



人工雌核发育及其在遗传学和水产养殖上的应用

楼允东

(上海水产大学)

ARTIFICIAL GYNOGENESIS AND ITS APPLICATION IN GENETICS AND AQUACULTURE

Lou Yundong

(Shanghai Fisheries University)

提 要

精子染色体的失活(用辐射或化学物处理)与细胞分裂的抑制(用冷休克、热休克或水静压法)的染色体组控制技术,能够容易地应用于鱼类而产生正常的雌核发育二倍体个体。在雌性配子同型(XX)的鱼类中,雌核发育个体具有其母亲的全部染色体且应该全部是雌性。局部自交,即杂合的雌核发育二倍体可以通过保留卵子第二极体的处理产生之完全纯合的雌核发育二倍体则可以用阻止第一次有丝分裂的方法产生。雌核发育对基因作图与纯合自交系的快速建立是有用的。这些自交系可用于遗传学与选择育种的研究。尽管雌核发育可以被用来产生单性种群,但由于后裔中自交衰退的存在,因此它可能不是种群控制的最好方法。

目前,雌核发育还没有被广泛地应用于鱼类,但对自交系的产生来说,作为雌核发育的一个补充方法同样具有潜力。

主题词:雌核发育,孤雌生殖,杂交发育养殖鱼类。

雌核发育(Gynogenesis)是特殊的有性生殖方式。它与孤雌生殖(Parthenogenesis)有类似之处,但也有不同之点,即孤雌生殖的胚胎发育完全是由各种外界刺激所引起的,精子并不参加;而雌核发育却需要同种或异种精子进入卵内,但进入卵内的精子不久即消失,精子头部并不形成具有功能的雄性原核,卵细胞的发育完全是在雌性原核的控制下进行的,因此得到的后裔纯粹是母性性状。营雌核发育的鱼类的成熟卵在缺乏精子的情况下是不能发育的,不过精子在雌核发育中的确切作用并不十分清楚,有的认为精子的穿透作用是诱发一种“生理杂种优势”,也有的认为精子的主要作用是提供细胞分裂所必需的细胞器——中心体。

在鱼类方面,苏联西部与我国黑龙江流域的银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、日本关东系银鲫(*Carassius auratus langsdorffii*)以及花鳉科的 *Poecilia* 属与 *Poeciliopsis* 属的某些种群为天然三倍体,并以雌核发育方式繁殖后代,这是早已知道的事实。许多学者对这种奇特的繁殖方式很感兴趣,并从各方面进行了系统而深入的研究。此外,自然界还存在另一种类型的雌核发育,生物学家称它为杂交雌核发育(Hybrid gynogenesis)或杂交发育(Hybridogenesis)。它与雌核发育的不同之处在于杂交发育出现配

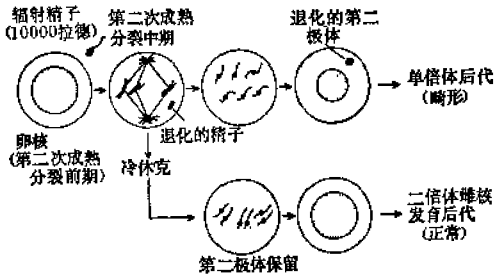
子融合,而且雄性染色体组被表达出来,但只有雌性染色体组遗传给卵子,因此后裔的表现型是偏母本型的真正杂种。到目前为止,杂交发育仅在 *Poeciliopsis* 属作过描述。在该属有三个单雌性三倍体物种,其中 *P. monacha-2lucida* 以及 *P. 2monach-lucida*, 它们是两个同域分布的亲缘种 *P. monacha* 和 *P. lucida* 杂交而来的。*P. monacha-2lucida* 表示是由 *P. monacha* 的一套染色体和两套 *P. lucida* 的染色体组而合成;而 *P. 2monacha-lucida* 则表示是由一套 *P. lucida* 的染色体和两套 *P. monacha* 的染色体组台而成。这种学名的书写法反映了细胞学对分类学影响的一个侧面。有关该属研究工作以及杂交发育的适应意义, Schultz (1971, 1977, 1980) 曾作过一系列评论。

除了天然雌核发育外,生物学家对人工诱发雌核发育的可能性也一直在进行探索与实践。因为雌核发育后裔的获得意味着它可能解决生物学上的许多重要理论问题;在选择育种工作中,雌核发育作为快速增加品系的遗传同质性的一个方法也是很重要的。

据文献报导,鱼类雌核发育可以人工诱导的第一个证据是在 Opperman (1913) 的论文中提出来的,他用褐鳟 (*Salmo trutta*) 作为研究材料。后来,阳性结果又在泥鳅 (*Misgurnus fossilis*) 中获得 (Neyfakh, 1956)。不过,该领域系统研究的开始是以 Romashov 等 (1960) 以及 Golovinskaya 等 (1963) 关于泥鳅和鲤鱼的工作打下基础的。从那以后,人工诱发鱼类雌核发育的研究十分活跃,进展也很快,且有不少学者对它作了专门评论 (Stanley, 1981; Purdom, 1983; Tborgaard, 1983)。到目前为止,人工雌核发育已在泥鳅、鲟鱼、鲤鱼、鲮与川鲮、草鱼、褐鳟、虹鳟、银大马哈鱼、大马哈鱼以及斑马鱼等 10 多种鱼类获得成功 (见表 1)。

人工诱发雌核发育二倍体的方法

人工雌核发育二倍体可以通过解决两个问题而达到,即精子染色体的遗传失活以及卵子第二极体的保留或受精卵早期有丝分裂的抑制 (见附图):



的保留或受精卵早期有丝分裂的抑制 (见附图):

1. 精子染色体的遗传失活 各种辐射与化学处理对精子染色体的失活都是有效的。现分别介绍如下:

(1) 辐射处理 人工失活精子染色体而不损伤精子受精能力的第一个成功例子曾为 Hertwig (1911) 在两栖类中所描述。他发现:随着辐射剂量的增加,蛙胚胎的成活率显著降低;可是,到了更高的辐射剂量,胚胎的早期成活率反而增加。这个现象称为“Hertwig 效应”,它归因于在高辐射剂量时精子中的染色体全部被破坏,从而导致单倍体的产生。单倍体胚胎比以辐射诱发出来的具有显性致死突变基因的二倍体胚胎存活时间长。在鱼类方面,前面已经提到 Opperman (1913) 是应用精子的辐射处理以产生单倍体胚胎的第一个学者。后来发现各种辐射处理对失活精子染色体都是有效的。到目前为止,已经被成功使用的辐射处理包括 γ 射线 (Purdom, 1969; Lincoln 等, 1974; Nagy 等, 1978; Chourrout, 1980, 1984; Chourrout 等, 1980, 1982; Ijiri, 1980; Onozato, 1982; Refstie 等, 1982), X 射线 (Romashov 与 Belyaeva, 1965b; Romashov 等, 1963; Golovinskaya, 1968; Stanley 与 Sneed, 1974; Cherfas, 1975) 以及紫外线 (Nace 等, 1970; Stanley, 1976a, 1981, 1983; Ijiri 与 Egami, 1980; Hornbeek 与 Burke, 1981; Streisinger 等, 1981; Chourrout, 1982; Lou 与 Purdom, 1984)。各种辐射处理各具有优缺点。

γ 射线与 X 射线具有较好的穿透力,方便大量精子的处理。它们主要起诱发染色体断裂的作用。Stanley (1981) 发现用 X 射线处理的精子保持活性比正常精子短些。可是, Thompson 等 (1981) 报导,用 γ 射线 (Co^{60}) 处理保存在 $0^{\circ}C$ 的鳊鱼精子能保持活性长达 5 天。Chourrout 等 (1980) 发现,在高稀释

用 γ 射线 (Co^{60}) 处理保存在 $0^{\circ}C$ 的鳊鱼精子能保持活性长达 5 天。Chourrout 等 (1980) 发现,在高稀释

度时用 γ 射线辐射过的精子比正常精子效果差。对所有辐射处理来说, 在辐射处理过的精子中观察到的较差的生存力和受精力似乎是确实的 (Thorgaard, 1983)。用 γ 射线与 X 射线辐射精子的另一个问题是, 即使在高剂量处理之后, 残留的父性性状或染色体碎片有时还可能发现于雌核发育的胚胎中 (Ijiri, 1980)。

紫外线是比较容易操作的, 比 γ 或 X 射线危险性小。紫外线主要作用在 DNA 上。经紫外线照射后的 DNA, 同一链上的两个邻接嘧啶核苷酸的共价联结, 形成所谓的胸腺嘧啶二聚体 (Thymine dimers)。胸腺嘧啶二聚体的形成使双螺旋的两链间的键减弱, 使 DNA 结构局部变形, 从而严重影响 DNA 的正常复制和转录。但在可见光存在的情况下, 这些损伤的 DNA 可能被光复活作用 (Photoreactivation) 所修复 (Ijiri 与 Egami, 1980)。所谓光复活作用, 即紫外线引起的细胞损伤因可见光的照射而得以恢复的现象。后来发现这个效应是一种光复活酶的作用。有时光复活作用可能发生于照射紫外线的小而透明的鱼卵中 (Ijiri 与 Egami, 1980)。因此, 用紫外线失活精子的时候应该注意到这个问题。

紫外线是廉价的, 可以在各个实验室中容易地装备起来。它的唯一缺点是穿透力低。但事物总是具有两面性。紫外线的低穿透力, 一方面使得操作时比 X 射线或 γ 射线更为安全; 另一方面, 处理时必须注意到精液不能铺得太厚。厚的以及不透明的精液不可能被紫外线所完全失活, 因此处理大量精子较为困难。

(2) 化学物 诱变精子 DNA 的化学物也已经用于人工诱发鱼类与两栖类雌核发育的研究, 所使用的化学物有甲苯胺兰 (Toluidine blue) (Briggs, 1952; Uwa, 1965)、乙烯脲 (Ethyleneurea) (Jones 等, 1975) 以及二甲基硫酸盐 (Dimethylsulfate) (Tsoi, 1969; Mantelman, 1980)。如能找出适当的处理浓度和处理时间, 失活精子染色体的化学诱变也许是一个简便的方法。

2. 卵子第二极体的保留或受精卵早期有丝分裂的抑制 根据受精细胞学观察, 成熟时排出的卵一般处于第二次成熟分裂中期, 受精后排出第二极体, 这时卵子仅含减半的染色体数目。因此如果用来授精的是遗传上失活的辐射精子, 则从受精卵发育而来的胚胎通常为单倍体。单倍体具有若干发育离差综合症, 可以称之为单倍体综合症 (Haploid syndrome)。最典型的症状包括脑部呈现 S 形, 尾部短而弯曲。围心腔扩大以及心脏与血管系统畸形等。单倍体能较好地通过早期胚胎发育, 但在孵化期间和孵化后数天陆续死亡。

因此, 如果要获得正常的二倍体雌核发育, 除失活精子染色体之外, 还得设法解决二倍化卵子染色体的问题, 这可用阻止第二极体或受精卵的早期分裂而达到。有时受精卵不经特殊处理就可以产生二倍体雌核发育, 这称为自发二倍体雌核发育 (Spontaneous diploid gynogenesis)。自发二倍体雌核发育的出现频率因种类而异, 但总的来说是很低的, 一般不超过 1%。不过, 可以应用各种人为的处理增加其二倍体产量至 60% 左右或更高, 甚至高达 100%。这种由人为的处理方法产生的二倍体雌核发育称为诱发二倍体雌核发育 (Induced diploid gynogenesis)。近年来, 学者陆续介绍了各种不同的处理方法, 但归纳起来, 这些处理方法不外乎物理 (温度与水静压)、化学以及生物 (杂交) 的三种。

(1) 温度 在鱼类, 受精卵的温度休克已被广泛用来抑制第二次成熟分裂或第二极体的排出。冷休克与热休克都证明是有效的。温度休克可以作用在卵子受精前 (第二次成熟分裂中期), 但受精后不久 (第二次成熟分裂后期) 给予的处理则更有效。另外, 热休克处理也已被用来阻止斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 卵的第一次有丝分裂而产生纯合二倍体雌核发育 (Homozygous diploid gynogenesis) (Streisinger 等, 1981)。

按照所用鱼类的不同, 温度休克开始时间、持续时间以及温度高低可以作出适当改变。有证据表明温度休克敏感性的差异与遗传背景有关 (Streisinger 等, 1981), 也与卵子成熟度有关 (Refstie 等, 1982)。

在泥鳅, 温度休克处理后的卵子染色体的行为曾作了追踪 (Romashov 与 Belyaeva, 1965a), 结果表明二倍化导致第二次成熟分裂所产生的两个单倍体成分的并合。鲤鱼的情况也与此相类似 (Golovinska-

ya 与 Romashov, 1966)。如果这种二倍化卵子与未经辐射处理的正常精子受精,则产生三倍体。

(2) 水静压 在两栖类的研究中,水静压(Hydrostatic pressure)已被用来阻止第二极体排出或第一次有丝分裂。在鱼类,Streisinger 等(1981)成功地用水静压阻止第二极体排出,并用这种处理与乙醚相结合阻止第一次有丝分裂而产生纯合二倍体雌核发育斑马鱼。最近,又在虹鳟(*Salmo gairdneri*)获得成功(Chourrout, 1984; Lou 与 Purdom, 1984)。虽然应用水静压处理比温度处理需要更专门的设备(例如水压机),但由于它对胚胎的损伤可能比温度小,例如 Gillespie 与 Armstrong (1979)发现用水静压产生的三倍体蝶鲮比用热休克产生的三倍体存活力高得多,因此这个方法还是比较受人欢迎的。据笔者所知,目前还有不少学者正在从事这方面的研究。

(3) 化学物 化学物曾用来阻止第二极体的排出或受精卵的有丝分裂而产生三倍体或四倍体。所用的化学物有细胞松弛素 B (Cytochalasin B)、秋水仙素(Colchicine)以及聚乙烯乙二醇(Polyethylene glycol)等。至于有关用化学物诱发二倍体雌核发育的报导则甚少。据吴清江等(1981)的资料,用 γ 射线照射过的精液受精的鲤鱼卵子发育至 2 细胞期时以 25ppm 的秋水仙素溶液浸泡 30 分钟,二倍体雌核发育可从原来的 1.35% 提高到 31.6%。

由于温度休克与水静压处理对阻止鱼卵极体排出与第一次有丝分裂比较成功,也比较简便,看来化学处理的方法不可能被选中。

(4) 杂交 据报导,雌核发育也可用杂交诱发。例如 Purdom 与 Lincoln (1974)发现,当蝶(*Pleuronectes platessa*)与拟庸蝶(*Hippoglossus sp.*)以及川蝶(*Platichthys flesus*)与拟庸蝶杂交时,其受精率是高的,且早期卵裂是正常的。可是,原肠期后杂种胚胎发育出现类似单倍体综合症那样的畸形,胚胎缩短且增厚。孵化率很低,孵化后 24—48 小时内全部死亡。但如果受精后 20 分钟内给予冷休克处理,则产生正常的二倍体胚胎,且仔鱼呈现母性性状。如果拟庸蝶的精子预先用剂量为 100,000 拉德的 γ 射线(Co^{60})进行辐射处理,对受精与随后的胚胎发育并无影响。这充分显示蝶与拟庸蝶以及川蝶与拟庸蝶的杂种是“假杂种”(False hybrid),拟庸蝶的精子对发育中的胚胎没有提供遗传物质而只激发卵子的作用。

另外, Uyeno (1972)报导了银大马哈鱼(♀, $2n=60$)与溪红点鲑(♂, $2n=84$)杂种的染色体数目的雌核发育变化。该杂交组合的染色体数目为 $2n=60$, 即与母本银大马哈鱼完全相同的染色体数目与染色体组型。不久, Stanley (1976a)用草鱼($2n=48$)卵子与经紫外线照射的鲤鱼($2n=100$)精子杂交,结果得到 3% 自发雌核发育的草鱼后裔,染色体组型分析证明是二倍体($2n=48$)。

最近,蒋一珪等(1983)用兴国红鲤进行了以方正银鲫为母本的属间“杂交”,结果发现异源精子不仅能刺激银鲫雌核发育,而且还能影响雌核发育子代的某些性状,如对于子代的生长,性比、体色和肝脏 LDH 同功酶等都产生了影响。他们把这种表现了异源精子生物学效应的雌核发育称之为“异精雌核发育”(Allogynogenesis),以区别于一般的雌核发育。发育的子代称之为“异育银鲫”。异育银鲫已以其明显的生长优势在生产上显示了优良的经济性状。

现在再简单提一下雄核发育(Androgenesis)。鱼类的雄核发育还没有象雌核发育那样被广泛研究。自发雄核发育有时可在不同鱼类的杂交中观察到。例如 Stanley (1976a)观察了雄核发育二倍体草鱼,它由雌鲤与雄草鱼杂交而产生,但出现频率较低,仅 0.02% 左右。在讨论其产生的原因时, Stanley 提到下述两个工作:在鱼类远缘杂交中,一个亲本的染色体组有可能在早期卵裂时因延迟(Lagging)而丢失(Pinney, 1928);在草鱼的受精卵中约有 5% 的卵是多精受精(Mantelman, 1969)。

总的来说,失活卵子染色体以诱发雄核发育的研究要比失活精子染色体以诱发雌核发育的研究少得多,应用辐射处理失活卵子的一个严重问题是线粒体 DNA、信使 RNA 以及卵细胞质的其它结构可能连同染色体 DNA 一起被破坏。但尽管如此, Romashov 与 Belyaeva (1964)、Purdom (1969) 以及 Arai 等 (1979) 用电离辐射处理卵子后曾经成功地产生出雄核发育单倍体。但它也与雌核发育单倍体一样,具有单倍体综合症的全部特征:较小的核体积以及畸形的胚胎发育。Romashov 与 Belyaeva

(1964)认为,可能由于对细胞质成分的辐射损伤,雄核发育单倍体泥鳅比雌核发育单倍体具有更严重的问题。在用孟苏大马哈鱼(*Oncorhynchus masou*)的研究中,Arai等(1979)也相信辐射处理可能已经损伤了卵细胞质成分。可是,Purdom(1969)发现雄核发育单倍体鳟与雌核发育单倍体鳟几乎是不能区分的。

如在两栖类所做的那样,失活卵子染色体的另一个方法是紫外线处理的应用。两栖类卵子透明,且受精后卵原核移向动物极,而某些鱼卵的不透明性以及受精前后卵核不呈现任何特殊的方向可能使得应用紫外线失活这些鱼类的卵子染色体成为问题。可是,由于它的低穿透力,紫外线可能具有对卵细胞质成分的损伤降低到最低限度的优点。

过熟或老化的卵同样具有诱发单倍体雄核发育的潜力(Yamazaki, 1981)。将排卵后腹中含有排出卵的成熟虹鳟养在水池中4—5周(0—2°C)。这样处理的结果使卵过分成熟,但卵的外形是正常的。然后所有卵用正常精子激活使其开始卵裂。在四次试验中,受精率均为100%。可是,胚胎呈现具有各种畸形的致死单倍体综合症。若干胚胎具有 $2n=30$ 的染色体数,这刚好是正常虹鳟染色体数的一半。从这种成熟卵的过熟或老化诱发的染色体畸变同由与正常精子受精的辐射卵的胚胎中所发现的染色体畸变相类似。这表明与辐射一样,卵的过熟对卵子染色体具有同样的破坏作用。

受精卵的物理处理对诱发雄核发育有时也是有效的。较如Gervai等(1980b)发现用冷休克处理受精后不久的鲤鱼卵子后,除获得大量三倍体外,也发现高频率的雌核发育与雄核发育单倍体胚胎。其原因可能是由于冷休克损伤了雄性原核或雌性原核。单倍体胚胎的比例因冷休克开始时间不同而异。这些胚胎通常能够孵出,但孵出后很快死亡。冷休克或压力处理受精后不久两栖类卵,有时也会导致雌核发育单倍体的产生。物理处理对卵成分的损伤可能比辐射处理小。

尽管人工雄核发育也可以得到遗传上均一的后裔,但对鱼类育种来说,人工雌核发育似乎比雄核发育更实用,这是因为雌核发育单倍体可能由于卵细胞质没有受到辐射损伤而存活得比雄核发育单倍体好;而且,雌核发育的人工二倍化也比较容易。到脱稿时(1984),尚未见到有关人工诱发雄核发育二倍体成功的报导。

雌核发育二倍体的鉴定

由于人工失活精子或卵子染色体的处理并不一定百分之百成功,因此这是很重要的,即当雌核发育或雄核发育产生的时候,必须有充分的证据证明精子(在雌核发育中)或卵子(在雄核发育中)对胚胎确实没有提供遗传物质,这就牵涉到如何鉴定雌核发育二倍体与正常受精而产生的杂种二倍体的问题。

对雌核发育来说,也许最简单的方法是使用与母性有亲缘关系的另一种鱼类的辐射精子。用这种方法,任何父性遗传可以通过下列几种方法识别出来:(1)杂种是不能存活的;(2)杂种在形态上是可以识别的;(3)杂种在生物化学上是可以识别的。形态上以及生化上的研究(包括鲤鱼与草鱼的正反交研究)曾被用来确证雄核发育与雌核发育草鱼的鉴定(Stanley与Jones, 1976; Stanley等, 1976)。

如果使用的是同一种鱼类的辐射精子,则体色、形态学或生物化学标记可以方便地用来提供雌核发育或雄核发育的证据。带有显性颜色等位基因的精子曾被用来提供虹鳟与斑马鱼全母性遗传的证据(Chourrout, 1980; Streisinger等, 1981)。以前者为例,用辐射精子受精而得到的自发雌核发育二倍体仔鱼具有黑色素,表现出母性表现型,而对照组仔鱼则全部是黄色的,表现出父性表现型。在鲤鱼,Nagy等(1978)用具正常鳞鲤鱼辐射精子与具有散鳞型(ss)的纯合隐性个体的卵子受精,结果得到100%散鳞后裔,从而证实了它是二倍体雌核发育。另外,Nagy等(1978)还用运铁蛋白(Transferrin)位点生化变异来提供雌核发育的证据。因为就运铁蛋白位点来说,雌性等位基因不同于雄性,作者在几百个雌核发育个体中没有检出来源于雄性的等位基因。

由于阻止极体排出以及抑制第一次有丝分裂都能获得雌核发育二倍体,但二倍体的性质并不相同。

因此认定各种处理后产生的任何雌核发育二倍体的来源是很重要的。除受精细胞学观察外,遗传标记也能提供到底是由阻止第一次有丝分裂还是由阻止极体排出而导致雌核发育二倍体的证据。如果二倍体是由第一次有丝分裂的抑制而导致的,则杂台雌性的后裔应该全部是纯合的。第一极体排出的抑制,对接近着丝点的基因来说,应该导致几乎 100% 杂合后裔,而对那些与其着丝点自由分离的基因来说,则降低到 2/3 杂合子。但这未必是可能的,因为第一极体的排出通常是在受精前完成的。至于第二极体排出的抑制,对接近着丝点的基因来说,将主要导致纯合后裔,而对远离着丝点的基因来说,则导致杂合子比例的增加。对那些与其着丝点自由分离的基因来说,2/3 后裔应该是杂台的(Nace 等, 1970)。例如 Streisinger 等(1981)研究了他们产生的雌核发育二倍体斑马鱼中生化位点(est-3)的遗传,受精后 1.5—6 分钟用水静压处理的杂台雌鱼的受精卵导致 14% 杂合雌核发育二倍体后裔,其结果与第二次减数分裂或第二极体排出的抑制相一致。受精后 22.5—28 分钟用水静压处理的杂台雌鱼的受精卵则导致 100% 纯合后裔,其结果与第一次有丝分裂的抑制相符合。

前面已经提到过,单倍体雌核发育是很容易与二倍体雌核发育相区分的,因为单倍体具有典型的单倍体综合症,而且在孵化后数天陆续死亡,绝不能坚持到摄食开始。另外,据我们在虹鳟上的观察,在胚胎后期就能准确无误地区别单倍体与二倍体,因为单倍体胚胎为淡黄色,眼点较小,而二倍体胚胎则为桔黄色且具有较大眼点(Lou 与 Purdom, 1984)。

雌核发育二倍体的性别

不难理解,在具有雌性配子同型(XX)的鱼类中,雌核发育后裔应该全部是雌性,而在具有雌性配子异型(XY)的鱼类中,则可以产生雌雄两种性别的后裔。如果性别决定基因位点是靠近着丝点或在 X 与 Y 之间不进行重组,则对抑制第一次有丝分裂的所有处理,应该预期得到同等比例的雄性(XX)与雌性(YY)后裔。YY 个体可能存活,也可能不存活。如果性别决定基因位点远离着丝点且在性染色体之间进行重组,则对致使保留第二极体的处理可能会增加雌性比例(高达 5/6)。在鱼类,据信性别决定基因位点在性染色体之间能进行重组,因为众所周知其它基因位点有时是进行重组的(Gold, 1979)。

因此,雌核发育后裔的性别可以提供不同鱼类性染色体制的资料。例如,用雌核发育产生单性草鱼的研究成功地产生了 100% 雌鱼,结果与雌性配子同型(XX)体制相符合(Stanley, 1976b, 1981)。在鲤鱼(Golovinskaya 等, 1974; Nagy 等, 1978, 1981; Gomelsky 等, 1979)、银大马哈鱼(Refstic 等, 1982)以及细鳞大马哈鱼(Maximovich, 未发表),雌核发育后 100% 雌性的产生也与这些鱼类的雌性配子同型相符合。同时,有的学者也提到雌核发育后出现雄性后裔。例如 Purdom 与 Lincoln(1973)发现在已性分化的 1 龄雌核发育鳟中有 24 尾雌性与 14 尾雄性,因此表明鳟是雄性配子异型,但 Cherfas (1981)认为这些资料需要进一步证实。另外,Streisinger 等(1981)在用雌核发育产生斑马鱼纯合二倍体无性繁殖系中发现不同的无性繁殖系有很大变异,其观察结果既不符合简单的雌性配子同型也不符合雌性配子异型体制而暗示常染色体性别决定基因或环境影响的可能作用。

至于雄核发育后裔的情况。在具有雄性配子同型(XX)的鱼类中,雄核发育的结果应该导致全雄后裔的产生。例如 Gillespie 与 Armstrong (1981)在用紫外线失活卵子染色体后以抑制第一次卵裂的方法产生了雄核发育二倍体雄性美西鳟(一种雄性配子同型鳟)。在雄性配子异型(YY)的鱼类中,包括鲤鱼以及大多数鲑鳟鱼类,继第一次卵裂的抑制而产生的二倍体雄核发育应该导致一半 XX 与一半 YY 后裔。XX 个体应该是纯合的雌性而 YY 个体应该是当与正常雌性杂交时具有产生全雄后裔潜力的纯合雄性。在用激素性逆转鱼类研究的基础上,得知 YY 雄性在金鱼(Yamamoto, 1975)、阔尾鲈鱼(Yamamoto, 1964)以及银大马哈鱼(Hunter 等, 1982)是能存活的。

雌核发育二倍体的生长与发育

总的来说,由于雌核发育所产生的后裔是自交的,且遗传上是一致的,因此它比正常受精所得到的后裔成活差、生长慢。雌核发育后裔第一年的成活率大大降低,尤其是在仔鱼期。这已经在鲟鱼、虹鳟、鳊、泥鳅以及高白鲑等多种鱼类上得到证实(Romashov等,1963; Romashov与Belyaeva,1965b; Purdom,1969; Tsoi,1972)。在孵化以及过渡到主动摄食阶段往往观察到较高的死亡率。在胚后发育的最初两周,雌核发育鲤鱼的成活率约为50%(Golovinskaya等,1963; Cherfas,1975)。在这个时期,外部稍许畸形的个体通常死亡。类似的情况也存在于雌核发育鳊与虹鳟的后裔。

可是,发育后期鲤鱼的成活率大大改变。例如第一年变动于5—66%;幼鱼越冬期间为0—87%。雌核发育幼鲤的成活率因产卵雌鱼的年龄而有很大差异,较老龄雌鱼所产的卵,其成活率可提高到80—90%(Cherfas,1975)。据报导,当雌核发育与对照组后裔鲤鱼一起饲养的时候,在四个不同试验中最初两个月雌核发育的成活率(以对照组成活的百分数表示)分别是9%、13%、31%和95%(Nagy等,1978)。

关于雌核发育草鱼的成活率仅有一点零星的资料:34尾仔鱼中仅有24尾孵出后一周是活的,其中6尾3年后是活的(Stanley,1976a)。

雌核发育高白鲑(*Coregonus peled*)幼鱼的成活率约为90%(Tsoi,1972)。

根据测定,雌核发育鲤鱼的平均体重在秋季非常不一致。可是,在夏季二龄、三龄以及四龄鱼重量的增加十分良好,达到1000克(Cherfas,1975)。雌核发育草鱼也没有观察到任何生长衰退现象(Stanley与Sneed,1974)。可是,目前关于雌核发育对其它鱼类生长的影响还没有进行系统研究。

关于雌核发育后裔的能育性问题。据报导,在较老的雌核发育鲤鱼已经观察到性腺发育的种族与个体差异(Golovinskaya等,1974; Gomelsky等,1979)。一半鱼可能具有严重的卵巢弊病,大多数常常显著减少其体积。许多雌鱼具有间性的特征。显然雌核发育鲤鱼的染色体组带有负向影响过渡到纯合状态后的能育性的隐性基因,就如同近交的情况一样。不过,在雌核发育鲤鱼以及草鱼中也发现具有正常能育性的雌鱼,这与三倍体或激素绝育鱼相反。并且已经从它们成功地获得了诱发雌核发育第二代,鲤鱼则为第三代(Cherfas,1975; Stanley,1976b; Nagy等,1978; Cherfas与Ilyasova,1980b)。在鲤鱼,雌核发育第二代与第三代的自发雌核发育二倍体产量大致按世代以等比级数增加,如果第一代的产量为1%,则第二代与第三代的产量分别为2%与4%左右。自发雌核发育二倍体产量的增加是雌性染色体成分二倍化较高的频率以及发育早期后裔成活率提高的综合结果。

雌核发育的实际应用

人工雌核发育在遗传学和水产养殖上的应用有着十分美好的前景。就目前所知,主要反映在性别控制、基因一着丝点作图、自交系的快速建立、突变以及染色体组型研究等方面。另外,雌核发育对解决诸如鱼类品质外因性变异份额的决定、近交衰退的准确估计以及影响生存力的隐性基因的检测与分析等这样重要的遗传理论问题也是有帮助的。

1. 性别控制 对雌核发育感兴趣的原因之一是由于它对产生单性种群具有潜力。雌核发育籍产生单一雌性后裔可以用来控制自然环境中的鱼类繁殖,例如草鱼对控制杂草是有用的,但自1964年它被移入美国后,由于不能控制其天然繁殖,从而造成对环境的破坏,所以大部分州已禁止引进。为了培育放流后不能繁殖的草鱼,Stanley及其同工者用雌核发育的方法培育了全雌性草鱼,但目前还未能达到大规模生产阶段。另外,雌鱼比雄鱼具有某些优点,例如雌鲤的生长率比雌鲤高15%(Wolfarth等,1975),因此还可以通过单性养殖来提高产量。但雌核发育应用于养殖生产的主要困难是二倍体出现频

率低, 仔幼鱼阶段成活率差, 个体差异大, 能达到性成熟的极少。因而, 在雄性配子异型鱼类, 用雌核发育或雄核发育所产生的单性种群不如用 YY 雄性或性逆转的 XX 雄性杂交所产生的远交单性种群。从目前看来, 雌核发育似乎不是种群控制的最好方法。

2. 基因—着丝点作图 前已叙及, 根据基因与它的着丝点之间的距离, 杂合雌鱼卵子第二极体的保留导致不同比例的雌核发育二倍体后裔。对靠近着丝点的基因位点来说, 所有后裔应该是纯合的, 而对远离着丝点的基因位点来说, 杂合后裔的比例增加。对那些与其着丝点自由组合的基因来说, 预期 $2/3$ 是杂合后裔。

应该指出, 基因—着丝点作图已在许多生物(包括微生物、果蝇、两栖类以及人类)做过。鱼类方面的类似研究是在这些理论上进行的。到目前为止, 作过基因—着丝点图的鱼类有鳟 (Purdom 等, 1976; Thompson 等, 1981)、鲤鱼 (Cherfas, 1977; Cherfas 与 Truweller, 1978; Nagy 等, 1978, 1979) 以及斑马鱼 (Streisinger 等, 1981) 等。

基因—着丝点作图资料在下列三个方面是有用的: (1) 它提供有关鱼类减数分裂体制的基本资料。例如在雌核发育二倍体后裔中观察到 $2/3$ 以上杂合后裔, 则表明有比预期少的重复交换子 (Double crossovers)。又如, 决定鲤鱼鳞片的 *N* 基因的很高杂合后裔比例 (97%) 表明在带有 *N* 基因的染色体上实际上没有发生重复交换子; (2) 作图资料对比较与进化研究也是有用的。大多数鱼类巨大的染色体数目使得用传统的谱系分析很难得到这种资料。比较作图研究还可以提供有关鱼类中以及鱼类与其它脊椎动物之间基因排列保守程度的资料。许多重要鱼类的多倍体起源也可以用基因—着丝点作图来检验 (Schultz, 1980); (3) 基因—着丝点作图资料能够估计经雌核发育而获得的近交程度 (Nace 等, 1970; Thompson 等, 1981; Thompson, 1983)。

3. 自交系的快速建立 除了产生单性种群之外, 研究鱼类雌核发育的主要目的是为了快速产生自交系 (Inbred lines)。这种自交系对选择育种研究可能是有用处的, 因为它们相互杂交时产生杂种优势 (Vigorous hybrids), 就如同杂种玉米那样。鱼类的自交系对基础生物学研究也是很有价值的。

在鱼类, 用雌核发育产生自交系的途径有两个。当前最广泛采用的是籍第二极体的保留而产生的雌核发育 (极体雌核发育)。它导致后裔中部分纯合性, 其纯合程度有赖于发生在减数分裂中的交换次数。根据基因—着丝点作图资料, 我们可以估计鳟与鲤鱼一个世代后纯合的比例 (相当于近交系数, F') 分别为 0.54 与 0.65。这比经兄妹交配 ($F = 0.25$) 或自体受精 ($F = 0.5$) 所得到的要高些。可是, 经极体雌核发育要获得完全纯合也许是困难的, 因为具有特别高的基因—着丝点重组率的基因位点可以保持杂合许多世代。为此, Nagy 与 Csányi (1978) 曾建议采用极体雌核发育与兄妹交配 (性逆转后) 的育种方案, 他们认为这种方案对产生纯合系比单独用极体雌核发育可能更有效。据报导, 吴清江等 (1981) 已完善了一套以雌核发育并辅以人工控制性别的技术来建立鱼类近交系的可能途径, 即在经过连续两代雌核发育后, 把部分个体人工转为雄性, 待性成熟后进行同胞兄妹互交。这样繁殖出来的后代, 除发生交换的部分以外, 在理论上每个位点上的基因都应是纯合的。这种人工转性的个体可能是生理上的雄性, 而遗传型仍可能是雌性, 因而通过这样繁殖的后代可能全为雌性个体。但这对建立一个近交系并不存在什么问题, 因为这种转性的雄鱼完全具备正常雄鱼的性机能。一尾成熟的成鱼可以连续使用若干年, 隔若干年后, 再以同样的方法把同一家系的部分幼鱼转为雄性, 即能使这个近交系不断地繁衍下去。

用雌核发育产生自交系的第二个途径是涉及第一次有丝分裂的抑制 (有丝分裂雌核发育)。Streisinger 等 (1981) 用物理方法获得斑马鱼纯合二倍体。由有丝分裂产生的单一雌性后裔应该是全部纯合的, 且遗传上是彼此一致的。但有丝分裂雌核发育较难试验成功, 而且将导致比极体雌核发育更为严重的自交衰退, 但它使得两个世代后产生纯合自交系成为可能, 而用同胞兄妹交配则需 8—10 个世代, 这样就大大缩短育种时间。

继抑制第一次有丝分裂而引起的雄核发育也导致纯合二倍体个体的产生。鱼类人工诱发雄核发育

表 1 人工诱发雌核发育二倍体的实例

鱼类名称	失活精子染色体的方法	抑制卵子染色体的方法	雌核发育二倍体的产量(%)	雌核发育二倍体倍体的性质	参考文献
泥鳅 (<i>Misgurnus fossilis</i>)	X射线, 200,000伦琴(R)	未受精或刚受精卵, 冷休克, 0.5—3.0℃, 3小时 刚受精卵, 热休克, 34℃, 4分钟	60 17	杂合 杂合	Romashov 与 Belyaeva, 1965b
鳊 (<i>Pleuronectes platessa</i>)	γ射线, 10,000—100,000拉德(rad) 拟庸鳊精子, 预先不用 γ射线辐射 拟庸鳊精子, 预先不用 γ射线辐射 拟庸鳊精子, 预先用 γ射线(100,000拉德)辐射	受精后20分钟, 冷休克, 0℃, 3小时 对照, 未进行任何休克处理 受精后10—20分钟, 冷休克, -0.5℃, 4小时	60 0 55 64.4	杂合 杂合 杂合	Purdum, 1969 Purdum 与 Lincoln, 1974
草鱼 (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	鳊鱼精子, 紫外线处理 γ射线, 100,000拉德	种间杂交 受精后5分钟, 冷休克, 4℃, 60分钟	3 23	自杂合	Stanley, 1976a Nagy 等, 1978
鲤鱼 (<i>Cyprinus carpio</i>)	X射线, 100,000伦琴 γ射线, 100,000拉德 γ射线, 150,000伦琴	刚排出的未受精卵, 冷休克, 8—9℃, 3小时半 受精后15分钟, 冷休克, 4℃, 60分钟 受精后5分钟, 冷休克, 4℃, 60分钟 受精卵发育至2细胞期以25ppm秋水仙素溶液浸泡30分钟	8 22.5 13.5 31.6	杂合 杂合 杂合 纯	Cherfas, 1975 Nagy 等, 1978 吴清江等, 1981
斑马鱼 (<i>Brachydanio rerio</i>)	紫外线	受精后17分钟先用2%乙醚处理5分半钟, 再以水静压(8,000磅/平方英寸)处理5分半钟, 然后继续用2%乙醚处理8分钟。	20	纯合	Streisinger 等, 1981
吊大马哈鱼 (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	γ射线, 100,000拉德	受精后10分钟, 冷休克, -0.5℃, 4小时	8.7	杂合	Reftstie 等, 1982
虹鳟 (<i>Salmo gairdneri</i>)	γ射线, 110,000—190,000拉德 γ射线, 185,000拉德 紫外线	受精后25分钟, 热休克, 26℃, 20分钟 受精后40分钟, 水静压, 7,000磅/平方英寸, 4分钟 受精后5小时50分钟, 水静压, 7,000磅/平方英寸, 3分钟 受精后40分钟, 水静压, 8,000磅/平方英寸, 10分钟	80 60 8.2 81	杂合 杂合 纯合 杂合	Chourrou 与 Quillet, 1982 Chourrou, 1984 Lou 与 Purdum, 1984

二倍体还没有成功,且对世代短鱼类来说,它可能不具备超过有丝分裂雌核发育的任何特殊优点。但对世代较长的鱼类来说,雄鱼可能比雌鱼成熟早或者可以诱发它提早成熟。因此,采用雄核发育自交系可以尽早得到育种结果,见效快。

应用激素将雌核发育原种雌性转变为功能性雄性也可获得高度自交的雄性。另外,它还可以用雄鱼与雌核发育雌鱼重复回交而得到(Nagy与Csányi, 1978)。

那么,雌雄自交系产生后如何进行经济杂交而获得杂种优势呢?有两个可能途径:(1)雌核发育雌性与无亲缘关系的远亲雄性之间的杂交(顶交的一种);(2)两个自交系的杂交。如果雄核发育(后裔具有全部父性遗传鱼类的产生)成为现实,则第2个途径才行得通。

参 考 文 献

- 吴清江、陈荣德、叶玉珍、柯鸿文(1981)。鲤鱼人工雌核发育及其作为建立近交系新途径的研究。遗传学报,8(1),50—55。
- 蒋一珪等(1983)。异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应。水生生物学集刊,8(1),1—16。
- Allen, S. K. & Stanley, J. G. (1981). Polyploidy and gynogenesis in the culture of fish and shellfish. Int. Counc. Explor. Sea Coop. Res. Rep. Ser. B. C. M. 1981/F: 2818 pp.
- Arai, K., Onozato, H. & Yamazaki, F. (1979). Artificial androgenesis induced with gamma irradiation in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 30(3), 181—186.
- Briggs, B. (1952). An analysis of the inactivation of the frog sperm nucleus by toluidine blue. J. Gen. Physiol. 35, 761—780.
- Cherfas, N. B. (1966). Natural triploidy in females of the goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Genetica 12(f), 16—24.
- Cherfas, N. B. (1975). Investigation of radiation-induced diploid gynogenesis in the carp (*Cyprinus carpio* L.). I. Experiments on the mass production of diploid gynogenetic offspring. Soviet Genetics 11(7), 867—874.
- Cherfas, N. B. (1977). Investigation of radiation-induced diploid gynogenesis in the carp (*Cyprinus carpio* L.). II. Segregation with respect to certain morphological traits in gynogenetic offspring. Soviet Genetics 13(5), 557—562.
- Cherfas, N. B. (1981). Gynogenesis in fishes. In "Genetic Bases of Fish Selection" (ed. by V. S. Kirpichnikov), pp. 263—273. Springer-Verlag, Berlin.
- Cherfas, N. B. & Truvellet, K. A. (1978). Investigation of radiation-induced diploid gynogenesis in the carp. III. Analysis of gynogenetic offspring with biochemical markers. Soviet Genetics 14(4), 412—417.
- Cherfas, N. B. & Ilyasova, V. A. (1980a). Induced gynogenesis in hybrids of silver crucian carp with carp. Soviet Genetics 16(7), 813—820.
- Cherfas, N. B. & Ilyasova, V. A. (1980b). Some results of studies on diploid radiation gynogenesis in carp *Cyprinus carpio* L. In "Karyological variability, Mutagenesis and Gynogenesis in Fishes", pp. 74—81. Institute of Cytology, USSR Academy of Sciences, Leningrad.
- Chourrout, D. (1980). Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Reprod. Nutr. Develop. 20(3A), 727—733.
- Chourrout, D. (1982). Gynogenesis caused by ultraviolet irradiation of salmonid sperm. J. Exp. Zool. 223, 175—181.
- Chourrout, D. (1984). Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: production of all-triploids, all-tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenesis. Aquaculture 36, 111—126.
- Chourrout, D., Chevassus, B. & Herioux, F. (1980). Analysis of an Hertwig effect in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) after fertilization with gamma-irradiated sperm. Reprod. Nutr. Develop. 20(3A), 719—726.

- Chourrout, D. & Quillet, E. (1982). Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies production of all-triploid populations. *Theor. Appl. Genet.* 63, 201-205.
- Gervai, J., Marian, T., Krasznai, Z., Nagy, A. & Csanyi, V. (1980a). Occurrence of aneuploidy in radiation gynogenesis of carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Biol.* 16, 435-439.
- Gervai, J., Peter, S., Nagy, A., Horvath, L. & Csanyi, V. (1980b). Induced triploidy in carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Biol.* 17, 667-671.
- Gillespie, L. L. & Armstrong, J. B. (1979). Induction of triploid and gynogenetic diploid axolotls (*Ambystoma mexicanum*) by hydrostatic pressure. *J. Exp. Zool.* 210, 117-122.
- Gillespie, L. L. & Armstrong, J. B. (1981). Suppression of first cleavage in the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*) by heat shock or hydrostatic pressure. *J. Exp. Zool.* 218, 441-445.
- Gold, J. R. (1979). Cytogenetics. In "Fish Physiology" (ed. by W. S. Hoar, D. J. Randall & J. R. Brett), Vol. 8, pp. 353-405. Academic Press, New York.
- Golovinskaya, K. A. (1968). Genetics and selection of fish and artificial gynogenesis of the carp (*Cyprinus carpio*). In "Proc. World Symp. on Warm-water Pond Fish Culture, Rome, 18-25 May 1966. (ed. by T. V. R. Pillay)", FAO Fish. Rep. 4(44), 215-222.
- Golovinskaya, K. A., Cherfas, N. B. & Tsvetkova, L. I. (1974). Results of evaluation of the reproductive function in gynogenetic common carp females. *Tr VNIIPRKII* 23, 20-26.
- Golovinskaya, K. A. & Romashov, D. D. (1966). Segregation for the scaling pattern during diploid gynogenesis in the common carp. *Tr VNIIPRKH* 14, 227-235.
- Golovinskaya, K. A., Romashov, D. D. & Cherfas, N. B. (1963). Radiation-induced gynogenesis in the common carp. *Tr VNIIPRKH* 12, 149-167.
- Gomelsky, B. I., Ilyasova, V. A. & Cherfas, N. B. (1979). Investigation of radiation-induced gynogenesis in carp (*Cyprinus carpio* L.). IV. Gonad state and evaluation of reproductive ability in carp of gynogenetic origin. *Soviet Genetics* 15(9), 1099-1105.
- Hertwig, O. (1911). Die Radiumkrankheit tierischer Kiemzellen. *Arch. Mikr. Anat.* 77, 1-97.
- Hoornebeek, F. K. & Burke, P. M. (1981). Induced chromosome number variation in the winter flounder. *J. Hered.* 72, 189-192.
- Hunter, G. A., Donaldson, E. M., Goetz, F. W. & Edgell, P. F. (1982). Production of all female and sterile groups of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and experimental evidence for male heterogamety. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111, 367-372.
- Ijivi, K. (1980). Gamma-ray irradiation of the sperm of the fish *Oryzias latipes* and induction of gynogenesis. *J. Radiation Res.* 21, 263-270.
- Ijiri, K. & Egami, N. (1980). Hertwig effect caused by UV-irradiation of sperm of *Oryzias latipes* (Teleost) and its photoreactivation. *Mutation Res.* 69, 241-248.
- Jones, P., Jackson, H. & Whiting, M. H. S. (1975). Parthenogenetic development after chemical treatment of *Xenopus laevis* spermatozoa. *J. Exp. Zool.* 192, 73-82.
- Lincoln, R. F., Auistad, D. & Grammeltvedt, A. (1974). Attempted triploid induction in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using cold shocks. *Aquaculture* 4, 287-297.
- Lindsley, D. L., Fankhauser, G. & Humphrey, R. R. (1956). Mapping centromeres in the axolotl. *Genetics* 41, 58-64.
- Lou, Y. D. (楼允东) & Purdom, C. E. (1984). Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 24, 665-670.
- Mantelman, I. I. (1980). First results obtained from usage of chemical mutagenes for producing gynogenetic progeny in the Siberian white fish, *Coregonus peled*. In "Karyological Variability, Mutagenesis and Gynogenesis in Fish", pp. 82-85. Institute of Cytology, USSR Academy of Sciences, Leningrad.
- Nace, G. W., Richards, C. M. & Asher, J. H. (1970). Parthenogenesis and genetic variability. I. Linkage and inbreeding estimations in the frog, *Rana pipiens*. *Genetics* 66, 349-368.
- Nagy, A., Bercsenyi, M. & Csanyi, V. (1981). Sex reversal in carp (*Cyprinus carpio*) by oral administration of methyltestosterone. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 725-728.

- Nagy, A. & Csanyi, V. (1978). Utilization of gynogenesis in genetic analysis and practical animal breeding. In "Increasing Productivity of Fishes by Selection and Hybridization" (ed. by F. Muller), pp. 16-30, Szarvas, Hungary.
- Nagy, A., Rajki, K., Horvath, L. & Csanyi, V. (1978). Investigation on carp, *Cyprinus carpio* L. gynogenesis. J. Fish Biol. 13, 215-224.
- Nagy, A., Rajki, K., Bakos, J. & Csanyi, V. (1979). Genetic analysis in carp (*Cyprinus carpio*) using gynogenesis. Heredity 43, 35-40.
- Neyfakh, A. A. (1956). The effect of ionizing radiation on gametes of the loach (*Misgurnus fossilis* L.). Dokl. Akad. Nauk SSSR 111(3), 585-588.
- Onozato, H. (1982). The "Hertwig effect" and gynogenesis in chum salmon *Oncorhynchus keta* egg fertilized with ⁶⁰Co gamma-ray irradiated milt. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 48(9), 1237-1244.
- Oppermann, K. (1913). Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfadern. Arch. Mikrosk. Anat. 83, 141-189.
- Purdom, C. E. (1969). Radiation-induced gynogenesis and androgenesis in fish. Heredity 24, 431-444.
- Purdom, C. E. (1976). Genetic techniques in flatfish culture. J. Fish. Res. Board Can. 33, 1088-1093.
- Purdom, C. E. (1983). Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. Aquaculture 33, 287-300.
- Purdom, C. E. & Lincoln, R. F. (1973). Chromosome manipulation in fish. In "Genetics and Mutagenesis of Fish" (ed. by J. H. Schroder), pp. 83-89, Springer-Verlag, Berlin.
- Purdom, C. E. & Lincoln, R. F. (1974). Gynogenesis in hybrids within the Pleuronectidae. In "The Early Life History of Fish" (ed. by J. H. S. Blaxter), pp. 537-544, Springer-Verlag, Berlin.
- Purdom, C. E., Thompson, D. & Dando, P. R. (1976). Genetic analysis of enzyme polymorphisms in plaice (*Pleuronectes platessa*). Heredity 37, 193-206.
- Refstie, T., Stoss, J. & Donaldson, E. M. (1982). Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock. Aquaculture 29(1), 67-82.
- Romashov, D. D. & Belyaeva, V. N. (1984). Gytology of radiation gynogenesis and androgenesis in the loach (*Misgurnus fossilis* L.). Dokl. Akad. Nauk. SSSR 157(4), 503-506.
- Romashov, D. D. & Belyaeva, V. N. (1965a). Analysis of diploidization induced by low temperature during radiation gynogenesis in loach. Tzitologiya 7(5), 607-615.
- Romashov, D. D. & Belyaeva, V. N. (1965b). The increase in the yield of diploid gynogenetic larvae in loach *Misgurnus fossilis* L. achieved by heat shocks. Bull. Mosc. O-va Isp. Prir. 60(5), 93-109.
- Romashov, D. D., Belyaeva, V. N., Golovinskaya, K. A. & Prokofyeva-Belgovskaya, A. A. (1961). Radiation damage of fishes. In "Radiation Genetics", pp. 247-266. USSR Academy of Sciences, Moscow.
- Romashov, D. D., Golovinskaya, K. A., Belyaeva, V. N., Bakulina, E. D., Pokrovskaya, G. L. & Cherkas, N. B. (1960). On radiation induced diploid gynogenesis in fishes. Biofizika 5(4), 461-468.
- Romashov, D. D., Nikolyukin, N. I., Belyaeva, V. N. & Timofeeva, N. A. (1963). Possibility of producing diploid radiation-induced gynogenesis in sturgeons. Radiobiologiya (Moscow) 3(1), 104-110.
- Schultz, R. J. (1980). Role of polyploidy in the evolution of fishes. In "Polyploid: Biological Relevance" (ed. by H. Lewis), pp. 313-340. Plenum Press, New York.
- Simon, R. C., Schill, W. B. & Kincaid, H. L. (1981). Causes and importance of genetic difference between groups of test fish. "International Symposium on Fish Biologies: Serodiagnostics and Vaccines. Developments in Biological Standardization, Vol. 49", pp. 267-272. S. Karger, Basel.
- Stanley, J. G. (1976a). Production of hybrid, androgenetic, and gynogenetic grass carp and carp. Trans. Am. Fish. Soc. 105, 10-16.
- Stanley, J. G. (1976b). Female homogamety in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) determined by gynogenesis. J. Fish. Res. Board Can. 33(6), 1372-1374.
- Stanley, J. G. (1979). Control of sex in fishes, with special reference to the grass carp. In "Proceedings of the Grass Carp Conference" (ed. by T. V. Shireman), pp. 201-242. Univ. of Florida, Gainesville.
- Stanley, J. G. (1981). Manipulation of developmental events to produce monosex and sterile fish. Rapp.

- P. -v. Revn. Cons. int. Explor. Mer. 178, 485-491.
- Stanley, J. G. (1983). Gene expression in haploid embryos of Atlantic salmon. *J. Hered.* 74, 19-22.
- Stanley, J. G. & Jones, J. B. (1976). Morphology of androgenetic and gynogenetic grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *J. Fish Biol.* 9, 523-528.
- Stanley, J. G. & Sneed, K. E. (1974). Artificial gynogenesis and its application in genetics and selective breeding of fishes. In "The Early Life History of Fish" (ed. by T. H. S. Blaxter), pp. 527-536. Springer-Verlag, Berlin.
- Stanley, J. G., Biggers, C. J. & Schultz, D. E. (1976). Isozymes in androgenetic and gynogenetic white amur, gynogenetic carp, and carp-amur hybrids. *J. Hered.* 67, 129-134.
- Stanley, J. G., Martin, J. M. & Jones, J. B. (1975). Gynogenesis as a possible method for producing monosex grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Prog. Fish-Cult.* 37(1), 25-26.
- Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D. & Singer, F. (1981). Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature (London)* 291, 293-296.
- Thompson, D. (1983). The efficiency of induced diploid gynogenesis in inbreeding. *Aquaculture* 33, 237-244.
- Thompson, D., Purdom, C. E. & Jones, B. W. (1981). Genetic analysis of spontaneous gynogenetic diploids in the plaice *Pleuronectes platessa*. *Heredity* 47, 269-274.
- Thorgaard, G. H. (1983). Chromosome set manipulation and sex control in fish. In "Fish Physiology", Vol. 9 (B) (ed. by W. S. Hoar, D. J. Randall & E. M. Donaldson), pp. 405-434. Academic Press, London.
- Tsai, R. M. (1969). Action of nitrosomethylurea and dimethylsulfate on the sperm cells of the rainbow trout and the peled. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* 189, 849-852.
- Tsai, R. M. (1972). Chemical gynogenesis in the rainbow trout and the peled. *Genetika (Moscow)* 8(2), 185-188.
- Tsai, R. M. (1981). Artificial mutagenesis and gynogenesis in carp breeding practice. *Soviet Genetics* 17(6), 734-738.
- Uwa, H. (1965). Gynogenetic haploid embryos of the medaka (*Oryzias latipes*). *Embryologia* 9, 40-48.
- Uyeno, T. (1972). Chromosomes of offspring resulting from crossing coho salmon and brook trout. *Japan. J. Ichtyol.* 19, 166-171.
- Volpe, E. P. (1970). Chromosome mapping in the leopard frog. *Genetics* 64, 11-21.
- Volpe, E. P. & Dasgupta, S. (1962). Gynogenetic diploids of mutant leopard frogs. *J. Exp. Zool.* 151, 287-301.
- Wolfarth, G. R., Moav, E. & Hulata, G. (1975). Genetic differences between the Chinese and European races of the common carp II. *Heredity* 84, 341-350.
- Yamamoto, T. (1964). The problem of viability of YY zygotes in the medaka, *Oryzias latipes*. *Genetics* 50, 45-48.
- Yamamoto, T. (1975). A YY male goldfish from mating estrone-induced XY female and normal male. *J. Hered.* 66, 2-4.
- Yamazaki, F. (1981). Chromosome variations in salmonids. Chromosomal aberration by overtipping and irradiation. *Kaiyo Kagaku* 13(1), 71-80.