

粉紅海葵魚之生殖行為及育苗研究

何源興* · 陳哲明 · 施勝中 · 陳文義

行政院農業委員會水產試驗所 東部海洋生物研究中心

摘要

粉紅海葵魚 (*Amphiprion perideraion*) 屬於雀鯛科 (Pomacentridae) 之海葵魚亞科 (Amphiprioninae)。本研究自 2003 年 3 月 17 日至 2003 年 11 月 18 日止，共觀察產卵 21 次；當種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 8 ~ 27 日，產卵時間在 09:15 ~ 14:05，主要集中在 09:00 ~ 11:00，產卵行為持續約 1 個多小時；每次產卵數約 300-700 顆，卵粒為橘紅色、橢圓形、分離之沉性黏著卵，長徑 1.68 ~ 2.18 mm，短徑 0.75 ~ 0.85 mm，卵黃長徑 1.13 ~ 1.45 mm，內有許多油球，油球徑 0.03 ~ 0.28 mm。受精後累積溫度達到 190.5 ~ 221.6 d°C 即可孵化，且孵化日之晚間應保持完全黑暗狀態。育苗期間水溫在 24.5 ~ 32.0°C，孵化之仔魚全長為 3.20 ~ 3.80 mm，並具趨光性，隨著成長，仔魚趨光性變弱。孵化後 1 ~ 11 日間，投予輪虫 (*Brachionus plicatilis*)；第 12 日起，即可兼投橈足類 (Copepod)；第 15 日以後完全投予橈足類，第 59 日，魚苗之全長為 16.62 ~ 28.63 mm，已可以完全接受人工粒狀飼料。孵化後第 22 日之魚苗已有領域及爭鬥行為；第 26 ~ 30 日，體色斑紋已大致和成魚相似。

關鍵詞：粉紅海葵魚，生殖行為，初期發育，育苗

前言

粉紅海葵魚 (Pink clownfish, *Amphiprion perideraion*) 俗名咖啡小丑，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*)，前屬世界上約有 27 種，後屬僅 1 種 (Daphne and Allen, 1997)，台灣目前之記錄僅有 *Amphiprion* 一屬，共五種；粉紅海葵魚分佈於日本至東印度及澳洲等海域，本省南部罕見 (邵, 1993)。

有鑑於東南亞各國海域珊瑚礁長期遭受濫捕和毒物破壞，聯合國世界銀行為挽救此一海域之生態危機，於 1998 年 5 月 3 ~ 6 日派員至台灣了解海水魚人工繁殖成功之經驗，藉以提供相關數

據，建議東南亞國家不要再以炸魚及毒魚方式捕撈珊瑚礁魚類，並以台灣成功之繁養殖模式來增殖珊瑚礁魚類，以確保海洋生物資源生生不息。

海葵魚在全世界有 2 個主要生產公司分別是美國 (ORA; Oceans Reefs & Aquarinus) 及英國 (TMC; Tropical Marine Centre)，因為種苗生產屬商業機密，現有技術皆未對外開放。國內有少量生產繁殖，唯技術仍然不成熟，無法供應市場需求。因此本研究旨在於確立海葵魚類繁殖養殖技術，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，改善沿海漁民生活品質。

材料與方法

一、種魚培育

粉紅海葵魚種魚 8 尾，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 16,500 ~ 23,000 Lux，水深 50 cm，每日

*通訊作者 / 台東縣成功鎮五權路 22 號. TEL: (089) 850-090; FAX: (089) 850-092; E-mail: yuanho18@yahoo.com.tw

照明 9 小時，水溫維持在 27.0 ~ 30.0 °C，鹽度為 33 ~ 35 psu，缸中同時飼育旋轉輻射海葵 (*Radianthus ritteri*) 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。

二、產卵行為及產卵數之推測

每次開始產卵、產卵結束時間及繁殖前後之行為模式，以照相器材拍攝記錄；另，任選其中 3 次產卵，使用數位攝影機之零照度夜視功能，觀察受精卵開始孵化及孵化結束時間；每日測水溫、鹽度；並以此 3 次之產卵數及卵粒分佈面積，來估算每次之產卵數。

三、受精卵與胚胎發育過程

擇取任一梯次之受精卵，使用 40 倍光學顯微鏡，測量 100 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。

四、水溫對受精卵孵化時間之影響

將繁殖水槽之溫度分期設定在 27 ~ 28 °C 及 29 ~ 30 °C 兩個範圍，讓親魚分別產卵三次以上並記錄受精卵從產出到孵化所需時間，期了解水溫對受精卵孵化時間之影響。

五、光照度對受精卵孵化之影響

於受精卵將孵化時，光照度控制在 5 Lux (室內光源開啟、繁殖缸鹵素燈關閉) 及 800 Lux (室內光源及全光譜燈具皆開啟) 兩個範圍，分別觀察三次以上非零照度環境下，連續光照對受精卵孵化及延長產卵間隔之影響。另，於受精卵陸續孵化當中，重新開啟鹵素燈照明，5 分鐘後再次關閉照明，並保持零照度環境，觀察受精卵能否繼續孵化。

六、仔魚、魚苗形態的變化及育苗

利用仔魚具趨光之習性，使用聚光燈及虹吸管收集仔魚進行培育，育苗水溫為 24.5 ~ 32.0 °C，鹽度為 34 ~ 36 psu，培育槽使用 0.5 ton FRP 桶、300 L 玻璃水族箱或 1 ton PVC 桶，以輪蟲 (*Brachionus plicatilis*)、橈腳類 (Copepod)、豐年蝦 (*Artemia* spp.) 無節幼蟲及人工粒狀飼料作為仔魚之餌料，並添加擬球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 於育苗系統中，以穩定水質，並作為輪蟲之餌料及安定仔魚之用，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。

七、仔魚與海葵共生之時機

選取粉紅海葵魚 17 日齡仔稚魚，體色已轉變及體色未轉變各 30 尾及旋轉輻射海葵 1 顆。將旋轉輻射海葵置於 1000 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絲胞的反應，因此設定仔稚魚放入燒杯之時間為三分鐘即可；將選取之粉紅海葵魚仔稚魚，分別置入上述燒杯，三分鐘後，以滴管吸出仔稚魚，置於盛有乾淨海水之 1000 ml 玻璃燒杯，並微量打氣，觀察 2 小時及 24 小時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。

八、粉紅海葵魚繁殖行為與其共生海葵之關係

將海葵自產卵槽中移除，觀察種魚產卵行為及產卵間隔，藉以了解海葵存在與否是否影響粉紅海葵魚產卵。



Fig. 1 Spawning behavior of *Amphiprion perideraion*. A, A pair of brooders cleaning the spawning substrate together; B, Spawning female; C, Milt oozing from the male; D, Fertilized eggs being taken care of by the brooders.

結 果

一、種魚培育

至 2002 年 10 月 5 日止，8 尾種魚中有 5 尾因體質耗弱而陸續死亡，解剖死亡的種魚，發現其中體重 7.4 g 之母魚，卵母細胞已經開始發育成熟。而活存的 3 尾種魚其尾鰭及背鰭軟條部之外緣，皆具有橘色細紋（龜井，1989）。之後，其中一尾雄魚變性為雌魚，而與其中一尾雄魚配對成功，並排斥另一尾雄魚。至 2003 年 2 月 16 日，已配成對之 2 尾種魚之一，出現腹部明顯膨大的產卵徵兆，並於 2003 年 3 月 17 日，飼養第 151 日之種魚，開始第一次產卵。本試驗之粉紅海葵魚親魚皆會攝食新鮮蝦肉、魷魚及人工粒狀飼料，但對魚肉之嗜好性較差；試驗結束後，量測種魚之全長及體重，分別是雌魚 73.83 mm、7.5g 及雄魚 68.74 mm、6.4g。

二、產卵行為及產卵數之推測

本試驗之粉紅海葵魚種魚一對，自 2003 年 3 月 17 日至 2003 年 11 月 18 日計產卵 21 次 (Table 1)。產卵間隔約 8 ~ 27 日，產卵時間在 09:15 ~ 14:05，大部份集中在 09:00 ~ 11:00，產卵行為持續約 1 個多小時，其繁殖行為模式如 Fig. 1 所示。第一次產卵時雌魚腹部明顯膨大，於產卵前 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；第二次產卵時，在產卵前 2 日，可以觀察到短暫但未持續的清潔產卵床行為；第三次產卵以後之產卵前清理行為，只發生在產卵前 2 ~ 3 小時，可能與產卵床已經固定下來有關。接近產卵前 2 ~ 3 小時，雌魚、雄魚生殖突起明顯突出，粉紅海葵魚雌魚之生殖突起，較雄魚粗大，且突起前端為圓鈍狀，而雄魚則為細

Table 1 Spawning of *Amphiprion perideraion* from one pair of brooders in 2003

No. of spawning	Spawning		Spawning interval (day)	Hatching			
	Date	Time		Date	Dark duration	Accumulated temperature (d°C)	Days after spawning
1	Mar. 17	12:05~13:41	–	Mar. 24	18:00~21:30	213.4	7
2	Apr. 13	11:32~12:48	27	Apr. 19	17:00~21:33	192.0	6
				Apr. 20	17:00~21:03	219.8	7
3	Apr. 28	11:32~12:39	15	May 04	17:00~20:20	192.5	6
				May 05	17:00~20:14	220.0	7
4	May 06	11:27~12:38	8	May 12	16:47~22:39	190.5	6
				May 13	16:23~20:35	218.0	7
5	May 16	10:45~11:57	10	May 22	17:00~21:44	192.4	6
				May 23	16:23~20:35	220.4	7
6	May 26	10:55~11:50	10	June 01	17:00~20:54	192.0	6
				June 02	17:00~19:53	219.3	7
7	June 05	11:15~12:20	10	June 11	17:00~20:25	194.1	6
				June 12	19:23~20:32	221.6	7
8	June 20	08:45~09:53	15	June 26	17:00~20:40	192.1	6
				June 27	17:00~20:25	219.9	7
9	July 01	14:05~15:14	11	July 07	17:00~20:30	193.3	6
				July 08	17:00~21:38	220.8	7
10	July 13	09:15~10:30	12	July 19	17:00~21:09	191.1	6
				July 20	20:03~21:25	221.1	7
11	July 25	09:30~10:46	12	July 31	17:00~20:30	191.4	6
				Aug. 01	19:57~20:45	218.9	7
12	Aug. 05	09:40~10:43	11	Aug. 11	17:00~20:09	202.6	6
13	Aug. 15	09:53~11:01	10	Aug. 21	15:45~16:51	202.5	6
					17:45~20:05		
14	Aug. 25	10:10~11:17	10	Aug. 31	14:13~16:12	203.3	6
					17:00~20:08		
15	Sep. 05	10:26~11:33	11	Sep. 11	17:00~19:52	202.8	6
16	Sep. 15	09:55~10:40	10	Sep. 21	19:46~21:10	203.4	6
17	Sep. 26	10:00~10:55	11	Oct. 02	17:00~21:45	203.1	6
18	Oct. 09	10:45~11:39	13	Oct. 15	17:00~19:50	204.1	6
19	Oct. 24	10:28~11:36	15	Oct. 30	17:00~21:10	202.6	6
20	Nov. 05	10:06~11:08	13	Nov. 11	15:50~16:42	203.5	6
21	Nov.18	09:25~10:31	13	Nov. 28	14:42~15:50	202.1	6
					17:00~20:00		
Average			12.5			205.4	

尖狀，因此如觀察到種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。開始產卵後約半個小時內，為連續產卵、排精，爾後雌魚產卵動作之間隔時間延長為 3~40 秒，平均為 12 秒，雌魚產卵數秒後，雄魚接著排精於橘紅色卵粒上，亦會有兩者同時動作。根據三次卵粒數，得知平均產卵數在 500 粒左右，卵粒分佈面積約 $4.5 \pm 1 \text{ cm}^2$ ，其後每次之產卵數，根據卵粒分佈面積推算約 550 ± 150 粒左右。產卵結束後，親魚會不斷地在卵粒旁以胸鰭煽動水流（增加溶氧及加速胚體代謝物之擴散），並驅逐它魚，同時會以口啄除死卵，雖然雌、雄魚皆會護卵，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越增加，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胚胎全部孵化。

三、受精卵與胚胎發育過程

粉紅海葵魚剛產出之卵粒為橘紅色，受精卵之長徑約 1.68~2.18 mm、短徑約 0.75~0.85 mm 及卵黃囊長徑約 1.13~1.45 mm，內有許多油球，其直徑約 0.03~0.28 mm，受精卵為長橢圓形，偏動物極之頂端具有棉絮狀之附著絲，其功用在使用卵粒黏附於產卵床上。由試驗資料顯示，累積溫度達到 190.5~221.6 d°C，平均 205.4 d°C 即可孵化，從第一顆受精卵孵出開始，經 40~77 分後，所有受精卵才完全孵化完畢。

粉紅海葵魚受精卵之胚胎發育過程，如 Table 2 所示，在水溫 25.5~28 °C，鹽度 33~35 psu 下，受精後 1 小時 32 分為 4 細胞期 (Fig. 2A)；1 小時 55 分為 8 細胞期 (Fig. 2B)；2 小時 25 分為 16 細胞期 (Fig. 2C)；2 小時 52 分為 32 細胞期 (Fig. 2D)；3 小時 23 分為 64 細胞期 (Fig. 2E)；4 小時 20 分為桑實期 (Fig. 2F)；16 小時 45 分為原腸期 (Fig. 2G)；23 小時 10 分後囊胚覆蓋卵黃三分之二、胚體出現 (Fig. 2H)；27 小時 48 分後眼胞已形成並具 5 體節 (Fig. 2I)；33 小時 19 分後耳胞形成並具 14 體節 (Fig. 2J)；38 小時 32 分後眼胞內晶體形成、尾部已形成並與卵黃囊分離、卵黃及胚體上已出現色素胞、16 體節 (Fig. 2K)；43 小時 21 分後已可見心臟搏動、心臟搏動每分鐘 76 ± 1 次、21 體節；48 小時 33 分後胚體偶爾痙攣般扭

動、心臟搏動每分鐘 100 至 104 次、26 體節 (Fig. 2L)；56 小時後胚體頭部移至卵的前端、28 體節 (Fig. 2M)；78 小時 27 分後胚體眼上已見色素沉著、心臟搏動每分鐘 156 次、30 體節 (Fig. 2N)；82 小時 18 分後胸鰭原基已形成、心臟搏動每分鐘 148 至 160 次；115 小時 11 分後尾部末端已達眼部、胸鰭偶而擺動、胚體眼上已積聚鳥糞素 (Guanine)，此時於燈光下之受精卵可以清楚觀察到胚體眼部閃耀的銀色光澤，心臟搏動每分鐘 178 ± 2 次 (Fig. 2O)；149 小時 9 分暨孵化前 2 小時 11 分，心臟搏動每分鐘 190 ± 10 次；剛孵化之仔魚體長為 3.20~3.80 mm。

四、水溫對受精卵孵化時間之影響

第 1~12 次產卵，孵化水溫維持在 27~28 °C，仔魚孵化所需時間為產卵後第 6~7 日，分別於兩日之晚間孵化，第 13 次以後之產卵，孵化水溫提升至 29~30 °C，則仔魚孵化所需時間為產卵後第 6 日之晚間全部孵化，如 Table 1 所示。

五、光照度對受精卵孵化之影響

於第 22、23、24 次產卵觀察中，在預計將孵化之當晚將鹵素燈關掉，僅留下育苗室日光燈一盞，光照度為 5.0 Lux 左右，於晚間 20:00 左右觀察孵化情況，結果其孵化率分別為 0%、5% 及 3%，而翌日 08:00 開啟鹵素燈照明後，觀察分別於 11:30、19:55 及 08:50 全部孵化，孵化延遲約 12~24 小時；於第 25、26、27 次產卵觀察中，在預計孵化之當晚，將光照度控制在 800~815 Lux (全光譜燈全天維持開啟至受精卵全部孵化)，於晚間 20:00 左右觀察孵化情況，結果其孵化率皆為 0%，而翌日，依次於 08:10、11:05 及 08:15 全部孵化，孵化延遲約 12~15 小時；於第 28、29、30 次產卵，於受精卵陸續孵化當時，重新開啟鹵素燈照明，觀察發現其孵化會馬上停止，當再次關閉照明，並保持零照度環境，則受精卵皆可以於 1 小時內全部孵化。

Table 2 Embryonic development of *Amphiprion perideraion*

Duration (h:min)	Water temperature (°C)	Description
00:00	27.5	Fertilized eggs (Length: 1.68~2.18 mm; diameter: 0.75~0.85 mm; length of yolk-sac: 1.13~1.45 mm; oil globule: 0.03~0.28 mm)
01:32	27.0	4-cell stage
01:55	27.0	8-cell stage
02:25	27.0	16-cell stage
02:52	26.9	32-cell stage
03:23	26.8	64-cell stage
04:20	27.0	Morula stage
16:45	26.0	Gastrula stage
23:10	27.5	2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared
27:48	28.0	Optic vesicles appeared, 5 somites
33:19	26.5	Auditory vesicles formed, 14 somites
38:32	26.2	Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac, and chromatophore was visible on embryo and yolk, 16 somites
43:21	26.0	Heart pulsation began with 76 times/min, 21 somites
48:33	26.0	Embryo moved spastically, and pulsation: 100~104 times/min , 26 somites
56:00	25.5	The head of embryo turned to the top of egg, 28 somites
66:58	25.5	The circulatory system of blood was observed, and pulsation: 136~148 times/min
78:27	26.0	Chromatoplasm precipitated on eyes, and pulsation: 156 times/min, 30 somites
82:18	25.7	The original form of pectoral fin was visible, and pulsation: 148~160 times/min
91:33	25.8	The original form of gill cover was visible, and pulsation: 164~168 times/min
115:11	26.5	Guanine accumulated on eyes, pectoral fin swung sometime
149:09	27.8	Pulsation: 180~200 times/min
151:20	27.5	Hatching, 26 somites, 3.20~3.80 mm in total length

六、仔魚、魚苗形態的變化及育苗

剛孵化之仔魚 (Fig. 3A)，具趨光性，利用此特性可使用聚光燈集魚，以利收集仔魚進行培育，孵化後第 1 日，仔魚浮游於培育槽中上層，孵化後第 2 日，僅少數仔魚分佈於上層、中層則無、

下層偏多，隨著成長仔魚趨光性明顯變弱。

育苗水溫 24.5 ~ 32.0°C；孵化後第 1 日，可以開始投餵輪蟲，輪蟲投餵量保持在 7 ~ 13 ind./ml；孵化後第 2 日，仔魚之全長為 3.55 ± 0.12 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 (Fig. 3B)；孵化後第 4 日，仔魚背鰭

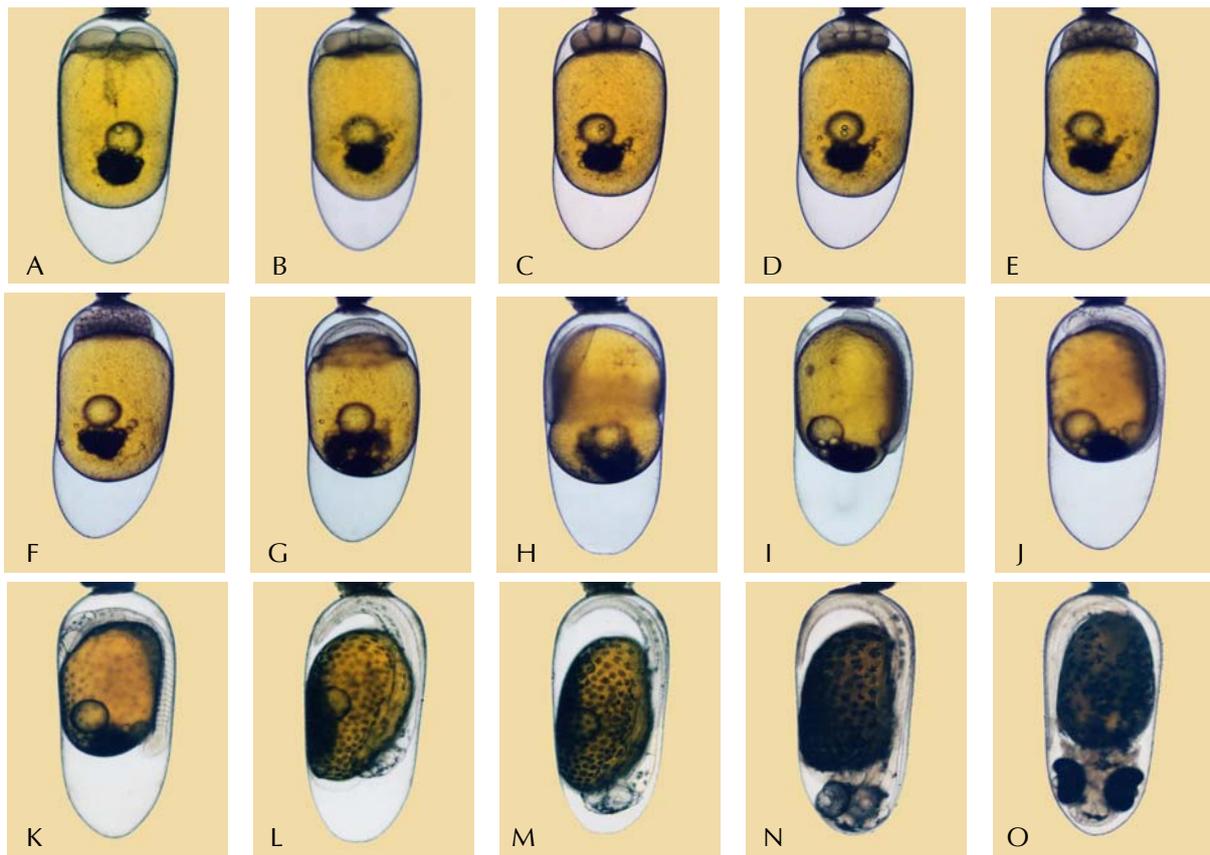


Fig. 2 Embryonic development of *Amphiprion perideraion*. A, Four-cell stage; B, eight-cell stage; C, 16-cell stage; D, 32-cell stage; E, 64-cell stage; F, morula stage; G, gastrula stage; H, 2/3 of yolk covered by the blastodisc and embryo has appeared; I, optic vesicles have appeared, with five somites; J, auditory vesicles formed, with 14 somites; K, optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac, and chromatophore visible on embryo and yolk, with 16 somites; L, embryo moving spastically and pulsating at 100~104 times/min, with 26 somites; M, head of embryo turned to the top of the egg, with 28 somites; N, chromatoplasm precipitated on eyes, and pulsating at 156 times/min, with 30 somites; O, end of tail reaching eyes, and pulsating at 176~180 times/min.

軟條數為 15、臀鰭軟條數為 12、尾鰭軟條數為 19 (分節 12、不分節 7)；孵化後第 6 日，仔魚背鰭 X + 16、臀鰭 II + 13、尾鰭軟條數為 19 (分節 14、不分節 5)，至此仔魚之鰭部的發育已與成魚類似，直到第 12 日同一批次之所有仔魚才陸續發育至此一階段；孵化後第 8 日，仔魚之全長為 4.47 mm，除腹部體色為銀白色外，其餘各部因黑色素胞之集中與否，以肉眼觀察呈黑色或灰黑色 (Fig. 3C)；孵化後第 10 日，仔魚之全長為 6.22 mm (Fig. 3D)；孵化後第 12 日，仔魚之全長為 7.13 mm，體色開始轉變為粉紅色 (Fig. 3E)，開始兼投橈足類；孵化後第 15 日，仔魚頭部頂端已出現白色細紋，餌料方面完全投予橈足類；孵化後第 22 日，仔魚之全長 10.44 mm，背鰭基部出現白色細紋，且已與先前頭部頂端出現之白色細紋相連接 (Fig.

3F)；孵化後第 24 日，仔魚之全長為 10.93 mm，頭後方出現一條細窄的垂直白帶，已有領域及爭鬥行為 (Fig. 3G)；孵化後第 26 日，魚苗之全長為 12.56 mm (Fig. 3H)，至此魚苗之體表斑紋大致已和成魚一致；孵化後第 59 日，魚苗之全長為 16.62 ~ 28.63 mm，已可以完全接受人工粒狀飼料。粉紅海葵魚仔稚魚之成長及餌料之轉換過程，如 Fig. 4 所示。

七、仔魚與海葵共生之時機

試驗結果如 Table 3 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。

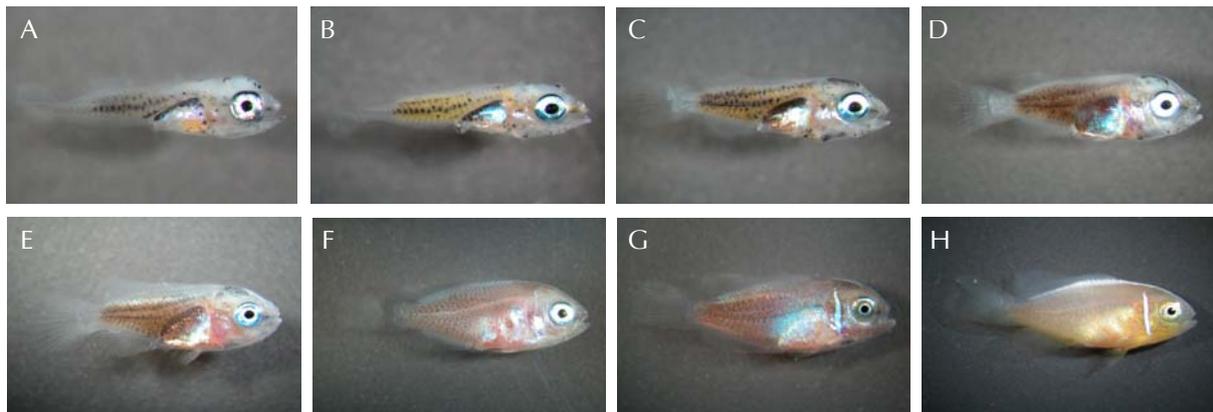


Fig. 3 Morphological changes of *Amphiprion perideraion* at the larval and fry stages. A, Newly-hatched larva, 3.08 mm in total length; B, 2-day-old larva, 3.55 mm in total length; C, 8-day-old larva, 4.47 mm in total length; D, 10-day-old larva, 6.22 mm in total length; E, 12-day-old larva, 7.13 mm in total length; F, 22-day-old larva, 10.44 mm in total length; G, 24-day-old larva, 10.93 mm in total length; H, 26-day-old fry, 12.56 mm in total length.

Table 3 Assay of symbiosis between sea anemone (*Radianthus ritteri*) and clownfish (*Amphiprion perideraion*) larvae

Time elapsed (h)	Larvae ¹ before discoloration			Larvae after discoloration		
	Dead	Alive	Mortality ² (%)	Dead	Alive	Mortality ² (%)
2	27	3	90	3	27	10
24	30	0	100 ^a	4	26	13.3 ^b

¹The tested larvae were 17-day old.

²Mortality with different superscripts (a, b) are significantly different (Difference of bernoulli population in proportions, $p < 0.05$, two sided test).

八、粉紅海葵魚繁殖行為與其共生海葵之關係

第二十八次產卵之後，將海葵自親魚所在之水槽中移除，則間隔 18 日後，開始第二十九次產卵，之後，種魚仍以每月約產卵兩次之頻率，穩定產卵中。

討 論

Hirose (1995) 指出目前已知的 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雌雄同體雄性先熟型 (Protandrous hermaphrodites)，而其幼魚之生殖腺皆同時具有雌、雄生殖細胞，粉紅海葵魚亦屬之，並且粉紅海葵魚生殖群聚中，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。此即所謂的族群管控 (Social control) 現象。本研究之粉紅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。而雄魚的尾鰭及背鰭軟條部外緣有橘色細紋 (龜井, 1989)，至第一次產卵開始經 247 日止，尾鰭仍殘留不明顯的橘色細紋，因此在本研究之粉紅海葵魚性轉變的過程中，約經 124 日，生殖腺精巢組織消失退化，而卵母細胞已發育成熟，但藉以判別雌、雄之性別兩色變異 (Sexually dichromatic)，則呈緩慢改變。

粉紅海葵魚之產卵數 (300 ~ 700) 與鞍斑海葵魚產卵數 (1400 ~ 2000) (陳等, 2003) 相較之下，少了許多，因粉紅海葵魚之最大體長為 10.0 cm (Lieske and Myers, 1994)、鞍斑海葵魚之最大體長

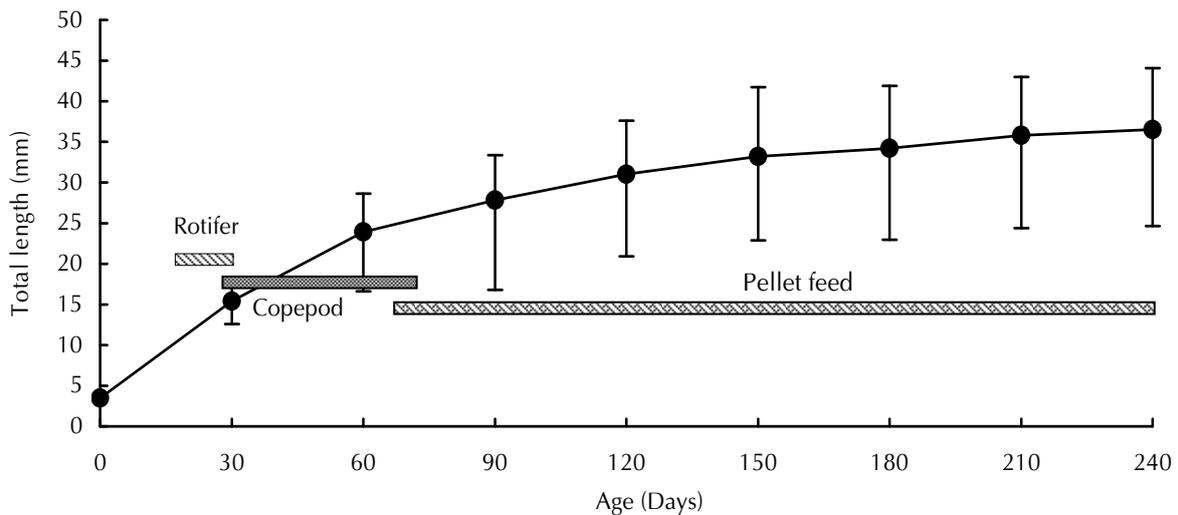


Fig. 4 Growth performance of *Amphiprion perideraion* fed the different diets.

為 13.0 cm (Lieske and Myers, 1994)。因此，可能因魚種或種魚體型大小不同，而影響產卵數之多寡。

粉紅海葵魚受精卵之孵化水溫維持在 27.5 ± 0.5 °C，仔魚在產卵後第 6 ~ 7 日孵化，且分別於兩日之晚間孵化，若孵化水溫提升至 29.5 ± 0.5 °C，則仔魚孵化時刻為產卵後第 6 日之晚間，且一個晚上即可全部孵化。提高孵化水溫之方式，似乎可以將孵化時刻控制在一次全部孵化，可以減少人力之浪費，且不影响仔魚孵化率。

本研究觀察發現光照度會影響受精卵之孵化，在有燈光之環境下，受精卵無法於預計孵化日之晚間孵化，而是在一段延長之時間（約 12 ~ 24 小時）後，才會陸續孵化完畢。為不影响胚胎孵化進行，預計孵化日之晚間，應給予受精卵零照度之環境。

一般海水魚類受精卵孵化所需的時間約 1 ~ 2 天左右，如鞍帶石斑 (*Epinephelus lanceolatus*) 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)，黃錫鯛在水溫 20 ~ 24 °C 孵化所需的時間為 32 小時 (林等, 1988)。

上述魚種仔魚孵化後 2 ~ 3 天內浮游於水面，而本種受精卵孵化所需時間需 6 ~ 7 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，不若上述海水魚要等到卵黃囊消失後才需進食。粉紅海葵魚剛孵化

之仔魚全長 3.20 ~ 3.80 mm，其口徑及口幅分別為 466 ~ 594 μ m 與 375 ~ 500 μ m，以 150 目的浮游生物網，篩選出被甲長 120 ~ 150 μ m，可以通過 150 目浮游生物網之輪蟲，作為初期餌料生物。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。

在粉紅海葵魚仔稚魚培育方面，長期於室內培育之魚苗，其體色較室外培育者淺淡，所以為增加商品價值，應於育苗後期給予適當之光照；上述現象可能與黃色素細胞 (Xanthophore) (何與蔡, 1999) 有關，此種色素細胞在魚類的皮膚中相當普遍，其色素顆粒很小，在透射光下呈淡黃色或深橙色，很密集時甚至呈紅色，並且在光線影響下會迅速退色。

育苗水溫 24.5 ~ 32.0 °C，孵化後第 12 日，仔魚體色開始轉變為粉紅色，但須至 26 日以後，魚苗之體表斑紋才大致和成魚一致，此與鞍斑海葵魚仔魚從 13 日起，體色開始變化，至第 15 日以後，魚苗之體色斑紋大致已和成魚相似 (陳等, 2003)，有明顯之不同。另，觀察到 118 日齡之魚苗中 (n=30)，有一尾體長為 23.88 mm 之魚苗，已經開始轉變為雄魚之體色，而 Hirose (1995) 亦提及其所觀察到的粉紅海葵魚生殖群聚中，當雌魚失去時 (原來的雄魚則性轉變為雌魚)，第 3 順位魚體長為 40 mm，開始轉變為雄魚之體色，但如

果雌魚存在時，第 3 順位魚並不會轉變體色。本研究培育之魚苗，因未受成魚所支配，所以可以更早觀察到早熟的個體。

仔魚與海葵之共生關係，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)。

於收集培育粉紅海葵魚之初孵仔魚時，可觀察到初孵仔魚有約 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。進一步研究發現，只要仔魚體色開始出現，就會對海葵的觸手免疫，因此在仔魚體色尚未出現前不可將海葵置入育苗缸中，以免仔魚遭受海葵刺絲胞攻擊。對已開始產卵繁殖之粉紅海葵魚親魚，將海葵自其水槽中移除後，初期親魚對外在環境之刺激較為敏感，常顯焦躁不安，因此移除海葵後之第一次產卵間隔稍有延長外，往後之產卵皆持續穩定，因此將共生海葵從繁殖缸中移除，以提高孵仔魚苗之活存率是可行的。

參考文獻

- 何大仁, 蔡厚才 (1999) 魚類的發光、變色、放電與發聲行為。魚類行為學, 水產出版社, 基隆, 317 pp.
- 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.
- 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.
- 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.
- 邵廣昭 (1993) 雀鯛科。台灣魚類誌 (沈世傑主編), 國立台灣大學動物學系, 台北, 414-415.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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(2): 153-161.
- Konno, K., Qin, G. W., Nakanishi, K., Murata, M. and Naya, Y. (1990) Synthesis of amphikuemin and analogs: A synomone that mediates partner recognition between anemonefish and sea anemone. *Heterocycles*, Vol.30:247-252.
- Lieske, E. and R. Myers, (1994) Collins Pocket Guide. Coral reef fishes. Indo-Pacific & Caribbean including the Red Sea. Haper Collins Publishers, 400 p.
- 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(4776): 585-586.

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

Yuan-Shing Ho^{*}, Che-Ming Chen, Sheng-Chung Shih and Wen-Yie Chen

Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The pink clownfish (*Amphiprion perideraion*) belongs to the subfamily Amphiprioninae of the family Pomacentridae. During March 17 to November 18, 2003, one pair of pink clownfish ovulated 21 times. Oviposition occurred after the brooders had cleaned the spawning substrate together, the abdomen of female was swollen, and the genital papillae of the female were observed to be protruded. The spawning interval was 8~27 days. The timing of spawning began at 09:15 and continued to 14:05 with a peak from 09:00 to 11:00, and the spawning behavior lasted for 1 h. About 300~700 eggs were released during each spawn. These adhesive demersal eggs are orange and ellipsoidal, and were about 1.68~2.18 mm long and 0.75~0.85 mm in diameter. The yolks were about 1.13~1.45 mm long and contained several oil droplets with diameters ranging from 0.03 to 0.28 mm. Hatching occurred at the accumulated temperature of 190.5~221.6 °C·day under dark incubation conditions. The newly hatched larvae were about 3.20~3.80 mm in total length and were phototactic; but the phototaxis decreased as they grew. The larvae, reared at water temperatures ranging between 24.5 and 32.0 °C, were fed rotifers (*Brachionus plicatilis*) from days 1 to 11. On day 12, the feed was supplemented with copepods, the amount of which gradually increased until it had totally replaced rotifers by the 15th day. The 59-day-old fry were about 16.62~28.63 mm in total length and could be completely fed a pellet diet. On the 26th~30th days, the stripes formed, and the appearance of the fry was similar to that of adult fish. The 22-day-old fry exhibited aggressive behavior possibly as a result of territorial defense.

Key words: *Amphiprion perideraion*, 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; FAX: (089) 850-092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw