產下具有黏性的附著性

*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

卵，並會清除未受精的死卵以防止感染影響其他正常的受精卵發育，在孵化期間之護卵工作主要是由雄魚擔任 (鈴木, 2007)，而雌魚以警戒任務為主，母魚會有驅趕入侵魚類的動作，有時母魚的動作太過激烈，常會導致母體因驅趕入侵魚類受傷死亡 (Moyer, 1980)。

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，而孵化時間皆在太陽下山之後發生，剛孵化的魚苗具有趨光性 (陳等, 2003; 何等, 2006, 2007)，明亮的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)，仔魚攝餌時間約在孵化後 8 小時內進行 (何等, 2007)。

台灣地理、天候環境很適宜繁衍水族，水產種苗產業以及相關的周邊產業已相當發達，極有機會開創海水觀賞魚類繁殖之產業，創造另一個台灣水產養殖奇蹟。因此本研究旨在於確立白條海葵魚繁殖養殖技術，並提供相關技術給業者，發展觀賞魚相關事業，以達漁業經營多元化目的。

材料與方法

一、種魚培育

白條海葵魚是委請漁民於三仙台海域利用手抄網捕獲，先將野生魚隔離檢疫 5 天後移入備有溫控設備之 4 尺水族箱中，使用鹵素燈照明，水面光照度在 15,000 ~ 18,000 Lux，水深 50 cm，每日照明 10 小時，水溫維持在 24 ~ 30 °C，鹽度為 30 ~ 35 psu，水族箱中同時飼育巨大異幅海葵 (*Heteractis magnifica*) 10 顆，每日交替以自製軟性飼料 (蝦肉、魚肉、粉狀飼料及綜合維生素練製後冷凍備用) 及乾性粒狀飼料等餵飼 2 次，並讓其自然配對。再將配對之親魚移入產卵缸 (尺寸為 45 × 45 × 40 cm³；置入巨大異幅海葵 1 棵及空心磚 1 塊) 中繼續培育待產。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、產卵及護卵

親魚於產卵缸產卵後，開始記錄每對親魚每次的產卵日期、時間、間隔及孵化日期、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、排精、受精及護卵等行為，並以數位照相器材拍攝記錄。從產卵次日起，每日分別於上、中、下午觀察親魚護卵行為，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、尾鰭搨動受精卵或是以吻部整理照顧受精卵的次數，以了解雌雄護卵次數是否有所差異。

三、受精卵與胚胎發育

以吸管摘取附著之受精卵，使用 40 倍光學顯微鏡，測量 60 粒受精卵之長短徑及油球徑，同時每日採集受精卵數粒至凹槽玻片上，海水蓋過受精卵，給予冷光源，以 40 倍光學顯微鏡拍攝胚胎發育過程，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。

四、仔魚形態變化及育苗

使用小型聚光燈及虹吸管收集仔魚進行培育，育苗水溫為 24 ~ 30 °C，鹽度為 30 ~ 35 psu，培育槽為 300 L 之圓形 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，每周採樣 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 10 週，以了解白條海葵魚成長過程全長之變化情形。

結 果

一、種魚培育

漁民捕獲之白條海葵魚總計 55 尾，檢疫及養殖過程中死亡 19 尾，活存率為 65%，經 4 個月配對成功並產卵 5 對，本種依照體色及外型特徵並無法辨識性別，根據配對結果及死亡個體解剖觀察生殖腺以判斷性別，結果樣本中雄魚為 17 尾，雌魚為 10 尾，未成熟魚為 2 尾。如 Table 1 所示，雌、雄魚及未成熟魚之平均標準體長分別為 11.14 ± 1.12 cm (9.5 ~ 12.7 cm)、 9.39 ± 1.22 cm (7.7 ~ 11.7 cm) 及 7.45 ± 0.07 cm (7.4 ~ 7.5 cm)；平均體重分別為 40.65 ± 13.73 g (20.44 ~ 67.15 g)、 23.42 ± 9.70 g (14.62 ~ 49.75 g) 及 10.72 ± 0.16 g (10.61 ~ 10.83 g)。白條海葵魚雌魚、雄魚及未成熟魚之體長與體重關係如 Fig. 1 所示。

白條海葵魚雌魚之體長與體重關係式為：

$W = 4.1745L^{0.268}$ ， $R^2 = 0.884$ ， $n = 10$ ， $L =$ 體長 (cm)， $W =$ 體重 (g)。

白條海葵魚雄魚之體長與體重關係式為：

$W = 3.3301L^{0.333}$ ， $R^2 = 0.886$ ， $n = 17$ 。

白條海葵魚未成熟魚之體長與體重關係式為：

$W = 3.8806L^{0.274}$ ， $R^2 = 0.999$ ， $n = 2$ 。

雌魚最小生物體長為 9.5 cm，體重為 20.44 g，最大體長為 12.7 cm，體重為 67.15 g；雄魚最小生物體長為 7.7 cm，體重為 14.62 g，最大體長為 11.7 cm，體重為 49.75 g。

二、產卵及護卵

Table 2 為一對白條海葵魚親魚自 2006 年 1 月 2 日至 2006 年 11 月 20 日之產卵記錄，期間總計產卵 21 次，每次皆在白天產卵，產卵時間在日間 09:40 ~ 17:30 之間，主要集中在 10:10 ~ 14:30，每次產卵行為持續 1 個小時左右，其生殖行為模式如 Fig. 2 所示。每次產卵間隔在 10 ~ 26 日間，平均產卵間隔約 16.4 日，仔魚孵化的時間為日落後的 18:00 ~ 20:00，受精卵孵化時間為 7 ~ 9 天，平均孵化天數為 8 天，每次收集到的仔魚數為 27 ~ 985 尾，平均為 542 尾。根據觀察發現，親魚第一次產卵前 3 ~ 5 日會開始尋覓產卵

床，一般會選擇在海葵旁邊空心磚之隱蔽處，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 2 ~ 3 小時，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。

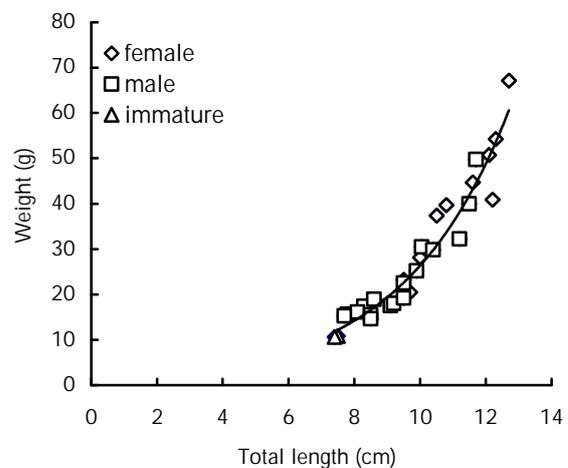


Fig. 1 Relationship between body length (cm) and body weight (g) of female, male and immature of *Amphiprion frenatus*. X = total length, Y = body weight, N = 29.

Table 1 Body weight and body length of *A. frenatus* caught from the wild

Items	Sexuality		
	Female	Male	Immature
Number	10	17	2
Weight (g)			
Mean	40.65 ± 13.73	23.42 ± 9.70	10.72 ± 0.16
Max	67.15	49.75	10.83
Min	20.44	14.62	10.61
Length (cm)			
Mean	11.14 ± 1.12	9.39 ± 1.22	7.45 ± 0.07
Max	12.7	11.7	7.5
Min	9.5	7.7	7.4

Table 2 Spawning records from a pair breeders of *A. frenatus* in 2006

No. of spawning	Spawning			Hatching			
	Date	Time	Spawning interval (day)	Date	Time of turning off the light	Days after spawning	No. of fry
1	Jan. 02	14:00 ~ 15:10	-	Jan. 10	18:00 ~ 19:00	8	486
2	Jan. 19	11:10 ~ 12:10	17	Jan. 28	18:00 ~ 19:00	9	124
3	Feb. 02	10:10 ~ 10:55	14	Feb. 11	18:00 ~ 19:00	9	362
4	Feb. 14	12:10 ~ 13:10	12	Feb. 23	18:00 ~ 19:00	9	435
5	Mar. 04	13:20 ~ 14:30	18	Mar. 12	18:00 ~ 19:00	8	496
6	Mar. 27	13:00 ~ 13:50	23	Apr. 05	18:00 ~ 19:00	9	210
7	Apr. 22	10:20 ~ 11:20	26	May 01	18:00 ~ 19:00	9	27
8	May 10	11:30 ~ 12:20	18	May 19	18:00 ~ 19:00	9	144
9	May 25	10:10 ~ 11:10	15	Jun. 02	18:00 ~ 19:00	8	730
10	Jun. 08	13:00 ~ 14:00	14	Jun. 16	18:00 ~ 19:00	8	385
11	Jun. 21	09:40 ~ 10:50	13	Jun. 29	18:00 ~ 19:00	8	832
12	Jul. 11	16:00 ~ 17:00	20	Jul. 18	18:00 ~ 19:00	7	536
13	Jul. 31	13:30 ~ 14:30	20	Aug. 07	18:00 ~ 19:00	7	985
14	Aug. 24	11:00 ~ 12:00	24	Aug. 31	18:00 ~ 19:00	7	451
15	Sep. 10	10:50 ~ 11:50	17	Sep. 17	18:00 ~ 19:00	7	682
16	Sep. 22	11:30 ~ 12:40	12	Sep. 29	18:00 ~ 19:00	7	937
17	Oct. 06	09:20 ~ 10:30	14	Oct. 14	18:00 ~ 19:00	8	512
18	Oct. 17	10:10 ~ 11:20	11	Oct. 25	18:00 ~ 19:00	8	786
19	Oct. 28	13:30 ~ 14:30	11	Nov. 05	18:00 ~ 19:00	8	785
20	Nov. 10	10:20 ~ 11:20	13	Nov. 18	18:00 ~ 19:00	8	947
21	Nov. 20	16:20 ~ 17:30	10	Nov. 29	18:00 ~ 19:00	9	-
Average			16.4			8.0	542.6

白條海葵魚產卵結束後親魚會有護卵行為，親魚以胸鰭煽動水流並以口啄除死卵，越接近孵化日以胸鰭煽動水流之頻率增加，即使是在夜間，親魚之護卵行為仍會持續至仔魚全部孵化。Fig. 3 為白條海葵魚親魚每 30 分鐘之平均護卵次數，在孵化期間雄魚 30分鐘內之護卵次數為 28 ~ 58 次，而雌魚則為 0 ~ 26 次，雌雄親魚平均護卵次數分別為 7.67 ± 2.40 及 56.92 ± 13.14 次/30分鐘，雌雄護卵次數有顯著差異 ($p < 0.05$)，推論白條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

白條海葵魚剛產出之卵粒為橘色到橘紅色，為反映卵黃之顏色所致，受精卵呈長橢圓形，在動物極之頂端具有棉絮狀之附著絲，其目的在使卵粒黏附於產卵床上，平均長徑為 2.70 ± 0.12 mm ($n = 60$)；平均短徑為 0.96 ± 0.03 mm；平均卵黃長徑為 1.75 ± 0.06 mm，內有 0.04 ~ 0.25 mm 之油球數個。

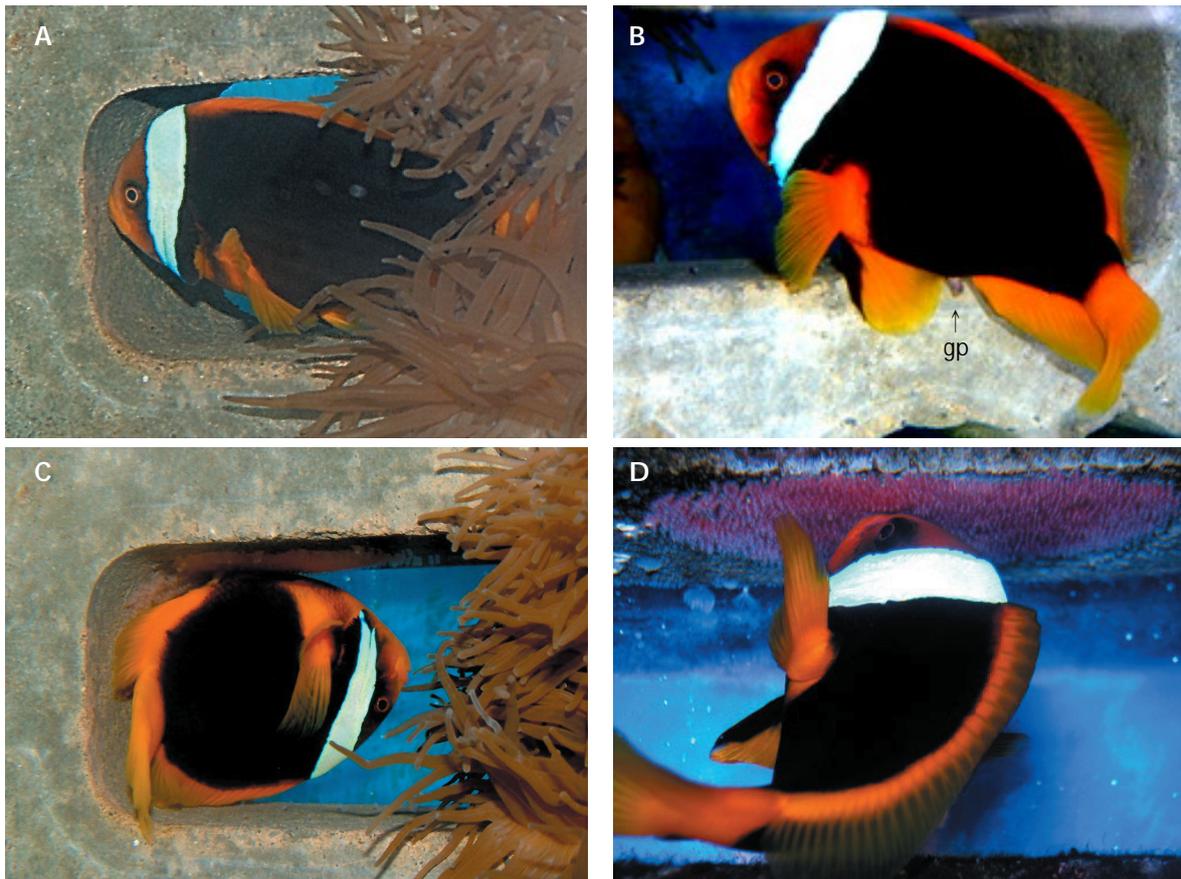


Fig. 2 Spawning behavior of *A. frenatus*. A, Breeders clean the substrate; B, The genital papilla (gp) of female was observed to be protruded; C, Spawning female milt oozing from male; D, Breeders take care the fertilized eggs.

Table 3 A comparison of egg diameter, incubation water temperature, hatching time and fry length among different species of anemonefish

Scientific name	Eggs diameter		Incubation water temperature (°C)	Hatching time (hr)	Fry length (mm)	Remarks
	Long (mm)	Diameter (mm)				
<i>A. frenatus</i>	2.70±0.12	0.96 ± 0.03	26.5 ~ 27.8	177	4.48 ± 0.14	This study
<i>A. ocellaris</i>	2.32±0.10	0.95 ± 0.07	28 ~ 30.5	150.75	4.35 ± 0.14	Ho <i>et al.</i> , 2007
<i>A. perideraion</i>	1.68 ~ 2.18	0.75 ~ 0.85	25.5 ~ 28	151.33	3.20 ~ 3.80	Ho <i>et al.</i> , 2006
<i>A. clarkii</i>	2.90 ~ 3.20	1.10 ~ 1.30	26	–	3.90 ~ 4.70	Chai, 2005
<i>A. polymnus</i>	1.85 ~ 2.25	0.75 ~ 0.85	26.5 ~ 27.2	171.92	3.50 ~ 4.48	Chen, 2003

白條海葵魚受精卵之胚胎發育過程如 Table 4 及 Fig. 4 所示，在水溫 26.5 ~ 27.8 °C，鹽度 34 ~ 35 psu 下，受精後 35 分鐘，胚胎發育為 2 細胞期 (Fig. 4A); 1 小時 50 分為 8 細胞期 (Fig. 4B); 4 小時為 32 細胞期 (Fig. 4C); 4 小時 50 分為 64 細胞期 (Fig. 4D); 6 小時 20 分為桑實

期 (Morula stage) (Fig. 4E); 16 小時 50 分為囊胚期 (Blastula stage) (Fig. 4F); 25 小時 30 分，胚囊覆蓋卵黃二分之一 (Fig. 4G); 32 小時 55 分，胚囊覆蓋卵黃三分之二，且胚體出現 (Fig. 4H); 42 小時 10 分，眼胞已形成並具 14 體節 (Fig. 4I); 45 小時 20 分，耳胞形成 (Fig. 4J); 56 小

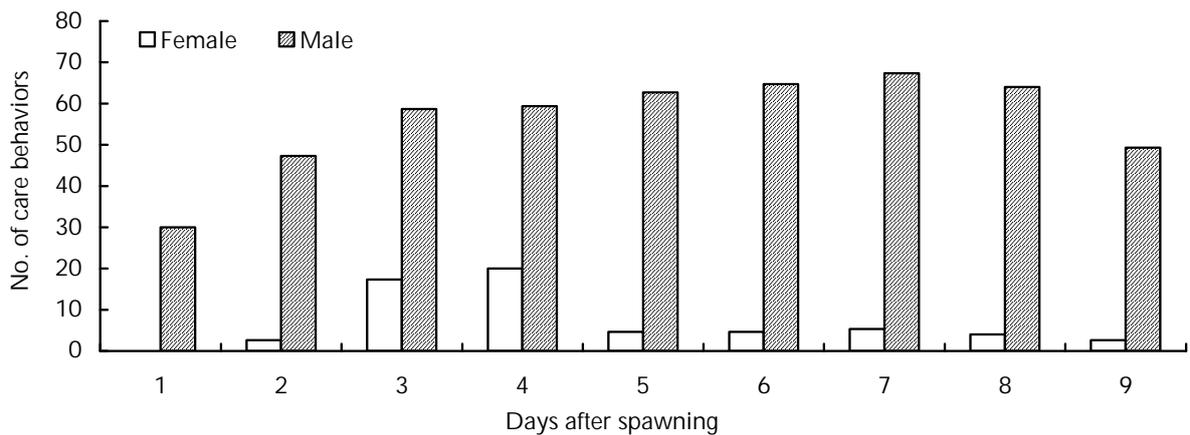


Fig. 3 The parental care behaviors for the ovum occurred times/30 minutes of *A. frenatus*.

Table 4 Embryonic development of *A. frenatus*

Duration (hr:min)	Water temperature (°C)	Development stage
00:00	26.8	Fertilized eggs (Long: 2.70 ± 0.12 mm; Diameter: 0.96 ± 0.03 mm; Yolk length: 1.75 ± 0.06 mm)
00:35	26.8	2-cell stage
01:15	26.7	4-cell stage
01:50	26.6	8-cell stage
03:10	26.6	16-cell stage
04:00	26.5	32-cell stage
04:50	26.5	64-cell stage
06:20	26.8	Morula stage
16:50	26.8	Blastula stage
25:30	26.7	1/2 of yolk was covered with blastodisc
32:55	26.7	2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared
30:30	26.7	Optic vesicles have been visible, 7 somites
42:10	26.8	Optic lens,auditory vesicle ,14 somites
56:20	26.8	Heart beating have started
80:50	26.9	Chromatoplasm have precipitated on eyes
91:40	26.8	Original form of pectoral fin have been visible
130:10	26.9	Heart rate:168~180 times/min,24 somites
165:00	27.6	Chromatoplasm have precipitated on heart,the end of tail have reached eyes
177:00	27.8	Newly-hatched larvae 4.48 ± 0.14 mm

時 20 分，眼胞內晶體形成，尾部也已形成並與卵黃囊分離，並已可見心臟搏動，心臟搏動每分鐘 84 ~ 96 次，胚體偶而痙攣般扭動 (Fig. 4K)；61 小時 55 分，胚體頭部移至卵的前端，卵黃及

胚體上已出現色素胞，體液循環清晰可見 (Fig. 4L)；80 小時 50 分，胚體眼上已見色素沉著 (Fig. 4M)；91 小時 40 分，胸鰭原基已形成 (Fig. 4N)；173 小時，鰓蓋偶而擺動 (Fig. 4O)。

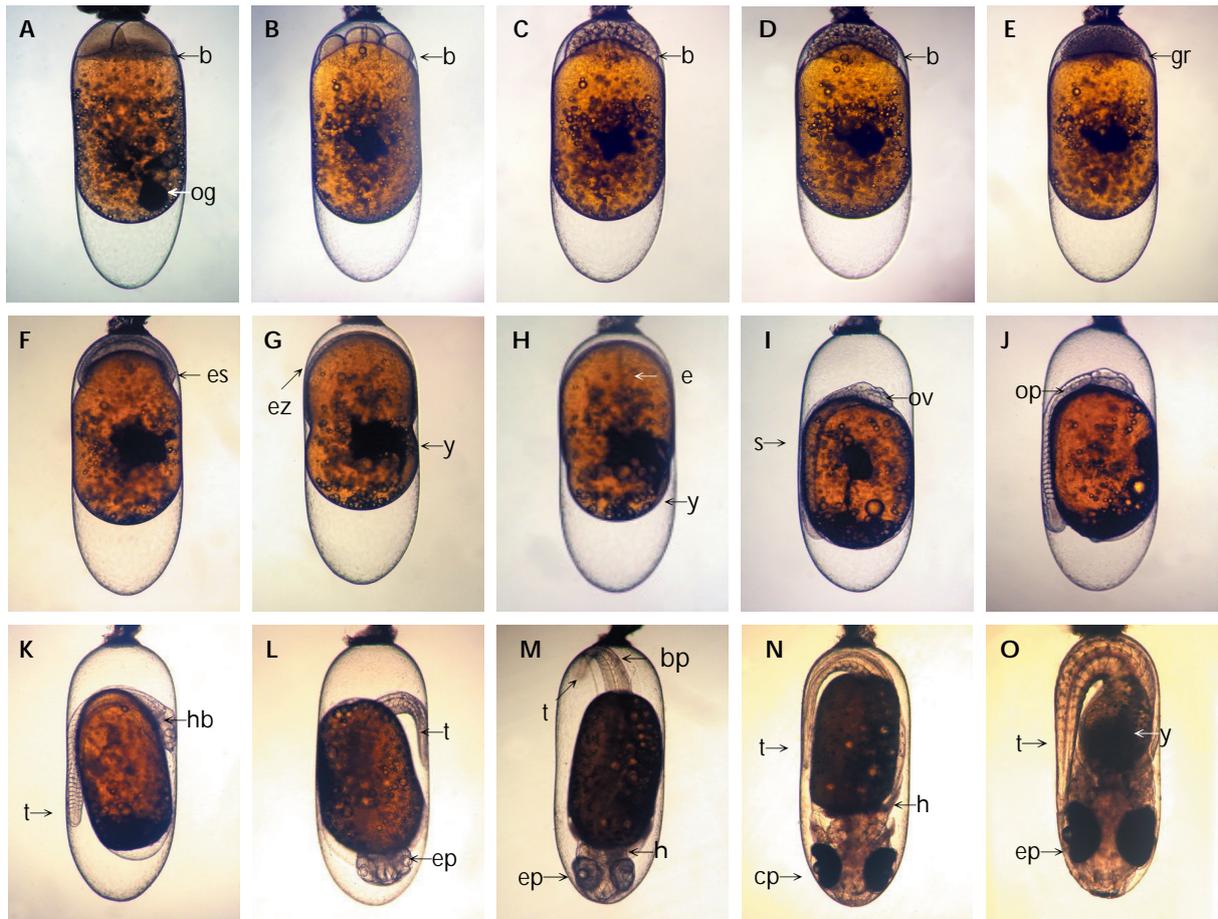


Fig. 4 Embryo development of *Amphiprion frenatus*. A: Two-cell stage; B: Eight-cell stage; C: 32-cell stage; D: 64-cell stage; E: Morula Stage; F: Blastula stage; G: 1/2 of yolk was covered with blastodisc; H: 2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared; I: Optic vesicles appeared (ov), 14 somites (s); J: Auditory vesicles formed; K: Optic lens (ol) and tail formed, tail freed from yolk sac; L: Embryo moved spastically, and heart-beat began; M: The head of embryo turned to the top of egg, chromatophore was visible on embryo and yolk; N: Chromatoplasm precipitated (cp) on eyes; O: Guanine accumulated on eyes. (b, blastomeres; bp, body pigment; e, epiboly stage; ep, eye pigment; es, embryonic-shield; ez, evacuation-zone; h, heart; hb, hindbrain; og, oil globule; op, optic placode; t, tail; y, yolk).

四、仔魚形態變化及育苗

白條海葵魚仔稚魚形態變化過程如 Fig. 5 所示。剛孵化之仔魚平均體長為 4.48 ± 0.14 mm (Fig. 5A), 根據觀察發現仔魚具驅光性, 利用此特性使用小型聚光燈收集仔魚, 將仔魚移入培育槽中, 仔魚會浮游於中上層。育苗水溫 $24 \sim 30$ °C; 孵化後第 1 日 (Fig. 5B) 仔魚口徑已達 $560 \sim 720$ μ m, 以 150 目的浮游生物網, 篩選出大小為 $120 \sim 150$ μ m 之輪蟲, 可作為白條海葵魚仔魚之初期餌料生物, 輪蟲投餵密度為 $5 \sim 10$ 隻/ml。第 2 日, 仔魚分佈於培育槽之中、上層較少, 下層偏多; 第 3 日 (Fig. 5C) 之仔魚全長 5.00 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; 第 5 日仔魚 (Fig. 5D) 全長 6.25 mm; 第 7 日仔魚 (Fig. 5E) 全長 7.50 mm, 體色開始出現並轉變為淡橘紅色, 仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已與成魚相似; 第 9 日仔魚 (Fig. 5F) 全長 7.70 mm, 體側出現兩條白色橫帶, 餌料生物開始兼投橈腳類; 第 11 日仔魚 (Fig. 5G) 全長 8.68 mm; 第 13 日仔魚 (Fig. 5H) 全長 9.46 mm, 可以完全授予橈腳類; 第 15 日仔魚 (Fig. 5I) 全長 10 mm; 第 25 日仔魚 (Fig. 5J) 全長已達 12.15 mm, 可以完全授予人工飼料; 第 40 日仔魚 (Fig. 5K) 全長 19.24 mm, 第 2 條白色橫帶延伸至背鰭; 第 90 日 (Fig. 5L) 全長 30.99 mm, 第 2 條白色

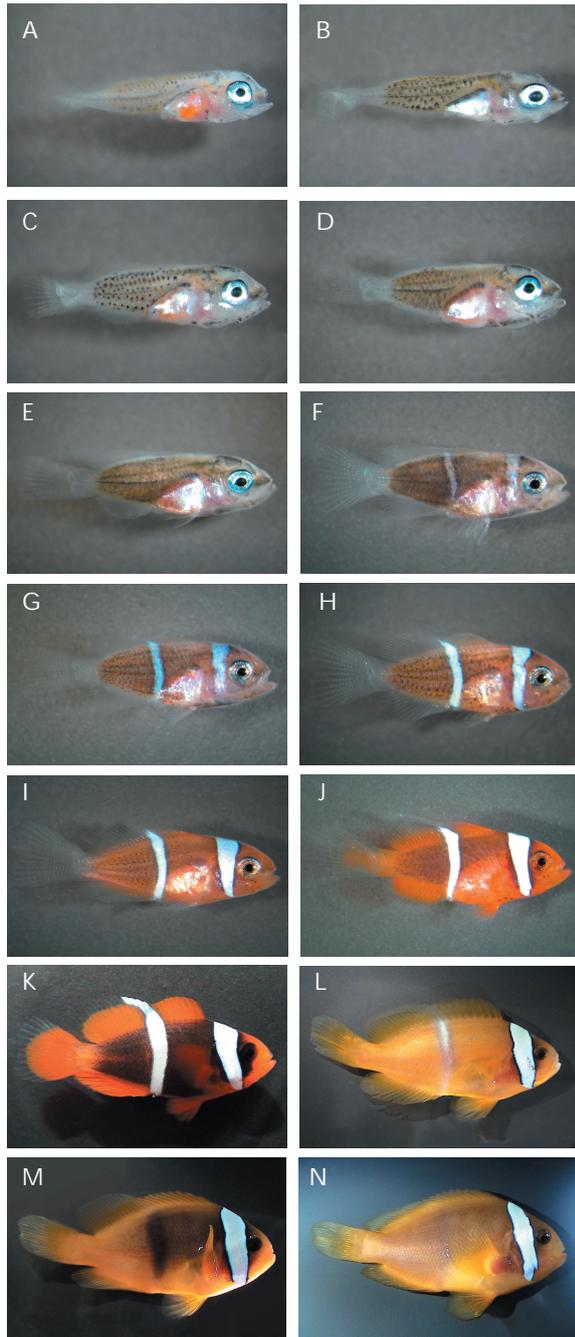


Fig. 5 The morphological changes of the *Amphiprion frenatus* at larval and fry stage. A: Newly-hatched larva, 4.48 mm in total length; B: One-day old larva, 4.75 mm in total length; C: Three-day old larva, 5.00 mm in total length; D: Five-day old larva, 6.25 mm in total length; E: Seven-day old larva, 7.50 mm in total length; F: Nine-day old larva, 7.70 mm in total length; G: 11-day old larva, 8.68 mm in total length; H: 13-day old larva, 9.46 mm in total length; I: 15-day old larva, 10 mm in total length; J: 25-day old fry, 12.15 mm in total length; K: 40-day old fry, 19.24 mm in total length; L: 90-day old fry, 30.99 mm in total length; M: 140-day old fry, 42.45 mm in total length; N: 260-day old fry, 55.57 mm in total length.

橫帶逐漸淡化；第 140 日 (Fig. 5M) 全長 42.45 mm，第 2 條白色橫帶已完全消失，並留下暗褐色斑紋；第 260 日仔魚 (Fig. 5N)，全長 55.57 ± 2.91 mm，至此體色斑紋，已完全與成魚一致。

Figure 6 為白條海葵魚仔稚魚之成長過程全長之變化與餌料種類，觀察中發現，白條海葵魚仔魚孵化之時，其卵黃囊已利用殆盡，魚苗孵化後不久即可開始攝食餌料生物，所以必須特別注意投餌時機。在水溫 $24 \sim 30^\circ\text{C}$ 下，應該在仔魚孵化後 24 小時內投餵輪蟲，若是投餌太遲會造成魚苗死亡。從第 1 天開始到第 12 天左右，餌料生物以輪蟲為主，其中第 9 天以後，可以兼投小型之橈腳類，第 13 天開始，可以完全投餵橈腳類，第 18 天可以兼投人工飼料，25 天開始，可以完全投餵人工飼料。

討 論

一、種魚培育

王 (1999) 指出魚的卵巢 (Ovaries) 及卵由於含有類胡蘿蔔素或 Carotenoproteins，因而有不同之色澤表現，不同種魚類其卵巢中類胡蘿蔔素含量在生殖細胞或其他細胞之變異相當大，它的存在決定於魚所吃之食物種類。Turano *et al.* (2000) 以新鮮蝦肉、魷魚、魚肉交替投餵鞍斑海葵魚，可以獲得最佳卵質；但將生鮮餌料應用於親魚培育時發現容易讓水質惡化，因此本研究將生鮮餌料練製成軟性飼料後投餵，亦可得到相同之結果。

本研究結果發現，白條海葵魚雌魚平均體長及體重分別為 11.14 cm 及 40.65 g，而雄魚平均體長及體重分別為 9.39 cm 及 23.42 g，雌魚體型明顯大於雄魚，如同其他海葵魚一樣，其性徵分化是屬於由雄魚轉變為雌魚之雄性先熟型 (Protandrous hermaphrodites) 的魚類 (Allsop and West, 2003)。在族群中體型最大者才能性轉變為雌性魚，次大者則仍發育為雄性魚 (Hattori, 1991, 2001)，雌魚失去時有依順序遞補變性的現象 (邵與陳, 1990)。白條海葵魚雌雄性別難以從外表斑紋及體色辨別，唯有從一對配對完成之親魚中體型大小來判斷性別，因此在親魚配對之過程中，盡量挑選體型差異較大者進行配對，以防雌魚因誤

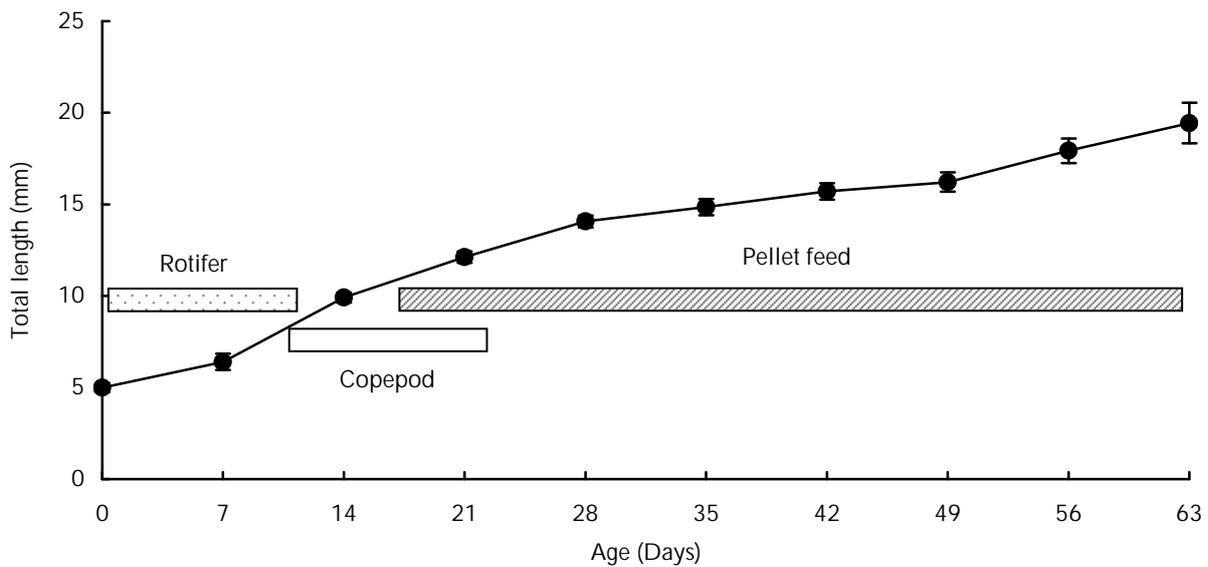


Fig. 6 Growth of *A. frenatus* (n = 200) fed with different diets.

認其他族群入侵而互相攻擊，造成魚體受傷甚至死亡。

本研究白條海葵魚親魚來自野外利用手抄網採集，經檢疫、蓄養及配對後活存率為65%，相較於眼斑及粉紅海葵魚購自坊間水族館，活存率分別為14.8及37.5% (何等, 2006, 2007)，有較高之活存率。坊間水族館出售之海葵魚有95%以上來自東南亞地區，捕獲方式主要是以氰化物迷昏海葵魚後取得，因此死亡率非常高。本研究執行之初也同樣面臨種魚取得困難問題，所以也尋求一些解決問題的方式，不過成效仍然有限，幾經思索最佳的解決方案，只有以人工繁殖的方式來生產海水觀賞魚種苗，以提供市場需求，除了可以提高民眾養殖養海水觀賞魚成功的機會，又可以減少對野生觀賞魚的依賴，保護海洋生物資源免於人為破壞，讓海洋資源能夠永續利用，並確保海洋生物資源生生不息。

二、產卵及護卵

觀察發現白條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)、粉紅海葵魚 (何等, 2006) 及眼斑海葵魚 (何等, 2007) 相似，不論是親魚產卵前清理產卵床行為，雌雄產卵行為，還有親魚護卵等行為。

根據本研究之繁殖記錄發現，白條海葵魚的產卵時間都在9~17時之間完成，其中90%主要集中在10:10~14:30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) 都集中於上午及鞍斑海葵魚集中於下午2~4點之結果 (陳等, 2003) 有所差異，但卻與眼斑海葵魚 (何等, 2007) 的11:00~14:30頗為相近，上述差異產生之原因可能包括觀察之魚種不同以及地理位置及光照時間之不同。蔡 (2005) 及錢 (2006) 親魚養殖於台灣基隆，每日提供光照16小時，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)、何等 (2007) 親魚養殖於台灣台東，提供光照9小時，自上午8點至下午5點，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。

根據本研究發現白條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煽動水流為主，主要目的是為了增加溶氧及加速胚體代謝物之擴散，同時親魚也會以口啄除死卵，以免病菌漫延而影響孵化率。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)、粉紅海葵魚 (何等, 2006) 及眼斑海葵魚 (何等, 2007) 之情形相同。

三、受精卵與胚胎發育

白條海葵魚之產卵數為 800 ~ 2,500 粒，與鞍斑海葵魚產卵數之 1,400 ~ 2,000 (陳等, 2003) 相近，但較粉紅海葵魚產卵數之 300 ~ 700 (何等, 2006) 及眼斑海葵魚產卵數之 300 ~ 1000 明顯較多，白條海葵魚與鞍斑海葵魚體型相近，但卻較眼斑海葵魚及粉紅海葵魚大型，而鞍斑海葵魚之最大體長為 13.0 cm (Lieske and Myers, 1994)，因此，不同魚種與親魚體型，可能影響產卵數之多寡。

研究發現，自製軟性飼料中添加南極蝦愈多，則親魚生產之受精卵顏色愈呈橘紅色，若無添加南極蝦則受精卵顏色呈橘色，但觀察發現在不投餵軟性飼料之情況下，卵粒顏色為淡黃色，推測影響卵粒顏色之因素來自餌料中的還原蝦紅素 (陳等, 2003)。

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, 2007)，偏動物極之頂端皆具有棉絮狀之附著絲，將受精卵固定在卵床上。Table 3 為台灣產五種海葵魚受精卵之長徑、短徑、卵黃徑及仔魚孵化體長之比較，其中以克氏海葵魚之受精卵徑及仔魚孵化體長最長，其次為白條海葵魚，而粉紅海葵魚之受精卵徑及仔魚孵化體長最短。

白條海葵魚胚胎發育水溫為 24 ~ 30 °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。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，也就是水溫愈高胚胎孵化所需的時間愈短 (張, 2003)，在白條海葵魚亦有相同之情形，夏天受精卵孵化所需時間為 7 天左右，而在秋冬及春季則需要 8 ~ 9 天才能孵化，故提高孵化水溫之方式，似乎可以將仔魚孵化時間提前，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 小時 (何等, 1997)，青點石斑在水

溫 27.8 °C 孵化所需的時間為 20.17 小時 (葉等, 1991)，上述魚種仔魚孵化後 2 ~ 3 天內浮游於水面，還有卵黃囊可供營養需求，而白條海葵魚受精卵孵化所需時間需 7 ~ 9 天，剛孵化之仔魚其口器、消化道完整，卵黃囊已消失殆盡，因此孵化後可以很快攝食餌料生物。

本研究觀察白條海葵魚胚胎發育速度與 Liew *et al.* (2006)、何等 (2006, 2007) 及 Ho *et al.* (2008) 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。本研究與陳等 (2003)、何等 (2006, 2007) 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、仔魚形態變化及育苗

白條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)，因此仔魚孵出後，口、肛門都已開啟，運動力也較強，可以馬上投餵輪蟲，於 12 小時後鏡檢仔魚消化道，已見其攝食輪蟲，因此白條海葵魚仔魚孵化後 12 小時內，即可開始投餵餌料生物。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存活率很低，而貽貝受精卵卵徑約 70 μm、海膽受精卵卵徑約 100 μm (Moyer and Nakazono, 1978) 兩者尺寸略小，且懸浮性較差。本研究剛孵化之仔魚其口徑及口幅分別為 485 ~ 825 μm 與 470 ~ 580 μm，因此以 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，作為培育白條海葵魚仔魚之初期餌料生物較為合適。

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，將可提高魚苗存活率 (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營養性及多樣性，各個餌料生物應重疊使用，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)。白

條海葵魚育苗過程也發現，第 9 天開始可以兼投橈腳類，亦即 9~12 天期間輪蟲及橈腳類都要投放，如此可以提高仔魚之育成率。

白條海葵魚仔魚孵化第 7 天，仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已與成魚相似，此與眼斑海葵魚仔魚（何等，2007）相同，而粉紅海葵魚仔魚只要 6 天（何等，2006），鞍斑海葵魚仔魚較慢需要 11 天（陳等，2003）；白條海葵魚仔魚孵化第 7 天，體色開始出現轉變為橘紅色，此階段眼斑海葵魚仔魚需 11 天（何等，2007），而粉紅海葵魚仔魚則需 12 天（何等，2006），鞍斑海葵魚仔魚較慢需要 13 天（陳等，2003）；白條海葵魚仔魚第 9 天體側出現兩條白色橫帶，眼斑海葵魚仔魚則在第 13 天體側出現兩條白色橫帶（何等，2007）；不過白條海葵魚至 260 天稚魚體色斑紋才會與成魚一致，但眼斑海葵魚至第 160 日魚苗之體色斑紋已與成魚一致，而粉紅海葵魚仔魚只需 26 天（何等，2006）。

謝 辭

本研究經費由行政院農業委員會 95 農科-14.2.1-水-A3 (3) 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所有同仁之努力協助，得以順利完成，併此表達由衷之謝意。

參考文獻

- 王文政 (1999) 類胡蘿蔔素 (Carotene) 之功能及其在水產飼料上之應用. 潮訊, 129: 3-8.
- 朱祥海 (1997) 發生和變態. 魚類學, 水產出版社, 基隆, 173-186.
- 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) 短鰭黃臘鰷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, 陳文義, 施勝中, 彭仁君, 張文炳 (2007) 眼斑海葵魚之生殖行為及育苗研究. 水產研究, 15(2): 43-58.
- 邵廣昭, 陳麗淑 (1990) 克氏海葵魚. 海水觀賞魚 (一), 渡價出版社, 台北, 129.
- 邵廣昭, 陳靜怡 (2003) 白條海葵魚. 魚類圖鑑: 台灣七百多種常見魚類圖鑑, 遠流出版社, 台北, 286.
- 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.
- 鈴木克美 (2007) 魚類繁殖護卵的故事. 晨星出版公司, 台北, 59-86.
- 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, 194 pp.
- 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.
- 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, 86 pp.
- 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, 69 pp.
- 龜井良昭 (1989) ハナピラクマノミ *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.
- Daphne, G. F. and G. R. Allen (1997) Anemone fishes and their host sea anemones. Western Australian Museum., Australia, 160 pp.
- Falk-Petersen, I. B. (2005) Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. Fish Shellfish Immun., 19: 397-412.
- 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, p. 407-446.
- Ho, Y. S., C. M. Chen, W. Y. Chen and W. B. Chang (2008) Embryo development and larval rearing of Pink clownfish (*Amphiprion perideraion*). J. Fish. Soc. Taiwan, 35 (1) :75-85.
- Kawahara, S., A. J. Shams, A. A. Al-Bosta, M. H. Mansor and A. A. Al-Baqqal (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.
- 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. Sustain. Sci. Manage., 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.
- Moyer, J. T. (1980) Influence of temperate waters on the behavior of the tropical anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-jima, Japan. Jap. Bull. Mar. Sci., 30, 12-22.
- 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.
- Turano, M. J., D. A. Davis and C. R. Arnold (2000) Observations and techniques for maturation, spawning, and larval rearing of the yellowtail snapper *Ocyurus chrysurus*. J. World Aquacul. Soc., 31: 59- 68.

Reproduction Behavior and Larval Rearing of the Tomato Anemonefish (*Amphiprion frenatus*)

Yuan-Shing Ho^{1*}, Sheng-Chung Shih¹, Ming-Jong Cheng¹, Yu-Ying Jiang¹, Jia-Hong Dong¹, Ren-Chi Lee¹, Wen-Yie Chen¹ and Wen-Been Chang^{2,3}

¹Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

²National Museum of Marine Biology and Aquarium

³Institute of Marine Biodiversity and Evolution, National Dong Hwa University

ABSTRACT

Tomato anemonefish (*Amphiprion frenatus*) broodstock under artificial environment have ovulated 21 times, from January 2 to November 20, 2006. The average spawning intervals were 16.4 days on water temperature 24 ~ 30 °C. The timing of spawning started from 09:20 to 17:30 with a peak from 10:10 to 14:30, and the spawning behavior lasted for an hour. About 800 ~ 2,500 eggs were released in each spawning. Those adhesive demersal eggs were reddish orange and oval with size about $2.65 \pm 0.32 \times 1.04 \pm 0.07$ mm (Mean \pm SD). The yolks were about 1.97 ± 0.34 mm in length diameter and the newly hatched larvae were about 4.48 ± 0.17 mm in length. Parental care behaviors mainly carried out by males, for females and males 7.67 ± 2.40 times per 30 minutes and 56.92 ± 13.14 times per 30 minutes, respectively. The hatching time decreased with increasing water temperature. At 7th day post hatching (DPH), the body color of larvae turned to reddish orange. At 11th DPH the body appears 2 white streaks and symbiosis with sea anemones.

Live feed for the initial larvae stage was rotifer and copepod. In addition, microalgae were added to stabilize water quality and to nourish rotifers. A fixed feeding time was applied. At the 18th DPH, pellet diet could be applied to the fry. The 260th DPH juvenile (55.57 ± 2.91 mm) has the same pattern of bands and color with adult.

Key words: *Amphiprion frenatus*, reproduction behavior, embryo development, morphological change, larval rearing

*Correspondence: 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