

文章编号: 1000-0615(2002)01-0054-07

三倍体九孔鲍的育种和养成技术研究

严正凜¹, 陈建华²

(1. 福建海洋研究所生物室, 福建 厦门 361012; 2. 漳浦县下寮海珍品实验场, 福建 漳浦 363216)

摘要: 当 50% 九孔鲍受精卵出现第一极体后, 以 6-DMAP 为诱导剂, 用不同的浓度和不同的持续时间抑制第二极体的释放诱导三倍体; 并进行了生产性苗种培育和养成试验。结果表明, 6-DMAP 的诱导浓度为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 、诱导持续时间为 10min 时, 其胚胎的三倍体率为 90% 以上, 并且胚胎的孵化率高达 85%, 幼体的畸形率较低, 为 50%~55%; 经过 7 个月培育, 试验组养成鲍的三倍体率为 65% 以上; 试验组养成鲍的平均壳长比对照组增长 10%, 平均体重比对照组增重 30%。与二倍体鲍相比较, 三倍体鲍在壳长增长和体重增重等方面, 显示了显著的优势 [$t > t_{0.01(58)}$]。

关键词: 九孔鲍; 6-二甲氨基嘌呤; 三倍体; 诱导; 育种; 养成

中图分类号: S968.31⁺5 文献标识码: A

Seed breeding and culturing of triploid abalone *Haliotis diversicolor aquatilis*

YAN Zheng-lin¹, CHEN Jian-hua²

(1. Biology group, Fujian Institute of Oceanology, Xiamen 361012, China;

2. Xiaan Lab Zhangpu County Sea Food of Fujian Province, Zhangpu 363216, China)

Abstract: When 50% of zygotes of *Haliotis diversicolor aquatilis* develop polar body iv, with 6-DMAP as derivative, various concentration and different treatment time are used to induce triploid by inhibiting releasing of the second polar body (⊖), the experiment was carried out for productive seed breeding and culturing. Results show that when 6-DMAP is at the concentration of $300 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, and treatment time is 10min, the triploid rate of embryo is above 90%; In addition, embryonic hatching rate can reach as high as 85%, with larval deformity rate as low as 50%–55%. After 7 months of cultivation, the rate of triploid of the culture abalone in test group is above 65%. On-the-spot acceptance check by experts proves that the average length of the shell of the culture abalone in test group grew 10% longer than that of control group. The average weight of the culture abalone in test group grew 30% weightier than that of the control group. Compared with diploid control group, triploid abalone displayed notable advantages in the growth of such aspects as shell length and body weight ($t > t_{0.01(58)}$).

Key words: *Haliotis diversicolor aquatilis*; ⊖ Dimethylaminopurine; triploid; induction; seed breeding; culturing

收稿日期: 2001-06-20

资助项目: 福建省科技厅资助项目(96-Z-171)

作者简介: 严正凜(1955-), 男, 福建仙游人, 副研究员, 主要从事海水经济动物繁殖养殖及鲍多倍体育种研究。Tel: 0592-6012431, E-

mail: yanzl@public.xm.fj.cn

关于九孔鲍(*Haliotis diversicolor aquatilis*)三倍体诱导的研究,除了作者的研究外^[1,2],国内外未见报道。近几年来,我们在原来研究的基础上,经过大量的反复试验,终于在三倍体九孔鲍的诱导方法方面取得了生产性突破,并通过三倍体鲍的养成试验,摸清了它的一些生物学特性等。

1 材料与方法

1.1 诱导试剂

6-二甲氨基嘌呤(6-Dimethylaminopurine,简称6-DMAP),为美国Sigma公司产品。分子式: $C_7H_9N_5$,分子量163.2,药品纯度高于98%。

1.2 三倍体诱导

当50%受精卵出现第一极体后,用6-DMAP不同的浓度进行不同的持续时间抑制九孔鲍受精卵第二极体的释放诱导产生三倍体。每一试验组的试验结果均为进行两次试验的平均值。每次试验设对照组。

1.3 胚胎倍性检查

采用观察极体个数的简易方法,即在2~4细胞期,根据镜检观察到的极体1个和极体2个的细胞数,从而推算其三倍体率:极体1个的细胞数/(极体1个的细胞数+极体2个的细胞数)×100。

1.4 三倍体试验苗种培育

以获取诱导因子的最佳参数进行三倍体生产诱导。采用与九孔鲍苗种生产相同的技术和方法培育三倍体试验苗种。

2000年6月19日进行三倍体人工诱导,并将试验组幼虫和对照组幼虫用塑料薄膜作为附着基培育至7月26日(经37d培育,个体大小为0.2~0.8cm)进行剥离。其后,改换四角砖作为附着基,用人工配合饲料和江蓠喂养。

1.5 三倍体试验鲍养成及管理

从三倍体试验苗种和二倍体苗种中,尽可能选取大小一致的苗种进行海上筏式养成和陆上室内网箱养成。2000年9月14日,挑选2.0cm左右的苗种在海上养成162个箱笼,每6个箱笼为1串,共吊养27串。其中,三倍体试验苗种5600只,每一个箱笼放养35只,共160个箱笼;二倍体苗种共70只,放养2个箱笼,作试验对照;并分别测量试验组和对照组各1个箱笼的鲍苗壳长(35只),无组间差异。2000年10月5日,挑选1.8cm左右的苗种在陆上养成15个箱,采用室内网箱流水平面养殖。其中,三倍体试验苗种1170只,每一个网箱放养90只,共13个箱;二倍体苗种共180只,均分2个箱,作试验对照;并分别测量试验组和对照组各1个网箱的鲍苗壳长(50只),无组间差异。

试验的养成管理方法与普通的鲍养成基本相同。海上养成的鲍饵料为干海带和鲜石莼,每3天投饵1次;陆上养成的鲍饵料为鲜江蓠,每2天投换1次。投饵量以投换饵料时有少许剩余为准。定期观测养成鲍的壳长等。

1.6 养成鲍的倍性检测

随机抽取三倍体试验鲍和二倍体鲍各50只(个体大小4.0~5.0cm),分别活体取其部分肉体用倍性检测仪进行DNA的相对含量分析。

2 结果

2.1 诱导浓度和诱导持续时间与三倍体诱导率的关系

用6-DMAP抑制九孔鲍受精卵第二极体的释放诱导产生三倍体的试验结果看(表1),诱导浓度为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 以上,则九孔鲍三倍体的诱导率均为90%以上;诱导浓度为 $200 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$,则其三

倍体的诱导率随浓度的减少而下降;而诱导浓度过低,如 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$,则不能诱导出三倍体。

表 1 6- DMAP 诱导九孔鲍三倍体的试验结果

Tab. 1 Results of experiment on triploid induction in *H. diversicolor aquatilis* by 6- DMAP

试验组 test group	浓度($\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) concentration	持续时间(min) treatment time	孵化率(%) ^{*1} hatching rate	畸形率(%) ^{*2} defomity rate	三倍体率(%) ^{*3} triploid rate
1	600	15	10	95	91.2
2	600	10	15	95	91.8
3	500	15	30	90	90.3
4	500	10	40	90	92.4
5	400	15	60	80	92.1
6	400	10	70	70	90.7
7	300	15	80	60	91.6
8	300	10	85	50	91.4
9	200	15	85	40	72.5
10	200	10	85	40	62.5
11	100	15	85	35	41.6
12	100	10	85	35	28.7
13	50	15	85	30	0
14	50	10	85	30	0
对照组 ^{*4} control group	-	-	85	30	0

注: * 1. 镜检孵出的担轮幼虫数与所有的胚胎和担轮幼虫数之比(下同); * 2. 镜检畸形的担轮幼虫数与所有的胚胎和担轮幼虫数之比(下同); * 3. $3N=48\pm 4$ (下同); * 4. 各次对照的平均值(下同)。

Notes: * 1. Contrast on hatching trochophore number and all the number of embryo with trochophore number under microscopy (The same below). * 2. Contrast on deformity trochophore number with all the number of embryo and trochophore number under microscopy (The same below). * 3. $3N=48\pm 4$ (The same below). * 4. Average value contrast of each pool (The same below).

从表 1 可以看出,在诱导浓度 $300\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 以上时,诱导持续时间 10 和 15min 与三倍体的诱导率没有什么差异;在诱导浓度 $200\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 和 $100\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 时,诱导持续时间越长,则三倍体的诱导率越高,即诱导持续时间 15min 的三倍体诱导率较 10 min 的高。

2.2 诱导浓度和诱导持续时间与胚胎孵化率和担轮幼虫畸形率的关系

从表 1 可以看出,在诱导浓度 $400\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 以上时,诱导浓度越高,则胚胎孵化率越低;反之亦然。诱导浓度 $300\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 以下时,则其胚胎孵化率与对照组无多大差异。诱导浓度越高,则担轮幼虫畸形率也越高。在诱导浓度 $300\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 以上时,诱导持续时间越长,则胚胎孵化率越低,担轮幼虫畸形率越高。在诱导浓度 $200\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 以下时,诱导持续时间的长短对胚胎孵化率和担轮幼虫畸形率的影响没有什么差异。

2.3 三倍体生产诱导和苗种培育

通过上述试验,对三倍体诱导率、胚胎孵化率和担轮幼虫畸形率等进行综合考虑,三倍体的最佳诱导参数应为:诱导起始时间为 50% 受精卵出现第一极体,诱导浓度为 $300\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$,诱导持续时间为 10min。用该方法进行九孔鲍三倍体生产诱导和苗种培育的试验结果,三倍体诱导率均为 90% 以上,均为 91.4% (表 2)。

2.4 养成鲍的壳长生长比较

海上养成试验: 2.0cm 苗种经过 139d(2000 年 9 月 14 日-2001 年 1 月 30 日)养成,试验组鲍平均壳长(4.50 ± 0.75)cm,对照组鲍平均壳长(4.05 ± 0.61)cm,前者比后者大 11.1%。

陆上养成试验: 1.8cm 苗种经过 177d(2000 年 10 月 5 日-2001 年 3 月 30 日)养成,试验组鲍平均壳长(4.70 ± 0.56)cm,对照组鲍平均壳长(4.05 ± 0.61)cm,前者比后者大 16.5%。二者差异极显著 [$t > t_{0.01}(58)$]。

表 2 九孔鲍三倍体的生产诱导和苗种培育的试验结果

Tab. 2 Results of experiment on triploid of productive induction and seed breeding in *H. diversicolor*

试验批号 test batch	日期 date	孵化率(%) hatching rate	畸形率(%) deformity rate	三倍体率(%) triploid rate	担轮幼虫数量($\times 10^4$ 只) trochophore number	鲍苗数量($\times 10^4$ 只) abalone seeding number
iv	1998. 9. 25- 11. 1	85	50	92.1	10. 2	0. 5
㊸	1998. 10. 30- 12. 9	85	50	91.7	8.4	0. 4
㊹	1998. 11. 16- 1. 8	85	55	91.6	10. 7	0. 5
㊺	1999. 4. 28- 6. 10	85	50	90.8	13. 4	0. 8
㊻	1999. 5. 2- 6. 10	85	50	91.0	62. 5	3. 1
v	1999. 9. 12- 10. 20	85	50	91.2	50. 3	2. 4
×	2000. 6. 19- 7. 26	85	50	91.5	95. 0	7. 5
对照组 control group		85	30	0	36. 5	2. 2

注: iv- ㊸的鲍苗个体大小为 0.4~ 0.6cm; ㊹- ㊻的鲍苗个体大小为 0.2~ 0.8cm; 对照组的孵化率和畸形率是各次对照的平均值, 其担轮幼虫数量和鲍苗数量是各次对照的累加。

Notes: Abalone larva size is 0.4~ 0.6cm at iv- ㊸; Abalone larva size is 0.2~ 0.8cm at ㊹- ㊻; The hatching rate and deformity rate of contrast group is the average value of each Contrast group. The trochophore number and abalone larva number of contrast group is The sum total of each contrast group.

表 3 试验组和对照组养成鲍的壳长生长比较

Tab. 3 Comparison of growth of shell between of the culture abalone in triploid test group and diploid control group

观测日期 date of observe	2000- 10- 30	2000- 11- 30	2000- 12- 30	2001- 01- 30	2001- 02- 28	2001- 03- 30
海上试验组鲍平均壳长 (cm) average shell length of abalone in the sea surface test group	2.55±0.38	3.38±0.54	4.03±0.63	4.50±0.75		
海上对照组鲍平均壳长 (cm) average shell length of abalone in the sea surface contrast group	2.42±0.15	3.11±0.48	3.64±0.58	4.05±0.61		
陆上试验组鲍平均壳长 (cm) average shell length of abalone in test group at land	2.18±0.13	2.65±0.24	3.45±0.33	4.13±0.40	4.43±0.51	4.70±0.56
陆上对照组鲍平均壳长 (cm) average shell length of abalone in contrast group at land	2.13±0.18	2.58±0.25	3.21±0.31	3.85±0.34	4.08±0.38	4.27±0.42

注: 2月1日- 10日海上养成鲍发生大批量死亡, 故中止试验。

Note: 1- 10 February happened a large number cultivated abalone death in the sea surface, therefore, this experiment halt.

2.5 养成鲍的体重增重比较

1.8cm 苗种自 2000 年 10 月 5 日经过 214d 陆上养成试验, 经专家现场验收, 试验组鲍的平均体重为 12.27g, 对照组鲍的平均体重为 9.44g, 前者比后者增重 29.98%。二者差异极显著[$t > t_{0.01(58)}$]。

2.6 养成鲍的存活比较

海上养成鲍截止 1 月 30 日, 试验组养成鲍的存活率为 88.57%~ 94.28%, 平均为 90.5%; 对照组养成鲍的存活率为 85.71%~ 88.57%, 平均为 87.14%。陆上养成鲍截止 3 月 30 日, 试验组养成鲍的存活率为 90.11%~ 93.33%, 平均为 91.16%; 对照组养成鲍的存活率为 83.33%~ 85.55%, 平均为 84.44%。

2.7 试验组幼虫经培育和养成后三倍体率的变化

2000 年 6 月 19 日, 试验组幼虫(受精卵 2 细胞~ 4 细胞期)的三倍体率为 90% 以上。经过培育和养成, 2001 年 3 月 30 日, 其成鲍的三倍体率为 65% 以上。二倍体和三倍体的 DNA 相对含量分别见图 1 和图 2。

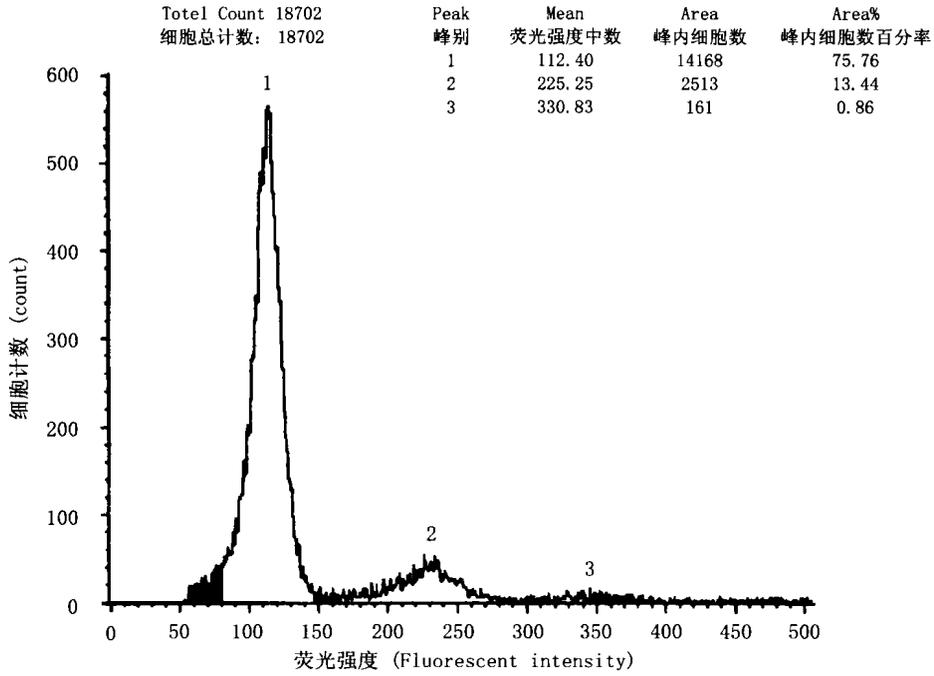


图1 二倍体鲍的DNA相对含量

Fig. 1 Relative content of DNA of diploid abalone

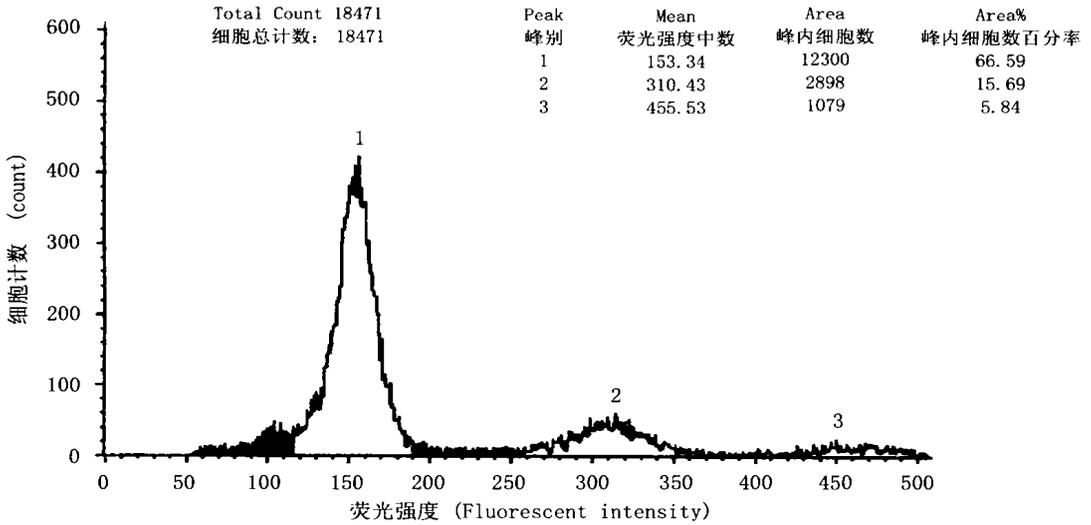


图2 三倍体鲍的DNA相对含量

Fig. 2 Relative content of DNA of triploid abalone

2.8 养成鲍的外观性腺比较

试验组和对照组养成鲍在 2.5~ 3.0cm 前后开始, 外观上均有发育的性腺, 但前者不甚明显; 随着鲍个体的长大, 性腺也逐渐膨大, 但大部分试验组九孔鲍的性腺不发达, 有的性腺末端短小甚至仅有痕迹, 其性腺体积约为对照组的二分之一; 与对照组一样, 试验组养成鲍的雌雄比例基本上为 1:1。

3 讨论

3.1 6- DMAP 的作用机制及优点

近年报道用 6- DMAP 诱导长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 取得很高的三倍体率^[3], 尚未见用于鲍三倍体诱导的报道。6- DMAP 具有不致癌等优点, 较细胞松弛素 B 便宜, 易水溶性, 并且有与 CB 同样较高的三倍体诱导率, 故易被人们普遍使用。当 6- DMAP 与微管二聚体结合以后, 对微管的正常结构和功能起到了抗有丝分裂的作用, 因此抑制受精卵的极体释放可以产生三倍体。但它是一种蛋白激酶抑制剂, 是影响磷酸激酶作用的嘌呤毒素类似物, 对胚胎有一定的毒性。从本试验的结果(表 1、表 2)可以看出 6- DMAP 的三倍体诱导效果及其毒性。

3.2 诱导起始时间

精卵的受精及其发育的速率, 与试验时的水温也有很大关系。因此, 在每次诱导处理之前, 进行反复预试验, 观察和了解其时水温下 50% 受精卵放出第一极体时的时间, 以便在确定诱导起始时间时作时间范围的参考。当观察 50% 受精卵放出第一极体时进行诱导, 实际上受精卵几乎为 100% 放出第一极体, 也就是说, 几乎所有受精卵都放出第一极体后进行诱导。试验表明, 这种做法, 三倍体比例最大。

3.3 诱导浓度和持续时间

笔者认为, 6- DMAP 的浓度作为三倍体诱导的三个诱导因子之一, 在抑制受精卵的极体释放有个阈值, 其浓度低于这个阈值, 不管诱导持续时间有多长, 都不能有效抑制住极体的释放, 都不能使之产生多倍体。只有当 6- DMAP 浓度达到阈值后, 并且诱导持续时间达到一定的效应时间时才能抑制住极体的释放, 才能产生多倍体。若是抑制第二极体释放, 这个“一定的效应时间”则应为释放出第一极体后开始到释放出第二极体所需要的时间。若浓度达到阈值而诱导持续时间大大超过这个“一定的效应时间”, 或诱导浓度大大超过阈值, 则所诱导的受精卵虽然能产生多倍体, 但必然会出现胚胎的孵化率很低和幼体的畸形率很高的现象。

3.4 诱导的关键技术

确保批量精卵的同步成熟、同步受精和同步发育是多倍体诱导的关键技术。尽管九孔鲍三倍体诱导的精卵是通过其自然产卵获得的, 但批量的精卵在成熟度方面仍存在着一定程度的不同步性。在三倍体诱导中, 应尽可能地采取温和的手段催产来获得所需要的批量精卵, 以获得高又稳定的三倍体倍化率。批量的卵子放置的时间, 也影响着同步成熟、同步受精和同步发育。精子的活力对批量精卵的同步受精和同步发育有十分重要的影响。在三倍体诱导中, 应取刚排放出来的精子与卵子在较短的时间里进行人工授精。

3.5 胚胎的倍性检查

本试验, 用极体个数法鉴定三倍体率可以即时了解三倍体诱导技术的有效性, 从而避免染色体倍数鉴定的延迟性和三倍体诱导的盲目性。这种方法直观、简便, 但它所表示的三倍体率与成体三倍体率的离近性, 是直接受胚胎畸形率和幼虫死亡率等所左右的。栉孔扇贝 *Chlamys (Azumapecten) farferi* 胚胎阶段的倍性检测结果与 D 型幼虫及稚贝阶段的检测结果之间不存在可比性, 它可以作为判断诱导有效性的一种技术指标, 但不能用于表示成体的三倍体率^[4]。

3.6 成体的倍性检测

本试验养成鲍的倍性检测采用流式细胞术。流式细胞仪倍性检测法是用对 DNA-RNA 具有特异性的荧光染料对细胞核进行染色。细胞解离制成悬液后, 用激光激发, 然后通过细胞荧光分析仪的光敏区, 其荧光强度就会被显示出来。荧光强度与细胞的 DNA 含量成正比, 可以反映出被测细胞群体的相对 DNA 含量^[5]。图 1 和图 2 分别表示二倍体和三倍体九孔鲍 DNA 相对含量。图中的 Mean 值, 表示的是 DNA 相对含量, 图 1 的 Mean 值为 112.4, 图 2 的 Mean 值为 153.34, 后者非常接近于 3N。由于流式细

胞仪不能准确检测出 DNA 含量的细微变化,检测出的整倍体个体有可能包括非整倍体^[6]。

3.7 三倍体的生长

鲍与双壳类贝类不同,浮游幼虫期短且不摄食;自进入变态附着后的幼虫培养到成为 2.0cm 苗种规格的鲍苗,个体之间大小差异甚大。在相同的水环境条件中,这时期的鲍个体生长差异,除了卵子本身外,还受其分布密度、群集分布、饵料摄食等因素的影响,由于这些因素带有随机性,在此阶段要比较三倍体试验鲍与二倍体鲍的生长速度缺乏可比性。为此,本试验采用相同规格的苗种通过养成来比较三倍体试验鲍与二倍体鲍的生长情况。

养殖 19 个月的三倍体皱纹盘鲍 *Haliotis discus hannai* 比二倍体增重 20.1%,壳长增加 10.2%,足肌增重 17.6%^[7]。经过 7 个月培育,本试验九孔鲍成鲍经专家现场验收,三倍体试验组的平均壳长比二倍体对照组增长 10.07%,三倍体试验组平均体重比二倍体对照组增重 29.98%。试验结果表明,与二倍体鲍相比较,三倍体鲍在壳长增长和体重增重等方面,显示了确切的优势。

有资料表明,杂合度、能量转化及多倍体细胞的巨态性都不是引起三倍体个体增大的唯一原因,多倍体的快速生长现象可能是三者共同作用的结果^[6]。

3.8 三倍体的生活能力

三倍体贝类的幼虫成活率较低,其原因一般认为不是由于倍性引起的,而主要是其他因子,如诱导处理时诱导剂潜在的毒性影响或者由于第二极体的抑制导致基因的纯合等。三倍体贝类在养成阶段的存活率与二倍体无明显差异^[6,8]。本试验,三倍体试验组成鲍平均成活率为 91.16%,二倍体对照组平均成活率为 84.44%。

3.9 三倍体的性腺发育

对许多三倍体贝类的性腺观察结果表明,三倍体贝类的性腺都有一定程度的发育,但总的来说其性腺发育较差^[4]。有些三倍体贝类的性腺也能产生成熟的精子和卵子,三倍体卵子受精后,同二倍体卵子一样,经过两次减数分裂并释放出两个极体^[6]。与其他的三倍体贝类一样,三倍体九孔鲍的不育性,也并非完全不育,而是其性腺发育受阻,不像二倍体鲍那样发育完全。三倍体贝类能产生配子的事实向三倍体不育性的观点提出了挑战。今后需要对多倍体的九孔鲍繁殖生物学做进一步深入、细致的研究。至于三倍体九孔鲍的抗逆性以及生理生化指标等,有待研究和探讨。

参考文献:

- [1] Yan Z L, Jiang H, Li P L, et al. Study on the induction on the triploids in abalones *Haliotis diversicolor diversicolor* and *H. diversicolor aquatilis* by cold shock[J]. Mar Sci Bull, 1997, 16(6): 20- 26. [严正凜,江宏,李丕廉,等.杂色鲍和九孔鲍三倍体的冷休克诱导研究[J].海洋通报,1997,16(6):20-26.]
- [2] Yan Z L, Jiang H, Li P L, et al. Study on induction of triploids in abalone *Haliotis diversicolor diversicolor* and *H. diversicolor aquatilis* by chemicals[J]. J Ocea Taiwan Strait, 1999, 18(3):337- 341. [严正凜,江宏,李丕廉,等.杂色鲍和九孔鲍三倍体的化学诱导[J].台湾海峡,1999,18(3):337-341.]
- [3] Tian C Y, Wang R C, Liang Y, et al. Triploidy of *Crassostrea gigas* induced with 6- DMAP: by blocking the second polar body of the zygotes [J]. J Fish Sci China, 1999, 6(2): 1- 4. [田传远,王如才,梁英,等.6-DMAP 诱导太平洋牡蛎三倍体一抑制受精卵第二极体释放[J].中国水产科学,1999,6(2):1-4.]
- [4] Yang A G, Wang Q Y, Liu Z H, et al. The observation on the gonads of Triploid scallops (*Chlamys farreri*) [J]. Mar Fish Res, 2001, 22(1): 13- 18. [杨爱国,王清印,刘志鸿,等.三倍体栉孔扇贝的生殖腺观察[J].海洋水产研究,2001,22(1):13-18.]
- [5] Gong N, Song J, Ding J, et al. Rapid living determination of shellfish Ploidy using flow cytometry[J]. Mar Sci, 2000, 24(9): 17- 18. [巩宁,宋坚,丁君,等.双壳类贝类活体倍性快速检测技术[J].海洋科学,2000,24(9):17-18.]
- [6] Guo X M, Yang H P, Que H Y, et al. Advances on Marine Biotechnology[M]. Beijing: China Ocean Press, 1999. 101- 125. [郭希明,杨蕙萍,阙华勇,等.海洋生物技术新进展[M].北京:海洋出版社,1999.101-125.]
- [7] Sun Z X, Song Z L, Li N, et al. A preliminary study on the growth of triploid abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Transs Ocea Limno, 1992, 4:70- 75. [孙振兴,宋志乐,李诺,等.皱纹盘鲍三倍体生长的初步研究[J].海洋湖沼通报,1992,4:70-75.]
- [8] Komaru A, Wada K T. Gametogenesis and growth of induced triploid callops, *Chlamys nobilis*[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1989, 55(3): 447- 452.