

文章编号:1000-0615(2007)05-0583-08

## 6-DMAP 诱导栉孔扇贝雌核发育二倍体机理研究

杨凤影<sup>1,2,3</sup>, 杨爱国<sup>1</sup>, 刘志鸿<sup>1</sup>, 周丽青<sup>1</sup>, 毛连菊<sup>2</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 山东 青岛 266071;

2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;

3. 辽宁医学院动物科学技术学院, 辽宁 锦州 121001)

**摘要:**采用多聚甲醛固定、免疫荧光染色的方法,在荧光显微镜下对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)正常发育受精卵和6-DMAP第二极体抑制型雌核发育卵受精过程中纺锤体变化以及雌雄原核的移动过程进行了观察。结果显示,正常发育受精卵内微管能聚合形成纺锤体并牵引中期染色体移向两极,依次排出第一极体、第二极体,雌雄原核融合为合子核,进行第一次卵裂。雌核发育受精卵内,随6-DMAP处理时间的延长,星体微管消失,纺锤体被拉长变得扁平,最终导致中期纺锤体解散,第二极体的形成被抑制;6-DMAP处理过程中,受精卵中的精核始终处于皮层区域,不能形成雄原核,雌原核和精核几乎不移动,去除6-DMAP后,雌原核和精核恢复移动,但移动速度与对照组相比要慢。

**关键词:**栉孔扇贝; 6-DMAP; 免疫荧光染色; 纺锤体

中图分类号: S 917

文献标识码: A

## The study on mechanism of gynogenetic diploids with 6-DMAP in the scallop, *Chlamys farreri*

YANG Feng-ying<sup>1,2,3</sup>, YANG Ai-guo<sup>1</sup>, LIU Zhi-hong<sup>1</sup>, ZHOU Li-qing<sup>1</sup>, MAO Lian-ju<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Yellow Sea Fisheries

Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. School of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023;

3. Collage of Animal Science and Technology, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001)

**Abstract:** The effects of 6-DMAP on assembly of microtubules and pronuclear migration between normal and gynogenetic fertilized eggs of *Chlamys farreri* were studied carefully by direct immunofluorescence with anti-tubulin. According to observation, chromosomes were segregated by spindle, the first and the second polar bodies were emitted and the female and the male pronuclei fused into zygotonucleus in normal eggs. Treatment of eggs at metaphase-anaphase stages caused drastic modifications of the spindle organization. The anti-tubulin staining revealed that soon after addition of 60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  6-DMAP, outward astral fibers were no longer detected, whereas the spindle showed elongation and flattening. Finally 6-DMAP induced a significant disorganization of the spindle at the metaphase of meiosis II, the formation of the second polar body was inhibited effectively. The fertilized eggs raised in the presence of 6-DMAP did not show any

收稿日期: 2006-09-11

资助项目: 国家科技攻关项目(2004BA526B0103); 国家自然科学基金(30600465)

作者简介: 杨凤影(1980-), 女, 硕士, 从事贝类遗传育种的研究。E-mail: fengyingy@163.com

通讯作者: 杨爱国(1957-), Tel.: 0532-85811982, E-mail: yangag@ysfri.ac.cn

further pronuclear movements. when the treated eggs were washed and further maintained in fresh water, migration resumed at a slower rate than in normal eggs.

**Key words:** *Chlamys farreri*; 6-DMAP; immunofluorescence staining; spindle

人工诱导雌核发育是指通过用物理、化学或生物学方法使精子遗传失活,与正常卵子“受精”,再通过抑制极体释放或第一次卵裂使单倍性胚胎的染色体加倍从而发育成雌核二倍体。由于雌核发育后代的遗传物质完全来源于母体,因而可以用于快速建立纯合系、判别性别决定机制以及进行遗传分析等<sup>[1]</sup>,对于选择育种及育种基础理论的研究具有重要意义。

目前,对贝类雌核发育的研究还处于细胞学水平,且多采用荧光显微观察<sup>[2-5]</sup>、组织切片<sup>[6-7]</sup>等方法研究雌核发育卵内核相变化。贝类人工诱导雌核发育的诱导体系尚不健全,有关其产生的细胞学机制还不甚明了。因此,对贝类雌核发育受精过程中亚细胞结构(如纺锤体)进行详细观察,对探明雌核发育的细胞学和遗传学机理具有深远意义。本试验以栉孔扇贝为研究对象,对其6-DMAP第二极体抑制型雌核发育二倍体卵受精过程中的微管变化以及雌原核和精核移动过程进行了观察,旨在研究贝类雌核发育产生的机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)亲贝于2006年5月取自青岛志诚水产科技公司,壳高6~8 cm。6-二甲基氨基嘌呤(6-dimethylaminopurine,简称6-DMAP)、异硫氰酸荧光素(Fluorescein isothiocyanate,简称FITC)标记的抗 $\alpha$ 微管蛋白抗体(anti- $\alpha$ -tubulin)和碘化丙锭(Propidium iodide,简称PI)均为美国Sigma公司产品。

### 1.2 方 法

**亲贝暂养与精卵收集** 亲贝取回后洗刷干净,雌雄分养于16℃海水中。使用前挑选性腺饱满个体,阴干升温法催产。采集的精、卵以过滤海水稀释,并用生物计数皿和血球计数板在显微镜下分别定量至每毫升 $1.0 \times 10^7$ 个和每毫升 $5.0 \times 10^4$ 个。

**紫外线照射精子、授精及卵子染色体的二倍化** 取稀释精液3 mL,置于直径为9 cm的亲

水塑料培养皿中,轻微振荡使之平铺于培养皿底部。参照赵峰等<sup>[8]</sup>方法,将精液放在辐射强度为 $800 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的紫外线下照射50 s。照射后的精液立即加入有30 mL卵液的烧杯中,用玻璃棒搅拌均匀并稀释至200 mL。受精卵在水温20℃的黑暗条件下培养。设精子不照射为对照组。授精后35~40 min,显微镜下观察到20%~30%受精卵排出第一极体时,向处理组施加6-DMAP( $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )母液1.2 mL,使其终浓度达到 $60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,持续处理15 min。处理结束后用500目筛绢过滤,洗卵2~3次,移入10 L清洁的过滤海水中培养。

**受精卵的固定及免疫荧光染色** 授精后0~100 min,每隔5 min取样一次;100~150 min,每隔10 min取样一次。样品收集至1.5 mL离心管中,加4%多聚甲醛固定液1 mL,待受精卵沉降后更换固定液,固定30 min;样品转入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.4)中,4℃保存。观察时,弃去PBS,0.5% Triton X-100透化处理40 min,以增加细胞膜透性,PBS漂洗3遍; $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的RNase在20~25℃下处理60 min,PBS漂洗3遍;5%的BSA处理60 min,以封闭抗体的非特异性结合位点;1:50稀释的FITC-anti- $\alpha$ -tubulin处理60 min,用0.01% Triton X-100溶液清洗受精卵;10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的PI工作液复染10 min,0.01% Triton X-100溶液洗卵;将受精卵转移到载玻片,滴加2% DABCO,加盖玻片,封片。Nikon荧光显微镜下观察、拍照。

**雌雄原核移动的细胞学观察** 在荧光显微镜下通过目微尺测量雌雄原核间距。记录观察的每个受精卵的雌雄原核间距和直径,以正常栉孔扇贝卵直径(70  $\mu\text{m}$ )校正。校正后的雌雄原核间距的平均值以15  $\mu\text{m}$ 为单位划分为四组,对每组受精卵的比率绘制柱状图。

## 2 结 果

### 2.1 第一次成熟分裂过程中微管的变化

精子经紫外线照射后受精率明显下降,但入卵精子同样启动减数分裂,导致第一极体排出,精

核也能轻微膨胀,与正常发育受精卵内微管变化

相比无明显差别(图 1,图 2)。

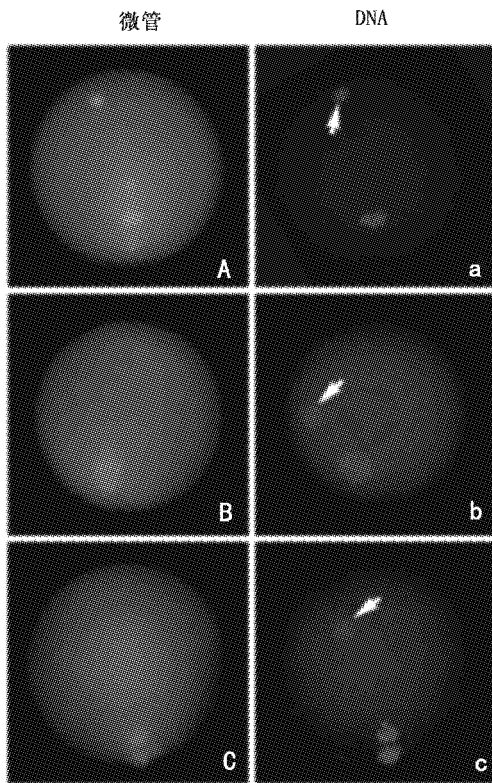


图 1 第一次成熟分裂过程中  
正常发育组受精卵内微管变化

Fig. 1 Changes of microtubules at the first  
meiosis in normal development group

A, a. 精子入卵; B, b. 第一次成熟分裂后期; C, c. 第一极体排出; 箭头指示精子或精核; A ~ C 示微管变化; a ~ c 示 DNA 变化

A, a. penetrated sperm in egg, B, b. anaphase of the first meiosis, C, c. release of the first polar body, arrows indicate the sperm or sperm nucleus, A - C indicate the changes of spindle, a - c indicate the changes of DNA

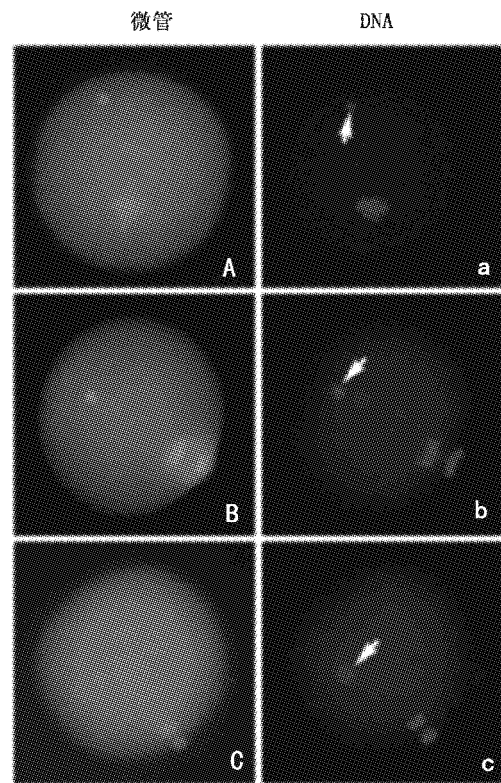


图 2 第一次成熟分裂过程中  
雌核发育组受精卵内微管变化

Fig. 2 Changes of microtubules at the first  
meiosis in gynogenetic group

A, a. 精子入卵; B, b. 第一次成熟分裂后期; C, c. 第一极体排出; 箭头指示精子或精核; A ~ C 示微管变化; a ~ c 示 DNA 变化

A, a. penetrated sperm in egg, B, b. anaphase of the first meiosis, C, c. release of the first polar body, arrows indicate the sperm or sperm nucleus, A - C indicate the changes of spindle, a - c indicate the changes of DNA

## 2.2 第二次成熟分裂过程中微管的变化

对照组在授精 25 min 后,纺锤体形状规则,其长轴垂直于卵子表面,卵子染色体排列于赤道板(图 3-A, a);授精 35 min 后,姊妹染色单体分离并被纺锤丝牵引至纺锤体的两端,靠近卵膜和第一极体(PB1)的一组染色体排出并形成第二极体(PB2),此时富含微管的中体结构形成(图 3-B, b);授精 45 min 后,形成了体积相当的一个雌原核和一个雄原核(图 3-C, c),且雌雄原核融合成合子核(图 3-D, d)。

处理组在授精 35 min 后,受精卵处于第一次成熟分裂末期时(图 4-A, a),施加 6-DMAP 持续处理 15 min,抗体染色显示在处理 5 min 时,即授精 40 min 后,星体微管短于着丝点微管,向染色

体方向浓缩(图 4-B, b);处理 10 min 时,即授精 45 min 后,未检测到星体微管,纺锤体被拉长变得扁平,垂直于原始的纺锤体轴,染色体比对照组分散(图 4-C, c);处理 15 min 时,即授精 50 min 后,纺锤体遭到明显破坏,形状不规则,染色体排列异常,无法分离,第二次成熟分裂被抑制(图 4-D, d)。授精 60 min 后,受精卵内形成了一个体积较大、荧光度较强的二倍性雌原核,精核并未浓缩成染色体,而是形成致密的染色质小体(dense chromatin body, 简称 DCB),不与雌原核融合(图 4-E, e)。第一次卵裂后期,母本染色体在纺锤丝牵引下移向两极,而 DCB 则滞留于两组母本染色体之间(图 4-F, f)。

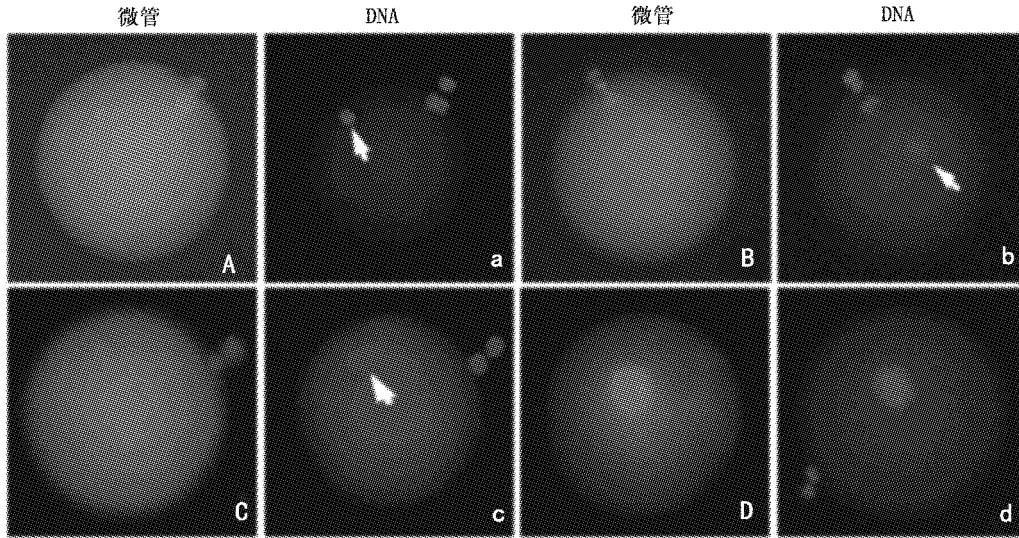


图3 第二次成熟分裂过程中正常发育组受精卵的微管变化

Fig. 3 Changes of microtubules at the second meiosis in normal development group

A, a. 第二次成熟分裂中期; B, b. 第二极体排出; C, c. 雌雄原核形成; D, d. 雌雄原核; 融合成合子核; 箭头指示精子或精核  
 A, a. metaphase of the second meiosis, B, b. release of the second polar body, C, c. formation of the female pronucleus and male pronucleus, D, d. the female and male pronuclei fused into zygotonucleus, arrows indicate the sperm or sperm nucleus

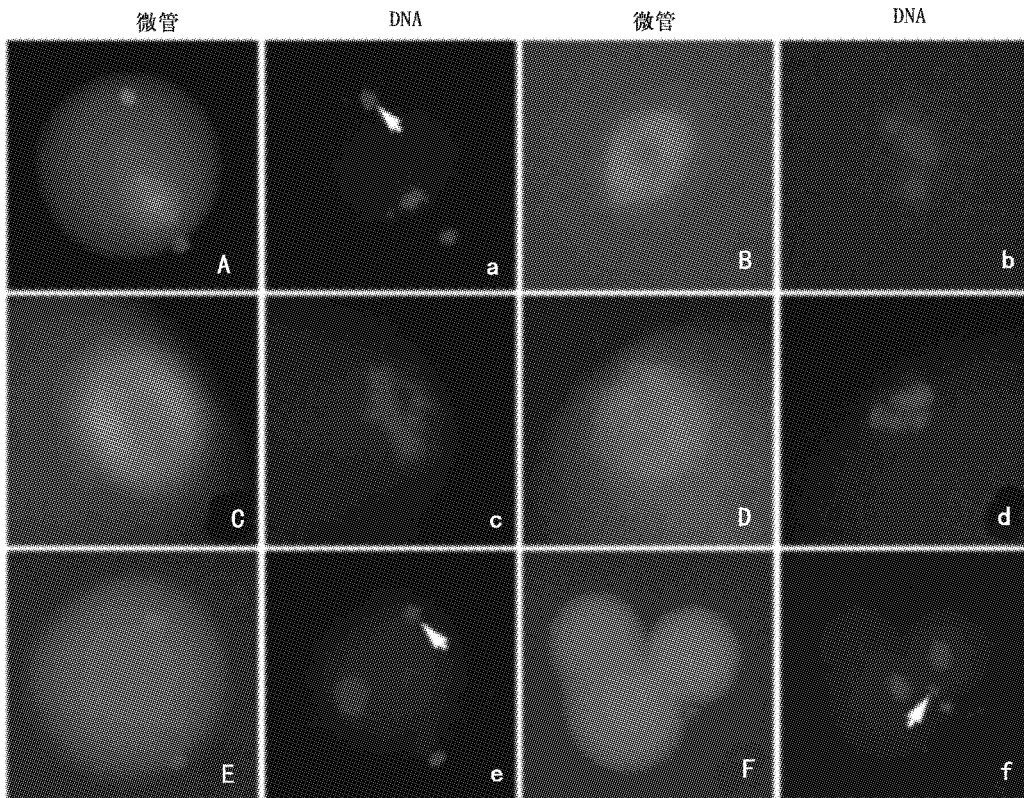


图4 6-DMAP对雌核发育组受精卵内微管变化的影响

Fig. 4 Effects of 6-DMAP on microtubules in gynogenetic group

A, a. 第一次成熟分裂末期; B, b. 受精40 min后微管变化; C, c. 受精45 min后微管变化; D, d. 受精50 min后微管变化; E, e. 二倍性雌核; F, f. 第一次卵裂后期; 箭头指示精子或精核  
 A, a. telophase of the first meiosis, B, b. changes of microtubules at 40 min after fertilization, C, c. changes of microtubules at 45 min after fertilization, D, d. changes of microtubules at 50 min after fertilization, E, e. big diploid female pronucleus, F, f. anaphase of the first cleavage, arrows indicate the sperm or sperm nucleus

**2.3 6-DMAP 对受精卵内雌原核和精核移动的影响** 受精卵经 PI 染色后观察到,对照组授精后 45、55 min 雌雄原核的移动如图 5-A、B,合子核染色体的融合在授精后 75 min 完成(图 5-C),授精后 95 min 发育至第一次卵裂中期(图 5-D)。

6-DMAP 对原核移动和染色体变化的影响如图 5-E~H。授精 80 min 内精核始终处于皮层区域(图 5-E、F、G)。60  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 6-DMAP 处理

组与同一时间的对照组相比虽然能影响雌原核移动,但并不影响其染色体的解聚(图 5-B、F)。图 5-H 显示,受精卵经 6-DMAP 持续处理 15 min,洗卵后移入清洁的过滤海水中培育 50 min,即授精后 100 min,精核并不与雌原核融合,此时,对照组中受精卵处于第一次卵裂中期(图 5-D)。对照组授精 75 min 后,雌雄原核融合的现象(图 5-C)在处理组中并未发现。

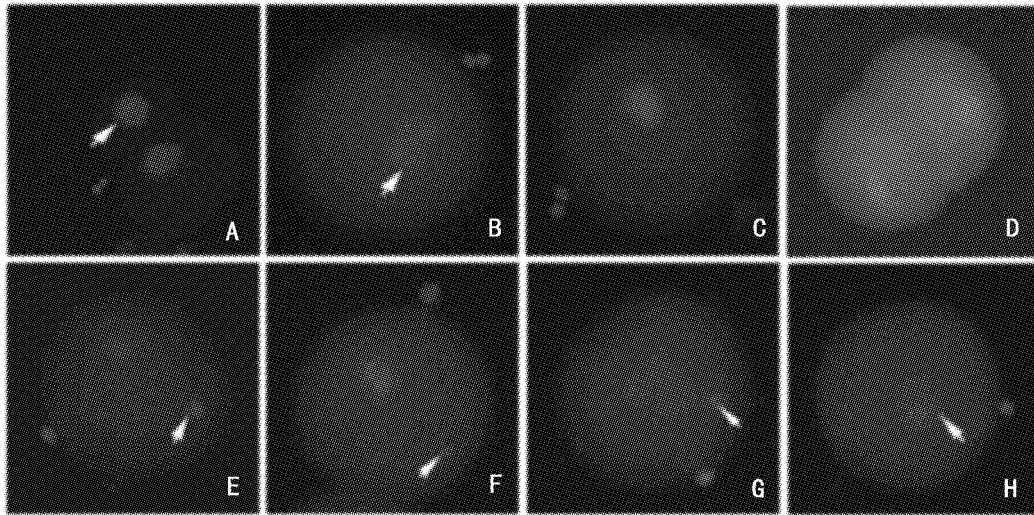


图 5 6-DMAP 对原核移动形态学上的影响

Fig. 5 Morphological effects of 6-DMAP on pronuclear migration

正常发育卵授精后 45 min(A)、55 min(B)、75 min(C)、95 min(D)雌雄原核移动情况;雌核发育卵授精后 50 min(E)、60 min(F)、80 min(G)、100 min(H)雌原核和精核移动情况. 箭头指示精子或精核.

the migration of pronuclei of normal development eggs at 45 min(A), 55 min(B), 75 min(C), 95 min(D) after fertilization; the migration of female pronucleus and sperm nucleus of gynogenetic eggs at 50 min(E), 60 min(F), 80 min(G), 100 min(H) after fertilization. Arrows indicate the male pronucleus or sperm nucleus.

通过测量两原核间距离进一步分析对照组和处理组中原核移动的情况。观察结果如图 6。对照组中原核移动大约在授精后 75 min 完成,授精 40~75 min 原核间平均距离( $\bar{x}$ )从 31  $\mu\text{m}$  降至 1  $\mu\text{m}$ (图 6-a)。雌核发育组中受精卵经 60  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 6-DMAP 处理后,原核移动明显缓慢,授精 40~95 min 原核间平均距离( $\bar{x}$ )从 38  $\mu\text{m}$  降至 18  $\mu\text{m}$ (图 6-b)。受精卵在授精 40~50 min,即 6-DMAP 处理过程中,雌原核和精核几乎不移动(图 6-b,40~50 min)。去除 6-DMAP 的作用,并将受精卵移入洁净海水中继续孵育,原核又恢复移动,但移动速度与对照组相比要慢很多,对照组中,授精 40~75 min 原核平均移动速度为 0.86  $\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ ,处理组去除药物后原核平均移动速度仅为 0.44  $\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

### 3 讨论

#### 3.1 免疫荧光染色方法的探讨

国内外有不少应用荧光染色方法观察双壳类受精卵内微管变化过程的研究<sup>[9-10]</sup>,但荧光染料的选择及染色操作与本方法有所不同。免疫荧光染色观察法,是利用荧光抗体(如 FITC-anti- $\alpha$ -tubulin)作为特异性试剂,标记组织细胞内的相应抗原或抗体(如微管),在紫外光下直接观察其变化过程,有些学者已用此方法对杂色蛤<sup>[9-10]</sup>、海胆<sup>[11]</sup>、海星<sup>[12]</sup>受精过程中微管的变化进行了研究。

我们利用 FITC 标记的抗  $\alpha$  微管蛋白抗体标记微管系统,同时利用 PI 对 DNA 进行染色,能同时看到染色体分离形式以及相应的纺锤体形态。有

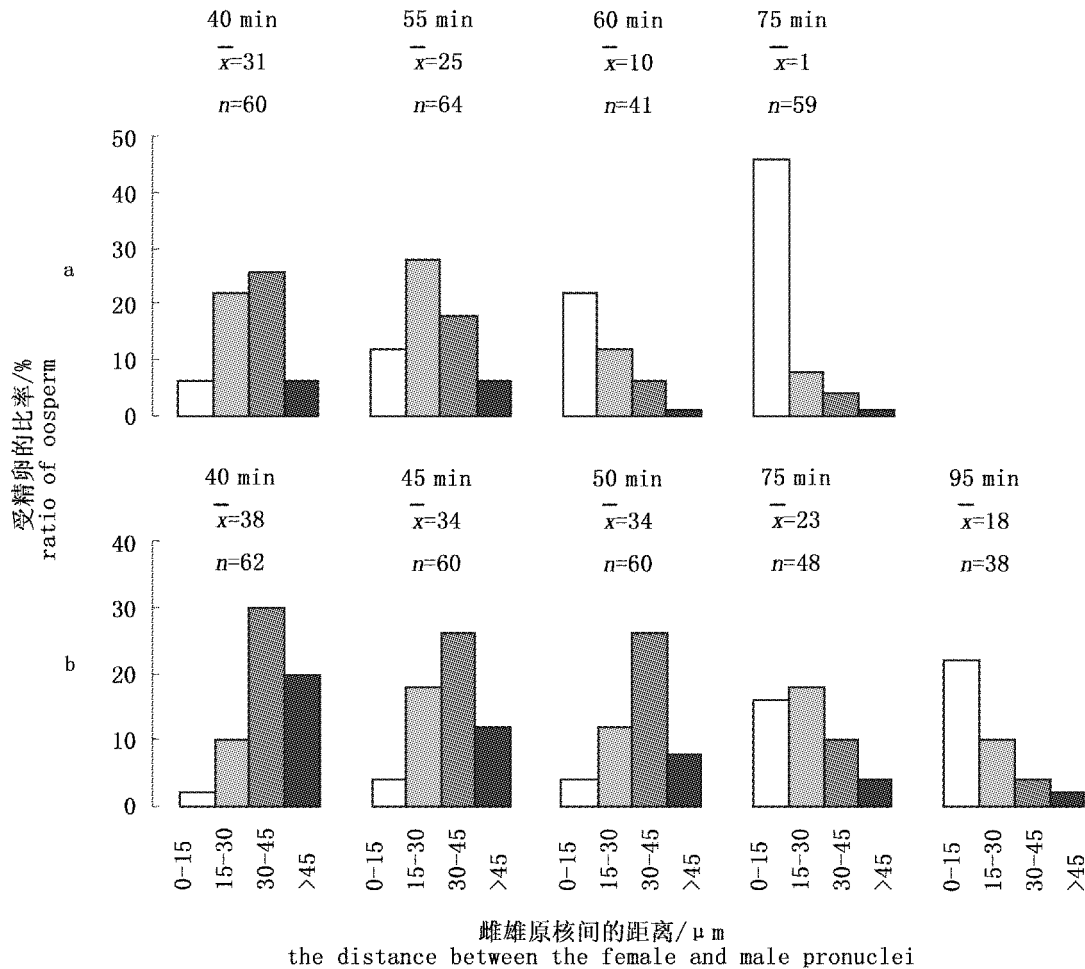


图6 6-DMAP对雌雄原核移动的影响

Fig.6 Effect of 6-DMAP on pronuclear migration

a. 正常受精卵中雌雄原核间的距离( $\mu\text{m}$ ); b. 雌核发育受精卵中雌原核和精核间的距离( $\mu\text{m}$ )

受精后的时间、雌雄原核间平均距离( $\bar{x}$ )、观察的受精卵数量( $n$ )标于每组图的上方

a. the distance between the female and male pronuclei in normal development group( $\mu\text{m}$ ), b. the distance between the female pronucleus and sperm nucleus in gynogenetic group( $\mu\text{m}$ )

the time after fertilization, mean distance( $\bar{x}$ ) and number of eggs counted( $n$ ) were given above their corresponding histograms

有报道应用 DAPI 对栉孔扇贝受精卵进行染色, 观察其减数分裂过程<sup>[13-14]</sup>。DAPI 作为 DNA 的荧光染色剂, 特异性较强, 不与卵内 RNA 结合, 因此操作比较简单, 不需要经过细胞透化处理以及 RNase 处理等步骤。但其染色效果不如 PI, DNA 经 PI 染色, 在激发光下发出橙红色荧光, 强度远大于 DAPI 染色的荧光, 染色体形态清晰可辨, 在染色体不重叠的情况下可进行染色体计数。

### 3.2 6-DMAP 对受精卵内微管组装的影响

6-DMAP 是嘌呤霉素的一种类似物, 能破坏微管的聚合中心, 导致纺锤体解散和微管的解聚作用, 使微管不能形成<sup>[15-16]</sup>。有关研究表明, 6-DMAP 处理可以破坏中期纺锤体, 如对海胆胚

胎<sup>[15]</sup>和小鼠卵细胞<sup>[17]</sup>。电镜分析证实 6-DMAP 会影响小鼠卵母细胞皮层微丝的形成<sup>[18]</sup>。6-DMAP 作为一种蛋白质磷酸化抑制剂, 造成染色体解聚, 从而终止染色体的分离和影响原核的运动, 最初作为一种卵裂抑制剂用于海星<sup>[12]</sup>、海胆<sup>[15]</sup>受精卵的研究。杨爱国等<sup>[13]</sup>、蔡国雄等<sup>[19]</sup>也分别证实了 6-DMAP 使细胞核染色质分散, 抑制了原核的移动和染色体的分离。

从抗体荧光染色结果看, 正常发育卵子受精过程中微管的变化与 Kuriyama 等<sup>[9]</sup>描述的杂色蛤受精卵受精过程中微管的周期性变化基本相同。而人工诱导雌核发育二倍体因为经过了精子遗传失活和卵子染色体二倍体化的双重处理, 使

中期的微管组装发生剧烈的变化,这与 Durfresne 等<sup>[15]</sup>观察到的 6-DMAP 对海胆受精卵内微管的影响相似。Rima 等<sup>[17]</sup>观察到经处理的小鼠受精卵在去除 6-DMAP 后,其内的微管又能重新组装成纺锤体,这与我们观察到的结果相似,说明 6-DMAP 对微管组装的影响是可逆的。Rima 等认为去除 6-DMAP 处理后纺锤体虽能重新组装,但蛋白质磷酸化的过程仍受到影响。纺锤体的组装依赖于蛋白质磷酸化的过程,所以重新组装的纺锤体的功能是否正常,其对受精卵继续发育是否存在影响,还需作深入分析。

### 3.3 正常发育卵与雌核发育卵内原核移动的情况

从 PI 染色结果看,正常发育受精卵内雌雄原核的移动情况与 Durfresne 等<sup>[15]</sup>的描述基本相同。而人工诱导雌核发育二倍体因为经过了精子遗传失活和卵子染色体二倍体化的双重处理,精核和卵核行为均有明显变化。观察发现,紫外线照射精子虽能发生轻微膨胀,但并不膨大形成雄原核,这与董迎辉等<sup>[7]</sup>描述的遗传失活的精子诱导雌核发育的行为相似。处理组受精卵的精核在授精 80 min 内始终处于皮层区域,雌原核移动速度也相当缓慢,且精核并不与雌原核融合。Durfresne 等<sup>[15]</sup>观察到 6-DMAP 同时影响雌原核和雄原核的移动,当去除 6-DMAP 后,原核恢复移动,但移动速度较正常组慢很多。我们观察到处理组中精核和雌原核移动都受到影响,6-DMAP 影响雌原核的移动速度,这与 Durfresne 等观察结果相同。处理组中的精核是经紫外线照射后形成的,其移动的过程是受紫外线的影响还是受 6-DMAP 的影响或是受二者共同的作用还有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 潘 英,李 琪,王如才,等. 海洋贝类雌核发育研究进展和展望[J]. 水产学报,2002,26(5):465-471.
- [2] Fairbrother J E. Viable gynogenetic diploid *Mytilus edulis* (L.) larvae produced by ultraviolet light irradiation and cytochalasin B shock [J]. Aquaculture,1994,126:25-34.
- [3] Pan Y,Li Q,Yu R H,*et al.* Induction of gynogenetic diploids and cytological studies in the zhikong scallop, *Chlamys farreri* [J]. Aquat Living Resour, 2004,17:201-206.
- [4] 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.
- [5] 董迎辉,杨爱国,刘志鸿,等. 6-DMAP 诱导栉孔扇贝雌核发育二倍体的细胞学观察[J]. 高技术通讯,2004,14(增刊):343-348.
- [6] Li Q, Makoto O, Masaru K, *et al.* Cytological studies on artificially induced gynogenesis in the Pacific abalone [J]. Fisheries Science,2000,66:701-707.
- [7] 董迎辉,杨爱国,刘志鸿,等. 栉孔扇贝正常发育和人工雌核发育二倍体早期胚胎核行为的细胞学观察[J]. 水产学报,2006,30(1):29-35.
- [8] 赵 峰,杨爱国,刘志鸿,等. 紫外辐射对栉孔扇贝精子遗传失活及形态结构的影响[J]. 海洋水产研究,2003,24(4):26-31.
- [9] Kuriyama R,Borisy G G,Masui Y. Microtubule cycles in oocytes of the surf clam, *Spisula solidissima*: an immunofluorescence study [J]. Dev Biol,1986,114:151-160.
- [10] Kuriyama R, Effect of taxol on first and second meiotic spindle formation in oocytes of surf clam, *Spisula solidissima* [J]. J Cell Sci,1986,84:153-163.
- [11] Harris P,Osborn M,Weber K. Distribution of tubulin-containing structures in the egg of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* from fertilization through first cleavage [J]. J Cell Biol,1980,84:668-679.
- [12] Néant P, Cuerrier P. 6-Dimethylaminopurine blocks starfish oocyte maturation by inhibiting a relevant protein kinase activity [J]. Exp Cell Res,1988,176:68-79.
- [13] 杨爱国,王清印,孔 杰,等. 栉孔扇贝受精卵成熟分裂的细胞学观察[J]. 中国水产科学,1999,6(3):96-98.
- [14] 潘 英,李 琪,于瑞海,等. 栉孔扇贝人工雌核发育的细胞学观察[J]. 水产学报,2004,28(6):616-622.
- [15] Durfresne L,Néant I,St-Pierre J,*et al.* Effects of 6-dimethylaminopurine on microtubules and putative intermediate filaments in sea urchin embryos [J]. J Cell Sci,1991,99(4):721-730.
- [16] Dubé F, Dufrese L, Coutu L, *et al.* Protein Phosphorylation during activation of surf clam oocytes [J]. Dev Biol,1991,146:473-482.
- [17] Rima H, Néant I, Guerrier P, *et al.* 6-Dimethylami-

- nopurine (6-DMAP), a reversible inhibitor of the transition to metaphase during the first meiotic cell division of the mouse oocyte [J]. *Dev Biol*, 1989, 133(2):169-179.
- [18] Szollosi M S P, Debey D, Szollosi H, *et al.* Chromatin behaviour under influence of puromycin and 6-DMAP at different stages of mouse oocyte maturation [J]. *Chromosoma*, 1991, 100:339-354.
- [19] 蔡国雄, 鲍蒙特 A R. 用 6-甲氨基嘌呤诱导贻贝四倍体胚胎 [J]. *热带海洋*, 1996, 15(4):26-30.

## 《水产学报(1964-2006年)》光盘介绍

《水产学报》是由中国水产学会主办、上海水产大学承办的以水产科学技术为主的学术性刊物。1964年创刊,双月刊。主要刊载水产基础研究、水产养殖和增殖、渔业水域环境保护、水产品保鲜加工与综合利用、渔业机械仪器等方面的论文、研究简报和综述。所发表的论文主要是国家自然科学基金、国家攀登计划、国家“863”和“973”计划、国家重点科技攻关、“长江学者计划”和国际合作研究等重大项目的研究成果,代表了我国水产学科的学术水平和发展动向,反映了我国水产科技研究的新成果、新思路。是广大从事水产专业的科研人员、生产管理人员和高校师生推广成果、探讨学术的一块园地,在科研和教学中具有重要的参考作用。

《水产学报》已加入了清华大学(光盘版)电子刊物数据库、万方数据网络中心以及中文科技期刊数据库,并作为文献源被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、《水科学和渔业文摘》(ASFA)、《中国科学引文索引》、《中国生物学文摘》、《中国水产文摘》等众多国内外检索期刊收录。《水产学报》获得第1~4届“百种中国杰出学术期刊”称号,并于2006年获“精品期刊项目”资助。

为了便于广大作者及读者的保存和查阅,编辑部将《水产学报》自1964年创刊至2006年底已出版的所有杂志编辑成具有分类、关键词、作者、出版时间等检索途径和打印功能的全文数据库光盘,定价为50元(含邮费),如需要购买,请与编辑部联系。另外,对已购买过旧版光盘的读者,编辑部将免费提供升级服务,请读者主动与编辑部张美琼老师联系。

**联系地址:**上海市军工路334号,上海水产大学48信箱

**邮 编:**200090

**电 话:**021-65678640

**E-mail:** jfc@shfu.edu.cn