

6-DMAP 抑制栉孔扇贝(♀) × 虾夷扇贝(♂) 受精卵第一极体释放后染色体的分离状况

迟长风^{1,2} 杨爱国¹ 王清印¹ 刘志鸿¹ 周丽青¹

(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实验室,青岛 266071;

2. 中国海洋大学生命科学与技术学部,青岛 266003)

CHROMOSOME SEGREGATION IN FERTILIZED EGGS FROM *CHLAMYS FARRERI* ♀ × *PATINOPECTEN YESSOENSIS* ♂ FOLLOWING INHIBITION OF POLAR BODY 1 WITH 6-DMAP

CHI Chang-Feng^{1,2}, YANG Ai-Guo¹, WANG Qing-Yin¹, LIU Zhi-Hong¹ and ZHOU Li-Qing¹

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Minister of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Faculty of Life Science and Technology of Ocean University of China, Qingdao 266003)

关键词:栉孔扇贝;虾夷扇贝;第一极体;染色体分离;6-DMAP

Key words: *Chlamys farreri*; *Patinopecten yessoensi*; The first polar body; Chromosome segregation; 6-DMAP

中图分类号:Q343.2 文献标识码:A 文章编号:1000-3207(2009)01-

三倍体贝类因其具有生长快、个体大、肉质佳和成活率高等优良的经济性状而在水产养殖业中具有重要的应用价值^[1]。获得100%三倍体贝类的最佳途径是通过四倍体贝类与二倍体贝类杂交来获得。目前已经发展出多种诱导四倍体的方法,包括抑制受精卵第一极体的释放、抑制受精卵的卵裂、细胞融合和利用人工雌核发育等方法。人工诱导四倍体技术已经在多种鱼类上获得成功^[2]。迄今,国内外学者已对多种贝类^[3]进行了四倍体育种研究,都获得了一定比例的四倍体胚胎或幼虫,甚至是稚贝,但是除了太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* (Thunberg)^[4]外大部分由于存活率低最后都没有获得两性能育且形成群体的四倍体贝类。

近年来,随着贝类多倍体诱导研究的增多,关于多倍体诱导过程中染色体的分离状况和分离规律越来越受到关注。国内外学者已经对太平洋牡蛎 *C. gigas*^[5,6]、栉孔扇贝 *Chlamys farreri*^[7,8]、虾夷扇贝 *Patinopecten yessoensis*^[9]、马氏珠母贝 *Pinctada martensi*^[10,11]、皱纹盘鲍 *Haliotis discus Hannai*^[12] 受精卵第一极体释放受阻后染色体的分离行为进行了研究,结果表明受精卵第一极体被抑制后可能出现多种分离形式,

不同的分离方式将产生不同的倍性。因此受精卵染色体分离方式的研究对于研究多倍体形成机理具有重要意义。

栉孔扇贝和虾夷扇贝是我国北方重要的两种经济贝类,两者的生态习性与外部形态差异明显^[13]。虾夷扇贝个体大,经济价值高,但适温低,只能在我国北方局部海域进行养殖。栉孔扇贝自然分布于辽宁和山东沿海,个体较大,味道鲜美,经济价值高,适温中等,是我国北方重要的经济养殖贝类,但抗病力较弱。两者在性状方面具有一定的互补性,且两者染色体数目相同,都是38条,通过杂交途径培育新品种是可能的。实验室前期研究工作结果表明:尽管二者同科不同属,但它们的杂交具有正常的受精细胞学程序,即精卵混合后,精子入卵,精核略微膨胀,排出极体,雌雄原核同时形成、融合,卵裂。杂交过程中的精子入卵行为较本交迟缓,但杂交后代仍能正常发育^[14]且杂交后代在生长和抗逆性等方面具有一定的杂交优势^[15]。以上特点使诱导异源四倍体成为可能。本实验通过6-DMAP抑制栉孔扇贝(♀) × 虾夷扇贝(♂)异源受精卵第一极体的释放诱导异源四倍体。旨在通过观察异源受精卵第一极体被抑制后染色体的分离行为,

收稿日期:2006-12-20;修订日期:2008-02-01

基金项目:国家科技攻关计划项目(2004BA526B0103);国家高技术研究发展计划(863)资助课题(2003AA603022);国家自然科学基金项目(30600465)资助

作者简介:迟长风(1979—),女,汉族,山东胶州人;博士研究生;主要从事贝类遗传育种研究。E-mail: amycf@126.com

通讯作者:王清印,E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

探索异源四倍体形成的机理和规律,为扇贝异源四倍体的诱导研究提供细胞学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 本实验于 2005 年 5 月上旬在山东青岛胶南市育苗场进行。栉孔扇贝亲贝 ♀(壳高 7-9cm), 虾夷扇贝亲贝 ♂(壳高 10-12cm), 贝龄均为 2-3 年, 性腺成熟、饱满。6-二甲氨基嘌呤(6-dimethylaminopurine, 简称 6-DMAP) 为 Sigma 公司产品, 苏木精为 Amresco 公司产品, 铁明矾、甲醇、冰醋酸、盐酸为国内产品。

1.2 方法

1.2.1 精卵的获得 选择性腺发育良好的栉孔扇贝雌贝通过阴干升温法催产获得卵子。虾夷扇贝雄贝采用流水-氨水刺激法促其产精。卵子悬浮液以 300 目筛绢过滤以去除组织碎片, 500 目筛绢收集, 过滤海水冲洗; 精子用 500 目筛绢过滤, 收集待用。取适量精子, 加入卵子悬浮液中, 镜检每个卵子周围附着 3-5 个精子为宜。

1.2.2 实验设计 受精后的卵子分成 2 组, 即对照组和处理组。对照组个别受精卵出现第一极体(PB1)(约受精后 25min)时, 即向处理组加入一定量 6-DMAP 使其终浓度达到 50mg/L。6-DMAP 处理持续至对照组受精卵中出现 PB1 的比例约达 50%(约受精后 40min), 以过滤海水洗卵, 去除 6-DMAP, 将受精卵重新悬浮于装有 75L 新鲜砂滤海水的塑料桶中。催产温度分别为 16℃(*C. farre-ri* ♀) 和 12℃(*P. yessoensis* ♂), 受精温度为 15.2℃, 孵化温度为 18.0℃。

1.2.3 细胞学观察 为观察受精卵第一极体被抑制后染色体的分离状况, 自受精后对处理组和对照组分别取样, 每 5min 取样 1 次, 至 2 细胞期。取样时采用 500 目筛绢滤除海水, 受精卵采用卡诺氏固定液(甲醇: 冰醋酸 = 3:1(v/v)) 固定三次, 每次 20min, 样品于 4℃ 保存。压片方法参考文献 [16], 略有改动。取样品滴于洁净的载玻片上, 待固定液自然挥发后加 5mol/L HCl 数滴于样品上酸化 40min, 自来水冲洗, 稍干后滴加铁明矾-苏木精染色液染色 50min, 压片, 指甲油封片。利用 NIKON E-800 显微镜观察胚胎发育过程中染色体的分离行为。

2 结果

2.1 对照组受精卵染色体的分离行为

在水温 17-18℃ 的情况下, 对照组受精卵从受精到第一次卵裂需要 110-120min。受精前栉孔扇贝的成熟卵子处于第一次减数分裂中期, 双价染色体整齐地排列在赤道板中央(图版 I-1)。

受精后约 10min, 双价体中的同源染色体分开, 分别移向两极, 每套有 19 条染色体, 细胞进入第一次减数分裂后期(图版 I-2、3)。受精后 15-20min, 细胞进入末期, 到达两极的两团染色体, 一团先浓缩, 随后另一团也变得

浓缩, 浓缩较早的将来成为极体染色体(图版 I-4)。受精后 25-30min 受精卵将 19 条二分体作为第一极体排出, 剩余的 19 条二分体则继续再一次分离, 这时保留在卵母细胞中的染色体排列到赤道板上, 细胞进入第二次减数分裂中期(图版 I-5、6)。受精后约 40min, 着丝点连着的两条染色单体移向相对两极, 成为各含 19 条染色单体的两组, 细胞进入后期, 约在受精 50min 后, 其中的一组作为第二极体放出(图版 I-7、8)。保留在成熟卵细胞内的另一组染色体逐渐解旋、浓缩。而精子的染色体一直是以一小团染色质的形式附着在卵的周边(图版 I-7、8), 直到第二极体释放后, 才和卵子的染色体开始融合, 形成合子, 共含 38 条染色体, 即二倍体。受精后约 110-120min, 细胞进行第一次有丝分裂(图版 I-9)。

2.2 6-DMAP 处理组受精卵染色体的分离行为

处理开始时(受精后 25-40min), 处理组受精卵染色体的分离行为与对照组无显著差异。药物处理 15min 后, 受精卵染色体出现以下三种情形:

三极分离 第一次减数分裂产生的 38 条二分体被随机分成三组, 牵引到三极纺锤体的三个赤道板上, 在第二次减数分裂后期, 组成每一条二分体的两条染色单体相互分开, 形成的两条染色体各自移入相邻的两极, 至第二次减数分裂末期, 形成三组染色体, 每组的染色体数目随机(图版 II-1)。而后三组染色体各自浓缩, 其中最靠边缘的那团染色体作为第二极体排出, 这种方式将导致非整倍体的产生。

观察中曾发现三极分离中也有另外一种情况, 即两组二分体中的一组分离成两极, 与另一组二分体形成三极, 发生分离的二分体中的一组作为第二极体排出, 将导致四倍体的产生(图版 II-2)。

联合二极分离 来自第一次减数分裂的本应作为第一极体排出的 1 组 19 条二分体被抑制, 并与另外 1 组 19 条二分体联合并共同排列于一个二极纺锤体的赤道板上, 至后期每个二分体的两条姊妹染色单体相互分离, 各自向相对的两极移动, 形成两组 38 条染色单体(图版 II-3-6)。末期时, 其中一组作为第二极体释放, 精子提供 1 组 19 条染色体, 这种分离方式将产生三倍体。

独立二极分离 分离时形成四极纺锤体, 两组二分体各自以两极分离形式独立进入第二次减数分裂, 至末期时所有染色单体分别拉向两极, 形成四组染色体。由于作为第二极体排出的染色单体的数目不同, 将分别导致二倍体、三倍体、四倍体的产生(图版 II-7-9)。

2.3 染色体各分离类型的发生频率

对两个处理组的受精卵染色体分离类型进行统计, 各种染色体分离类型的比例(表 1)。其中“联合二极分离”较多, 占 75.50%; 其次是“三极分离”, 为 7.39%; “独立二极分离”最少, 占 6.20%。除此之外, 染色体发生其他分离方式的受精卵具有一定的比例, 占 10.91%。

表 1 PBI 受抑制的栉孔扇贝(♀)× 虾夷扇贝(♂)受精卵在第二次减数分裂中的染色体分离类型所占比例

Tab. 1 Percentage of chromosome segregation patterns observed in MII eggs from *Chlamys farreri* ♀ × *Patinopecten yessoensis* ♂, following inhibition of PBI

组 Group	染色体分离类型所占比例(统计数) Frequency of chromosome segregation type (count number, %)			
	“独立二极分离” Separated bipolar segregation	“三极分离” Tripolar segregation	“联合二极分离” United bipolar segregation	“紊乱分离” Unsynchronized segregation
	1	5.26(3)	5.26(3)	77.19(44)
2	7.14(3)	9.52(4)	73.82(31)	9.52(4)
平均值(Average)	6.2	7.39	75.50	10.91

2.4 处理组担轮幼虫的倍性组成

对 6-DMAP 诱导组担轮幼虫的染色体进行滴片观察发现单倍体(0.65%)、二倍体(6.52%)、三倍体(15.64%)、四倍体(6.84%)、五倍体(3.58%)以及大量的非整倍体

(66.77%)(表 2)。染色体数介于二倍体与三倍体之间的非整倍体幼虫所占比例最多,其他依次是介于四倍体与五倍体之间、单倍体与二倍体之间、三倍体与四倍体之间、五倍以上、单倍体以下的非整倍体。

表 2 6-DMAP 抑制栉孔扇贝(♀)× 虾夷扇贝(♂)受精卵第一极体释放后获得的担轮幼虫的倍性组成

Tab. 2 Ploidy status observed in trochophores from *Chlamys farreri* ♀ × *Patinopecten yessoensis* ♂, following inhibition of PBI with 6-DMAP

染色体的倍性组成(统计数) Ploidy status of chromosome (count number, %)					
单倍体 Haploid	二倍体 Diploid	三倍体 Triploid	四倍体 Tetraploid	五倍体 Pentaploid	非整倍体 Aneuploid
0.65(2)	6.52(20)	15.64(48)	6.84(21)	3.58(11)	66.77(205)

3 讨论

3.1 6-DMAP 抑制受精卵第一极体释放时染色体的分离行为

关于药物抑制贝类受精卵第一极体后染色体的分离情况,国内外学者多采用细胞松弛素 B (CB) 进行研究。到目前为止,采用 CB 已经对太平洋牡蛎^[5,6]、栉孔扇贝^[7,8]、虾夷扇贝^[9]、马氏珠母贝^[10,11]、皱纹盘鲍^[12] 受精卵第一极体释放受阻后染色体的分离行为进行了研究。结果表明受精卵第一极体被抑制后可能出现多种分离形式,对于同一种分离方式不同的作者采用不同的名称。有“二极分离”(联合、离散二极分离)、“三极分离”(随机、不混合三极分离)、“四极分离”(独立二极、双二极分离)和“非同步分离”。结果表明不同的分离方式将产生不同的倍性。“二极分离”可能导致三倍体的形成;“四极分离”、“二极分离”和“三极分离”可能导致四倍体的形成;“三极分离”及其他不规则的分离行为将主要形成非整倍体。关于用 6-DMAP 处理受精卵后染色体的分离变化情况,目前只在皱纹盘鲍三倍体作用机理研究中报道过,研究结果表明它们主要通过“二极分离”和“四极分离”形成多倍体^[12]。本实验采用 6-DMAP 抑制异源受精卵第一极体释放,结果表明异源受精卵第一极体被抑制后染色体出现多种分离形式,包括“独立二极分离”、“联合二极分离”和“三极分离”等多种分离方式。其中“联合二极分离”占相当高的比例为 75.50%,其次是“三极分离”,为 7.39%;“独立二极分离”最少,占 6.20%。此外,其他分离

方式占有一定比例,为 10.91%。受精卵第二次减数分裂染色体分离形式对担轮幼虫倍性的影响取决于第二次减数分裂的染色体分离行为和作为第二极体(PB2)释放的染色体数目,PBI 受阻的受精卵具有相应的倍性。研究结果证实,“联合二极分离”是产生三倍体的主要机制。部分“三极分离”和“独立二极分离”将导致四倍体的形成。“三极分离”仅在释放 19 条染色体时才可能形成四倍体,所以“三极分离”形成四倍体的几率较小。四倍体担轮幼虫的比例(6.84%)接近于“独立二极分离”的平均比例(6.20%),说明“独立二极分离”是形成四倍体的主要机制。而“三极分离”与“紊乱分离”将主要形成非整倍体。本实验诱导四倍体过程中产生 66.77%的非整倍体表明占据相当高比例的“联合二极分离”也可能是形成非整倍体的主要机制。“联合二极分离”与“独立二极分离”是形成多倍体的主要分离形式,与李霞等^[12]结果相一致。CB 与 6-DMAP 作用受精卵产生的多极分离形式差异较大,导致产生这种现象的原因有待于进一步研究。

3.2 多极分离的细胞学机制

到底是什么原因导致了通过抑制第一极体诱导多倍体的过程出现多极纺锤体,从而使染色体正常的分离方式发生了改变呢?各国学者普遍认为中心体在该过程中可能起着不可忽视的作用。中心体在数目上的变化将直接影响到细胞的分裂及染色体的分离^[17]。在多倍体操作过程中,当抑制第一极体的排放时,由于多个中心体被滞留在次级卵母细胞中,这样在第二次减数分裂中期将形成多极纺锤体^[18]。

因此除了产生二倍性的雌原核外,还将形成其他倍性的雌原核^[5,19]。Longo^[20]和李永仁等^[7]也认为中心体在形成多极纺锤体过程中起重要作用。在对紫贻贝(*Mytilus edulis*)与大西洋浪蛤(*Spisula solidissima*)的受精生物学研究中发现纺锤体的形成与中心体的动态密切相关^[21,22]。中心体是动物细胞中的微管和胞质微管组织中心,由中心体基质囊多个管蛋白形成的环状核心放射出来。因此认为,保留在卵中的中心体分离,形成两个纺锤体,而本应随第一极体排出的一个中心体去引导形成另外一极纺锤体,从而产生三极纺锤体,发生“三极分离”;而“二极分离”是由于某一个中心体失去功能或者不分离产生;当两个中心体都分离复制,将产生四极纺锤体,发生“四极分离”。但这一推测有待于进一步实验证明。

采用压片法观察染色体分离动态具有一定局限性,在显微镜下无法观察到中心体的形态与变化。通过免疫荧光法在激光共聚焦显微镜下观察减数分裂过程中纺锤体装配动态和空间形态将更直观地揭示中心体和染色体分离行为,为充分阐明染色体的各种分离类型的发生机制提供更加翔实的实验证据。

参考文献:

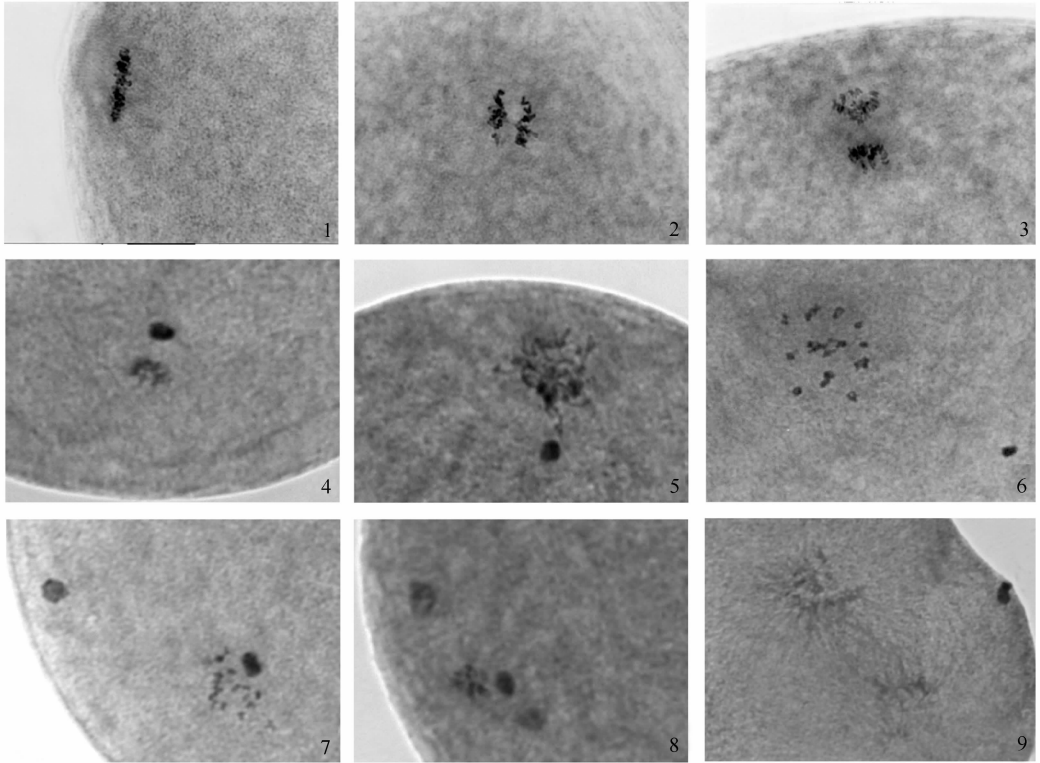
- [1] Yang A G, Wang Q Y, Zhang Y, et al. Comparison of the growth characters between the triploid and diploid *Chlamys (Azumapecten) farreri* [J]. *Marine Sciences*, 2000, **24**(8): 21—23 [杨爱国,王清印,张岩,等. 栉孔扇贝三倍体与二倍体的生长比较. 海洋科学,2000,**24**(8):21—23]
- [2] Wu P. Research progress of fish polyploidy breeding in China [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2005, **14**(1): 72—78 [吴萍. 我国鱼类多倍体育种的研究进展. 上海水产大学学报,2005,**14**(1):72—78]
- [3] Wang Z P, Li K J, Yu R H, et al. Progress of tetraploid breeding in molluscs [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2004, **34**(2): 195—202 [王昭萍,李慷均,于瑞海,等. 贝类四倍体育种研究进展. 中国海洋大学学报,2004,**34**(2):195—202]
- [4] Guo X, Allen S K Jr. Viable tetraploids in the Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by inhibiting polar body I in eggs from triploids [J]. *Molecular Mar Biol Biotechnology*, 1994, **3**(1): 42—54
- [5] Guo X, Hershberger W K, Coer K, et al. Genetic consequences of blocking polar body I with cytochalasin B in fertilized eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* II. Segregation of chromosomes [J]. *Biol Bull*, 1992, **183**: 387—393
- [6] Hua Y Q, Xi M G, Fu S Z, et al. Chromosome segregation in fertilized eggs from triploid pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), following inhibition of polar body I [J]. *Biol. Bull*, 1997, **193**: 14—19
- [7] Li Y R, Que H Y, Zhang G F. Effect of inhibiting the first polar body on chromosome segregation in fertilized eggs and ploidy composition of embryos in the zhikong scallop, *Chlamys farreri* [J]. *Marine Sciences*, 2005, **29**(8): 66—70 [李永仁,阙华勇,张国范. 抑制栉孔扇贝第一极体对受精卵染色体行为及胚胎倍性组成的影响. 海洋科学,2005,**29**(8):66—70]
- [8] Yang H, Que H Y, He Y, et al. Chromosome segregation in fertilized eggs from zhikong scallop *Chlamys farreri* following polar body I inhibition with CB [J]. *J Shellfish Res*, 2000, **19**(1): 101—105
- [9] Chang Y Q, Wu W M, Yang D G. Induced segregation of chromosome of ployploid in *Patinopecten yessoensis* with cytochalasin B [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2001, **16**(4): 235—240 [常亚青,吴伟明,杨旦光. 细胞松弛素 B 诱导虾夷扇贝多倍体的受精卵染色体分离状况. 大连水产学院学报,2001,**16**(4):235—240]
- [10] He M X, Jiang W G, Pan J P. Chromosome segregation in fertilized eggs from pearl oyster *Pinctada martensii* Dunker following the first polar body inhibition with cytochalasin B [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(1):15—20 [何毛贤,姜卫国,潘金培. CB 抑制合浦珠母贝受精卵第一极体释放的染色体分离. 水产学报,2002,**26**(1):15—20]
- [11] Lan G B, Xie R C, Yan B, et al. Mechanism of the Formation of Tetraploids of *Pinctada martensii* Induced with Cytochalasin B [J]. *Guangxi Sciences*, 2001, **8**(3): 204—209 [兰国宝,谢若痴,阎冰,等. 细胞松弛素 B 诱导马氏珠母贝四倍体形成机制研究. 广西科学,2001,**8**(3):204—209]
- [12] Li X, Wang Z C, Zhang G F, et al. Studies on the mechanism of effects of medicines on inducing triploid abalone [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 1999, **14**(3):7—12 [李霞,王子臣,张国范,等. 药物诱导皱纹盘鲍三倍体作用机理研究. 大连水产学报,1999,**14**(3):7—12]
- [13] Liu S L, Yang A G. Healthy breeding techniques of primary marine mollusk in China [M]. Beijing: Ocean Press. 2005 [刘世禄,杨爱国. 中国主要海产贝类健康养殖技术. 北京:海洋出版社. 2005, 40—60]
- [14] Zhou L Q, Yang A G, Liu Z H, et al. Cytological observations on cross fertilization between *Chlamys farreri* (♀) and *Patinopecten yessoensis* (♂) scallops [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, **38**(4): 20—24 [周丽青,杨爱国,刘志鸿,等. 栉孔扇贝(♀)×虾夷扇贝(♂)受精细胞学观察. 动物学杂志,2003,**38**(4):20—24]
- [15] Yang A G, Wang Q Y, Liu Z H, et al. The hybrid between the scallops *Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis* and the inheritance characteristics of its first filial generation [J]. *Marine Fisheries Research*, 2004, **25**(5):1—5 [杨爱国,王清印,刘志鸿,等. 栉孔扇贝与虾夷扇贝杂交及子一代的遗传性状. 海洋水产研究,2004,**25**(5):1—5]
- [16] Guerra M. Hematoxylin; a simple, multiple-use dye for chromosome analysis [J]. *Genetics and Molecular Biology*, 1999, **22**(1): 77—80
- [17] Shuder G, Rieder C L. Centriole number and the reproductive capacity of spindle poles [J]. *J Cell Biol*, 1985, **100**: 887—896
- [18] Li X X. Effects of centrosome on cell division and ploidy during the chromosome manipulation in marine invertebrates [J].

Oceanologia et Limnologia Sinica, 1995, **26**(4):493—443 [李孝绪. 论海洋无脊椎动物染色体操作过程中中心体对细胞分裂和倍性的影响. 海洋与湖沼, 1995, **26**(4):493—443]

- [19] Komaru A, Matsuda H, Yamakawa T, *et al.* Chromosome behavior of meiosis inhibited eggs with cytochalasin B in Japanese pearl oyster [J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1990, **56**:1419—1422
- [20] Longo F J, Mathews L, Hedgecock D. Morphogenesis of maternal and paternal genomes in fertilized oyster eggs (*Crassostrea gigas*): effects of cytochalasin B at different periods during mei-

otic maturation [J]. *Biol Bull*, 1993, **185**: 197—214

- [21] Longo F J, Anderson E. Cytological aspects of fertilization in the lamellibranch, *Mytilus edulis*. II. Development of the male pronucleus and the association of the maternally and paternally derived chromosomes [J]. *J Exp Zool*, 1969, **172**: 97—120
- [22] Longo F J, E Anderson. An ultra-structural analysis of fertilization in the surf clam, *Spisula solidissima*. I. Polar body formation and development of the female pronucleus [J]. *J Ultrastruct Res*, 1970, **33**: 495—514

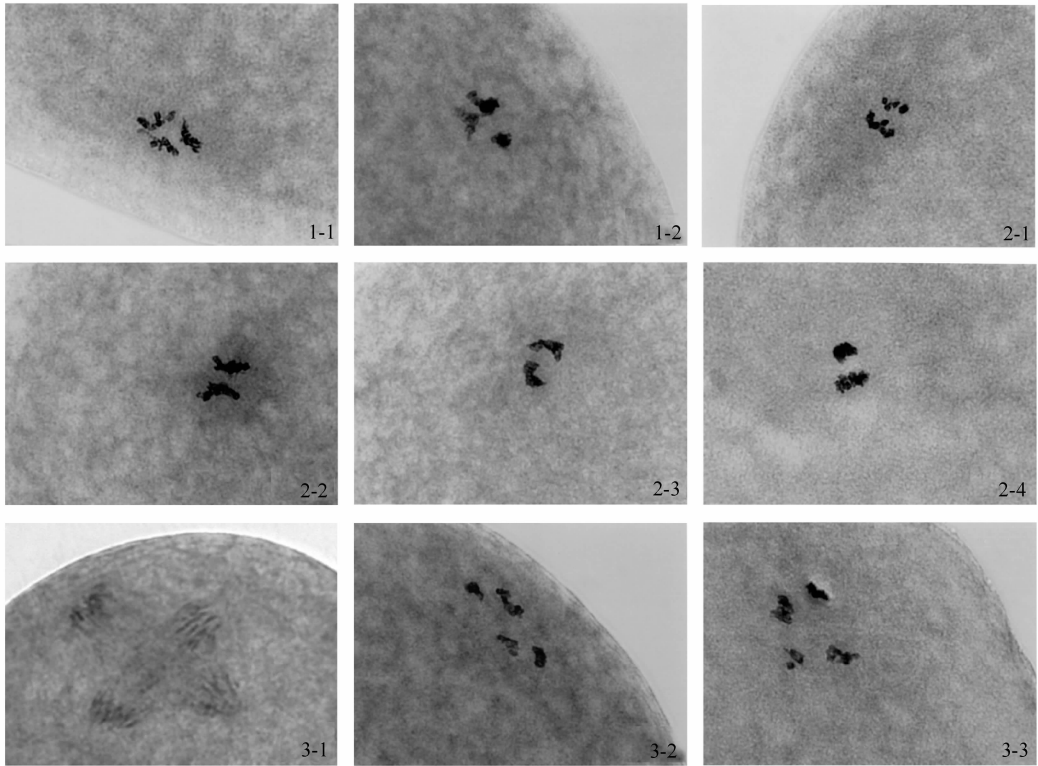


图版 I 对照组受精卵染色体在减数分裂过程中的分离行为

Plate I Chromosome segregation patterns observed during meiosis I & II in fertilized eggs of the control group(×1000)

1. 中期 I, 双价染色体排列在赤道板上; 2. 后期 I, 同源染色体分开移向两极; 3. 后期 I, 染色体到达两极; 4. 末期 I, 两团染色体浓缩; 5, 6. 中期 II, 第一极体排出, 另一套染色体排在赤道板上; 7, 8. 第二极体排出, 精子的染色体一直是以一小团染色质的形式附着在卵的周边; 9. 末期 II, 第一次有丝分裂

1. Metaphase I: bivalent chromosomes were arranged on the metaphase plate; 2. Anaphase I: homologous chromosomes separated gradually to the polar; 3, 4. Telophase I: two agglomerates chromosomes condensed; 5, 6. Metaphase II: the first polar body extrusion, the other set of chromosome were arranged on the metaphase plate; 7, 8. the second polar body extrusion, the chromosomes of sperm were around the edge of the egg as a small group of chromatin; 9. Telophase II: the first cleavage



图版 II 6-DMAP 抑制栉孔扇贝 (♀) × 虾夷扇贝 (♂) 受精卵第一极体释放后第二次减数分裂过程中的染色体分离行为

Plate II Chromosome segregation patterns observed during meiosis II in fertilized eggs following inhibition of PB1 with 6-DMAP in *Chlamys farreri* ♀ × *Patinopecten yessoensis* ♂ (×1000)

1,2. 三极分离;3-6. 联合二极分离;7-9. 独立二极分离

1,2. tripolar segregation;3-6. united bipolar segregation;7-9. separated bipolar segregation