

眼斑双锯鱼的人工繁育技术研究

王 斌¹ 王士莉^{1*} 杨爱国² 陈 超² 李 迪¹

(¹青岛海底世界, 266003)

(²中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 在人工饲养条件下, 模拟自然环境对野生眼斑双锯鱼 *Amphiprion ocellaris* 进行驯养使其达到性成熟、配对、产卵。显微镜下观察其胚胎发育的形态学变化。结果表明, 眼斑双锯鱼的胚胎发育同大多数硬骨鱼类基本相似, 属端黄卵盘状卵裂; 在水温 $27.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 条件下, 经 192~216 h 完成孵化; 仔鱼在孵出的第 2 天开食轮虫, 4~5 d 变态为稚鱼, 开始投喂卤虫无节幼体, 18~20 d 进入幼鱼期, 45~50 d 开始投喂人工配合饵料及碎虾肉。

关键词 眼斑双锯鱼 胚胎发育 人工繁育

中图分类号 S966.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)05-0041-06

Study on artificial breeding of *Amphiprion ocellaris*

WANG Bin¹ WANG Shi-li^{1*} YANG Ai-guo² CHEN Chao² LI Di¹

(¹Qingdao Sea World, 266003)

(²Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT *Amphiprion ocellaris*, an ornamental fish collected from the wild, was cultured to mature and spawned in artificial condition. The embryonic development was observed under a microscope and it was found that the development was similar to most teleosts. The eggs belong to the telolecithal and are subject to discoidal cleavage. The incubation period was 192~216 hours at $27.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The larval fish could be fed by rotifer in the second morning after hatching, and were developed into juvenile at 4~5 days after hatching and into parr at 18~20 days after hatching. The parrs could be fed by artificial food and shrimp meat at 45~50 days after hatching.

KEY WORDS *Amphiprion ocellaris* Embryonic development Breeding

眼斑双锯鱼 *Amphiprion ocellaris* 隶属雀鲷科, 双锯鱼属, 俗称公子小丑鱼, 身体呈橘红色, 体侧有 3 条银白色环带, 以藻类和浮游生物为食。常常游戏于海葵触手间, 感到危险出现就会躲进海葵之中, 小丑鱼因此成为海葵摄食其他海洋生物的诱饵。此外, 小丑鱼作为热带珊瑚礁海域的一种小型鱼类, 是海洋馆的重要展示品种之一。

青岛海底世界自选项目和国家“863”项目(2006AA10A414)共同资助

* 通讯作者。E-mail: wangsl_er@gmail.com

收稿日期: 2010-01-04; 接受日期: 2010-01-17

作者简介: 王 斌(1982-), 男, 初级工程师, 主要从事珊瑚礁鱼类养殖及繁育研究。E-mail: bin19820304@yahoo.com, Tel: 15066816382

海水观赏鱼的饲养已经引起世人越来越多的关注,据不完全统计,海水观赏鱼占美国渔业贸易出口总额的20%,价值约8.9亿美元(Johunstou *et al.* 2003)。与淡水观赏鱼不同,海水观赏鱼几乎都是从天然海域中捕捞的,采捕时会对自然海域的生态环境造成严重破坏,有专家估计采捕后的鱼能够作为商品进入市场的还不足20%(Gordon *et al.* 2002)。由于过度采捕,某些海水观赏鱼类的数量急剧减少,已经到了灭绝的边缘,如海马由于其独特的药用价值而被人类过度捕捞,野生海马的数量锐减,目前海马已被列为《濒危野生动物植物物种国际贸易公约》二级保护动物。因此,海水观赏鱼类的繁育技术受到广泛关注,我国关于海水观赏鱼繁殖技术的研究相对落后,在小丑鱼的繁殖技术方面,仅见滕利平等(2005)、叶乐等(2008)及中国台湾的何源兴等(2006)分别有关于二带双锯鱼、白条双锯鱼及眼斑双锯鱼繁殖的研究,眼斑双锯鱼的繁殖技术研究在中国大陆未见研究报道。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2008年9月,自海南引进野生眼斑双锯鱼4条,驯养100d左右,于2009年1月,发现1对眼斑双锯鱼自然配对成功,然后将其他两条转出,雌鱼体长8.0cm,雄鱼体长7.0cm;试验设备包括:光学显微镜、数码相机、200L水槽两个、50L玻璃缸4个、过滤设备、加热设备等。

1.2 试验方法

1.2.1 亲鱼的饲养

亲鱼培育在200L的水槽中进行,水温用电加热器控制在 $27.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$,pH 8.0~8.2,盐度31~33,日换水量为总水体的10%。每天上、下午各投饵1次,上午投喂颗粒配合饵料及丰年虾,下午投喂虾肉及鱼肉糜,投饵至鱼不再摄食为止。

1.2.2 亲鱼产卵的判断

亲鱼饲养强化后,雌鱼腹部膨大、泄殖孔明显突起,当观察到亲鱼用嘴叼起碎石或杂物,整理出一块清洁区域,也称之为产卵床,用于产卵附着,发现这种亲鱼清洁产卵床行为时,即可判定亲鱼即将产卵。

1.2.3 仔鱼的收集

在水温 $27.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 条件下,受精卵一般会在第9天傍晚孵化,初孵仔鱼具有强烈的趋光性,采用光诱方式密集初孵仔鱼,带水捞出分养在50L玻璃缸中。

1.2.4 仔稚幼鱼的培育和管理

仔鱼培育水温控制在 $28.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$,微充气,培育水取自亲鱼水槽中的水,并用100目筛绢过滤后使用,每天及时吸出死亡的个体,并换水1/4。第2天上午开始投喂经小球藻强化12h的轮虫,保持5个/ml的密度;第5天增加投喂少量卤虫无节幼体,每日渐增,第10天全部投喂卤虫无节幼体,达到1~1.5个/ml的密度;第50天开始投喂新鲜的碎虾肉及配合饵料(日产林兼公司产品),每天分6次投喂至不再抢食为止,卤虫无节幼体投喂量渐减。

2 实验结果

2.1 亲鱼产卵的观察

亲鱼产卵水温 $27.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$,产卵时间集中在13:00~16:00,产卵行为持续约1h,雌鱼靠身体的抖动,将卵粒甩出并使之黏附于卵床上,之后雄鱼也靠抖动身体迅速排精,在产卵床上形成一个密集排列的受精卵群。产卵完毕可以看到亲鱼用嘴啄鱼卵(清除坏卵),并用胸鳍扇动水流,使卵四处摇摆,亲鱼会共同护卵,使其他鱼不敢靠近,这种护卵行为一直持续至孵出仔鱼。

2.2 产卵统计

如表1所示,亲鱼从3~8月份之间共产了9次卵,前6次产卵的时间间隔比较一致,下批卵一般会在上批

表1 亲鱼在2009年3~8月的产卵情况

Table 1 Spawning of *Amphiprion ocellaris* from March to August in 2009

序号 Number	产卵日期 (月-日) Spawning date	孵出日期 (月-日) Hatching date	产卵间隔(d) Spawning gap	孵化期(d) Incubation period	孵化水温(°C) Hatching temperature	孵化积温(d·°C) Hatching accumulative temperature
1	03-23	03-31	/	8	28.0±0.5	220.0~228.0
2	04-06	04-14	6	8	28.0±0.5	220.0~228.0
3	04-22	05-01	8	9	27.0±0.5	238.5~247.5
4	05-08	05-17	7	9	27.0±0.5	238.5~247.5
5	05-24	06-02	7	9	27.0±0.5	238.5~247.5
6	06-09	06-18	7	9	27.0±0.5	238.5~247.5
7	06-28	07-07	10	9	27.0±0.5	238.5~247.5
8	07-22	07-31	15	9	27.0±0.5	238.5~247.5
9	08-08		8	/	27.0±0.5	/

注:表中孵化积温=孵化天数×当日测得水温

卵孵出的6~8 d后产下,而第7、8两次产卵的时间间隔较前6次明显延长;在水温为 $28.0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,孵化期为8 d,在水温为 $27.0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,孵化期为9 d,孵化积温维持在 $220.0\sim 247.5\text{ d}\cdot^{\circ}\text{C}$ 。

表2 亲鱼在2009年3~8月的产卵量、孵化率及幼鱼成活率

Table 2 The amount of eggs spawned, hatching rate and the survival of larvae from March to August, 2009

序号 Number	产卵量(粒) Eggs spawned	孵化苗数(尾) Number of larvae	孵化率(%) Hatching rate	幼鱼成活数(尾) Number of parrs	幼鱼成活率(%) Survival of parrs
1	100	33	33.0	0	0
2	180	115	63.9	35	30.4
3	210	162	77.1	63	38.9
4	220	162	72.7	68	42.5
5	260	212	82.7	95	44.8
6	280	30	10.7	0	0
7	160	30	18.8	8	26.7
8	240	170	70.8	70	41.1
9	260	0	0	/	/
合计 Total	1 910	914	47.9±0.32	339	37.1±0.18

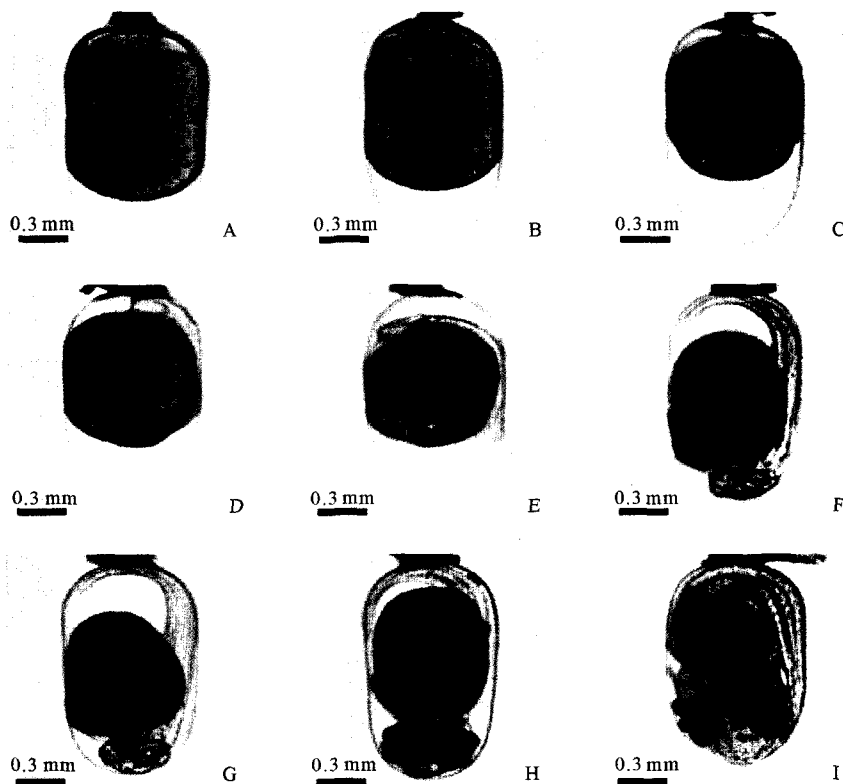
注:表中幼鱼成活数及幼鱼成活率指30日龄幼鱼的成活数及成活率

如表2所示,2009年3~8月受精卵的平均孵化率为 $47.9\pm 0.32\%$,幼鱼成活率为 $37.1\pm 0.18\%$ 。其中,第1批产卵量是9次中最少的一批,且孵化率较低,仔鱼在孵出的第3天就全部死亡;第2批产卵量和孵化率接近第1批的两倍,幼鱼成活率也达到了30.4%;第3、4、5批的产卵量、孵化率和幼鱼成活率都达到了较高的水平,其中孵化率保持在 $72.7\%\sim 82.7\%$,幼鱼成活率保持在 $38.9\%\sim 44.8\%$;第6批产卵量较多,但孵化率和幼鱼成活率都很低;第7批卵的孵化率和幼鱼成活率也较低;第8批产卵量、孵化率和幼鱼成活率又恢复到了前期较高的水平;第9批卵都没有正常孵化。

2.3 受精卵与胚胎发育

眼斑双锯鱼刚产出的卵粒为橘黄色,受精卵黏性,长径1.95~2.20 mm,短径0.85~0.95 mm,椭圆近方形,在显微镜下观察,可见多个油球,动物极端有丝状黏附物可供固着,游离端为植物极,胎盘形成于动物极。

图1显示眼斑双锯鱼的胚胎发育过程。在水温 27.0 ± 0.5 °C,盐度31~33,亲鱼不时扇动胸鳍增加水流的条件下,受精后50 min为2细胞期(图1A),2 h为8细胞期,3 h为32细胞期,4 h为64细胞期(图1B),16 h后囊胚覆盖卵黄2/3、胚体出现(图1C),21 h眼胞形成,并具5体节(图1D),30 h后眼胞内晶体形成、尾部已形成并与卵黄囊分离(图1E),53 h后胚体头部移至卵的前端、卵黄及胚体上已出现色素胞(图1F),63 h后胚体眼部已见色素沉着(图1G),72 h后胸鳍原基已形成(图1H),卵黄在96 h大部分被吸收,胚体腹面已经能够看到血液流动,130 h胸鳍雏形出现,175 h可见眼点,216 h即可孵化。



A: 2细胞期; B: 64细胞期; C: 囊胚覆盖卵黄2/3、胚体出现; D: 眼胞形成并具5体节; E: 眼胞内晶体形成、尾部形成并与卵黄囊分离; F: 胚体头部移至卵的前端、卵黄及胚体上出现色素胞; G: 胚体眼部见色素沉着; H: 胸鳍原基形成; I: 孵化前4h2 min

A: 2-cell stage; B: 64-cell stage; C: 2/3 of yolk was covered with blastodisc, and embryo appeared; D: Optic vesicles appeared, 5 somites; E: Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac; F: The head of embryo turned to the top of egg, chromatophore was visible on embryo and yolk; G: Chromatoplasm precipitated on eyes; H: The original form of pectoral fin was visible; I: 4 h 2 min before hatching

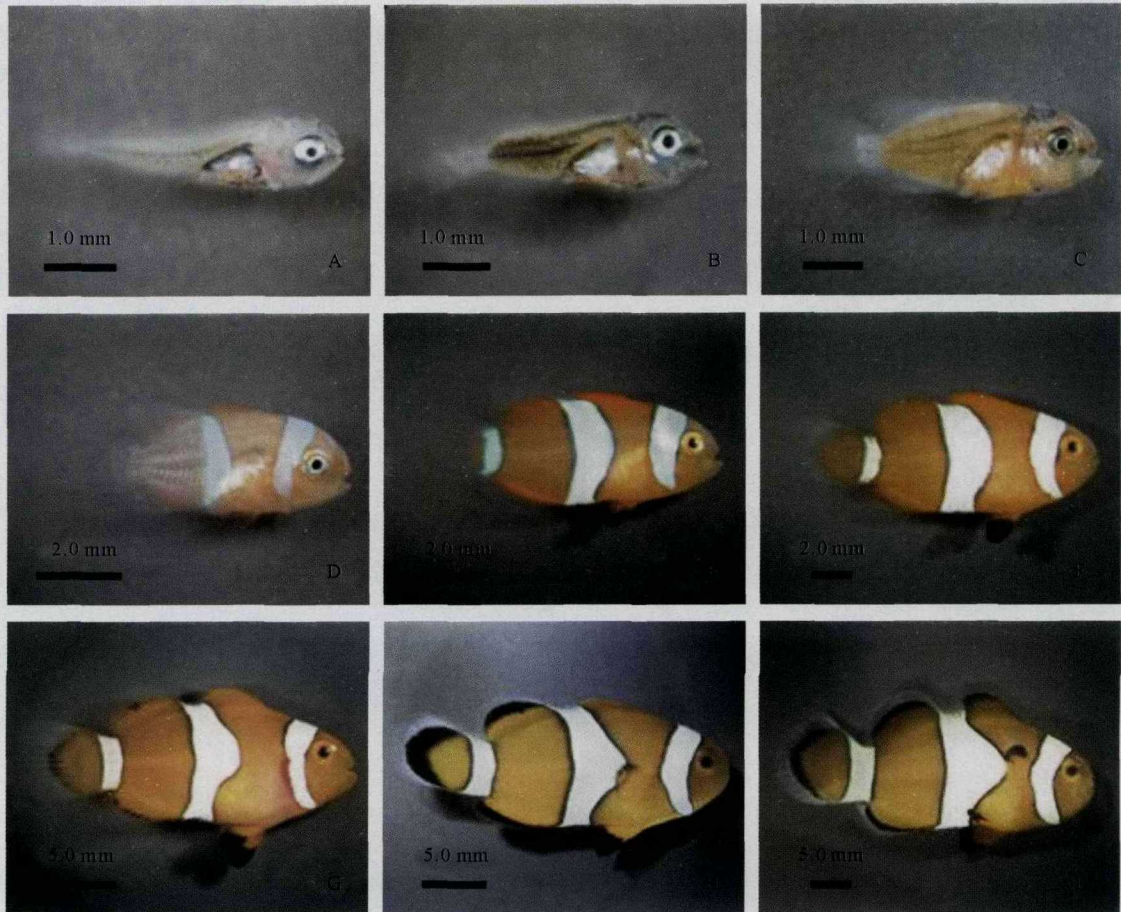
图1 眼斑双锯鱼胚胎发育过程(引自何源兴等 2006)

Fig. 1 Embryo development of *Amphiprion ocellaris*

2.4 仔稚幼鱼发育

图2显示眼斑双锯鱼的形态变化过程。刚孵出的仔鱼全长4.2~4.8 mm,身体透明(图2A);第2天开始摄食,可以明显观察到仔鱼腹部变黑;孵出后第3天,仔鱼全长4.9 mm,胸鳍分化已具备鳍条(图2B);孵出后第5天,背鳍、臀鳍及尾鳍都分化完好,背鳍、臀鳍的鳍式已与成鱼一致(图2C),进入稚鱼期,这时开始摄食

虫无节幼体;孵出后第10天,身体开始出现1条白色横带(图2D);孵出后第13天,体色开始转变为橘红色,出现两条白色横带;孵出后第18天,尾柄部出现第3条横带(图2E),进入幼鱼期;孵出后第28天,腹鳍完全转变为黑色(图2F);孵出后第45天,尾鳍、臀鳍及从第2条横带后之背鳍的透明部内侧,开始转变为黑色(图2G);孵出后第63天,尾鳍和臀鳍完全转变为黑色,除了胸鳍透明部内侧及第2横带前的背鳍边缘没有完全转变为黑色外,幼鱼的体色斑纹已与成鱼基本一致(图2H);孵出后第160天,胸鳍透明部内侧及第2横带前的背鳍边缘已完全转变为黑色,至此的体色斑纹和形态已与成鱼完全一致(图2I)。



A: 刚孵化仔鱼,全长4.3 mm; B: 孵化第3天仔鱼,全长4.6 mm; C: 孵化第5天稚鱼,全长5.2 mm; D: 孵化第10天稚鱼,全长7.2 mm; E: 孵化第18天幼鱼,全长11.3 mm; F: 孵化第25天幼鱼,全长16.0 mm; G: 孵化第45天幼鱼,全长22.2 mm; H: 孵化第60天幼鱼,全长26.8 mm; I: 孵化第160天幼鱼,全长42.1 mm

A: Newly-hatched larva, 4.3 mm in total length; B: 3-day-old larva, 4.6 mm in total length; C: 5-day-old larva, 5.2 mm in total length; D: 10-day-old larva, 7.2 mm in total length; E: 18-day-old parr, 11.3 mm in total length; F: 25-day-old parr, 16.0 mm in total length; G: 45-day-old parr, 22.2 mm in total length; H: 60-day-old parr, 26.8 mm in total length; I: 160-day-old parr, 42.1 mm in total length

图2 眼斑双锯鱼的形态变化过程(引自何源兴等 2006)

Fig. 2 Morphological changes of *Amphiprion ocellaris*

3 讨论

第1批受精卵孵化率较低且初孵仔鱼无存活,可能是亲鱼在性腺发育成熟后所产的第1批卵质量较差,坏卵或畸形卵较多,导致卵的孵化率很低,虽然孵出了一些仔鱼,但初孵仔鱼的状态较差,孵出的仔鱼最终全部死亡。仔鱼死亡的原因除了卵本身的质量差之外,也可能与缸壁上长的小水螅体有关,仔鱼在刚孵出时是最脆弱的,水螅体对脆弱的仔鱼是致命的。第2批卵产出前已经事先将缸内的水螅体全部清理干净,幼鱼的成活率较

上次大幅提高。第3、4、5批卵的产卵量、孵化率和幼鱼成活率都维持了较高水平。第6批产卵量较多,但孵化率和幼鱼成活率都很低,主要与饲养亲鱼系统发生的故障有关:6月16日18:00~6月17日8:00,饲养亲鱼系统的加热系统突发故障停止工作,水温从27.0℃降到了21.5℃,较大的降温严重影响了卵的正常孵化,仅孵出的30尾仔鱼也于第2天上午全部死亡。

眼斑双锯鱼喜欢将卵产在海葵附近,但海葵的毒性对刚孵出的仔鱼是致命的,因此,海葵的存在会影响初孵仔鱼的成活率,我们尝试将缸中海葵挪走。6月29日上午(第7批卵产下的第2天)将缸内海葵移出,结果亲鱼立即表现出焦躁不安、十分紧张的样子,扇卵频率明显降低,可能导致受精卵局部供氧不足,孵化期间死卵明显增多,严重影响了受精卵的孵化,可见突然移出海葵对亲鱼扇动胸鳍护卵影响很大。7月22日亲鱼在没有海葵的情况下产下的第8批卵的孵化率和幼鱼成活率却都达到了较高的水平,说明亲鱼在适应了没有海葵后,还是可以继续稳定产卵和护卵的,移走海葵是可行的。

眼斑双锯鱼有护卵习性,在亲鱼的看护下受精卵能正常孵化,这给仔鱼收集带来困难。笔者做了以下试验来探讨没有亲鱼护卵情况时受精卵能否顺利孵出:8月16日,第9批卵将要孵出的前1天,将带卵的产卵床取出,隔离在亲鱼缸的网箱中,只有充气,没有亲鱼护卵,受精卵在8月17日上午全部变白、死亡。可能是因为卵粒排列过于紧密,局部充气不能保证有足够的溶解氧,而亲鱼的护卵行为解决了均匀充氧的问题,保证了受精卵在孵化期对溶解氧的需求。如何用人工的方法模仿亲鱼的护卵行为可以作为今后研究的一个方向。

在鱼类人工育苗中,饵料生物的培养是一个重要环节。当眼斑双锯鱼仔鱼孵出之后,卵黄已经基本消失,解决仔鱼的开口饵料成了当务之急,如果开口饵料充足,仔鱼的死亡率可以大大降低。其次,鱼苗培育过程中要注意饵料的转换和投喂量,在稚鱼期要严格控制虫虫无节幼体的投喂量,稚鱼在这个阶段很贪吃,如果投喂过量,很容易导致稚鱼撑死。眼斑双锯鱼在仔、稚鱼期只能用天然饵料来喂养,因为在这个阶段,它们还没有完整的消化系统,体内的消化酶缺乏,只能摄食天然饵料,目前的配合饵料大多无法满足这阶段的需求。

参 考 文 献

- 叶 乐, 王 雨, 杨其彬, 吴开畅, 陈 旭. 2008. 小丑鱼规模化繁殖技术研究. 中国水产, 12: 58~60
- 何源兴, 陈文义, 彭仁君, 张文炳. 2006. 眼斑海葵鱼生殖行为与育苗. 见: 中国自然科学博物馆协会水族馆专业委员会 2006 年年会论文集, 53~64
- 滕利平, 杨担光, 李晓光, 李宗文, 周传学, 杨为东. 2005. 二线小丑鱼的人工繁殖. 水产科学, 2: 26~28
- Gordon, A. K., and Hecht, T. 2002. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. J. Appl. Ichthyol. 18: 113~117
- Johunstou, G., Kaiser, H., Hecht, A. T., and Dellermann, L. 2003. Effect of ration size and feeding frequency on growth, size distribution and survival of juvenile clownfish *Amphiprion percula*. J. Appl. Ichthyol. 19: 40~43