

文章编号:1000 - 0615(2002)05 - 0465 - 07

综述 ·

## 海洋贝类雌核发育研究进展和展望

潘 英<sup>1,2</sup>, 李 琪<sup>1</sup>, 王如才<sup>1</sup>, 于瑞海<sup>1</sup>

(1. 青岛海洋大学国家教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 广西大学动物科技学院, 广西 南宁 530005)

关键词:海洋贝类;雌核发育;综述

中图分类号:S917 文献标识码:A

### Progress and perspectives of gynogenesis research in marine molluscs

PAN Ying<sup>1,2</sup>, LI Qi<sup>1</sup>, WANG Ru-cai<sup>1</sup>, YU Rui-hai<sup>1</sup>

(1. *The Key Laboratory of Mariculture Certificated by the Ministry of Education, Qingdao Ocean University, Qingdao 266003, China;*

*2. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China)*

**Abstract:** The paper summarized the progresses and achievements of the studies on the gynogenesis of the marine mollusks at home and abroad in recent years, and pointed out the study direction on gynogenetic shellfishes and 6-DMAP used as an ideal medicine for raising the induced rate of marine shellfish gynogenesis.

**Key words:** marine molluscs; gynogenesis; review

近三十年来,国内外海洋贝类的增养殖业发展迅速,因而以提高增养殖贝类产量和质量为主要目的的染色体组工程已成为海洋贝类育种的热点。有关贝类染色体组操作技术已有广泛的报道<sup>[1-2]</sup>,主要包括多倍体的人工诱导、雌核发育、雄核发育等相关研究,其中贝类多倍体的人工诱导及相关的基础和应用研究方面,已做了许多工作,进展迅速,并在诱导技术、苗种培育及产业化方面取得了很大进展,这些进展表明贝类的染色体操作技术已达到一个比较成熟的水平。然而,贝类雌核发育的研究相对要少得多,在国内几乎是空白。本文拟对国内外近十几年来有关贝类雌核发育发生机理、研究进展与现状作一综合评述,为今后进一步开展贝类雌核发育研究提供参考。

### 1 贝类人工雌核发育二倍体的研究历史及现状

人工诱导雌核发育 (artificially induced gynogenesis) 是指通过用物理或化学方法使遗传失活的精子激活卵,精子不参与合子核的形成,卵仅靠雌核发育形成胚胎的现象。在二倍体生物中这样的胚胎是单倍体,没有存活能力。通过阻止极体排出或卵裂使其恢复二倍性后,便成为具有存活能力的雌核发育二倍体。近十几年来,人工诱导雌核发育作为快速建立纯合系、克隆的有效手段受到各国学者的极大关注。通过该方法,已成功地培育出香鱼、牙鲆、真鲷、鲤、罗非鱼、鲟等经济鱼类的克隆品系<sup>[3-8]</sup>,为养殖新品种的开发以及性别决定机制、单性生殖等基础生物学研究提供了极为宝贵的素材。

然而,在海洋经济贝类方面,人工雌核发育的研究开展较晚,至今还没有取得完全成功。近年来,在美洲牡蛎

收稿日期:2001-12-27

资助项目:国家自然科学基金资助项目(30170735)

作者简介:潘 英(1968-),女,广西南宁人,讲师,博士研究生,主要从事贝类遗传育种研究。Tel:0532-2032873, E-mail:panying@ouqd.edu.cn

*Crassostrea virginica*<sup>[9,10]</sup>、太平洋牡蛎 *C. gigas*<sup>[11-14]</sup>、贻贝 *Mytilus edulis*<sup>[15]</sup>、地中海贻贝 *M. galloprovincialis*<sup>[16]</sup>、皱纹盘鲍 *Haliotis discus hannai*<sup>[17-20]</sup>、华贵栉孔扇贝 *Chlamys nobilis*<sup>[21]</sup>、虾夷扇贝 *Patinopecten yessoensis*<sup>[22]</sup>、合浦珠母贝 *Pinctada mantensis*<sup>[23]</sup>和侏儒蛤 *Mulinia lateralis*<sup>[24,25]</sup>等贝类,通过用人工失活精子的方法获得了雌核发育单倍体和二倍体胚胎。据统计,目前已有近 10 种海洋经济贝类进行了人工诱导雌核发育的研究(详见表 1),其中双壳类 8 种,腹足类 1 种。1992 年以后,人工诱导贝类雌核发育二倍体取得了突破性进展,美国、日本的学者分别在太平洋牡蛎<sup>[12,14,26]</sup>、皱纹盘鲍<sup>[18,20]</sup>、贻贝<sup>[15]</sup>和地中海贻贝<sup>[16]</sup>中成功诱导并获得了具有生活力的雌核发育二倍体,但还没有培育到成体的报道。有关贝类雌核发育二倍体诱导的细胞学机制和有效诱导程序还没有像鱼类那样建立起来。在国内,迄今未见有二倍体化的贝类雌核发育个体存活的报道。

## 2 人工诱导贝类雌核发育二倍体的方法和原理

贝类雌核发育二倍体人工诱导可以通过两个步骤实现,即精子染色体的遗传失活以及卵子染色体的二倍体化。

### 2.1 精子染色体的遗传失活

贝类雌核发育的有效诱导需要精子的遗传失活和较高的卵子受精率。目前使贝类精子染色体遗传失活的方法主要是采用辐射处理。到目前为止,已经被成功使用的辐射处理包括 射线、x 射线以及紫外线(ultraviolet,UV)。在人工诱发雌核发育二倍体时,必须解决精子的辐射剂量和处理受精卵的开始时间这两个关键问题<sup>[27]</sup>。选择一个合适的剂量使精子染色体完全失活而不影响其受精能力,才能得到雌核发育单倍体胚胎。Stiles<sup>[9]</sup>用 10 000R 的 X 射线失活美洲牡蛎精子 DNA,结果激活 66% 卵成熟发育。各种辐射处理各具有优缺点。用 UV 处理使精子遗传失活因其有效性及便利性被广泛地用于雌核发育的人工诱导。此外,UV 还有照射后精核染色体碎片少的优点<sup>[28]</sup>。其作用机理主要是 精子 DNA 经紫外线照射后形成胸腺嘧啶二聚体(thymine dimers),使 DNA 双螺旋的两链间的氢键减弱,从而使 DNA 结构局部变形,阻碍 DNA 的正常复制和转录<sup>[29]</sup>。

贝类卵子也有与鱼卵相似的“Hertwig 效应”。Guo 等<sup>[12]</sup>、Arai 等<sup>[17]</sup>、许国强等<sup>[23]</sup>分别在太平洋牡蛎、皱纹盘鲍、合浦珠母贝的早期胚胎存活率中观察到“Hertwig 效应”的存在。适量 UV 处理并未影响精子的受精能力,但随着 UV 照射时间的增加,卵的受精率明显降低<sup>[12,15,17,19]</sup>,表明精子激活卵子的能力随着 UV 照射剂量的增加而降低。这一现象与鱼类有所不同,可能与贝类受精机制及精子对紫外线照射的敏感性与鱼类不同有关<sup>[14]</sup>。Kijima<sup>[19]</sup>认为 UV 照射对精子遗传失活的影响不仅表现在精核的染色体组上,而且还在于精子顶体结构的破坏。UV 照射还可能引起精子鞭毛中微管纤维的解聚<sup>[30]</sup>。李琪等<sup>[14,20]</sup>认为紫外线照射会破坏精子顶体和鞭毛的结构,其破坏程度与紫外线照射强度存在正相关的关系,并指出 UV 照射引起的精子顶体破坏和鞭毛脱落是受精率降低的原因。使贝类精子遗传失活的 UV 照射最佳剂量因种类、精液的浓度和体积以及紫外线强度而异。获得雌核单倍体是人工诱发雌核二倍体的关键。

### 2.2 卵子染色体的二倍体化

用遗传失活的精子与卵子受精,发育出来的胚胎通常为单倍体。贝类雌核发育单倍体通常表现为胚胎发育速度变慢,并且一般在 D 形幼虫前停止发育或死亡。因此,要获得具有生存能力的雌核发育二倍体,除失活精子之外,还必须恢复卵子染色体的二倍性。

#### 2.2.1 诱导原理

与鱼类不同,海洋贝类排出的成熟卵停留在第一次成熟分裂(MI)的前期或中期<sup>[31]</sup>,只有在受精或经精子激活后卵子才完成 MI 和第二次成熟分裂(M<sub>II</sub>),释放出第一极体(PB1)和第二极体(PB2)。贝类雌核发育二倍体的人工诱导原理就是在第一次或第二次成熟分裂时采用物理或化学方法通过抑制第一和第二极体的排放或第一次卵裂,使得卵核染色体加倍,形成二倍体的卵核,从而发育成为雌核发育二倍体个体。在诱导贝类雌核发育二倍体的过程中,由于遗传物质完全来源于母体,则雌核发育后代的纯合程度将因二倍化的情况不同,存在以下三种情况:1)若二倍化是由于阻止了第一极体的形成和排出,则导致 2/3 甚至几乎 100% 的杂合后裔<sup>[32]</sup>;2)若二倍化是由于阻止第二极体的形成和排出,该雌核发育二倍体的遗传物质是由雌性原核和第二极体的再融合构成的,基因的纯合性较高,但仍有些基因处于杂合状态,杂合程度取决于第一次成熟分裂期间的基因互换频率;3)若二倍化是阻止第一次卵裂,使本应分属于两个单倍体细胞的染色体重新融合为二倍体,则由此发育起来的二倍体由于不含有第一极体或第二极体的遗传成分,每一对同源染色体中的一条是以另一条为模板如复制而得到,故所有的基因都处于纯合状态,是理想的纯合体,可直接用于建立纯系<sup>[33]</sup>。在后代染色体的纯合程度方面,因三种方法存在着各自的差异,因此将人工诱导雌核发育分为两种类型:一种是抑制第

一、二极体排放,称为减数分裂( )型雌核发育(Meiotic-G2N)或极体抑制型雌核发育、杂合子雌核发育;另一种是阻止第一次卵裂(有丝分裂),称为有丝分裂型雌核发育(Mitotic-G2N)或第一次卵裂抑制型雌核发育、纯合子雌核发育。两者比较,有丝分裂型雌核发育由于通过阻止第一次卵裂,可在当代产生纯合二倍体,下一代如重复雌核发育便形成克隆品系;而减数分裂型雌核发育只做到部分纯合,要经过多代连续雌核发育才有可能建立纯合度较高的品系<sup>[34]</sup>。因此,有丝分裂型雌核发育比减数分裂型雌核发育的研究价值要大得多,但也困难得多。近年来 Meiotic-G2N 在皱纹盘鲍<sup>[18,20]</sup>、太平洋牡蛎<sup>[11,14]</sup>、贻贝<sup>[15]</sup>及地中海贻贝<sup>[16]</sup>等有过相关报道,而有存活力的 Mitotic-G2N 个体始见于 Guo<sup>[12]</sup>、李琪等<sup>[20,25,35]</sup>的报道。

### 2.2.2 诱导方法

目前人工诱导贝类雌核发育二倍体的方法主要有物理方法和化学方法(表 1)。物理方法主要采用温度休克处理,化学方法主要是用一些化学诱导剂,如细胞松弛素 B(cytochalasin B,CB)、秋水仙素(colchicine)、6-二甲氨基嘌呤(6-DMAP)以及咖啡因(cafeine)。

表 1 不同方法诱导各种海洋经济贝类雌核发育二倍体

Tab.1 Marine shellfish gynogenesis diploids induced by various methods

贝类种名 Species	失活精子染色体的方法 methods of genetic inactivation of sperm	加倍卵子染色体的方法 methods of doubling egg chromosomes	诱导结果 induction results	文献 references
美洲牡蛎 ( <i>Crassostrea virginica</i> )	- 射线(10 000R) UV254nm,1.5~4min,8W/支		激活 66% 卵至 第一次卵裂 50% 卵发育至 GN	[9] [10]
太平洋牡蛎 ( <i>Crassostrea gigas</i> )	UV254nm,5.5min, 1 080 $\mu$ W $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$	CB 1.0mg $\text{L}^{-1}$ ,抑制 PB2	28% G2N,8.9% G4N 且 G2N 4.0%,存活至 10 个月	[12]
	UV		G2N,未成活。	[11]
	UV		GN	[13]
	UV254nm,60s,72erg $\text{mm}^{-2} \text{s}^{-1}$	CB 0.5 $\mu$ g $\text{mL}^{-1}$ , 咖啡因(10mmol $\text{L}^{-1}$ ,32 ), 抑制 PB2	Meiotic-G2N 63.7~74.6%, Mitotic-G2N 25.4%,其中 0.002~0.4%附着变态	[14]
地中海贻贝 ( <i>Mytilus galloprovincialis</i> )	UV254nm,2min,620 $\mu$ W $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$	CB1mg $\text{L}^{-1}$ ,抑制 PB2	GN 30%~88%、 G2N 50.7%、G4N1.2%	[16]
贻贝 ( <i>Mytilus edulis</i> )	UV254nm,15min	CB 0.5 mg $\text{L}^{-1}$ ,抑制 PB1、 PB2 或第一次卵裂	G2N 100%,未存活	[15]
侏儒蛤 ( <i>Mulinia lateralis</i> )	UV	CB 抑制 PB2 或 第一次卵裂	54% G2N 达到 2 细胞期, 存活 1d	[24]
	UV 1 400 $\mu$ W $\text{cm}^{-2}$ ,15min	CB 0.5mg $\text{L}^{-1}$ ,抑制 PB2	G2N 存活率 0.7%、 发育至 3 个月性成熟	[25]
合浦珠母贝 ( <i>Pinctada martensii</i> )	UV 254nm,120s,4 $\mu$ W $\text{cm}^{-2}$	CB 0.1mg $\text{L}^{-1}$ ,15min, 抑制 PB2	GN 98.0%,G2N 74%, 孵化率为 2.1%	[23]
华贵栉孔扇贝 ( <i>Chlamys nobilis</i> )	UV254nm,20s,1 140 $\mu$ W $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$		GN 80.92%	[21]
虾夷扇贝 ( <i>Patinopecten yessoensis</i> )	UV254nm,50~60s,720 $\mu$ W $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$		GN	[22]
皱纹盘鲍 ( <i>Haliotis discus hannai</i> )	UV		导致 GN 和非整倍体 幼虫出现(52h)	[17]
	UV254nm,20s,1 200 erg $\text{mm}^{-2}$	冷休克 3 ,15min, 抑制 PB2	G2N 50%~60%,存活至 6 个月	[18]
	UV			[19]
	UV254nm,20s,720 $\mu$ W $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$	CB 0.5 $\mu$ g $\text{mL}^{-1}$ ,20min, 抑制 PB2 和第一次卵裂; 咖啡因抑制 PB2	Meiotic-G2N 76.7%, Mitotic-G2N 40.6%至附着变态	[20]

注:GN 雌核发育单倍体;G2N 雌核发育二倍体;G4N 雌核发育四倍体

Notes :GN gynogenetic haploid;G2N gynogenetic diploid; G4N gynogenetic tetraploid

温度休克:通常采用高温或低温抑制卵子的第一或第二极体排放,进而达到卵子染色体加倍的目的。Fujino 等<sup>[18]</sup>采用冷休克(3 )处理 15min,阻止 PB2 排出而获得皱纹盘鲍 G2N。

咖啡因—热休克:咖啡因的作用效果在于提高细胞内的  $Ca^{2+}$  浓度。由于微管对  $Ca^{2+}$  浓度非常敏感,当  $Ca^{2+}$  浓度极低或高于  $10^{-3}$  时,会引起微管二聚体的解聚,阻止分裂。李琪等<sup>[14,20]</sup>利用咖啡因( $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) - 高温(32 )处理可以有效地抑制第二极体释放,产生太平洋牡蛎、皱纹盘鲍 G2N,但未获得存活的雌核二倍体个体;并认为咖啡因处理阻止了核分裂和胞质分裂,导致二倍性雌性原核的形成。

CB 处理:CB 作为一种抑制细胞分裂而不影响染色体复制和分离的真菌类代谢产物,只有在核分裂后期进行处理,才能起到抑制极体排放或卵裂的作用。目前 CB 在贝类雌核发育人工诱导中应用最广泛。CB 的使用浓度及处理时间因种类而异。至今,采用 CB 处理阻止 PB2 释放或第一次卵裂的方法已成功地获得了一些贝类的 Meiotic-G2N<sup>[14-16,18,20]</sup> 或 Mitotic-G2N 胚胎<sup>[12,20,26,35]</sup>。此外,李琪等<sup>[14]</sup>、Guo 等<sup>[36]</sup>采用 CB 处理同时阻止 PB1 和 PB2 排出的方法还产生了高比例的太平洋牡蛎雌核发育四倍体(G4N)胚胎,但到 2 月龄时,再没有检测出四倍体存在。因此,G4N 是通过第一、二极体同时抑制产生的。等位基因酶分析表明<sup>[37]</sup>,太平洋牡蛎雌核发育二倍体仍有较高的杂合度,表明 Meiotic-G2N 并非是一个适合近交系快速建立的有效手段。

另外,贝类雌核发育诱导过程中也报道出现大量的非整倍体<sup>[12,15-18,19,22,23,38,39]</sup>,这可能是由于 UV 低剂量造成精核染色体部分失活<sup>[23]</sup>或精核 DNA 修复造成的结果<sup>[38]</sup>。

6-DMAP:近年来,采用 6-DMAP 处理也能抑制细胞分裂,使染色体加倍,在贝类多倍体诱导中获得了成功,但在诱导雌核发育二倍体贝类方面还未见报道。6-DMAP 作为一种嘌呤类似物,抑制蛋白质磷酸化,通过作用于特定的激酶,破坏微管的聚合中心,使微管不能形成,从而抑制极体的形成和释放。6-DMAP 是一种非致癌剂,价格也比 CB 便宜,今后是一种很有应用前景的贝类雌核发育诱导剂。

此外,姜卫国等<sup>[40,41]</sup>报道珠母贝属种间杂交得到的为数不多的杂交后代可能来自雌核发育。

### 3 倍性检测

由于人工失活精子的处理并非百分之百成功,因而当雌核发育二倍体产生的时候,必须有充分的证据证明精子在雌核发育中对胚胎确实没有提供遗传物质。由此才能对精子失活以及雌核发育的百分率有个精确的了解。倍性检测结果可以作为判断诱导有效性的一种技术指标。染色体倍性的检测方法主要有染色体计数法和使用仪器检测的方法。在仪器检测中,流式细胞计数法使用流式细胞仪(flow cytometry)快速鉴定倍性的有效性得到了广泛的认可。另外,显微荧光光度计(microfluorometry)通过测定荧光的强度,比较 DNA 的相对含量,以确定其倍性。该法提供了一个快捷而可靠地检测倍性的途径,对雌核发育二倍体的倍性确定显得尤其重要<sup>[14,15]</sup>。此外,采用电泳校准法(electrophoretic verification)进行等位酶分析对今后的雌核发育倍性研究是必要的<sup>[37]</sup>。

### 4 雌核发育贝类的生物学特性

总的来说,由于雌核发育所产生的后裔是纯合的或高度纯合的,因此它与正常受精所得到的胚胎相比发育速度变慢,成活率低。Scarpa 等<sup>[16]</sup>认为地中海贻贝 G2N 幼虫的个体大小总是小于对照组,且其附着变态的时间也迟于对照组大约 3 周。Fujino 等<sup>[18]</sup>报道皱纹盘鲍 G2N 与正常 2N 相比,在大小上存在较大差异。而太平洋牡蛎 Meiotic-G2N 发育至 8 月龄时,与对照组之间在大小上无太大差别<sup>[37]</sup>。此外,Guo 等<sup>[25]</sup>发现侏儒蛤 G2N 发育至 3 月龄(已成熟)时,雌核发育个体与正常雌性个体间,在长度和重量上无显著差别,表明近交衰退对有丝分裂(M)雌核发育影响很小。根据已报道的研究结果,雌核发育二倍体侏儒蛤性腺发育至 3 个月大部分个体均可观察到配子,且雌核发育怀卵量( $2.4 \times 10^5$ )比普通二倍体( $3 \times 10^5$ )的少,相对生殖力为 79%。其卵径( $48.6 \pm 3.1\mu\text{m}$ )与普通二倍体( $49.1 \pm 3.1\mu\text{m}$ )相当。Guo 等<sup>[25]</sup>在进行侏儒蛤的雌核发育诱导时发现,至个体达性成熟时,所有雌核发育二倍体均为雌性,说明了侏儒蛤中雌性是同型配子(XX)形成的,由此提出侏儒蛤的性别决定类型属于 XX( ) - XY( )型。这可能是首次在贝类中发现的性别决定类型。由于目前存活的 G2N 个体很少,对贝类雌核发育二倍体的生物学性状只是进行了初步的观察。有关雌核发育贝类的生长、发育及后代的能育性问题还有待今后深入研究。

### 5 雌核发育的细胞学研究

近年来,国外一些学者在贝类雌核发育发生机理、细胞学研究方面取得了一系列突破性进展,从而提供了贝类雌核发育的细胞学证据。李琪等<sup>[39]</sup>在太平洋牡蛎 G2N 研究中表明,紫外线照射可以有效地使精子失活,UV 不仅可破坏精子遗传物质还可使精子入卵后行为发生变化。UV 照射的精子入卵后虽然与正常精子一样发育成雄性原核,但在第一卵裂

中期,该雄性原核没有像雌性原核那样形成染色体而是浓缩为一染色质小体(DCB),游离在细胞质中,不参与核分裂<sup>[10,14-16]</sup>。胞质分裂结束时,DCB 游离于卵裂球中或滞留在卵裂沟上<sup>[14]</sup>。雌性原核和雄性原核没有像鱼类那样相互融合形成合子核,而是在各自浓缩后进行染色体混合,进而形成第一次卵裂的中期分裂相<sup>[22]</sup>。与正常卵相比,UV 照射并没有影响成熟分裂以及雌性原核的形成,但使雌核卵的发育速度出现明显的滞缓<sup>[23,38,42]</sup>,表明抑制极体或卵裂产生三倍体的最佳时机并非适用于 G<sub>2</sub>N 的诱导。

## 6 雌核发育在贝类遗传育种中的意义和应用

在贝类遗传育种学的研究中,贝类人工雌核发育有着十分广泛的应用前景,如快速建立纯系并通过纯系间杂交选育个体大、生长快和抗逆性强的优良新品种<sup>[27,43]</sup>;基因定位<sup>[34]</sup>;基因-着丝点重组<sup>[17,18,44]</sup>、贝类性别的遗传控制<sup>[25]</sup>及其它贝类基础遗传学研究,其成果具有重要的学术意义和应用价值。

## 7 存在问题及展望

在海洋经济贝类方面,至今还没有成功培育出雌核发育二倍体成体的报道。与普通二倍体和三倍体相比,贝类雌核发育二倍体存活率较低,通常认为是近交衰退造成的。但 Guo 等<sup>[12]</sup>认为经 UV 照射的精子 DNA 片段受损造成的遗传损伤可能是存活率下降的潜在原因。目前,贝类雌核发育二倍体的人工诱导非常困难,主要原因在于贝类雌核发育二倍体的生存率很低。作者认为这可能是由于(1)贝类含有的隐性致死或有害基因比鱼类多,因而诱发的雌核发育后代难存活;(2)经 UV 照射的精子本身虽不能参与细胞分裂,但精核仍残留在卵内,可能对卵的正常发育产生不利的影响,从而使 G<sub>2</sub>N 生存率降低。因此,在今后的雌核发育诱导中,进一步研究贝类雌核发育的诱导机制,精子超微结构变化与照射条件之间的关系可有效地提高贝类雌核发育的诱导效率;同时,进一步探讨贝类精子最佳失活及卵子染色体加倍条件将有助于改善贝类雌核发育二倍体的存活率。与贝类多倍体研究相比,贝类雌核发育的研究工作开展较晚,仍有许多问题需要深入探讨。如何提高雌核二倍体的诱导率及孵化率,培育出贝类雌核发育二倍体个体,仍是下一步研究所必须解决的问题及今后研究的重点。此外,G<sub>2</sub>N 对环境条件的耐受能力、抗病性、在不同养殖条件下的表现等生产和生物学性状尚待今后进一步深入研究。

张全启教授、王昭萍副教授、郑小东博士给本文提出了宝贵的修改意见,在此一并表示衷心感谢。

### 参考文献:

- [1] Allen Jr S K. Genetic manipulations-critical review of methods and performances for shellfish[A]. Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture (Vol. 2) [M]. H Heenemann GmbH & Co, Berlin, Germany, 1987. 127 - 143.
- [2] Ihssen P E, Mckay L R, McMillan I, et al. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: cytogenetic and fisheries applications[J]. Trans Amer Fish Soc, 1990, 119:698 - 717.
- [3] Lou Y D, Purdom C E. Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson[J]. J Fish Biol, 1984, 24:665 - 670.
- [4] Han H, Taniguchi N, Tsujimura A. Production of clonal ayu by chromosome manipulation and confirmation by isozyme marker and tissue grafting [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1991, 57: 825 - 832.
- [5] Yamamoto E. Studies on sex manipulation and production of cloned populations in hirame, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquac, 1999, 173: 235 - 246.
- [6] Kado K. Breeding and biotechnology of aquaculture species. Red sea bream[J]. Youshoku (in Japanese), 1999, 36 (8): 70 - 74.
- [7] Arai K. Chromosome manipulation[A]. Fish DNA: Molecular Genetic Approaches (in Japanese) [M]. Koseisha-Koseikaku, Tokyo, 1997. 32 - 62.
- [8] Pandian T J, Kootheswaran R. Ploidy induction and sex control in fish [J]. Hydrobiologia, 1998, 384:167 - 243.
- [9] Stiles S. Conventional and experimental approaches to hybridization and inbreeding research in the oyster [A]. Proc 9th Ann Mtg World Mariculture Soc[C]. 1978, 577 - 586.
- [10] Stiles S, Cromanski J, Longwell A. Cytological appraisal of prospects for successful gynogenesis, parthenogenesis, and androgenesis in the oyster [A]. Int Council for the Exploration of the Sea, Mariculture Committee Paper[C]. 1983, F:10.
- [11] Ma A P H. Gynogenesis induction in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) using ultraviolet light and cytochalasin B[D]. University of Washington, Seattle, USA. 1987.
- [12] Guo X, Hershberger W K, Cooper K, et al. Artificial gynogenesis with ultraviolet light-irradiated sperm in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*

- I. Induction and survival[J]. Aquac, 1993, 113: 201 - 214.
- [13] Goswami U. Induction of gynogenetic haploidy in oyster *Crassostrea gigas*, using ultraviolet irradiated sperm[J]. Indian J Mar Sci, 1993, 22: 146 - 148.
- [14] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Induction of gynogenetic diploids and cytological studies in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Suisanzoshoku, 2000, 48(2): 185 - 191.
- [15] Fairbrother J E. Viable gynogenetic diploid *Mytilus edulis* (L.) larvae produced by ultraviolet light irradiation and cytochalasin B shock[J]. Aquac, 1994, 126: 25 - 34.
- [16] Scarpa J, Komaru A, Wada K T. Gynogenetic induction in the mussel, *Mytilus galloprovincialis* [J]. Bull Natl Res Inst Aquac, 1994, 23: 33 - 41.
- [17] Arai K, Naito F, Sasaki H, et al. Gynogenesis with ultraviolet ray irradiated sperm in Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1984, 52(3): 417 - 422.
- [18] Fujino K, Arai K, Iwadare K, et al. Induction of gynogenetic diploid by inhibiting 2nd meiosis in the Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1990, 56: 1755 - 1763.
- [19] Kijima A. Effect of UV irradiation on genetic inactivation of sperm using marketing tissue culture petri dish in the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Agric Res, 1992, 42: 73 - 81.
- [20] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Effects of ultraviolet irradiation on genetical inactivation and morphological structure of sperm of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Agricul Res, 1999, 50(1 - 2): 1 - 10.
- [21] Goswami U. Sperm density required for inducing gynogenetic haploidy in scallop *Chlamys nobilis* [J]. Indian J Mar Sci, 1991, 20: 255 - 258.
- [22] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Effects of ultraviolet irradiation on genetical inactivation and morphological structure of sperm of the Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis* [J]. Aquac, 2000, 186 (3 - 4): 233 - 242.
- [23] Xu G Q, Lin Y G, Li G, et al. A preliminary study on the induction of gynogenetic diploid and "Hertwig effect" in pearl oyster *Pinctada martens* [J]. Tropic Oceanology, 1990, 9 (2): 1 - 7. [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.]
- [24] Scarpa J, Bolton E T. Experimental production of gynogenetic and parthenogenetic *Mulinia laterlis* (Say) [J]. Shellfish Res, 1988, 7: 132 (Abstract).
- [25] Guo X, Allen S K Jr. Sex determination and polyploid gigantism in the dwarf surfclam (*Mulinia lateralis* Say) [J]. Genetics, 1994, 138: 1199 - 1206.
- [26] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Gynogenetic diploids induced by suppression of first cleavage in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Fish Genetics and Breeding Science, 2000, 29: 37 - 48.
- [27] Purdom C E. Genetic engineering by the manipulation of chromosomes [J]. Aquac, 1983, 33: 287 - 300.
- [28] Arai K, Fujino N, Kawamura M. Estimating rate of gene-centromere recombination at eleven isozyme loci in the *Salvelinus species* [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1991, 57, 1043 - 1055.
- [29] Lou Y D. Artificial gynogenesis and its application in genetics and aquaculture [J]. J Fish China, 1986, 10 (1): 111 - 123. [楼允东. 人工雌核发育及其在遗传学和水产养殖上的应用[J]. 水产学报, 1986, 10 (1): 111 - 123.]
- [30] Don J, Avtalion R R. Ultraviolet irradiation of tilapia spermatozoa and the Hertwig effect: electron microscopic analysis [J]. J Fish Biol, 1993, 42: 1 - 14.
- [31] Ahmed M. Cytogenetics of oysters [J]. Cytologia, 1973, 38: 337 - 347.
- [32] Lou Y D. Fish breeding [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. [楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.]
- [33] Wu Z Q. Genetics and breeding in aquaculture [M]. Xiamen: Xiamen University Press, 2000. [吴仲庆. 水产生物遗传育种学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2000.]
- [34] Fan Z T, Song S X. Gynogenesis, androgenesis and hybridogenesis in fishes [J]. J Fish China, 1993, 17 (2): 179 - 187. [范兆廷, 宋苏祥. 鱼类的雌核发育、雄核发育和杂种发育[J]. 水产学报, 1993, 17(2): 179 - 187.]
- [35] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Artificially induced gynogenetic diploid in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Fish Genetics and Breeding Science, 1999, 28: 85 - 94.
- [36] Guo X, Hershberger W K, Cooper K, et al. Genetic consequences of blocking polar body I with cytochalasin B in fertilized eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Segregation of chromosomes [J]. Biol Bull, 1992, 183: 387 - 393.
- [37] Guo X, Gaffney P M. Artificial gynogenesis with ultraviolet light - irradiated sperm in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Allozyme inheritance and early growth [J]. Heredity, 1993, 84: 311 - 315.
- [38] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Cytological studies on artificially induced gynogenesis in the Pacific abalone [J]. Fisheries Science, 2000, 66(4): 701 - 707.
- [39] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Effects of ultra-violet irradiation on genetical inactivation and morphological features of sperm of the

- Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Fisheries Science, 2000, 66(1):91 - 96.
- [40] Jiang W G, Wei Y Y, Li G. Studies on the cultivated interspecific hybridizations between pairs of *Pinctada fucata*, *P. chemnitzii* and *P. maxima*. Observation on the chromosomes of fertilization and hybrids[J]. Tropic oceanology, 1983,2(4):316 - 320. [姜卫国, 魏贻尧, 李刚. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究——受精过程和杂交后代的染色体观察[J]. 热带海洋,1983,2(4):316 - 320.]
- [41] Li G, Jiang W G, Wei Y Y. Studies on the cultivated interspecific hybridizations between pairs of *Pinctada fucata*, *P. chemnitzii* and *P. maxima*. Comparative study on zymograms[J]. Tropic Oceanology, 1983,2(4):321 - 328. [李刚, 姜卫国, 魏贻尧. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究——同工酶谱的比较研究[J]. 热带海洋,1983,2(4):321 - 328.]
- [42] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Cytological observations on nuclear behavior in normal and gynogenesis eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*[J]. Suisanzoshoku, 2000, 48(2):193 - 198.
- [43] Zhang S C, Fan X, Ma J Y. Marine biotechnology principles and applications[M]. Beijing: China Ocean Press, 1998. [张士瑾, 范晓, 马军英. 海洋生物技术原理和应用[M]. 北京:海洋出版社,1998.]
- [44] Wu C J, Gui J F, Cui Z B, et al. Fish genetics and breeding engineering[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1999. [吴清江, 桂建芳, 崔宗斌, 等. 鱼类遗传育种工程[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999.]

## · 会 讯 ·

### 第五届国际鲍鱼研讨会将于 2003 年在青岛举行

由国际鲍鱼协会主办、青岛海洋大学承办的第五届国际鲍鱼研讨会,将于 2003 年 4 月 20 - 25 日在青岛举行。本次研讨会的议题包括鲍鱼的生物学、渔业、养殖和病虫害防治等方面。有关科学研究成果在实践中成功应用的论文将受到特别的欢迎。一些在鲍鱼的生物学、渔业、养殖和市场营销等方面的国际著名专家将就研讨会各项议题做大会或专题报告。

研讨会现诚征有关上述议题的论文。请在 2002 年 12 月 31 日前将摘要以附件形式通过电子邮件投寄至 [abalone2003@hotmail.com](mailto:abalone2003@hotmail.com) 或 [ab2003@ouqd.edu.cn](mailto:ab2003@ouqd.edu.cn), 请同时提供通讯作者的详细地址、电话、传真和 E-mail。

#### 会议议题:

1. 国际鲍鱼市场情况;2. 鲍鱼渔业及其管理;3. 鲍鱼养殖技术;4. 稚鲍生物学及附着;5. 鲍鱼病理学和疾病防治;6. 鲍鱼营养学和饲喂技术 7. 鲍鱼遗传学和育种;8. 鲍鱼生理学、生物化学及生物技术;9. 鲍鱼的采收和加工。

#### 其它活动:

1. 各种专题讨论会(包括鲍鱼的病虫害防治等);2. 鲍鱼相关产品及贸易展览(技术及相关产品、设备、药品、鲍苗、鲍鱼及加工产品等);3. 与鲍鱼相关的参观游览。

#### 通讯地址:

青岛市鱼山路 5 号,青岛海洋大学水产学院营养与饲料研究室

邮编:266003

联系人:张文兵

电话:86 - 532 - 8977629;2032495

传真:86 - 532 - 8978076/2032495

E-mail: [abalone2003@hotmail.com](mailto:abalone2003@hotmail.com); [ab2003@ouqd.edu.cn](mailto:ab2003@ouqd.edu.cn)



ABALONE 2003, 中国·青岛