

文章编号: 1000-0615(2018)09-1338-10

DOI: 10.11964/jfc.20171010996

黄条鲷染色体多种显带的形态特征分析

刘永山^{1,2}, 柳学周^{1,2*}, 史宝¹, 徐永江¹, 李荣³,
吕永军³, 宋雪松^{1,2}, 王滨¹, 姜燕¹

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛海洋科学与技术国家实验室,
海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 大连富谷水产有限公司, 辽宁 大连 116400)

摘要: 为详细了解黄条鲷染色体带型的形态特征, 实验采用体内注射植物血细胞凝集素(PHA)和秋水仙素的方法, 取黄条鲷全部头肾细胞经低渗处理、卡诺氏液固定、空气干燥法制备染色体分裂相。通过不同的研究方法, 分别研究和探讨其中期染色体多种带型(C带核型、G带核型和Ag-NORs)的显带特征和形态特征。黄条鲷的带型研究结果显示: ①C带特征为48条染色体均有大小不一的C带, 其中第2、4、5、16、18和19对染色体具有端部C带, 其余均为着丝粒C带, 无居间带和整体呈C带阳性深染染色体; 计算异染色质含量约31.53%; ②Ag-NORs带特征为第5对染色体末端具有Ag-NORs, 为端部Ag-NORs; 银染显现间期核中核仁的数目为1~2个, 显现出2个核仁的细胞数目较多, 达到60%; ③G带特征为同源染色体G带带纹大小和位置基本吻合, 非同源染色体G带带纹大小和带纹的位置不尽相同。每条染色体都有数量不等的深染带和浅染带, 无整条染色体显示深染G带或浅染G带, 24对染色体中在条带的数量、大小、位置、染色深浅等方面未发现完全相同的染色体G带。该研究结果可为黄条鲷种质判定、染色体组学研究和遗传育种等提供基础资料。

关键词: 黄条鲷; 染色体; C带核型; G带核型; Ag-NORs

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

黄条鲷(*Seriola aureovittata*)属鲈形目(Perciformes)、鲷科(Carangidae)、鲷属(*Seriola*), 是大洋性全球分布的暖温性中上层大型洄游性鱼类, 广泛分布于太平洋、印度洋、大西洋、地中海等海域, 我国南北海域均有分布, 也是在中国分布的3种鲷属鱼类中, 唯一可在黄渤海自然分布的种类。近年来, 黄条鲷的自然资源日趋减少, 在我国已多年形不成鱼汛, 其增养殖研究已引起世界诸多国家的广泛重视。近几年, 黄条鲷增养殖技术研究已在澳大利亚、新西兰、

日本、韩国等开展起来, 但是, 相关研究进展较缓慢。我国对黄条鲷增养殖研究起步较晚, 相关研究报道也较少。已有的研究工作主要包括亲鱼培育^[1]、早期发育^[2-3]、形态特征^[4]、肌肉营养学^[5]、养殖技术^[6-7]、染色体核型^[8]等研究。

研究染色体的数目、行为、核型和带型可以了解生物的遗传变异规律、遗传组成、发育机制和性别遗传机制, 并对确定生物的基因组数目, 研究物种起源及相互间亲缘关系、进化地位、分类等也具有重要的参考价值。染色体

收稿日期: 2017-10-10 修回日期: 2018-03-25

资助项目: 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2017GH05, 2018GH17, 2016PT07); 青岛市民生科技计划(17-3-3-61-nsh); 农业农村部农业国际合作交流项目; 山东省重点研发计划(2018GHY115044); 现代农业产业技术体系专项(CARS-47)

通信作者: 柳学周, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

显带技术是对染色体的形态结构进行比较精细的分析,也是遗传资源研究工作中极为重要的环节。近年来,有关鱼类染色体带型研究已有一些报道,但相关研究不够深入和系统^[9-11]。2017年,本实验室在报道了我国黄海海域黄条鲮染色体核型的基础上^[8],继续对黄条鲮染色体带型(包括C带、G带和Ag-NORs)的形态特征和数量特征进行了系统分析,旨在为黄条鲮的种质资源保护、染色体组学、杂交育种和增殖研究提供遗传背景资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼为2015年8月在黄海北部的海洋岛附近海域捕获的体长为8~10 cm的野生黄条鲮苗种,经人工驯化后,采用10 m×10 m×8 m的网箱在海上养殖3个月,转入工厂化车间越冬;养殖期间以鲜杂鱼为饵料,养殖水温范围为16~28 °C,越冬水温15~17 °C;盐度范围为28~33; pH范围为8.0~8.3;日投饵2次,投饵量为鱼体质量的2%~5%。实验在大连富谷水产有限公司进行,实验共使用黄条鲮幼鱼21尾,体质量范围为300~450 g,体长范围为30~35 cm,体高范围为7~8 cm。

1.2 实验方法

黄条鲮染色体核型制备 使用麻醉剂将实验鱼麻醉后在胸鳍基部注射植物血球凝集素(PHA, Sigma公司),放回养殖池中暂养4~6 h后在同一部位注射秋水仙素溶液,1 h后取头肾,经过剪碎、过滤、低渗处理、卡诺氏固定液固定、热滴片制得黄条鲮染色体核型。

C带制片 采用Karagyan等^[12]的方法并稍作修改。将未染色的标本在60 °C烘箱中老化6 h,取出稍冷却后将整个标本浸泡于0.2 mol/L HCL溶液中,室温处理15 min用蒸馏水冲洗干净。然后将整个样品浸泡于60 °C预温的5%Ba(OH)₂饱和水溶液中,处理12 min,快速取出用蒸馏水冲洗干净。再在60 °C的2×SSC溶液中孵育40min,用蒸馏水将2×SSC溶液冲洗干净。最后用1/15 M PBS配制成的10%Giemsa染液染色30 min,蒸馏水冲洗干净,自然干燥、封片、镜检。观察30个以上的分裂相和细胞核型,仔细区分C带位置和杂质,以确定C带的数目,并观察C带的大小、

位置。取典型的分裂相,确定C带的位置,统计分析C带含量。经测量、剪贴、重排等进行黄条鲮C带带型分析。

鱼类染色体C-带位置大致有3种情况:①着丝粒带,带纹分布在着丝粒及其附近;②端带,带纹分布在染色体臂端;③居间带,带纹分布在着丝粒至臂端之间,表现比较复杂,不是所有染色体都有居间带。

通过测量计算C-带纹总数和异染色质含量。在100倍油镜下检查标本,如着丝粒区域或异染色质部位、次缢痕部位深染,染色体其它部位基本上不上色,即为可取标本。对于较好的制片,做好标记,以便进行拍照。

Ag-NORs制片 采用快速银染法^[13],选取未经染色片龄1~7 d的标本,将配制50%AgNO₃溶液(现用现配)与2%明胶溶液(含有1%甲酸)以2:1充分混合后,立即滴加到未染色的染色体制片标本上,覆以盖玻片后在60 °C烘箱中处理12 min,观察整张片子呈金黄色时取出,蒸馏水冲洗干净,自然干燥、封片、镜检。

进行银染时应时刻观察样本颜色的变化,控制好处理时间,时间过短染色体和核仁组织区都会着色过浅,无法观察到明显的核仁组织区;处理时间过长则整条染色体都会变成深褐色,也不利于核仁组织区的观察。Ag-NORs的重要特征之一是多态性,在已发表的有关鱼类Ag-NORs的文献中记载了Ag-NORs的多态性现象^[14],主要存在2种形式:一是数目的多态性,二是结构多态性。取30个典型的分裂相进行核型分析,确定Ag-NORs的位置。经测量、剪贴、重排等进行黄条鲮Ag-NORs带型分析。

G带带型制片 采用王昌留^[15]的方法稍作修改,将制备好未经染色的标本放在66 °C的烘箱中老化2 h。然后在新配制的0.3%胰酶与0.02%EDTA混合液中(1:1)37 °C处理3 min,迅速用蒸馏水冲洗干净后,用1/15 M PBS配制成的10%Giemsa染色8min,蒸馏水冲洗干净,自然干燥、封片、镜检。

选取30个染色体带型清楚、分散良好的分裂相,根据显微镜观察和拍照分析确定染色体带的数量、相对位置,同时结合染色深浅、带纹宽窄,染色体的大小、着丝粒位置等指标进行染色体配对排列,制作G带核型图和G带核型模式图。

2 结果

2.1 黄条鲮染色体C带特征分析

观察统计黄条鲮30个不同C带中期分裂相, 选取染色体C带清晰、分散良好的C带中期分裂相(图1), 经过显微镜拍照、测量、重新排列制作C带核型图(图2), 对黄条鲮单倍体组每条染色体总长度和C-带长度进行了测量和计算, 数据列入表1。按照下列公式:

异染色质含量(%)=C-带带纹总长度/染色体总长度×100

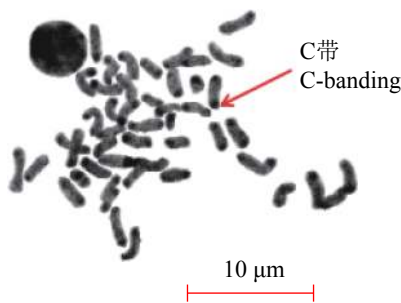


图1 黄条鲮染色体C带分裂相

红色箭头指示C带

Fig. 1 The C-banding metaphase of *S. aureovittata*

The red arrow indicates C-banding

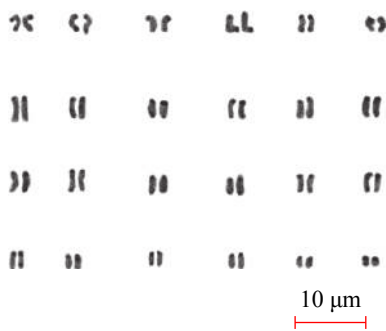


图2 黄条鲮染色体C带核型

Fig. 2 The C-banding karyotype of *S. aureovittata*

计算得出黄条鲮异染色质含量为31.53%。同时, 根据计算结果统计绘制出黄条鲮C-带带型模式图(图3)。统计结果表明, 黄条鲮的C带分裂相具有48条染色体, 都有大小不一的着丝粒C带, 其中, 第2、4、5、16、18和19对染色体具有端部C带, 无居间带和整体呈C带阳性深染染色体, 因此认为黄条鲮C带可分为2种类型: 着丝粒带和端带。同源染色体的形态及C带的大

表1 黄条鲮染色体C-带相对长度

Tab. 1 Relative length of C-banding in *S. aureovittata*

染色体序号 chromosome Pair No.	染色体实际 长度/um actual length	C-带实际带长 length of C-banding (um)	C-带带长/染色体长度/% relative length of C-banding
1	3.52	0.91	25.79
2	3.47	1.23	35.48
3	3.44	0.75	21.70
4	3.43	1.585	46.02
5	3.17	1.505	47.34
6	3.14	0.66	20.99
7	3.07	1.016	30.00
8	3.04	0.856	28.07
9	2.99	0.79	26.59
10	2.99	0.85	28.31
11	2.92	0.60	20.70
12	2.62	0.76	29.05
13	2.63	0.66	25.02
14	2.62	0.62	23.66
15	2.54	0.61	24.18
16	2.54	1.15	45.08
17	2.51	0.67	26.58
18	2.43	1.60	65.69
19	2.43	0.85	35.12
20	2.10	0.56	26.67
21	2.12	0.65	30.78
22	1.80	0.46	25.81
23	1.68	0.57	33.68
24	1.53	0.52	33.76
合计 total	64.76	20.42	31.53

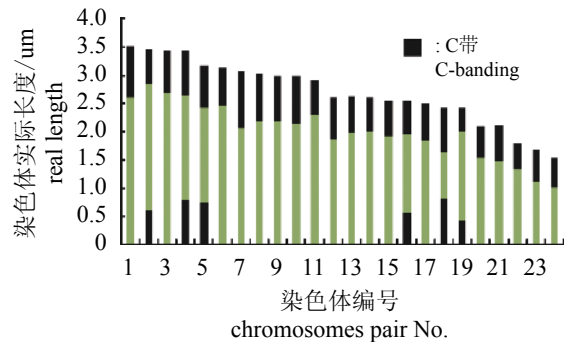


图3 黄条鲮染色体C-带带型模式图

Fig. 3 The schema chart of C-banding of *S. aureovittata*

小、数目和着色程度基本相近, 而非同源染色体之间存在不同程度的差异。

2.2 黄条鲮染色体Ag-NORs特征分析

观察了30个染色体数目48条、Ag-NORs显示清晰的中期分裂相, 以确认Ag-NORs在染色体上的数量和位置。统计分析发现, 30个Ag-NORs中期分裂相中, 有6个中期分裂相的一条染色体呈现NORs阳性, 占20%; 3个中期分裂相无NORs, 占10%; 21个中期分裂相的一对染色体呈现NORs阳性, 占70%, 位于第5对染色体(图4、图5)。因此, 确定黄条鲮染色体银染核型仅显示一对NORs, 且位于第5对染色体的末端, 根据其Ag-NORs的特点绘制模式图(图6)。

同时, 对黄条鲮染色体分裂相进行银染处理之后, 在不同间期细胞中Ag-NORs的数目呈现出不同的多态性, 其数目为1~2个(图7-a, b), 统计结果表明, 出现2个Ag-NORs的细胞数约占60%, 出现1个Ag-NORs的细胞数约占40%(表2)。

2.3 黄条鲮染色体G带特征分析

选择分散良好、分带清楚的30个G带中期分裂相统计分析, 选择较清晰而标准的分裂相(图8)进行显微拍照, 结合染色体的形态、带型、大小等, 分清每对同源染色体, 并按照从大到小排列(表3), 由此制作出黄条鲮G带核型图(图9)。通过显微镜观察和照片分析确定染色体G带的数量、相对位置, 结合染色深浅、带纹宽窄等特征, 测绘出它们的模式图(图10)。结果表明, 全部染色体都有不同数量的G带带纹, 无整条染色体显示深染G带或浅染G带, 只有第20对染色体

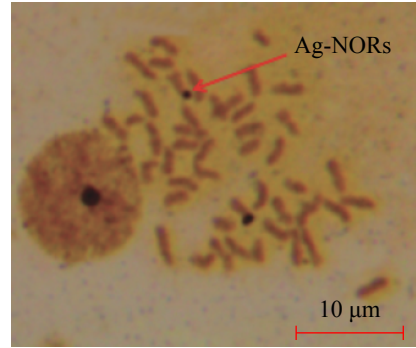


图4 黄条鲮染色体Ag-NORs的银染中期分裂相
红色箭头指示Ag-NORs

Fig. 4 The Ag-NORs metaphase of *S. aureovittata*
The red arrow indicates the Ag-NORs

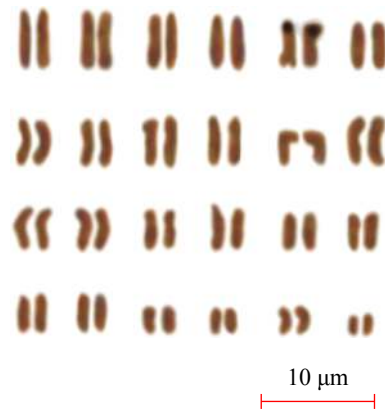


图5 黄条鲮染色体Ag-NORs的银染核型

Fig. 5 The Ag-NORs karyotype of *S. aureovittata*

大部分呈现G带深染。同源染色体G带带纹大小和位置基本吻合, 非同源染色体G带带纹大小和带纹的位置不尽相同。统计G带条带总数量, 黄

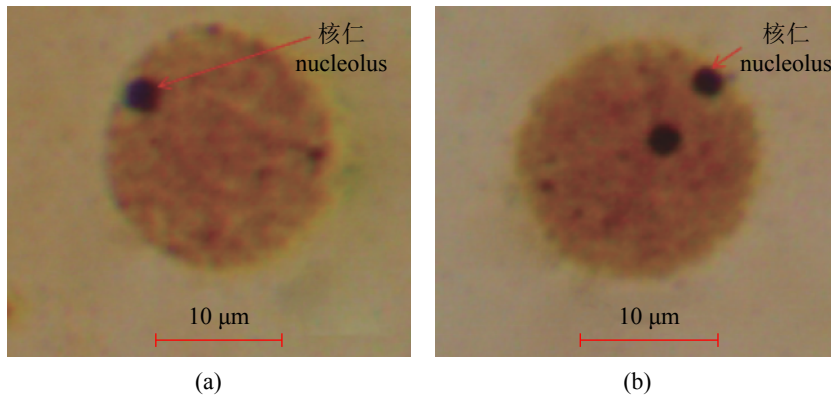


图6 黄条鲮染色体银染间期核

红色箭头指示核仁。(a)具1个核仁的银染间期核, (b)具2个核仁的银染间期核

Fig. 6 Interphase nucleus of *S. aureovittata*

The red arrows indicate the nucleolus. (a) one nucleolus, (b) two nucleoli

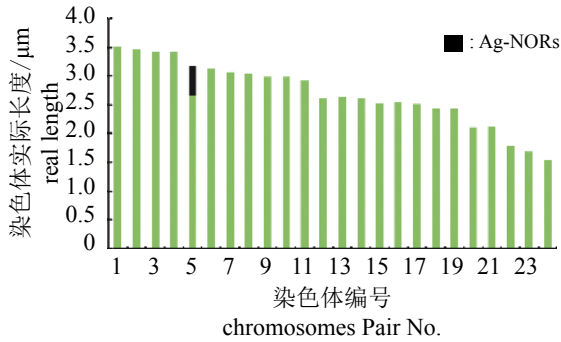


图7 黄条鲷染色体Ag-NORs模式图

Fig. 7 The schema chart of Ag-NORs of *S. aureovittata*

表2 黄条鲷银染间期核中各种数目的Ag-NORs出现频率

Tab. 2 The frequencies of Ag-NORs appearance in *S. aureovittata*

类型 types	Ag-NORs数目 no. of Ag-NORs	观察分裂相数 no. of metaphase observed	频率/% frequency of Ag-NORs appeared
a	1	12	40%
b	2	18	60%

注：a, b与图6中的a, b对应

Notes: a, b correspond to the a, b in Figure6

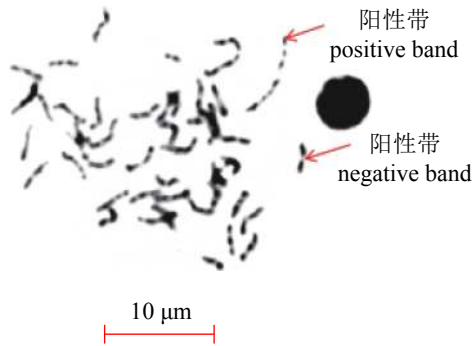


图8 黄条鲷染色体G-带中期分裂相

红色箭头指示G带阳性带和阴性带

Fig. 8 The G-banding metaphase of *S. aureovittata*

The red arrows in the picture indicate the positive band and negative band

条鲷24对染色体的G带合计共有118条条带，其中阳性带(深染带)70条，阴性带(浅染带)48条。每条染色体的深染带位置、大小、数量有所不同，深染带数量在1~5条之间，其比例分别为4.17%、25.00%、50.00%、16.67%、4.17%；浅染带数量在1~4条之间，其比例分别为29.17%、45.83%、20.83%、4.17%；每条染色体的G带条带数量虽然有的相同，但是在条带的大小、位

表3 黄条鲷各染色体对中G-带分布

Tab. 3 Distribution of G-bands in chromosomal pairs of *S. aureovittata*

染色体编号 chromosome pair No.	深带 deeply stained bands	浅带 faintly stained bands	总计 total
1	5	4	9
2	4	3	7
3	4	3	7
4	4	3	7
5	3	2	5
6	3	2	5
7	4	3	7
8	3	2	5
9	3	3	6
10	3	2	5
11	2	1	3
12	3	2	5
13	3	2	5
14	3	2	5
15	3	2	5
16	2	1	3
17	3	2	5
18	2	1	3
19	3	2	5
20	1	1	2
21	3	2	5
22	2	1	3
23	2	1	4
24	2	1	3
合计 total	70	48	118

置、染色深浅等方面仍有存在差异之处，24对染色体中未发现完全相同的染色体G带形态特征。

3 讨论

3.1 黄条鲷染色体C带带型

染色体的C带阳性区域代表异染色质区域，其中包含大量无转录活性、AT与GC高度重复的DNA序列，包括卫星DNA序列^[16-17]。Shi^[18]等指

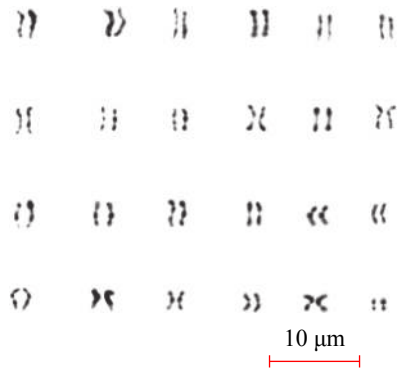


图9 黄条鲮染色体G-带核型

Fig. 9 The G-banding karyotype of *S. aureovittata*

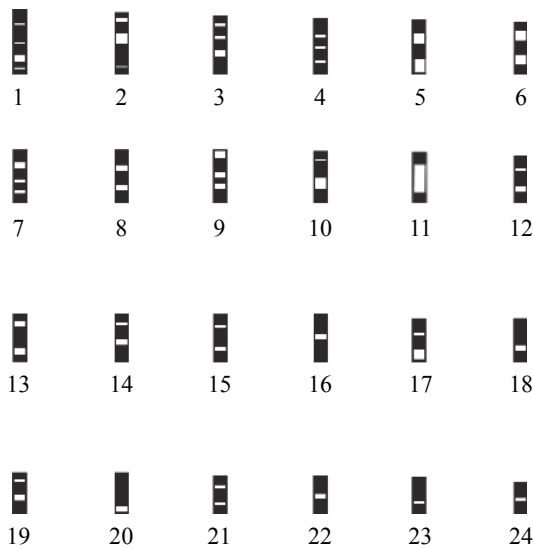


图10 黄条鲮染色体G-带模式图

■: 阳性带 □: 阴性带

Fig. 10 The schema chart of G-banding of *S. aureovittata*

■: positive bands □: negative bands

出, 染色体间若发生不对称易位和臂间倒位可导致异染色质区域增多或分布位置发生改变, 如居间异染色质增加甚至整个染色体臂完全异染色质化。从黄条鲮染色体C带特征看, 全部染色体都有着丝粒C带, 没有发现染色体显示居间带C带阳性和整条C带阳性, 属于较原始的类群。其中发现黄条鲮有6对染色体存在端部C带, 这预示黄条鲮染色体可能发生了倒位或者易位, 导致形成新的基因型和基因序列重排^[19-20]。黄条鲮C带异染色质的百分含量相对较少, 可能因为异染色质主要分布在着丝粒区域。本研究通过统计分析, 发现黄条鲮结构异染色质的含量

约31.53%, 与两栖类大横斑蟾(*Mixophyes fasciolatus*)(30.2%)^[21]、圆斑星鲮(*Erasper variegatus*)(30%)^[22]、半滑舌鲮(*Cynoglossus semilaevis*)(30.03%)^[23]类似, 也证明其属于较原始类群。

3.2 黄条鲮染色体Ag-NORs带型

染色体Ag-NORs的数目、形态和分布情况是判断鱼类亲缘关系和染色体进化的指标^[10, 24]。本研究中发现, 黄条鲮染色体具有1~2个核仁组织区, 其中以2个核仁组织区分裂相的占比较高, 由此确定黄条鲮银染核型有一对Ag-NORs, 且位于第5对染色体端部, 此结果可作为其亲缘关系和染色体进化判定的重要指标。在本研究条件下黄条鲮的银染核型中Ag-NORs的数量与多数研究者对其他物种的研究结果相同, 例如点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)^[25]、准噶尔雅罗鱼(*Leuciscus merzbacheri*)^[10]、圆斑星鲮(*Verasper variegatus*)^[22]、半滑舌鲮(*Cynoglossus semilaevis*)^[23]等。根据Amemiya^[26]等提出的具有1对NORs且位于染色体端部的脊椎动物属于原始类群, 故判断黄条鲮NORs的特征也属于原始类群, 与C带结果相吻合。Ag-NORs是鱼类比较常见且成熟的一项显带技术, Ag-NORs主要存在于染色体上的次缢痕部位, 染色体银染区域代表核糖体基因的多拷贝集群所在地, 具有转录活性^[10, 27]。在脊椎动物中Ag-NORs通常存在于有次缢痕染色体的短臂上, 许多研究报道了次缢痕与核仁组织者的对应关系^[28]。本研究的银染结果表明, 黄条鲮的一对Ag-NORs位于第5对染色体的端部, 这与史宝等^[8]在黄条鲮染色体核型研究中发现随体和次缢痕出现在第1对染色体上的结果有一定的差异, 分析其原因, 本研究中观察到银染核型的第5对染色体端部有略微弯曲, 可能由此造成染色体长度测量时出现误差, 导致其排列位置相对靠后。今后应再做重复实验, 以确认黄条鲮的次缢痕与核仁组织区是否准确对应。

3.3 黄条鲮染色体G带带型

国内对于鱼类染色体带型研究多集中在C带和Ag-NORs的形态特征方面, 对G带形态特征研究报道较少^[22-23]。本研究分析了黄条鲮染色体G带形态特征, 获得了分散良好的染色体中期G带分裂相和G带核型, 以及带纹清晰的G带模式图, 完成了黄条鲮染色体G带的数量、大小、分布、染色深浅等形态特征分析。结果表明,

同源染色体G带带纹大小和位置基本吻合,非同源染色体G带带纹大小和带纹的位置不尽相同。全部染色体都有不同数量的G带带纹,无整条染色体显示深染G带或浅染G带。

关于G带的理想结果较少,主要是因为其重复性较差,带纹不稳定,造成这种现象的原因可能与实验方法和实验条件的把控有关。如果蛋白酶消化时间过长,染色体呈现空泡状;时间过短则消化过弱,无法显现G带带纹。王昌留在文昌鱼的研究中得到的结果中具有较多的可变带,在圆斑星鲈G带研究中,在33~37℃,处理5~7 min的条件下,也未得到理想的结果。在本研究中对黄条鲮的G带显带处理条件做了一定的调整,使用0.3%EDTA配制胰蛋白酶,37℃条件下消化3 min,用10%Giemsa染液染色8 min,取得了较好的结果。G带的显现同时与样品的老化相关,片龄过长的片子在显色过程中无法正常着色,造成带纹模糊;而老化时间不足的,酶切后染色体上带纹较少^[29]。在本研究中,对核型样品先在66℃烘箱中老化2 h,再进行消化酶处理,得到了带纹清晰的G带分裂相。随染色体长度的增加,带纹数目也增加,当染色体缩短时,因带纹融汇引起数目减少,因此获得较长的染色体是提高其分辨率的主要途径^[30]。本研究处理多个不同的样品,观察100多个G带分裂相;其中染色体伸展良好,则带型比较清晰且带纹宽;另外一些染色体伸展差的,则带纹的数量偏少且带纹窄。

染色体经过酶处理后,蛋白质被水解而使DNA分子中碱基暴露。由于碱基中G/C和A/T组合的比例不同,对染料结合的程度不同,如果某段A/T碱基成分多,则Giemsa染料易与其结合,则染色深;若G/C碱基成分多,则Giemsa染料不易与其结合,结果呈淡染^[31]。即在G带深染区富含A-T碱基对,而G带浅染区富含G-C碱基对。结合上述原理并根据同源染色体的带纹相同的特征,本研究将黄条鲮染色体G带带纹宽窄、数目等一致的染色体进行比对配对,获得了较好的黄条鲮G带核型,为今后开展黄条鲮细胞遗传学特性、染色体基因定位及染色体多态性的分析奠定基础。

参考文献:

[1] Yang S G, Ji S C, Lim S G, *et al.* Management of sexual

maturation and natural spawning of captive-reared yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*, in an indoor rearing tank[J]. *Development & Reproduction*, 2016, 20(2): 141-147.

[2] Yang S G, Hur S W, Ji S C, *et al.* Morphological development of embryo, larvae and juvenile in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*[J]. *Development & Reproduction*, 2016, 20(2): 131-140.

[3] 钟建兴,蔡良候,郑惠东,等.黄条鲮胚胎发育观察[J].福建水产,2010,32(2):22-25.

Zhong J X, Cai L H, Zheng H D, *et al.* Embryonic development in *Seriola aureovittata*[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2010, 32(2): 22-25(in Chinese).

[4] 李荣,徐永江,柳学周,等.黄条鲮(*Seriola aureovittata*)形态度量与内部结构特征[J].渔业科学进展,2017,38(1):142-149.

Li R, Xu Y J, Liu X Z, *et al.* Morphometric analysis and internal anatomy of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 142-149(in Chinese).

[5] 柳学周,徐永江,李荣,等.黄条鲮(*Seriola aureovittata*)肌肉营养成分分析与评价[J].渔业科学进展,2017,38(1):128-135.

Liu X Z, Xu Y J, Li R, *et al.* Analysis and evaluation of nutritional composition of the muscle of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 128-135(in Chinese).

[6] Sepúlveda F A, Torres J F, Infante C D, *et al.* Potential role of ectoparasites (*Zeuxapta seriolae* and *Caligus lalandei*) in the transmission of pathogenic bacteria in yellowtail kingfish *Seriola lalandi*, inferred from cultivable microbiota and molecular analyses[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2017, 40(7): 979-985.

[7] Garcia A B, Partridge G J, Flik G, *et al.* Ambient salinity and osmoregulation, energy metabolism and growth in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833) in a recirculating aquaculture system[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(11): 2789-2797.

[8] 史宝,刘永山,柳学周,等.黄条鲮(*Seriola aureovittata*)染色体核型分析[J].渔业科学进展,2017,38(1):136-141.

Shi B, Liu Y S, Liu X Z, *et al.* Study on the karyotype of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 136-141(in Chinese).

- [9] Braasch I, Gehrke A R, Smith J J, *et al.* The spotted gar genome illuminates vertebrate evolution and facilitates human-teleost comparisons[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(4): 427-437.
- [10] 王佳君, 胡文革, 孔磊. 准噶尔雅罗鱼染色体核型及带型的初步研究[J]. *动物学杂志*, 2010, 45(6): 120-126.
Wang J J, Hu W G, Kong L. Karyotype and banding pattern of *Leuciscus merzbacheri*[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, 45(6): 120-126(in Chinese).
- [11] 卓孝磊, 邹记兴. 我国海水鱼类核型及染色体显带研究进展[J]. *热带海洋学报*, 2007, 26(5): 73-80.
Zhuo X L, Zou J X. Advances in karyotype and chromosome banding studies of marine fish in China[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2007, 26(5): 73-80(in Chinese).
- [12] Karagyan G, Lachowska D, Kalashian M. Karyotype analysis of four jewel-beetle species (Coleoptera, Buprestidae) detected by standard staining, C-banding, AgNOR-banding and CMA3/DAPI staining[J]. *Comparative Cytogenetics*, 2012, 6(2): 183-197.
- [13] Howell W M, Black D A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method[J]. *Experientia*, 1980, 36(8): 1014-1015.
- [14] 王蕊芳, 施立明, 贺维顺. 几种鲤鱼染色体核仁组织者的银染观察[J]. *动物学研究*, 1985, 6(4): 391-398.
Wang R F, Shi L M, He W S. Studies on nucleolus organizer regions in several species of carp (*Cyprinus*) by silver-staining[J]. *Zoological Research*, 1985, 6(4): 391-398(in Chinese).
- [15] 牟洪善, 王昌留, 李金萍. 青岛文昌鱼(*Branchiostoma belcheri tsingtauense*)染色体G类带型研究[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(4): 597-602.
Mu H S, Wang C L, Li J P. Studies on the G-Type chromosomal patterns of amphioxus *Branchiostoma belcheri tsingtauense*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(4): 597-602(in Chinese).
- [16] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin[J]. *Experimental Cell Research*, 1972, 75(1): 304-306.
- [17] 郭明兰, 游欣欣, 苏永全, 等. 川纹笛鲷染色体核型、银染和C-带[J]. *热带海洋学报*, 2011, 30(1): 91-95.
Guo M L, You X X, Su Y Q, *et al.* Studies on chromosome karyotype, Ag-NORs and C-banding patterns of *Lutjanus sebae*[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2011, 30(1): 91-95(in Chinese).
- [18] Shi L M, Ye Y Y, Duan X S. Comparative cytogenetic studies on the red muntjac, Chinese muntjac, and their F1 hybrids[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1980, 26(1): 22-27.
- [19] Miklos G L G, Gill A C. Nucleotide sequences of highly repeated DNAs; Compilation and comments[J]. *Genetics Research*, 1982, 39(1): 1-30.
- [20] Rocco L, Morescalchi M A, Costagliola D, *et al.* Karyotype and genome characterization in four cartilaginous fishes[J]. *Gene*, 2002, 295(2): 289-298.
- [21] Schmid M, Haaf T, Steinlein C, *et al.* Chromosome banding in Amphibia. XXV. Karyotype evolution and heterochromatin characterization in Australian *Mixophyes* (Anura, Myobatrachidae)[J]. *Cytogenetic and Genome Research*, 2002, 97(3-4): 239-253.
- [22] 王妍妍, 柳学周, 刘新富, 等. 圆斑星鲈染色体与多种显带的形态特征分析[J]. *水产学报*, 2011, 35(11): 1607-1616.
Wang Y Y, Liu X Z, Liu X F, *et al.* Analysis of the karyotype and banding patterns of *Verasper variegatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(11): 1607-1616(in Chinese).
- [23] 庄志猛. 半滑舌鲷早期发育生物学与种质资源研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
Zhuang Z M. Developmental biology in the early life stages and genetic diversity of the tonguefish (*Cynoglossus semilaevis*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006 (in Chinese).
- [24] 常重杰, 杜启艳, 余其兴. 泥鳅的Ag-NORs带和C带研究[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2000, 28(2): 71-73.
Chang Z J, Du Q Y, Yu Q X. Studies on the Ag-NORs and C-banding of *Misgurnus auguillicaudatus*[J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science)*, 2000, 28(2): 71-73(in Chinese).
- [25] 邹记兴, 余其兴, 周菲. 点带石斑鱼的核型、C带、Ag-NORs[J]. *水产学报*, 2005, 29(1): 33-37.
Zou J X, Yu Q X, Zhou F. The karyotypes, C-bands patterns and Ag-NORs of *Epinephelus malabaricus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(1): 33-37(in Chinese).
- [26] Amemiya C T, Gold J R. Cytogenetic studies in North American minnows (Cyprinidae): XVII. Chromosomal

- NOR phenotypes of 12 species, with comments on cytosystematic relationships among 50 species[J]. *Hereditas*, 1990, 112(3): 231-247.
- [27] Wu D, Zhang S C, Zhang Z M, *et al.* C-banding pattern and nucleolar organizer regions of *Cynoglossus semilaevis* Gunther, 1873[J]. *Progress in Natural Science*, 2006, 16(7): 769-772.
- [28] Neto C C M, Cioffi M Belo, Bertollo L A C, *et al.* Molecular cytogenetic analysis of Haemulidae fish (Perciformes): Evidence of evolutionary conservation[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 407(1): 97-100.
- [29] 周菲, 赵刚, 刘江东, 等. 斑马鱼二价体制备与多重带显带的方法学探讨[J]. *遗传学报*, 2004, 31(5): 474-479. Zhou F, Zhao G, Liu J D, *et al.* Advanced methods of preparing pachytene bivalents and high resolution multiple bands of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(5): 474-479(in Chinese).
- [30] 高丽君, 宋芳, 周立社, 等. 不同来源胰蛋白酶对染色体G显带的影响[J]. *包头医学院学报*, 2006, 22(1): 77-78.
- [31] Chuprevich T W, Meisner L F, Inhorn S L. Mechanism of trypsin chromosome banding[J]. *Lancet*, 1973, 301(7801): 484.

Analysis of the banding patterns of *Seriola aureovittata*

LIU Yongshan^{1,2}, LIU Xuezhou^{1,2*}, SHI Bao¹, XU Yongjiang¹, LI Rong³,
LU Yongjun³, SONG Xuesong^{1,2}, WANG Bin¹, JIANG Yan¹

(1. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,
Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Yellow Sea Fisheries Research Institute,
Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Dalian Fugu Fishery Co., Ltd., Dalian 116400, China)

Abstract: Chromosome banding pattern study is a useful tool in exploring evolutionary mechanisms of fish because it provides basic information on the banding number, size and morphology of chromosomes. Up to now, there has been no report on chromosome banding patterns in fishes. In order to understand the morphological characteristics of chromosome banding pattern and germplasm resources of *Seriola aureovittata*, we injected phytohemagglutinin (PHA) and colchicine, collected all the head kidney cells of one-year-old fish artificially bred from wild broodstock along the Dalian coast of China. The chromosomal division phase was prepared by low osmotic treatment, Kano's liquid fixation, air drying and Giemsa staining. We used different methods to deal with these three patterns. We investigated the banding features and morphological characteristics of multiple chromosomes banding pattern (C-banding, G-banding and Ag-NORs). Results show that (1) All of the 48 chromosomes have C-banding. The C-banding of *S. aureovittata* were located mainly in the centromere regions of chromosomes. The 2nd, 4th, 5th, 16th, 18th and 19th pairs of chromosomes show positive C-banding in the terminal region. However, chromosomes do not show entire positive and middle C-banding. According to the length of the C-band, the amount of heterochromatin calculated is 31.53%. (2) The Ag-NORs polymorphisms were specific in this fish. The silver staining spots were 1-2 in interphase nucleus. The number of Ag-NORs was mostly 2. A pair of nucleolar organizer regions was found on the 5th pair of chromosomes in the terminal region. (3) The size and location of G-banding are same in homologous chromosomes, but they are not same in the non-homologous chromosomes. Every chromosome has different amounts of darkly stained and faintly stained bands. There is no entire chromosome showing darkly stained or faintly stained G-banding. The 24 pairs of chromosomes have different G-banding features in the quantity, size, location and depth of staining; Statistics showed that there were 118 G bands in the chromosome of *S. aureovittata*, including 70 positive bands and 48 negative bands. The study of banding pattern of chromosomes can be used to understand the law of genetic variation, genetic composition, development mechanism and genetic mechanism of sex. It also has important reference value for determining the number of the genome, the origin of the species, the relationship of each other, the status of evolution, and the classification of the organisms.

Key words: *Seriola aureovittata*; chromosome; C-banding; G-banding; Ag-NORs

Corresponding author: LIU Xuezhou. E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

Funding projects: Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, Chinese Academy of Fishery Sciences (2017GH052018GH172016PT07); The Qingdao Public Health Science and Technology Program (17-3-3-61-nsh); Projects of International Exchange and Cooperation in Agriculture; Shandong Provincial Key Project of Research and Development Plan (2018GHY115044); China Agriculture Research System (CARS-47)