

• 研究简报 •

近江牡蛎雄核发育单倍体的人工诱导

潘英, 谢卫著, 夏朝林

(广西大学 动物科学技术学院, 广西 南宁 530004)

摘要: 利用紫外线诱导近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 单倍体, 来用强度为 $1\ 820\ \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的紫外线 (254 nm) 分别照射卵子 0 s、10 s、20 s、30 s、40 s、50 s、60 s、70 s、80 s 和 90 s 后, 使之与正常精子进行授精实验。结果发现, 照射 50 s 的卵子能够保持较高的受精率 (63.5%), 该处理组的 D 形幼虫发生率为 0, 染色体检查结果显示此时单倍体率最高 (50.4%), 并出现“Hertwig”效应。由于有效地诱导雄核发育需要卵子遗传物质失活和保证较高的受精率, 因此在强度为 $1\ 820\ \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的紫外线下照射 50 s 是获得近江牡蛎雄核发育单倍体的最佳条件。研究还表明, 受精率和 D 形幼虫发生率随照射时间的增加而下降, 遗传失活的卵子与正常精子受精后其胚胎发育至 D 形幼虫前期停止。[中国水产科学, 2008, 15 (1): 172-177]

关键词: 近江牡蛎; 紫外线照射; 雄核发育; 遗传失活

中图分类号: Q959.215

文献标识号: A

文章编号: 1005-8737-(2008)01-0172-06

雄核发育是指卵子的遗传物质失活而只依靠精子 DNA 进行发育的特殊的有性生殖方式。人工诱导雄核发育, 是利用遗传失活的卵子与正常精子受精, 并通过染色体加倍技术使其恢复二倍性的遗传操作。与传统育种技术相比, 由于雄核发育后代的遗传物质完全来源于父体, 因而可大大加速品系纯化的过程, 对遗传育种学研究有重要意义。在鱼类雄核发育的诱导中 X 射线、 γ 射线和紫外线是常用的遗传失活手段^[1-6]。目前关于鱼类雄核发育的研究已见于鲤 (*Gyrnus carpio*)^[7]、泥鳅 (*Misgurnus anguilicaudatus*)^[8-11]、虹鳉 (*Oncorhynchus mykiss*)^[12]、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[13-14] 和斑马鱼 (*Danio rerio*)^[15] 等种类。

在贝类中, 目前有关于紫外线诱导栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)、太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 雄核发育诱导及雄核发育早期的荧光显微镜观察方面的报道^[16-18]。此外, 人工诱导贝类雄核发育的研究在国内外报道很少。

近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 是我国南方贝类养殖的重要经济种类之一, 具有很高的经济价

值。对该种牡蛎的生长习性、苗种生产、增养殖以及多倍体诱导^[19-22]等的研究国内已有较多报道, 有关染色体组加倍的有效诱导程序也已经建立。但人工诱导近江牡蛎雄核发育的研究在国内外还未见报道。本研究利用紫外线人工诱导近江牡蛎雄核发育并探索其最佳条件, 成功诱导出雄核发育单倍体, 以期为今后开展近江牡蛎雄核发育二倍体品系的培育和优良品种的开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验于 2005 年 5~7 月在广西北海市海水种苗场进行。所用亲贝取自广西钦州茅尾养殖海区的 2~3 龄成熟贝, 壳长 (11.2 ± 0.6) cm, 壳高 (4.3 ± 0.5) cm。将亲贝洗刷干净放入水池内进行暂养。蓄养期间, 水温保持稳定在 28~29℃, 每天换水投饵, 待用。

1.2 精卵的采集

采用解剖卵巢与精巢的方法获得成熟精、卵。精卵获得后分别镜检其质量, 所得精卵经 25 μm 网目的筛绢过滤、分别收集。精卵分别用密度 1.007、pH 为 8.0 的海水稀释至浓度为 $1.0 \times 10^7/\text{mL}$ 和 2.0

收稿日期: 2007-01-17; 修订日期: 2007-06-05.

基金项目: 广西省科学基金资助项目 (桂科青 0640007); 广西大学博士科研启动基金项目.

作者简介: 潘英 (1968-), 女, 博士, 副教授, 主要从事贝类遗传育种学研究. E-mail: nnpying@sohu.com

$\times 10^4/\text{mL}$ 。使用过滤海水,培养温度为 $28\sim 29\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 紫外线处理卵子和受精

卵悬液 (4 mL) 置于直径 9.0 cm 的亲水性组织培养皿 (Nunc dish; 丹麦 Nalge Nunc 公司) 中,轻微振荡使卵子均匀地分散于培养皿底部,在紫外杀菌灯 (15W, Toshiba GL15, 254 nm; Toshiba Inc. Tokyo, Japan) 下 20 cm 处,用紫外辐射照度计 (ZDZ-1 型; 上海市嘉定学联仪表厂) 测得此条件下的紫外光强度为 $1\,820\text{ }\mu\text{W}/(\text{cm}^2\cdot\text{s})$ 。卵子在紫外光下分别照射处理 0 s、10 s、20 s、30 s、40 s、50 s、60 s、70 s、80 s 和 90 s。照射结束后,每个培养皿中加入 4.0 mL 精悬液,充分混合后转移至 500 mL 烧杯培养 (水温保持 $28\sim 29\text{ }^{\circ}\text{C}$)。

在授精 1 h 后计数各组的受精率,10 h 观察早期胚胎存活率,授精后 24 h 统计各组的 D 形幼虫发生率。采用不同的亲贝,实验重复 3 次。

1.4 倍性检查

胚胎的倍性通过授精后 12 h 收集各组担轮幼虫的染色体标本而获得,浓缩后加入含 0.1% 秋水仙素的海水中处理 2 h,然后加入 0.075 mol/L 的 KCl 溶液低渗 30 min,去掉低渗液,用 Carnoy 氏液 (甲醇与冰醋酸体积比 3 : 1) 固定,反复固定 3 次。滴片前去掉固定液,加入 50% 冰醋酸,用吸管轻轻

吹打解离成单细胞。样品滴到已加热的载玻片上,空气干燥后经磷酸缓冲液 (pH 6.8) 稀释的 10% Giemsa 染色。观察和计数分散较好的中期分裂相以获得染色体数目。

2 结果与分析

2.1 紫外线照射时间对受精率、早期胚胎存活率和 D 形幼虫发生率的影响

表 1 显示了紫外线照射时间与受精率、早期胚胎存活率和 D 形幼虫发生率的关系。受精率总的趋势是随着照射时间的增加而逐渐下降,对照组为 94.0%,50 s 组为 63.5%,至 90 s 组受精率仅为 11.9%。照射 0~30 s 组,早期胚胎存活率随着照射剂量的加大而逐渐下降,至 30 s 时为 52.7%。然而照射 40 s 组的早期胚胎存活率开始随着照射剂量的增加而回升,为 65.9%;至 50 s 达到最高,为 76.8%;60 s 之后又急剧下降。

0 s (对照组) 的 D 形幼虫发生率为 97.6%,随着照射时间的增加,D 形幼虫发生率明显降低,从 50 s 组开始,D 形幼虫发生率降为 0。同时也观察到,经紫外线照射的卵子授精后所产生的单倍体胚胎比正常受精所产生的二倍体胚胎发育速度变慢。

表 1 不同紫外线照射时间下近江牡蛎受精率、早期胚胎存活率和 D 形幼虫发生率

Tab.1 Fertilization rate, survival rate at early embryo stage and development rate of D-larvae in *Crassostrea rivularis* at ultraviolet irradiation duration

n= 3; $\bar{X} \pm \text{SD}$

卵子照射时间 /s Ultraviolet irradiation duration of eggs	受精率 /% Rate of fertilization	早期胚胎存活率 /% Survival rate at the early embryo stage	D 形幼虫发生率 /% Developmental rate of D-larvae
0	94.0 $\pm$ 1.2	79.0 $\pm$ 0.6	97.6 $\pm$ 1.6
10	88.0 $\pm$ 2.3	66.2 $\pm$ 2.1	85.0 $\pm$ 2.0
20	76.5 $\pm$ 3.5	61.6 $\pm$ 2.0	63.5 $\pm$ 4.6
30	66.7 $\pm$ 3.6	52.7 $\pm$ 3.4	50.6 $\pm$ 6.2
40	64.6 $\pm$ 4.7	65.9 $\pm$ 5.2	3.8 $\pm$ 3.0
50	63.5 $\pm$ 5.2	76.8 $\pm$ 3.0	0
60	41.9 $\pm$ 6.3	54.8 $\pm$ 4.2	0
70	30.5 $\pm$ 2.8	31.6 $\pm$ 2.2	0
80	22.0 $\pm$ 3.2	8.7 $\pm$ 3.4	0
90	11.9 $\pm$ 2.3	0	0

2.2 染色体观察结果

近江牡蛎的二倍体细胞染色体数目为 $20^{[21]}$ 。图 1(A, B, C) 中分别显示了近江牡蛎正常二倍体

(对照组)、非整倍体 (30 s 组)、雄核发育单倍体 (50 s 组) 的染色体有丝分裂中期相。



图1 近江牡蛎担轮幼虫细胞染色体有丝分裂中期相

A: 对照组 (0 s) 中的二倍体细胞, 染色体数目为 20; B: 30 s 照射组中的非整倍体细胞, 染色体数目为 14; C: 50 s 照射组中的单倍体细胞, 染色体数目为 10. $\times 330$.

Fig.1 Mitotic metaphase plates from the larval cells (trochophora) of *Crassostrea rivularis*

A: A diploid cell with 20 chromosomes from the control group; B: An aneuploid cell showing 14 chromosomes from the 30 s irradiation group; C: A haploid cell with 10 chromosomes from the 50 s irradiation group. $\times 330$

2.3 染色体频率分布

图2表示0 s (对照组)、10 s、20 s、30 s、40 s、50 s、60 s、70 s、80 s 和 90 s 各处理组幼虫细胞的染色体数

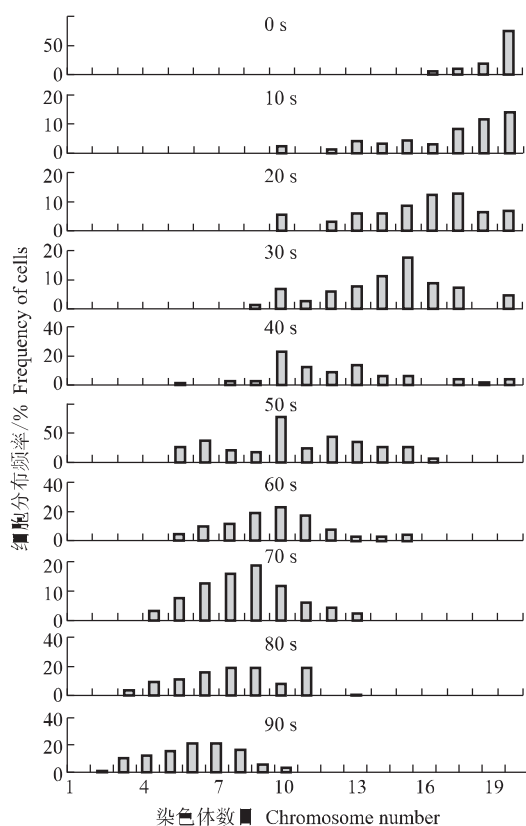


图2 不同剂量紫外线照射组染色体数目的频率分布图

Fig. 2 Frequency distribution of chromosome numbers in larval cells by various durations of ultraviolet irradiation

目的频率分布。对照组中几乎全部为二倍体, 染色体数目为 20。在 10 s、20 s 和 30 s 照射组中, $2N=20$ 的幼虫仍占一定比率, 但随照射时间增加, $2N$ 比例减少, 染色体数目介于单倍体和二倍体之间的非整倍体细胞都逐渐增加。在 40 s 组中, 染色体数目为 $N=10$ 的单倍体细胞比率明显上升, 此时仍有一小部分细胞的染色体为二倍体的 20 条。50 s 照射组大部分细胞的染色体数目均为 10, 单倍体比例为 50.4%, 此时已没有二倍体细胞。80 s 和 90 s 照射组中, 仍能看到 $N=10$ 的细胞, 但其所占比例明显减少, 已不具有代表性, 染色体数目比较分散。

3 讨论

在人工诱导雄核发育的研究中, 卵核染色体遗传失活是诱导雄核发育单倍体的先决条件。选择一个合适的紫外线照射剂量使卵子染色体完全遗传失活而不影响其受精能力, 是得到雄核单倍体胚胎的关键。研究表明, 利用紫外线 (254 nm) 使近江牡蛎卵子 DNA 遗传失活从而诱导雄核发育是有效的。本实验从染色体数目分析的结果可以看出, 虽然近江牡蛎卵子经过强度为 $1\ 820\ \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的紫外线照射 10~40 s 均能诱导出雄核发育单倍体, 但二倍体仍然存在。照射卵子的时间达到 50 s, 二倍体完全消失, 且 50 s 之后受精率明显下降。由于有效地诱导雄核发育需要卵子遗传物质失活和保证较高的受精率, 因此, 强度为 $1\ 820\ \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的紫外线照射 50 s 可以认为是诱导近江牡蛎卵子遗传失活而获得雄核发育单倍体的适宜剂量。在

已报道的人工诱导贝类雄核发育的研究中,不同紫外线照射强度与照射时间的适宜组合均能有效地诱导雄核发育。有关栉孔扇贝和太平洋牡蛎雄核发育的研究表明^[16-17],经强度为 $2.8 \text{ mW}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的紫外线 (254 nm) 分别照射 20 s 和 30 s 是获得栉孔扇贝和太平洋牡蛎雄核发育单倍体的适宜条件;诱导虾夷扇贝雄核发育的最佳剂量是在 $1698 \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 的照射强度下照射 50 s^[18]。由此可知,紫外线遗传失活卵子的条件因种类不同而异,且与卵液的密度、体积以及紫外线照射强度有关。

研究发现,随着近江牡蛎卵子紫外线照射时间的增加,受精率明显下降,这一现象也同样见报道于栉孔扇贝^[16]、太平洋牡蛎^[17]和虾夷扇贝^[18],表明卵子激活精子的能力随着紫外线照射剂量的增加而降低。这可能与卵细胞质中一些与受精力、胚胎发育相关的功能结构受到了不同程度的破坏所致,从而减弱了卵子的受精能力,造成受精率逐渐下降这一现象。

紫外线照射对卵子染色体的破坏会在胚胎发育过程中引发一系列问题。随着照射强度的增加,D形幼虫发生率从 50 s 开始降为 0。研究结果显示,在 0~90 s 照射范围内,卵子经一定剂量的紫外线照射后仍能正常受精,随着照射剂量的加大,早期胚胎存活率逐渐下降,但当照射达到 50 s 时,早期胚胎存活率反而升高。从早期胚胎存活率的变化可以看到“Hertwig 效应”的存在。“Hertwig 效应”是由于高辐射剂量能完全破坏精(卵)的遗传物质,导致产生的单倍体胚胎比低剂量诱发出来的具有显性致死突变基因的非整倍体胚胎存活时间长^[23]。“Hertwig 效应”在鱼类雌核发育单倍体诱导中已有大量的报道^[24-28]。在贝类,Guo 等^[29]、Arai 等^[30]、许国强等^[31]、Pan 等^[32]分别在诱导太平洋牡蛎、皱纹盘鲍、马氏珠母贝、栉孔扇贝雌核发育的早期胚胎存活率中也观察到“Hertwig 效应”的存在。

实验中各照射组中均出现了非整倍体。Arai 等^[8]关于紫外线照射诱导泥鳅雄核发育以及利用紫外线诱导栉孔扇贝、太平洋牡蛎和虾夷扇贝雄核发育^[16-18]中均有关于非整倍体的报道,这可能是由于低剂量紫外线造成卵核染色体部分失活的结果或在染色体制片过程中因人为因素造成部分染色体丢失而引起的。因此在紫外线照射过程中提高处理的均一性是必要的。

紫外线是目前广泛使用的失活卵子或精子遗传物质的手段。尽管紫外线照射过程中可能破坏卵细胞质中的重要成分,降低了雄核发育单倍体的诱导效率,但是通过进一步研究紫外线照射对卵子超微结构变化的影响,雄核发育卵中核行为的动态变化,优化紫外线照射卵子与受精率、早期胚胎存活率、D形幼虫发生率和紫外线照射条件之间的关系,将有助于改善近江牡蛎雄核发育单倍体的诱导效率。

参考文献:

- [1] Parsons J E, Thorgaard G E. Induced androgenesis in rainbow trout [J]. J Exp Zool, 1984, 231: 407-412.
- [2] Scheerer P D, Thorgaard G H, Allendorf F W. Genetic analysis of androgenetic rainbow trout [J]. J Exp Zool, 1991, 260: 382-390.
- [3] 叶玉珍,吴清江,陈荣德.⁶⁰Co- γ 射线诱导鱼类雄核发育的研究[J].水生生物学报,1990,1: 91-92.
- [4] Brown K H, Thorgaard G H. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 2002, 204 (3-4): 323-335.
- [5] Grunina A S, Gomelsky B I, Neyfakh A A. Production of androgenetic diploid hybrids between common carp and crucian carp [J]. Genetika, 1991, 27 (9): 1612-1616.
- [6] Corley-Smith G E, Lim C J, Brandhorst B P. Production of androgenetic zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Genetics, 1996, 142: 1265-1276.
- [7] Bongers A B J, in't Veld E P C, Abo-Hashema K, et al. Androgenesis in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using UV irradiation in a synthetic ovarian fluid and heat shocks [J]. Aquaculture, 1994, 122: 119-132.
- [8] Arai K, Masaoka T, Suzuki R. Optimum conditions of UV ray irradiation for genetic inactivation of loach eggs [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1991, 58 (7): 1197-1201.
- [9] Masaoka T, Arai K, Suzuki R. Production of androgenetic diploid loach *Misgurnus anguillicaudatus* from UV irradiation eggs of the first cleavage [J]. Fish Sci, 1995, 61 (4): 716-717.
- [10] 赵振山,吴清江.大鳞副泥鳅雄核发育单倍体胚胎发育的研究[J].动物学研究,1999,20(3): 230-234.
- [11] Nam Y K, Cho Y S, Cho H J, et al. Accelerated growth performance and stable germ-line transmission in androgenetically

- derived homozygous transgenic mud loach, *Misgurnus mizolepis* [J]. *Aquaculture*, 2002, 209 (1-4): 257-270.
- [12] Kim H, Brown A, Gary H, et al. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 2002, 204: 323-335.
- [13] Myers J M, Penman D J, Basayaraju Y, et al. Induction of diploid androgenetic and mitotic gynogenetic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 2: 205-210.
- [14] Marengoni N G, Onoue Y. Ultraviolet-induced androgenesis in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and hybrid Nile blue tilapia, *O. aureus* (Steindachner) [J]. *Aquacult Res*, 1998, 29(5): 359-366.
- [15] Corley-Smith G E, Lim C J, Brandhorst B P. Production of androgenetic zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Genetics*, 1996, 142: 1 265-1 276.
- [16] 袁媛, 李琪, 于瑞海, 等. 紫外线诱导栉孔扇贝雄核发育的研究 [J]. *水产学报*, 2004, 28(2): 133-138.
- [17] 袁媛, 李琪, 于瑞海, 等. 紫外线诱导太平洋牡蛎雄核发育的研究 [J]. *中国海洋大学学报*, 2005, 35(1): 29-32.
- [18] 杨青, 李琪, 于瑞海, 等. 虾夷扇贝雄核发育单倍体的人工诱导研究 [J]. *水生生物学报*, 2006, 30(3): 360-362.
- [19] 蔡英亚, 刘志刚, 何水养. 近江牡蛎的人工育苗 [J]. *海洋科学*, 1989(1): 53-56.
- [20] 胡家财, 钟幼平, 林育庆. 近江牡蛎采苗技术及采苗预报 [J]. *厦门水产学院学报*, 1994, 16(2): 28-33.
- [21] 容寿柏, 李寿武, 刘绍琼, 等. 用冷休克诱导三倍体近江牡蛎 [J]. *湛江水产学院学报*, 1990, 10(2): 32-35.
- [22] 陈晓汉, 叶力, 吴斌, 等. 静水压休克诱导近江牡蛎三倍体的发生 [J]. *广西科学*, 1994, 1(1): 47-52.
- [23] Ma A P H. Gynogenesis induction in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) using ultraviolet light and cytochalasin B [C]. University of Washington, Seattle, USA, 1987.
- [24] Nagy A, Rajki K, Horvath L, et al. Investigation on carp, *Cyprinus carpio* L. gynogenesis [J]. *J Fish Biol*, 1978, 13: 214-224.
- [25] Chourrout D, Chevassus B, Herioux F. Analysis of the 'Hertwig effect' in the rainbow trout *Salmo gairdneri* (Richardson) after fertilization with irradiated sperm [J]. *Reprod Nutr Develop*, 1980, 20: 719-726.
- [26] Ijiri K I. Gamma-ray irradiation of the sperm of the fish *Oryzias latipes* and induced gynogenesis [J]. *J Radiat Res*, 1980, 21: 263-270.
- [27] Ijiri K I, Egami N. 'Hertwig effect' caused by UV irradiation of sperm *Oryzias latipes* (teleost) and its photoreactivation [J]. *Mutation Res*, 1980, 69: 241-248.
- [28] Onozato H. The 'Hertwig effect' and gynogenesis in chum salmon *Oncorhynchus keta* eggs fertilized with ⁶⁰Co γ-ray irradiated milt [J]. *Bul Jap Soc Sci Fish*, 1982, 48: 1 237-1 244.
- [29] Guo X, Gaffney P M. Artificial gynogenesis in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*: II. Allozyme inheritance and early Growth [J]. *J Heredity*, 1993, 84: 311-315.
- [30] Arai K, Naito F, Sasaki H, et al. Gynogenesis with ultraviolet ray irradiated sperm in the Pacific abalone [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1984, 50: 2 019-2 023.
- [31] 许国强, 林岳光, 李刚, 等. 人工诱导合浦珠母贝雌核二倍体发生及 "Hertwig" 效应的初步研究 [J]. *热带海洋*, 1990, 9(2): 1-7.
- [32] Pan Y, Li Q, Yu R H, et al. Induction of gynogenesis and effects of ultraviolet irradiation on ultrastructure of sperm of the Zhikong scallop, *Chlamys farreri* [J]. *Fish Sci*, 2004, 70: 487-496.

Artificial induction of haploid androgenesis in the oyster, *Crassostrea rivularis*

PAN Ying, XIE Wei-zhu, XIA Chao-lin

(College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The effects of ultraviolet (UV) irradiation on genetic inactivation of eggs were examined in the oyster, *Crassostrea rivularis*. In this experiment the eggs treated UV with UV light (254 nm) at intensity of 1 820 $\mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ for 0 s, 10 s, 20 s, 30 s, 40 s, 50 s, 60 s, 70 s, 80 s and 90 s were fertilized with normal sperms. The result showed that when eggs were irradiated for 50 s and mixed with normal sperm, the fertilization rate was relatively high (63.5%) and the developmental rate of D-shaped larvae became zero. The results of chromosome observation showed that under this condition the haploid rate was the highest (50.4%). The obviously improved survival of trochophore larvae with a peak at 50 s UV exposure suggested the presence of a Hertwig effect in the androgenesis of *C. rivularis*. As effective induction of haploid androgenesis required the inactivation of egg DNA and high fertilization rate, UV irradiation for 50 s at the intensity of 1 820 $\mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ was considered to be the optimum dose to achieve haploid androgenesis in the *C. rivularis*. The rates of the fertilization, survival at the early embryo stage, and the development of D-shaped larvae decreased with increasing irradiation time, and the development of the genetically inactivated eggs fertilized with normal sperm terminated before reaching D-shaped stage. [Journal of Fishery Science s of China, 2008, 15 (1): 172-177]

Key words: *Crassostrea rivularis*; ultraviolet irradiation; androgenesis; genetic inactivation

书讯

《鱼类精子和胚胎冷冻保存的理论与技术》一书出版

由黄海水产研究所陈松林研究员主著的《鱼类精子和胚胎冷冻保存的理论与技术》一书 2007 年 6 月由中国农业出版社出版。本书是我国水产动物种质低温保存领域的第一部专著,全面系统地介绍了鱼类低温生物学理论、鱼类精子和胚胎生理特性、冷冻保存原理和技术方法以及鱼类冷冻精子库建立、维持和应用等技术内容,特别是详细介绍了我国 20 多种重要养殖鱼类精子冷冻保存的具体方法。该书的特点是既有理论上的阐述,又有具体的技术方法,学术性强、实用性强、可操作性也强,既适合从事水产低温生物学和冷冻保存研究和教学、水产种植资源保存、遗传育种和水产养殖的科技人员阅读,又适合鱼类养殖场技术人员和工人阅读。参考这本专著,就可以进行鱼类精子冷冻保存的研究和应用。该书共 67 万字,精装,配有彩图,定价为 86 元。

联系地址: 山东省青岛市南京路 106 号,中国水产科学研究院黄海水产研究所,邮编: 266071

联系人: 田永胜博士,陈松林研究员

联系电话: 0532-85844606; 传真: 0532-85811514

E-mail: tianys@ysfri.ac.cn; chensl@ysfri.ac.cn