

克氏海葵魚 (*Amphiprion clarkii*) 之生殖行為、 初期發育與育苗研究

鄭明忠·葉怡均·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

本研究在建立克氏海葵魚 (*Amphiprion clarkii*) 之人工繁殖及育苗技術提供產業之應用，以減少野外採捕之壓力。種魚在人工環境下自然產卵，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 2.53 ± 0.08 mm、平均短徑為 0.94 ± 0.04 mm、平均卵黃長徑為 1.64 ± 0.06 mm、平均油球徑為 0.17 ± 0.04 mm，仔魚孵化平均體長為 4.93 ± 0.06 mm。產卵結束後，種魚有護卵行為，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，並逐漸轉變為橘紅色；成長至第 10 天時，體側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。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，餌料生物之提供應重疊使用。仔魚成長至 20 日左右開始可以接受人工飼料，至 180 日時，仔魚體長可達 49.60 ± 10.18 mm，此時之體色及斑紋已與成魚一致。

關鍵詞：克氏海葵魚、生殖行為、初期發育、育苗

前 言

克氏海葵魚 (*Amphiprion clarkii*) 分類上屬雀鯛科 Pomacentridae，海葵魚亞科 Amphiprioninae，海葵魚屬 (雙鋸齒蓋魚屬) *Amphiprion*，牠是全球分佈最廣的海葵魚，從西太平洋的密克羅尼西亞、澳大利亞到日本、臺灣等地皆可發現蹤跡 (Fautin and Allen, 1997)，也是臺灣週邊海域目前記錄到的五種海葵魚中數量最多的一種 (沈, 1993)。在臺灣主要分佈於東岸、南岸及各離島珊瑚礁區，但由於人類對珊瑚礁魚類的濫捕與環境污染，導致於數量日趨減少，加上其作為觀賞魚的優點及價位，因此選擇本種魚進行人工繁殖研究。

研究顯示，克氏海葵魚個體體色差異相當大，其變異是由於地理隔離導致，學者表示體色之變異會因為低水溫的適應、棲息密度的大小、捕食

壓力的高低等環境因子而形成個體上主要的變因 (Bell *et al.*, 1982)。在進行克氏海葵魚收集作業過程，發現由臺灣東部近岸水深 15 - 50 m 海域釣獲之克氏海葵魚也曾出現明顯黑化個體；鄭等 (2015) 在黑公子小丑 (*A. ocellaris* var.) 研究上發現隨年齡成長幼魚體色素細胞會漸漸轉換由橘色轉成純黑色。由於黑公子小丑可與眼斑海葵魚 (*A. ocellaris*) 進行雜交並產生子代，故 Pedersen (2014) 提出假說認為黑公子小丑為眼斑海葵魚在一個亞群內突變產生的結果。至於臺灣本土黑化個體之克氏海葵魚是否也為亞群內黑化變異之個體則有待後續研究探討。

克氏海葵魚與其他雀鯛科魚類相同，雌魚會在珊瑚礁區硬底質上產下具黏性的附着性卵，並由雄魚負責護卵。克氏海葵魚卵的孵化溫度為 22 - 31°C，其最適合的溫度為 26-28°C 之間，日夜溫差不超過 1°C 為佳 (Frank, 1996)。在孵化期間，克氏海葵魚種魚有強烈的護卵行為，雌魚會有驅離入侵者的動作，且通常由於雌魚的攻擊行為太過激烈，導致雌魚因為驅除入侵者而在攻擊

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

中受傷死亡 (Moyer, 1980)。本研究紀錄其生殖行為、初期發育及育苗技術，希望未來推廣產業能在人為條件下進行種苗量產，並提供海水觀賞魚市場之需求，以減輕人為捕撈所造成的生態壓力。

材料與方法

一、種魚培育及配對

本研究之克氏海葵魚由野外採集或購自坊間水族館，經二週檢疫後置放種魚產卵缸 (50 cm × 45 cm × 45 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，產卵缸內置一只空心磚或陶盆提供產卵床，另投放巨大異輻海葵 (*Heteractis magnifica*) 一隻以提供躲藏，水溫維持在 $27.0 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ，鹽度為 32 - 33 psu，每日分別為上午 9 點及下午 4 點進行飼料投餵，飼料包括石斑魚粒狀飼料及自製軟性飼料餵食。

培育過程中若出現互相攻擊行為，則馬上將種魚移出蓄養缸並重新配對，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。了解雄魚、雌魚及未成熟魚體重與全長之關係，套用指數關係 (power relationship) 以 Excel 統計軟體估算指數迴歸關係式，進而了解克氏海葵魚雌雄全長與體重之關係。

二、產卵與護卵

種魚於產卵缸產卵後，開始記錄種魚每次的產卵日期、時間、間隔及孵化日期、時間等。觀察種魚產卵之行為模式，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。

三、受精卵與胚胎發育

選擇一對種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 50 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，並以數位照相器材 (ZEISS Stemi SV- 6) 及影像辨識軟體 (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。

四、仔魚培育

孵化當日黃昏前將卵床之受精卵取出置於孵化槽中孵化，育苗水溫為 28 - 31°C，鹽度為 33 - 35 psu，培育水槽為 300 L 之圓形 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 - 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 4 日以後開始兼投橈腳類 (copepod) 並與輪蟲混合投放，每日更換海水 100 - 150 L，第 15 日開始以浮性微粒飼料馴餌，每日下午抽底一次，並開始流水養殖。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。

五、形態發育

選擇一批健康孵化之魚苗 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) 麻醉後置於解剖顯微鏡，以影像辨識軟體 (NIS -Elements D 2.30, Nikon) 量測體長，並連續採樣 10 週，以了解克氏海葵魚成長過程全長之變化情形。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。

六、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 Deviation 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。

Table 1 Size comparison of female, male, and sex unidentified *Amphiprion clarkii*

Items	Sexuality		Sex unidentified
	Female	Male	
Number	54	62	55
Length (cm)			
Mean	8.76 ± 1.26 ^a	8.32 ± 1.09 ^a	4.57 ± 1.18 ^b
Max	11.60	11.50	8.00
Min	6.50	6.60	2.70
Weight (g)			
Mean	31.59 ± 14.32 ^a	24.86 ± 10.17 ^b	4.21 ± 3.19 ^c
Max	59.25	58.86	13.28
Min	11.01	10.23	0.63

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

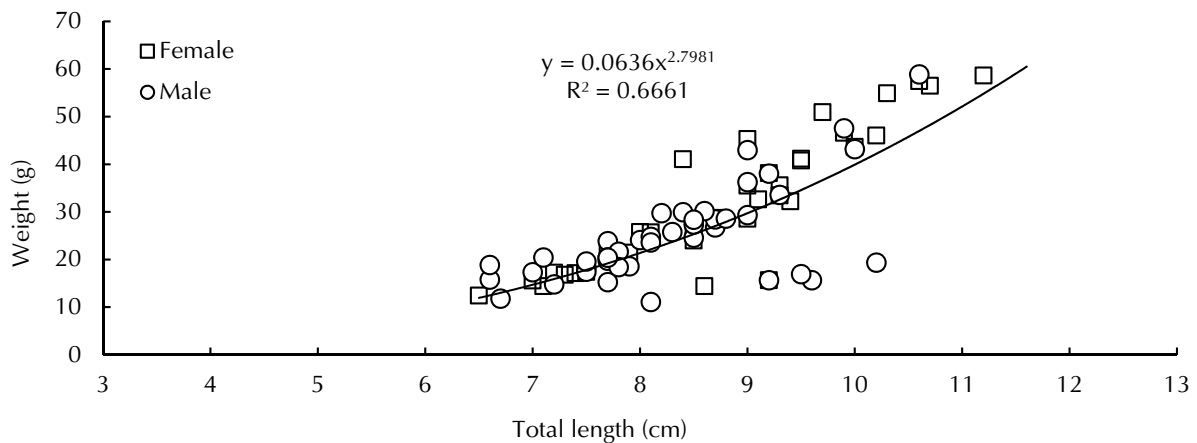


Fig. 1 Relationship between total length (cm) and body weight (g) of fish including female and male *Amphiprion clarkii*. X = total length, Y = body weight, N = 63.

結 果

一、種魚培育及配對

試驗期間測量解剖 54 尾雌魚、62 尾雄魚、性別未分化 55 尾，共計 171 尾。測量數據得知雌魚平均全長為 8.76 ± 1.26 cm (6.50 - 11.60 cm)；平均體重為 31.59 ± 14.32 g (11.01 - 59.25 g)；雄魚平均全長為 8.32 ± 1.09 cm (6.60 - 11.50 cm)，平均體重為 24.86 ± 10.17 g (10.23 - 58.86 g)；未成熟魚之平均全長為 4.57 ± 1.18 cm (2.70 - 8.00 cm)，平均體重為 4.21 ± 3.19 g (0.63 - 13.28 g)，經進行 One-way ANOVA 檢定分析發現雌雄性比樣本得知雌雄之體型上未具顯著差異但與性別未分化個體具

顯著差異 ($F_{2,168}=106.1, p < 0.05$) (Table 1)。克氏海葵魚之體長與體重關係如 Fig. 1 所示，其關係式為： $y = 0.0636x^{2.7981}$ ， $R^2 = 0.6661$ 。

二、產卵與護卵

克氏海葵魚產卵前 2 - 3 小時可觀察到雌、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，種魚會積極以口啄除產卵床上之藻類及附著物 (Fig. 2A)，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 - 60 分鐘內，種魚會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

Table 2 Embryonic development of *Amphiprion clarkii*

Duration (h : min)	Water temperature (°C)	Development stage
00:00	26.8	Fertilized eggs (Long : 2.53 ± 0.08 mm; Diameter : 0.94 ± 0.04 mm; Egg yolk long : 1.64 ± 0.06 mm; Oil globule : 0.17 ± 0.04 mm)
00:35	26.8	2-cell stage
01:00	26.7	4-cell stage
01:40	26.6	8-cell stage
02:30	26.6	16-cell stage
03:20	26.5	32-cell stage
06:00	26.5	Morula stage
14:50	26.5	Gastrula stage
19:30	26.8	1/3 of yolk was covered with blastodisc
23:50	26.7	2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared
27:30	26.7	All of yolk was covered with blastodisc, Optic vesicles and embryo appeared
30:30	26.7	Optic vesicles have been visible, 8 somites
52:00	26.8	Optic lens, auditory vesicle, 20 somites Heart beating have started
75:00	26.8	Embryo moved spastically and the head of embryo turned to the top of egg
95:00	26.9	Chromatophore was visible on embryo and yolk
130:10	26.9	Chromatoplasm have precipitated on eyes
152:00	26.8	Guanine accumulated on eyes
176:00	27.6	Newly-hatched larvae 4.93 ± 0.06 mm

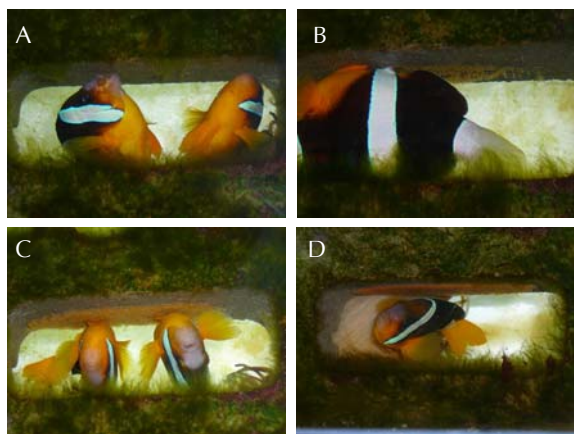


Fig. 2 Spawning behavior of *Amphiprion clarkii*. A, Breeders clean the substrate together; B, Spawning female; C, Milt oozing from male; D, Breeders take care of the fertilized eggs.

上 (Fig. 2B), 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. 2C)。產卵結束後種魚具有護卵行為, 種魚會以胸鰭擺動水流, 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、

雄親魚都會護卵, 但主要的護卵工作是由雄魚擔任, 越接近孵化日以胸鰭擺動水流之頻率增加, 觀察夜晚期間種魚仍持續以胸鰭擺動水流直至仔魚全部孵化為止 (Fig. 2D)。

三、受精卵與胚胎發育

克氏海葵魚受精卵平均長徑為 2.53 ± 0.08 mm; 平均短徑為 0.94 ± 0.04 mm; 平均卵黃徑為 1.64 ± 0.06 mm, 內有 0.17 ± 0.04 mm 大小不一之油球數個, 受精卵呈橘色到橘紅色之長橢圓形沉性卵, 動物極端具有棉絮狀之附著絲, 其功用在使用卵粒黏附於卵床上。

受精卵之胚胎發育過程如 Table 2 及 Fig. 3 所示, 在水溫 $27.7 \pm 1.3^\circ\text{C}$ 及鹽度介於 32 - 33 psu 下種魚初期受精卵外觀如 Fig. 3A 所示; 受精 35 min 胚胎分裂為 2 細胞期 (Fig. 3B); 約 1 hr 後開始進入 4 細胞期 (Fig. 3C); 1 hr 40 min 後為 8 細胞期 (Fig. 3D); 2 hr 30 min 後為 16 細胞期 (Fig. 3E); 3 hr 20 min 後為 32 細胞期 (Fig. 3F); 6 hr 後為桑椹期 (Morula atage) (Fig. 3G); 14 hr

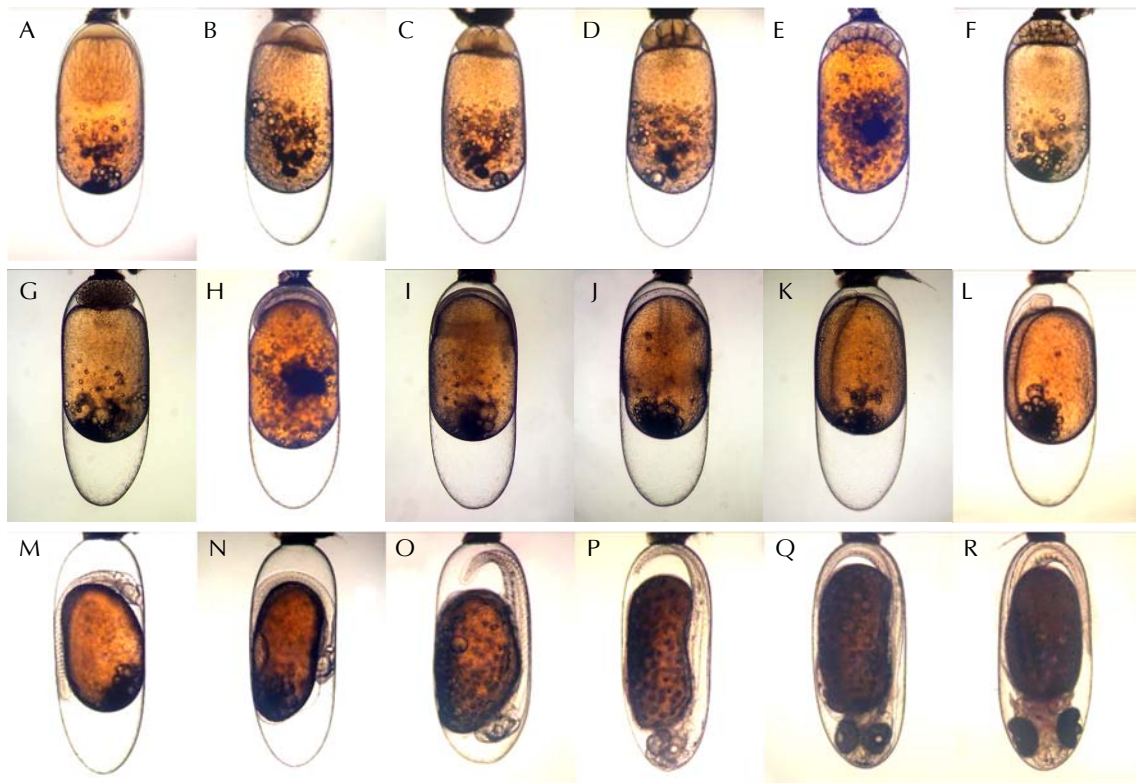


Fig. 3 Embryonic development of *Amphiprion clarkii*. A: Fertilized egg; B: Two-cell stage; C: Four-cell stage; D: Eight-cell stage; E: 16-cell stage; F: 32-cell stage; G: Morula Stage; H: Gastrula stage; I: 1/3 of yolk was covered with blastodisc; J: 2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo was visible; K: All of yolk covered with blastodisc, and optic vesicles and embryo were visible; L: Optic vesicles and 8 somites were visible; M: Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac and heartbeat began; N: Embryo moved spastically and the head of embryo turned toward the top of egg; O: Chromatophore was visible on embryo and yolk; P: Chromatoplasm was precipitated on eyes; Q: Guanine accumulated on eyes; R: The time was 4 hrs. before hatching.

50 min 後發育至囊胚期 (Blastula atage) 階段 (Fig. 3H)；19 hr 30 min 後胚囊覆蓋卵黃達三分之一 (Fig. 3I)；23 hr 50 min 後胚囊覆蓋卵黃三分之二，且胚體出現 (Fig. 3J)；27 hr 30 min 後胚囊覆蓋卵黃且可見胚體眼胞形成 (Fig. 3K)；30 hr 30 min 後出現 8 體節 (Fig. 3L)；52 hr 後耳胞及眼胞內晶體形成形成，心臟開始搏動 (Fig. 3M)；75 hr 後頭部開始旋轉至卵膜前端且尾部與卵黃分離 (Fig. 3N)；95 hr 後卵黃及胚體上已出現色素細胞 (Fig. 3O)；130 hr 10 min 後胚體眼上已見色素沈澱 (Fig. 3P)；152 hr 後胚體眼上已積聚鳥糞素 (Fig. 3Q)；172 hr 胚體鰓蓋偶而擺動且已經發育完全，仔魚會在日落後 30 min 左右開始孵化並破殼而出 (Fig. 3R)，初孵化仔魚體長為 4.93 ± 0.06 mm 測量腹部卵黃長徑約為 1.57 mm，油球徑約為 0.33 mm。

Figure 4 為克氏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，與卵黃之顏色有關 (Fig. 4A)；第 2 天受精卵顏色轉變為暗橘色，鏡檢受精卵發現胚體覆蓋全卵黃且脊索形成階段 (Fig. 4B)；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 (Fig. 4C)；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 (Fig. 4D)；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金屬光澤 (Fig. 4E)；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，第 7 天胚體尾部末端可延長至眼部，胚體已經發育完全，觀察雄魚護卵次數增加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. 4F)。

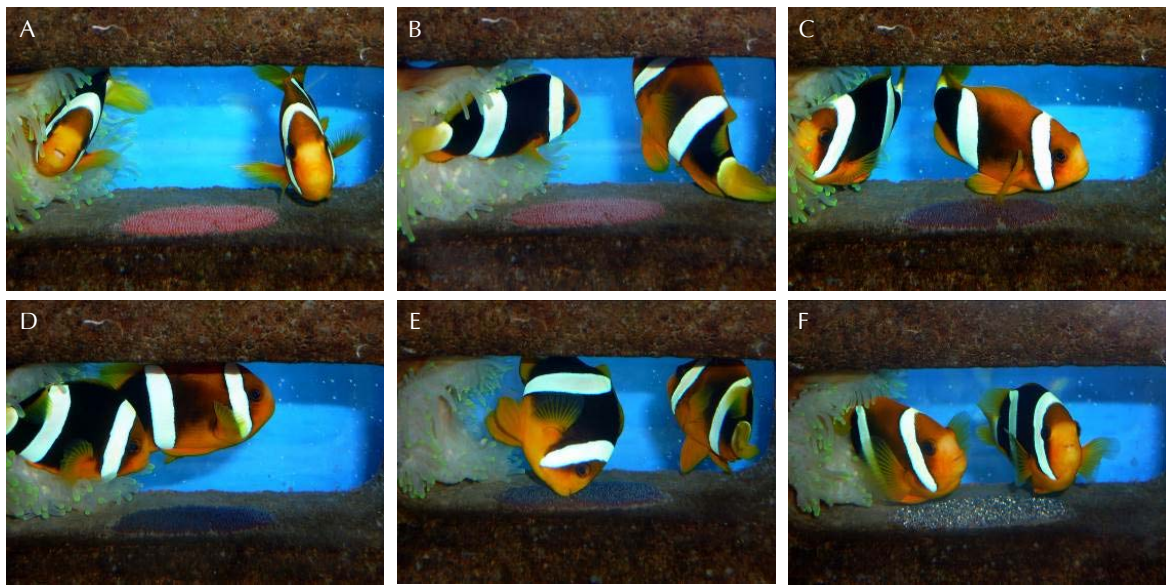


Fig. 4 Egg color changes during embryonic development of *Amphiprion clarkii*. A: Embryonic development at DPF 1; B: Embryonic development at DPF 2; C: Embryonic development at DPF 3; D: Embryonic development at DPF 4; E: Embryonic development at DPF 5; F: Embryonic development at DPF 7. DPF: Days post-fertilization.

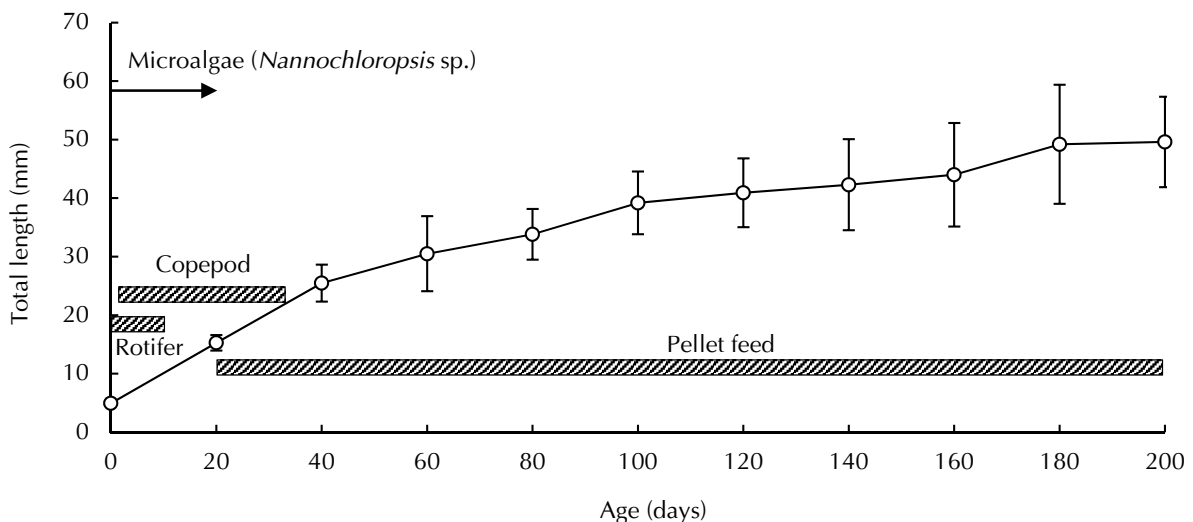


Fig. 5 Growth performance and feed schedule of *Amphiprion clarkia*.

四、仔魚培育

Figure 5 為克氏海葵魚仔稚魚之成長過程全長之變化與餌料種類，觀察中發現克氏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 26 - 30°C 下，仔魚會在孵化後 4 - 8 hr 內開始攝食，應該在仔魚孵化後 24 hr 內投餵輪蟲，若是投餌太慢會造成魚苗死亡，因此在孵化當日培育槽中即可添加綠藻水，並以 150 目

的浮游生物網，篩選出大小為 120 - 240 μm 之輪蟲及橈腳類幼生，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 50 小時後死亡。

克氏海葵魚仔魚形態變化過程如 Fig. 6 所示。在水溫 27.3 ± 1°C 下，初孵化仔魚之平均體長為 4.93 ± 0.06 mm (Fig. 6A)。孵化後第 1 日仔魚全長為 5.24 ± 0.10 mm，卵黃消失殆盡，軀幹有些許黑色素細胞分佈。孵化後第 3 日仔魚全長為 5.69 ± 0.20 mm，軀幹的黑色素細胞開始增加；仔

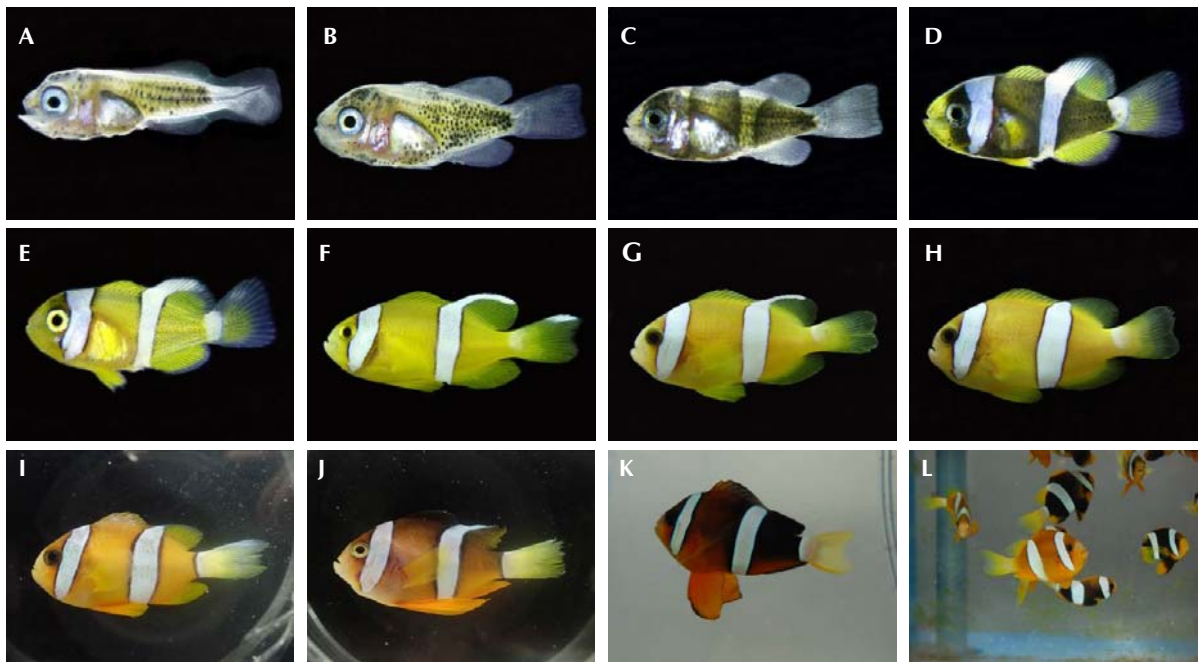


Fig. 6 The morphological changes of the *Amphiprion clarkii* at larval and fry stages. (A) Newly hatched larva with a total length of 4.93 ± 0.06 mm; (B) 5 DPH larva with a total length of 6.40 ± 0.35 mm; (C) 10 DPH larva with a total length of 9.68 ± 0.30 mm; (D) 14 DPH larva with a total length of 12.74 ± 1.56 mm; (E) 20 DPH larva with a total length of 15.44 ± 1.19 mm; (F) 30 DPH larva with a total length of 22.20 ± 3.31 mm; (G) 60 DPH fry with a total length of 30.50 ± 6.42 mm; (H) 100 DPH fry with a total length of 39.18 ± 5.36 mm; (I) 140 DPH fry with a total length of 42.29 ± 7.78 mm; (J) 180 DPH fry with a total length of 49.60 ± 10.18 mm; (K) 200 DPH fry with a total length of 49.60 ± 7.73 mm; (L) 240 DPH fry with a total length of 52.60 ± 9.63 mm. DPH: Days post-hatch.

魚主要分佈於培育槽下層。孵化第 5 日 (Fig. 6B) 仔魚全長 6.40 ± 0.35 mm，體表黑色素持續擴散並分佈至頭部，鰭膜內縮各鰭部開始分化軀幹二條橫帶開始出現，口徑為 $766 \pm 27.4 \mu\text{m}$ 可兼捕小型橈腳類。孵化後第 7 日仔魚全長 8.13 ± 0.57 mm，體色開始出現淡黃色色素細胞，鰓蓋及軀幹隱約出現白色橫帶，仔魚背鰭及臀鰭之鰭式已逐漸分化與成魚相似，口徑達 1.56 ± 0.39 mm 可全數改投大型橈腳類；孵化後第 10 日 (Fig. 6C) 仔魚全長分別為 9.68 ± 0.30 mm 頭部吻端、背鰭基部與腹部邊緣開始出現黃色色素細胞，體側出現兩條白色橫帶；孵化後第 14 日 (Fig. 6D) 仔魚全長 12.74 ± 1.56 mm，體表色素持續擴散至吻部及各鰭部位，軀幹白色橫帶延伸至背鰭，尾柄第三條橫帶出現；孵化後第 20 日 (Fig. 6E) 仔魚全長已達 15.44 ± 1.19 mm，可以接受人工配合飼料；各鰭部黃色色素細胞持續累積且身體黑色素退去由黃色色素細胞取代，此時每日以滴流方式

換水 1/10 以穩定水質；孵化後第 25 日仔魚全長 19.64 ± 2.02 mm；孵化後第 30 日 (Fig. 6F) 全長 22.20 ± 3.31 mm，尾鰭出現白色色斑於上緣處，開始進入到稚魚期可以完全投予人工配合飼料。孵化後第 60 日全長 30.50 ± 6.42 mm (Fig. 6G) 尾鰭白色色斑消失；孵化後第 100 日仔魚全長 39.18 ± 5.36 mm 體色素細胞逐漸轉為橘黃色，尾柄處第三條橫帶受體色改變變為不明顯 (Fig. 6H)。孵化後第 140 日仔魚全長達 42.29 ± 7.78 mm，體軀幹轉為橘黃色，腹鰭呈鮮艷的橘紅色 (Fig. 6I)。孵化第 180 日仔魚全長為 49.60 ± 10.18 mm，腹鰭延伸至臀鰭基部，背部體色為棕黑色至此體色斑紋，已完全與成魚一致 (Fig. 6J)；培育至第 200 日全長為 49.60 ± 7.73 觀察體色個體分化差異大，部份魚體維持橘黃色但有些個體軀幹部轉變為棕黑色，但皆有一個相對大比例的腹鰭 (Fig. 6K)；孵化 240 日全長為 52.60 ± 9.63 mm 開始進入至亞成魚階段 (Fig. 6L)。

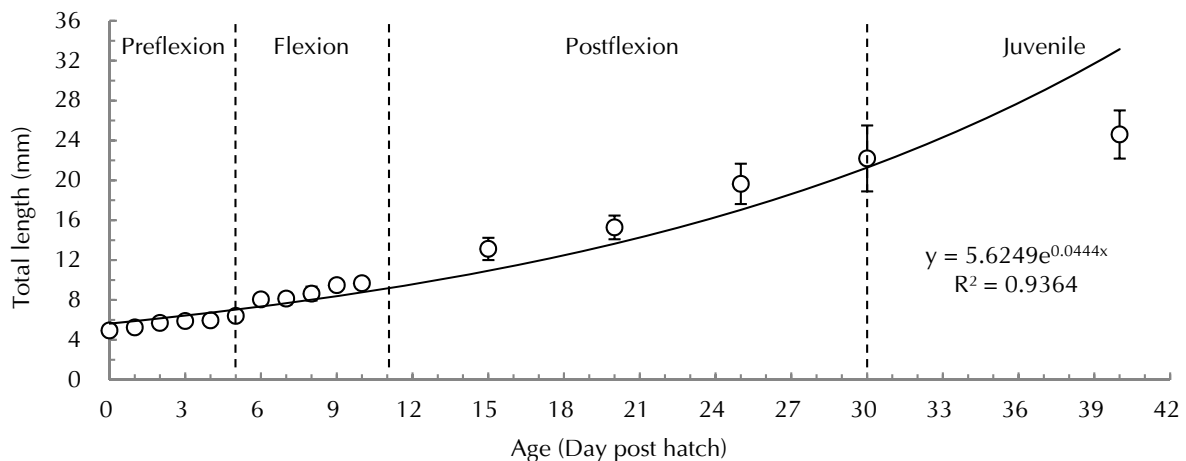


Fig. 7 Growth of *Amphiprion clarkii* larvae from hatching until day 40 (mean ± sd). X = total length, Y = age.

五、形態發育

依據克氏海葵魚的形態變化，依仔稚魚日齡與各部位測量形質之變化，分為四個階段如 Fig. 7 所示，將其區分別為 (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)。孵化 0 - 5 日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 4.93 ± 0.06 mm。第 5 - 11 日全長為 8.05 ± 0.21 mm 進入脊索末端上屈中期，仔魚脊索明顯上屈，透過顯微鏡鏡檢可發現尾體下尾骨骨板出現，至第 11 日全長為 9.99 ± 1.12 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，仔魚游泳能力逐漸增強，有能力追捕橈腳類等跳躍式移動之餌料生物；第 16 日全長為 13.76 ± 0.95 mm，體高與頭長的比例相等，發現第一下尾骨骨板與第二下尾骨骨板出現溶合，第三與第四片下尾骨骨板溶合；第 30 日全長為 22.20 ± 3.31 mm 是初孵化全長的 4.5 倍，各鰭條及脊椎骨達到定數開始進入稚魚期。

討 論

鮨科、隆頭魚科或海葵魚亞科等許多珊瑚礁區魚類皆具性別轉變特性，如此的性別轉變不只出現在生殖腺組織上的轉換，通常還伴隨著外觀體色以及行為模式上的改變 (Breder and Donn,

1966)。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)，在觀察眼斑海葵魚 (何等, 2007)、黑公子小丑 (鄭等, 2015)、白條海葵魚 (*A. frenatus*) (何等, 2009)、棘頰海葵魚 (*Premnas biaculeatus*) (江等, 2012) 等雌雄魚配對及解剖樣本時皆發現有類似情形。學者指出在克氏海葵魚稚魚生殖腺剖檢觀察中，可發現同時具有精巢及卵巢部份，目前證明了海葵魚為兩性魚生殖腺發育是同時進行 (Buston, 2003)。

許多珊瑚礁魚類主要是以體色及花紋來鑑別，但分子遺傳研究結果顯示，體色及個體紋路不足以證明隔離以及種的界定 (林, 2009)，因此黃等 (2007) 研究指出，克氏海葵魚是海葵魚亞科分布最廣、可共生海葵類最多及體色變異最大的種類，其體色變異與地理區隔無關，但似乎與宿主海葵有所關聯。Frank (2019) 指出，許多海葵魚僅於特定海域被發現，但克氏海葵魚分布就非常普遍，在廣泛分布的物種中可以發現某些體色特徵與產地分布有關。根據物種分化特異性概念這些型態被視為地理變異、亞種或獨立物種。亞種的特徵是，在亞種區域相互鄰接的情況下，沒有明確的雜交種。如克氏海葵魚，儘管許多個體在地理上可以透過體色特徵進行明確分類，但也觀察到來自相同海域野生個體中也可發現存在體色迥異的個體。

在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

育時期的卵雌細胞，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，在眼斑海葵魚（何等, 2007）及棘頰海葵魚（江等, 2012）也發現相同特性，故推測克氏海葵魚也屬多次分批產卵的生殖型態。

本研究結果發現，克氏海葵魚雌魚平均全長及體重分別為 8.76 ± 1.26 cm 及 31.59 ± 14.32 g，而雄魚平均全長及體重分別為 8.32 ± 1.09 cm 及 24.86 ± 10.17 g，雌魚體長與雄魚無顯著差異但重量分化上雌魚體重差異上確比雄來的重，觀察到雌魚為孕卵需求，腹部較雄魚飽滿，故兩者間體重會有所差異。具生殖成熟之克氏海葵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)。海葵魚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)，雌魚死亡時則有依順序遞補變性的現象 (邵與陳, 1990)。何等 (2009) 觀察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種魚中體型大小來判斷性別，因此在種魚配對之過程中，儘量挑選體型差異較大者進行配對。

克氏海葵魚種魚配對後經過 4 - 8 個月培育，會開始出現繁殖行為，此時可觀察到雌魚腹部因為卵細胞發育而膨大，雄魚則開始尋找適合產卵的礁石並清潔表面附著物以作為產卵床。對於產卵床選擇並沒有明顯的差別，可在空心磚、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，擇定好產卵床後親魚在下一次的產卵也會選擇該處作為產卵床。開始產卵時，雌魚腹部可發現延伸出的生殖突起，並來回的在產卵床上產下橘紅色的卵粒，待雌魚休息的片刻，雄魚會趁機沿著卵的外圍排放精子，種魚會重複這樣的動作直到雌魚產完腹部的卵為止。學者發現在熱帶珊瑚礁海域，體型大的克氏海葵魚雌魚一次可以產下約 1,400 顆的卵，通常以一個月一次的頻率來進行產卵行為，並且全年皆為產卵期 (Moyer and Bell, 1976)。本研究發現克氏海葵魚於每年的 4 月上旬至 11 月中旬間，水溫達 24 - 30°C 開始出現生殖行為，產卵時間為日出後至中午 12 點前完成，產卵過程約需 40 分鐘到 1 小時，卵

數約 600-2,500 顆卵左右。Moyer and Bell (1976) 於日本三宅島的研究發現克氏海葵魚的生殖週期為 6 月下旬到 10 月中旬之間而非全年均可產卵，大型的雌魚一次的產卵數約為 1,000 顆左右產卵數與本研究相近但生殖季節本島之克氏海葵魚比日本海域提早二個月，推測亞熱帶及溫帶水域受季節性的水溫影響了克氏海葵魚的產卵。因此本研究觀察克氏海葵產卵溫度為 24-30°C，其最適合的溫度為 26-28°C，日夜溫差不超過 1°C 為佳。如果魚卵長期在低溫的環境下發育，胚體孵化時間會延長 1-4 天的孵化，同時造成仔魚體弱及低孵化率；過於高溫的孵化環境，雖然有較高的孵化率及加速孵化時間，但是也同樣的造成劣質的仔魚 (Frank, 1996)。Ross (1978) 研究觀察指出克氏海葵魚種魚的產卵高峰期在月亮週期的第一及第三個下弦月左右，但本研究並未發現克氏海葵魚之生殖週期與滿月及大潮有所關連。觀察發現臺灣五種海葵魚包括白條海葵魚 (何等, 2009)、鞍斑海葵魚 (*A. polymnus*) (陳等, 2003)、克氏海葵魚 (蔡, 2005)、粉紅海葵魚 (*A. perideraion*) (何等, 2006) 及眼斑海葵魚 (何等, 2007) 比較，不論是種魚產卵前清理產卵床、雌雄產卵受精及護卵等行為皆類似，並無明顯差異。

臺灣產五種海葵魚受精卵皆呈長橢圓形 (陳等, 2003; 蔡, 2005; 何等, 2006, 2007; 錢, 2006)，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 為臺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小。

仔稚魚培育最重要階段是仔魚由內因性營養 (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)。一般浮性卵的海水魚類受精卵孵化所需時間約 1 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 hr (何等, 1997)，青點石斑 (*E. fario*) 在水溫 27.8°C 孵化所需的時間

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 (hr)	Fry length (mm)	References
	Long	Diameter				
<i>Amphiprion ocellaris</i>	2.05 – 2.72	0.81 – 1.19	28.0 – 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 <i>et al.</i> , 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. 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> , 2012
<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
<i>A. clarkii</i>	2.53 ± 0.08	0.94 ± 0.04	27.3 ± 1	176	4.93 ± 0.63	This study

為 20.17 hr (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, 而克氏海葵魚受精卵孵化所需時間需 7–8 天, 剛孵化之仔魚其口器、消化道完整, 卵黃囊已消失殆盡, 因此孵化後可以很快攝食餌料生物。初孵化的克氏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, 皆在水表層浮游生活, 開口口徑為 490 μm 因此以捕食 120–240 μm 的輪蟲及小型橈腳類幼生為主, 初期提供游動性較慢的初期餌料可利於脊索末端上屈前期的魚苗捕食, 仔魚開口大小決定可以攝食之餌料生物大小與種類, 而克氏海葵魚仔魚口徑大小與眼斑海葵魚 450 μm (何等, 2007)、鞍斑海葵魚 459.6 μm (陳等, 2003) 及粉紅海葵魚口徑 466 μm 相近, 因此餌料生物投餵序列亦相近。在笛鯛科魚類及石斑魚育苗研究上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), 在克氏海葵魚育苗過程中發現仔魚成長至第 5 天後可投餵大型橈腳類此時準備進入脊索末端上屈期, 且輪蟲及橈腳類幼生亦必須重疊投放, 如此可提高仔魚的育成率, 脊索末端上屈後期於第 11 日完成兼投豐年蝦無節幼蟲, 第 20 日齡後可進行混投入工配合飼料。

觀察海葵魚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 (*Lutjanus erythropterus*) 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育苗效果 (黃, 2009)。

江等 (2012) 於棘頰海葵魚研究發現孵化第 5 日仔魚開始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, 可輕易捕食豐年蝦無節幼蟲, 因此第 10 日後以豐年蝦無節幼蟲作為主要餌料, 第 30 日仔魚開始進入稚魚期階段, 與本研究脊索末端發育階段相近。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。Thresher and Brothers (1989) 指出, 海葵魚亞科在雀鯛科魚類中具有最短的浮游期階段約 7–14 天, 餌料轉

換快也對環境耐受性相對高，在進行人工培育過程可獲得較高之育成率且更容易達到銷售體型，因此，許多水族業者將其作為量產海水觀賞魚種的首選。

謝 辭

本研究經費由行政院農業委員會 108 農科-9.5.4-水-A1(1) 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

- 沈世傑 (1993) 臺灣魚類誌. 國立臺灣大學動物學系, 225.
- 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.
- 林佳霓 (2009) 以分子演化探討海葵魚之系統發生學. 國立臺灣大學漁業科學研究所學位論文。
- 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, 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.
- 何源興, 施勝中, 鄭明忠, 江玉瑛, 董家宏, 李任棋, 陳文義, 張文炳 (2009) 白條海葵魚之生殖行為及育苗研究. 水產研究, 17(1): 67-79.
- 邵廣昭, 陳麗淑 (1990) 克氏海葵魚. 海水觀賞魚 (一), 129.
- 施瓊芳 (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.
- 黃建華 (2007) 臺灣地區克氏小丑魚顏色型與其族群遺傳研究。國立臺灣大學海洋研究所。
- 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產. 國立澎湖科技大學海洋創意產業研究所 碩士論文.
- 葉信利, 丁雲源, 郭欽明, 朱永桐 (1991) 青點石斑與馬拉巴石斑之雜交繁殖試驗-胚胎之發育. 臺灣省水產試驗所試驗報告, 50:183-195.
- 鄭明忠, 江玉瑛, 葉怡均, 何源興 (2015) 黑公子小丑之人工繁殖研究. 水產研究, 23(2): 25-36.
- 蔡宇鴻 (2005) 飼料中添加類固醇激素對克氏海葵魚 (*Amphiprion clarkii*) 性轉變之影響及生殖研究. 國立臺灣海洋大學水產養殖研究所 碩士論文.
- 錢昇威 (2006) 白條海葵魚 (*Amphiprion frenatus*) 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. 國立臺灣海洋大學水產養殖研究所 碩士論文.
- 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.
- 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.
- Bell, L. J., J. T. Moyer, and K. Numachi (1982) Morphological and genetic variation in Japanese populations of the Anemone fish *Amphiprion clarkii*. Marine Biol., 72: 99-108.
- Breder, C. M. and E. R. J. Donn (1966) Order Perciformes. Modes of Reproduction in Fishes, Natural History Press, New York. pp. 605-609.
- Buston, P. M. (2003) Social hierarchies: size and growth modification in clownfish. Nature, 424: 145-146.
- 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 (2012) Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. J. King Saud Univ., 24: 201-209.
- Fautin, D. G. and G. R. Allen (1997) Anemonefishes and their Host Sea Anemones (Revised Edition). Western Australian Museum, Perth, WA., 159.
- Frank, H. H. (1996) Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. pp. 12-16, 65-70.
- Schäfer, F. (2019) Ungewöhnliche Anemonenfische. <https://www.aqualog.de/blog/ungewoehnliche-anemonenfische/>
- 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.
- 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, S. L. Richardson eds.), Amer. Soc. Ichthyol. Herpetol., Spec. Pub. No. 1., Allen Press Inc, Lawrence, Kansas, 11-22.
- 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.
- 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. (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.
- 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., J. G. M. van den Boogaart, G. M. J. van Snik 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-withinclownfishes-maroons-ocellaris-perculas-part-6b/>
- 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.
- Ross, R.M. (1978) Reproductive behavior of the anemonefish *Ampiprion melanopus* on Guam. Copeia, 103-107.
- 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.
- Thresher, R. and E. Brothers (1989) Evidence of intraand inter-oceanic regional differences in the early life history of reef-associated fishes. Mar. Ecol. Progress Ser., 57: 187-205.
- 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.

The Spawning Behavior, Early Development and Larviculture of the *Amphiprion clarkii*

Ming-Chung Cheng, Yi-Chun Yeh and Yuan-Shing Ho*

Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

This study sought to understand the reproductive behavior and larviculture of *Amphiprion clarkii* in artificial environments. Moreover, we hope that the results of this study can be used to reduce the trade in wild populations of this species in the ornamental fish market in the future. The results showed that the adhesive demersal eggs of the species are orange in color and ellipsoidal on the surface, with each egg being about 2.53 ± 0.08 mm (Mean \pm SD) in total length and 0.94 ± 0.04 mm in width. The yolks were each about 1.64 ± 0.06 mm long and contained several oil droplets with an average diameter of 0.17 ± 0.04 mm, and the newly hatched larvae were about 4.93 ± 0.06 mm in length. In the initial larval stage, the hatchlings were first fed with rotifers. In addition, microalgae were added to stabilize the water quality and to nourish the rotifers. The feedings should be provided consistently at the same time. On the 20th day after hatching, a pellet diet can be provided to the fish fries. On the 180th day, the average body length of the juveniles was 49.60 ± 10.18 mm, and the band pattern and colors of the juveniles were the same as those of adults.

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

*Correspondence: Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute, 22 Wu-Chuan Rd., Chengkung, Taitung 961, Taiwan. TEL: (089) 850-090 ext. 301; FAX: (089) 850-092; E-mail: yshu@mail.tfrin.gov.tw