

异源冷冻精子诱导大菱鲆的雌核发育

苏鹏志^{1,2}, 陈松林², 杨景峰², 田永胜², 翟介明³, 孙礼娟³

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 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; 3. 山东莱州明波水产有限公司, 山东 莱州 266031)

摘要: 采用冷冻保存的鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 精液不经紫外线照射直接与大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 卵进行杂交, 可以刺激大菱鲆卵进行胚胎发育, 胚胎发育率 (发育至原肠期后胚胎成形的卵占总卵数的百分比) 可达 79.1%。通过与精子照射组单倍体发育过程等对比观察发现, 杂交后代为大菱鲆的单倍体。如果在“受精”后 2~10 min 内将大菱鲆卵在 0~6 °C 冷休克处理 10~50 min, 均能诱导卵子染色体加倍。对冷休克处理条件的筛选结果表明, 在 0 °C 条件下, 卵子在受到鲈鱼精子刺激后 6 min 开始进行冷休克处理 25 min, 二倍体孵化率 (雌核二倍体苗占受精卵的百分比) 最高, 可达 34.8 %。通过对各实验组卵发育情况的跟踪观察, 发现单倍体与雌核发育二倍体在发育过程中有明显的差异, 这种差异最早出现在 8 细胞期。单倍体胚胎头部发育不正常, 眼泡较小, 身体短且扭曲较严重, 从肌节期开始沉积大量的黑色素颗粒。仔鱼孵化 1 周内单倍体即全部死亡。与正常二倍体对照组相比较, 证明所得正常形态仔鱼即为雌核发育二倍体。[中国水产科学, 2008, 15(5): 715-721]

关键词: 大菱鲆; 鲈; 精子; 雌核发育; 冷休克

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)05-0715-07

雌核发育是遗传物质均来源于母本的繁殖方式^[1-2]。进行人工诱导雌核发育, 不仅可以迅速获得基因纯合, 使优良性状以最快的速度达到纯合固定, 还可以进行性别控制, 达到培育单性苗种的目的。这对于雌雄个体差异较大的物种或某一性别成熟过早的物种尤为重要。

鱼类雌核发育的研究始于 20 世纪 50 年代, 在随后几十年里发展迅速。尤其是近 20 年, 人工诱导雌核发育一直是鱼类遗传育种研究中的热门领域^[1-3]。国际上已先后在鲤科、鲑科、鲈科、鳊科和鲴科等重要经济鱼类中开展了人工雌核发育的研究, 并获得成功。国内对淡水鱼类雌核发育研究开展的较多, 且取得了较大进展^[4]。而对于海水鱼类, 尤其是鲆鲽类, 国内仅有牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 雌核发育研究的报道^[5-6]。

大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 属硬骨鱼纲 (Osteichthyes), 鲆形目 (Pleuronectiformes), 鲆亚目 (Pleuronectoidei), 鲆科 (Bothidae), 菱鲆属 (*Scophthalmus*), 是中国重要的海水养殖鱼类之一,

现已达到较大的工厂化养殖规模, 是中国北方沿海海水养殖的主要品种。但是, 雌性大菱鲆比雄性生长速度快大约 30% 以上, 且随养殖时间的延长, 生长速度差异越大。近几年, 养殖大菱鲆出现了明显的性状衰退及抗病力下降等问题。因此, 培育全雌性大菱鲆对于得到优良遗传性状的亲鱼, 提高大菱鲆的生长速度、抗病性以及提高经济效益具有重要意义。在关于鱼类雌核发育的研究报道中, 几乎全部都是通过同源性或者异源精子的遗传物质进行紫外照射灭活, 然后用灭活精子刺激卵子来实现雌核发育。这种方法的缺点是, 对精子进行紫外照射会导致卵子受精率大幅下降, 以致雌核二倍体孵化率大幅下降; 紫外照射处理同源精子, 并不能保证所有精子的遗传物质全部被灭活。因此所得后代仔鱼也不能保证全部都是由雌核发育而来。国外对大菱鲆雌核发育的研究进行较早, 并取得了成功^[7]。但其使用的是通过紫外照射失活的同源精子。而有关采用异源冷冻精子不经紫外线照射诱导大菱鲆卵雌核发育的研究, 目前国内外均未见报道。

收稿日期: 2007-11-13; 修订日期: 2008-05-10.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA10A403); 国家自然科学基金项目 (30570259); 山东省泰山学者工程专项。

作者简介: 苏鹏志 (1983-), 男, 硕士研究生, 从事海洋生物学和细胞学研究. E-mail: supage@sina.com

通讯作者: 陈松林. Tel: 0532-85844606; E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

本研究采用鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 冷冻精子为精子源,探索了异源冷冻精子诱导大菱鲈卵雌核发育的条件,建立了异源冷冻精子诱导大菱鲈卵雌核发育的方法,并获得了雌核发育二倍体鱼苗,为大规模培育全雌大菱鲈苗种奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料的选取

实验用大菱鲈雌鱼为莱州明波水产有限公司人工饲养至产卵期的优良亲鱼。选择体色和体形正常、性腺发育良好的健康雌性大菱鲈,人工挤压亲鱼腹部,采集成熟卵子于受精器皿中,保存在 13℃ 恒温下等待人工授精。用大菱鲈正常受精胚胎作为对照。

实验用鲈的精液来源于中国水产科学研究院黄海水产研究所鱼类胚胎干细胞实验室精子库。鲈的精液冷冻保存按陈松林等^[8-9]报道的方法进行。冷冻精液从液氮中取出后,在 37℃ 水浴中快速复温,镜检,精子活力可达 75% 以上。

1.2 大菱鲈单倍体的制备

取同一批冷冻保存的鲈的精液,分为 2 份,各 0.1 mL,一份不经紫外线照射处理;另一份用 MPRS 稀释 10 倍,置于在 6℃ 预冷的培养皿中,利用 10^{-3} J/cm² 紫外线照射 0.2 min,使其遗传物质失活。取同一批大菱鲈卵各 10 mL,分别用这 2 份鲈的精液进行刺激。收集上浮卵,不经冷休克处理,放置于 13℃ 正常海水中孵化,统计胚胎发育率(发育至原肠期后胚胎成形的卵占总卵的百分比)和孵化率。同时设置大菱鲈正常受精的二倍体作为对照组。

1.3 冷休克诱导条件

1.3.1 冷休克处理起始时间的确定 根据 1.2 的实验结果,采用不经紫外线照射处理的鲈的精液直接刺激大菱鲈的卵子,随后分别在卵子受精后 2 min、3 min、4 min、5 min、6 min、7 min、8 min、9 min、10 min 开始在 0℃ 水浴中冷休克处理 30 min。然后使卵迅速复温到 13℃ 左右。收集上浮卵放入孵化网箱中孵化。另外各取 1 mL (约 800 粒) 上浮卵单独孵化,用于计算雌核发育二倍体孵化率。重复上述实验 3 次,计算各组平均值,取雌核发育二倍体孵化率最高的 1 组确定最佳冷休克处理起始时间。

1.3.2 冷休克处理持续时间的确定 根据上述

实验结果,将冷休克起始时间固定为 6 min,冷休克温度为 0℃,设置冷休克处理持续时间梯度为 15 min、20 min、25 min、30 min、35 min、40 min、45 min、50 min,孵化条件和计数方法同 1.3.1。重复实验 3 次,计算各组雌核发育二倍体孵化率平均值,取雌核发育二倍体孵化率最高一组确定为冷休克处理的最佳持续时间。

1.3.3 冷休克处理温度的确定 根据以上实验结果,将冷休克起始时间固定为卵子受精后 6 min,处理持续时间设定为 25 min,设置冷休克温度梯度为 -1.5℃、0℃、1.5℃、3℃、4.5℃、6℃,孵化条件和计数方法同 1.3.1,重复实验 3 次,计算各组雌核发育二倍体孵化率平均值,取雌核发育二倍体孵化率最高 1 组确定冷休克处理的最佳温度条件。

1.4 大菱鲈单倍体、雌核发育二倍体以及正常二倍体的比较

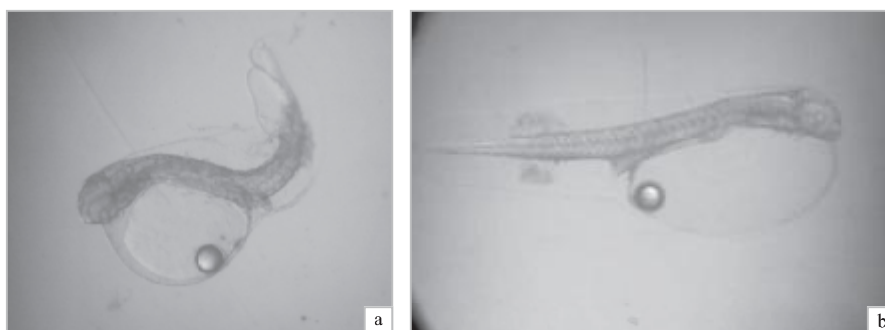
在卵孵化过程中,对卵的发育情况做跟踪观察,比较单倍体、雌核发育二倍体和正常二倍体发育过程中的差异。

待仔鱼刚刚孵化出膜,取大菱鲈单倍体、雌核发育二倍体和正常二倍体苗各 50 尾,分别测量其体长、体高、眼径长(垂直于体轴)和卵黄囊长度(平行于体轴),从形态学上比较其差异。由于单倍体仔鱼身体弯曲,先用相机拍照,然后用折线法测量其体长。

2 结果与分析

2.1 大菱鲈单倍体的制备

实验发现,不管是否经过紫外线照射处理,鲈的精子都可以刺激大菱鲈卵开始胚胎发育过程。未经紫外线照射直接与大菱鲈卵杂交的实验组的胚胎发育率可达 79.1%。紫外线照射组胚胎发育率明显下降,为 47.6%。卵在 13℃ 海水中,经过大约 95 h 发育至出膜前期。由于没有经过染色体加倍化处理,2 个组胚胎均发育畸形,大多数出膜困难,少数也能孵化出膜。鲈的精子照射和未照射组孵化率比较接近,分别为 33.7% 和 35.2%。仔鱼头小,眼径短,卵黄囊较大,身体短小并严重扭曲和尾部发育不完全,呈现出典型的单倍体综合征特征(图 1)。未经冷休克诱导处理的 2 个杂交实验组未发现正常形态的仔鱼,全部都是单倍体。而正常二倍体对照组孵化率为 59.7%。

图1 大菱鲆单倍体 (a) 和雌核发育二倍体 (b) ($\times 100$)Fig.1 Haploid (a) and gynogenesis diploid (b) of *Scophthalmus maximus* ($\times 100$)

2.2 雌核发育二倍体的诱导

在冷休克诱导各实验组中,都会有大量的畸形单倍体和一些形态正常的仔鱼。正常形态的仔鱼与普通二倍体没有区别,由于使用的是异源精子,且杂交后代为大菱鲆单倍体,即可判断此正常形态的仔鱼就是雌核发育二倍体。授精时水温保持在 $13\text{ }^{\circ}\text{C}$,在冷休克温度为 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$,冷休克持续时间为 30 min 条件下,处理起始时间为受精后 1 min 、 9 min 和 10 min 时,雌核发育二倍体孵化率较低,分别为 12.8% 、 9.5% 和 3% (图2)。在处理起始时间为受精后 6 min 时雌核发育二倍体孵化率最高,达到 34.8% 。由图3可见,处理时间为 10 min 和 15 min 时,雌核发育二倍体孵化率较低,分别为 18% 和 23.2% 。但是从 20 min 开始,冷休克处理效果明显好转,达到 30% 。在 25 min 和 30 min 时,雌核发育二倍体孵化率较高,分别为 34.2% 和 33.7% ,且这2个冷休克处理时间下雌核发育二倍体孵化率差异不显著 ($P>0.05$)。从 35 min 开始孵化率有所下降。由图4

可见,冷休克起始时间设定为 6 min ,处理持续时间为 25 min 时,不同冷休克处理温度对雌核发育二倍体孵化率会有较大影响。在 $-1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,冷休克处理效果较好,雌核发育二倍体孵化率差异分别为 33.1% 和 34.8% ,二者差异不显著 ($P>0.05$)。在 $1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下雌核发育二倍体孵化率开始下降,在 $4.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下孵化率仅为 11.3% 和 5.1% 。

孵出的仔鱼养殖 $5\sim 7\text{ d}$ 后,单倍体苗全部死亡,存活的正常形态苗种即为大菱鲆雌核二倍体,与普通二倍体仔鱼在形态上没有区别。没有发现杂种形态的个体。

综合上述实验结果,可以得出结论,利用鲈未灭活精子诱导大菱鲆卵雌核发育二倍体的最佳条件是:在 $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下授精 6 min 后,用 $1.5\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的海水对卵进行持续 $25\sim 30\text{ min}$ 的冷休克处理。按照上述实验条件,本实验处理了 50 mL 大菱鲆卵,共得到雌核发育二倍体仔鱼 15 000 余尾,经培育得到 2 000 余尾鱼苗。

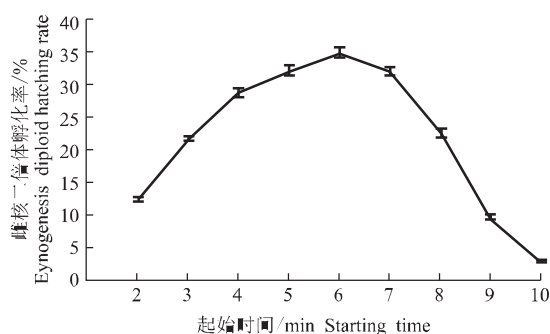


图2 冷休克起始时间与雌核发育二倍体孵化率的关系

Fig.2 Relationship between cold shock starting time and gynogenesis diploid hatching rate

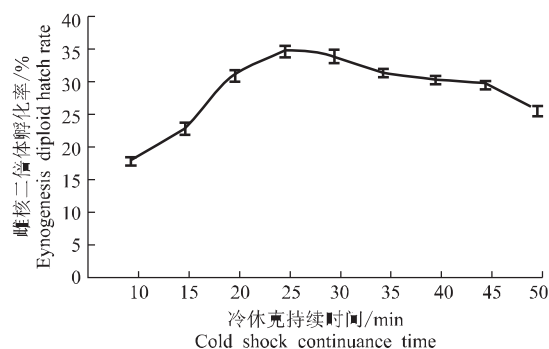


图3 不同冷休克持续时间对雌核发育二倍体孵化率的影响

Fig.3 Relationship between durations of the cold shock and gynogenesis diploid hatching rate

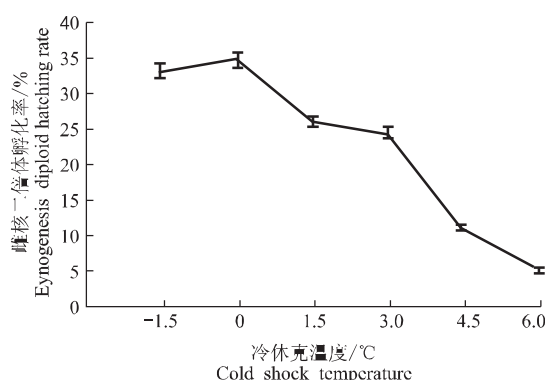


图4 冷休克温度与二倍体孵化率的关系

Fig.4 Relationship between cold shock temperature and gynogenesis diploid hatching rate

2.3 大菱鲆单倍体、雌核发育二倍体以及正常二倍体的比较

通过实验发现,大菱鲆雌核发育二倍体发育速度明显慢于正常胚胎和单倍体。大菱鲆单倍体与

雌核发育二倍体在卵孵化过程中最早出现差异是在8细胞期。单倍体卵在8细胞期的时候,有2个细胞分裂不均匀,其中有1个细胞较小(图版I a)。到16细胞和32细胞期的时候,细胞分裂不均匀更加明显,以至于细胞分布很不规则(图版I-c)。

单倍体胚胎在肌节形成后,身体会着有比较多的黑色素颗粒,且分布不规则;眼泡要比雌核发育二倍体小得多,胚体扭曲较严重(图版I-e)。

而大菱鲆雌核发育二倍体(图版I b、d、f)与对照组正常二倍体(图版I-g、h、i)比较,在发育过程中没有明显差异。

对刚孵化出膜的胚胎做测量比较(表1),可以看出,单倍体体长明显较短,而且眼径长度比雌核发育二倍体和正常二倍体短小得多。不过,卵黄囊长度和体高较雌核发育二倍体和正常二倍体稍长,单倍体与正常鱼苗和雌核发育二倍体在上述指标上差异显著($P<0.01$),而雌核发育二倍体与正常鱼苗在上述指标上差异不显著($P>0.05$)。

表1 正常鱼苗、雌核发育二倍体和单倍体的比较

样本 Sample	体长 Body length	体高 Body height	眼径长 Eyes dia	卵黄囊长 Yolk sac length
正常鱼苗 Normal fry	3.11	1.07	0.23	1.01
雌核发育二倍体 Gynogenesis diploid	3.08	1.09	0.23	1.00
单倍体 Haploid	2.46	1.19	0.14	1.17

3 讨论

3.1 异源精子的应用

大菱鲆的雌核发育在国外已经做过一些研究,并取得了成功^[7]。但国外采用的是同源精子进行大菱鲆卵雌核发育的诱导。另外,在几乎所有鱼类雌核发育研究中,都是采用对精子进行紫外线照射处理,以使其遗传物质灭活的途径来进行的。本研究采用的是与大菱鲆(染色体数目为 $2n=44$)^[10]亲缘关系极远的鲈的精子(染色体数目为 $2n=48$)^[11]。由于大菱鲆的繁殖期与鲈不相同,不易采集鲈的新鲜精液,而精子冷冻保存技术则为解决这个问题提供了极大的便利。本项研究采用了在鱼类精子库中长期冷冻保存的鲈的精液诱导大菱鲆卵雌核发育,成功地获得了雌核发育二倍体鱼苗。这样,既为鱼类冷冻精子找到了新的用途,同时,也为鱼类

雌核发育研究开辟了新的精子来源。实验表明,鲈精子经紫外照射处理后遗传物质被有效灭活,可刺激大菱鲆卵发育成单倍体。精子未经照射组和照射组的胚胎发育过程没有差别,将这2个组的胚胎发育过程与鲈正常胚胎发育过程^[12]和大菱鲆正常胚胎发育过程^[13]进行比较,以及将孵化仔鱼与鲈正常仔鱼和大菱鲆正常仔鱼做对照可以判断,不经紫外线照射处理鲈精子与大菱鲆卵杂交后代即为大菱鲆单倍体。通过对正常鱼苗、雌核发育二倍体和单倍体发育过程和刚孵化仔鱼形态上的比较也证实了这一点。这种使用不经紫外照射灭活处理的异源鱼类精子对卵进行刺激直接得到单倍体的现象还是极其少见的。精子不经紫外照射处理直接诱导雌核发育,省去了摸索精子处理条件的繁琐步骤,而且,保证了精子的活力,可以极大地提高受精率以及雌核发育的成功率。由于单倍体仔鱼在

孵化出膜 1 周内逐渐死亡,因此,采用鲈冷冻精子不经紫外照射诱导大菱鲆雌核发育,得到存活的正常形态的仔鱼全部是雌核发育二倍体,省去了再次人工剔除非目标仔鱼的繁琐工作。至于在雌核发育诱导过程中,鲈的精子是否还有其他作用,以及其基因组的去向,是否会有小片段基因融入到后代基因组中有所表达,这些都有待于进一步研究。

3.2 冷休克参数的筛选

雌核发育研究中,温度休克法是简单而行之有效的染色体加倍方法。相对于致死率较高的热休克处理法,冷休克是更为理想的方法^[14]。对冷休克效果有较大影响的主要有 3 个因素:受精后冷休克的起始时间,冷休克处理持续时间和冷休克处理温度。其中,冷休克的起始时间是最重要的参数。处理过早,受精卵还没有进入第二次减数分裂;处理过晚,第二极体就会排出,导致处理无效。本实验也证实了这一点。另外,冷休克的温度选择及处理持续时间也很重要,既不能使卵冻伤,又要保证较高的二倍体孵化率。实验发现,在 $-1.5\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,受精后 6 min 开始冷休克处理,持续 25~30 min 时,二倍体孵化率最高,这一点与其他研究采用同源精子的报道相类似^[7]。

3.3 大菱鲆单倍体和雌核发育二倍体在发育过程中的差异

研究中发现,人工诱导雌核发育二倍体的发育速度明显慢于正常二倍体和单倍体。由此本研究可以提出以下推论:实验所用强度的冷休克对胚胎发育的卵裂速度造成了影响。这说明实验所用冷休克方法是有效的。大菱鲆单倍体和雌核发育二倍体在发育过程中最早出现差异是在 8 细胞期。单倍体卵在 4 细胞到 8 细胞分裂时开始有 1 个细胞分裂不均匀,这种现象是大菱鲆单倍体发育过程中的共同特征,还是与使用未处理的鲈的精子刺激有关,这个问题还需进一步研究。单倍体胚胎 16 细胞和 32 细胞时细胞分裂也不均匀,导致细胞排列不规则,最终发育成单倍体。而雌核发育二倍体与对照组正常二倍体的胚胎发育过程没有差异。另外,单倍体在肌节形成后开始有较多的黑色素颗粒沉淀,产生这些现象的机理还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 吴清江,桂建芳. 鱼类遗传育种工程 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999: 94-102.
- [2] 楼允东. 鱼类育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 165; 327-343.
- [3] 陈松林. 水产生物技术研究的回顾、最新进展及前景展望 [J]. 水产学报, 2007, 31(6): 825-840.
- [4] 吴清江. 全雌鲤的培育及其养殖效果 [J]. 水利渔业, 1990, 3: 21-23.
- [5] 刘静, 尤峰. 人工诱导雌核发育牙鲆的染色体及核型证明 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(1): 68-71.
- [6] 戈文龙, 张全启. 异源精子诱导牙鲆雌核发育二倍体 [J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(6): 1 011-1 016.
- [7] Piferrer F, Rosa C, Gomez C. Induction of gynogenesis in the turbot (*Scophthalmus maximus*): Effects of UV radiation on sperm motility, the hertwig effect and viability during the first 6 months of age [J]. Aquaculture, 2004, 238: 403-419.
- [8] 陈松林. 鱼类精子和胚胎冷冻保存的理论与技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 175-183.
- [9] Ji X S, Chen S L, Yu G C, et al. Cryopreservation of sperm from sea perch (*Lateolabrax japonicus*) and feasibility for production-scale fertilization [J]. Aquaculture, 2004, 241: 517-528.
- [10] Chen S L, Ren G C, Sha Z X, et al. Development and characterization of a continuous embryonic cell line from turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 2005, 249(1-4): 63-68.
- [11] 沙珍霞, 陈松林. 适合花鲈的几种染色体制备方法的比较 [J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 16-22.
- [12] 胡先成, 曾双俊, 周中良, 等. 花鲈的胚胎发育和仔鱼发育 [J]. 水产科技情报, 1995, 22(5): 195-198.
- [13] 雷霖霖. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.) 胚胎及仔稚幼鱼发育研究 [J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(1): 9-18.
- [14] 戴世行, 尹立刚. 鱼类人工雌核发育中两个技术处理的最佳选择 [J]. 重庆师范学院学报 (自然科学版), 1991, 8(2): 51-55.

Induction of gynogenesis in *Scophthalmus maximus* by heterologous sperms of *Lateolabrax japonicus*

SU Peng-zhi^{1,2}, CHEN Song-lin², YANG Jing-feng², TIAN Yong-sheng², ZHAI Jie-ming³, SUN Li-juan³

(1. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Qingdao 266071, China; 3. Laizhou Mingbo Aquatic Co.Ltd, Laizhou 266031, China)

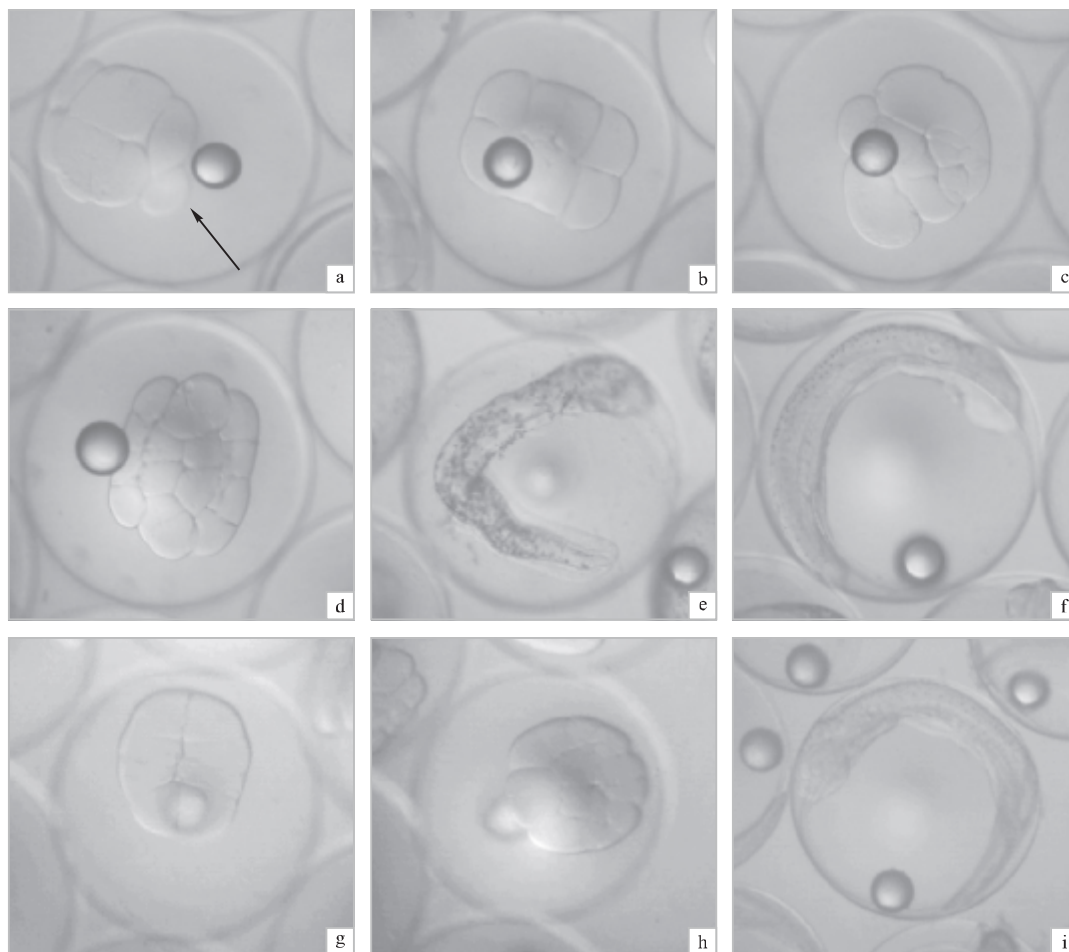
Abstract: The study aims to establish the method of gynogenesis induction in turbot (*Scophthalmus maximus*) by heterologous sperms of sea perch (*Lateolabrax japonicus*). Sperms of *L. japonicus* whether irradiated by UV light or not, both can stimulate *S. maximus* eggs to start development process. Besides, embryonic development of the two groups is entirely the same. Turbot eggs were fertilized with untreated and UV light treated sperms of sea perch, respectively. Embryonic development rate of untreated group is almost 79.1% and that of treated group was 47.6%. Put into 13 °C seawater, the eggs hatched out after about 95 h. Because the genome is not doubled, both of them exhibit aberrant development. The embryos are deformed, with shorter tails, and hard to hatch. Only a few can hatch out. They present “haploid syndrome” such as small brain, shorter body axes, weak activation and difficult hatching. So, it can be concluded that the hybridization fries of turbot eggs and sea perch sperms are haploids. When the fertilized eggs are maintained at 13 °C before any treatment, chromosome diploid is achieved by early cold shocks starting at 2–10 min after fertilization, at –1–6 °C and for 10–50 min durations. For obtaining the maximal hatching rate of diploid (proportion of diploids to fertilized eggs) in this species (34.8%), the optimal cold shock starts at 6 min after fertilization, at –1.5–0 °C and continues for 25 min. The haploids die out after 5–7 days and the left ones are turbot gynogenesis diploids. There is no difference between gynogenesis diploid and common diploid and no crossbreed individuals of *S. maximus* and *L. japonicus* are found. By comparing the development rate and morphological characteristics of common diploid, haploid and manually induced gynogenesis diploid embryos, it can be concluded that there are significant differences in embryonic development rate among them. The development rate of common diploid and haploid is higher than that of manually induced gynogenesis diploid. In morphological characteristics, the haploid embryos exhibit typical haploid syndrome with the characteristics of small head, short tail, weak activation and being difficult to break membrane. However, manually induced gynogenesis diploid embryos are identical to common diploid in the above parameters. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (5): 715–721]

Key words: *Scophthalmus maximus*; *Lateolabrax japonicus*; sperms; gynogenesis; cold shock

Corresponding author: CHEN Song-lin. Tel: 0532 85844606; E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

苏鹏志等：异源冷冻精子诱导大菱鲆的雌核发育

SU Peng-Zhi et al: Induction of gynogenesis in *Scophthalmus maximus* by heterologous sperms of *Lateolabrax japonicus*



图版 I 大菱鲆单倍体、雌核发育二倍体和正常鱼苗在不同发育时期的差异 (×200)

a: 单倍体 8 细胞期, 箭头示因卵不均分裂产生的较小的细胞; b: 雌核发育二倍体 8 细胞期; c: 单倍体 16 细胞期; d: 雌核发育二倍体 16 细胞期; e: 单倍体出膜前期; f: 雌核发育二倍体出膜前期; g: 正常鱼苗 8 细胞期; h: 正常鱼苗 16 细胞期; i: 正常鱼苗出膜前期。

Plate I Difference among *Scophthalmus maximu* haploid, gynogenesis diploid and normal fry

a: *Scophthalmus maximus* haploid at 8-cell stage, arrow shows the small cell due to asymmetrical cell division; b: *S. maximus* gynogenesis diploid at 8-cell stage; c: *S. maximus* haploid at 16-cell stage; d: *S. maximus* gynogenesis diploid at 16-cell stage; e: *S. maximus* haploid before hatching; f: *S. maximus* gynogenesis diploid before hatching; g: natural fry at 8-cell stage; h: normal fry at 16-cell stage; i: normal fry before hatching.