

红小丑人工繁殖和育苗的初步研究

鲍 鹰¹, 张 鹏², 祝承勇², 王 伟², 刘 鸣²

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 青岛绚海水族科技有限公司, 山东 青岛 266071)

摘要:为了了解红小丑鱼(*Amphiprion frenatus*)在人工饲养条件下繁殖和仔鱼培养的条件,采用实验生物学的方法,在严格控制的条件下培养亲鱼、胚胎和仔鱼。结果表明,红小丑每次产卵500~1 100粒,为黏性卵,成片集中附着在靠近海葵的坚硬物体表面,亲鱼有护卵行为。受精卵呈长椭圆形,长径为2.6 mm±0.2 mm,短径为0.9 mm±0.1 mm,经过9~10 d孵出仔鱼。初孵仔鱼平均体长3.84 mm±0.21 mm,对不饱和脂肪酸的依赖非常高,最好的饲喂方式是立即投喂经小球藻(*Chlorella sp.*)强化的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*),密度在10个/mL左右,并保持到第7天。从第5天开始投喂经小球藻强化的卤虫(*Artemia sp.*)幼体。第6天进入稚鱼阶段,平均体长为6.32 mm±0.32 mm。到第18天,鱼苗已转入幼鱼阶段,平均体长为14.83 mm±1.62 mm。幼鱼期投喂用小球藻或其他单胞藻饲养了2 d的小卤虫。25 d后,饵料从卤虫逐渐过渡到鱼糜或虾糜。

关键词: 红小丑(*Amphiprion frenatus*); 人工繁殖; 育苗

中图分类号:S961.2

文献标识码:A

文章编号:1000-3096(2009)02-0005-06

红小丑(*Amphiprion frenatus*)又名番茄小丑,在分类上属于雀鲷科(Pomacentridae)、双锯鱼属(*Amphiprion*),分布于印度洋和太平洋珊瑚礁海域。其生命力强且易于饲养,因而成为水族爱好者普遍饲养的水中宠物。水族市场的迅速扩大和越来越多的国家为了保护海洋生态系统而禁止捕捞或输入野生鱼类,促使海洋观赏鱼的人工繁殖成为一个新兴的研究领域和产业。

目前能实现全人工繁殖的海水观赏鱼种类很少。相比于其他海水观赏鱼,关于小丑鱼的胚胎发育和人工繁殖的研究还略为多一点。Aratake^[1,2]报道了双带小丑鱼(*A. clarkii*)卵径和数量的季节性变化以及卵径与能量之间的关系;Yasir^[3]报道了公子小丑(*A. ocellaris*)胚胎和仔鱼的发育;Ho^[4]报道了银边小丑(*A. periderion*)的繁殖习性和人工培养;滕力平等^[5]报道了双带小丑的人工繁殖;Madhu等^[6]报道了黑边公子小丑(*A. percula*)的人工繁殖;Ignatius等^[7]报道了另一种双带小丑(*A. sebae*)的产卵和仔鱼培育技术。但是,关于红小丑的人工繁殖尚未见报道。

本研究的目的在于了解红小丑鱼在人工饲养条件下繁殖和仔鱼培养的条件,为进一步的生产性人工繁殖提供理论依据。本实验于2007年8月~2008年1月在中国科学院海洋研究所的室内水族培养实验室进行。

1 材料与方法

1.1 种鱼

本实验的种鱼于2007年8月购于海南省琼海

市的鱼店,是由渔民从西沙海域捕获的,共购回16尾,体长为68~137 mm,置于塑料袋中,充氧,外加泡沫箱包装后空运回青岛。从打包到解包,整个运输途中的时间约10 h。运输中无死亡。从第2天开始陆续有死亡,到第5天共死亡11尾。死亡原因估计是鱼在被捕获时受氰化物毒害所致。成活的鱼配成2对,分别养在2个140 cm×120 cm×86 cm的玻璃钢水箱中。饲养水箱具有封闭式循环过滤系统,每星期换水20%。饲养期间水温为26°C±1°C,pH为8.0~8.1,盐度为30~32,氨氮量低于0.1 mg/L,溶解氧高于5.8 mg/L。在水箱上方30 cm处用36 W卤素灯管照明,每天光照14 h,黑暗10 h。每天投喂鲜虾肉和鱿鱼肉,分别于9:00和15:00投喂2次。

1.2 胚胎发育

种鱼产卵产精后在原池中受精孵化,水质条件与上述相同。待产卵结束立即对受精卵取样。产卵的当天每0.5 h取样1次,第2天每3 h取样1次,第3、第4天每天早晚各取样1次,第5天开始每天取样1次。在解剖镜下对样品进行观察、测量、记录各阶段的形态特征、并进行显微拍照。每次观察5个受精卵,重复2次。

收稿日期:2008-06-16; 修回日期:2008-12-03

作者简介:鲍鹰(1962-),男,江苏苏州人,助理研究员,主要从事海洋生物人工繁殖的研究,电话:0532-82898567,E-mail:ybao4180@hotmail.com



1.3 仔鱼的收集

在仔鱼孵出后的1 h左右,用台灯照在产卵缸的一角。初孵仔鱼有强烈的趋光性,会很快集中到有光照的水体的表面。用塑料水勺将仔鱼小心收起,移到120 cm×40 cm×40 cm的水族箱(仔鱼培育缸)中培养,此时培育缸中的水质条件要与产卵缸中的完全一致。

1.4 仔、稚鱼的培养

仔鱼培养期间的水温为26℃±1℃,pH为8.0~8.2,盐度为30~32,氨氮量低于0.1 mg/L,溶解氧高于5.8 mg/L。加小球藻(*Chlorella sp.*)50 000个/mL做成“绿水”。培育缸的四周要用深色塑料板遮光。每天吸底并换水25%。日投喂2次,分别在9:00和15:00。从孵化后的第1天到第7天喂经小球藻强化的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)。轮虫的密度保持在10个/mL左右。从第5天到第30天喂经小球藻强化的卤虫(*Artemia sp.*)幼体,卤虫幼体的密度控制在5个/mL左右。

1.5 饵料生物的培养

饵料生物包括轮虫和卤虫无节幼体。轮虫的平均体长为239 μm±36 μm,培育在2个100 L的玻璃钢圆桶中,其中一个每天2次投喂小球藻(5×10^4 个/mL),另一个每天2次投喂面包酵母(5×10^6 个/mL)。轮虫在培养期间每天换水30%。卤虫休眠卵购自潍坊安景水产技术公司,采自美国大盐湖。卤虫卵的孵化水温28℃、盐度32,孵化18 h后收集。对于需要进行营养强化的卤虫幼体,收集后再在同样的水质条件下饲养6 h,同时投喂高浓度的小球藻(2×10^5 个/mL)。

1.6 光照和饵料对仔鱼生长的影响

实验分成5组,每组4个平行,共20个样本,在20个40 cm×40 cm×40 cm的水族箱中进行,每个水族箱(样本)中放30尾初孵仔鱼,在不同的光照周期和饵料下培养(表1)。所有样本的水温和盐度分别为26℃和32,最长培养时间为30 d。

表1 光照周期和饵料强化实验分组

Tab. 1 The groups of different photoperiods and diets

组别	光周期	饵料	
		轮虫	卤虫
1	14L+10D	以小球藻培养	用小球藻强化
2	14L+10D	以小球藻培养	不强化
3	14L+10D	以酵母培养	不强化
4	18L+6D	以小球藻培养	用小球藻强化
5	24L+0D	以小球藻培养	用小球藻强化

注:L为光照,D为黑暗

2 结果与讨论

2.1 种鱼的培养

本实验中,一个种鱼缸中用珊瑚石搭成岩礁状,并养有8个活珊瑚和2个长须海葵,尽量模拟自然环境,另一个种鱼缸中只放有3个花盆。这两个缸中的种鱼都顺利产卵,说明尽管小丑鱼有与海葵共生的习性,但是海葵并不是它们产卵的必需条件。在水质条件优良的前提下,鱼类的繁殖节律主要由水温和光照周期决定,本实验中采用了‘夏季’的水温和光周期:26℃±1℃和14 h光照+10 h黑暗,结果表明这一条件对促进种鱼的性腺发育和产卵是有效的。饵料的种类和投饵量是性腺发育的物质基础,并决定卵子的质量。从实验结果来看,新鲜虾肉和鱿鱼肉的组合能满足种鱼在繁殖期间对饵料的要求,并且虾肉和鱿鱼肉很容易得到。

2.2 产卵习性和产卵量

两对种鱼分别在11月4日、11月18日、12月2日、12月8日、12月15日和12月23日产卵6次。其中一对种鱼产在紧靠海葵的池壁上,另一对则产在一个花盆的内壁上。产卵的当天,种鱼用嘴巴清理产卵场。产卵在上午进行,雌鱼抖动身体将少量卵产在清理好的卵床上,雄鱼立即过去产精,然后雌鱼再产卵,雄鱼再产精,如此重复交替进行,约1 h后产卵结束,雌鱼游开,雄鱼则守护在卵块边,频频用胸鳍扇动受精卵。亲鱼的护卵行为直至卵孵化为止,其间大部分时间是由雄鱼看护,雌鱼则偶尔有看护行为,孵化期为9~10 d。

据报道,小丑鱼总是在9:00~14:00产卵,而产卵的高峰时间是9:00~11:00^[4,5,8,9]。本实验中的产卵时间也是这样。但是,如果把每天的光照时间提前,设定在4:00~6:00时,亲鱼的产卵时间也提前到了7:00~9:00,这说明产卵时间和“日出”时间有关,产卵总是发生在“日出”后的2~4 h。

小丑鱼卵是黏性卵,每个卵都紧紧地附着在卵床上。黏性卵使得亲鱼很容易看护它们,但是附着对卵的发育而言并不是必须的。本实验中,一些卵在产下不久便被铲下移到1 000 mL的烧杯中孵化,部分受精卵能顺利孵出仔鱼。这一发现为以后在大规模的生产性人工繁殖中创建一种人工孵化的新技术提供了依据。

由于受精卵附在池壁上和在花盆的内壁,无法直接计数,另外,通过观察,受精卵在孵化的过程中几乎没有死卵出现,因此以初孵仔鱼的量来推断产卵量为每次500~1 100粒。

在本实验中,红小丑的产卵间隔是13~17 d。其他已有报道的小丑鱼的产卵间隔是6~45 d。作



者认为,小丑鱼的正常产卵间隔应该是在 13~15 d 左右,红小丑受精卵的孵化时间是 9~11 d,所以它的产卵间隔是不会少于 10 d 的。当某条小丑鱼的产卵间隔>18 d 时,一定是培养条件或者饵料出了问题,或者是鱼龄老化了。

产卵的另一个特征是只要饲养环境没有变化,同一对鱼的数次产卵总在同一地方。这说明红小丑的巢穴是相对固定的。

2.3 受精卵的发育

受精卵呈长椭圆形,长径为 $2.6 \text{ mm} \pm 0.2 \text{ mm}$,短径为 $0.9 \text{ mm} \pm 0.1 \text{ mm}$,黏性卵,在长轴的一端,也是卵的动物极一端,有纤维状的附着丝,附着在卵床上。卵膜无色透明,薄而富有弹性,表面光洁,无裂纹。卵黄呈橘红色。有许多小油球无规则地散布在卵黄中。整个卵外观呈粉红色。在 26°C 的水温条件下,红小丑受精卵的胚胎发育长达 10 d 左右。

鱼卵在受精后约 0.5 h 形成胚盘。红小丑受精卵的分裂方式为盘状卵裂。受精后约 1 h 30 min 进行第一次卵裂进入 2 细胞期(图 1-1)。受精后约 2 h 8 min 进入 4 细胞期,以后经过 8 细胞期、16 细胞期和 64 细胞期(图 1-2),于受精后约 7 h 30 min 进入囊胚期,至受精后约 14 h 进入囊胚晚期(图 1-3)。受精后约 14~16 h 胚胎开始进入原肠胚期(图 1-4)。以后经过原肠作用和神经胚期,约于受精后 26 h 形成胚胎雏形,此时胚胎处于卵黄的一侧,绕卵黄 1/2,

头部位于动物极一端,头部的两侧出现视泡(图 1-5)。受精后约 28 h 在胚胎的中部出现 5 个肌节,至受精后约 48 h 增加到 18 肌节(图 1-6),此时头部向植物极移到卵黄的中部,视杯形成,具有不透明的眼珠。头部出现黑色素细胞。奇鳍褶形成,背、尾、臀、腹鳍褶连成一片,在尾部尤其明显。出现心脏,位于中脑和卵黄囊之间。此时的心脏还只是简单的一层膜,心跳 110 次/min。胚胎不时有扭动。此时在卵黄上出现许多色素,使卵黄看起来极像一个草莓。受精后约 60 h,即第 3 天的晚上,头部已经移到植物极。胚胎的卵黄稍为减少,在头部出现放射状的色素细胞。心跳 110 次/min。此时的胚胎比卵的长径略长,因此尾部略有弯曲(图 1-7)。受精后第 4 天,心跳增加到 140 次/min。体长增加到绕卵黄 3/4 周。能清晰地看到血液流动。心壁增厚,呈肉红色。眼睛有显著的发育,出现黑色素,但是还较淡。此时体节也已大致形成,并且出现听囊,胸部的两侧出现胸鳍芽。胚胎的身子在卵膜内频繁扭动。整个卵的外观由原来的粉红色成深棕色(图 1-8)。以后,胚胎的循环系统、消化系统、神经系统和眼睛得到进一步的发育。到受精后第 9 天,各组织、器官已基本建成。心跳增加到 210 次/min。头很大,在显微镜下能清晰地看到下颌和鳃盖频繁的张开和闭合。消化道已基本完善。卵黄变得很小,而身体显得很粗壮。眼睛闪闪发亮(图 1-9)。

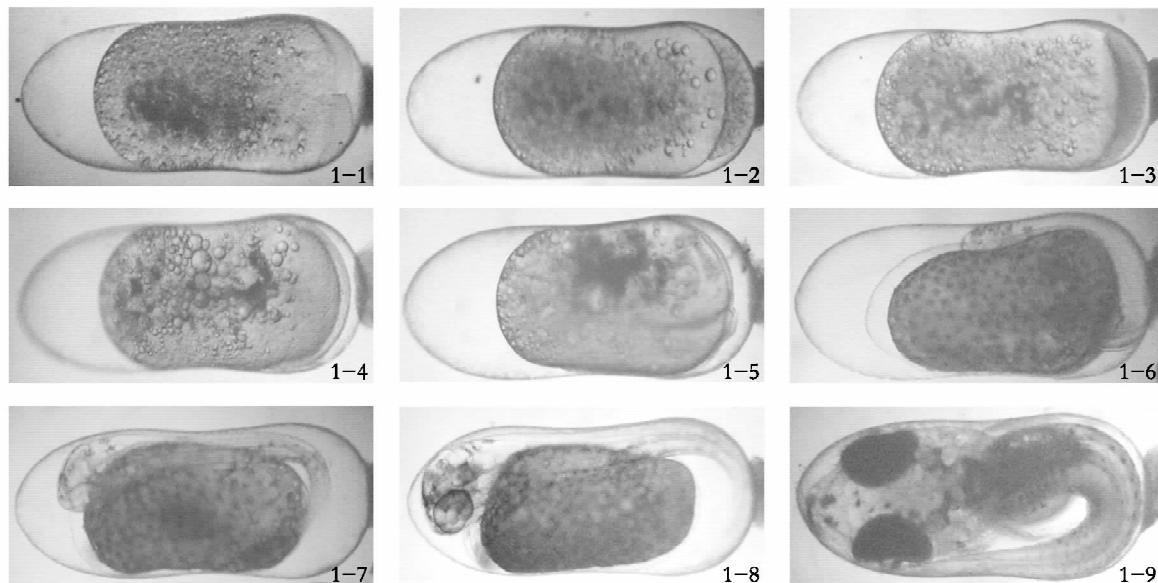


图 1 红小丑的胚胎发育

Fig. 1 Embryonic development of *Amphiprion frenatus*

1-1. 2 细胞期; 1-2. 64 细胞期; 1-3. 低囊胚; 1-4. 原肠期; 1-5. 视囊期; 1-6. 受精后 48 h; 1-7. 受精后 60 h; 1-8. 受精后第 4 天; 1-9. 受精后第 9 天, 即将孵化

1-1. 2-cell stage; 1-2. 64-cell stage; 1-3. the later stage of blastula; 1-4. the gastrula stage; 1-5. the optic vesicle; 1-6. 48 h after fertilization; 1-7. 60 h after fertilization; 1-8. on day 4 after fertilization; 1-9. on day 9 after fertilization

大部分已有报道的小丑鱼的胚胎发育时间是7 d左右^[3~7,10]。但在本实验中受精卵的胚胎发育时间是10 d左右,区别非常明显。不同的实验中所采用温度、盐度和光周期的不同也许是造成了胚胎发育时间不同的原因。小丑鱼的胚胎在长光照的条件下发育要慢一些。一天中光照时间越长,胚胎发育的时间可能也越长。另外,红小丑的受精卵(2.62 mm×0.96 mm)明显比公子小丑(1.8 mm×0.8 mm)^[3]、银边小丑(1.93 mm×0.8 mm)^[4]和双带小丑(2.14 mm×0.9 mm)^[5]的大。较大的受精卵具有更多的能量以维持较长时间的胚胎发育。这也许是红小丑的胚胎发育时间较长的另一原因。

2.4 孵化

受精卵的发育无论是白天还是晚上都连续进行,但是孵化需在黑暗中进行。受精卵的孵化是在日落后开始的,在试验室中,关灯1~2 h后仔鱼陆续孵出。本实验中有二批卵在孵化时受到手电筒的光

照,孵化便停止,第二天继续孵化,其中的一批用了3 d才全部孵出。

2.5 仔鱼和稚鱼的发育

初孵仔鱼(图2-1)平均体长为3.84 mm±0.21 mm,具有极强的趋光性,能够快速游动寻找食物。初孵仔鱼体内的卵黄基本上已被吸收,所以饵料的适时适量供应成为仔鱼成活的关键因素。第6天,仔鱼已经全部转入稚鱼阶段(图2-2)。平均体长为6.32 mm±0.32 mm。各鳍的鳍条基本形成。至第12天(图2-3),平均体长已达12.96 mm±0.75 mm,全身乌黑,腹部泛蓝光,从头顶到眼后出现一条白色条纹。从第13天到第15天鱼体逐渐变为橘红色。到第18天(图2-4),鱼苗已转入幼鱼阶段,平均体长为14.83 mm±1.62 mm。整个鱼体呈现鲜亮的橘红色,除了眼睛后面的第1条白色条纹,在背鳍中间出现第2条白色条纹,延伸到背部中央或直达腹部,这一条纹会随着幼鱼的生长而逐渐消失。

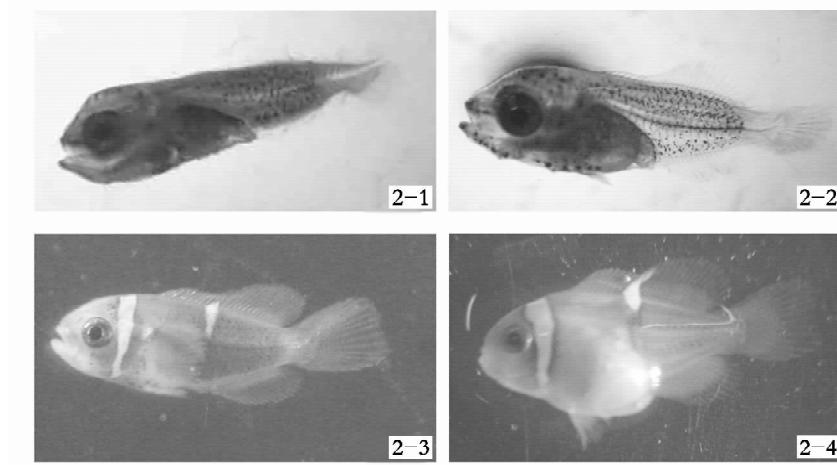


图2 红小丑的仔鱼、稚鱼和幼鱼

Fig. 2 The larvae and juvenile of *A. frenatus*

2-1. 初孵仔鱼;2-2. 孵化后第6天(稚鱼);2-3. 孵化后第12天(稚鱼);2-4. 孵化后第18天(幼鱼)

2-1. the newly hatched larva; 2-2. the 6-day-old larva; 2-3. the 12-day-old larva; 2-4. the 18-day-old juvenile

2.6 光周期和营养强化对仔、稚鱼成活率的影响

从图3可以明显地看出红小丑初孵仔鱼对不饱和脂肪酸的依赖非常高。第3组的轮虫没有用小球藻强化,仔鱼的死亡集中发生在孵出后的第2天的下午和第3天,到第4天已经没有存活的仔鱼了。

从第1组和第2组的比较可以看出卤虫幼体强化与否对稚鱼的影响显得比较缓慢,第2组的稚鱼顺利发育直到进入幼鱼前后才陆续死亡,因此在稚鱼期对饵料进行强化还是必需的。从第4组和第5组可以看出每天光照时间越长,对稚鱼的生长越有利,存活率也越高,其原因可能是仔鱼和稚鱼的代谢旺盛,



对食物的消化、吸收快,而捕食又依赖于光线,长时间的黑暗会造成它们过度饥饿和消瘦,引起死亡。

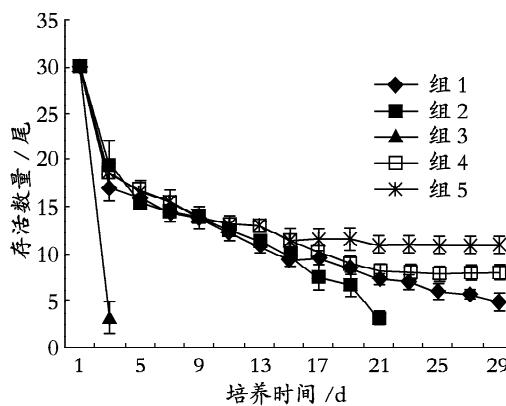


图3 光周期和营养强化对仔、稚鱼成活率的影响

Fig. 3 The effect of different photoperiods and diets on *A. frenatus*

组1. 14L+10D、轮虫和卤幼皆强化;组2. 14L+10D、轮虫强化、卤幼不强化;组3. 14L+10D、轮虫和卤幼皆不强化;组4. 18L+6D、轮虫和卤幼皆强化;组5. 24L+0D、轮虫和卤幼皆强化

Group 1. with a 14L/10D photoperiod and enriched *B. plicatilis* and enriched *Artemia* nauplii; Group 2. with 14L/10D photoperiod and enriched *B. plicatilis* and unenriched *Artemia* nauplii; Group 3. with 14L/10D photoperiod and unenriched *B. plicatilis* and unenriched *Artemia* nauplii; Group 4. with 18L/6D photoperiod and enriched *B. plicatilis* and enriched *Artemia* nauplii; Group 5. with 24L/0D photoperiod and enriched *B. plicatilis* and enriched *Artemia* nauplii

虽然在第5组得到了最高的存活率(36.6%)但是63.4%的死亡率是值得探讨的。在仔鱼孵出的第2天,往往会有将近50%的仔鱼死亡。造成这一高死亡率的原因可能主要有两个方面:一是种鱼的营养不够,造成卵质不好,虽然能完成胚胎发育,但是初孵仔鱼的组织、器官,尤其是消化器官发育不全,使仔鱼孵出就死亡;另一个原因是初孵仔鱼极其娇嫩,将它们从产卵缸移到实验缸中以及冲气都可能对它们的身体造成伤害而使其致死。

从本实验的结果来看,最好的饲喂仔鱼的方式是在仔鱼孵出、移到仔鱼培养池后,立即投喂经小球藻强化的轮虫,密度在10个/mL左右,维持这一密度直到第7天。从第5天开始投喂经小球藻强化的卤虫幼体直到第30天,然后改用鱼糜、虾糜或合成

饲料。同时,在整个仔稚鱼培养期间24 h照明,以促进鱼苗的生长。

参考文献:

- [1] Aratake H, Nakazono A. Relationship between egg size and its energy content in anemonefish, *Amphiprion clarkii* [J]. *Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ*, 2005, **60**(2): 203-206.
- [2] Aratake H, Nakazono A. Seasonal change of egg size and number in the anemonefish *Amphiprion clarkii* at two different localities in the temperate Kyushu, Japan [J]. *Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ*, 2006, **61**(1): 83-91.
- [3] Yasir I, Qin J. Embryology and early ontogeny of an anemonefish *Amphiprion ocellaris* [J]. *J Mar Biol Assoc U K*, 2007, **87**(4): 1 025-1 033.
- [4] Ho Y-S, Chen C-M, Chen W-Y. Breeding behavior of the pink clownfish (*Amphiprion perideraion*) and its larval rearing study [J]. *Jour Fish Soci Taiwan*, 2005, **32** (1): 25-26.
- [5] 滕力平,杨担光,李晓光,等.二线小丑鱼的人工繁殖[J].水产科学,2005,24(2):26-27.
- [6] Madhu K, Madhu R. Successful breeding of common clownfish *Amphiprion percula* under captive conditions in Andaman and Nicobar Island [J]. *Fish Chimes*, 2002, **22**(9): 16-17.
- [7] Ignatius B, Rathore G, Jagadis I, et al. Spawning and larval rearing technique for tropical clown fish *Amphiprion sebae* under captive condition [J]. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 2001, **16**(3): 241-249.
- [8] Gopakumar G, George R M, Jasmine S. Breeding and larval rearing of the clownfish *Amphiprion chrysogaster* [J]. *Mar Fish Inf Serv Tech Ext Ser*, 1999, **161**: 8-11.
- [9] Ross R M. Reproductive behavior of the anemonefish *Amphiprion melanopus* on Guam [J]. *Copeia*, 1978, **1**: 103-107.
- [10] Gordon A K, Hecht T. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning [J]. *J Appl Ichthyol*, 2002, **18**(2): 113-117.

Artificial breeding of the anemonefish *Amphiprion frenatus*

BAO Ying¹, ZHANG Peng², ZHU Cheng-yong², WANG Wei², LIU Ming²

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Qingdao Colcean Aquarium Technology Co., Ltd., Qingdao 266071, China)

Received: Jun. , 16, 2008

Key words: *Amphiprion frenatus*; breeding; larvae

Abstract: The anemonefish *Amphiprion frenatus* could ovulate under captive condition. The spawning interval was 13 to 15 days, all of the spawning started about 2 hours after sunrise in the morning, The spawning activity lasted about an hour, and about 100 to 1 100 eggs were produced each time. The adhesion demersal eggs, which were orange and ellipsoidal, were about $2.6 \text{ mm} \pm 0.2 \text{ mm}$ long and $0.9 \text{ mm} \pm 0.1 \text{ mm}$ in diameter. The eggs hatched after had been incubated approximately 10 days at 26°C and the mean total length of newly-hatched larvae was $3.84 \text{ mm} \pm 0.21 \text{ mm}$. Newly-hatched larvae grew to $14.83 \text{ mm} \pm 1.62 \text{ mm}$ (mean total length) in 18 days. In the first 4 days of larvae rearing, rotifers were kept at a constant density of 10 individuals/mL, and from the 5th day *Artemia* nauplii were supplied. The water was renewed about 20% everyday. The water temperature in the culture tank ranged from 24 to 26°C , pH ranged from 7.8 to 8.2, salinity ranged from 30 to 32, NH_4^-N was less than 0.1 mg/L, and dissolved oxygen content was more than 5.8 mg/L.

(本文编辑:谭雪静)

(上接第 4 页)

Cultivating technology of high-magnetic and non-magnetic AMB-1

ZHANG Yu-hong^{1,2}, XIAO Tian¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology& Environmental Sciences, Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China)

Received: Dec. , 26, 2007

Key words: AMB-1; nano-material; lysing

Abstract: *Magnetospirillum* sp. AMB-1 of high-magnetic and non-magnetic were obtained by special enrichment and inoculation method. After that this two kind of bacteria were validated by transmission electron microscope (TEM) and were measured Cmag. Furthermore, under optimizing growth conditions and cultivating time, AMB-1 of high-magnetic lysed and magnetosomes released from cells. As a result, magnetosomes were gotten conveniently by such method.

(本文编辑:张培新)