

ICS 07.080

C 04

# SZDB/Z

## 深圳市标准化指导性技术文件

SZDB/Z 187—2016

---

### 鱼类精子库建设与管理规范

The Construction and Management Practices for Fish Sperm Bank

2016-04 -08 发布

2016-05-01 实施

---

深圳市市场监督管理局

发布



## 目 次

前 言.....	II
引 言.....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 鱼类精子库建设的场地设施与设备.....	2
5 鱼类精子库建库机构设置.....	3
6 人员培训.....	4
7 安全管理.....	4
8 操作规范.....	4
9 质量控制.....	6
10 样本的信息化管理.....	6
附 录 A（资料性附录） 鱼类精子冷冻保存操作规程.....	7
附 录 B（资料性附录） 鱼类精子冻存样本信息采集表.....	9
附 录 C（资料性附录） 常见鱼类精子冷冻保存稀释液成分 .....	12
参考文献.....	13

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由深圳市发展和改革委员会归口。

本标准负责起草单位：深圳华大基因研究院、中国水产科学研究院黄海水产研究所。

本标准主要起草人：周欣、刘姗姗、陈松林、刘南希、张杰。

本标准首次发布。

## 引 言

鱼类为地球上分布最广、生物多样性最丰富的脊椎动物。我国现有鱼类约 3 万多种，不仅数量多，而且特有程度高、生物区系起源古老，在世界生物多样性中占有重要地位。我国是一个鱼类资源较为丰富的国家，丰富的鱼类种质资源和遗传多样性对于我国水产养殖业、药物开发等鱼类科学研究的快速发展起到了重要作用。目前，由于过度捕捞、生态破坏、水域环境污染等问题，鱼类资源逐渐减少，有些物种甚至濒临灭绝。如果不及时采取保护措施，若干年以后，在自然界中将难以找到许多具有重要价值的物种的遗传资源。

上世纪 90 年代，中国开始重视鱼类种质资源的保护，相继建立了一系列的鱼类精子库，开展了一系列鱼类精子采集与保存及数据库建立的工作。但是这些精子采集工作基本上是科研人员自发的、零散的、缺乏系统的设计和规范，且保存物种的数量和种类都非常有限。主要目的是为眼前的课题研究，缺乏长远打算，低水平重复和浪费现象严重。为了促进我国鱼类科学领域的研究，提升我国的整体创新力和国际竞争力，有必要建立一套相对统一的、规范化的、可操作性强的鱼类精子库建设标准。为此，结合我国目前实际情况和课题研究要求，制定鱼类精子采集技术规范 and 精子库建设标准，供研究项目实施时参考，充分发挥对鱼类精子资源的收集、管理、研究和利用的综合性功能，将对我国鱼类重要类群的资源保护、开发和利用具有重要的战略意义。



# 鱼类精子库建设与管理规范

## 1 范围

本标准规定了鱼类精子库建设相关的设备、设施及环境的要求，鱼类的信息采集、精子的冻存及管理的操作规范。

本标准适用于需建立鱼类精子库并用于鱼类繁育或物种遗传资源保护的机构，开展物种种质的信息采集、精子的冻存及管理使用。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB/T 1.1-2009 标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写

GB 2894-2008 安全标志及其使用导则

GB/T 5458-2012 液氮生物容器

GB 7000.2-2008 灯具 第2-22部分：特殊要求应急照明灯具

GB 13690-2009 化学品分类和危险性公示通则

GB/T 18883-2002 室内空气质量标准

GB 19489-2008 实验室生物安全通用要求

GB 19652-2005 放电灯（荧光灯除外）安全要求

GB/T 20269-2006 信息安全技术信息系统安全管理要求

GB/T 27025-2008 检测和校准实验室能力的通用要求

GB 50016-2006 建筑设计防火规范

GB 50052-2009 供配电系统设计规范

GB 50140-2005 建筑灭火器配置设计规范

GB 50346-2011 生物安全实验室建筑技术规范

GB 50351-2005 储罐区防火堤设计规范

AQ 3013-2008 危险化学品从业单位安全标准化通用规范

CNAS-CL05-2009 实验室生物安全认可准则

MH/T 1019-2005 民用航空危险品运输文件

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**鱼类** fish

生活在各类水体中的所有鱼类，包括硬骨鱼和软骨鱼两大类。

### 3.2

**精子库 sperm bank**

利用精子冷冻技术来贮存鱼类精子的设备和场所,将精子长期良好地储存在低温环境中(-196℃),需要时可复苏用于人工受精、遗传多样性保护等生物学研究工作。

**3.3**

**信息管理系统 information management system**

记录鱼类精子库所保存的精子基本信息、分类信息、采集信息等的应用软件、硬件。

**3.4**

**实验室生物安全 laboratory biosafety**

实验室的生物安全条件和状态不低于允许水平,可避免实验室人员、来访人员、社区及环境受到不可接受的损害,符合相关法规、标准等对实验室生物安全责任的要求。

**3.5**

**化学安全 chemical safety**

在使用化学物品时遵守一定的规范,以防止发生危险化学品事故,或有相应的紧急预案以应对事故,将事故的影响和损失降至最低。

**3.6**

**防冻剂 anti-freeze fluid**

在冷冻保存精子时加入保护精子低温损害的化合物,如甘油、二甲基亚砷等。

**4 鱼类精子库建设的场地设施与设备**

**4.1 功能区域**

**4.1.1 样本库**

样本库与实验区域、信息库之间应用墙壁进行物理隔离,工作人员进入样本库之前应当穿戴相应的防护服。

**4.1.2 实验区域**

包括样本的接受区、处理区和实验区,每个单元应独立操作,避免交叉污染。

**4.1.3 数据库**

应满足基因信息数据采集、存储、运行和管理等要求,包括基础设施设备、IT设备、系统与数据设备和管理工具等。

**4.1.4 办公区**

应满足工作人员的临时休息、办公,包括基础办公用品及办公电脑等。

**4.2 设施与设备**

**4.2.1 空调系统**

根据GB/T 18883,精子库空调系统应有足够的温度和湿度控制能力,以控制样本库室内温度为16℃~28℃及湿度处于30%~70%的水平,且不影响样本的质量和工作人员的健康。



#### 4.2.2 通风系统

精子库应有良好的送风和排风系统,各样本储存设备之间留有足够的距离保证散热和人员操作,一般情况下应保证大于30cm。

#### 4.2.3 监测系统

精子库应有良好的液氮量及冰箱温度监测系统,保证液氮量的充足和冰箱温度的稳定,当液氮量过低或者冰箱温度发生变化时及时报警提醒调试。

#### 4.2.4 照明系统

根据GB 19489的规定,精子库核心工作区(实验区域)的照度不低于350 lx,其他区域(样本库)不低于200 lx,且应使用不发热的光源。

#### 4.2.5 备用电源

根据GB 50052和GB 19489的规定,实验区域应设有备用电源,保证实验区的用电需求。

#### 4.2.6 安全设施

精子库的安全设施应符合GB 19489的规定,包括门禁、消防、监控、报警和危险处理系统。

### 4.3 人员

精子库应配备专业技术人员,并符合《WHO实验室生物安全生物手册》及GB 19489的规定。工作人员应该经过鱼类精子库的专业培训,并经考核合格。

## 5 鱼类精子库建库机构设置

### 5.1 伦理审查委员会

5.1.1 鱼类精子库应设有伦理审查委员会,伦理审查委员会应由鱼类生物学技术人员和伦理学、法学、代表公共利益的人员、独立于精子库和精子使用单位的人员等多学科人员组成。

5.1.2 伦理审查委员会应有能力对所有伦理问题进行审查和评价。伦理审查委员会应负责建立鱼类资源样本的伦理准则和相应的伦理操作规范,并在科学性前提下对样本相关研究项目开始前进行伦理审查和对已通过审查或正在进行的项目进行伦理监督与审查。

### 5.2 科学审查委员会

5.2.1 科学审查委员会应由鱼类学和遗传学领域的专家组成。

5.2.2 科学审查委员会负责对鱼类精子采集和使用的方案进行科学性审查。

### 5.3 生物安全委员会

5.3.1 生物安全委员会应由精子库总负责人和各功能区的负责人组成,负责实验室的生物安全内部监控。

5.3.2 生物安全委员会负责实验室生物安全工作的具体落实,不断健全实验室的生物安全管理体系,对全院生物安全工作进行督导。

### 5.4 精子库管理机构

5.4.1 精子库的管理机构负责精子库建设的规划、组织协调、运营、日常工作的执行与落实。

5.4.2 精子库的管理机构对精子库的工作有最终的审核批准权。

5.4.3 精子库的日常工作包括精子的采集、预处理、运输、储存、出入库管理、质量管理、安全管理以及日常行政和财务工作。

## 6 人员培训

### 6.1 培训方式

精子库应根据自己的需求,由负责人制定《员工培训计划》,通过专业培训,部门交流、专项讲座等方式对员工进行培训与考核。培训内容应包括质量管理、安全管理类,仪器设备的使用、专业知识等。

### 6.2 考核方式

通过笔试、答辩和实际操作等方式进行考核,由部门负责人和专业技术负责人进行评价。

### 6.3 记录归档

每次培训应进行记录,记录包括学员培训报告、学员及培训师的签名等。宜为每个员工建立培训档案,以便评估该人员是否符合特定的岗位需求。所有记录应及时整理归档。

## 7 安全管理

### 7.1 生物安全

精子库的样本采集和使用的过程中如涉及生物安全问题,在开展前应通过鱼类精子库的生物安全评审委员会的评审,并符合CNAS-CL05的规定。

### 7.2 化学安全

7.2.1 在使用到有有毒有害物质的工作区域,应符合AQ 3013的规定。

7.2.2 精子库对有毒有害物质的标志应符合GB 13690的规定。

### 7.3 设施安全

精子库的机械制冷设备摆放位置应该合理;应配备有备用的机械制冷设备。此外,精子库的设备所需要的常规和紧急的检修工作都应由专业技术人员来进行。

### 7.4 液氮安全

7.4.1 应选择适合在液氮中使用的容器,防止发生爆炸。

7.4.2 精子库的人员操作中需接触液氮时,应做好相应的防冻措施。

### 7.5 消防安全

7.5.1 精子库防火系统应符合GB 19489的规定。

7.5.2 精子库灭火器的配置应符合GB 50140的规定。

### 7.6 安全标志

精子库中相关安全标志的设计和编写应符合GB 15258及GB 2894的规定。

## 8 操作规范

## 8.1 操作流程

在样本收集之前应尽量多的查找拟采集物种现有的数据资料,根据掌握的资料制定调查、采、抽样、检测、运输和储存总体工作方案。精子冷冻保存的操作流程遵循附录A的要求进行。

## 8.2 信息采集

采集样本应进行详细的记录,记录的内容应至少包括:采集编号,样本类型,样本的科学分类,物种信息,采集地信息,储存条件,用途和采集人及物种鉴定人的信息。样本信息按照附录B填写,并录入数据库。

## 8.3 样本编码

### 8.3.1 样本编码规则

[属名缩写].[种名].[八位日期].[样本序].[份数].

举例:C. *semilaevis*.20120909.2.3.,表示C. *semilaevis*表示半滑舌鳎,20120909表示样本制备日期,2表示当天第二个样本,3表示第三份。

### 8.3.2 样本存放位置编码

冷冻存储设备(液氮罐/柜)样本存放位置采用四级编码:设备编号、冻存钢架编号、冻存盒号、冻存盒内位置编号。四级编码之间用“-”连接。

### 8.3.3 样本标签

8.3.3.1样本标签包含:样本采集单位代码、组织样本编码、样本存放位置信息。样本标签粘贴于管管壁的标签标记区域。

8.3.3.2样本标签由专门的标签打印机打印,根据容器的大小选择合适的标签,同一型号的冻存容器应使用一样规格的标签。标签贴与容器表面时,应贴合紧密,防止脱落。

注:进行低温保存的样本,其标签的材料应耐低温,保证样本在运输及储存过程中不脱落、不损坏。

## 8.4 包装与运输

### 8.4.1 包装

8.4.1.1应使用不易破裂且方便后续操作的2 mL冻存管装载样本。将冻存管装在50 mL离心管或其他支撑物中,并在50 mL离心管添加棉花加以固定。(切勿在50 mL管内或其他支撑物内加入液氮等危险品)

8.4.1.2批量样本(多于15管)应用冻存盒之类的存放盒或泡沫板装载并固定结实,防止样本散乱在运输箱中受损、丢失,样本的排列应与信息单中的顺序对应。

### 8.4.2 运输

#### 8.4.2.1 总则

根据采集地与储存地的距离、交通、气温等状况而采取相应的运输工具和方法。

#### 8.4.2.2 安全规定

所有生物样本都被视为具有生物危害风险，样本的包装和运输应严格遵循国家的相关规定，委托有资质的运输公司进行运输，确保样本安全和运输人员的安全。生物样本的运输应该遵循以下规则：

- 1) 如实申报运输样本以及制冷剂的内容和潜在的危险性；
- 2) 必须单独包装，不得以夹带或其他方式混装在普通运送包裹中。

#### 8.4.2.3 温度保障

鱼类冷冻精子的长途运输采用干冰法。运输时间在20h以内，不会影响冷冻精液的活率。运输过程中需要添加的干冰和冰袋的量与季节、运输时间长短、泡沫盒的薄厚有关（为更有利于保温，尽量选用大块的干冰，如果条件允许，可在泡沫盒的上下填充一些棉花等，以隔绝热量的传递），安全的干冰维持量为5kg/day。

#### 8.5 样本的销毁

精子库应建立无效或过期样本销毁制度。

### 9 质量控制

#### 9.1 总则

精子库应建立质量管理体系，出台质量手册，包括精子库的工作人员及其职责以及相关的标准操作程序。

#### 9.2 验证

鱼类精子库标准操作程序中所涉及的精子处理方法和质控方法，应由鱼类精子库工作人员或第三方机构进行验证。

#### 9.3 审查

9.3.1 鱼类精子库应由指定的审查员定期对精子库的标准操作程序的执行情况、库存系统、监管和安全等问题进行审查。

9.3.2 审查员应熟悉但不直接参与被审查的工作，且不受精子库总负责人（主管）的直接领导。

### 10 样本的信息化管理

10.1 鱼类精子库应有统一、完整的信息管理系统，用于样本信息的记录与储存。

10.2 此系统宜与其他相关的数据系统兼容或关联，以便共享样本信息和数据。

10.3 鱼类精子库应根据不同工作人员的职责设置相应的权限进行记录和修改，确保信息安全。

10.4 鱼类精子库的信息管理系统应建立安全保障，防止黑客入侵、计算机病毒传播和数据损坏等意外情况。

10.5 应进行定期的维护和备份，以应对信息和数据的意外损坏，及时进行异地备份和历史备份。

附 录 A  
(资料性附录)  
鱼类精子冷冻保存操作规程

#### A.1 目的

正确采集新鲜鱼类精子样本，保证采集的样本符合保存条件。

#### A.2 范围

适用于涉及鱼类精子冷冻保存的实验室或机构。

#### A.3 仪器及试剂

液氮罐、冻存架、显微镜、水浴锅、高压灭菌锅、移液器、0.22 冻存滤膜+针筒、透明丝口瓶、冻存盒、冻存管、吸头、吸管、毛巾。

#### A.4 操作步骤

##### 1) 前期准备

a) 对采精和冻存器具（包括玻璃瓶、吸管、冻存管、移液管等）进行高压灭菌和消毒处理。

b) 稀释液配好后进行灭菌处理。灭菌方式包括用孔径为 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜进行过滤或进行高压灭菌处理。配置好的稀释液置于 4℃ 条件下保存备用。

c) 提前将冻存器具标注好编号备用。

##### d) 冷冻保存稀释液的选择

淡水鲤科鱼类（如青、草、鲢、鳙、鲤、鲫、鳊等）精液采用稀释液 D-15；海水鱼类大菱鲆精子采用稀释液 TS-2；鲈鱼、牙鲆、大西洋牙鲆、石鲈精子稀释液为 MPRS。其他鱼类精子冷冻保存可用上述几种稀释液进行试验，进行筛选。（常见稀释液成分见附录 C）

##### e) 抗冻剂选择

绝大多数使用二甲基亚砜（DMSO）做抗冻剂，适宜浓度为 8~10%。

其中鱼类精子冷冻保存最常用为二甲基亚砜、甘油，并根据具体物种进行适当配比调整。

##### 2) 亲鱼选择

选择原种或良种的亲鱼作为采集精液的对象，要求亲鱼形态正常，生长良好，无疾病，达到性成熟，轻压腹部有精液流出即可采精。

##### 3) 精子采集

用毛巾或纸巾擦干成熟雄鱼腹部及生殖孔区域水分，轻压腹部排除粪便和尿液，用干净和干燥的吸管收集排出的精液。置于干净、干燥带有刻度的玻璃瓶或试管中，操作和运输过程中避免阳光直射。利用显微镜检查，快速运动精子在 80% 以上的精液可用于冷冻保存。

4) 精子的稀释与平衡

采精后尽快加入冷冻稀释液,将精液与4℃预冷的稀释液按体积比 1:1 或 1:2 比例混合,4℃平衡 20-30min 后转移至冻存管冷冻。

5) 精子的分装与冷冻

将平衡好的精液稀释液以 1.0 ml (4.5ml) 分装于 2 ml (5ml) 冻存管,按照三步降温模式(即在液氮面上方 6cm 处平衡 10min,在液氮表面上平衡 5min,然后投入液氮中保存)进行冷冻处理,还可采用程序降温仪进行程序降温冷冻保存,并长期存放在液氮罐中保存。

6) 冷冻精液的解冻

解冻时,先将冻存管从液氮中提出置于液氮蒸汽中平衡 5min,然后从液氮罐中拿出,放在 37℃水浴中快速解冻。

7) 解冻后精子活力检测

解冻后,使用适量生理盐水或海水激活冻精,在倒置显微镜下观察精子活力,通过记录不同视野下游动精子所占比例,并取平均值得到解冻后精子活力。

**附录 B**  
(资料性附录)  
**鱼类精子冻存样本信息采集表**


**B.1 范围**

本部分规定了鱼类精子冻存样本描述的基本信息、可数与可量性状、遗传学特性等信息。

本部分适用于鱼类精子库的样本采集、整理、保存中有关特性的描述和基本数据、信息采集，也适用于鱼类精子库数据库和信息共享网络系统的建立。

**B.2 填写说明**

表 B.1 鱼类精子冻存样本信息采集表

数据项	说明	举例
<b>物种信息</b>		
样本编号*	[属名缩写].[种名].[八位日期].[样本序].[份数].	<i>P. leopardus</i> .20120909.2.3.
凭证标本编号	如果样本有对应的凭证标本，请填写编号，并填写保存机构	twNS0807001
保存机构	凭证标本的保存机构全称	
学名*	物种的拉丁名，包括种名和属名	<i>Plectropomus leopardus</i>
中文名*	物种的中文名	豹纹鳃棘鲈
英文名	物种的英文名	Coral trout
俗名	多个名字之间用逗号相隔	过鱼，七星斑
地理分布*	该品种的自然地理分布。	分布于西太平洋区，包括日本南部、中国台湾、澳大利亚、斐济等海域
图片*	要求物种的头部朝左、尾部朝右，图片上需含有标准色表及刻度尺。详见右图。	
性别*	样本的性别，包括雄性、雌性、雌雄同体、伪雄、伪雌。	雄性
鉴定人*	鉴定人的全名	张某某
鉴定人所在机构*	鉴定者所在机构的全名	某某机构
濒危物种的评定	是否属于濒危物种，及濒危级别	I 级
备注	文本格式，对填写内的补充	
<b>分类</b>		
全部的分类信息	样本的分类地位，包括门、纲、目、科、属等信息	
<b>采集信息</b>		
采集编号*	采集时的鱼类样本编号	lw20120909002

获取途径*	从市场购买或野外采集（野外采集必须填写经度、纬度、海拔/深度、水域环境）	养殖场采集
国家*	填写国家全名	中国
省份*	填写样本采集所在省或自治区	广东省
地区*	按照各个省的地州行政区划进行填写	深圳市
市（区）*	按照各个地区的行政区县划分进行填写	大鹏新区
具体地点*	填写采集点的地理描述，以乡、村行政单位和当地小地名；若为行车途中采集，需填写道路名称和最近两个小行政单位的距离	大亚湾水产试验中心
经度(*)	填写采集点的地理经度，采用十进制书写方式，正值为东经，负值为西经，取值范围在-180到180之间。	113.4
纬度(*)	填写采集点的地理纬度，采用十进制书写方式，正值为北纬，负值为南纬，取值范围在-180到180之间。	22.3
海拔/深度(*)	填写海拔或者是水体深度，只能填写数字，单位（米）。	123 米
水域环境(*)	水域环境包括:a.海水； b.半咸水； c.淡水。	海水
采集日期*	填写时间，按照年月日（YYYY-MM-DD）的格式	2012/09/09
采集人		
<b>样本信息</b>		
样本类型*	精子、胚胎、卵细胞，其他	精子
样本数量*	份数以及每份的体积或质量，单位(g, 及 g,mL)	100μg
保存方式*	EDTA, TE, dH2O, DEPC H2O, Tris, Heparin, DMSO, Ethanol, RNALater, Trizol, 冷冻（保存温度，如 -80℃，液氮），其他	甘油，液氮
制备人/机构*	请说明样本制备的人员或机构	某某某
制备日期	样本制备的时间	2012/09/09
总质量(质量备		
<b>样品提供者信息</b>		
提供者*	样品提供者的全名	某某某
提供者机构*	提供者所在单位的全名	大亚湾水产试验中心



提供者地址*	提供者的地址	大亚湾水产试验中心
email*		
电话*		
传真*		

## 附录 C

(资料性附录)

## 常见鱼类精子冷冻保存稀释液成分

表 C.1 给出了常见鱼类精子冷冻保存稀释液成分。

表 C.1 常见鱼类精子冷冻保存稀释液成分

成 分	D-15 (陈松林等, 1992)	TS-2 (Chen SL et al.,2004)	MPRS (Ji et al.,2004)
NaCl (mmol/L)	136.75	—	60.35
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mmol/L)	—	—	1.80
NaHCO <sub>3</sub> (mmol/L)	—	—	3.00
KCl (mmol/L)	6.71	—	5.23
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O (mmol/L)	—	—	1.13
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O (mmol/L)	—	—	1.13
葡萄糖 (mmol/L)	83.33	—	55.55
蔗糖 (mmol/L)	—	110	—
碳酸氢钾 (mmol/L)	—	100	—
Tris-Cl (mmol/L)	—	10	—
pH	6.50	8.20	6.68
渗透压 (mOsm/L)	363	310	202

## 参考文献

- [1] 《赫尔辛基宣言》
- [2] 《纽伦堡法典》
- [3] GB 17378.3 海洋监测规范 样品采集、贮存与运输
- [4] Elena L. Grigorenko, Susan Bouregy. Biobanking on a Small Scale: Practical Considerations of Establishing a Single-Researcher Biobank [J]. Stanford Journal of Law, Science, & Policy, 2009, 1: 32-45.
- [5] Göran Hallmans, Jimmie B. Vaught. Best Practices for Establishing a Biobank [J]. Methods in Molecular Biology, 2011, 675: 241-259.
- [6] A. da S. Mariante, M. do S. M. Albuquerque, A. A. Egito. Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil [J]. Livestock Science, 2009, 120:204-212.
- [7] 陈松林等. 鱼类精子和胚胎冷冻保存理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [8] 陈松林, 刘宪亭, 鲁大椿, 等. 家鱼冷冻精液激活—授精方法的研究[J]. 水产学报, 1992, 16: 337-346
- [9] SL Chen, XS Ji, GC Yu, et al. 2004. Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large-scale fertilization[J]. Aquaculture, 236:547-556
- [10] XS Ji, SL Chen, YS Tian, et al. 2004. Cryopreservation of sea perch (*Lateolabrax japonicus*) spermatozoa and feasibility for production-scale fertilization[J]. Aquaculture, 241:517-528
-