

## 棘頰海葵魚之生殖行為及初期發育

江玉瑛<sup>1,2</sup> · 鄭明忠<sup>1</sup> · 何源興<sup>1\*</sup> · 張文炳<sup>3,4</sup> · 彭仁君<sup>2</sup> · 陳文義<sup>1</sup>

<sup>1</sup>行政院農業委員會水產試驗所東部海洋生物研究中心

<sup>2</sup>國立台東大學生命科學研究所

<sup>3</sup>國立海洋生物博物館

<sup>4</sup>國立東華大學海洋生物多樣性及演化研究所

### 摘 要

棘頰海葵魚 (Spine-cheek anemonefish, *Premnas biaculeatus* Bloch, 1790) 屬雀鯛科 (Pomacentridae) 海葵魚亞科 (Amphiprioninae)。本研究期間自 2009 年 1 月 1 日至 12 月 31 日止總計 365 日，觀察產卵 25 次，每次產卵數約 800 至 3000 顆，受精卵為橘紅色、橢圓形、分離之沉性附著卵，平均長徑為  $1.81 \pm 0.09$  mm，平均短徑為  $0.79 \pm 0.03$  mm，平均卵黃徑為  $1.25 \pm 0.09$  mm，內含許多大小不一的油球，平均油球徑為  $0.16 \pm 0.03$  mm。在水溫  $27.7 \pm 0.8$  °C，鹽度  $32.5 \pm 0.5$  psu 下孵化所需時間為 144 小時，剛孵化之仔魚平均全長為  $3.64 \pm 0.31$  mm，並具驅光性，隨著成長，仔魚趨光性變弱。孵化後 1~6 日投予輪蟲 (*Brachionus plicatilis*)，第 7 日起可兼投橈足類 (Copepod)，第 10 日以後完全給予豐年蝦，孵化後第 20 日，魚苗之平均全長為  $8.60 \pm 1.04$  mm，可開始接受人工粒狀飼料。

關鍵詞：棘頰海葵魚、生殖行為、初期發育

### 前 言

棘頰海葵魚 (Spine-cheek anemonefish, *Premnas biaculeatus*) 俗名透紅小丑，屬雀鯛科 (Pomacentridae) 海葵魚亞科 (Amphiprioninae) 之魚類，本亞科可分成海葵魚屬 (*Amphiprion*) 及棘頰海葵魚屬 (*Premna*) 二種，在野外環境中色彩及紋路為辨識小丑魚的主要特徵，其它特徵包括齒形、頭部形態及身體比例也作為分類上的依據 (Fautin and Allen, 1992)，而棘頰海葵魚於鰓蓋骨下方有兩支骨質蓋刺，故將棘頰海葵魚獨立為棘頰海葵魚屬，因此海葵魚亞科分成 2 屬 28 種 (Fautin and Allen, 1997)。

棘頰海葵魚體呈橢圓，側扁，眼睛下方有一

對長刺；三道白細條紋分別於眼後方、軀幹中段及尾柄處以垂直穿過魚體；體色為濃豔的深紫褐色至深紅色，是一種受歡迎的海水觀賞魚種 (邵, 2011)。另，蘇門達臘有一種分類地位與棘頰海葵魚相同的海葵魚，其原本的三道白細紋被三道金黃色寬斑紋所取代 (Froese and Pauly, 2011)，因此水族業界將此種暱稱為金透紅小丑。

棘頰海葵魚與其他海葵魚一樣具有改變性別的特性，雌魚體型普遍大於雄魚，性成熟雌魚最大體型可達 16 cm (Fautin and Allen, 1992)。在熱帶海域中海葵魚全年皆有產卵行為，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; Richardson *et al.*, 1997)。在 98 年 12 月農委會公告之野生動物活體輸出入審核要點，棘頰海葵魚與雙帶海葵魚 (*Amphiprion clarkii*)、白條海葵魚 (*A. frenatus*)、眼斑海葵魚 (*A. ocellaris*)、粉紅海葵魚 (*A. perideraion*)、鞍斑海葵魚 (*A. polymnus*) 及黑雙帶

\*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

海葵魚 (*A. sebae*) 為法定同意輸入觀賞之水產動物名錄魚種 (農委會, 2009)。

魚類的生活史由各個生長階段所組成, 每個階段皆有其生長特徵, 在魚類的初期發育階段, 形態的變化是快速且複雜的過程, 掌握不同階段的生長特徵和攝餌生態, 有助於提高魚苗的育成率。本研究以棘頰海葵魚為對象, 探討在人工條件下棘頰海葵魚之初期發育過程, 觀察胚胎與仔魚外部形態變化、攝食及游泳等相關特徵, 以作為仔稚魚培育之參考。

## 材料與方法

### 一、種魚培育

本研究之棘頰海葵魚購自坊間水族館 12 尾及自行繁殖 260 尾, 合計為 272 尾, 種魚培育之初始體長為 7.5~12 cm, 年齡約為 8 個月至 2 歲。以 1.8 mt FRP 水槽 (尺寸為 200 × 80 × 60 cm<sup>3</sup>), 天然採光, 置入 4~5 個巨大異幅海葵, 供試驗魚配對及共生, 水槽中加設控溫設備, 水溫維持在 27 ± 1.5 °C, 鹽度為 32~33 psu, 每日餵食二次並交替新鮮蝦肉、魚肉及乾性粒狀配合飼料餵飼。培育過程中若發現死亡情形, 立即進行解剖及鏡檢, 以了解魚致死原因, 並記錄種魚性別、生殖腺發育情形及測量體重、全長等資料, 以 Excel 統計軟體分析棘頰海葵魚雌雄全長與體重之關係。

### 二、配對與產卵

試驗種魚經一段時間蓄養後, 若有同一朵海葵中有兩尾魚同時躲藏, 並追趕其他魚隻, 則可視為初步配對成功, 以手抄網將初步配對之 2 尾種魚移入種魚培育水槽中進一步蓄養。種魚培育缸大小為 50 cm × 45 cm × 40 cm, 養殖用水採循環過濾方式處理, 設備包括不織布粗過濾、蛋白除沫機、生物濾床及紫外線殺菌器等, 每日循環次數為 10~12 次, 內置產卵床如空心磚、花盆或珊瑚石, 還有巨大異幅海葵一顆以提供躲藏, 平日以自製軟性飼料及市售粒狀飼料交替餵食, 每天於上午及下午各投餵一次至每尾種魚飽食為

止。若發現配對種魚間互有攻擊行為, 則馬上將種魚移回蓄養缸中重新配對。另觀察種魚產卵之行為模式, 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。

### 三、胚胎發育

吸取受精卵在 40 倍光學顯微鏡下, 測量 30 粒受精卵長徑、短徑、油球徑、卵黃徑, 同時每日取受精卵數粒, 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, 並以數位照相器材拍攝胚胎發育過程, 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、仔魚培育

初孵化仔魚具趨光之習性, 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, 培育槽為 1.8 mt 之 FRP 桶。如 Fig. 1 所示, 仔魚孵化後即提供輪蟲 (*Brachionus plicatilis*) 作為開口餌料生物, 輪蟲投餵期間 (1~6 天) 仔魚培育採止水式, 以滴流方式添加擬球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 穩定水質, 水中透明度維持在 50~80 cm, 第 5 日以後開始兼投橈足類 (Copepod) 並與輪蟲混合投放, 第 8 日開始投餵滋養豐年蝦 (*Artemia* sp.) 無節幼蟲作為仔魚餌料, 每日更換海水 200~250 L, 第 20 日開始以微粒浮性飼料馴餌, 每日下午抽底一次, 並開始流水養殖。

### 五、形態變化

試驗期間每日採樣 6 尾仔魚, 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, 並利用生物解剖顯微鏡搭配數位影像測量分析軟體 (NIS -Elements D 2.30, Nikon), 記錄全長 (total length, TL)、標準體長 (standard length, SL)、頭長 (head length, HL)、眼徑 (eye diameter, ED)、吻長 (snout length, SnL)、上顎長 (upper jaw length, UJL)、下顎長 (lower jaw length, LJL)、臀鰭前長 (preanal length, PAL)、體高 (body depth at

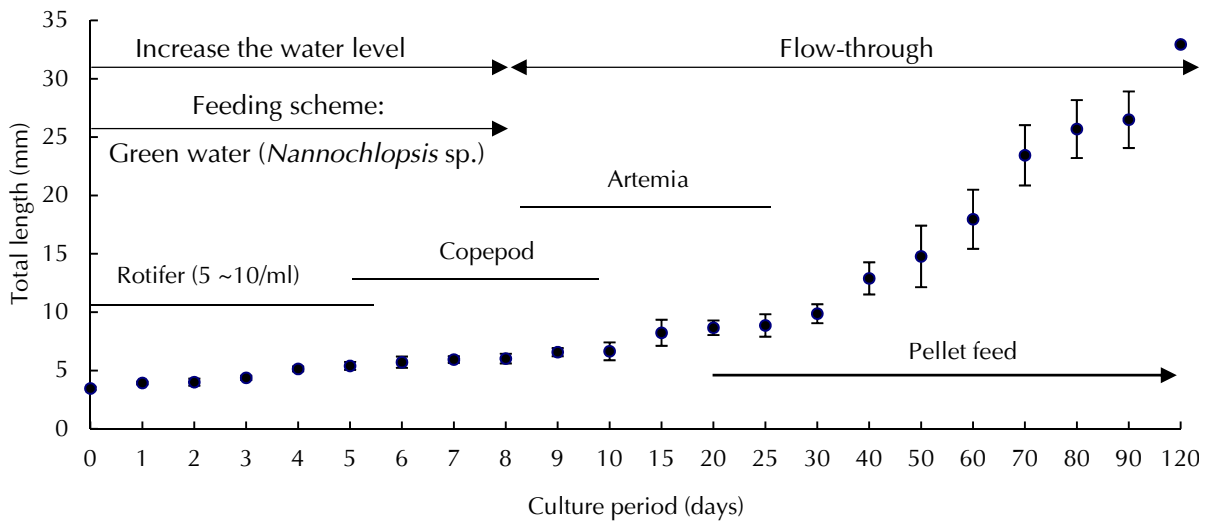


Fig.1 Feed supply and water management schemes in larval rearing of *Premnas biaculeatus*.

pectaral-fin, BDP) 及口徑 (gape height, GH) 等各部位形質，以上形態測量的定義及縮寫參考 Leis and Carson-Ewart (2000)。口徑計算公式為： $GH = \sqrt{(UJL^2 + LJL^2)}$ ，UJL (上顎長)，LJL (下顎長) (Wittenrich *et al.*, 2007)。仔稚魚發育階段參考 Kendall *et al.* (1984)，發育階段區分為 (1) 脊索末端上屈前期 (Preflexion)；(2) 脊索末端上屈中期 (Flexion)；(3) 脊索末端上屈後期 (Postflexion) 及 (4) 稚魚期 (Juvenile)。測量結束後將標本固定於 10% 中性福馬林，以利後續研究進行。所謂相對成長是各形質長度與全長之比率關係，相對成長 = 形質長度 ÷ 全長 × 100%。

## 結 果

### 一、種魚培育

試驗期間測量解剖 13 尾雌魚、23 尾雄魚、未成熟 96 尾，共 132 尾。測量數據得知雌魚平均全長為  $9.12 \pm 1.46$  cm (6.10 ~ 11.60 cm)、平均體重  $19.01 \pm 9.77$  g (8.10 ~ 44.17 g)；雄魚平均全長為  $7.57 \pm 0.98$  cm (5.60 ~ 9.30 cm)，平均體重  $10.38 \pm 3.56$  g (5.55 ~ 18.52 g)；未成熟魚之平均全長為  $5.01 \pm 0.93$  cm (2.6 ~ 7.7 cm)，平均體重  $3.12 \pm 1.62$  g (0.6 ~ 9.0 g)。棘頰海葵魚之雌魚、雄魚與未成熟魚之體長與體重關係如 Fig. 2 所示，其關係

式為： $y = 0.29e^{0.4487x}$ ， $R^2 = 0.8962$ 。

### 二、配對與產卵

棘頰海葵魚種魚配對後經過 3 ~ 6 個月培育，會陸續開始出現產卵行為，在產卵床挑選上並沒有明顯的差別，在空心磚、花盆及珊瑚礁石上面產卵，甚至於有時海葵位移到玻璃上，種魚也會將卵產在玻璃缸面上，讓卵得到海葵的保護。

在棘頰海葵魚產卵前 2 ~ 3 h 可觀察到雌、雄魚生殖孔明顯突起，且種魚會選擇海葵旁邊之穩固物作為產卵床 (Fig. 3A)，產卵種魚會積極以口啄除產卵床之上藻類及附著物，此時可觀察到雌魚腹部膨脹且生殖突起呈圓鈍狀，而雄魚生殖突起為細尖狀，則可判定種魚即將產卵。開始產卵後 30 ~ 50 min 內，為連續不間斷的產卵及排精，雌魚腹部會緊貼著產卵床將卵產於卵床上，產出數 10 顆卵粒後雄魚隨後進行受精，有時雌雄亦會同時產卵排精 (Fig. 3A & B)。產卵結束後種魚會有護卵行為，種魚會以胸鰭煽動水流，其主要目的為增加溶氧及加速胚體代謝物之擴散，同時種魚也會以口啄除死卵，雖然雌、雄種魚都會護卵，但主要的護卵工作是由雄魚擔任，越接近孵化日以胸鰭煽動水流之頻率增加，即使是在零光照的環境下，種魚仍持續以胸鰭煽動水流直至仔魚全部孵化為止 (Fig. 3C)。

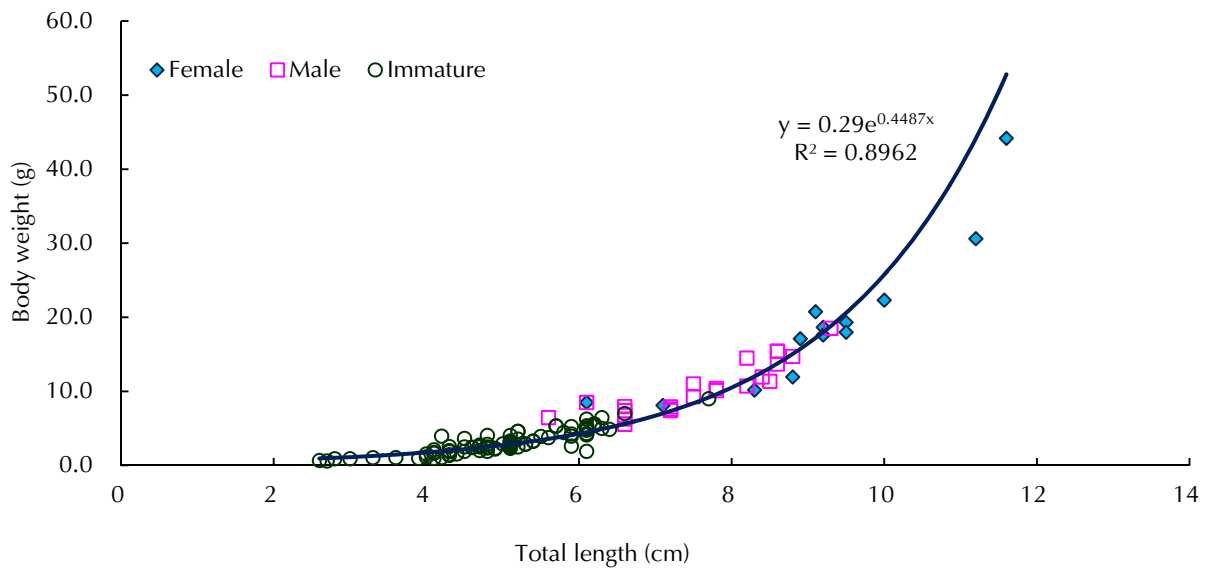


Fig. 2 Relationship between body length (X) and body weight (y) of *Premnas biaculeatus* by sex, N = 132.

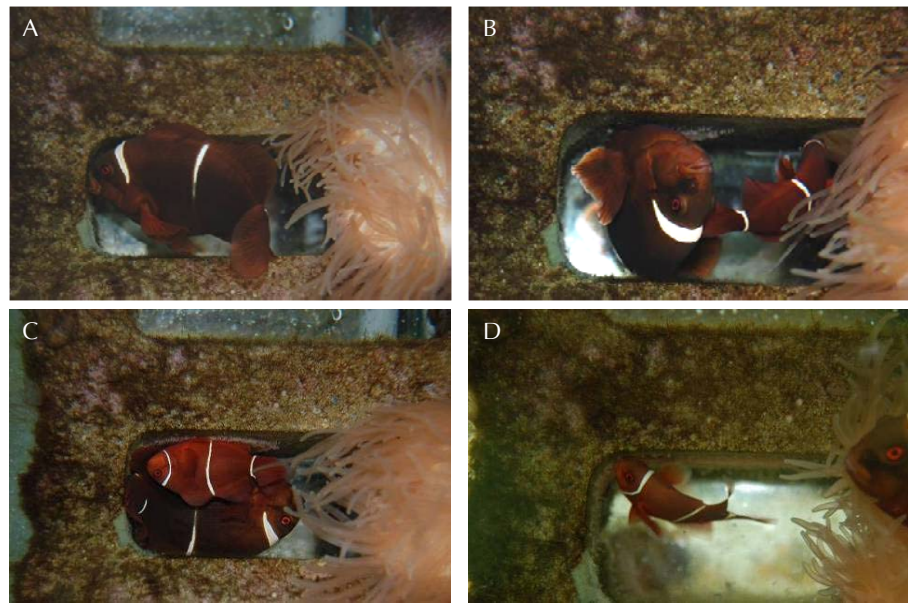


Fig. 3 Spawning behavior of *Premnas biaculeatus*. A: Brooders clean the substrate together; B: Spawning female; C: Ejaculating male; D: Brooders take care the fertilized eggs.

### 三、胚胎發育

棘頰海葵魚受精卵之平均長徑為  $1.81 \pm 0.09$  mm；平均短徑為  $0.79 \pm 0.03$  mm；平均卵黃徑為  $1.25 \pm 0.09$  mm，內有  $0.16 \pm 0.03$  mm 大小不一之油球數個，受精卵呈橘紅色為長橢圓形，偏動物極之頂端具有棉絮狀之附著絲，其功用在使卵粒黏附於卵床上。

受精卵之胚胎發育過程如 Table 1 及 Fig. 4 所示。在水溫  $27.3 \pm 1$  °C 及鹽度介於 32 ~ 33 psu

下，受精卵 (Fig. 4A) 在受精 35 min 後，胚胎成為 2 細胞期 (Fig. 4B)；1 h 5 min 為 4 細胞期 (Fig. 4C)；1 h 50 min 後為 8 細胞期 (Fig. 4D)；2 h 25 min 後為 16 細胞期 (Fig. 4E)；3 h 5 min 後為 32 細胞期 (Fig. 4F)；3 h 40 min 後為 64 細胞期 (Fig. 4G)；5 h 後為桑椹期 (Morula atage) (Fig. 4H)；11 h 20 min 後為囊胚期 (Blastula atage) (Fig. 4I)；20 h 後胚囊覆蓋卵黃且可見胚體及眼胞形成 (Fig. 4J)；23 h 後出現 8 體節 (Fig. 4K)；26 h 40 min 後耳胞形成 (Fig. 4L)；33 h 10 min 後眼胞內



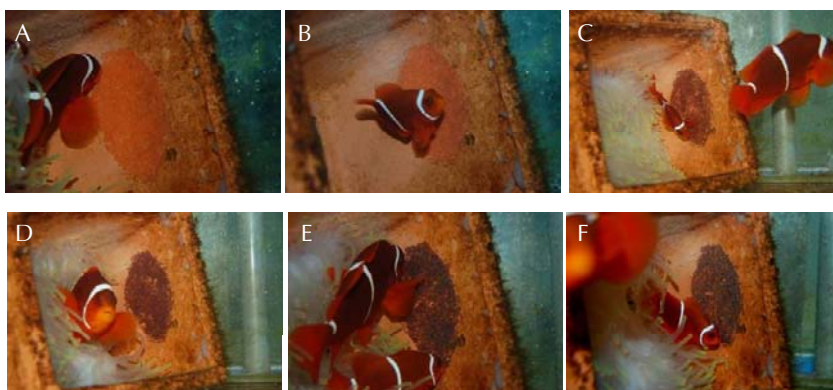
**Fig. 4** Embryonic development of *Premnas biaculeatus*. A: Fertilized eggs; B: 2-cell stage; C: 4-cell stage; D: 8-cell stage; E: 16-cell stage; F: 32-cell stage; G: 64-cell stage; H: Morula stage (m); I: Blastula stage (g); J: All of yolk was covered with blastodisc, optic vesicles (ov) and embryo appeared; K: 8 somites (s) appeared; L: Auditory vesicles (av) formed; M: Optic lens (ol) and tail formed, tail freed from yolk sac; N: Heart-beat began and heart rate: 96 ~ 114 time/min; O: The head of embryo turned to the top of egg; P: Chromatoplasm precipitated on eyes; Q: Guanine began on eyes (gb), and achieved the degree of coruscation; R: The time was 4:00 before hatching; S: Breakthrough egg membrane of larval fish. b: blastomeres; bp: body pigment; ds: digestion system; em: egg membrane; ep: eye pigment; h: hear; n: notochord formation; og: oil globule; ps: perivitelline space; tb: tail-bud; y: yolk.

晶體形成且尾部與卵黃分離 (Fig. 4M)；37 h 50 min 後心臟開始搏動，心跳速率為 96 ~ 114 time/min (Fig. 4N)；41 h 20 min 後胚體頭部旋轉至卵膜前方，後卵黃及胚體上已出現色素細胞 (Fig. 4O)；50 h 後胚體眼上已見色素沈澱 (Fig. 4P)；69 h 後胚體眼上開始積聚鳥糞素；100 h 後胚體眼

上已積聚鳥糞素 (Fig. 4Q)；140 h 尾部末端已延長至眼部，胚體發育完全 (Fig. 4R)；144 h 30 min 破卵而出的仔魚及卵膜 (Fig. 4S)，初孵化仔魚測量腹部卵黃長約為 1.43 mm，油球徑約為 0.23 mm。

Figure 5 為棘頰海葵魚胚胎發育過程受精卵顏色變化，第 1 天受精卵顏色呈橘紅色，與卵黃

**Fig. 5** Egg color changes during embryonic development of *Premnas biaculeatus*. A: Embryonic development for 1 DPF; B: Embryonic development for 2 DPF; C: Embryonic development for 3 DPF; D: Embryonic development for 4 DPF; E: Embryonic development for 5 DPF; F: Embryonic development for 6 DPF. DPF: Day post-fertilization.

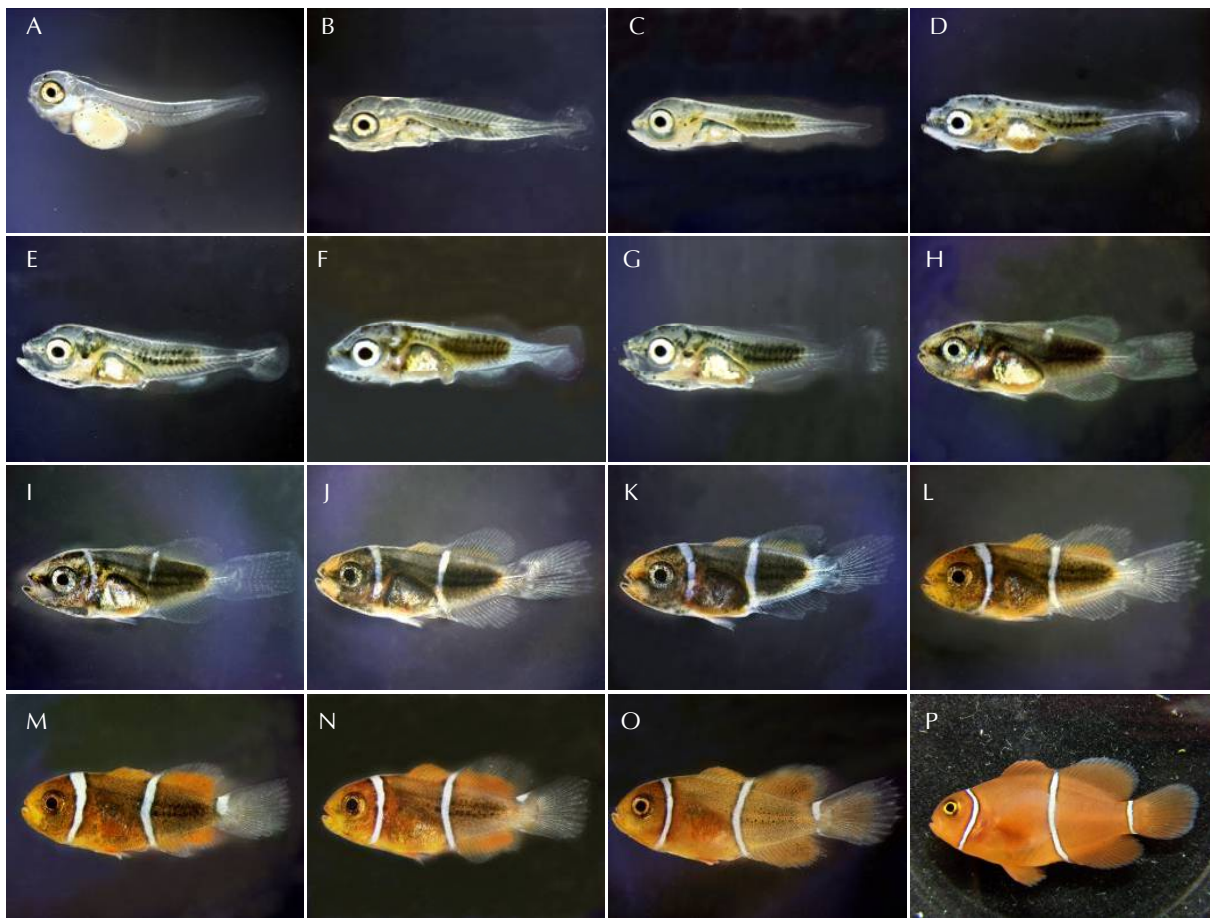


**Table 1** Embryonic development of *Premnas biaculeatus*

Duration (h:min)	Water temperature (°C)	Features
00:00	27.0	Fertilized eggs (Long: $1.81 \pm 0.09$ mm; Diameter: $0.79 \pm 0.03$ mm; Egg yolk long: $1.25 \pm 0.09$ mm; Oil globule: $0.16 \pm 0.03$ mm)
00:35	27.0	2- cell stage
01:05	26.8	4- cell stage
01:50	26.8	8- cell stage
02:25	26.8	16-cell stage
03:05	27.5	32-cell stage
03:40	27.5	64-cell stage
05:00	27.7	Morula stage
11:20	27.7	Gastrula stage
20:00	27.5	All of yolk was covered with blastodisc, Optic vesicles and embryo appeared
23:00	27.5	8 somites appeared
26:40	28.0	Auditory vesicles formed
33:10	28.0	Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac
37:50	28.0	Heart-beat began and heart rate: 96 ~ 114 time/min
41:20	28.5	The head of embryo turned to the top of egg
50:00	27.0	Chromatoplasm precipitated on eyes
69:00	27.0	Guanine began to accumulate on eyes, but not to achieve the degree of coruscation
100:00	27.0	Guanine accumulated on eyes, and achieved the degree of coruscation
144:30	27.0	Hatching, $3.64 \pm 0.31$ mm in total length

之顏色有關；第 2 天受精卵顏色為橘色，鏡檢受精卵可發現胚體覆蓋全卵黃且脊索形成；第 3 天受精卵顏色變為黃褐色，此時胚體已經形成，卵黃及胚體上有色素細胞，導致受精卵顏色變暗；第 4 天受精卵顏色變為黑褐色，此時胚體色素沉著眼部黑化；第 5 天受精卵顏色變為亮黑褐色，

可觀察到胚體眼部閃亮的銀白色光澤；第 6 天受精卵顏色變為亮銀色，此時卵黃囊縮小且眼部積聚鳥糞素 (Guanine) 而呈現出銀白色，心臟已可見色素沉著，尾部末端已延長至眼部，胚體已經發育完全，此時為孵化離床的徵兆，仔魚會在日落後 30 分鐘左右開始孵化並破殼而出。

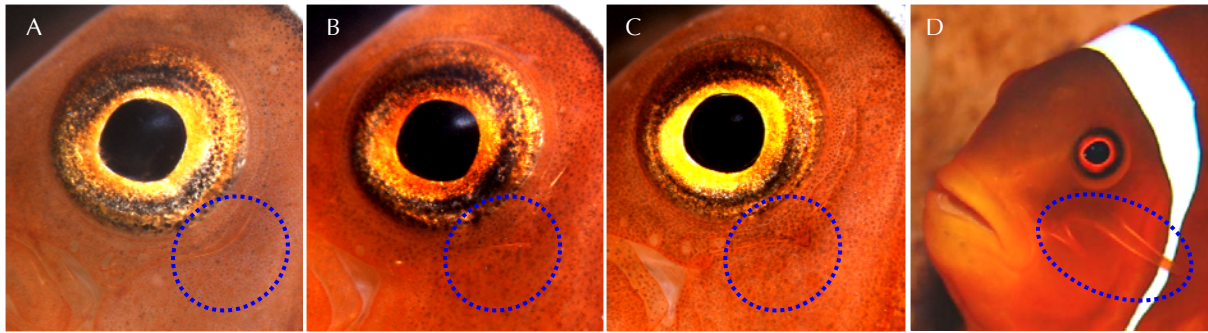


**Fig. 6** The morphological changes of the *Premnas biaculeatus* at larval and fry stages. A: Newly-hatched larva,  $3.64 \pm 0.31$  mm in total length; B: 1 DPH larva,  $3.94 \pm 0.14$  mm in total length; C: 2 DPH larva,  $4.04 \pm 0.19$  mm in total length; D: 3 DPH larva,  $4.38 \pm 0.31$  mm in total length; E: 4 DPH larva,  $5.14 \pm 0.19$  mm in total length; F: 5 DPH larva,  $5.40 \pm 0.21$  mm in total length; G: 6 DPH larva,  $5.72 \pm 0.35$  mm in total length; H: 7 DPH larva,  $5.98 \pm 0.51$  mm in total length; I: 8 DPH larva,  $6.14 \pm 0.40$  mm in total length; J: 9 DPH larva,  $6.71 \pm 0.43$  mm in total length; K: 10 DPH larva,  $6.71 \pm 0.35$  mm in total length; L: 13 DPH larva,  $7.20 \pm 0.50$  mm in total length; M: 15 DPH larva,  $8.24 \pm 0.76$  mm in total length; N: 20 DPH larva,  $8.60 \pm 1.04$  mm in total length; O: 25 DPH larva,  $8.88 \pm 0.64$  mm in total length; P: 30 DPH fry,  $9.88 \pm 0.97$  mm in total length. DPH: Days post-hatch.

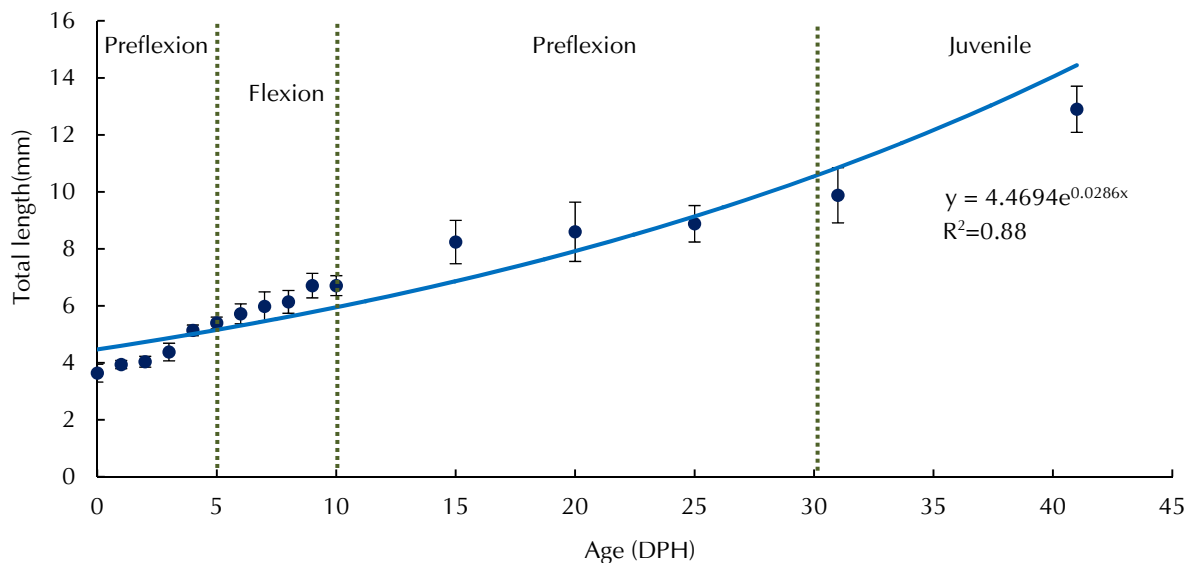
#### 四、仔魚發育

棘頰海葵魚仔魚形態變化過程如 Fig. 6 所示。在水溫  $27.3 \pm 1$  °C 下，剛孵化仔魚之平均體長為  $3.64 \pm 0.31$  mm (Fig. 6 A)。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育苗，仔魚會浮游於中上層。初孵化仔魚卵黃囊尚未消化殆盡，唯仔魚會在孵化後 6~8 h 內開始攝食，因此在孵化當日培育槽中即要添加藻水，並以 150 目的浮游生物網，篩選出大小為  $120 \sim 240$  μm 之輪蟲及橈足類幼生，以作為仔魚之初期餌料生物，輪蟲投餵密度為 5~10 隻/ml，未順利攝食之仔魚會在孵化後 65 小時後全數死亡。

孵化後第 1 日 (Fig. 6 B)，仔魚全長為  $3.94 \pm 0.14$  mm，卵黃消失殆盡，軀幹有些許黑色素細胞分佈。孵化後第 2 日 (Fig. 6 C)，仔魚全長為  $4.04 \pm 0.19$  mm，軀幹的黑色素細胞開始增加；仔魚主要分佈於培育槽下層。孵化後第 3 日 (Fig. 6 D)，仔魚全長  $4.38 \pm 0.31$  mm，各鰭仍呈原鰭狀。孵化後第 4 日 (Fig. 6 E)，仔魚全長  $5.14 \pm 0.19$  mm，體表黑色素持續擴散並分佈至頭部；孵化後第 5 日 (Fig. 6 F)，仔魚全長  $5.40 \pm 0.21$  mm，鰭膜內縮各鰭部開始分化，口徑為  $680 \pm 25.6$  μm 可兼捕大型橈足類；孵化後第 6 日 (Fig. 6 G)，仔魚全長  $5.72 \pm 0.35$  mm；孵化後第 7 日 (Fig. 6 H)，仔魚全長  $5.98 \pm 0.51$  mm，體色開始出現淡橘



**Fig. 7** Spine-cheek development of *Premnas biaculeatus*. A: 70 DPH,  $23.45 \pm 2.53$  mm in total length; B: 80 DPH,  $25.71 \pm 2.58$  mm in total length; C: 120 DPH  $32.95 \pm 2.42$  mm in total length; D: The spine-cheek of brooders.



**Fig. 8** Growth of *Premnas biaculeatus* larvae from 0 to 40 DPH (mean  $\pm$  sd).

紅色色素細胞，鰓蓋及軀幹隱約出現白色橫帶，仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已與成魚相似；孵化後第 8 日 (Fig. 6 I)，仔魚全長  $6.14 \pm 0.40$  mm，軀幹白色條紋明顯，口徑達  $1.06 \pm 0.39$  mm 可兼捕豐年蝦無節幼蟲，此時每日換水 1 / 10 以穩定水質；孵化後第 9 日 (Fig. 6 J) 及第 10 日 (Fig. 6 K) 仔魚全長分別為  $6.71 \pm 0.43$  mm 及  $6.71 \pm 0.35$  mm，頭部吻端、背鰭基部與腹部邊緣開始出現淡橘紅色色素細胞，體側出現兩條白色橫帶；孵化後第 13 日 (Fig. 6 L)，仔魚全長  $7.20 \pm 0.50$  mm，體表橘紅色色素持續擴散，頭部與軀幹白色橫帶形成；孵化後第 15 日 (Fig. 6 M)，仔魚全長  $8.24 \pm 0.76$  mm，可以兼投人工飼料；各鰭的橘紅色色素持續累積，尾柄第三條白色橫帶出現。孵化後第 20 日 (Fig. 6 N)，仔魚全長已達  $8.60 \pm 1.04$  mm，可以完全授予人工飼料；孵化後第 25

日仔魚 (Fig. 6 O)，全長  $8.88 \pm 0.64$  mm；孵化後第 30 日 (Fig. 6 P)，全長  $9.88 \pm 0.97$  mm，至此體色斑紋，已完全與成魚一致。孵化後第 70 日，全長  $23.45 \pm 2.53$  mm，眶下骨硬棘尚未出現 (Fig. 7 A)；孵化後第 80 日，仔魚全長  $25.71 \pm 2.58$  mm 可觀察到頭部眶下骨硬棘開始出現 (Fig. 7 B)。孵化後第 120 日，仔魚全長達  $32.95 \pm 2.42$  mm，眶下骨硬棘更為明顯 (Fig. 7 C)。成熟種魚的眶下骨與眶前骨之硬棘延長並形成一對長刺 (Fig. 7 D)，此特徵為棘頰海葵魚分類上之主要依據。

## 五、形態變化

依據棘頰海葵魚的形態變化，依仔稚魚日齡與各部位測量形質之變化，分為四個階段 (Table 2 及 Fig. 8)：分別為 (1) 脊索末端上屈前期



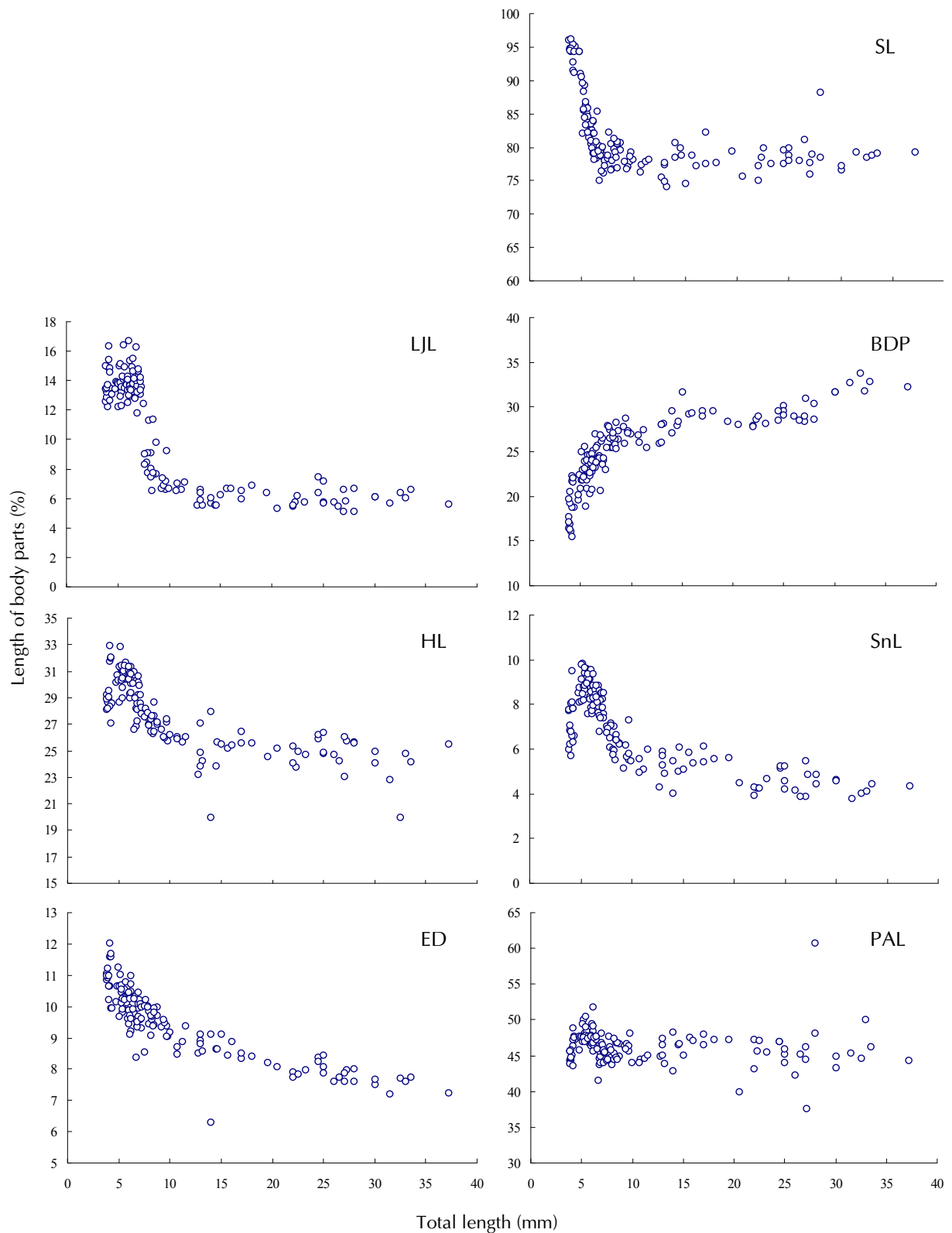
**Table 2** Morphometry of *Premnas biaculeatus* larvae

Unit: mm								
Age (DPH)	Total Length	Standard length	Head Length	Eye Diameter	Snout Length	Lower jaw length	Preanal Length	Body depth at pectoral-fin
Preflexion								
0	3.64	3.48	0.94	0.39	0.20	0.48	1.72	0.39
1	3.94	3.74	1.12	0.42	0.25	0.51	1.75	0.65
2	4.04	3.85	1.16	0.43	0.29	0.56	1.85	0.76
3	4.38	4.08	1.38	0.49	0.36	0.64	2.08	0.93
4	5.14	4.59	1.56	0.53	0.47	0.68	2.49	1.13
5	5.40	4.59	1.66	0.56	0.48	0.76	2.58	1.19
6	5.72	4.79	1.74	0.57	0.51	0.80	2.74	1.32
Flexion								
7	5.98	4.86	1.78	0.60	0.52	0.82	2.81	1.40
8	6.14	4.94	1.87	0.61	0.52	0.87	2.87	1.48
9	6.71	5.34	1.98	0.65	0.54	0.96	3.10	1.60
10	6.71	5.32	1.95	0.67	0.53	0.94	3.06	1.58
Postflexion								
13	7.20	5.64	2.03	0.70	0.55	0.97	3.29	1.81
15	8.24	6.57	2.22	0.79	0.56	0.62	3.81	2.23
20	8.60	6.80	2.34	0.82	0.53	0.73	3.90	2.27
25	8.88	7.00	2.38	0.85	0.51	0.62	4.11	2.45
31	9.88	7.65	2.60	0.91	0.56	0.69	4.44	2.63
Juvenile								
41	12.90	9.87	3.09	1.09	0.66	0.78	5.78	3.47
50	14.78	11.80	3.77	1.28	0.84	0.89	6.99	4.26
60	17.97	13.96	4.51	1.52	0.93	1.15	8.36	5.27
70	23.45	18.05	5.74	1.83	1.00	1.29	10.28	6.62
80	25.70	20.28	6.43	2.04	1.19	1.54	11.27	7.73
90	26.50	21.67	6.81	2.11	1.29	1.70	13.00	7.74
120	32.95	25.95	7.83	2.48	1.39	2.00	15.13	10.50

(Preflexion)；(2) 脊索末端上屈中期 (Flexion)；(3) 脊索末端上屈後期 (Postflexion) 及 (4) 稚魚期 (Juvenile)。孵化 0~6 日之前為脊索末端上屈前期，仔魚脊索尚未上屈仍行浮游生活，初孵化仔魚測得各部位形質資料為：全長為  $3.64 \pm 0.31$  mm，頭長  $0.94 \pm 0.09$  mm，眼徑  $0.39 \pm 0.04$  mm，吻長  $0.20 \pm 0.03$  mm，臀鰭前長  $1.72 \pm 0.12$  mm 及體高為  $0.39 \pm 0.04$  mm。至第 7 日，全長為  $5.98 \pm 0.51$  mm，進入脊索末端上屈期，仔魚脊索明顯上屈。至第 10 日，全長為  $6.71 \pm 0.35$  mm，開始進入脊索末端上屈後期，隨著脊索上屈且各鰭條陸續發育完成，仔魚游泳能力逐漸增強。第 15 日，全長為  $8.24 \pm 0.49$  mm，體高與頭長的比例相等。第 31 日全長為  $9.88 \pm 1.48$  mm 是初孵化

全長的 2.71 倍，開始進入稚魚期。

仔魚的相對成長發育是以魚體各部位長度對全長求出相對關係比例算出，測量標準體長、下頷長、體高、頭長、吻長、眼徑及臀鰭前長等七個部位形質長度與全長比較如 Fig. 9 所示。棘頰海葵魚一般形質出現正相關成長有頭長、吻長及臀鰭前長等三個部位，在全長約 5.0 mm 時達到最大比例之後形質達約 10 mm 時達到最小比例，之後形質趨於平緩。體高則於全長約 10.0 mm 時達到最大比例之後形質趨於緩慢增加。負相關增加的形質有標準體長、下頷長及眼徑等 3 個部位形質，普遍在全長  $3.64 \pm 0.31$  mm 時形質開始出現，全長 10 mm 時形質變化趨於平緩。



**Fig. 9** Some body proportions of *Premnas biaculeatus* as percentages of total length, standard length (SL), head length (HL), eye diameter (ED), snout length (SnL), lower jaw length (LJJ), preanal length (PAL), and body depth at pectoral-fin (BDP).

Figure 10 為棘頰海葵魚之仔魚開口口徑，初孵化之仔魚口徑為  $470 \pm 6.0 \mu\text{m}$ ，已可攝食游動較慢、大小在  $120 \sim 240 \mu\text{m}$  的輪蟲及橈足類幼生等初期餌料。孵化第 5 日仔魚口徑為  $0.68 \pm 0.26 \text{ mm}$ ，可開始兼投橈足類幼生，此時準備進入脊索末端上屈期，鰭條正在發育可提供成長較快仔魚提早攝食。脊索末端上屈後期於第 8 日完成，仔魚口徑也達  $1.06 \pm 0.17 \text{ mm}$ ，可輕易捕食豐年蝦無節幼蟲，因此第 10 日後不再給予橈足類，以豐年蝦無節幼蟲作為主要餌料。第 20 日，仔魚口徑為  $2.93 \pm 0.33 \text{ mm}$ ，可以微粒人工飼料 (粒徑  $\leq 1 \text{ mm}$ ) 開始馴餌。

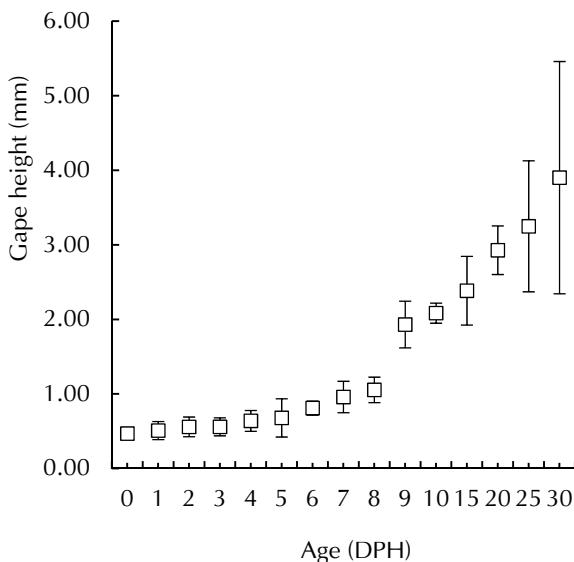


Fig. 10 The growth of gape height in *Premnas biaculeatus*.

## 討 論

### 一、產卵生態

海葵魚群聚中，雌性為第一優勢魚，體型最大，第二 (或加上第三) 為雄魚，其餘無性別分化，雌魚失去時，有依順序遞補變性的現象 (邵與陳, 1990)，本研究在觀察雌雄魚配對及解剖樣本時，亦發現有類似情形。其次，眼斑海葵魚研究中，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，棘頰海葵

魚在水溫  $25 \sim 30^\circ\text{C}$  可終年不間斷產卵，何 (2007) 在眼斑海葵魚也發現相同特性，故推測棘頰海葵魚也屬多次分批產卵的生殖型態。

棘頰海葵魚不具有性別兩色變異 (Sexually dichromatic)，因此在配對繁殖時，無法由體色來區分性別，強迫配對發現較強勢的魚 (可能是雌魚) 會驅趕或攻擊較弱勢的魚 (可能是雄或雌魚)。棘頰海葵魚生性好鬥，在仔稚魚群體中會有互相攻擊而造成死亡情形，具地域優勢的大體型魚會攻擊體型較小的弱勢魚。本研究進行人工配對時常發生互相攻擊致死情形，故配對過程需注意養殖密度及空間。何 (2007) 在眼斑海葵魚研究中發現，最佳的配對方式是大體型魚和體型較小之未成熟魚來配對，配對缸中以放入一顆巨大異輻海葵，可減少攻擊行為發生及提高配對的成功率。而應用於棘頰海葵魚種魚配對時依體型差異及配合海葵的置入也確實減少了棘頰海葵魚的攻擊行為，提升了配對成功率。

棘頰海葵魚受精卵偏動物極具有附著絲得固著於卵床上，形狀多呈長橢圓形，剛產出之受精卵產卵數依雌魚體型大小可達  $800 \sim 3000$  多粒不等，比較斑海葵魚受精卵數  $1,400 \sim 2,000$  粒 (陳等, 2003)、粉紅海葵魚  $300 \sim 700$  粒 (何等, 2006)、白條海葵魚  $800 \sim 2,500$  粒 (錢, 2006) 及眼斑海葵魚  $300 \sim 1,000$  粒 (何, 2007) 之最大產卵量來的多。造成產卵數差異之原因，除種間差異外，同種魚類之間體型大者，獲得較多營養的種魚及相對成熟的個體而言，產卵量多是可預期的 (Frank, 1998)。

### 二、胚胎發育

有些魚類雖屬同一種，但因產卵期或產卵場環境之異，卵徑也會發生差異 (朱, 1997)，本研究受精卵平均長、短徑為  $1.81 \pm 0.09 \text{ mm}$  及  $0.79 \pm 0.03$  與韓國棘頰海葵魚培育研究之受精卵的平均長、短徑為  $1.99 \pm 0.03 \text{ mm}$  及  $0.88 \pm 0.03 \text{ mm}$  (Kim, 2007) 稍小。另與其他品種海葵魚比較，如鞍斑海葵魚平均長、短徑  $1.85 \sim 2.25 \text{ mm}$  及  $0.75 \sim 0.85 \text{ mm}$  (陳等, 2003)、泰國鞍斑海葵魚平均長、短徑  $1.90 \sim 2.00 \text{ mm}$  及  $0.90 \sim 1.00 \text{ mm}$  (Rattanayuvakorn *et al.*, 2005)、眼斑海葵魚平均長、短徑為  $2.05 \sim 2.72 \text{ mm}$  及  $0.81 \sim 1.19 \text{ mm}$

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

Scientific name	Egg diameter (mm)		Water temperature (°C)	Hatching time (h)	Fry length (mm)	Remarks
	Long	Diameter				
<i>Amphiprion ocellaris</i>	2.05 - 2.72	0.81 - 1.19	28 - 30.5	150.75	4.11 - 4.62	Ho, 2007
	1.80	0.80	27 - 28	152	—	Yasir and Qin, 2007
<i>A. polymnus</i>	1.85 - 2.25	0.75 - 0.85	26.5 - 27.2	171.92	3.50 - 4.48	Chen, 2003
	1.90 - 2.00	0.90 - 1.00	25 - 28	148 ± 8	3.90	Rattanayuvakorn <i>et al.</i> , 2005
<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. frenatus</i>	2.28 - 2.33	0.79 - 1.20	28 ± 1	—	3.47 - 3.48	Chin, 2006
<i>A. percula</i>	2.00 - 2.30	1.0 - 1.2	25.0 - 29.9	152.20	3.20	Dhaneesh <i>et al.</i> , 2009
<i>A. akallopisos</i>	2.01 - 2.10	0.9 - 1.0	27 ± 1	152.10	3.10	Dhaneesh <i>et al.</i> , 2011
<i>Premnas biaculeatus</i>	1.99 ± 0.03	0.88 ± 0.03	27 ± 0.5	120 - 150	3.22	Kim <i>et al.</i> , 2007
	1.81 ± 0.09	0.79 ± 0.03	27.3 ± 1	144.30	3.64 ± 0.31	This study

(何, 2007)、克氏海葵魚平均長、短徑為 2.90 ~ 3.20 mm 及 1.10 ~ 1.30 mm (蔡, 2005) 及白條海葵魚 2.28 ~ 2.33 mm 及 0.79 ~ 1.20 mm (錢, 2006)、黑邊公子 (*A. percula*) 平均長、短徑 2.00 ~ 2.30 mm 及 1.0 ~ 1.2 mm (Dhaneesh *et al.*, 2009) 及銀背海葵魚 (*A. akallopisos*) 平均長、短徑 2.01 ~ 2.10 mm 及 0.9 ~ 1.0 mm (Dhaneesh *et al.*, 2011) 之受精卵卵徑來的小。棘頰海葵魚的卵徑僅大於粉紅海葵魚平均長、短徑為 1.68 ~ 2.18 mm 及 0.75 ~ 0.85 mm (何等, 2006), 較近似於澳洲眼斑海葵魚平均長、短徑 1.80 mm 及 0.80 mm (Yasir and Qin, 2007) (Table 3)。

另根據試驗結果發現, 棘頰海葵魚產卵最適水溫在 25 ~ 30°C, 受精卵在水溫 27.3 ± 1°C 以上約需 144.5 h 孵化, 比較 Kim (2007) 在韓國培育的棘頰海葵魚胚胎發育過程中發現, 水溫在 27.0 ± 0.5°C 孵化時間需 150 h, 於相近水溫條件下比本研究孵化時間提早約 6 h。另, 眼斑海葵魚在水溫 28 ~ 30.5°C 下約 150.75 h 孵化 (何, 2007); 鞍斑海葵魚在水溫 26.5 ~ 27.2°C 下約 171.92 h 孵化; 黑邊公子在水溫 25.09 ~ 29.9°C 下約 152.20 h 孵化 (Dhaneesh *et al.*, 2009) 及銀背海葵魚在水溫 27 ± 1°C 下約 152.10 h 孵化 (Dhaneesh *et al.*, 2011) 皆較本研究之孵化時間長 (Table 3)。

Falk-Petersen (2005) 指出, 胚胎發育的時間受魚種與孵化水溫不同而有所差異, 水溫愈高會加速胚胎發育速度, 即胚胎發育所需的時間短 (何, 2007), 棘頰海葵魚也發現相似情形, 於冬季水溫降至 25 ± 1°C 時, 孵化時間會延長至 7 天孵化。

### 三、仔魚發育

棘頰海葵魚仔魚孵化後 7 h 鏡檢胃內容物, 即可發現橈足類幼生及輪蟲等餌料生物; 在眼斑海葵魚仔魚孵化後 8 h 也發現胃內有輪蟲存在 (何, 2007); 鞍斑海葵魚在孵化後 14 h 開始投餵輪蟲, 並在 4 h 後發現胃內也有輪蟲存在 (陳等, 2003)。有學者指出魚苗剛開口時提供近似本身卵黃囊營養份組成的餌料生物, 可利於仔魚的吸收, 將可提高魚苗活存率 (Tocher and Sargent, 1984; Heming and Buddington, 1988), 因此, 考慮餌料對仔魚適口性及營養在初期餌料的選擇是相當重要的因素。棘頰海葵魚仔魚開口為 470 ± 6.0 μm, 比較眼斑海葵魚仔魚口徑及口幅分別為 450 ~ 750 μm 及 450 ~ 500 μm (何等, 2007); 鞍斑海葵魚口徑及口幅為 459.6 ~ 777.8 μm 與 450 ~ 500 μm 的仔魚 (陳等, 2003); 粉紅海葵魚口徑及口幅為 466 ~ 594 μm 與 375 ~ 500 μm 的仔魚皆以提

供殼長為 120 ~ 240  $\mu\text{m}$  的海水輪蟲或橈足類幼生作為初期餌料。

研究中發現，棘頰海葵魚仔魚同時投餵輪蟲或橈足類幼生後觀察胃內容物，捕食橈足類幼生與輪蟲的比例約為 9:1，可見橈足類幼生具有韻律型的跳躍比輪蟲緩慢移動的方式更能夠吸引棘頰海葵魚初孵化仔魚的注意與捕食。棘頰海葵魚育苗過程中發現，仔魚成長至第 5 天後可投放大型橈足類，而輪蟲及橈足類幼生亦必需重疊投放，如此可提高仔魚的育成率，第 8 天可以兼投豐年蝦無節幼蟲。在海水笛鯛、海鱸及石斑魚皆證實餌料交替重疊對育苗有正面的效果 (Toledo *et al.*, 1999; Su *et al.*, 2001)。

#### 四、形態變化

仔稚魚培育最重要階段，就是初期攝食時期也就是魚苗由內因性營養 (卵黃囊) 轉變為外因性捕食的時期，仔魚的口徑大小各攝食器官的發育狀況，直接影響了可以攝取的餌料生物種類 (Olivotto *et al.*, 2005)。而初期階段捕食成功率及飢餓是導致仔魚死亡的主要原因 (Bailey and Houde, 1989)，因此攝食與運動系統的協調必需同步發展 (Osse *et al.*, 1997)。

初孵化的棘頰海葵魚各鰭部為圓鰭狀，仔魚鰭條因尚未分化游泳速度緩慢，皆在水表層行浮游生活，開口口徑為 470  $\mu\text{m}$  因此以捕食 120 ~ 240  $\mu\text{m}$  的輪蟲及小型橈足類幼生為主，符合張與謝 (1997) 研究海水魚仔魚的餌料粒徑大小，最好為其開口口徑的三分之一至一半左右為佳的攝食口徑。仔魚開口大小決定可以攝食之餌料生物大小與種類，而棘頰海葵魚仔魚口徑大小與眼斑海葵魚 450  $\mu\text{m}$  (何等, 2007)、鞍斑海葵魚 459.6  $\mu\text{m}$  (陳等, 2003) 及粉紅海葵魚口徑 466  $\mu\text{m}$  相近，因此餌料生物投餵序列亦相近。

黃 (2009) 在產浮性卵的赤鰭笛鯛初期發育研究發現，赤鰭笛鯛在孵化後第 20 日前主要將能量用在攝餌相關形質發育上，至孵化後第 30 日，則用在游泳相關形質發育上，而產附著卵的棘頰海葵魚，由其各部位形質對全長成長比例的變化發現，在孵化後到進入稚魚期之前，各部位形質發育變化明顯，配合骨骼發育的結果可知，初期仔魚主要將能量運用在攝食相關的發育上，兩者

結果皆顯示仔魚之攝食機能發育必需優先於游泳機能，如此可確保仔稚魚在初期階段不會因飢餓及營養不良而遭到淘汰。

Job and Bellwood (1996) 在棘頰海葵魚視覺發育的觀察發現，於水溫 21 ~ 24°C 下，沉降發生在 12 ~ 14 日，仔魚對於攝食輪蟲成功的機率，由孵化後 3 天的 96% 提高到孵化後 10 天 (沉降前期) 的 100%，顯示仔魚在接近沉降期時對於獵物的捕捉能力提高。仔魚的游泳能力會先以前進運動為主，再陸續完成轉向與瞬間急速行進的操控運動，游泳機能的完備不僅可增加攝食成功率，也可逃避敵害 (黃, 2009)，隨著攝食、視覺與游泳能力發育完備的程度，再配合適當的餌料提供，有助於降低初期仔魚的耗損。

在赤鰭笛鯛初期發育之攝餌與游泳相關形質得知，在建立模式化的種苗生產流程中，種苗生產最重要的關鍵在於充足的餌料，而仔魚初期餌料更直接影響仔魚存活率，因此，生物餌料的選擇可針對仔魚不同成長階段與攝餌及游泳能力進行考量與規劃，才能使仔稚魚攝餌成功率增加以獲得最佳的飼育效果 (黃, 2009)。

#### 謝 辭

本研究經費由行政院農業委員會觀賞魚類研究團隊-新興觀賞養殖魚種之繁養殖研究 (98 農科-10.3.1-水-A7) 及開發觀賞魚產業關鍵技術 (99 農科-10.3.1-水-A8) 計畫項下支助，執行期間承蒙前蘇所長偉成、前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，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.  
 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.  
 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.  
 邵廣昭, 陳麗淑 (2004) 魚類入門. 遠流出版事業股份有限公司, 167-169.

- 邵廣昭 (2011) 台灣魚類資料庫網路電子版 <http://fishdb.sinica.edu.tw> (2011-5-8).
- 施琮芳 (1994) 魚類生理學. 水產出版社, 303-425.
- 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.
- 黃振嘉 (2009) 人工飼育條件下赤鰭笛鯛 *Lutjanus erythropterus* 之初期發育及種苗生. 國立澎湖科技大學海洋創意產業研究所碩士論文.
- 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.
- 張賜玲, 謝介士 (1997) 金錢魚 *Scatophagus argus* 之初期發育及育苗研究. 水產研究, 5(1): 41-49.
- 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存活研究. 國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文.
- 農委會 (2009) 野生動物活體輸出入審核要點 (<http://www.forest.gov.tw/public/Data/9121011163371.pdf>)
- Bailey, K. M. and E. D. Houde (1989) Predation on eggs and larvae of marine fishes and the recruitment problem. *Advances in Marine Biology*, 25: 1- 83.
- Dhaneesh, K. V., T. T. Ajith Kumar and T. Shunmugaraj (2009) Embryonic development of percula clownfish *Amphiprion percula* (Lacepede 1802). *Middle-East J. Sci. Res.*, 4 (2): 84-89.
- Dhaneesh, K. V., K. Nanthini Devi, T. T. Ajith Kumar, T. Balasubramanian and K. Tissera (2011) embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. *J. King Saud University* (in press).
- Falk-Petersen, I. B. (2005) Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish & Shellfish Immunol.*, 19: 397-412.
- Fautin, D. G. and G. R. Allen (1992) Field guide to anemonefishes and their host sea anemones. Western Australian Museum, Perth, WA., pp. 160.
- Fautin, D. G. and G. R. Allen (1997) Anemonefishes and their host sea anemones (Revised Edition). Western Australian Museum, Perth, WA., pp. 159.
- Frank, H. H. (1998) Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. *Aquarium Sci. Conserv.*, 2(1): 43-44.
- Froese, R. and D. Pauly (2011) FishBase. World Wide Web electronic publication. <http://www.fishbase.org> (04/2011).
- Heming, T. A. and R. K. Buddington (1988) Yolk absorption in embryonic and larval fishes. *In Fish Physiology* (S. Hoar and D. J. Randall eds), Vol. XIA: 407-446.
- Job, S. D. and D. R. Bellwood (1996) Visual acuity and feeding in larval *Premnas biaculeatus*. *J. Fish Biol.*, 48: 952-963.
- Kim, J. S., Y. U. Choi, S. Rho, Y. S. Yoon, M. M. Jung, Y. B. Song, C. H. Lee and Y. D. Lee (2007) Spawning behavior, egg and larvae developments of maroon clownfish, *Premnas biaculeatus*. *J. Aquaculture*, 20(2): 96-105.
- Olivotto, I., A. Zenobi, A. Rollo, B. Migliarini, M. Avella and O. Carnevali (2005) Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture*, 250: 175-182.
- Osse, J. W. M., van den Boogaart, J. G. M., van Snik, G. M. J. and L. van der Sluys (1997) Priorities during early growth of fish larvae. *Aquaculture*, 155: 249-258.
- Rattanayuvakorn, S., P. Mungkornkarn, A. Thongpan and K. Chatchavalvanich (2005) Embryonic development of saddleback anemonefish, *Amphiprion polymnus*, Linnaeus (1758). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 39: 445-463.
- Richardson, D. L., P. L. Harrison and V. J. Harriott (1997) Timing of spawning and fecundity of a tropical and subtropical anemonefish (Pomacentridae: *Amphiprion*) on a high latitude reef on the east coast of Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 156: 175-181.
- 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. S. Golez, M. Doi and A. Ohno (1999) Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish. Sci.*, 65: 390-397.
- Yasir, I. and J. G. Qin (2007) Embryology and early ontogeny of an anemonefish *Amphiprion ocellaris*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 87(4): 1025-1033.

## Breeding Behavior of the Spinecheek Anemonefish (*Premnas biaculeatus*) and Its Larval Development

Yu-Ying Jiang<sup>1,2</sup>, Ming-Jong Cheng<sup>1</sup>, Yuan-Shing Ho<sup>1\*</sup>, Wen-Been Chang<sup>3,4</sup>  
Jen-Jiun Perng<sup>2</sup> and Wen-Yie Chen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Institute of Life Science, National Taitung University

<sup>3</sup>National Museum of Marine Biology and Aquarium

<sup>4</sup>Institute of Marine Biodiversity and Evolution, National Dong Hwa University

### ABSTRACT

Spinecheek anemonefish (*Premnas biaculeatus*) belongs to the subfamily Amphiprioninae of family Pomacentridae. During 365 days of observations from January 01 to December 31, 2009, the clownfish ovulated 25 times and produced 800 ~ 3000 eggs each time. These adhesive demersal eggs were orange with ellipsoidal in shape, and were  $1.81 \pm 0.09$  mm long and  $0.79 \pm 0.03$  mm in diameter. The yolks were about  $1.25 \pm 0.09$  mm long and contained several oil droplets were  $0.16 \pm 0.03$  mm in diameters. It took 144 hours to hatch as sea water was controlled at  $27.7 \pm 0.8$  °C and  $32.5 \pm 0.5$  psu. The newly hatched larvae were  $3.64 \pm 0.31$  mm in total length and phototactic. The phototaxis lessened as they grew. Larvae were fed with rotifers (*Brachionus plicatilis*) from one to six days post-hatch (DPH). On seven DPH, copepod was supplemented and its amount was gradually increased until it totally replaced rotifers on 10 DPH. On 20 DPH, larvae were  $8.24 \pm 0.76$  mm in total length and could be fed with pellet feed.

**Key words:** *Premnas biaculeatus*, breeding behavior, larval development

---

\*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