



Bibliothèque
NANTES

Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

RAPPORT DE MISSION
IVTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
GENETICS IN AQUACULTURE (WUHAN, CHINE)
FORMATION AUX TECHNIQUES DE BANDING
(MONTPELLIER)

Mai 1991

présenté par A. Diter

**CENTRE OCÉANOLOGIQUE
DU PACIFIQUE**

B.P. 7004 TARAVAO
TAHITI - POLYNÉSIE FRANÇAISE
TÉL. 57.12.74 VAIRAO
TÉLEX : OCEANEX 294 FP

417

RAPPORT DE MISSION
IVTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
GENETICS IN AQUACULTURE (WUHAN, CHINE)
FORMATION AUX TECHNIQUES DE BANDING
(MONTPELLIER)

Mai 1991

présenté par A. Diter



INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

Adresse :
 IFREMER
 BP 7004
 TARAVAO
 Tahiti-Polynésie Française

DIRECTION DES RESSOURCES VIVANTES
 DEPARTEMENT RESSOURCES AQUACOLES
 STATION/LABORATOIRE TAHITI

AUTEUR (S): A. Diter		CODE: DRV/AQ/TAH 91. 110
TITRE: RAPPORT DE MISSION IVTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GENETICS IN AQUACULTURE (WUHAN, CHINE) FORMATION AUX TECHNIQUES DE BANDING (MONTPELLIER), mai 1991		date: 10-91 Nb tirage: 19 Nb pages: 27 Nb figures: 0 Nb photos: 0
CONTRAT (intitulé)		DIFFUSION libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>
N° _____		

RESUME	
<p>La liste de toutes les communications du symposium sur la génétique en aquaculture (Wuhan, 29 avril-4 mai 1991) et les principales avancées sont rapportées.</p> <p>La seconde partie de la mission a consisté principalement en un stage de formation à des techniques de coloration différentielle de la chromatine (banding). Ce stage s'est déroulé à l'USTL (Montpellier) du 13 au 24 mai 1991. Différentes rencontres ont eu lieu pour la mise en place de collaborations avec des laboratoires métropolitains ou pour la démonstration d'appareils (cytomètre en flux, analyseur d'image).</p>	
mots-clés: Crustacé, Mollusque, Poisson, Chromosome	
key-words: Crustacean, Mollusc, Fish, Chromosome	



Liste de diffusion

IFREMER

DRCI

DRV

DRV/RA

Dir. Objectif Biotechnologie

Stations

Brest

La Tremblade

La Trinité

Palavas

Bibliothèques

Brest

Nantes

COP

Bibliothèque

Unité Génétique

D/AQ

Minute

France-Aquaculture

INRA

Laboratoire de Génétique des Poissons

USTL

Laboratoire de cytogénétique

Université de Poitiers

Laboratoire de Génétique et de Physiologie des Crustacés

CNRS-Université Paris VI

Observatoire Océanologique de Villefranche sur Mer

SOMMAIRE

OBJET	5
FINANCEMENT	
ITINERAIRE	
MISSION EN CHINE.....	6
PRESENTATION GENERALE	6
Le IV th ISGA	
Les Thèmes	
Les Participants	
L'AQUACULTURE CHINOISE EN QUELQUES CHIFFRES.....	7
L'aquaculture d'eau douce	
L'aquaculture marine	
LES POISSONS	8
Cytogénétique	
Sélection	
Transfert de gène	
LES CRUSTACES.....	9
Cytogénétique	
Génétique des populations	
Cryoconservation	
Sélection	
LES MOLLUSQUES.....	11
Cytogénétique	
Sélection	
MISSION EN FRANCE.....	12
PROGRAMME DU STAGE	
L'ANALYSEUR D'IMAGE ALCATEL.....	12
LE CYTOMETRE EN FLUX BRUKER	13
COLLABORATION USTL-COP.....	14
COLLABORATION UNIVERSITE DE POITIERS-COP.....	15
ANNEXE 1	16
Liste des personnes rencontrées	
ANNEXE 2.....	17
Liste des communications présentées au IV ^{ème} ISGA	

OBJET

La mission en République Populaire de Chine m'a permis de participer au *IVth International Symposium on Genetics in Aquaculture (IVth ISGA)* et d'y présenter nos résultats sur l'induction de la polypléidie chez *Penaeus indicus*.

La seconde partie de la mission a consisté principalement en un stage de formation à des techniques de coloration différentielle de la chromatine (banding). Ce stage, organisé par M. Bernard Delay, s'est déroulé à l'USTL (Montpellier), au laboratoire de cytogénétique sous la conduite de Mmes Janice Britton-Davidian et J. Catalan.

FINANCEMENT

Le billet d'avion a été payé pour moitié par la Direction des Relations et de la Coopération Internationales de l'IFREMER.

Le reste des frais de mission et toutes les indemnités journalières ont été pris en charge par le COP.

ITINERAIRE

	arrivée	départ
Tahiti		22-04-91
Sydney (transit)	23-04-91	24-04-91
Hongkong (transit)	24-04-91	27-04-91
Wuhan (congrès)	27-04-91	04-05-91
Paris (congrès)	04-05-91	13-05-91
Montpellier USTL (formation)	13-05-91	16-05-91
Paris (IFREMER siège, INRA Jouy)	17-05-91	17-05-91
Poitiers (Université)	17-05-91	17-05-91
La Tremblade (IFREMER URGE)	18-05-91	20-05-91
Montpellier USTL (formation)	21-05-91	24-05-91
Tahiti	26-05-91	

MISSION EN CHINE

PRESENTATION GENERALE

Le IVth ISGA

Le IV^{ème} Symposium International sur la Génétique en Aquaculture fait suite à ceux de Dublin (1982), Davis (1985) et Trondheim (1988). Il s'est tenu à Wuhan, l'une des plus grandes cités industrielles du centre de la Chine, située sur le fleuve Yang-Tsé. L'organisation était assurée conjointement par l'Institut d'Hydrobiologie, affilié à l'Académie Chinoise des Sciences, et par l'Association Internationale pour la Génétique en Aquaculture.

Le prochain ISGA aura lieu à Halifax en 1994 (proposition de G. Newkirk).

Les Thèmes

Tous les domaines de la génétique ont été abordés et des travaux ont été présentés sur toutes les grandes classes animales de l'aquaculture (tableau 1). Au total, 141 contributions ont été présentées dont 44 oralement. Ce symposium a été dominé par les travaux portant sur les poissons (86% des papiers) et la génétique cellulaire (34%) et quantitative (30%). On peut noter l'unique rapport expérimental concernant le règne végétal.

Tableau 1. Nombres de contributions répertoriées par domaine de recherche et par groupe taxonomique. Les nombres entre parenthèses concernent les présentations orales.

GENETIQUE	POISSONS	MOLLUSQUES	CRUSTACES	ALGUES	TOTAL
MENDELIEENNE	5 (1)	1 (0)			6 (1)
POPULATIONS	8 (3)	1 (1)	2 (2)		11 (6)
CELLULAIRE	38 (7)	3 (1)	6 (0)	1 (1)	48 (9)
QUANTITATIVE	38 (17)	3 (1)	2 (1)		43 (19)
MOLECULAIRE	19 (6)				19 (6)
DIVERS*	13 (2)			1 (1)	14 (3)
TOTAL	121 (36)	8 (3)	10 (3)	2 (2)	141 (44)

* La catégorie "divers" comprend les rapports relevant d'autres disciplines ou portant sur l'état de l'aquaculture ou de la recherche dans tel domaine ou tel pays.

Les Participants

Plus de 160 participants étaient attendus parmi lesquels j'ai dénombré au moins 25 absents, notamment d'URSS, des USA, du Japon et de Tchécoslovaquie. Les Chinois comptaient pour plus de la moitié des participants présents. Une vingtaine de pays étaient représentés:

Allemagne (4 ou 5 participants), Angleterre (1), Australie (1), Canada (3), Chine (environ 70), Ecosse (2), Finlande (2), France (1), Ghana (1), Hongkong (1), Inde (1), Indonésie (2), Islande (1), Israël (4), Italie (1), Japon (2), Norvège (6 à 8), Pays-Bas (1), Pays de Galles (1), Philippines (5 à 12), Singapour (1 à 3), Thaïlande (1 à 4), URSS (1), USA (3), Vietnam (1).

La présence de V.S. Kirpichnikov, traité en invité d'honneur, a été particulièrement remarquable puisqu'il s'agissait pour lui (âgé de plus de 80 ans) de sa première participation à un congrès hors des pays de l'est.

L'AQUACULTURE CHINOISE EN QUELQUES CHIFFRES

Les informations qui suivent ont été glanées lors de la présentation orale de C. Tseng (*Mariculture in mainland China*), au cours de discussions, notamment avec J. Xiang, ou sont issues du papier de Liu et Hu (*Chinese aquaculture on its way of development*). Les chiffres les plus récents qui nous ont été présentés concernent les années 1988 et 1989.

La Chine s'affiche au troisième rang mondial pour la production totale de ses pêcheries (pêche et aquaculture confondues) qui a dépassé 11,5 M t en 1989. L'aquaculture a été à l'origine de plus de 50 % de la production totale.

L'aquaculture d'eau douce

La Chine produit un tiers de la production dulçaquicole mondiale, soit plus de 4 M t, ce qui la place au premier rang (1988). La part de l'aquaculture dans la production dulçaquicole atteint 90 %. Elle emploie plus de 5,6 millions de personnes. Environ 3,9 M ha sont exploités sur une surface totale exploitable de 5,6 M ha. Le rendement annuel moyen, toutes espèces confondues, est passé en dix ans de 300 kg à plus d'une tonne à l'hectare en 1988. La pisciculture d'eau douce produit une quarantaine d'espèces ou de variétés, principalement des cyprinidés.

L'aquaculture marine

Elle est très diversifiée puisqu'elle concerne aussi bien les algues (laminaire, porphyra) que les poissons (bar rayé, mullet, pagre), les mollusques (huître, palourde, ormeau, moule, coquille St-Jacques) ou les crustacés (crevette, crabe). En 1988, 0,412 M ha d'eaux côtières étaient exploitées sur 1,33 M ha exploitables. De plus, environ 3 M ha de zones de basses terres impropres à l'agriculture pourraient être aménagées pour l'aquaculture. La production de laminaire a atteint 273 000 t de matière sèche en 1989. Le tonnage de moules produites la même année s'élevait à 490 000 t contre 36 700 t en 1970. La pisciculture marine, occupant près de 40 000 ha, a produit 33 000 t en 1988 et 36 400 t en 1989. L'aquaculture des crevettes, qui remonte à 1 ou 2 siècle, concerne à plus de 90 % *Penaeus chinensis* (*P. orientalis*). L'élevage est essentiellement extensif, avec des rendements annuels moyens de l'ordre de la tonne à l'hectare. L'addition d'engrais (biologique) n'est pas systématique. Quelques rares éleveurs se lancent dans l'élevage intensif avec des fortunes diverses compte tenu de leur manque d'expérience et de l'absence de formation disponible. La taille des exploitations est très variable, de 1-3 ha pour les entreprises familiales jusqu'à 6000 ha pour les plus vastes. La majeure partie des élevages se situe au nord entre la Corée et Shanghai, mais on en trouve aussi tout le long de la côte sud jusqu'au golfe du Tonkin. On estime qu'environ 300 000 personnes vivent de l'aquaculture de la crevette en Chine, en incluant tout le cycle de production et la fabrication de l'aliment. La production a été multipliée par un facteur supérieur à 150 en dix ans, passant de 1 200 t en 1978 à 199 000 t en 1988. La Chine est désormais le premier pays producteur de crevettes d'élevage. Comptant pour 0,3 % de la production totale de la mariculture chinoise en 1978, l'aquaculture de la crevette en représente aujourd'hui plus de 12 %. En 1989, ont été produites 4 100 t d'autres crustacés d'élevage. Un vaste projet national a débuté en 1984 pour le repeuplement de *P. chinensis*. Le programme de génétique des populations initié en 1988 affiche notamment l'étude des populations naturelles situées entre Shanghai et le Vietnam.

LES POISSONS

Cytogénétique

Plusieurs papiers chinois font état de l'obtention d'hybrides multivoies chez les Cyprinidés. Les allèles de certains locus (SOD, MDH) présents chez les parents n'ont pas été observés chez l'hybride multiple (Wu *et al.*).

Des poissons pentaploïdes adultes ont été produits pour la première fois. Arai *et al.* les ont obtenus par la méthode de Chourrout et Nakayama (1987), chez la loche (*Misgurnus anguillicaudatus*) à partir de géniteurs tétraploïdes naturels. La loche est un bon modèle pour la génétique, son intervalle de génération étant de 5 à 7 mois. Arai m'a dit avoir abandonné l'ormeau comme matériel biologique en raison des difficultés que représentent la ponte et surtout la collecte d'animaux matures dans le milieu naturel en des sites très éloignés de son laboratoire.

L'utilisation des techniques d'empreintes génétiques, chez le tilapia, a révélé que des petits fragments de chromatine paternelle étaient transmis dans la descendance gynogénétique (irradiation UV, Mair *et al.*). Le seul moyen d'être sûr de s'affranchir de ces fragments de chromatine résiduelle dans les lignées uniparentales serait donc l'induction de la parthénogenèse.

Sélection

Un résultat intéressant est celui présenté par Fevolden *et al.* sur l'influence d'une sélection pour une faible sensibilité au stress (taux réduits de cortisol circulant) sur la résistance à deux bactérioses (chez la truite arc-en-ciel et le saumon atlantique). Chez les deux espèces, les lignées sélectionnées pour leur faible sensibilité au stress présentent une meilleure résistance à la furunculose mais une plus faible résistance à la vibriose que les lignées sensibles au stress. Il n'existe pas de lien génétique entre la réponse au stress et la résistance aux maladies en général. On ne peut donc pas a priori utiliser ce caractère comme critère de sélection indirect.

Le travail de Komen *et al.*, sur la carpe commune, a montré que le coefficient de variation de différents paramètres de la croissance était très élevé dans les lignées de clones homozygotes alors qu'il était réduit dans les lignées F1 hybrides issues de parents homozygotes. Ces dernières confirment donc leur valeur pour l'aquaculture mais aussi pour le laboratoire en tant qu'animaux standards.

Transfert de gène

De nombreux papiers chinois rapportent des expériences réussies de transfert de gènes divers suivies d'un progrès génétique notable (croissance, résistance aux maladies ou au froid). Les résultats présentés (en majorité par de jeunes étudiants) sont peu étayés et parfois pour le moins surprenants. Les équipes chinoises ne font pas état de difficultés rencontrées par les autres équipes. Les chercheurs occidentaux qui travaillent dans le domaine m'ont dit attendre la confirmation de ces résultats.

Le laboratoire du Pr. Zhu (absent) que nous avons visité à l'Institut d'Hydrobiologie de Wuhan est équipé pour le transfert de gène. Les techniques de transfert utilisées sont la microinjection (démonstration avec moniteur vidéo sur des oeufs de carpe) et l'électroporation (pas de démonstration, l'appareil de construction artisanale est constitué de 4 interrupteurs manuels à basculement, 1 voltmètre et 2 fils électrodes collés dans le fond d'un bloc de plastique creusé). Les gros appareils de laboratoire (centrifugeuse,...) et l'équipement informatique sont de marque occidentale.

LES CRUSTACES

Cytogénétique

L'induction de la polyploïdie est rapportée pour la première fois chez des crevettes pénéides par deux équipes chinoises (*P. orientalis*, triploïdie) et une française (*P. indicus*, triploïdie et tétraploïdie). Des chocs thermiques (chaud et froid) et la cytochalasine B ont été rapportés comme étant efficaces. Le rendement des traitements a été estimé sur des embryons (Dai *et al.*, Lin et Cai) ou sur des larves nauplii (Aquacop *et al.*, Dai *et al.*). Aucun élevage n'a été réalisé.

L'incubation chez *P. orientalis* se fait à 18°C. Les premier et second globules polaires et la première mitose apparaissent respectivement 5 mn, 15-20 mn et 60 mn après la ponte. Les oeufs, comme ceux de *P. indicus*, sont très fragiles dans les 5 premières minutes après la ponte (Q. Zhang). Le meilleur traitement de l'équipe de Dai *et al.* (qui ont testé des chocs froids et chauds) est un bain de 30 mn à 9°C, appliqué 10 mn après la ponte (taux d'éclosion: 57% par rapport au témoin). On ne peut pas en conclure pour autant que les chocs froids sont plus efficaces que les chauds car l'optimisation ne semble pas achevée (44% de triploïdes au maximum).

Les objectifs des deux équipes chinoises sont de créer des populations monosexes femelles, de supprimer la mortalité liée à la maturation, et de lâcher des individus stériles dans le milieu naturel (Q. Zhang, comm. pers.). L'induction de la triploïdie permettra de répondre aux deux derniers objectifs et constitue une étape intermédiaire (rétention d'un globule polaire) dans la mise au point de la gynogenèse induite. Ils font l'hypothèse que le déterminisme du sexe est tel que les descendants gynogénétiques seront tous femelles.

D'après Q. Zhang, la fécondation *in vitro* est relativement aisée chez *P. orientalis*. Les ovules sont prélevés dans l'ovaire de la femelle sacrifiée. Ils sont simplement mélangés avec le sperme dans l'eau de mer. Le taux de fécondation atteint 50 à 80%. Il aurait essayé l'irradiation aux UV et aurait observé que ce traitement casse le spicule des spermatozoïdes. Il se dirigerait donc vers un traitement aux rayons gamma. Les individus gynogénétiques qu'il a obtenus seraient non viables, de même que les tétra- et pentaploïdes. Ils ne dépasseraient pas le stade d'embryon. Cette équipe (Dai *et al.*, Ocean University, Qingdao) travaille dans ce domaine depuis quatre ans.

Cai et Lin rapportent l'induction de la gynogenèse chez *P. orientalis*. Ils auraient inactivé le sperme dans le thélycum en exposant directement la femelle aux ultraviolets, malgré le très faible pouvoir de pénétration de ces rayons. La cytochalasine B a été employée pour rétablir la diploïdie, semble-t-il avec succès, à une dose pourtant très faible. Ces résultats, s'ils sont confirmés, renouvelleront ce que l'on sait de ces agents inactivateur et antiméiotique. Les individus résultant des traitements n'ont pas été élevés (taux d'éclosion: 15 à 37%). Il n'a pas été employé de marqueur de gynogenèse. Plusieurs des participants ont cherché à rencontrer une personne de cette équipe, sans succès.

Un autre chercheur chinois, J. Xiang (Institut d'Océanologie, Academia Sinica, Qingdao), a produit des embryons polyploïdes de *Sicyonia ingentis* lors de son stage au laboratoire de W. Clark (Université de Californie, Davis) en 1988. Son thème de travail était déjà d'établir les caryotypes de nombreuses espèces de crevettes pénéides et de mettre au point différentes techniques de caryologie sur divers tissus. Son but n'était pas de produire des adultes polyploïdes mais seulement d'obtenir des caryotypes polyploïdes. Il n'a donc pas cherché à optimiser un traitement inductif. Il a utilisé la colchicine (peu efficace), la cytochalasine D (pendant 40 mn, appliquée 30 mn après la ponte) et des chocs

chauds et froids. Dans le meilleur des cas, il a obtenu quelques caryotypes polyploïdes. Personne n'a poursuivi son travail dans l'équipe de Clark.

Il a obtenu des caryotypes à partir de blastème de régénération. Le blastème est coupé 4 à 5 jours après qu'il ait repoussé (il doit être durci) et plongé dans la colchicine (0,04 %) pendant 1 heure (on peut ajouter du DMSO). Pour augmenter le taux de métaphases observées, on peut faire des appositions.

Le professeur associé J. Xiang semble posséder une bonne expérience en cytogénétique. Une collaboration avec lui pourrait être intéressante.

Questionné à propos de l'avancement des recherches en Israël sur la chevrette (populations monosexes), G. Hulata m'a répondu qu'elles étaient stoppées, A. Sagi ayant achevé sa thèse. G. Hulata ne travaille désormais que sur la carpe et le tilapia.

Génétique des populations

L'*Australian Institute of Marine Science* (AIMS) a débuté depuis peu un programme d'étude de la variabilité et des différences génétiques des populations de *P. monodon* sur les côtes australiennes. L'Écossais J. Benzie, qui dirige à l'AIMS les programmes de génétique appliquée à la mariculture, a mis en évidence des différences génétiques (au niveau de marqueurs enzymatiques et de l'ADN mitochondrial) entre une population de la côte nord-ouest et celles des côtes est et nord. Ces différences seront mises à profit lors des programmes de sélection pour la croissance qui débiteront l'an prochain. L'AIMS dispose déjà des structures d'élevage nécessaires à ce type de programme.

D. Hedgecock (Université de Californie, Davis), qui travaillait depuis une dizaine d'années dans le domaine de la génétique des populations chez les crustacés, a changé de matériel biologique. Il se consacre désormais aux mollusques (notamment *C. gigas*), pour lesquels il a la possibilité de conduire des élevages.

Cryoconservation

Aucun papier n'était présenté sur ce sujet chez les crustacés. Cependant, D. Hedgecock m'a appris que W. Clark travaille sur la conservation des spermatophores. Il a abandonné la cryoconservation des embryons, ayant jugé ce domaine trop difficile. J. Benzie s'est montré aussi très intéressé par nos travaux sur la congélation. Des programmes similaires devraient en effet débiter prochainement à l'AIMS.

Sélection

L'influence du stress, matérialisé par des salinités et des températures d'élevages extrêmes, sur le calcul de l'héritabilité de la croissance de la crevette *Penaeus vannamei* est très importante (Pante et Lester). Les auteurs suggèrent que la variabilité génétique de la croissance augmente lorsque les conditions environnementales deviennent extrêmes.

La sélection massale de femelles pour les performances reproductives (nombre d'oeufs, taux d'éclosion, fréquence de ponte et durée de la saison de reproduction) s'est avérée efficace chez cette même espèce (Wyban *et al.*).

LES MOLLUSQUES

Cytogénétique

Les essais d'hybridation interspécifique d'huîtres du genre *Crassostrea* n'ont pu être présentés comme prévu, les auteurs Allen et Gaffney étant absents. Les différents croisements possibles entre *C. virginica*, *C. gigas* et *C. rivularis* ont été tentés. Dans tous les cas, des zygotes hybrides sont obtenus. Mais seule la descendance *gigas* x *rivularis* est viable. Contrairement à ce que l'on peut observer chez les salmonidés, la triploïdie n'améliore pas la viabilité des descendance abortives.

Une équipe chinoise, Weiguo *et al.*, a induit la triploïdie (cytochalasine B) chez l'huître perlière *Pinctada martensii* et a étudié la gamétogenèse, l'hétérozygotie et la croissance. Les résultats ont confirmé les travaux de l'équipe japonaise de Wada sur cette même espèce.

Sélection

Le poster de Hedgecock *et al.* présentait une estimation de l'héritabilité de la croissance d'environ 0,2 chez *C. gigas* (sur des huîtres de 16 à 24 mois). Les résultats exposés soutiennent l'hypothèse d'un déterminisme du sexe de type autosomal polygénique. La variabilité de la couleur du manteau possède une composante héritable. Une sélection pour ce caractère pourrait par conséquent s'avérer efficace.

MISSION EN FRANCE

PROGRAMME DU STAGE

- Lundi 13 accueil, visite du laboratoire, définition du programme de travail, entretien avec F. Bonhomme, travail bibliographique.
- Mardi 14 recherche bibliographique à la bibliothèque de l'université.
- Mercredi 15 initiation à la coloration des régions des organisateurs nucléolaires (bandes NORs).
- Jeudi 16 réunion IFREMER-USTL pour la mise en place d'une convention entre les deux organismes, analyse des lames avec les bandes NORs.
- Vendredi 17 à lundi 20 pour mémoire: déplacement à Issy-les-Moulineaux (entretiens avec J-L. Martin, J. Fuchs, Y. Hénocque), Jouy en Josas (Laboratoire de Génétique des Poissons-INRA), Poitiers (Laboratoire de Génétique et de Physiologie des Crustacés-Université), La Tremblade (IFREMER-URGE: démonstration de l'analyseur d'image).
- Mardi 21 initiation au banding R avec la chromomycine A₃ en épifluorescence.
- Mercredi 22 initiation au banding G, démonstration d'un cytomètre de flux (Laboratoire d'Hydrobiologie Marine et Continentale-USTL).
- Jeudi 23 initiation au banding C.
- Vendredi 24 initiation à l'hybridation *in situ* (sans matériel biologique), bibliographie.

Les techniques acquises lors de ce stage sont rapportées dans le document technique annexe.

L'ANALYSEUR D'IMAGE ALCATEL

Cet appareil est d'une grande simplicité d'utilisation. Sa mise en oeuvre et l'apprentissage de son fonctionnement sont aisées et rapides. La difficulté tient en la technique de préparation et de coloration des échantillons sur lame. C'est la coloration de Feulgen qui est employée pour l'estimation du niveau de ploïdie. La technique a été adaptée par D. Chagot pour le matériel biologique et l'analyseur d'image utilisés au laboratoire. Les résultats obtenus en matière de détermination du niveau de ploïdie d'un individu sont très convaincants. Le logiciel de calculs statistiques associé est relativement restreint mais suffisant pour l'usage qu'il est fait de l'appareil. D'autre part, les données sont importables par des logiciels statistiques plus élaborés. L'appareil, constitué d'une caméra vidéo, de deux moniteurs et d'un micro-ordinateur s'avère peu fragile. Le fait que ce matériel soit évolutif constitue un autre atout de l'analyse d'image.

Le prix de l'analyseur de base (avec l'imprimante laser) est inférieur à 300 KF HT.

LE CYTOMETRE EN FLUX BRUKER

Les différences entre les cytomètres tiennent principalement au type et à la puissance de sa source lumineuse (lampe à vapeur de mercure, laser refroidi par air ou par eau), à son système optique (accessibilité, nombre et type de réglages, type de filtre) et à son habillage informatique.

Claude Courties recommande vivement de se former à la cytométrie avant d'acheter l'appareil. L'Association de Cytométrie en Flux dispense des stages d'initiation (la prochaine session est prévue en 1992 au Laboratoire Arago de Banyuls sur Mer). Une formation sérieuse en cytométrie est très longue: 7 à 8 mois. Il ne faut pas compter obtenir de résultats avant 1,5 à 2 ans après l'achat.

Le coût d'acquisition et d'entretien d'un cytomètre est relativement élevé, 400 à 650 KF HT (1500 à 2000 KF pour un trieur de cellules). L'entretien est onéreux car les sources lumineuses sont à changer (1,2-1,9 KF pour une lampe à Hg dont la durée de vie est inférieure à 100 h, 100 KF pour un laser refroidi par air, 350 KF pour un laser refroidi par eau) et il est prudent de souscrire un contrat d'entretien (110 KF/an pour un laser à eau).

Les premiers résultats dans le domaine de la cytométrie marine ont été obtenus en 1983 (au MIT à Boston). En France, ils datent de 1985 et proviennent de Banyuls. Le Laboratoire Arago travaille dans le domaine bactérien. Il cherche à développer une méthode de marquage pour discriminer les bactéries (du milieu côtier). La mise au point se fait sur l'ADN des modèles *E. coli* et salmonelle. La quantification des bactéries est aussi étudiée. Le cytomètre employé est équipé d'une lampe à vapeur de mercure. En France, les cytomètres dédiés au domaine marin travaillent sur la structure et l'évolution des peuplements bactériens ou phytoplanctoniques.

La cytométrie peut apporter plusieurs informations sur la même cellule (par exemple taille et contenu en ADN). En raison du nombre très élevé de cellules examinées par échantillon, la quantité d'information délivrée par le cytomètre est plus importante que celle apportée par un analyseur d'image. On peut employer le cytomètre pour des études *in situ*. Il a ainsi été mis en évidence, par exemple, un gradient décroissant de phytoplancton et de particules inertes d'une certaine gamme de tailles de l'extérieur vers l'intérieur d'un banc de moules.

La dissociation cellulaire est le problème le plus délicat en cytométrie. On peut cependant, en combinant les mesures de fluorescence en surface et le pic, réussir à discriminer les cellules seules des agrégats. Les fixateurs à alcool sont bannis en raison des phénomènes de dilatation qu'ils entraînent dans le capillaire lors du passage sous le faisceau d'excitation. On peut faire des caryotypes en flux à partir d'une suspension de chromosomes et en utilisant une double coloration, par exemple Hoechst 33258 et chromomycine A₃. L'intérêt de cette technique réside dans le tri des chromosomes en sortie du cytomètre.

COLLABORATION USTL-COP

Lors d'une rencontre avec F. Bonhomme, le 13 mai, a été abordé le projet de collaboration entre son laboratoire et le COP sur la recherche de marqueurs génétiques plus variables que les allozymes, chez les crevettes. Quatre approches ont été envisagées pour rechercher des marqueurs dans le génome nucléaire, révélables par des techniques de biologie moléculaire.

1) Les minisatellites hypervariables responsables du polymorphisme de la longueur de fragments de restriction (RFLP). Cette technique est lourde à mettre en oeuvre et révèle un nombre important de bandes. Il est difficile de travailler avec cette méthode car on ne peut pas savoir quelles bandes sont allèles l'une de l'autre. Cette technique donne accès au polymorphisme du nombre de monomères (la taille de chacun étant de l'ordre d'une trentaine de paires de bases) de séquences répétitives, donc de la longueur de la concaténation. Elle nécessite une bonne technique de purification de l'ADN et des quantités importantes de matériel biologique.

2) Même technique mais en utilisant une amplification par la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction). La quantité de matériel biologique requis étant beaucoup plus faible, on peut travailler sur un seul individu de très petite taille (par exemple une larve ou même un parasite tel que le schistosome). La technique est plus légère mais il est nécessaire de posséder les séquences flanquantes des régions minisatellitaires.

3) Les microsatellites. Ce sont des séquences de 50 ou 70 paires de bases (pb), constituées d'une répétition de 2 ou 3 pb. On réalise le séquençage des séquences flanquantes de ces microsatellites. Elles sont spécifiques d'un locus. Le microsatellite est amplifié par PCR et on détermine sa longueur (par Southern blot). On a fréquemment un polymorphisme de taille. C'est un très bon type de marqueur car il réagit comme un marqueur mendélien codominant. Les gels ayant la même allure que des gels d'allozymes, l'interprétation en est très aisée.

4) Les RAPDs (pour Random Amplification of Probe DNA). Cette méthode est basée sur le postulat qu'une séquence aléatoire donnée de x pb a une probabilité p d'exister n fois dans un génome de taille donnée (si l'on considère un arrangement aléatoire de bases). Une séquence de 20 pb a une probabilité très faible d'exister plus d'1 fois dans un génome normal. Le nombre critique pour qu'une séquence soit répétée plus d'1 fois se situe aux alentours de 15-16 pb. Une séquence de 10 pb aura une forte probabilité d'être présente plusieurs fois. On obtient un polymorphisme du nombre de bandes (présence ou absence de telle bande chez un individu donné). Cette méthode a l'avantage d'être très rapide à mettre au point. L'inconvénient majeur réside dans le fait que ce type de marqueur est dominant et qu'on ne sait pas comment il ségrège. Une étude préliminaire s'avère nécessaire si on veut l'employer comme marqueur de gynogenèse.

En définitive, il a été décidé que le programme débiterait en 1992 par un stage de DEA suivi d'une thèse. Le travail portera sur la mise au point de la révélation de microsatellites et/ou de RAPDs en fonction du degré d'homologie estimé entre les sondes disponibles et le génome des pénéides.

COLLABORATION UNIVERSITE DE POITIERS-COP

Au cours de la réunion qui s'est tenue le 17 mai à Poitiers, a été évoqué le projet de collaboration CORDET en présence de J-C. Baehr, D. Bouchon, J. Chaigneau, P. Juchault, J-P. Mocquard et T. Rigaud. Les programmes de recherche des deux laboratoires, concernant la génétique, ont été présentés. L'équipe de Poitiers s'est déclarée prête à poursuivre le projet de recherche présenté à la CORDET (isolation et caractérisation de l'hormone androgène), même en l'absence de financement.

D'autre part, le Laboratoire de Génétique et de Physiologie des Crustacés de Poitiers souhaiterait développer une autre collaboration. Elle concerne le génome mitochondrial de *Penaeus monodon*. Elle viserait à rechercher des corrélations entre des motifs de restriction de l'ADN mitochondrial (mtADN) de certaines femelles et leur inaptitude à produire des descendance de sex-ratio équilibrée. Ce thème découle des faits observés chez le crustacé terrestre *Armadillidium vulgare*: pour une population donnée, on sait reconnaître grâce aux motifs de restriction de son mtADN, si une femelle est thélygène¹ ou amphigène².

¹ une femelle thélygène produit une descendance femelle majoritaire ou exclusive.

² une femelle amphigène engendre une descendance dont la sex-ratio est équilibrée.

ANNEXE 1

Liste des personnes avec lesquelles j'ai pu avoir des échanges significatifs lors de la mission.

En CHINE

ABRAHAM M. (Israël)
ALESTROM P. (Norvège)
ARAI K. (Japon)
AYLES G. (Canada)
BENZIE J. (Australie)
CHEUNG H. (Hongkong)
CROSETTI D. (Italie)
FEVOLDEN S. (Norvège)
FRIARS G. (Canada)
GALL G. (U.S.A.)
GJEDREM T. (Norvège)
HEDGECOCK D. (U.S.A.)

HULATA G. (Israël)
KIRPICHNIKOV V.S. (U.R.S.S.)
KOMEN H. (Pays-Bas, Japon)
NA-NAKORN U. (Thaïlande)
NEWKIRK G. (Canada)
PENMAN D. (Ecosse)
PICKERING A. (Angleterre)
WADA K. (Japon)
WOHLFARTH G. (Israël)
WU C. (Chine)
XIANG J. (Chine)
ZHANG Q. (Chine)

En FRANCE

U.S.T.L. Montpellier
BONHOMME F.
BRITTON-DAVIDIAN J.
CATALAN J.
COURTIES C.
DERIGEARD R.
DELAY B.

IFREMER Palavas
ABIKANLOU G.
CHATAIN B.
FEBVRE A.

IFREMER La Tremblade
CHAGOT D.
GERARD A.
GRIZEL H.
LEDU C.
PEIGNON J-M.

IFREMER Siège
FUCHS J. (RA)
HENOCQUE Y. (DRCI)
MARTIN JL. (DRV)

INRA-CRJ
BEDIER E. (comm. tél.)
CHOURROUT D.
GUYOMARD R.
HOLLEBECQ M-G.

Université de Poitiers
BAEHR J-C.
BOUCHON D.
CHAIGNEAU J.
JUCHAULT P.
MOCQUARD J-P.
RIGAUD T.

ANNEXE 2

Liste des communications présentées oralement (notées par un astérisque) ou sous forme de poster au IV^{ème} ISGA. Trois recueils des résumés ont été rapportés en France. Ils ont été déposés à l'IFREMER-URGE (La Tremblade), au Laboratoire de Génétique des Poissons (INRA, Jouy en Josas) et à l'IFREMER-COP (Tahiti).

CONTENTS

A

1. Abban, E.K., et al.....1
Genetic variability in the tropical freshwater fish species.
2. Agustin, L.Q., et al.....2
Use of RNA:DNA ratio as index of nutritional status of six Nile 82 Tilapia Oreochromis niloticus strains under different environments.
3. * Alestroem, p., et al.....3
The atlantic salmon gonadotropin releasing hormone (GnRH) gene and messenger RNA.
4. * Allen, J.R., et al.....4
Hybridization among orsters Crassostrea virginica, C.rivularis and C.gigas: Only C.rivularis x C. gigas yields viable hybrids.
5. Aquacop, C.L., et al.....5
Induction of polyploid nauplii in Penaeus indicus.
6. Arai, K.,6
Production of polyploids using spontaneously occurred tetraploid Loach Misgurnus anguillicaudatus.

B

7. * Basiao, Z.U., et al.....7
Growth rate of Oreochromis niloticus genotypes in two Philippine lakes.
8. * Benzie, J.A.H., et al.....8
Genetic structure of Penaeus monodon populations in Australia.
9. Bolivar, R., et al.....9
Phenotypic correlations between growth and reproduction traits in individually tagged Nile Tilapia Oreochromis niloticus strains: implications for planning selection programs.
10. Bolivar, R.B., et al.....10
Growth testing of Oreochromis niloticus selected for growth rate.

C

11. Cai Guoxiong.....11
Induction of triploid red sea bream Pagrosomus major by cold shocks.
12. Cai Nan'er, et al.....12
Artificial induction of gynogenesis in Chinese shrimp, penaeus orientalis kishinouye.

I

13. * Cavari, B., et al.....13
Effect of growth hormone on the growth rate of the
gilthead seabream Sparus aurata, cloning of its GH
cDNA, and the use of different constructs for the
production of a transgenic fish.
14. * Chappell, J. A., et al.....14
Growth rate, feeding vigor, feed conversion and survival
of blue, channel, white catfish and their hybrids.
15. Chen Minrong, et al.....15
Heterogenetic tetraploid in Japanese phytophagous
crucian carp (♀) Carassius auratus cuvieri and red
crucian carp (♂) Carassius auratus red var.
artificially induced by heat shocks and its
reproductive capacity.
16. Chen Songlin, et al.....17
Cryopreservation of grass carp Ctenopharyngodon idellus
spermatozoa.
17. Cherfas, N.B., et al.....18
Optimization of timing of temperature shocks for
induction of diploid gynogenesis and polyploidy in
ornamental (koi) carp, Cyprinus carpio L..
18. * Crosetti, D., et al.....20
Geographic variability in Mugil cephalus (Mugilidae):
Preliminary results of mtDNA and chromosomes analysis.

D

19. Dai Jixun, et al.....22
Studies on the triploid induction in Penaeus orientalis
by temperature shocks.
20. * Dai Jixun, et al.....23
Genetic breeding and seedling raising experiments of
Porphyra protoplasts.
21. Dunham, R.E., et al.....24
Seinability of blue, channel, white catfish and their
hybrids.

E

22. * Eknath, A.E., et al.....25
Genetic improvement of farmed tilapias: 2. The
performance of eight strains tested in different
farming environments.
23. Eknath, A.E., et al.....26
Genetic improvement of farmed tilapias: 3. A complete
diallele cross between four African and four Asian
strains of Nile tilapia Oreochromis niloticus.

II

F

24. Fan Zhaoting, et al.....27
The electrofusion of fish embryonic cells in vivo
25. Fan Zhaoting, et al.....28
Karyotypic evolution of fish cell lines.
26. Fei Yunbiao, et al.....29
Isolation and identification of homologous sequences of antifreeze protein (AFP) gene from a fresh water teleost Leuciscus waleckii in China.
27. Fernando, A.A., et al.....30
Genes for body background colour in the Angelfish Pterophyllum scalare.
28. * Fevolden, S. E., et al.....31
Selection for enhanced stress resistance in salmoid fish.
29. Fjalestad, K. T., et al.....32
Genetic variation in antibody production against vibrio anguillarum and Vibrio salmonicida in Atlantic salmon (Salmo salar).
30. Flajshans, M., et al.....33
Methods of artificial induction of triploidy and tetraploidy in tinch Tinca tinca L.
- 31* Friars, G. W., et al.....34
Application of selection indexes in atlantic salmon Salmo salar.
32. Fu Hongtuo, et al.....35
Isozymes in Tilapia aurea.
33. Fu Lijuan, et al.....36
Expression of foreign gene in fish tissue culture cells.

G

34. * Gall, G.A.E.,.....37
Estimating genetic change in breeding program.
35. Gan Xingsheng, et al.....38
Preliminary studies on inducement and selection of fish HGPRT-deficient cell mutants.
36. Ger Guochang, et al.....39
Inducing polyploidy in loach.
37. * Gjedrem T., et al.....40
Genetic improvement of disease resistance in fish.
38. Gomelsky, B. I., et al.....42
Spontaneous androgenesis and gynogenesis in fishes.
39. Gomelsky, B. I., et al.....44
Production of tetraploid fishes owing to the ability of interspecies hybrids to produce unreduced gametes.
40. Gross, R.,.....46
A comparison of genetic, morphometric, productional and

III

- carcass traits of the common carp strains and strain crosses in estonia.
41. Grunina A. S.,et al.....48
Induced diploid androgenesis in common carp and production of androgenetic diploid hybrids between common carp and crucian carp.
 42. Gui Jianfang,et al.....50
Chromosomal evidence of artificial mutiple tetraploid allogynogenetic crucian carp.
 43. Gui Jianfang,et al.....51
Induction of allotriploid of silver carp and blunt snout brean by hydrostatic pressure shock .
 44. Gui Jianfang,et al.....52
Light and electron microscope analysis of meiotic chromosome pairing in triploid maletransparent colored crucian carp.
 45. Guo Wen,et al.....53
Isozyme analysis of fish embryo produced by polar-injection.
 46. Guo Wen,et al.....54
Alteration of fish melanic character by transfer of total DNA.

H

47. Hedgecock,D.,et al.....55
Body size at harvest,sex ratio,aand mante color of pedigreed pacific oyster Craswostrea gigas from controlled crosses.
48. * Hedgecock,D.,.....56
Effective population sizes of aquaculture brood stocks as estimated from temporal variance in allelic frequences.
49. Herbinger, C. M.,et al.....58
Analysis of rainbow trout growth performance in a factorial design using DNA fingerprint to trace parmentage.
50. * Hong, Yunhan,et al.....59
Development of an inducible fish specific expression vector for gene transfer in vitro and in vivo.
51. * Hussain, M. G.,et al.....60
Suppression of first cleavage-a comparison of methods and production of homozygous cloned lines in Nile Tilapia,Oreochromis niloticus L.

J

52. * Jayaprakas,V.,.....61
Biotechnological approaches for maximising aquature

IV

- production in India.
53. * Jiang Weiguo,.....62
Study on the induced triploid of pearl oyster, *Pinctada Aartensii*(D..
54. * Jiang Yiguo, et al.....64
The studies on the gynogenetic mechanisms of crucian carp, *Carassius auratus gibelio*, and their application for the crucian carp breeding
55. * Jiang Yiaoqing,.....65
Gene transfer to increase disease and cold resistance.
56. * Jonasson, J.,.....67
Selection experiments in salmon ranching I. Genetic- and environmental sources of variation for survival and growth rate in freshwater of atlantic salmon.

K

57. Katassonov, V. Ya.,.....68
Carp breeds and breed groups in the USSR.
58. * Komen, J., et al.....69
Gynogenesis in common carp *Cyprinus carpio* IV: Growth and phenotypic variation in body weight and gonad development of gynogenetic homozygous clones and F1-hybrids
59. Kvasnicka, P., et al71
Breeding programme of tench (*Tinca tinca* L.)

L

60. * Li Gang, et al.....72
Morphometric and biochemical genetic variation of mitten crab (Genus *Eriocheir*) in Southern China.
61. Li Guohua, et al.....73
Fast growth of transgenic red carp.
62. * Li Hui, et al.....74
Studies on the function of MT promoters from mammalian and carp in fish cells.
63. Lin Feng, et al.....75
Triploid induction in Chinese shrimp, *Penaeus orientalis* Kishinouye.
64. Li Jinhua, et al.....76
Direct transfer of the gene for neomycin resistance into fish cultured cells.
65. Linhart, O., et al.....77
Fish breeding with combined application of induced gynogenesis and mass selection
66. Linhart, O., et al.....78
The induced meiotic gynogenesis, sex reversal and breeding programme in tench (*Tinca tinca*).

V

67. Linhart, O., et al.....79
The selected bibliography of Czechoslovak authors on
genetics and fish breeding
- 68.* Li Si-Fa , et al.....80
Variation in morphology and biochemical genetic markers
among populations of blunt snout bream Megalobrama
amblycephala
69. Liu Dong, et al.....81
Persistence, replication and integration of novel DNA
defined different forms during fish embryogenesis.
70. Liu Hanqin, et al.....82
Chimera fish constructed by blastulae chamber
injection.
- 71.* Liu Peilin, et al.....83
Somatic cell engineering fish constructed by polar-
injection.
72. Liu Shaojun,.....85
Studies on the origin and migration of the primordial
germ cells and gonad differentiation in Clarias lazera.
73. Lu Renhou, et al.....86
Microcell-mediated transfer of transparent gold fish
chromosomes into the eggs of white crucian carp.
74. * Lu Renhou et al.....87
Advances in fish cell engineering.
75. Luo Chen, et al.....88
Disease resistance gene transfer in grass carp by sperm
chromosome fragmentation and gynogenesis.

M

76. Macaranas, J. M., et al.....89
Genetic improvement of farmed tilapias: Domestication
and genetic characterization of strains.
77. Mair, G. C., et al.....90
Inter-strain comparisons of sex reversal and sex
determination in O. niloticus.
78. * Mair, G. C., et al.....91
Chromosome manipulation in tilapia: A overview.

N

79. Na-Nakorn, U., et al.....92
Induced triploidy by cold shock in Puntius gonionotus
(Bleeker)

O

80. Oberst, S.,.....93
New methods of inter- and intraspecific differentiation

VI

among tilapiine fishes.

P

81. Pagulayan, I. F.,.....94
Inheritance of the streak pigments in the seudoalbino
Radix Quadrasi, a Philippine freshwater lymnaeid.
82. * Palada, M., et al.....95
Predictability of individual growth rates in Tilapia.
83. Pan Guangbi, et al.....96
Use of scanning electron microscope for observing
sperm penetration into the matured eggs of gynogenetic
common carp, Cyprinus carpio.
84. * Pante, J. R., et al.....97
Influence of environmental stress on the heritability
of growth rate of the postlarval Penaeid shrimp, Penaeus
vannamei.
85. * Pascual, A. B., et al.....98
Cryopreservation and refrigerated syringe of UV and
inactivated milt for gynogenesis.
86. Phang, V. P. E., et al.....99
Interaction between color genes in domesticated
selected varieties of guppy, Poecilia reticulata.
87. * Pickering, A. D.,.....101
Growth and stress in fish production.

R

88. Recoubratsky, A. V.,.....102
Effects of UV-radiation following irradiation of
gametes in common carp.
89. Recoubratsky, A. V., et al.....103
Triploid and tetraploid common carp produced with
industrial fish farm technology by heat shock.
90. Reyes, R. A., et al.....104
Implications of genotype stability of tilapia in
different environment for applied breeding programs.
91. * Reyes, R. A., et al.....105
Differential response to environmental stress: Genotype
stability and implications for applied breeding plans.
92. Roed, K. H., et al.....106
Genetic variation in non-specific immune parameters in
Atlantic salmon Salmo salar.
93. * Romana, M. R. R., et al.....107
Comparing the response of three Oreochromis niloticus
strains to feed restriction.
94. Ruzzante, D. E., et al.....108
Rapid changes in agonistic behaviour in medaka Oryzias
latipes caused by domestication selection.

VII

95. * Rye, M., et al.....110
Phenotypic and genetic parameters for compositional traits and flesh color in atlantic salmon.

S

96. * Shackell, N. L., et al.....111
Development stability as a measure of stress resistance in inbred, outbred and hybrid strains of tilapia Oreochromis niloticus.
97. * Siitonen, L., et al.....112
Simulation study on genetic progress in a closed fish population.
98. Smitherman, R. O., et al.....113
Dress-out percentage and body composition in blue, channel, white catfish and their hybrids.
99. * Song, Shiduo, et al.....114
Salmon growth hormone: Molecular cloning and modifying of cDNA and expression in E. coli.
100. Sriputinibondh, N., et al.....115
Domestication selection of farms Nile tilapia and common carp in Northeast Thailand.
101. Stoumboudi, M., et al.....116
Cyprinid hybrids from lake Kinneret for aquaculture.
102. Sugama, K., et al.....118
Growth differences among families both in control and gynogenetic diploid progeny of red sea bream Pagrus major.
103. Sun Xiaowen, et al.....119
The production of transgenic fish by microinjection metallothionein-growth hormone.

T

104. Taniguchi, N., et al.....120
Estimation of heritability of quantitative traits using clonal fish in ayu.
105. Tong Jingou, et al.....121
Study on changes of immunoglobulin concentration in hyper-immuning grass carp offspring.
106. * Tong Jingou, et al.....122
Study on the blood type factors in red crucian carp Carassius auratus.
107. * Tran Mai Thien, et al.....124
Selection of common carp Cyprinus carpio in Vietnam.
108. * Tseng, C.K.,.....125
Mariculture in mainland China.

VIII

U

109. Uraivan, S., et al.....126
Growth rate, ration and food efficiency of two strains and their hybrid of rainbow trout Salmo gaidneri Rich.: 3 size classes and reared at 4 temperatures.
110. * Uraivan, S., et al.....127
Within-family selection for increasing growth rate of Oreochromis niloticus (Linn.).

V

111. * Villwock, W.,.....129
Aquaculture and the problem of conservation of genetic resources in fish.

W

112. ~~X~~ Wada, K. T., et al.....130
Effects of density and depth of water on growth rate of different selection lines of Japanese pearl oyster juveniles.
113. Wang Hui,.....131
Analysis of lactic dehydrogenase isozyme in mandarin fish Siniperca chautsi by immunochemical specificity.
114. Wang Tiehui, et al.....132
Characterization of a cell clone resistant to hemorrhagic virus of grass carp (GCHV).
115. Wang Tiehui, et al.....133
Isolation and characterization of fish actinomycin D resistant cell strains.
116. Wang Yan, et al.....134
Molecular cloning and sequencing of growth hormone gene from Oncorhynchus keta.
117. Wei Yanzhang, et al.....135
Analysis of heritability of human growth hormone gene in the carp Cyprinus carpio L..
118. Wohlfarth, G. W., et al.....137
Color inheritance in Japanese ornamental carp.
119. * Wu Chingjiang, et al.....138
An Artificial Multiple Triploid Carp and Its Biological Characteristics
120. Wu Lizhao, et al.....139
Genetic variability of natural populations of silver carp, bighead carp and grass carp in Yangtze River.
121. Wu Lizhao, et al.....140
Expression patterns of isozyme genes during silver carp ontogenesis.
122. Wu Rong,.....141

IX

- A review of induced triploidy in molluscs.,
123. Wu Tingting, et al.142
 Studies on the properties of lactic dehydrogenase isozyme C4 in grass carp Ctenopharyngodon idellus.
124. Wyban, J., et al.143
 Selective breeding for reproductive performance in the marine shrimp Panaeus vannamei.

X

125. Xia Dequan, et al.144
 Studies on the pattern and the subunit composition of lactic dehydrogenase isozyme in grass carp Ctenopharyngodon idellus by immunochemical method.
126. Xiang Jianhai, et al.145
 Studies on chromosome in marine shrimps with special reference to the different techniques.
127. Xie Yuefeng, et al.146
 Establishment of gene transfer via electroporation in fish.
128. Xu Kesheng, et al.147
 The effects of growth enhancement of human growth hormone gene transfer and human growth hormone administration on crucian carp Carassius auratus gibelio Bloch.

Y

129. Yang Xingqi, et al.148
 Biological characters and growth comparisons of diploid and triploid japanese phytophagous crucian carp.
130. Yang Xingqi, et al.149
 Heterogenetic tetraploidy tilapia induced by heat shock.
131. Yan Shuzhen, et al.150
 The germinal vesicle material on the morphogenetic effect of early development in B. B. Gargarizans.
132. Ye Yuzhen et al.151
 Observation on the polyspermy phenomena of the mature egg of artificial multiple triploid carp
133. Yu Haoxiang, et al.152
 A preliminary study on induced tetraploid in the hybrid of natural gynogenetic female silver crucian carp and male common carp.
134. Yu Hongjun, et al.153
 Comparative studies on the morphology and behavior of chromosomes in two mitten crabs during meiosis.

X

Z

135. Zhang Jing, et al.....155
A comparison between two kinds of mitten crabs on annual variation of H-EST isozyme.
136. Zhang Peijun, et al.....156
Gene transfer in gold fish Carassius auratus by oocyte microinjection
137. Zhang Tonghai, et al.....157
Expression and secretion of salmon growth hormone from an Escherichia coli secretion vector.
138. Zhang Siming, et al.....158
Induction of tetraploid in grass carp Ctenopharyngoid idella var by heat shock.
139. Zhu Zuoyan, et al.....159
Cloning and sequencing of a grass carp growth hormone gene and construction of all-fish recombinant growth hormone gene.
140. Zou Jun, et al.....161
Expression of foreign genes in fish embriogenesis.
141. Zouros, E., et al.....162
Heterozygosity is related to fast growth rate in the scallop Placopecten magellanicus, but mtDNA length variation and heteroplasmy are not.