

转牛(羊)生长激素基因工程鲤鱼研究

孙孝文 沈俊宝 闫学春 梁利群 王 鹏

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

摘 要 生产出转牛和羊生长激素基因实验鲤鱼一万余尾, 筛选出生长速度快, 含有外源基因的转基因鲤鱼 143 尾。遗传实验证实外源基因可遗传给后代, 经池塘生长实验证明子代仍具有生长速度快的特征, 建立了把外源基因直接注入鲤鱼受精卵及确定了外源基因导入鲤鱼受精卵的最佳时期等构建转基因鱼的一整套技术。

关键词 牛生长激素, 基因, 鲤鱼

Palmiter 等人 1982 年把小鼠的 MT 启动子和大鼠的生长激素基因拼接成融合基因, 并把此基因导入小鼠的受精卵, 培育出大于小鼠的“超级小鼠”^[4], 为动物转基因育种研究奠定了基础。

由于鱼类分子生物学研究水平较哺乳类动物分子生物学研究水平低, 在转基因鱼研究初期几乎没有可供转移的来自鱼类自身的基因材料, 当时多用人及其它哺乳类动物如牛、羊等的基因为基因转移的材料。如中国科学院水生生物研究所和中国水产科学研究院淡水渔业研究中心构建的转基因鱼用的都是人生长激素基因, 美国和加拿大是在八十年代后期用鱼的基因作为转基因的材料进行转基因鱼研究的, Yoon 等人用的是大肠杆菌的基因构建转基因鱼, 美国的 Chen 等^[5]人在 1990 年前使用虹鳟鱼的生长激素基因 cDNA 片段构建转基因鲤鱼, 加拿大的 Flecher 等^[7]在 1988 年用美洲拟鲱鱼的抗冻基因构建转基因大西洋鲑鱼。国内从九十年代初开始用鱼类的基因构建转基因鱼。中国科学院水生生物研究所用鲤鱼的 acting 启动子和草鱼的生长激素基因^[11], 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所用鲤鱼的 MT 启动子和大麻哈鱼生长激素基因构建转基因鲤鱼^[1]。

虽然鱼类转基因研究开展较晚, 而且又缺乏转基因材料, 但由于鱼类较其它动物在转基因研究方面有明显的优点, 如鱼类怀卵量大、体外受精和孵化等等, 而哺乳类动物怀卵量少、需要手术取卵、转基因后又需把卵放入母体子宫等复杂的操作技术。这些优点使鱼类基因转移较易进行, 研究进展较快, 并在研究的某些方面如转基因鱼的数量、外源基因整合的特点和遗传规律等已赶上或超过哺乳类动物转基因研究的水平, 有望先于哺乳类动物使转基因鱼应用于实际生产。尽管有这些大的进步, 但目前转基因鱼研究领域仍以基础研究为主, 报道的文章多集中在探索外源基因的整合规律、稳定遗传、转录与表达的机理等, 从资料上看,

收稿日期: 1994-03-29。

国外仅有美国的 Chen 等、加拿大的邱材良等少数几个研究组织的研究者致力于转基因养殖鱼类的培育。

本研究目的是探索一条简单易行的基因导入鱼类受精卵的方法,建立外源基因整合与表达的检测技术,为构建转全鱼基因鱼奠定技术基础。经过 5 年的研究建立了鱼类基因工程育种完整的系统技术,包括亲本组合的选配、受精卵的获得和短期保存、受精卵不加任何处理直接进行基因转移技术、显微注射的最佳时期、外源基因整合和表达的检测技术、基因工程鱼的培育和遗传分析等,经过池塘生长对照实验证实外源基因对受体鱼确有促生长效应,筛选出生长速度快 10% 以上的转基因鲤鱼 143 尾,证实了外源基因可以遗传给子代并具有快速生长的特征。

材 料 和 方 法

(一)实验鱼 采集精、卵用的实验鱼是本所松浦实验场培育的黑龙江野鲤、荷包红鲤抗寒品系和德国镜鲤等的性成熟亲鱼。

(二)基因材料 牛生长激素基因由中国科学院动物研究所提供,酶切图谱如图 1。羊生长激素基因由澳大利亚联邦科学与工业研究组织的动物分部提供,酶切图谱如图 2。

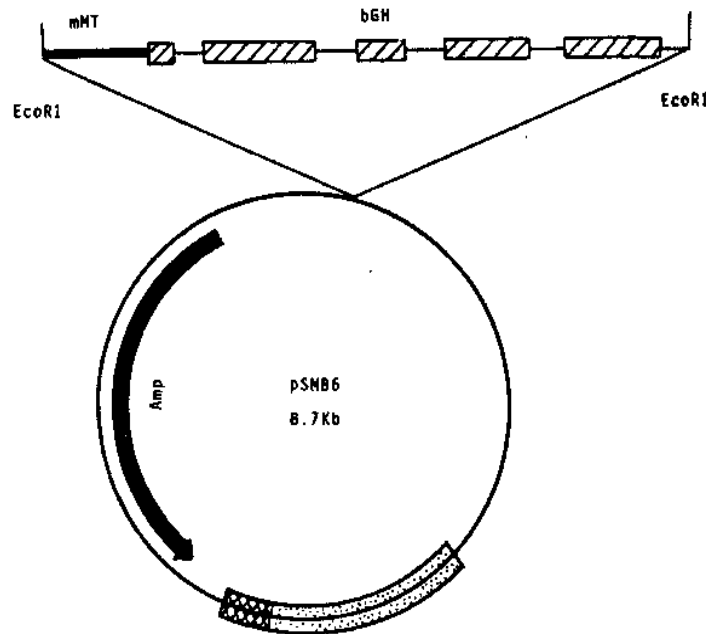


图 1 牛生长激素基因酶切图谱 mMT 代表鼠金属硫蛋白基因的启动子 bGH 代表牛生长激素基因

Fig. 1 The restriction map of bovine growth hormone gene mMT The promoter of mouse metallothionein gene bGH Bovine growth hormone gene

实验用各种酶类,购自美国的 New England Biolabs 公司和我国的华美生物工程公司,探针标记试剂盒购自美国 promega 公司,同位素购自福瑞公司。

(三)基因导入方法 在每年 5 月至 6 月鲤鱼繁殖季节,选择成熟的亲鱼,注射鲫鱼的垂体,

进行人工催产采取精、卵或在亲鱼池捕捉流卵的亲鱼,采集质量高的精、卵,带回实验室,放在 8℃ 冰箱中。每次取一定数量的精卵受精,使其分散粘附在培养皿上。在受精后 20 分钟至受精卵发育到第一次卵裂期间,用显微注射器把基因直接注射在细胞核附近。

(四)实验鱼的孵化和培育方法 注射后的卵和对照组卵放入温度在 23--25℃ 的水族箱中,约 3 天时间孵出鱼苗,平游后将鱼苗移到室外池塘中设置的网箱中。每天捞取轮虫等浮游动物投喂,育成夏花后放入面积为 300 平方米或 600 平方米的池塘中养至鱼种。秋季对每种组合的鱼种经标记后放入越冬池中过冬,第二年春季出池时,按标记分塘饲养。

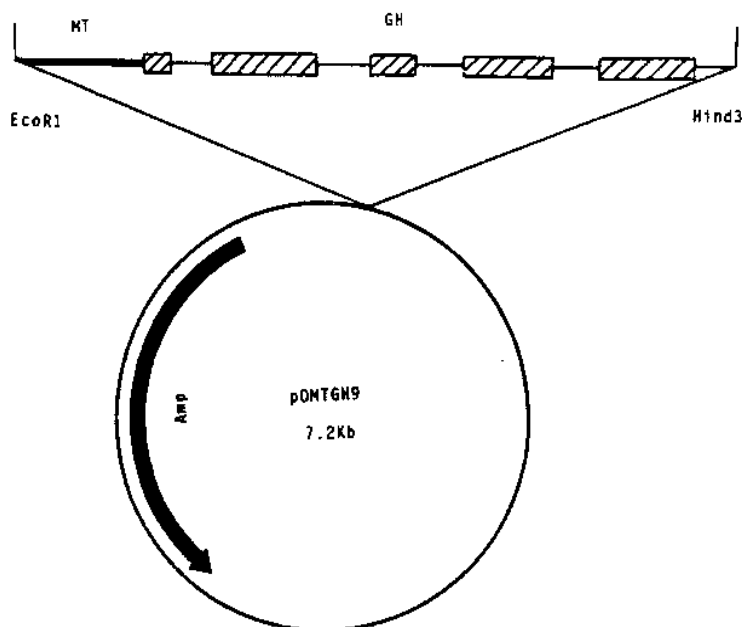


图 2 羊生长激素基因酶切图谱 MT 代表羊金属硫蛋白基因的启动子 GH 代表羊生长激素基因

Fig. 2 The restriction map of ovine growth hormone gene

MT The promoter of ovine metallothionein gene

GH ovine growth hormone gene

(五)斑点杂交和 Southern Blot 杂交 剪取实验鱼的鳍条,按徐洵等^[3]人的方法提取 DNA;两种杂交方法均按 Sambrook 等^[9]人的方法进行。

结 果

1989—1991 年共构建出转牛和羊生长激素基因鲤鱼 4300 余尾,每年获得的实验鱼的数量,基因种类见表 1。

(一)外源基因在鲤鱼基因组中的整合

使用 DNA 斑点杂交与 Southern Blot 杂交技术对外源基因在受体鱼基因组中的整合情况进行检测。随机取样 50 尾有 6 尾为阳性,外源基因的整合率在 8% 左右;挑选个体大的 200 尾 51 尾为阳性,外源基因的整合率在 25% 左右;所有样品经斑点杂交后确认为阳性的

样品做 Southern 杂交,大部分均为 Southern 阳性。图 3 是斑点杂交的结果,图 4 是 Southern Blot 杂交的结果。

表 1 各年获得的转基因实验鱼

Table 1 The transgenic experimental fishes each year

实验鱼 Fish	基因 Gene	启动子 Promoter	转基因实验鱼的数量 Quantity of fishes	年 Year
鲤鱼 common carp	bGH	mMT	1135	1989
鲤鱼 common carp	bGH	mMT	1549	1990
鲤鱼 common carp	cGH	oMT	732	1991
鲤鱼 common carp	oGH cDNA	cMT	889	1991

bGH 牛生长激素基因;bGH,bovine growth hormone gene;

oGH 羊生长激素基因;oGH,ovine growth hormone gene.

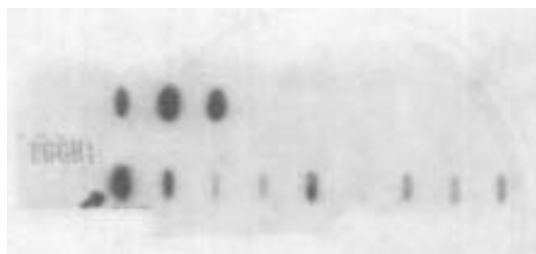


图 3 转羊生长激素基因鱼 DNA 样品斑点杂交的结果(上图是实验点,下图是对照点)

Fig. 3 The result of blot hybridization DNA samples from fish transfected ovine growth hormone gene

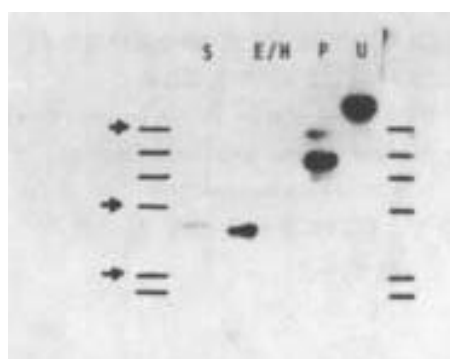


图 4 转羊生长激素基因鱼 DNA 样品 Southern Blot 杂交的结果

Fig. 4 The result of Southern Blot hybridization DNA samples from fishes transfected ovine growth hormone gene

S 代表对照样,U 未酶切,P 是 PstI 酶切,E/H 是 EcoRI/Hind3 双酶切样品;

S Control sample,U No enzyme digested sample,P pstI enzyme digested sample,E/H Two enzyme EcoRI and Hind3 digested sample

(二)外源基因在子代中的遗传

1992 年从筛选出的已整合了外源基因的转基因鲤鱼(已性成熟)中取 1 尾雌鱼和 1 尾雄鱼、2 尾雄鱼和 2 尾正常雌鱼配组繁殖,经斑点杂交和 Southern Blot 杂交检测其后代含外源基因的比例,前组含外源基因鱼的比例是 94%;后一组含外源基因鱼的比例是 60%。这证实了外源基因可以遗传给子代。

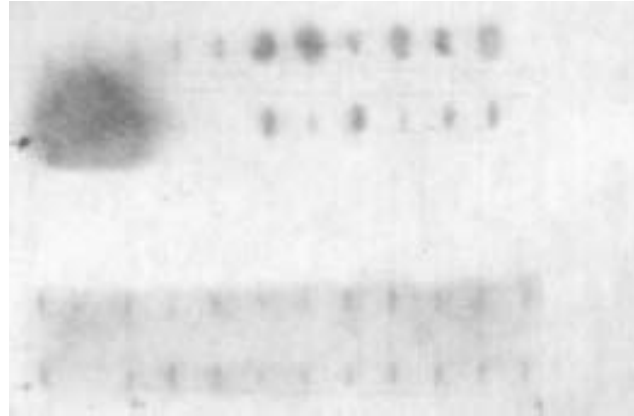


图 5 子代鱼 DNA 样品斑点杂交的结果(上图亲本为双阳性,下图为单阳性)

Fig. 5 The result of blot hybridization DNA sample from progenies (up figure, the progenies are from parents all transgenic fishes, low figure, the progenies from only male is transgenic fish)

(三)外源基因对受体鱼的促生长效应

1991—1992 年,对用羊生长激素基因构建的转基因鱼做了邻池和同池同品种同批鱼生长对照实验,池塘都是 600 平方米,饲料等条件相同,结果见表 2,表 3。图 6 是生长对照统计方框图,结果显示,外源基因对受体鱼有明显的促生长效应。

表 2 转鲤鱼 MT 启动子—羊生长激素基因鲤鱼与对照组鱼体重比较(1991)

Table 2 The body weight comparison between transgenic common carp and control common carp(1991)

实验鱼 Experimental fish	对照组 Control fish
n=52	n=50
w(mean)=98.43(g)	w(mean)=103.93(g)
s=36.018	s=16.937
c. v=0.375	c. v=0.163
w(max)=206(g)	w(max)=140(g)
w(min)=22(g)	w(min)=60(g)

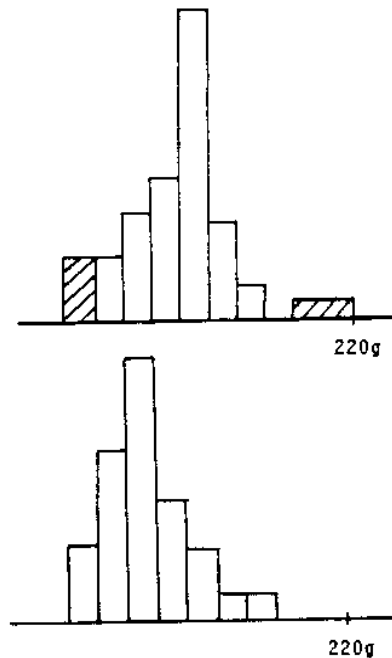


图 6 转羊生长激素基因鱼生长对照统计方框图(上图是实验鱼,下图是对照鱼)

Fig. 6 The statistic chart about the growth of transgenic fish ovine growth hormone gene (up chart transgenic fish, down control)

表 3 转鲤鱼 MT 启动子—羊生长激素基因鲤鱼与对照组鱼体重比较(1992)

Table 3 The body weight comparison between transgenic common carp and control common carp(1992)

实验鱼 Experimental fish	对照组 Control fish
n=100	n=100
w(mean)=770(g)	w(mean)=800(g)
c. v=0.225	c. v=0.169
w(max)=1250(g)	w(max)=1100(g)
w(min)=420(g)	w(min)=550(g)

(四)筛选出一批含外源基因、生长速度快的性成熟鲤鱼

从 1989 年构建的转基因鱼群体中,筛选出 103 尾整合外源基因的鲤鱼已性成熟。这批鱼比群体平均体重高 10%,用这批鱼已经连续两年做了繁殖后代的实验,并证实外源基因确已遗传给子代,子代仍具有生长优势。1993 年,对 1992 年生产的转基因鱼子代做了池塘生长对照实验,实验结果(见表 4)表明,子代仍具有快速生长的特征,1992 年对这些实验鱼进行生长对照实验,以荷包红鲤为对照组(体重增长率为 100%),德国镜鲤为比较组(体重相对增长率在-3.1—135%)。转基因鱼子代的体重相对增长率(相对于荷包红鲤,表 4 是实验结果)是 131.7%,接近德国镜鲤的最高值,德国镜鲤是鲤鱼中生长速度最快的。这说明转基因鱼子代仍有生长速度快的特征,尤其是部分个体生长十分快,瞬时体重增长率为 7.38,是对照鱼荷包红鲤瞬时体重增长率的平均值 1.78 的 4 倍,而且体重比本实验站所有池塘的

2 龄镜鲤体重都高,表现出了生长速度快的优势。

表 4 子代鱼生长对照实验结果(对照鱼是同塘饲养的荷包红鲤)

Table 4 The result of the growth experiment of progeny and control fishes
(control fishes are cyprinus carpio red)

实验鱼体重(g) The body weight of experimental fish (summer)	192	192	420	524	204	286	196	410	402	230
对照鱼体重(g) The body weight of control fish(summer)	240	242	244	202						
实验鱼体重(g) The body weight of experimental fish (autumn)	1300	1100	1000	1000	835	825	825	825	850	
对照鱼体重(g) The body weight of control fish(autumn)	650	625	750	700	600	750	600	725	675	750

(五)建立了整套显微注射技术

表 5 受精卵发育的不同时期注射外源基因卵的孵化率

Table 5 The hatching rate of fertilized eggs transferred foreign genes at different development stage

注射时期 Stage	注射卵数(粒) No. of eggs	死亡数(粒) No. of eggs died	成活数(尾) No. of hatch	孵化率(%) Hatch rate
单细胞早期 1 Cell early	488	202	286	79.34
单细胞中期 1 Cell middle	313	103	210	90.83
单细胞晚期 1 Cell late	624	250	274	59.44
两细胞 2 Cell	748	521	227	40.00
四细胞 4 Cell	641	245	496	83.63
囊胚期 Blastula	290	149	141	65.83
对照组 Control	555	145	410	73.87

实验组的孵化率是相对于对照组的孵化率为 100% 计算出的相对孵化率。

The hatching rates were calculated by comparing the control hatching rate as 100 per cent.

中国科学院水生生物研究所 1989 年发表了转基因模型^[4]。在此模型中,受精卵经过胰蛋白酶处理后,再注射外源基因,这个方法是直接从鱼类核移植技术引过来的,虽然可行,但由于去掉卵膜后的卵不适于显微操作,孵化率低。为满足大规模注射受精卵以获得较大数量转基因鱼的要求,我们建立了简单易行的显微注射技术即在受精卵第一次卵裂前用 5—10 μ m 的玻璃针直接刺入受精卵,把外源基因注入细胞核附近^[2]。此方法操作简单,处理后的

卵孵化率高,外源基因在受体鱼基因组中的整合率也未降低。

表 6 受精卵发育的不同时期注射外源基因获得的转基因鲤鱼外源基因的整合率

Table 6 The foreign gene integration ratio of the transgenic fishes produced at the different development stage of eggs

注射时期 Stage	取样数量(尾) No. of samples	阳性信号数量(尾) No. of positive	整合率(%) Ratio of P.
单细胞早期 1 Cell early	30	6	20.00
单细胞中期 1 Cell middle	20	3	15.00
单细胞晚期 1 Cell late	30	12	40.00
两细胞期 2 Cell	30	17	56.67
四细胞期 4 Cell	30	13	43.33
囊胚期 Blastula	10	4	40.00

(六)在鲤鱼受精卵发育中外源基因最佳注射时期的确立

在不同发育阶段受精卵的可操作性不同,注射外源基因后的孵化率也不同,外源基因在受体鱼基因组中的整合率亦不同。对鲤鱼不同发育阶段的受精卵注射外源基因,计算孵化率,经斑点杂交计算外源基因的整合率,确定在鲤鱼受精卵发育的单细胞后期注射外源基因较好。结果见表 5、表 6。

如上所述,我们把牛和羊生长激素基因导入鲤鱼的受精卵中,并获得了大量的转基因实验鱼,用分子生物学方法检测到了外源基因在受体鱼基因组中的整合情况,通过两年的池塘生长对照实验,证实外源生长激素基因对受体鱼确有促生长的效应。作为新的养殖鱼类,必须经过池塘生长对照实验来验证,现已筛选出生长速度快、外源基因可遗传的,性成熟的转基因鲤鱼 143 尾,且子代含外源基因的比例高达 90% 以上,同时也具有生长速度快的优势。1985—1990 年间,国内外各实验研究转基因鱼状况如表 7,其转基因材料多为人生长激素基因,而不适于作为食用动物。我们构建的转牛和羊生长激素基因鲤鱼在食用方面是没有问题的,因为牛和羊本身就是人们喜爱的食物。

讨 论

1. 转基因鱼研究已开展了八年,目前国内外还无一个转基因鱼品系应用于实际生产。原因是多方面的,主要是:(1)转基因鱼研究起步较早的几个单位,或者使用的转基因材料是人生长激素基因,按习惯,这样的转基因鱼不能食用,或者因其研究目的是基础研究,构建的转基因鱼为模型鱼,仅供基础研究用;(2)构建的转基因鱼,是否能把外源基因稳定的遗传给后代还难以确定,虽然已经证明外源基因可以传递给子代,但每个外源基因是否稳定遗传受到外源基因多拷贝的干扰,以及由于转基因鱼目前繁殖世代还较少,尚无足够的证据证实其是否可以稳定遗传等。我们所构建的转牛羊生长激素基因鲤鱼,在食用上是没有问题的。虽然外源基因的稳定遗传有待进一步研究,但已证实子代含外源基因的比例很高,在 90% 以上,且有快速生长效应。

2. 本研究建立了一整套构建基因工程鱼的技术,这些技术不但可以直接应用于本所 863 计划“快速生长鲤鱼基因工程育种”课题构建转全鱼基因鲤鱼,也可用于其它鱼类或其它目的基因的转基因研究。其次,我们已构建出测定大麻哈鱼生长激素基因表达产物的抗体,并已用于转全鱼基因鱼外源基因表达产物的测定^[1]。这一成果可进一步应用于外源基因转录、表达能力的深入研究。

表 7 1985—1990 年各实验室转基因鱼研究概况

Table 7 Summary of transgenic fish studies conducted by various laboratories, 1985—1990

实验室	鱼类	基因	启动子	年	
Laboratory	Fish	Gene	Promoter	Year	
Chen	鲤鱼	Common carp	hGH cDNA	RSV	1989
Chen	中国鲤	Chinese carp	hGH	mMT	1989
Powers	鲶	Catfish	hGH-cDNA	RSV	1987
Dunham	鲶	Catfish	hGH	mMT	1985
Zhu	金鱼	Goldfish	hGH	mMT	1985
Zhu	泥鳅	Loach	hGH	mMT	1986
Zhu	鲤鱼	Common carl	hGH	mMT	1989
Yoon	金鱼	Goldfish	E. coli neo	SV40	1988
Ozato	将鱼	Medaka	cCR	SV40	1986
Inode	将鱼	Medaka	hGH-cDNA	mMT	1989
Tamiya	将鱼	Medaka	flus	fluc	1989
McEvoy	大西洋鲑	Salmon	E. coli β -gal	mMT	1988
Rokkones	大西洋鲑	Salmon	hGH	mMT	1989
Fletcher	大西洋鲑	Salmon	fAFP	fAFP	1988
Brem	罗非鱼	Tilapia	fGH	mMT	1988
Chourrout	虹鳟	Trout	hGH cDNA	mMT	1986
Maclean	虹鳟	Trout	rGH	mMT	1987
Stuart	斑马鱼	Zabrafish	E. coli hygro	mMT	1988
Xia	团头鲂	Megalobrama	hGH	mMT	1990
	Amblycephalus				

3. 虽然我们已经获得了快速生长转牛和羊生长激素基因鲤鱼,但它是否与外源基因的高效表达直接相关还不能肯定,因为控制鱼类的生长是一个复杂的生物学过程。正如转基因动物的先驱 R. D. Palmiter 等^[6]人在报道“超级小鼠”一文中指出的那样,外源生长激素表达水平高的个体,生长速度往往并不一定快。从目前直接注射牛生长激素促进鱼类生长和多数转生长激素基因鱼等研究结果分析,转生长激素基因鱼,如果外源基因表达了是会促进受体鱼加速生长的。由于我们目前还没有测定牛生长激素的抗体(因为制备抗体造价很高,本课题最终要求做转全鱼基因鲤鱼,我们仅做了虹鳟鱼生长激素的抗体),因此对这个问题还不能给出确切的回答。至于鱼类细胞能否把哺乳类动物基因的表达产物分泌到细胞外,则有待于进一步探讨。

4. 1990 年末,在东京转基因鱼研讨会上与会专家一致认为,转基因鱼目前研究的难点是以下问题:(1)转基因材料缺乏,尤其来自鱼类的基因;(2)缺乏表达能力适当的启动子;(3)缺乏转基因鱼池塘生长详细的对照实验。由于我们已有全鱼基因,并用此基因构建了转基因鱼,连续两年做了严格的池塘生长对照实验,但要构建生长速度快的转基因鱼新品系仍有许多工作要做。如要解决外源基因稳定遗传的问题,要进一步提高外源基因在受体鱼基因组中的整合率和其在受体鱼体内的表达水平,也要探索把外源基因定向插入受体鱼基因组的表

达区,以提高转基因鱼群体中可表达外源基因鱼的比例。这些工作都在进行之中。

5. 利用雌(雄)核发育技术,建立转基因鱼新品系。由于外源基因在受体鱼基因组中的整合是随机的,筛选出外源基因在配对染色体上都整合的转基因鱼是非常困难的。因此,转基因鱼在传代过程中,外源基因要发生分离或丢失,通过正常选育建立品种就很困难。应用雌核发育技术,把已整合外源基因的染色体加倍,这样就把外源基因在配对染色体上固定下来,而达到建立外源基因遗传稳定的转基因鱼新品系的目的。这一技术是否能达到此目的,尚在试验中。

尽管我们对转基因鱼研究提出了一些值得商讨的问题,但这并不影响转基因鱼的广阔应用前景,基因工程育种作为新的鱼类育种手段必将为水产养殖的进一步发展做出贡献。尤其我国的转基因鱼研究已迈出了可喜的一步,我们已获得了生长快10%以上的转基因鱼亲本和子代,而且已有一定数量。同时也获得了大批生长速度快的转全鱼基因工程鲤鱼,这种鱼,由于导入的基因本来就是鱼类的基因,因此其推广和应用将不受影响,并很快用于实际生产。

参 考 文 献

- [1] 孙孝文、梁利群、同学春等,1993. 全鱼基因工程鱼的构建. 高技术通讯, 3(9):23-26.
- [2] 孙孝文、同学春、梁利群等,1993. 用直接注射法生产转基因鱼. 生物技术, 3(3):15-17.
- [3] 徐洵、刘震乾,1990. DNA 重组技术, 83-89. 科学出版社(北京).
- [4] 朱作言、许克圣、李国华等,1989. 转基因鱼模型. 中国科学(B 集), 2:147-155.
- [5] Chen. T. T. and Powers. D. A. 1990. Transgenic fish. Trends in Biotech. 8:209-215.
- [6] Chourrout, D. R. Guyomard and L. M. Houdebine. 1986. High efficiency gene transfer in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich) by microinjection into egg cytoplasm. Aquaculture 51:143-150.
- [7] Flecher, G. L. M. A. Shears, J. J. King, P. L. Davies and C. L. Hew. 1988. Evidence of antifreeze protein gene transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45:352-357.
- [8] Palmiter, R. D., R. D. Brister, R. E. Hammer et al. 1982. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein growth hormone fusion genes. Nature 300:611-615.
- [9] Sambrook, J. E. F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning. 11. 3-11. 55. Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- [10] Zhu. Z. Li. G. He. L. and Chen. S. 1985. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus*). Z. Angew. Ichthyol. 1:32-34.
- [11] Zhu. Z. 1992. Growth hormone gene and the transgenic fish. Agricultural biotechnology. 106-116. China Science and technology press. Beijing.

THE RESEARCH OF ENGINEERING COMMON CARP OF TRANSFERRING BOVINE AND OVINE GROWTH HORMONE GENE

Sun Xiaowen ShenJunbao Yan Xuechun Liang Liqun WangPeng

(Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070)

ABSTRACT About 10,000 common carps injected bovine and ovine growth hormone genes have been produced, of which 143 growing faster have been selected. It was proved that foreign genes can be transmitted to F_1 offsprings and they have the feature of faster growth. The techniques about direct injection of foreign gene into the fertilized eggs and the optimum period for gene injection have been established.

KEYWORDS Bovine growth hormone, Gene, Common carp

欢迎订阅《中国水产科学》

《中国水产科学》是由中国水产科学研究院主办的水产科学技术领域的学术性刊物,国内外公开发行。主要刊登水产系统和有关单位科技工作者在水产资源、海淡水捕捞、水产养殖与增殖、水产品保鲜与加工、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与食品以及渔业基础研究的论文报告、研究简报、综述和学术动态等文稿。《中国水产科学》主要服务对象为水产科学研究、教学、科技管理人员以及大专院校师生。它面向水产业,为水产经济建设服务。

《中国水产科学》为季刊,16开本84页,每期定价8.00元(包括邮费),全年四期,共收费32.00元。欢迎广泛订阅。

欲订购者,可随时与《中国水产科学》编辑部联系办理手续。订费请通过银行信汇,开户银行:北京市海淀区永定路分理处(工商银行)账号:144428-29;或者通过邮局将订费汇寄100039北京市永定路南青塔村150号《中国水产科学》编辑部。