

黑公子小丑繁殖研究

鄭明忠·江玉瑛·施勝中·劉恩良·何源興*

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

本研究自 2012 年 3 月 17 日至隔年 3 月 24 日止，針對一對配對成功的黑公子小丑種魚，觀察其產卵、孵化及胚胎發育，並進行仔魚培育試驗，同時探討其形態形質的變化。此期間觀察一對黑公子小丑共產卵 23 次，每次平均產卵數約 500 至 1200 粒，受精卵為橘黃色、橢圓形、分離之沉性附著卵，平均長徑為 2.70 ± 0.12 mm，平均短徑為 0.96 ± 0.03 mm，平均卵黃徑為 1.75 ± 0.06 mm，內含許多大小不一的油球，平均油球徑為 0.13 ± 0.06 mm。在水溫 $27.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ，鹽度 32~33 psu 下孵化所需時間約為 177 小時，剛孵化之仔魚平均全長為 4.31 ± 0.13 mm，並具趨光性，隨著成長，仔魚趨光性變弱。孵化後投予輪蟲 (*Brachionus plicatilis*) 為初期餌料，第 5 日起可兼投橈足類，第 15 日以後給予豐年蝦無節幼蟲，孵化後第 25 日，魚苗之平均全長為 13.02 ± 1.78 mm，可開始接受人工粒狀飼料。

關鍵詞：黑公子小丑、初期發育、育苗

前言

根據統計，目前已知的珊瑚礁魚類中，大約有 250 種可進行人工繁殖 (Tal, 2013)，大部分還是透過野外採集而來。部份漁民會利用氰化物迷暈捕捉這些魚類，對珊瑚礁和海洋生態系造成不小的傷害，而透過海洋食物鏈供給也影響漁業生產。因此，針對觀賞魚市場中熱門的珊瑚礁魚類進行人工繁殖與種苗培育為近年來頗受注目的課題 (Thresher, 1984; Holt, 1993; Holt, 2003; Olivotto *et al.*, 2003; Riley and Holt, 1993; Madhu and Rema, 2005)。

海葵魚是相當熱門的珊瑚礁觀賞魚，在分類上屬於雀鯛科 (Pomacentridae)、海葵魚亞科 (Amphiprioninae)。海葵魚亞科可分成海葵魚屬 (*Amphiprion*) 及棘頰海葵魚屬 (*Premna*) 二屬。目前由全世界已知的 28 種海葵魚中，增列了 *Amphiprion pacificus* 及 *A. barberi* 二個新種，使海葵魚種類增加至 30 種 (Allen, 1991; Allen *et al.*,

2008, 2010)。Fautin and Allen (1997) 指出，黑公子小丑 (*A. ocellaris* var.) 在分類上為眼斑海葵魚 (*A. ocellaris*) 因地域性而產生的變異種，至於黑色變異是否為該種海葵魚的特有亞種，目前還未定論，因此英文名也稱 *Ocellaris Anemonefish*。眼斑海葵魚廣泛分布於熱帶太平洋島嶼附近海域，臺灣周邊海域數量較少 (何等, 2008)。黑公子小丑主要分布僅於澳大利亞之達爾文 (Darwin) 周邊海域，常與紅肚海葵 (*Heteractis crispata*)、地毯海葵 (*Stichodactyla mertensii*) 及長鬚紫地毯海葵 (*S. gigantean*) 等三種海葵共生 (Daphne and Allen, 1997)，為目前海葵魚中相當稀少且珍貴的品種之一，在臺灣水族市場成熟個體每尾售價達新臺幣 750~1,000 元，屬於稀有又高價之小丑魚。

黑公子小丑體色為黑褐色到深黑色，身上有三條寬的白斑，眼後的白斑呈半圓弧形，中間的白斑呈三角形，年幼的仔魚體色與眼斑海葵魚相似呈橘紅色，隨年齡增長體色轉為淡褐、黑褐色，達成熟體型時呈黑白相間之色澤相當特殊。此魚最大體長可達 11 cm，無法從體色及外部形態辨別雌雄，但配對之親魚雌雄體型會有所差異，雌魚皆大於雄魚，可利用此特性判定其性別 (何等, 2008)。本研究以黑公子小丑在人工條件下進行種魚培育

*通訊作者 / 台東縣成功鎮五權路 22 號, TEL: (089) 850090 轉 301; FAX: (089) 850092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw

及繁養殖研究，以建立生殖行為、胚胎發育及育苗等基礎資料，以了解黑公子小丑之胚胎與仔魚外部形態變化及攝食等相關特徵發育，以作為量產黑公子小丑種苗之參考。

材料與方法

一、種魚培育與配對

本研究之黑公子小丑購自坊間水族館 24 尾及自行繁殖 170 尾，合計為 194 尾。初始體長為 3.5 ~ 7.5 cm。經二週檢疫後，放入種魚培育缸 (50 cm × 45 cm × 40 cm) 進行人工配對，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 ~ 13 次，內置產卵床如空心磚、花盆或珊瑚石，還有巨大異輻海葵 (*H. magnifica*) 一棵以提供躲藏，水溫維持在 $27.0 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ，鹽度為 32 ~ 33 psu，每日餵食二次並以自製軟性飼料及市售粒狀飼料交替餵食至每尾種魚飽食為止。

培育過程中若出現配對種魚間互有攻擊行為，則馬上將種魚移出蓄養缸並重新配對，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、生殖腺發育情形並測量體重、全長等資料，以 Excel 統計軟體分析黑公子小丑全長與體重之關係。

二、胚胎發育觀察

選擇一對親魚產下之受精卵利用解剖刀切斷附著絲以塑膠吸管吸取分離完整之卵粒，透過 40 倍光學顯微鏡，測量 30 粒受精卵長徑、短徑、油球徑及卵黃徑，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使水量覆蓋過受精卵，並以生物解剖顯微鏡 (ZEISS Stemi SV-6) 及數位影像測量分析軟體 (NIS-Elements D 2.30, Nikon) 拍攝胚胎發育過程，同時記錄時間、水溫與胚胎發育之狀態，直至受精卵孵化為止。

三、仔魚培育

一對親魚所產受精卵孵化之仔魚利用具趨光習性，使用聚光燈及虹吸管收集仔魚進行培育，初次放養仔魚約 800 尾，育苗水溫為 28 ~ 31°C，鹽度為 33 ~ 35 psu，培育槽為 1.8 ton 之 FRP 桶。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 ~ 10 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 15 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 25 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。

四、形態觀察

試驗期間每日由培育水槽隨機撈取 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 (ZEISS Stemi SV-6) 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)、臀鰭前長 (preanal length, PAL) 及體高 (body depth at pectoral-fin, BDP) 等各部位形質。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，相對成長率 (relative growth rate) = 形質長度 ÷ 全長 × 100%。

五、統計分析

本實驗數據處理皆於計算其平均數與標準偏差 (Standard Error of Mean, SD)，以 ANOVA - Duncan's multiple range test 進行統計分析，以 $p \leq 0.05$ 表示各組之平均數在統計上具顯著差異。

結 果

一、種魚培育與產卵

試驗期間共解剖了 95 尾魚，包括 9 尾雌魚、24 尾雄魚及 62 尾性別未分化魚。測量得知，雌魚平均全長為 6.68 ± 1.06 cm (4.20 ~ 7.60 cm)，平均體重為 7.78 ± 1.60 g (5.10 ~ 10.40 g)；雄魚平均全長為 5.23 ± 0.44 cm (4.20 ~ 6.10 cm)，平均體重為 3.00 ± 0.79 g (2.05 ~ 5.21 g)；性別未分化魚之平均全長為 4.32 ± 0.54 cm (2.00 ~ 6.40 cm)，平均體重為 1.94 ± 1.07 g (0.37 ~ 7.02 g)。統計分析後得知，雌雄之體型上具顯著差異 ($p \leq 0.05$) (Table 1)。

體長 (X) 與體重 (y) 關係如 Fig. 1 所示，其關係式為：

$$y=3.6392X^{0.3085}, R^2=0.7772$$

觀察追蹤其中一對種魚的產卵與孵化情形，結果如 Table 2 所示。從 2012 年 3 月 17 日至 2013 年 3 月 24 日總計產卵 23 次，產卵間隔約 11 ~ 39 日，平均產卵間隔為 16.9 天，平均孵化時間為 8 天，產卵時間約在 09:20 ~ 17:30，大部分集中在 10:10 ~ 13:50，產卵行為大都持續 1 個多小時。

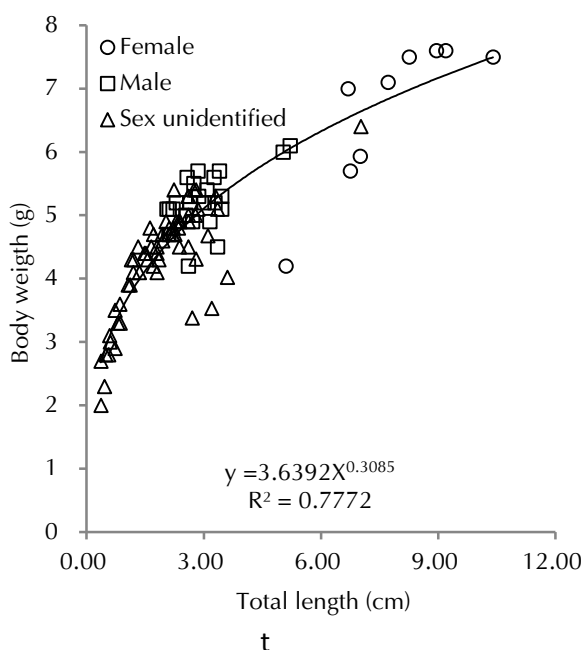


Fig. 1 Relationship between total length (cm) and body weight (g) of fish including female, male, and sex unidentified *Amphiprion ocellaris* var. X = total length, y = body weight, N = 95.

Table 1 Size comparison of female, male, and sex unidentified *Amphiprion ocellaris* var.

Items	Sexuality		Sex unidentified
	Female	Male	
Number	9	24	62
Weight (g)			
Mean	7.78 ± 1.60^a	3.00 ± 0.79^b	1.94 ± 1.07^c
Max	10.40	5.21	7.02
Min	5.10	2.05	0.37
Length (cm)			
Mean	6.68 ± 1.06^a	5.23 ± 0.44^b	4.32 ± 0.54^c
Max	7.60	6.10	6.40
Min	4.20	4.20	2.00

*Different superscripts indicate significant difference ($p \leq 0.05$).

二、胚胎發育

受精卵之平均長徑為 2.70 ± 0.12 mm、短徑為 0.96 ± 0.03 mm、卵黃徑為 1.75 ± 0.06 mm，內有大小不一 (0.13 ± 0.06 mm) 之油球數個，受精卵呈橘黃色之長橢圓形沉性卵 (Fig. 2)，動物極之頂端具有棉絮狀之附著絲。



Fig. 2 The adhesive, demersal, orange, and ellipsoidal eggs of *Amphiprion ocellaris* var.

受精卵之胚胎發育過程如 Table 2 及 Fig. 3 所示，在水溫 $27.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 及鹽度介於 32 ~ 33 psu 下，受精卵受精 35 min 後，胚胎發育為 2 細胞期；1 h 5 min 為 4 細胞期 (Fig. 3A)；1 h 50 min 後為 8 細胞期；3 h 10 min 後為 16 細胞期 (Fig. 3B)；4 h 後為 32 細胞期；4 h 50 min 後為

Table 2 Spawning of *Amphiprion ocellaris* var. from the selected pair of breeders in 2012 – 2013

No. of spawning	Spawning		Spawning interval (day)	Hatching		
	Date	Time		Date	Time of turning off the light	Days after spawning
1	Mar. 17	—	—	Mar. 24	18:00~19:00	7
2	Apr. 02	11:10~12:10	16	Apr. 11	18:00~19:00	9
3	Apr. 20	10:10~10:50	18	Apr. 28	18:00~19:00	8
4	May 05	12:10~13:10	15	May.12	18:00~19:00	7
5	May 16	13:20~14:30	11	May. 24	18:00~19:00	8
6	May 30	13:00~13:50	14	Jun. 07	18:00~19:00	8
7	Jun. 12	10:20~11:20	13	Jun. 19	18:00~19:30	7
8	Jun. 26	11:30~12:20	14	Jul. 04	18:00~19:30	8
9	Jul. 09	—	13	Jun. 17	18:00~19:30	8
10	Jul. 20	13:00~14:00	11	Jun. 29	18:00~19:30	9
11	Aug. 01	09:40~10:50	12	Aug. 09	18:00~19:30	8
12	Sep. 09	16:00~17:00	39	Sep. 16	18:00~19:30	7
13	Sep. 24	13:30~14:30	15	Oct.02	18:00~19:30	8
14	Oct. 09	—	15	Oct. 18	18:00~19:30	9
15	Oct. 21	10:50~11:50	12	Oct. 29	18:00~19:00	8
16	Nov. 03	11:30~12:40	13	Nov. 11	18:00~19:00	8
17	Nov. 16	09:20~10:30	13	Nov. 25	18:00~19:00	9
18	Dec. 03	03:10~04:00	17	Jan. 03	18:00~19:00	9
19	Jan. 09	—	37	Jan. 19	18:00~19:00	10
20	Jan. 26	10:20~11:20	21	Feb. 02	18:00~19:00	7
21	Feb. 16	16:20~17:30	11	Feb. 24	18:00~19:00	8
22	Feb. 27	13:30~14:30	25	Mar. 05	18:00~19:00	8
23	Mar. 24	10:30~11:00	—	Apr. 02	18:00~19:00	8
Average			16.9			8.0

64 細胞期；6 h 20 min 後為桑椹期 (Morula stage) (Fig. 3C)；16 h 50 min 後為囊胚期 (Blastula stage) (Fig.3D)；30 h 30 min 後胚囊覆蓋卵黃且可見胚體及眼胞形成，並出現 7 體節 (Fig. 3E)；56 h 20 min 後尾部與卵黃囊分離且心臟開始搏動 (Fig. 3F)；70 h 20 min 後胚體頭部旋轉至卵膜前方 (Fig. 3G)，80 h 50 min 後胚體眼上已見色素沈澱 (Fig. 3H)；165 h 後胚體眼部已完成積聚烏糞素 (Fig. 3I)；孵化前 4 h，胚體尾部延伸至眼窩且可發現胸鰭發育 (Fig. 3J)；177 h 後仔魚孵化，初孵化仔魚測量全長為 4.31 ± 0.13 mm。

三、仔魚培育

黑公子小丑仔魚形態變化過程如 Fig. 4 所示，在夏季不控溫孵化水溫 $27.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 下，初孵化仔魚之平均體長為 4.31 ± 0.13 mm (Fig. 4A)。仔魚具趨光性，利用此特性使用手電筒收集仔魚，將仔魚移入培育槽中育苗。初孵化仔魚會在孵化後 6~8 h 內開始攝食，因此在孵化當日培育槽中即需添加藻水，並以 150 目的浮游生物網，篩選出大小為 120 ~ 240 μm 之輪蟲及橈足類幼生，做為仔魚之初期餌料生物，輪蟲投餵密度為 5 ~ 10 隻/ml。

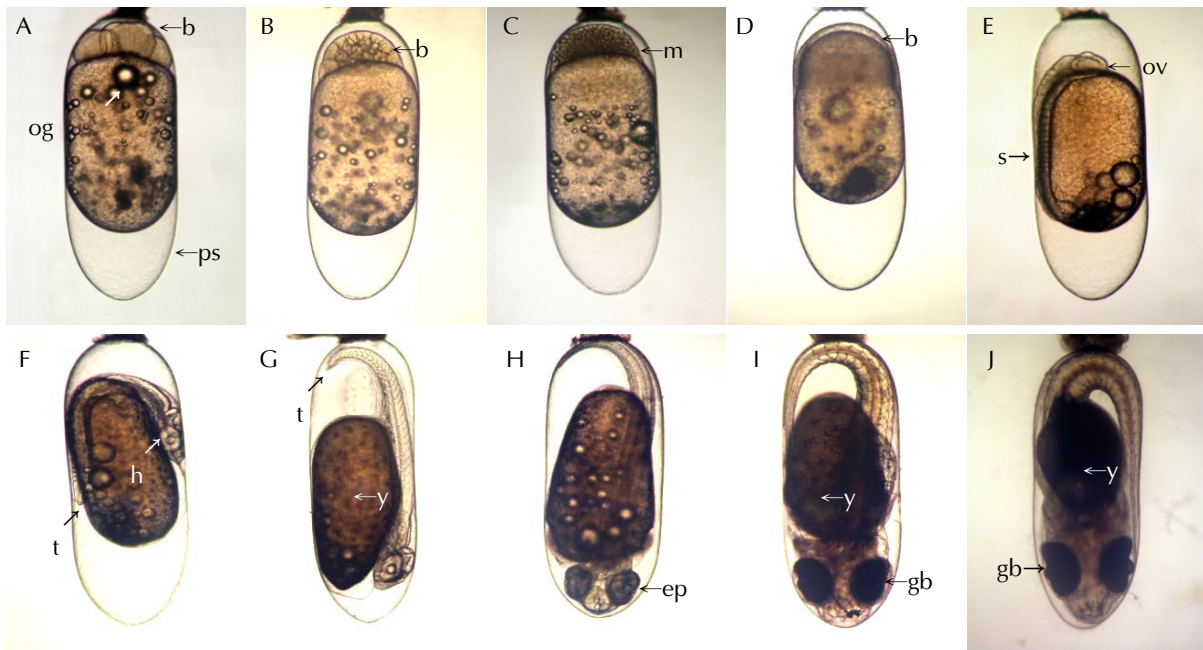


Fig. 3 The embryonic development of *Amphiprion ocellaris* var. A: 4-cell stage; B: 16-cell stage; C: morula stage (m); D: blastula stage (b); E: optic vesicles (ov) become visible with 7 somites (s); F: tail freed from yolk sac and heart begins beating at a heart rate of 108 ~ 127 time/min; G: head of embryo turns to the top of egg; H: guanine accumulates on eyes (gb) and achieves a degree of coruscation; I: chromatoplasm has precipitated on the heart; J: at 4 h before hatching, the end of the tail has reached the eyes. b, blastomeres; ep, eye pigment; h, hear; og, oil globule; ps, perivitelline space; t, tail; tb, tail-bud; y, yolk.

孵化後第 1 日，仔魚全長為 4.32 ± 0.13 mm (Fig. 4B)，卵黃消失殆盡，軀幹有些許黑色素細胞分布。育苗水溫為 $27.5 \sim 30.0^\circ\text{C}$ ，孵化後第 2 日 (Fig. 4C)，仔魚全長為 4.43 ± 0.11 mm，軀幹的黑色素細胞開始增加；仔魚主要分佈於培育槽中上層，且吻端會抵著槽壁游動。孵化後第 3 日 (Fig. 4D)，仔魚全長 4.54 ± 0.14 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；孵化後第 4 日 (Fig. 4E)，仔魚全長 4.64 ± 0.30 mm，體表色素持續擴散並分佈至頭部，鰭膜內縮各鰭部開始分化；孵化後第 5 日，(Fig. 4F) 仔魚全長 4.81 ± 0.67 mm，尾部鰭條發育初步完成可兼投橈足類；孵化後第 7 日 (Fig. 4G)，仔魚全長 5.83 ± 0.52 mm 仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已與成魚相似；孵化後第 9 日 (Fig. 4H) 及第 10 日 (Fig. 4I)，仔魚全長分別為 5.99 ± 0.52 mm 及 7.01 ± 0.57 mm，軀幹白色條紋開始形成，體表黃色色素開始擴散；孵化後第 15 日 (Fig. 4J)，仔魚全長為 8.35 ± 1.11 mm，頭部吻端、背鰭基部與腹部邊緣開始出現完整黃棕色色素細胞，體側明顯出現兩條白色

橫帶及尾柄色素帶開始出現，可兼捕食豐年蝦無節幼蟲，此時每日換水 1/10 以穩定水質；孵化後第 20 日 (Fig. 4K)，仔魚全長 11.19 ± 1.38 mm，體表黃色色素逐漸變深，軀幹及腹鰭黑色素開始疊積並擴散，尾柄第三條白色橫帶出現。孵化後第 25 日 (Fig. 4L)，仔魚全長已達 13.02 ± 1.78 mm，黑色素開始擴散於臀鰭周圍，此時可以投予人工飼料；孵化後第 30 日，仔魚黑色素開始擴散於尾鰭及背鰭周圍，軀幹部呈現黃棕色彩 (Fig. 4 M) 全長 16.84 ± 2.34 mm；孵化後第 60 日 (Fig. 4 N) 全長 23.09 ± 1.33 mm，孵化後第 90 日 (Fig. 4 O) 全長 24.66 ± 2.33 mm 體形及鰭式已與成魚一致，孵化後第 120 日 (Fig. 4 P)，全長 32.42 ± 2.11 mm，體表呈現咖啡色。

觀察中發現黑公子小丑仔魚孵化後卵黃即吸收殆盡，不久即開始攝食餌料生物，所以必須特別注意投餌時機，在水溫 $26 \sim 30^\circ\text{C}$ 下，應該於仔魚孵化後 24 h 內投餵輪蟲，若是投餌太遲會造成魚苗死亡。黑公子小丑仔魚之成長過程之全長變化與餌料種類如 Fig. 5 所示，從第 1 天開始到第

Table 4 Time and water temperature for the embryonic development of *Amphiprion ocellaris* var.

Duration (h : min)	Water temperature (°C)	Development stage
00:00	26.8	Fertilized eggs
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	26.5	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
70:20	26.9	Chromatoplasm have precipitated on eyes
80:50	26.9	Original form of pectoral fin have been visible
91:40	26.8	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 4.31 ± 0.13 mm

Length: 2.70 ± 0.12 mm; Diameter: 0.96 ± 0.03 mm; Yolk length: 1.75 ± 0.06 mm

10 天左右餌料生物以輪蟲為主，其中第 5 天以後可以兼投小型之橈足類，第 10 天開始完全投餵橈足類，第 15 天以後給予豐年蝦無節幼蟲，第 25 天開始兼投人工飼料，第 30 天開始可完全投餵人工飼料。

四、形態形質發育

參照 Kendall *et al.* (1984)，依據黑公子小丑的形態發育特徵，將其初期生活史分為四個階段 (Fig. 6) 分別為：(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)。仔稚魚日齡與各部位形質之變化，孵化 0~4 日為脊索末端上屈前期，仔魚脊索尚未上屈仍行浮游生活，觀察仔魚主要分佈於培育槽中上層，且吻端會抵著槽壁游動，初孵化仔魚全

長為 4.31 ± 0.13 mm，頭長 1.31 ± 0.06 mm，眼徑 0.41 ± 0.09 mm，吻長 0.28 ± 0.03 mm，臀鰭前長 2.14 ± 0.05 mm 及體高為 0.89 ± 0.02 mm。至第 4 日全長為 4.64 ± 0.30 mm 進入脊索末端上屈中期，仔魚脊索明顯上屈，至第 9 日全長為 5.99 ± 0.52 mm 後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，仔魚游泳效率漸增，攝食能力提高，可兼捕大型橈足類；觀察第 15 日全長為 8.35 ± 1.11 mm 可兼捕豐年蝦無節幼蟲；孵化第 25 日全長為 13.02 ± 1.78 mm 是初孵化全長的 3 倍，各鰭分化完整開始進入稚魚期階段。

為分析仔魚各部位形質長與全長比較的相對成長發育 (Fig. 7)，在標準體長、體高、頭長、吻長、眼徑及臀鰭前長等六項形質中，依相對成長分析，黑公子小丑一般形質出現與成長正相關者有吻長及體高二項，(在全長約 7.0 mm 時吻長達到相對成長最大值的 10%，體高則於全長約 10.0 mm 時達到最高為全長之 32%，隨後正相關相對成長

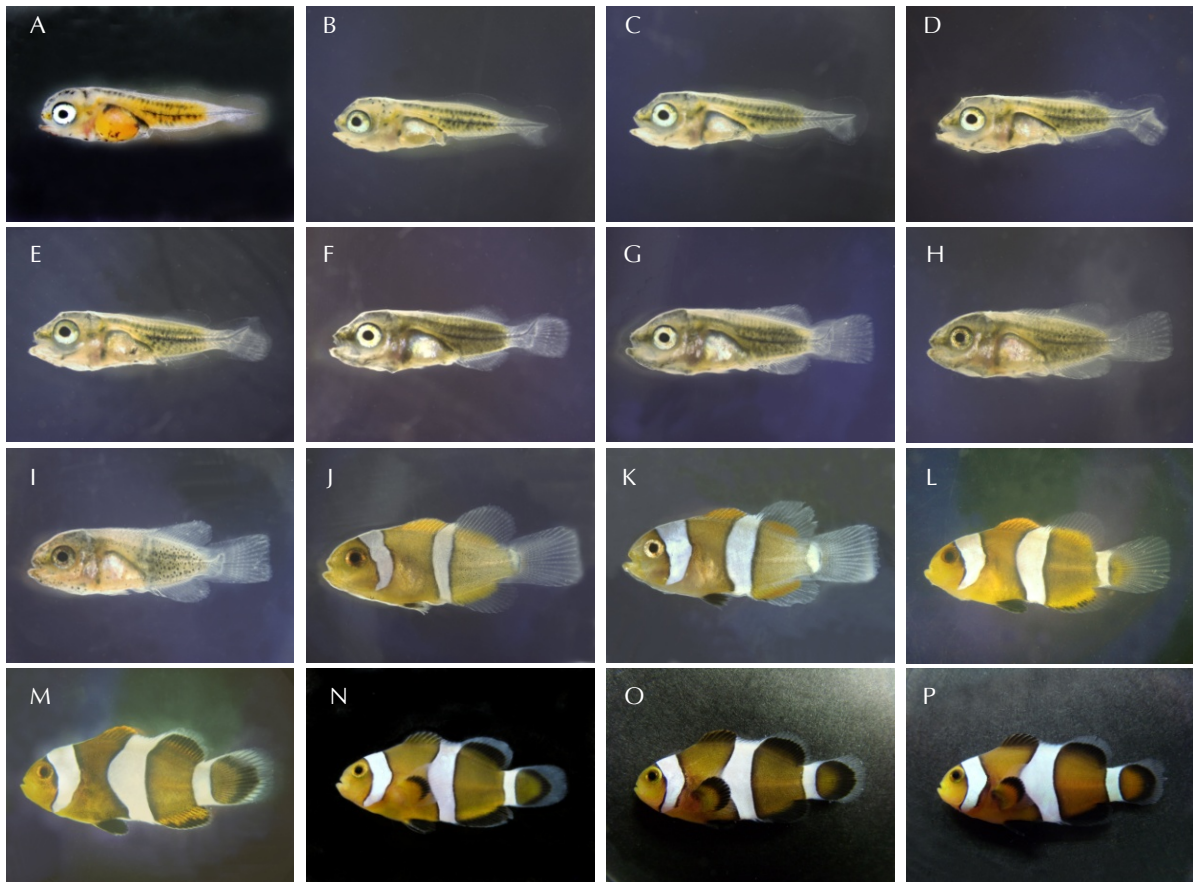


Fig. 4 The morphological changes of the *Amphiprion ocellaris* var. at larval and fry stages. A: newly-hatched larva, 4.31 ± 0.13 mm in total length; B: 1 DPH larva, 4.32 ± 0.13 mm in total length; C: 2 DPH larva, 4.43 ± 0.11 mm in total length; D: 3 DPH larva, 4.54 ± 0.14 mm in total length; E: 4 DPH larva, 4.64 ± 0.30 mm in total length; F: 5 DPH larva, 4.81 ± 0.67 mm in total length; G: 7 DPH larva, 5.83 ± 0.52 mm in total length; H: 9 DPH larva, 5.99 ± 0.52 mm in total length; I: 10 DPH larva, 7.01 ± 0.57 mm in total length; J: 15 DPH larva, 8.35 ± 1.11 mm in total length; K: 20 DPH larva, 11.19 ± 1.38 mm in total length; L: 25 DPH larva, 13.02 ± 1.78 mm in total length; M: 30 DPH larva, 16.84 ± 2.34 mm in total length; N: 60 DPH fry, 23.09 ± 1.33 mm in total length; O: 90 DPH fry, 24.66 ± 2.33 mm in total length; P: 120 DPH fry, 32.42 ± 2.11 mm in total length; DPH, Day post hatch.

形質發育趨於平緩。標準體長、眼徑、頭長及臀鰭前長等四項形質的相對成長則為負相關增加，由標準體長對全長之相對成長可看出尾鰭之發育情形，初孵化仔魚標準體長之相對成長為全長之 95 ~ 97% 當全長至 8 ~ 9 mm 時達到最小 (75%) 並隨體型漸增與全長比例維持在 75 ~ 83% 之間，可見仔魚發育至脊索末端上屈後期準備進入稚魚期階段，因鰭條出現使游泳效率漸增後即不再增加尾部比例。初期仔魚眼徑於全長 5 mm 時約佔比例之 10 ~ 12.8% 之間，因仔魚需要更好視力來提供搜索、發現、鎖定、判斷獵物大小及距離之方式達到有效捕食與避敵之目的，因而需發育一對相對較大的眼部來感應環境，當發育至稚魚期階

段約全長 13 ~ 15 mm 時因游泳能力增強，眼徑之發育及不再明顯增加。頭長發育 (攝食骨骼之發育情形) 涉及仔魚之攝食能力，可發現初期仔魚頭長比例為 28 ~ 35% 約佔全長三分之一，隨成長增加，頭部發育所佔比例愈來愈少。當全長為 35 mm 時頭長比僅佔全長之 23 ~ 25% 之間。臀鰭前長為全長之 42 ~ 57%，進入稚魚期後平均為 46 ~ 50% 間形質變化趨於平緩。

討 論

黑化變異 (melanistic variation) 的公子小丑

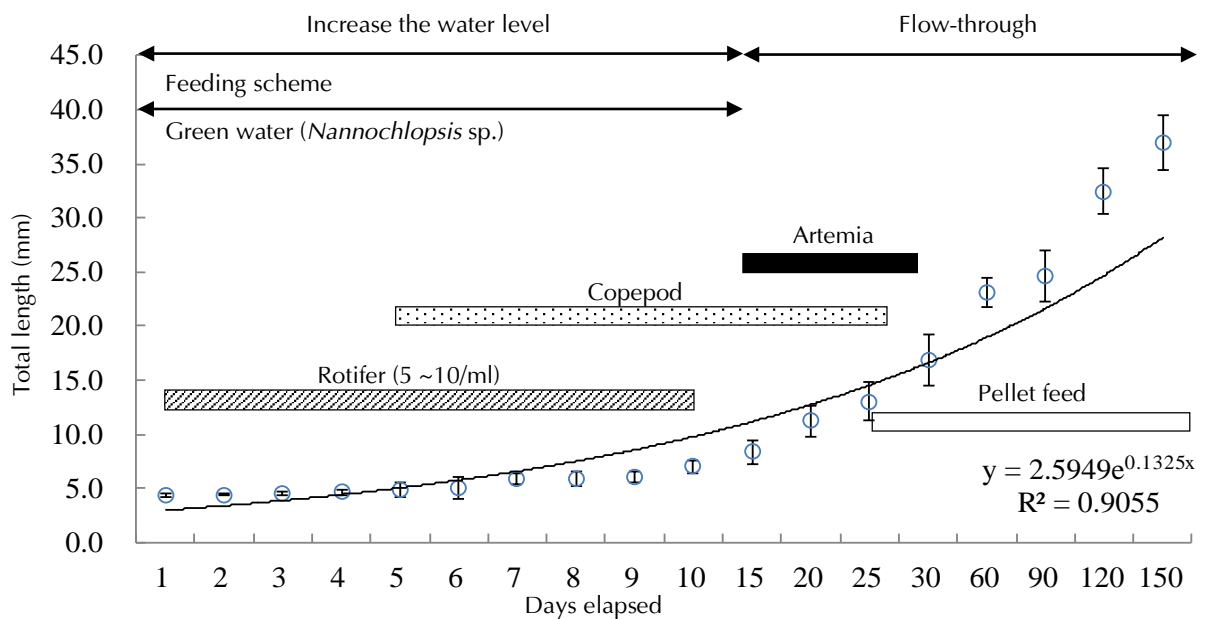


Fig. 5 The growth of *Amphiprion ocellaris* var. larvae with in feed and water management.

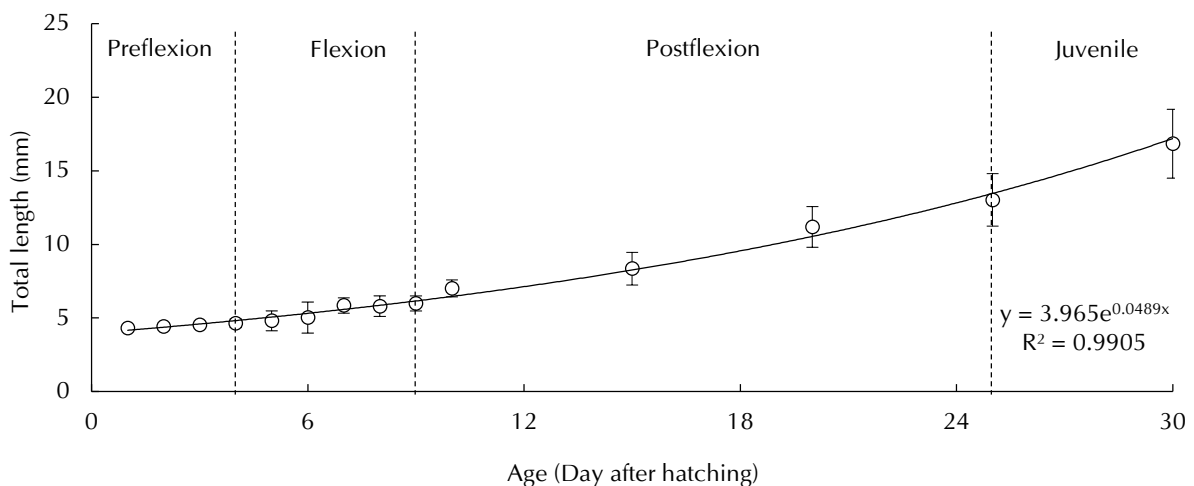


Fig. 6 Larval growth of *Amphiprion ocellaris* var. (mean \pm sd).

通常被水族玩家稱為達爾文黑公子或黑公子小丑。純黑及白色對比色彩鮮明，僅發現於澳大利亞達爾文島周邊海域 (Daphne and Allen, 1997)。海葵魚因分佈地理位置不同會出現黑化、行為模式、變性、雜交、遺傳及個體發育上變化，而影響同一種之海葵魚可能出現形態上差異 (Fautin and Allen, 1997; Rema and Madhu, 2007)。Rema and Madhu (2007) 發現在海葵魚物種間因不同地理位置之黑化變異僅出現在眼斑海葵魚。Fautin and Allen (1997) 另指出黑公子小丑是眼斑海葵魚因地域性而產生的黑化變異種，至於黑色變異種是否為海葵魚的特別種類尚未定論。

黑公子小丑與眼斑海葵魚最明顯的差異在全黑色和白色的色彩表現，但在培育過程中黑公子小丑稚魚期亦表現出與眼斑海葵魚一致之橙色色彩，不過隨年齡成長橘色色素細胞才漸漸轉換成純黑色。由於黑公子小丑可與眼斑海葵魚進行雜交並產生子代，故 Pedersen (2014) 提出另一個假說認為黑公子小丑是一個亞群內突變的結果。

在本研究之初的海葵魚收集作業中，發現由臺灣東部近岸水深 15 ~ 50 m 海域釣獲之雙帶海葵魚 (*A. clarkii*) 也曾出現明顯黑化個體，至於是否也為亞群內黑化變異之個體則有待後續研究證實。Pedersen (2014) 另觀察黑公子小丑雌魚約 3 ~

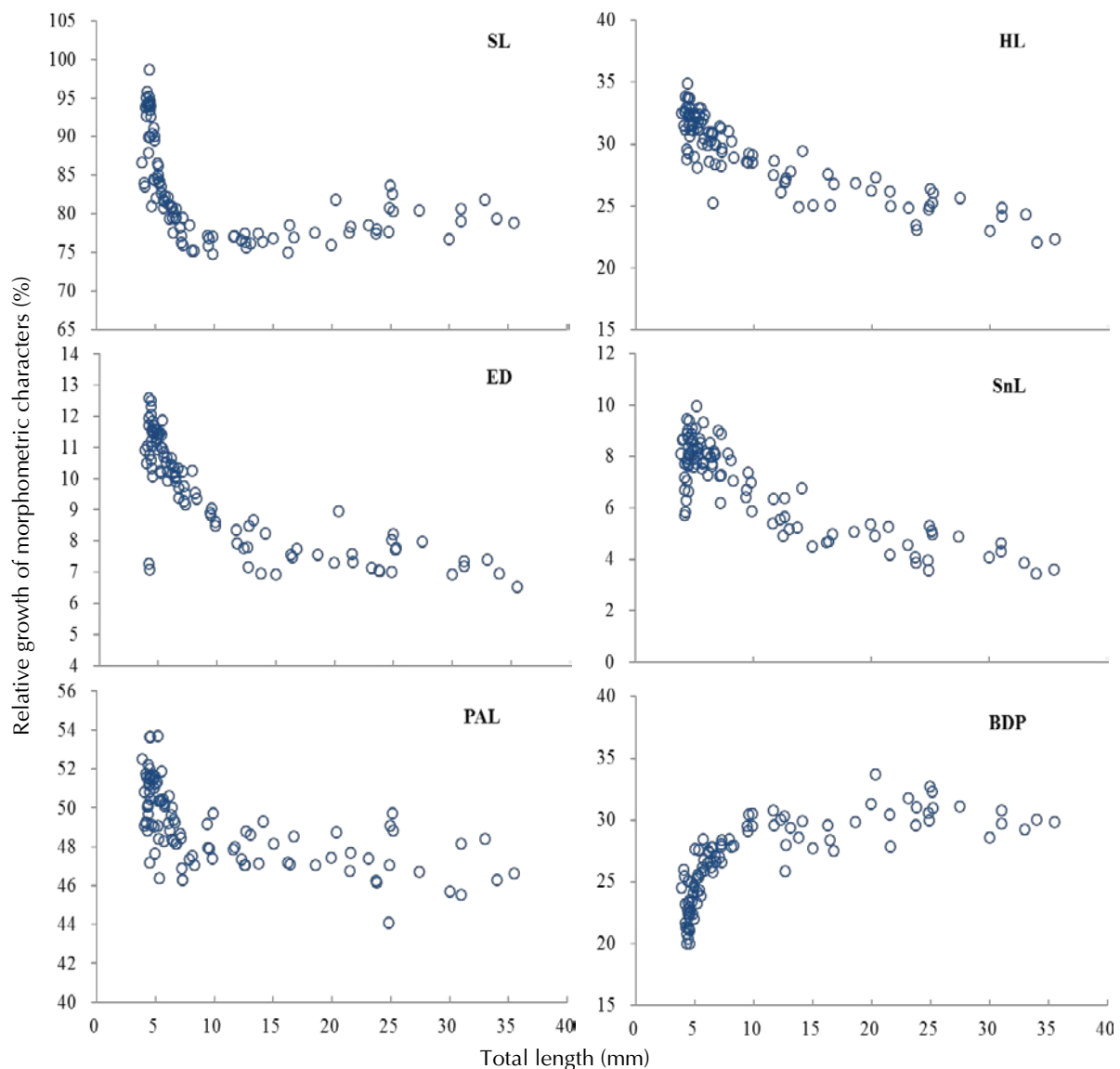


Fig. 4 Changes in relative growth of morphometric characters with total length for *Amphiprion ocellaris* var. Total length (TL), standard length (SL), head length (HL), eye diameter (ED), snout length (SnL), preanal length (PAL) and body depth at pectoral fin (BDP).

4年才能性成熟，較眼斑海葵魚約1.5~2年長。是屬於雄性先熟型 (protandrous hermaphrodites) 的性轉換魚類，其幼魚之生殖腺皆同時具有雌、雄生殖細胞 (Hirose, 1995)。本研究發現黑公子小丑魚雌魚平均全長為 6.68 ± 1.06 cm，而平均體重為 7.78 ± 1.60 g；雄魚平均全長為 5.23 ± 0.44 cm，而平均體重為 3.00 ± 0.79 g。比較何等 (2007) 眼斑海葵魚之雌魚平均全長為 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，顯示出黑公子小丑雌魚體長、體重均大於雄魚，此點與眼斑海葵魚相似。

何等 (2007) 研究指出眼斑海葵魚卵巢中含有各種不同發育時期的卵母細胞，產卵類型屬於分批非同步型，這種類型魚類在延續較長的產卵時期中多次分批產卵，根據本研究顯示黑公子小丑在水溫 $25 \sim 30^\circ\text{C}$ 可持續不間斷產卵，故推測黑公子小丑也屬多次分批產卵的生殖型態。

黑公子小丑受精卵偏動物極，具有附著絲可固著於卵床上，卵呈長橢圓形，每次產出之受精卵數為 500~1200 粒不等，與眼斑海葵魚產卵數 300~1,000 粒相近 (何等, 2007)。另，根據試驗結果顯示，黑公子小丑在水溫 $27.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 及鹽度

32~33 psu 下，受精卵約需 177 h 孵化，相較於眼斑海葵魚在水溫 28~30.5 °C 下，約 150.8 h 孵化 (何等, 2007)；黑邊公子在水溫 25.1~29.9 °C 下，約 152.2 h 孵化 (Dhaneesh *et al.*, 2009)；銀背海葵魚在水溫 27 ± 1 °C 下，約 152.1 h 孵化 (Dhaneesh *et al.*, 2011) 及棘頰海葵魚在水溫 27.3 ± 1 °C 以上，約需 144.5 h 孵化，黑公子小丑受精卵所需孵化時間似乎較長。

仔稚魚培育最重要階段為初期攝食時期，也就是魚苗由內因性營養 (卵黃囊) 轉變為捕食的時期，此時期之仔魚口徑大小與各攝食器官的發育狀況均直接影響可攝取的餌料生物種類 (Olivotto *et al.*, 2005)，而初期階段之捕食成功率較低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必須同步協調發展 (Osse *et al.*, 1997)。黑公子小丑仔魚開口口徑大小為 445 μm 與眼斑海葵魚口徑 450 μm (何等, 2007)、鞍斑海葵魚口徑 459.6 μm (陳等, 2003) 及粉紅海葵魚口徑 466 μm (何等, 2006) 相近，因此餌料生物投餵序列亦相近。

在海水笛鯛、海鱸及石斑魚皆已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)，在黑公子小丑育苗過程中發現仔魚成長至第 5 天後可投餵大型橈足類，且輪蟲及橈足類幼生亦必須重疊投放，如此可提高仔魚的育成率，第 15 天可以兼投豐年蝦無節幼蟲，第 25 日齡後可進行混投人工配合飼料。

初孵化的黑公子小丑各鰭部為圓鰭狀，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，在眼斑海葵魚 (何等, 2007) 及棘頰海葵魚 (江等, 2012) 仔魚皆有相同發現。本研究培育之黑公子小丑結果顯示在稚魚前期色素細胞表現為橙黃色分佈外觀近似於眼斑海葵魚，但不同於眼斑海葵魚的典型表現，黑公子小丑在進入稚魚期後體色色素細胞則由橘黃色逐漸變成棕色、咖啡色，最終轉換為純黑色，而在本研究發現透過室外培育池育苗可加速黑色素累積，是否為光線或餌料豐度造成則有待後續研究。

Job and Bellwood (1996) 在棘頰海葵魚的視覺發育觀察發現，於水溫 21~24 °C 下，孵化後 3 天仔魚攝食輪蟲的成功機率为 96%，孵化後 10 天 (沈降前期) 的仔魚則提高到 100%，顯示仔魚在接近沉降期時對於獵物的捕捉能力提高。鄭等

(2013) 分析棘頰海葵魚骨骼與形質研究結果也發現，仔魚發育初期主要將能量運用於攝食相關形質發育上，顯示仔魚之攝食機能發育優先於游泳機能，以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。黃 (2009) 指出，游泳機能的完備不僅可增加攝食成功率，也可逃避敵害，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。在黑公子小丑各部位形質發育上，初孵化仔魚頭長比例約為全長的三分之一，口部牙基已形成牙齒結構，而初孵化尾部尚為不利於游泳之原鰭狀鰭膜，顯示黑公子小丑仔魚之攝食行為會優先於游泳行為。稚魚期階段不再增加尾部比例，而是增加了強化的鰭條以利游泳效率增加。另隨成長至全長 35 mm 時頭長比僅佔全長之 23~25% 之間，游泳機能的轉變能提供稚魚更有效率追捕餌料生物。觀察黑公子小丑仔魚的游泳會先以前進運動為主，隨著成長再透過胸鰭的擺動來改變方向以及利用各鰭運動來達到轉向與瞬間急速行進的操控。綜合以上之發現，在黑公子小丑仔稚魚培育的投餵策略上，有關生物餌料的選擇與投餵，必需考量仔稚魚在不同成長階段之攝餌與游泳能力相關形質的發育情形，進行妥善規劃，才能提高仔稚魚攝餌成功率 以獲得最佳的飼育效果。

謝 辭

本研究經費由行政院農業委員會觀賞魚類研究團隊-開發觀賞魚產業關鍵技術 (103 農科-11.5.3-水-A1) 計畫項下支助，執行期間承蒙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

- 江玉瑛, 何源興, 鄭明忠, 張文炳, 彭仁君, 陳文義 (2012) 棘頰海葵魚 *Premnas biaculeatus* 之生殖行為及初期發育. 水產研究, 20(1): 35-49.
- 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、鄭明忠、陳彥伶、陳文義 (2008) 小丑魚界的「黑金」—黑公子小丑之人工繁殖. 水試專訊, 23: 7-10.
- 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.
- 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.
- 鄭明忠, 江玉瑛, 何源興, 張文炳, 彭仁君, 陳文義 (2013) 棘頰海葵魚 *Premnas biaculeatus* 之初期骨骼發育. 水產研究, 20 (2): 37-48.
- Allen, G. R. (1991) Damsel fishes of the world. Melle: Mergus Publishers.
- Allen, G.R., J. Drew and L. Kaufman (2008) *Amphiprion barberi*, a new species of anemonefish (Pomacentridae) from Fiji, Tonga, and Samoa. Aqua, Int. J. Ichthyol., 14: 105-114.
- Allen, G. R., J. Drew and D. Fenner (2010) *Amphiprion pacificus*, a new species of anemonefish (Pomacentridae) from Fiji, Tonga, Samoa, and Wallis Island. Aqua, Int. J. Ichthyol., 16: 129-138.
- Bailey, K. M. and E. D. Houde (1989) Predation on eggs and larvae of marine fishes and the recruitment problem. Adv. Mar. Biol., 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 and T. T. Ajith Kumar, T. Balasubramanian and K. Tissera (2011) Embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. J. King Saud Uni. – Sci., Corrected Proof, March, 2011.
- Fautin, D. G. and G. R. Allen (1997) Anemonefishes and their Host Sea Anemones (Revised Edition). Western Australian Museum, Perth, WA., 159.
- 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.
- Holt, G. J. (2003) Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In Marine Ornamental Species: Collection, Culture, and Conservation (J. C. Cato and C. L. Brown, eds.), Iowa State Press, Ames, Iowa, 251-254.
- Job, S. D. and D. R. Bellwood (1996) Visual acuity and feeding in larval *Premnas biaculeatus*. J. Fish Biol., 48: 952-963.
- Kendall, A. W., E. H. Ahlstrom and H. G. Moser (1984) Early life history stages of fishes and their characters. In Ontogeny and Systematics of Fishes (H. G. Moser, W. J. Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall and S. L. Richardson, eds.) Am. Soc. Ichthyol. Herpetol., Spec. Pub. No. 1., Allen Press Inc, Lawrence, Kansas, 11-22.
- Madhu, K. and M. Rema (2005) Protandrous hermaphroditism in the clown fish *Amphiprion percula* from Andaman and Nicobar Islands. Indian J. Fish., 53(4): 373-82.
- 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.
- Olivotto, I., M. Cardinali, L. Barbaresi, F. Maradonna and O. Carnevali (2003) Coral reef fish breeding: the secrets of each species. Aquaculture, 224: 69-78.
- 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.
- Pedersen, M. (2014) CORAL BONUS: Geographic Variants Within Clownfishes – Maroons, Ocellaris & Perculas. <http://www.reef2rainforest.com/2014/12/18/coral-bonus-geographic-variants-within-clownfishes-maroons-ocellaris-perculas-part-6b/>
- Rema, M. and K. Madhu (2007) Occurrence of anemonefishes and host sea anemones in Andaman and Nicobar Islands.
- Riley, C. M. and G. J. Holt (1993) Gut contents of larval fishes from light trap and plankton net collections at Wnmedio reef near Veracruz. Mex. Rev. Biol. Trop., 41(1): 53-57.
- Su, H. M., M. S. Su and I. C. Liao (2001) The culture and use of microalgae for larval rearing in Taiwan. Aquacul. Fish. Res. Manage., 157-162.
- Tal S. (2013) Captive-breeding: State of the Art. <http://www.reef2rainforest.com/2013/12/17/coral-magazines-captive-bred-marine-fish-species-list-for-2014/>
- Thresher, R. E. (1984) Reproduction in reef fishes. Tropical Fish Hobbyist Pub. Inc., Neptune City, New Jersey, 306-312.
- 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.

Study on the Propagation of Black and White Ocellaris Clownfish (*Amphiprion ocellaris* var.)

Ming-Jong Cheng, Yu-Ying Jiang, Sheng-Chung Shih, En-lieng Lau and Yuan-Shing Ho*

Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

A pair of artificially paired parent fish of *Amphiprion ocellaris* var. were observed from March 17, 2012, to March 24, 2013, for the spawning, hatching and larval development. Experimental larvae rearing and morphometric study were simultaneously conducted. During the study, the clownfish ovulated 23 times, and about 500 ~ 1200 eggs were produced each time. These adhesion demersal eggs were orange and ellipsoidal and were about 2.70 ± 0.12 mm long and 0.96 ± 0.03 mm in diameter. The yolks were about 1.75 ± 0.06 mm long and contained several oil droplets of about 0.13 ± 0.06 mm in diameter. The larvae were reared at a water temperature of approximately $27.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ for a required incubation time of 177 hours. The newly hatched larvae were about 4.31 ± 0.13 mm in total length and were also phototactic, although the phototaxis lessened as they grew. The larvae were fed with rotifers (*Brachionus plicatilis*) from day 1 post-hatching to 10 DPH. On 5 DPH copepod was added to the feeds and the amount added was increased gradually until it totally replaced rotifers on the 10th DPH. The 25 DPH larvae were about 13.02 ± 1.78 mm in total length and could begin to be fed with pellet feed.

Key words: *Amphiprion ocellaris* var., 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. 301; FAX: (089) 850-092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw