

皱纹盘鲍染色体 C 带和 rDNA 定位

蔡明夷^{1,2}, 刘贤德¹, 陈紫莹¹, 蔡冰冰¹, 柯才焕^{3*}

(1. 集美大学水产学院, 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;

2. 浙江海洋学院水产学院, 浙江 舟山 316004;

3. 厦门大学海洋与地球学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 为了提高对皱纹盘鲍染色体的辨识水平, 实验利用 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 处理显示了皱纹盘鲍染色体的 C 带, 并用荧光原位杂交分析 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 研究了核糖体大亚基 rDNA 在皱纹盘鲍中期染色体上的数目与位置。核型结果显示, 皱纹盘鲍染色体组包含 7 对中部着丝粒染色体和 8 对亚中部着丝粒染色体, 另有 3 对染色体介于中部着丝粒染色体与亚中着丝粒染色体之间 (m/sm)。C 显带结果显示, 8 对染色体有稳定的着丝粒 C 带, 5~7 对染色体上有中期相间多态的端部 C 带, 3 对染色体上有同源染色体异态的臂间 C 带。FISH 分析显示, 皱纹盘鲍中期染色体上分布着 4 个大亚基 rDNA 位点, 分别位于 2 号短臂 (2S)、7 号短臂 (7S)、12 号短臂 (12S) 和 18 号长臂 (18L) 的端部。研究结果为皱纹盘鲍染色体辨识提供了新的特征与标记, 为进一步研究皱纹盘鲍种群的染色体多态和鲍属染色体进化提供了基础资料。

关键词: 皱纹盘鲍; 染色体带型; 荧光原位杂交; 核糖体 DNA

中图分类号: Q 786; S 917.4

文献标志码: A

染色体是遗传物质的载体, 染色体组型是物种的重要遗传属性。研究染色体可以为物种鉴定、种群多样性和生物进化研究提供细胞遗传层次的依据和资料, 为多倍体育种、杂交育种等染色体组操作的结果鉴定提供依据, 同时也可研究基因组结构和功能基因组提供基本框架。针对一个具体物种, 辨识染色体组中的全部成员是深入研究染色体核型、基因组框架和基因定位的首要步骤与重要基础。

皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*), 属软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、前鳃亚纲 (Prosobranchia)、原始腹足目 (Archaeogastropoda)、鲍科 (Sisoridae)、鲍属 (*Haliotis*), 是我国目前养殖量最大的一种鲍。20 世纪 80 年代, Arai 等^[1]报道了皱纹盘鲍的核型, 查明皱纹盘鲍含有 36 条染色体, 核型公式为 $2n$

$= 20m + 16sm$ 。皱纹盘鲍的核型数据为其三倍体育种、雌核发育诱导结果鉴定和种间杂交结果鉴定奠定了基础^[2]。然而, 由于皱纹盘鲍的染色体组中存在形态相近、长度分布连续的染色体, 仅凭臂比和相对长度两个参数很难准确辨别。因此, 本研究利用 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 处理显示皱纹盘鲍 C 带, 并利用荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术分析大亚基 rDNA 基因簇在皱纹盘鲍中期染色体上的位点数目与分布, 为精确鉴别皱纹盘鲍的染色体提供依据, 以满足皱纹盘鲍遗传育种、结构基因组学和功能基因组学研究迅速发展的需要^[3-4]。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用亲鲍购于山东沿岸并暂养于福建省漳

收稿日期: 2012-12-11 修回日期: 2013-03-26

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划 (2012AA10A412); 海洋渔业科学与技术浙江省重中之重学科开放课题 (20110216); 闽发改投资 (2010)983 号; 广东省教育部产学研结合项目 (2012B091100085); 集美大学国家级大学生创新创业训练计划项目 (Z81228)

通信作者: 柯才焕, E-mail: chke@xmu.edu.cn

浦后蔡养殖场。亲贝催产采用阴干、紫外线照射过海水的刺激和流水刺激等方法,按一定比例将精液加入卵子中进行人工授精。受精卵孵育至孵化后,用孔径为 25 μm 的筛绢网收集担轮幼体。

1.2 染色体标本的制备、显带与核型分析

染色体标本的制备参考 Cai 等^[5]报道的方法。皱纹盘鲍担轮幼体经筛绢网富集后,放在含 0.5 g/L 秋水仙素的海水中培养 40 min,经 0.075 mol/L KCl 溶液中低渗处理 20 min,再用卡诺氏固定液固定 3 次后,最后加入适量卡诺固定液吹打后,静置 1 min,取悬液滴片,每片滴 1 ~ 2 滴,空气干燥。按 Sumner^[6]描述的方法显示皱纹盘鲍 C-带。光学显微镜下镜检拍照。

选择 10 个染色体数目完全,分散较好、形态清晰、长度适中的分裂相,用 MicroMeasure 3.3 (<http://rydberg.biology.colostate.edu/MicroMeasure/>) 软件测量,并计算染色体的相对长度和臂比。用 Adobe Photoshop 排列染色体照片,参照 Levan 等^[7]提出的分组标准进行染色体分类,染色体按相对长度递减顺序排列。

1.3 荧光原位杂交

用作探针的模板的是人类 2 个 rDNA 克隆 pHr21A 和 pHr14E3,均由日本北海道大学阿部周一教授提供。其中,pHr21A 含 18S rRNA 编码区的 5.8 kb 片段,pHr14E3 含 5.8S rRNA 编码区和 28S rRNA 编码区的 7.3 kb 片段。等量混合 2 个克隆,用缺口平移试剂盒 (Roche) 按试剂盒说明书标记生物素-dUTP。

按 Fujiwara 等^[8]描述的方法,将标记好的探针加入杂交缓冲液(50% 去离子甲酰胺/2 \times SSC)后,80 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,插入碎冰 10 min 以上。染色体制片在 72 $^{\circ}\text{C}$ 75% 甲酰胺/2 \times SSC 变性 2.5 min,梯度乙醇溶液脱水。将探针溶液在变性后的染色体制片上,37 $^{\circ}\text{C}$ 杂交过夜。

杂交后经 42 $^{\circ}\text{C}$ 50% 甲酰胺/2 \times SSC 和 1 \times SSC 洗涤各 10 min 后,加 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ avidin-Alexa Fluor 488 (Introgen) 100 μL ,覆盖封口膜,温育 1 h 时后,用 4 \times SSC-0.1% Triton 浸洗 5 min;加 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Biotinylated Anti-Avidin D (Vector laboratories) 100 μL ,覆盖封口膜,湿盒温育 1 h 后,用 4 \times SSC-0.1% Triton 浸洗 5 min;再次加 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ avidin-Alexa Fluor 488 (Introgen) 100 μL ,覆盖封口膜,温育 1 h 时后,用 4 \times SSC-0.1%

Trixton 浸洗 5 min。用纯净水略清洗后,室温暗置风干,每张染色体制片加入 20 μL 含 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 碘化丙啶(PI)的抗褪色剂,用指甲油封片。在正置荧光显微镜(Nikon FX)下,使用显微镜的 B-2A 和 G 滤光片分别观察红色的染色体和黄绿色的探针杂交信号。用气冷式数位相机(CCD)摄像,并将图像输入计算机中,用 NIS-Elements 软件拼合荧光图像。

2 结果

2.1 染色体核型与 C 带

皱纹盘鲍的细胞包括 18 对染色体,染色体组型分析数据如表 1 所示。皱纹盘鲍中期相中,最长染色体与最短染色体的比值约为 1.52。臂比大于 2 的有 7 对,占 38.9%。按 Stebbins^[9]的核型分类方法判断,核型类型为 2A,属于对称核型。核型不对称系数(长臂总长/全组染色体总长)约为 0.64。

皱纹盘鲍染色体组中,7 对染色体臂比显著小于 1.7,为中部着丝粒(m)染色体;8 对染色体臂比显著大于 1.7 且小于 3.0,为亚中部着丝粒(sm)染色体;而 2 号、6 号和 17 号等 3 对染色体的臂比与 1.7 没有显著性差异,类型介于 m 和 sm 之间,记为 m/sm。因此,皱纹盘鲍染色体核型公式为 $K(2n) = 36 = 14m + 6m/sm + 16sm$,染色体臂数为 72。另外,表 1 显示,皱纹盘鲍染色体组有部分染色体形态相似,相对长度和臂比接近,如 3 号和 4 号染色体,12 号、13 号和 14 号染色体,以及 15 号和 16 号染色体。

皱纹盘鲍染色体经酸碱处理后显示 C 带,按染色体相对长度的递减顺序并综合考虑染色体分类排列如图 1-a 所示。皱纹盘鲍染色体 C 带包括着丝粒 C 带、端部 C 带和臂间 C 带等 3 类。着丝粒 C 带的分布相对稳定,分布于 3 号、9 号、11 号、14 ~ 18 号等 8 对染色体(图 1-a,图 2)。而端部 C 带和臂间 C 带的分布较不稳定。不同的中期相间端部 C 带分布不同,相对稳定的有 5 号长臂(5L)、6 号短臂(6S)、8 号短臂(8S)、9 号长臂(9L)和 12 号短臂(12S)上的端部 C 带。此外,每个中期相一般都可以观察到 2 ~ 4 个臂间 C 带,分布位置可能是 3 号、6 号和 12 号等染色体长臂上。图 1-a 中,6 号染色体长臂和 12 号染色体长臂的臂间 C 带即表现为同源染色体异态。

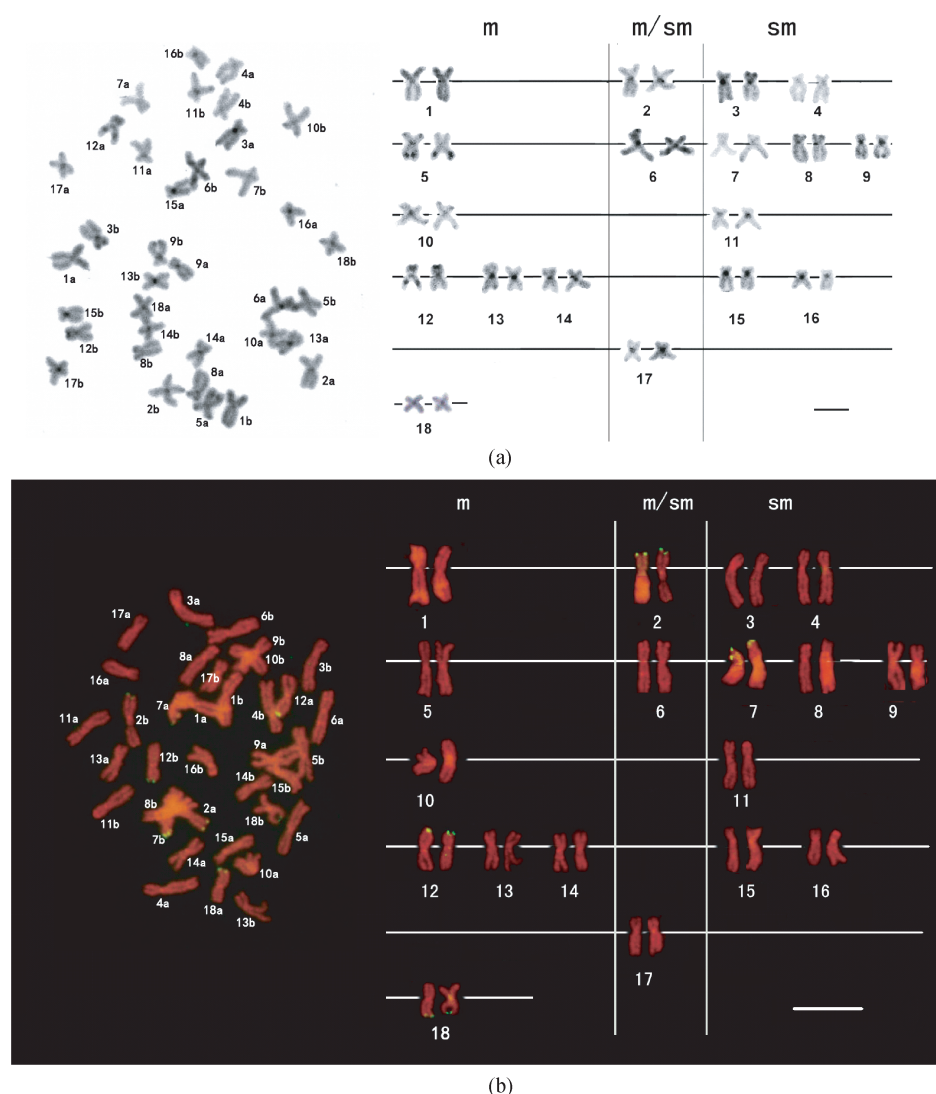


图 1 皱纹盘鲍染色体中期相核型图

(a) C 带; (b) rDNA FISH. 标尺 = 5 μm ; 中期相染色体图中的数字表示染色体序号; 字母表示染色体在核型图的相对位置(排在左边标为 a, 排在右边标为 b)。

Fig. 1 Metaphases and karyotypes of *Haliotis discus hannai*

(a) C-Banding; (b) rDNA FISH. Scale bar = 5 μm . The number and the relative position of the chromosomes in the karyotypes are marked in the metaphases. The left ones are labeled as a, while the right ones are labeled as b.

2.2 rDNA 序列的 FISH 定位

人类 2 个 rDNA 克隆质粒(含 18S rRNA 编码区、5.8S rRNA 编码区、28S rRNA 编码区和 7.3 kb 间隔序列片段)为探针的荧光原位杂交结果如图 1-b。PI 负染的染色体呈红色,生物素-dUTP 标记的 rDNA 经杂交和信号放大后,显示 Alexa Fluor 488 所呈现的绿色荧光,与 PI 红色荧光组合为黄绿色。不同中期细胞间检出的 rDNA 信号数目有所变化,最多可以检出 8 个 rDNA。根据图 2 和表 1 的核型分析数据可以判断,FISH 位点位于 2 号短臂(2S)、7 号短臂(7S)、12 号短

臂(12S)和 18 号长臂(18L)的端部。

3 讨论

皱纹盘鲍核型目前已有多篇报道,但不同报道的结果略有差异。例如,Arai 等^[1]的报道的核型是 $2n = 20m + 16sm$,王桂云等^[10]、Okumura 等^[11]及戴伟等^[12]报道核型公式为 $2n = 22m + 14sm$ 。同一物种染色体核型多态的现象在贝类中较为常见^[13-14]。出现这种核型差异的可能原因包括遗传差异和试验方法两方面:种群间和种群内染色体变异均可能导致核型多态;秋水仙素

表 1 皱纹盘鲍染色体组型分析数据

Tab. 1 The data of the chromosome karyotypical analysis in *H. discus hannai*

编号 no.	相对长度 relative length (mean ± SD)	臂比 arm ratio (mean ± SD)	类型 type	编号 no.	相对长度 relative length (mean ± SD)	臂比 arm ratio (mean ± SD)	类型 type
1	6.85 ± 0.26	1.21 ± 0.06	m	10	5.36 ± 0.41	1.33 ± 0.31	m
2	6.51 ± 0.37	1.78 ± 0.21	m/sm	11	5.15 ± 0.22	2.40 ± 0.28	sm
3	6.44 ± 0.31	2.81 ± 0.44	sm	12	4.99 ± 0.32	1.47 ± 0.17	m
4	6.39 ± 0.25	2.68 ± 0.24	sm	13	4.98 ± 0.39	1.18 ± 0.13	m
5	6.33 ± 0.29	1.31 ± 0.11	m	14	4.89 ± 0.40	1.39 ± 0.19	m
6	6.26 ± 0.17	1.64 ± 0.27	m/sm	15	4.80 ± 0.23	2.31 ± 0.17	sm
7	6.12 ± 0.26	2.42 ± 0.51	sm	16	4.61 ± 0.25	2.29 ± 0.27	sm
8	5.75 ± 0.38	2.20 ± 0.45	sm	17	4.58 ± 0.23	1.70 ± 0.36	m/sm
9	5.47 ± 0.42	1.94 ± 0.36	sm	18	4.52 ± 0.43	1.23 ± 0.14	m

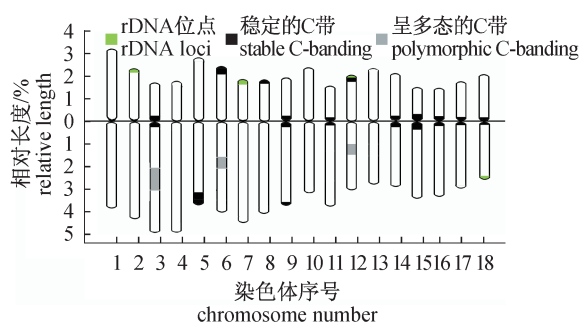


图 2 皱纹盘鲍 C 显带和 rDNA 位点的染色体组型模式图

Fig. 2 Diagram of C-banding and rDNA loci on chromosomes in *H. discus hannai*

的浓度和处理时间也可能影响染色体的形态和长度。由于不同条件下获得的染色体核型可能存在差异,因而需要更丰富的标记来规范核型,提高核型研究结果的通用性。本研究结果显示,皱纹盘鲍 2 号、6 号和 17 号染色体的臂比接近 1.7,类型介于 m 和 sm 之间,且不同中期相测得结果有所差异。存在类型界定困难的染色体,可能是导致不同研究报道核型公式不一致的主要原因。因此,参考其他物种类似情况的处理方法^[15],本研究将这 3 对染色体的类型定为 m/sm 型,核型公式修正为 $K(2n) = 36 = 14m + 6m/sm + 16sm$ 。这既可突显 2 号、6 号和 17 号染色体的特征,丰富了皱纹盘鲍染色体辨识特征,同时也提高了不同染色体研究报道间的兼容性。

关于鲍属贝类染色体显带的研究报道很少。Okumura 等^[10]用加热和盐溶液处理显示该皱纹盘鲍的带型(类 G 带),结果显示带型在中期相间

有变化,但仍可以作为同一中期相染色体配对的依据。C 带是利用一系列酸碱、热标准枸橼酸盐溶液处理显示组成型异染色质区域的技术^[6]。本研究结果显示,皱纹盘鲍的臂端 C 带在中期相间存在多态,臂间 C 带在同源染色体间也存在异态。染色体 C 带在中期相间的变化,以及臂间同源染色体间的异态的现象在其他物种也有发现,如人类、鱼类^[16-17]。中期相间的多态可能与变异有关,同源染色体间的异态可能与变异、性别分化、基因组印迹或历史杂交事件等相关。分布稳定的 C 带可以作为染色体辨识的标记;而多态性较高的 C 带不适合作为染色体辨识标记,但可以作为研究种群染色体多态性的遗传标记。

真核生物 rDNA 包括两个独立的基因家族,分别编码大亚基 18S-5.8S-28S rRNA 和小亚基 5S rRNA。许多生物中,大亚基 rDNA 常与核仁组织中心(NOR)相关^[3,15]。银染法利用硝酸银与核仁组织者区域的酸性蛋白特异结合的特性显色,可以显示有转录活性的 NOR。Okumura 等^[10]用银染法显示了皱纹盘鲍的 NOR,在 2 对染色体长臂端部观察到 NOR,但不同细胞中染色体编号不同,分别为 5 号和 6 号、或 8 号和 11 号、或 5 号和 11 号。这种 NOR 位置的不确定性可能与 rRNA 基因的转录活性有关。与银染法不同,FISH 直接针对 DNA 序列,不受转录活性的影响,可以更准确地显示大亚基 rDNA 的位置。本研究利用 FISH 显示了皱纹盘鲍染色体组中分布着 4 个大亚基 rDNA 位点,分别位于 2 号短臂(2S)、7 号短臂(7S)、12 号短臂(12S)和 18 号长臂(18L)的端部,为辨识这 4 对染色体提供了明显标记。

鲍属染色体数目的地理分布很有规律:地中海地区的祖征鲍种 $2n = 28$, 印度—太平洋亚洲地区鲍种 $2n = 32$; 北太平洋地区鲍种和南非—澳大利亚鲍种染色体数目均为 $2n = 36$ ^[19]。这个规律提示了, 染色体进化对于鲍属物种进化具有非常重要的意义。然而, 目前鲍染色体研究主要局限于核型研究, 涉及带型和 FISH 的研究还很少。开展过 rDNA 定位研究的鲍现有 3 种: 红鲍、绿鲍和桃红鲍(表 2)。它们均属于太平洋东北区鲍种。根据目前学界广泛接受的鲍属动物进化模型, 祖先鲍起源于远古特斯提海, 并引发了现代地中海和印度洋热带的鲍种发生; 接着这些热带鲍分别向南和东北两个方向移殖 (colonization); 其中, 东北分枝经过两次移殖后, 辐射出包括加利福

尼亚和日本地区的北太平洋鲍种^[19]。根据这一进化模型, 本文的研究对象皱纹盘鲍属太平洋西北区鲍种, 是太平洋东北区鲍的后生物种。本研究结果显示, 虽然皱纹盘鲍与三种已报道 rDNA 定位的太平洋东北区鲍种的染色体数目均为 36, 但核型以及大亚基 rDNA 位点数目和位置存在较大差异(表 2)。红鲍、绿鲍和桃红鲍等 3 种鲍的染色体组中均含有 st 染色体, 有 2 个信号明确和若干个不稳定的大亚基 rDNA 位点; 皱纹盘鲍染色体组中没有 st 染色体, 含有 4 个明确的 rDNA 位点(2 对大型染色体和 2 对小型染色体)。可见, 太平洋东北区鲍种移殖到西北区的进化过程中, 含大亚基 rDNA 的染色体片段可能发生了重复与易位。

表 2 鲍属大亚基 rDNA 基因 FISH 定位研究结果汇总

Tab. 2 Summary of FISH location of major rDNA gene on metaphase chromosomes in *Haliotis*

物种 species	核型公式 karyotype formula	rDNA 位点 rDNA loci			参考文献 reference
		数目 number	稳定位点 stable loci	不稳定位点 unstable loci	
红鲍 <i>H. fulgens</i>	16m + 18sm + 2st	2 ~ 5	4L(T), 5L(T)	7L(T), 13S(T), 8M	[3]
绿鲍 <i>H. rufescens</i>	16m + 16sm + 4st	2 ~	4L(T), 11L(T)	不确定	[18]
桃红鲍 <i>H. corrugata</i>	20m + 14sm + 2st	2 ~	2L(T), 4L(T)	不确定	[18]
皱纹盘鲍 <i>H. discus hannai</i>	14m + 6m/sm + 16sm	4	2S(T), 7S(T), 12S(T), 18L(T)	-	本文 this paper

本实验观察到皱纹盘鲍 3 对染色体的类型介于 m 和 sm 染色体间, 显示了中期染色体 C 带, 并分析了大亚基 rDNA 在皱纹盘鲍的染色体上位点分布及数目, 为皱纹盘鲍染色体分辨提供了新的特征与标记, 提高了皱纹盘鲍染色体分辨水平。但是, 要准确、快速地鉴别皱纹盘鲍的所有染色体, 尚需要建立每条染色体的特异标记, 如构建染色体多重带图谱或开发染色体特异标记探针池。

参考文献:

- [1] Arai K, Tsubaki H, Ishitani Y, et al. Chromosomes of *Haliotis discus hannai* Ino and *H. discus* Reeve [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1982, 48(12): 1689 - 1691.
- [2] 蔡明夷, 柯才焕, 周时强, 等. 鲍遗传育种研究进展 [J]. 水产学报, 2004, 28(2): 201 - 208.
- [3] Gallardo-Escarate C, Alvarez-Borrego J, Del Rio-Portilla M A, et al. Fluorescence in situ hybridization of rDNA, telomeric (TTAGGG) (n) and (GATA) (n) repeats in the red abalone *Haliotis rufescens* (Archaeogastropoda: Haliotidae) [J]. Hereditas, 2005, 142(2005): 73 - 79.
- [4] Hernandez-Ibarra N K, Leitch A R, Cruz P, et al. Fluorescent in situ hybridization and characterization of the SalI family of satellite repeats in the *Haliotis* L. species (abalone) of the Northeast Pacific [J]. Genome, 2008, 51(8): 570 - 579.
- [5] Cai M Y, Ke C H, Luo X, et al. Karyological studies on the hybrid larvae of *Haliotis diversicolor supertexta* female and *H. discus discus* male [J]. Journal of Shellfish Research, 2010, 29(3): 735 - 740.
- [6] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin [J]. Experimental Cell Research, 1972, 75(1): 304 - 306.
- [7] Levan A K, Fredga K, Sanberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201 - 220.
- [8] Fujiwara A, Fujiwara M, Nishida-Umehara C, et al. Characterization of Japanese flounder karyotype by chromosome bandings and fluorescence in situ hybridization with DNA markers [J]. Genetica, 2007, 131(3): 267 - 274.

- [9] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London;Edward Arnold Ltd,1971.
- [10] Okumura S. Analysis of karyotype, chromosome banding, and nucleolus organizer region of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Journal of Shellfish Research,1999,18(2):605 - 609.
- [11] 王桂云,马庆惠,王先志. 皱纹盘鲍的染色体研究 [J]. 动物学研究,1988,9(2):171 - 174.
- [12] 戴伟,苏时萍. 中国海区与日本海区皱纹盘鲍染色体核型的比较研究 [J]. 天津农学院学报,2003,13(3):40 - 43.
- [13] Komaru A, Wada K T. Karyotypes of four species in the Pectinidae (Bivalvia: Pteriomorpha) [J]. Venus, 1985,44(2):249 - 259.
- [14] 周丽青,杨爱国,刘志鸿,等. 栉孔扇贝 × 虾夷扇贝杂交子一代与双亲染色体核型的分析 [J]. 水生生物学报,2005,29(1):105 - 109.
- [15] Wang Y, Guo X. Chromosomal rearrangement in Pectinidae revealed by rRNA loci and implications for bivalve evolution [J]. Biological Bulletin,2004,207(3):247 - 256.
- [16] Park J P, Wojiski S A, Spellman R A, *et al.* Human chromosome 9 pericentric homologies: implications for chromosome 9 heteromorphisms [J]. Cytogenetics and Cell Genetics,1998,82(3 - 4):192 - 194.
- [17] Haaf T, Schmid M. An early stage of ZW/ZZ sex chromosome differentiation in *Poecilia sphenops* var. *melanistica* (Poeciliidae, Cyprinodontiformes) [J]. Chromosoma,1984,89(1):37 - 41.
- [18] Gallardo-Escarate C, Alvarez-Borrego, Del Rio-Portilla M A, *et al.* Karyotype analysis and chromosomal localization by fish of ribosomal DNA, telomeric (TTAGGG)_N and (GATA)_N repeats in *Haliotis fulgens* and *H. corrugata* (Archeogastropoda: Haliotidae) [J]. Journal of Shellfish Research,2005,24(4):1153 - 1159.
- [19] Estes J A, Lindberg D R, Wray C. Evolution of large body size in abalone (*Haliotis*): Patterns and implications [J]. Paleobiology, 2005, 31 (4): 591 - 606.

Characterization of Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) karyotype by C-banding and fluorescence in situ hybridization with rDNA

CAI Mingyi^{1,2}, LIU Xiande¹, CHEN Ziyang¹, CAI Bingbing¹, KE Caihuan^{3*}

(1. Key Laboratory of Mariculture in the East China Sea, Ministry of Agriculture of China;

Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Fishery School, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China;

3. College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The chromosomes of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*, were examined by C-banding and fluorescence in situ hybridization (FISH) with human major rDNA (18S-5.8S-28S) as probes. The chromosome set of Pacific abalone was composed of 7 pairs of metacentric chromosomes, 8 pairs of submetacentric chromosomes, and 3 pairs of metacentric/submetacentric chromosomes. Stable centromeric C-bands were present on 8 pairs of chromosome. Inter-metaphase polymorphic telomeric C-bands and heteromorphic pericentric C-bands were found on 5–7 pairs and 3 pairs of chromosomes, respectively. In addition, 4 major rDNA loci were mapped onto the telomere of four pairs of chromosomes (2S, 7S, 12S and 18L). These results provided new markers and characteristics to distinguish chromosomes in the genome of Pacific abalone, and would serve as basic data for further researches on chromosome evolution in abalone.

Key words: *Haliotis discus hannai*; chromosome banding; fluorescence in situ hybridization (FISH); rDNA

Corresponding author: KE Caihuan. E-mail: chke@jmu.edu.cn