

文章编号: 1000-0615(2004)01-0001-07

彭泽鲫雌核发育的细胞学研究

杨睿姣, 张轩杰

(湖南师范大学生命科学学院, 湖南长沙 410081)

摘要: 通过对彭泽鲫(♀)×彭泽鲫(♂)的受精细胞学观察,彭泽鲫卵子受精后,具有与两性生殖鱼类相同的精子入卵过程和排出极体,但精子入卵后精核始终不解凝,也不与雌性原核融合。对精母细胞成熟分裂中期染色体观察表明,彭泽鲫精母细胞在进行成熟分裂时未发生同源染色体配对,全部为单价体形式,其精子形成过程中第一次成熟分裂异常;对精子与体细胞 DNA 含量进行比较,体细胞 DNA 含量与精子 DNA 含量比为 2.218:1,精子 DNA 含量发生了减半。以上实验结果说明彭泽鲫为雌核发育鱼类。同时,作者对卵核染色体倍性保持稳定的方式及精卵不同的形成机制进行了初步的分析。

关键词: 彭泽鲫;雌核发育;受精细胞学;成熟分裂;DNA 相对含量

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

Cytological studies in *Carassius auratus var pengze*

YANG Rui-jiao, ZHANG Xuan-jie

(Institute of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: It was observed that fertilization cytology of *Carassius auratus var pengze* (♀) × *Carassius auratus var pengze* (♂). It was observed that after being inseminated, a sperm entered egg through micropyle and a polar body was extruded. But after a sperm entered the egg, spermatozoon nucleus beside female pronucleus was condensed and cannot fuse with female pronucleus. The result shows that *Carassius auratus var pengze* is a gynogenetic reproductive species. There were no pairs of homologous chromosome in meiosis I metaphase of spermatocyte of *Carassius auratus var pengze*. It shows the unusual meiosis I during spermatogenesis. The ratio of DNA relative content of tail fin cell to sperm of *Carassius auratus var pengze* is 2.218:1, and it reveals that DNA relative content of sperm is half of somatic cell. During spermatogenesis, meiosis I is abnormal. This paper preliminarily analyzed the mode of the stability of chromosome ploidy of *Carassius auratus var pengze* and the different mechanism of oogenesis and spermatogenesis in order to better understand the reproductive modes and formation mechanism of triploid of *Carassius auratus var pengze*.

Key words: *Carassius auratus var pengze*; gynogenesis; fertilized cytology; meiosis; DNA relative content

彭泽鲫(*Carassius auratus var pengze*)是由江西省水产研究所和九江市水产研究所驯养成功的一种优质养殖鱼类,已推广到全国各地养殖。对于

其生殖、遗传方式的研究已有一些报道,但分歧很大,未形成一致的观点和结论。杨兴棋等^[1]通过杂交试验和染色体组型研究认为彭泽鲫是二倍体

收稿日期:2002-11-11

资助项目:农业部“彭泽鲫倍性检测”项目资助

作者简介:杨睿姣(1974-),女,内蒙古包头人,硕士,主要从事发育生物学的研究。Tel:0731-8872552, E-mail: yry2022@163.com

通讯作者:张轩杰(1960-),男,湖南浏阳人,教授,主要从事发育生物学的研究。E-mail: zh603@163.net

天然雌核发育的生殖方式,而傅永进^[2]则认为彭泽鲫是正常的二倍体鱼,行两性生殖方式。赵振山等^[3]通过彭泽鲫(♀)×兴国红鲤(♂)的受精细胞学观察证实彭泽鲫属雌核发育类群。为了确定彭泽鲫的染色体数目和倍性,受农业部委托,我们对彭泽鲫的染色体数目和倍性进行了鉴定,确定彭泽鲫是染色体数为150+的三倍体鲫^[4]。本研究通过对彭泽鲫受精细胞学以及对精母细胞减数第一次分裂中期染色体的观察和精子DNA含量的检测,以期为更深入地了解彭泽鲫的生殖方式、三倍体形成的机制、系统的掌握其生殖生理及遗传规律提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

彭泽鲫(*Carassius auratus var pengze*)实验鱼由九江市水产研究所提供一龄鱼,在本实验室研究基地饲养至性成熟后,供试验使用。

1.2 方法

彭泽鲫(♀)×彭泽鲫(♂)受精细胞学的方法彭泽鲫受精细胞学实验在18~21℃的水温下,采用人工催产,干法授精,精卵混合后均匀洒在水中的筛绢上。取未受精卵、受精后30s、1.5min、3min、5min和8min到以后每隔3min分别取材固定,直到受精后74min结束,采用Smith氏液固定受精卵,酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,连续切片,厚度6~8μm,苏木精-伊红染色,中性树脂封片。Olympus显微镜观察并摄影。

第一次成熟分裂中期染色体制片方法 共用20尾全部为性成熟雄鱼。用剪刀剖开雄鱼腹部,用镊子夹取一块适当大小的精巢块立即置于盛有生理盐水(0.8% NaCl)的培养皿中洗涤3~5次,去尽血污及除去大部分的精子,用小剪刀剪碎精巢组织,加少许生理盐水,移入离心管中,用吸管反复吹打至组织分散,静置,去掉组织块,离心、洗涤后加低渗液(0.075mol·L⁻¹ KCl)处理100min,再用卡诺氏固定液(甲醇:冰醋酸为1.5:1)固定两次,第一次40min,第二次15min,用干净冰冷的玻片滴片,酒精灯干燥,Giemsa液染色50min(pH6.8),自来水冲洗,晾干,观察。

在Olympus显微镜下选择分散度良好,形态清晰的分裂相用Optimas软件系统人工统计每个分裂相的染色体数目,并进行显微摄影。

精子细胞DNA含量测定方法 在进行成熟分裂实验的鱼处死前,自泄殖腔孔轻轻挤出少许精液,同时取每尾鱼的尾鳍做对照样品,将细胞分散后用DAPI染色,德国产CCA-II型流式细胞仪检测。共检测雄鱼精子和尾鳍样品各5个。

2 结果

2.1 彭泽鲫(♀)×彭泽鲫(♂)受精细胞学

受精前 彭泽鲫卵呈球形,淡黄色,遇水后有很强的粘性,在胚盘中央可见卵膜上有一明显凹陷,凹陷中央有一漏斗状孔是受精孔,为精子入卵的通道。

精子入卵(授精至授精后8min) 精子通过受精孔进入卵内(图版I-1)后,授精后30s观察到精子进入围卵腔中(图版I-2),授精后1.5min受精卵处于成熟分裂中期向后期的过渡阶段(图版I-3),授精后1.5min,观察到精子进入卵质内(图版I-4),此时,细胞质向动物极流动,形成胚盘。在围卵腔中可见到由卵内排出的物质(图版I-5)。授精后3min受精卵进入成熟分裂的后期(图版I-6),授精后5min可观察到极体的排出(图版I-7,8)。

雌性原核的形成(授精后8min至29min) 授精后8min,留在卵内的那部分遗产物质(图版II-1)形成雌性原核,雌性原核旁清晰可见呈凝缩状的精核(图版II-2)。从雌性原核形成(8min)到第一次卵裂(29min)开始,精核始终呈固缩状位于雌性原核旁,未见到有解凝的精核出现。

第一次卵裂(授精后29min至59min) 授精后29min受精卵进入第一次卵裂的前期,授精后35min受精卵发育至第一次卵裂的中期,染色体排列在赤道板上清晰可见,精核在纺锤体附近,大部分仍呈固缩状(图版II-3),但有少数精核呈轻度解凝(图版II-4)。授精41min,染色体分成两组,进入有丝分裂的后期,精核仍呈固缩状在纺锤体附近(图版II-5),授精后53min雌性原核发育到有丝分裂末期,子核出现(图版II-6),授精后59min卵裂沟出现,第一次卵裂结束,固缩的精核位于卵裂沟的附近,第一次卵裂结束后,将进入其中一个子细胞中。

2.2 成熟分裂染色体观察结果

共观察拍摄20尾鱼的142个分裂相,未见到同源染色体配对成二价体存在,也未见到二价体、

单价体并存的现象,观察的所有分裂相中染色体均是以单价体的形式存在(图版 II - 7)。第一次成熟分裂中期染色体数目统计结果(表 1)与彭泽鲫肾细胞染色体数目统计结果^[4]相同。

2.3 精子及体细胞 DNA 含量测定结果

共检测 5 条雄鱼精子 DNA 含量,结果见表

2,平均为 35.45(图 1),尾鳍细胞 DNA 相对含量平均为 78.63(图 2),体细胞与精子 DNA 含量比为 2.218:1。

表 1 彭泽鲫精母细胞第一次成熟分裂中期染色体数目统计

Tab.1 Statistical results of chromosome number in meiosis I metaphase of spermatocyte of *C. auratus var pengze*

染色体数目 chromosome number	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161
分裂相数目 mitotic figure number	16	21	21	12	11	20	19	10	6	3	2	1
百分比(%) percentage	11.2	14.8	14.8	8.5	7.7	14.1	13.4	7.1	4.3	2.1	1.3	0.7

表 2 5 尾彭泽鲫精子和尾鳍细胞 DNA 相对含量值

Tab.2 DNA relative content of sperms and tail fin cells of 5 *C. auratus var pengze*

样品号 no. of specimen	1	2	3	4	5
精子 DNA 相对含量 DNA relative content of sperms	33.16	33.94	35.72	33.63	40.80
尾鳍细胞 DNA 相对含量 DNA relative content of tail fin cells	78.22	78.58	79.10	77.86	79.39

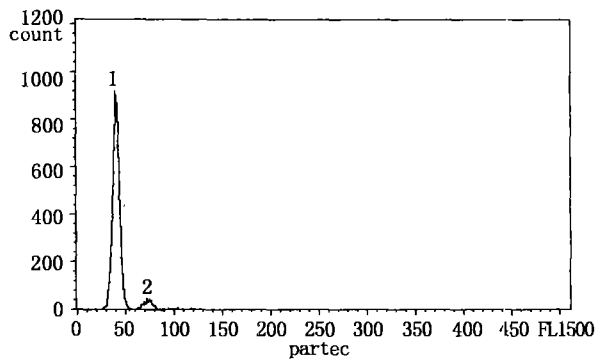


图 1 5 号样品的精子 DNA 含量

Fig.1 DNA relative content of sperm of no.5

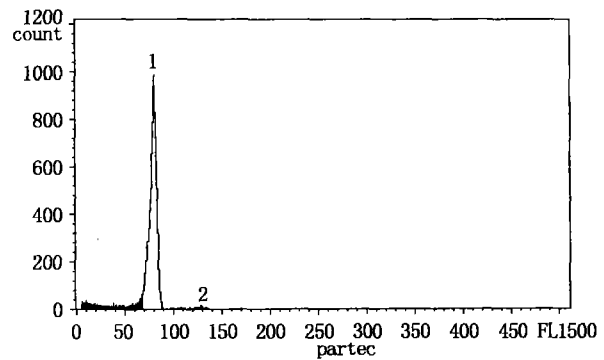


图 2 5 号样品的尾鳍细胞 DNA 含量

Fig.2 DNA relative content of tail fin cells of no.5

3 讨论

3.1 彭泽鲫生殖方式

雌核发育是鱼类生殖方式中的一种特殊生殖方式,通过控制卵子发生和受精后精核发育这两个过程来完成的,其明显特征是:1)卵核染色体倍性通过某种特殊方式保持稳定^[5],2)入卵精子受到卵子调控系统的抑制,精核不能发育,整个胚胎和个体发育在雌核的基础上进行^[6,7]。彭泽鲫是

一种经人工选育的新型养殖品种,对于其生殖方式的研究已有一些报道,但分歧很大,未形成一致的观点和结论。杨兴棋等^[1]通过杂交试验和染色体组型研究认为彭泽鲫是二倍体天然雌核发育的生殖方式,而傅永进^[2]则认为彭泽鲫是正常的二倍体鱼,行两性生殖方式。赵振山等^[3]通过彭泽鲫(♀)×兴国红鲤(♂)的异精受精细胞学观察证实彭泽鲫属雌核发育类群。作者在染色体数目和

倍性分析中,证实彭泽鲫是染色体数为 $150+$ 的三倍体鲫^[4]。本研究中通过对彭泽鲫自繁受精过程的观察证明,精子虽有人卵过程,但精核不解凝,一直呈固缩状态,不形成雄性原核,也不与雌性原核融合,固缩的精核在卵裂期间随机的位于卵裂纺锤体周围的某一不确定位置,是典型的雌核发育类型。

雌核发育鱼类卵子在诱导精核发育的功能上是非常特殊的,有别于两性融合生殖型的卵子功能。葛伟等^[8]报道银鲫种内自繁时,少数银鲫精子可以解凝,并可以和卵核接合,但不能形成雄性原核。彭泽鲫种内自繁受精细胞学实验只观察到了极少数精核形态变化为不规则状有低程度的解凝的现象存在,但却不能进一步形成雄性原核。说明彭泽鲫即使在种内自繁过程中排除了异精受精可能存在的排斥现象,精核也只有低程度解凝。在雌核发育中精核发育有其特殊机制,卵质中异常的磷酸酯酶活性及缺乏某些大分子物质和精子核膜解体受到抑制可能是精核发育受到抑制的原因^[9,10]。

3.2 卵核染色体保持稳定的方式

对于雌核发育鱼类,因其精子染色体并不真正参与受精卵的发育,因此卵子在形成过程中,必须保持染色体数目不变,才能维持世代间恒定的染色体数,但它们不是靠成熟分裂来维持的。通过大量的细胞学研究证明,其生殖细胞学机制是相当复杂的,基本上不发生成熟分裂;成熟分裂后第二极体不排出,并与雌性原核结合;第一次卵裂为核内有丝分裂及成熟分裂前核内有丝分裂等^[11]。日本关东系银鲫成熟卵中没有看到第一极体的排出,其卵成熟过程中省略了第一次成熟分裂,只进行了一次同型核分裂,排出一个极体^[5,12,13]。方正银鲫的卵子第一次成熟分裂的整个过程没有染色体的丢失、外排从而使卵核染色体不减数来维持与母本相同的染色体倍性^[6,14-16]。通过对彭泽鲫受精细胞学观察,看到受精后卵子排出了一个极体,在雌核发育生殖方式中,要维持染色体的稳定,我们推断三倍体彭泽鲫卵在成熟过程中有同日本关东系银鲫、方正银鲫相似的过程,即省略了第一次成熟分裂,可能进行一次同型核分裂,就能保持产生具有与母本同样染色体数目及核型的卵。

3.3 精子与卵子形成机制

在正常的二倍体可育鱼类中,精母细胞减数第一次分裂中期分裂相中两条同源染色体配对成二价体,在这个阶段主要是因为配对的同源染色体存在,使染色体的数目减半。通常在三倍体不育鱼类中,每个分裂相可见到二价体、单价体、三价体和极少量的多价体共存^[17],此时通过成熟分裂形成配子时,会因染色体分配不平衡,成熟分裂将发生障碍。在雌核发育日本银鲫和方正银鲫中,精母细胞的同源染色体不能正常配对,但可以形成有功能的染色体数目减半的精子^[14,18,19]。彭泽鲫第一次成熟分裂中期分裂相中都未观察到同源染色体配对为二价体,而全部为单价体,染色体的数目与体细胞的染色体数目相同,没有看到在两性生殖类群中这个阶段普遍存在的染色体数目减半现象,其雄性个体在产生精子时并非是正常的成熟分裂,也未发现因染色体分配不平衡而引起雄性不育的现象。彭泽鲫与日本关东系银鲫、方正银鲫相似,也可以产生 DNA 含量减半的有正常功能的精子。彭泽鲫具有相同染色体组的同胞雌雄个体性细胞在形成配子时的不同行为,可能是由于细胞质因子的调控作用所致。

Zhou 等^[20,21]通过对彭泽鲫与黑龙江的天然雌核发育三倍体银鲫品系 A 进行 RAPD 分子标记和 SCAR 标记研究,发现它们具有高度的遗传同质性,平均遗传距离很小。因而认为它们应属同一克隆,推测彭泽鲫可能是由于银鲫的广泛养殖,有少数逃离池塘与其它的鲫混合后逐渐形成的。因此,彭泽鲫可能有同方正银鲫相似的雌核发育机制。

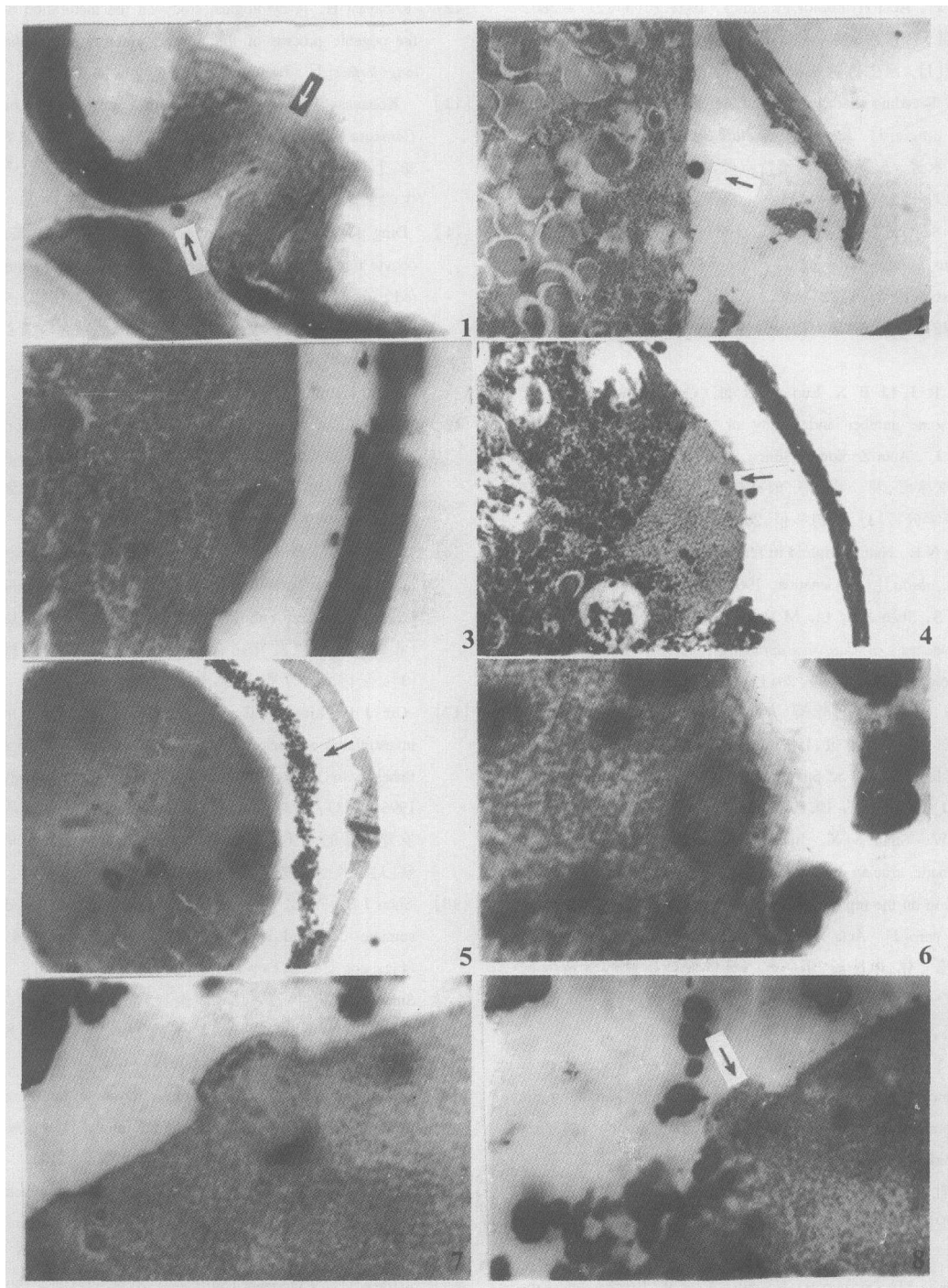
Zhou 等认为雌核发育银鲫在应答同源精子时是采用两性生殖方式繁衍后代的^[22],但对其精子、卵子的产生机制又是怎样呢?彭泽鲫是否也具有进行两种不同发育方式的能力呢?对于精子形成中纺锤体与染色体的行为及形成机制,都需进一步研究。

罗琛研究员、冯浩博士在实验中给予很大的帮助,在此表示真诚感谢!

参考文献:

- [1] Yang X Q, Chen M R, Yu X M, et al. Preliminary study on the mode of reproduction in crucian carp (*Carassius auratus*) of

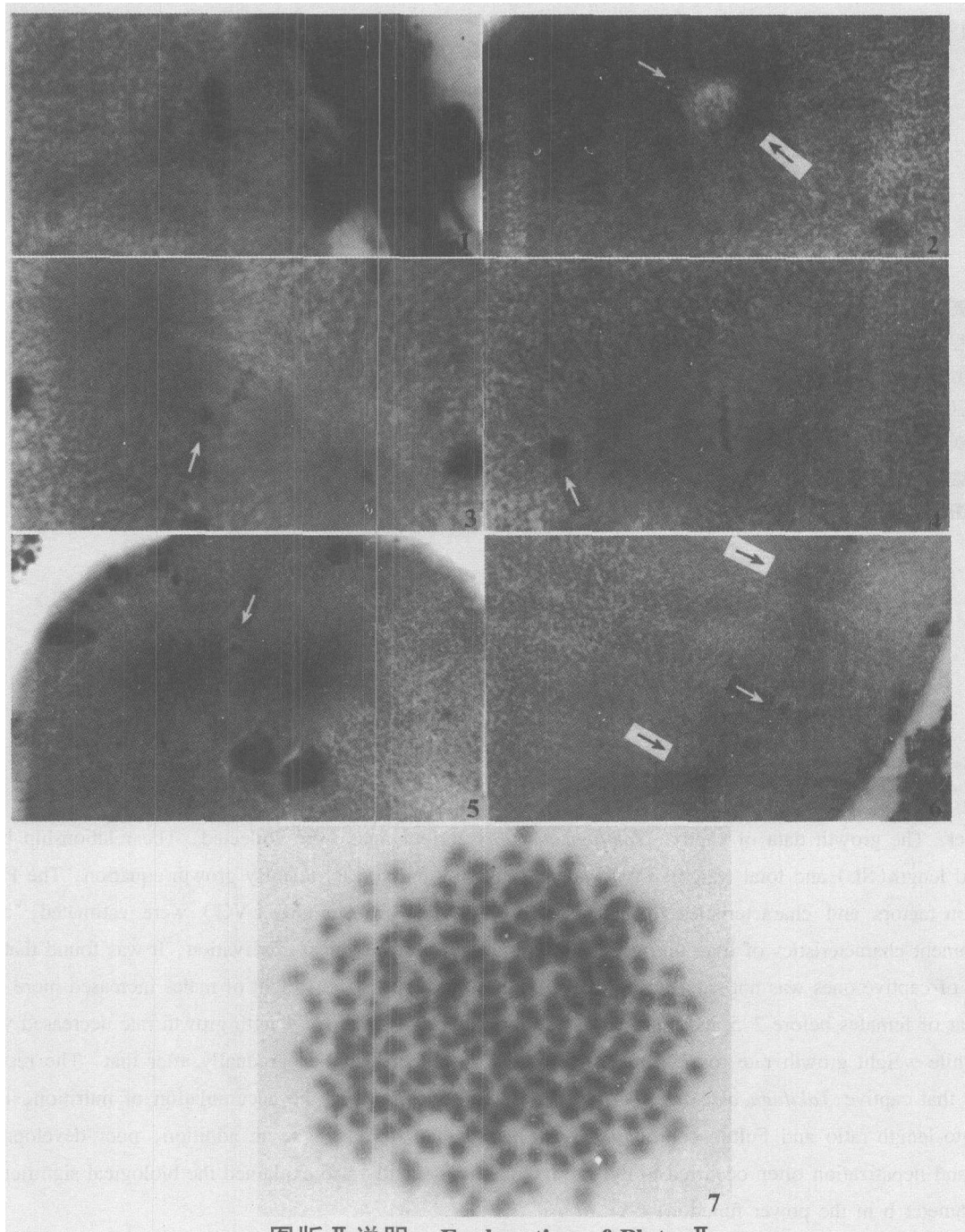
- pengze[J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1992, 16(3): 277-280. [杨兴棋, 陈敏容, 俞小牧, 等. 江西彭泽鲫生殖方式的初步研究[J]. 水生生物学报, 1992, 16(3): 277-280.]
- [2] Fu Y J. Breeding characteristic and breeding method of *Carassius auratus pengze* [J]. Jiangxi Aquaculture Sinica, 1995, (2/3): 55-56. [傅永进. 彭泽鲫的养殖特点及养殖方法[J]. 江西水产科技, 1995, (2/3): 55-56.]
- [3] Zhao Z S, Gao G Q, Huang F, et al. Fertilization cytology of *Carassius auratus pengze* [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 1998, (1): 25-30. [赵振山, 高贵琴, 黄峰, 等. 彭泽鲫的受精生物学[J]. 上海水产大学学报, 1998, (1): 25-30.]
- [4] Yang R J, Li B X, Luo C, et al. Cytogenetic analysis of chromosome number and ploidy of *Carassius auratus* variety pengze [J]. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49(1): 104-109. [杨睿皎, 李冰霞, 罗琛, 等. 彭泽鲫染色体数目和倍性的细胞遗传学分析[J]. 动物学报, 2003, 49(1): 104-109.]
- [5] Cherfas N B. Nature triploid in female of the goldfish (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Genetica, 1966, 12(5): 16-24.
- [6] Zhou J S, Shen J B, Liu M H. A cytological preliminary study on gynogenesis of *Carassius auratus gibelio* in Heilongjiang [J]. Zoo Biology Sinica, 1983, 29(1): 11-16. [周嘉申, 沈俊宝, 刘明华. 黑龙江一种银鲫(方正银鲫)雌核发育的细胞学初步研究[J]. 动物学报, 1983, 29(1): 11-16.]
- [7] Schultz R J. Special adaptive problems associated with unisexual fishes [J]. Am Zool, 1971, 11(2): 351-360.
- [8] Ge W, Shan S X, Jiang Y G. Fertilization biology of gynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*), with a discussion on the reproductive modes of the naturally gynogenetic crucian carp [J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1992, 16(2): 97-100. [葛伟, 单仕新, 蒋一珪. 雌核发育银鲫的受精生物学研究—天然雌核发育银鲫繁殖方式的讨论[J]. 水生生物学报, 1992, 16(2): 97-100.]
- [9] Yue Z Y, Jiang Y G, Shan S X. Biochemical characteristics of gynogenetic and bisexual reproductive fish eggs regulating the development of sperm nuclei during early fertilization [J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1996, 20(2): 164-172. [岳振宇, 蒋一珪, 单仕新. 雌核发育和两性融合发育鱼卵调控精核受精发育的生化特征研究[J]. 水生生物学报, 1996, 20(2): 164-172.]
- [10] Yamashita M, Onozato H, Nakanish T, et al. Breakdown of the sperm nuclear envelope is a prerequisite for male pronucleus formation: direct evidence from the gynogenetic Crucian Carp *Carassius auratus langsdorffii* [J]. Development Biology, 1990, 137: 155-160.
- [11] Fan Z T, Song S X. Gynogenesis, antrogenesis and hybridogenesis in fishes [J]. J Fish China, 1993, 17(2): 179-187. [范兆廷, 宋苏祥. 鱼类的雌核发育、雄核发育和杂种发育[J]. 水产学报, 1993, 17(2): 179-187.]
- [12] Kobayasi H. A cytological study on the maturation division in the oogenic process of the triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorffii*) [J]. Jan J Ichthy, 1976, 22: 234-240.
- [13] Kobayasi H. Cytogenetics studies on oogenic process of *Carassius auratus langsdorffii* [J]. Genetics, 1978, 3(7): 28-38. [小林弘. フナノ分類ヒ, ギソプナにみられる雌原发生の细胞遗传学的检讨[J]. 遗传, 1978, 3(7): 28-38.]
- [14] Ding J, Jiang Y G. Comparative cytological studies on the oocyte maturation in gynogenetic crucian carp and amphimictic red carp [J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1991, 15(2): 98-102. [丁军, 蒋一珪. 雌核发育银鲫和两性融合发育红鲤卵母细胞成熟的细胞学比较研究[J]. 水生生物学报, 1991, 15(2): 98-102.]
- [15] Yu H X. A cytological observation on gynogenesis of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1982, 7(4): 481-487. [俞豪祥. 银鲫雌核发育的细胞学观察[J]. 水生生物学集刊, 1982, 7(4): 481-487.]
- [16] Cui Y L. A cytological study on the maturation division prophase in gynogenesis back-high form of crucian carp (*Carassius auratus L.*) [J]. Journal of Yunnan University, 1998, 20(3): 182-184. [崔悦礼. 雌核发育高背鲫成熟分裂前期的细胞学观察[J]. 云南大学学报, 1998, 20(3): 182-184.]
- [17] Gui J F, Liang S C, Jiang Y G, et al. Light microscope investigation on meiotic chromosome pairing in artificial triploid fishes with blocked ovaries [J]. Acta Hydrobiology Sinica, 1995, 19(3): 223-226. [桂建芳, 梁绍昌, 蒋一珪, 等. 卵巢发育阻滞的人工三倍体鱼成熟分裂染色体配对的光镜观察[J]. 水生生物学报, 1995, 19(3): 223-226.]
- [18] Shen J B, Fan Z T, Li S W, et al. Comparative studies of the somatic cell and spermatozoon DNA contents and ploidy of fangzheng crucian carp and zha-long lake goldfish [J]. Acta Zool Sin, 1984, 30(1): 7-13. [沈俊宝, 范兆廷, 李素文, 等. 方正银鲫与扎龙湖鲫体细胞、精子的 DNA 含量及倍性的比较研究[J]. 动物学报, 1984, 30(1): 7-13.]
- [19] Kotsuaki kojima, Takac kajishima, Kiyotaka matsumurg, et al. Gametogenesis of the polyploid ginbuna *Carassius auratus langsdorffii* [J]. Zool Magazine, 1983, 92(4): 510.
- [20] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers [J]. Cytogenet Cell Genet, 2000, 88: 133-139.
- [21] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Molecular analysis of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) clone by SCAR markers [J]. Aquaculture, 2001, 201: 219-228.
- [22] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) as revealed by RAPD assays [J]. Molecular Evolution, 2000, 51: 498-506.



图版 I 说明 Explanation of Plate I

1. 授精后 30s, 精子即将通过受精孔进入卵子, 黑箭头示精子, 白箭头示受精孔, $\times 1000$; 2. 授精后 1.5min, 精子进入围卵腔, 黑箭头示精子, $\times 1000$; 3. 授精后 1.5min, 卵子处于成熟分裂中期向后期过渡阶段, $\times 1000$; 4. 授精后 3min, 精子进入卵质内, 黑箭头示精子, $\times 1000$; 5. 授精后 3min, 围卵腔中可见到有卵内排出的物质, 黑箭头示排出的物质, $\times 1000$; 6. 授精后 5min, 卵子进入成熟分裂后期, $\times 1000$; 7. 授精后 5min, 卵子即将排出极体, $\times 1000$; 8. 授精后 8min, 极体已排出, 黑箭头示排出的极体, $\times 1000$

1. 30s after insemination, a sperm is entering egg through micropyle, black arrow shows sperm, white arrow shows micropyle, $\times 1000$; 2. 1 min and 30s after insemination, sperm entered perivitelline space, black arrow shows sperm, $\times 1000$; 3. 1 min and 30s after insemination, the egg remained the transitional period from metaphase to anaphase of maturation division, $\times 1000$; 4. 3 min after insemination, sperm entered ooplasm, black arrow shows sperm, $\times 1000$; 5. 3 min after insemination, material was extruded to perivitelline space, black arrow shows extruded material, $\times 1000$; 6. 5 min after insemination, the egg was developing into the anaphase of maturation division, $\times 1000$; 7. 5 min after insemination, the polar was being extruded, $\times 1000$; 8. 8 min after insemination, the polar has been extruded, black arrow shows the extruded polar, $\times 1000$



图版 II 说明 Explanation of Plate II

1. 授精后 8min, 留在卵内将来形成雌性原核的遗传物质, $\times 1000$; 2. 授精后 26min, 雌性原核形成, 固缩的精核在雌性原核旁, 白箭头示雌性原核, 黑箭头示未解凝的精核, $\times 1000$; 3. 授精后 35min, 受精卵进入第一次卵裂中期, 精核位于赤道板附近, 白箭头示精核, $\times 1000$; 4. 授精后 35min, 受精卵进入第一次卵裂中期, 精核位于纺锤体一侧, 精核有轻度解凝, 白箭头示精核, $\times 1000$; 5. 授精后 41min, 受精卵进入第一次卵裂后期, 精核位于赤道板附近, 白箭头示精核, $\times 1000$; 6. 授精后 53min, 受精卵进入第一次卵裂末期, 子核出现, 白箭头示未解凝的精核, 黑箭头示子核, $\times 500$; 7. 精母细胞第一次成熟分裂中期分裂相, $\times 2500$

1. 8min after insemination, the genetic material which was remained in the egg would become female pronucleus, $\times 1000$; 2. 26min after insemination, female pronucleus formed, the condensed spermatozoon nucleus beside female pronucleus, white arrow shows female pronucleus, black arrow shows condensed spermatozoon nucleus, $\times 1000$; 3. 35min after insemination, metaphase of the first cleavage, the condensed spermatozoon was close to nucleus plate, white arrow shows spermatozoon, $\times 1000$; 4. 35min after insemination, metaphase of the first cleavage, the spermatozoon was close to a side of spindle, spermatozoon was slight decondensed, white arrow shows spermatozoon, $\times 1000$; 5. 41min after insemination, anaphase of the first cleavage, the condensed spermatozoon was close to nucleus plate, white arrow shows spermatozoon, $\times 1000$; 6. 53min after insemination, telophase of the first cleavage, daughter nucleus appeared, white arrow shows condensed spermatozoon, black arrow shows daughter nucleus, $\times 500$; 7. metaphase of spermatocyte of meiotic I, $\times 2500$