

doi: 10.7541/2014.15

太平洋鳕染色体核型及银染分析

范 瑞 姜志强 李雅娟 高小强 钱 聪 高 敏

(大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室, 大连 116023)

摘要: 以野生太平洋鳕为材料, 采用植物血球凝集素(PHA)及秋水仙素体内注射法, 取头肾细胞经低渗、固定后, 常规空气干燥法制备染色体标本, 并对其染色体核型进行了分析。结果表明, 太平洋鳕的二倍体染色体数目为 $2n=46$, 核型公式为: $2n=8m+6sm+20st+12t$, $NF=60$, 即有 4 对中部着丝点染色体、3 对亚中部着丝点染色体、10 对亚端部着丝点染色体和 6 对端部着丝点染色体, 染色体臂数为 $NF=60$; 染色体经银染后, Ag-NORs 在不同间期细胞中表现出多态性, 数目为 1—3, 其中 2 个 Ag-NORs 的频率最高(82%); 在分裂相中, 具有 1 个 Ag-NORs 的频率最高(87.1%), 且在第 12 对亚端部着丝点染色体的一条带有明显的次缢痕, 为 Ag-NORs 所在区域, 并未发现 Ag-NORs 联合现象及性别相关的异型染色体。

关键词: 太平洋鳕; 染色体; 核型; 银染

中图分类号: Q343.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2014)01-0115-06

近年来, 由于我国海水鱼类资源过度利用以及环境污染等问题, 加快了海水鱼类资源的衰退, 再加上近亲繁殖严重, 遗传多样性降低, 造成了一系列种质退化现象, 因此, 鱼类种质资源的开发及改良尤为重要。太平洋鳕(*Gadus macrocephalus*)又名大头鳕, 隶属鳕形目、鳕科、鳕属(*Gadus*), 属冷水性底层鱼类, 分布于太平洋北部沿岸海域, 从北太平洋西南部的黄海, 经韩国至白令海峡和阿留申群岛一带沿海, 我国太平洋鳕主要产于黄海, 最高年产量达到 2.6×10^7 kg, 是我国北方乃至世界的重要海洋经济鱼类之一。太平洋鳕具有很高的经济价值, 它的蛋白质含量高, 脂肪含量低, 其肉质白细鲜嫩, 清口不腻, 世界上不少国家把鳕鱼作为主要食用鱼类^[1]。除鲜食外, 还加工成各种水产食品, 此外鳕鱼肝大而且含油量高, 含丰富的维生素 A 和 D, 是提取鱼肝油的原料。另外, 太平洋鳕生长温度低, 耐严寒, 生长耗能少, 对于弥补我国北方冬季深水网箱养殖种类缺乏及室内工厂化养殖品种的选择提供了新的思路, 但是由于近年来太平洋鳕过度捕捞、环境污染严重、产卵地的破坏等使

其产量大幅度降低, 严重威胁了其种群资源。因此, 积极开展太平洋鳕的人工育苗与养殖对太平洋鳕种质资源的恢复及北方深水网箱的有效利用具有重大意义。目前, 国外对同属大西洋鳕研究的较多, Ghigliotti, *et al.*^[2] 研究表明大西洋鳕核型为 $16m/sm+30st/t$, 且通过荧光免疫杂交技术对染色体上 18S 和 5S rDNA 进行了定位研究, 为大西洋鳕遗传图谱的建立奠定了基础。Ghigliotti, *et al.*^[3] 通过静水压方法成功诱导了大西洋鳕雌核发育二倍体, 并进一步完善了大西洋鳕全雌化理论和性别决定机制。而有关太平洋鳕的研究主要集中在种群分布^[4, 5]、繁殖生物学^[6, 7]、早期发育^[8]以及遗传多样性^[9]等方面, 在细胞遗传学特别是染色体核型研究还较少, 而在国内关于太平洋鳕的研究也只是在繁殖及早期胁迫研究等方面, 如姜志强等^[10]对大连海域太平洋鳕的繁殖力、卵径分布、性腺指数和肝指数进行周年调查, 充分阐述了太平洋鳕不同发育阶段性腺发育特点和营养来源; 王伟等^[11]对不同温度胁迫下太平洋鳕仔稚鱼成活率及生理生化进行了研究, 结果表明培育温度为 8°C 时, 仔

收稿日期: 2012-11-09; 修订日期: 2013-09-18

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2012AA10A413)资助

作者简介: 范瑞(1987—), 女, 内蒙古呼和浩特人; 硕士; 主要从事鱼类生物学研究。E-mail: fanrui11dl@163.com

通信作者: 姜志强, 男, 教授; 主要从事鱼类生物学及鱼类养殖研究。E-mail: zhqjiang@dlou.edu.cn

稚鱼成活率最高, 15℃时最低, 且体内抗氧化还原酶系在温度胁迫下最先表现出变化, 其他方面几乎为空白。因此, 在本研究中, 作者对大连海域的太平洋鳕染色体核型进行了比较分析, 以期了解其遗传背景, 为开展太平洋鳕的人工育苗提供细胞遗传学参数, 也为其种群恢复、种质资源的开发、遗传育种及演化地位提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼采自辽宁省大连市黑石礁海区, 为性腺发育成熟的野生太平洋鳕, 共 5 尾(3♂, 2♀), 体质量为(520—990) g。活体运至实验室放置于 14℃海水充气暂养。

1.2 染色体的制备

样本前处理 参照林义浩^[12] PHA 直接注射法制备染色体标本。实验前一天注射 PHA(6 μg/g 鱼体重), 18h 后, 第二次注射 PHA 剂量同上, 5h 后活体腹腔注射 0.1%秋水仙素(6 μg/g 鱼体重)。

肾悬浮液的制备 注射秋水仙素 2.5h 后实验鱼断尾放血 15min, 取头肾置于生理盐水中多次冲洗, 弃去组织碎块并剪碎, 用纱布过滤细胞悬液至离心管中, 1500 r/min 离心 5min, 用生理盐水洗涤细胞 2 次, 再用 0.075 mol/L 的 KCl 溶液于低渗处理 30min, 最后用新鲜配制的卡诺氏液(甲醇: 冰醋

酸=3: 1 v/v)固定 3 次, 每次 15min。

制片 采用冷滴片法制片, 空气干燥过夜。完全干燥的染色体玻片用 pH 为 6.8 的磷酸缓冲液配置的体积分数为 10% 的 Giemsa 染色液染色 45min, 自然干燥后显微镜观察拍照。

核型分析 选取图像清晰、染色体分散较好的中期分裂相计数以确定染色体数目, 并选出 10 个染色体分散良好、形态清晰、长度适中的中期分裂相在油镜下进行显微照相、放大、测量、统计, 根据 Levan, *et al.*^[13] 的标准进行分类、配对和核型分析。染色体相对长度计算公式: 染色体相对长度=(实测长度/全部染色体长度总和)×100。

1.3 Ag-NORs 显带

参照 Howell, *et al.*^[14] 的快速银染法略加修改。将 50% AgNO₃ 溶液与 2% 明胶溶液(内含 1% 甲酸)以 2: 1 比例混合后, 立即均匀滴加到染色体标本上, 加盖玻片; 70℃处理 2—5min。当整张玻片呈棕黄色时取出, 用 70℃蒸馏水冲去盖玻片, 干燥后镜检。

2 结果

2.1 太平洋鳕体细胞染色体数目

本实验对 137 个分散良好、染色体形态清晰的中期分裂相进行计数。结果表明, 染色体数目为 46 的分裂相最多, 有 94 个, 占 68.61%(表 1), 由此可确定太平洋鳕二倍体染色体众数为 46, 即 2n=46。

表 1 太平洋鳕染色体中期分裂相的统计结果
Tab. 1 Chromosome numbers of *Gadus macrocephalus*

染色体数目 Number of chromosomes	≤41	42	43	44	45	46	47	≥48	总和 Sum
分裂相数目 Number of metaphase	9	7	3	13	7	94	2	2	137
所占百分比/% Percent of metaphase	6.57	5.11	2.19	9.49	5.11	68.61	1.46	1.46	100

2.2 染色体核型

选择分散良好, 形态清晰, 数目完整的染色体中期分裂相进行显微拍照, 测量其染色体臂长, 计算出染色体相对长度, 臂比并统计染色体类型。结果表明, 太平洋鳕染色体核型公式为: 2n=8m+6sm+20st+12t, NF=60, 即有 4 对中部着丝点染色体(m)、3 对亚中部着丝点染色体(sm)、10 对亚端部着丝点染色体(st)和 6 对端部着丝点染色体(t), 染色体臂数(NF)为 60(图 1、图 2)。在进行显微拍照的染色体中期分裂相中, 太平洋鳕染

色体的大小差异较大, 最大染色体相对长度为 6.53±0.11, 最小染色体相对长度为 2.37±0.03, 在第 12 对染色体中有 1 个亚端部着丝点染色体带有明显的次缢痕。雌鱼与雄鱼的染色体核型无明显差异, 未发现与性别相关的异型染色体。染色体核型分析数据见表 2。

2.2 Ag-NORs 带型

太平洋鳕银染位点清晰可见, 对中期分裂相 85 个, 间期核 50 个进行了统计分析, 太平洋鳕 Ag-NORs 的数目为 1—3, 在不同细胞中表现出多态

表 2 太平洋鳕各染色体的相对长度和臂比值
Tab. 2 The relative length and arm ratio of chromosomes of *Gadus macrocephalus*

染色体序号 Chromosome No.	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	6.53±0.11	1.26±0.03	m
2	5.41±0.12	1.12±0.02	m
3	5.28±0.04	1.67±0.01	m
4	4.78±0.23	1.53±0.02	m
5	5.45±0.01	2.44±0.02	sm
6	4.84±0.03	2.50±0.05	sm
7	3.99±0.03	2.70±0.03	sm
8	5.25±0.08	3.24±0.01	st
9	5.17±0.07	3.55±0.01	st
10	5.09±0.04	3.24±0.01	st
11	5.04±0.02	3.37±0.02	st
12	5.00±0.02	3.52±0.18	st
13	4.61±0.03	4.04±0.02	st
14	4.60±0.02	3.03±0.01	st
15	4.54±0.06	3.10±0.01	st
16	3.54±0.07	4.53±0.20	st
17	3.03±0.02	3.26±0.04	st
18	4.11±0.08	∞	t
19	3.85±0.03	∞	t
20	3.59±0.01	∞	t
21	3.25±0.00	∞	t
22	3.15±0.02	∞	t
23	2.37±0.03	∞	t

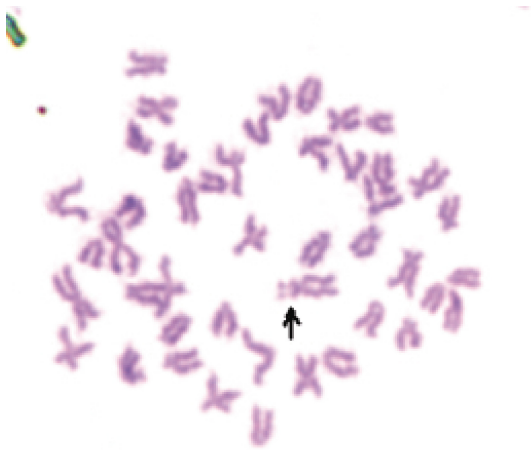


图 1 太平洋鳕染色体中期分裂相(箭头示次缢痕)
Fig. 1 Metaphase chromosomes of *Gadus macrocephalus*

性且各种数目的 Ag-NORs 出现的频率差异性较大; 在间期核中, 具有 2 个银染位点的比列最高, 占总个数的 82%, 1 个银染位点其次, 占总个数的 12%, 3 个银染位点的最少为 6%。在分裂期, 具有 1 个银染

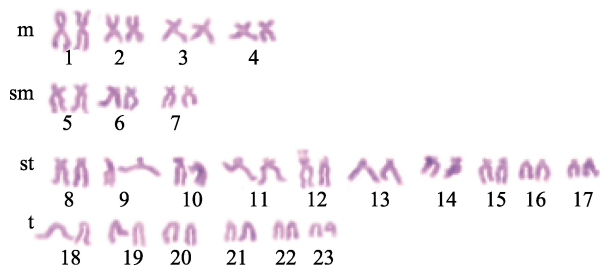


图 2 太平洋鳕染色体核型分析
Fig. 2 Karyotype of *Gadus macrocephalus*

位点的占 87.1%, 具有 2 个银染位点的占 12.9%。在多数中期分裂相中, 第 12 对同源染色体的一条近着丝粒次缢痕区具有明显的银染位点, 并没有发现 Ag-NORs 联合现象。

3 讨论

染色体作为遗传信息的载体, 对生物的进化、变异和生存都至关重要。在脊椎动物中, 开展鱼类染色体的研究不仅仅对认识和探索鱼类的分类系统、进化关系及染色体演化过程具有重要意义, 还

可为鱼类遗传育种提供细胞遗传学依据^[6,16]。到目前为止,已报道染色体核型的鳕科鱼类 8 种(包括本研究在内),隶属于 5 个属。由表 3 可知,鳕形目鳕科鱼类二倍体染色体数差异性较大($2n=26-48$),核型组成中中部和亚中部染色体相对较多,核型变化呈现多态性,且不具与性别相关的异型染色体。Klinkhardt 对鳕科鱼类的研究表明,鳕科各属之间核型的高度多态性,这暗示了染色体臂间倒位和罗伯逊易位可能是该类群鱼类核型进化的主要机制^[17]。Caputo, *et al.*^[18]研究表明鲱形目鱼类染色体数目及臂数的减少与染色体串联融合具有直接关系。由此可知,鳕科各属鱼类二倍体染色体数目差异及核型的多样性主要是染色体发生了不同程度的变异所导致的,即染色体结构在进化上发生了较大变化,表现出不保守性。

很多研究表明鱼类的进化程度与染色体有一定的关系。周瞰^[19]、小岛吉雄^[20]等均认为在鱼类系统进化上越是处于上位,染色体越收敛,端部着丝点染色体多,中部和亚中部染色体少或缺。如石斑鱼

亚科种类染色体大多数为端部着丝点染色体,染色体臂数少,典型的高位类鱼类^[21]。宽突鳕属和平头鳕属鱼类具有较多的中部或亚中部着丝粒染色体,端部着丝粒染色体少,因此,在鱼类系统演化上应属于低位类群,而其他鳕属鱼类均正好相反,则属于中高位类群;也有研究表明^[22],在特定的分类类群中,具有较多端部或亚端部着丝粒染色体的种类为原始类群,而具有较多中部或亚中部着丝粒染色体的是特化类群,即染色体臂数多的类群比染色体臂数少的类群更为特化。鳕属中太平洋鳕和大西洋鳕具有相同的染色体数目,但太平洋鳕具有相对较多端部或亚端部着丝粒染色体,且染色体臂数相对少,属于鳕属的原始类型,应该是鳕属鱼类演化过程中较早出现的鱼类。宽突鳕属的细身宽突鳕和宽突鳕在核型和染色体数目相一致,说明了种间进化的保守性和分类地位的一致性;青鳕和绿青鳕虽然属于同一属,但染色体数目、核型及臂数均不相同,主要是两个种群在进化过程中染色体发生了易位、倒位等重组现象,表现出了染色体的多态性。

表 3 十种鳕科鱼类的染色体特征

Tab. 3 Chromosome characteristics of 10 species in genus Gadidae

属名 Generic name	中文种名 Chinese name	拉丁文学名 Scientific name	二倍体染色体数 2n	核型 Karyotype	染色体臂数 NF	参考文献 References
宽突鳕属	细身宽突鳕	<i>Eleginus gracilis</i>	26	22m+4a	48	[23]
	宽突鳕	<i>Eleginus navaga</i>	26	22m+4a	48	[17]
鳕属	太平洋鳕	<i>Gadus macrocephalus</i>	46	8m+6sm+20st+12t	60	本研究
	大西洋鳕	<i>Gadus morhua</i>	46	16m/sm+30st/t	62	[2]
青鳕属	青鳕	<i>Pollachius pollachius</i>	38	10m+28a	48	[24]
	绿青鳕	<i>Pollachius virens</i>	40	10m+30a	50	[24]
平头鳕属	平头鳕	<i>Raniceps raninus</i>	48	30m+18a	78	[24]
狭鳕属	狭鳕	<i>Theragra chalcogramma</i>	44	10m+4st+30t	54	[23]

本实验中太平洋鳕核型为 $2n=46, 8m+6ms+20st+12t$, $NF=60$, Ghigliotti, *et al.*^[2]研究的同属种大西洋鳕 $2n=46, 16m/sm+30st/t$, $NF=62$, 两者具有相同的染色体数目, 1 对较大的中部着丝点染色体, 且均未发现有性别相关的异染色体, 核型组成上存在一定的差异。毛连菊等^[25]研究表明, 鱼类染色体臂间倒位可以使端部或亚端部着丝点染色体变为中部或亚中部着丝点染色体, 只改变染色体形态及总臂数, 不改变染色体数目。因此, 太平洋鳕和大西洋鳕核型的差异可能是发生了染色体臂间倒位。王祖熊等研究表明, 鱼类杂交育种中核型越相近, 杂交越

能成功^[26], 可见, 此研究对太平洋鳕与同属的大西洋鳕的杂交育种提供了理论依据, 为种质资源的开发提供了新的方向。

Ag-NORs 的数目、分布及形态特征是物种亲缘关系和染色体进化的指标, 且 Ag-NORs 通常分布在染色体次缢痕和随体区域^[27, 28], 有研究也指出, 核仁组织区是染色体上与核仁形成有关的区域, 位于染色体的次缢痕部位, 次缢痕是染色体上的一个缢缩的部位, 是核仁组织区所在的位置, 每种生物的染色体组中一般至少有一条或一对染色体上有次缢痕, 它可作为鉴定某条染色体的标志^[29, 30]。在本实

验中, 太平洋鳕第 12 对同源染色体中有 1 个亚端部着丝点染色体带有明显的次缢痕, 且次缢痕的大小、形态及位置与 Ag-NORs 的分析结果相吻合, 可见, 次缢痕所在的位置即为核仁组织区。有些鱼类在中期分裂相中, Ag-NORs 仅出现在同源染色体中的一条上, 称之为 NORs 的活性异形(NOR activity heteromorphism)^[31, 32]。在本实验中, 太平洋鳕大多数分裂期的同源染色体仅一条短臂末端发现了银染位点, 与上述结论相一致, 可见太平洋鳕的同源染色体表现出了 NORs 活性异形现象, 这也说明了在细胞有丝分裂过程中, 太平洋鳕染色体上的 rRNA 基因转录活性存在着差异性。

本实验也经过不断地摸索最终解决了太平洋鳕染色体制备过程中剂量和时间等问题, 得出最佳 PHA 处理剂量为 6 $\mu\text{g/g}$, 作用时间两次, 一共 23h, 秋水仙素剂量为 6 $\mu\text{g/g}$, 作用时间为 2.5h 时能获得大量的中期分裂相。

迄今, 对于鳕形目鱼类细胞遗传学研究仍旧相当匮乏, 对鳕鱼资源的开发仍有很大空间, 本文结果的提出为其他鳕科鱼的核型分析及系统进化提供了理论依据, 也为太平洋鳕人工繁育、遗传育种及种质资源的保护开发奠定了基础。

参考文献:

- [1] Jiang Z Q, Tan K F, Li W K. Identification of Aquatic Economic Animals and Plants in Liaoning Province [M]. Liaoning: Liaoning Science and Technology Press. 2011, 109 [姜志强, 谭克非, 李文宽. 辽宁省水生经济动植物图鉴. 辽宁: 辽宁科学技术出版社. 2011, 109]
- [2] Ghigliotti L, Fevolden S E, Cheng C H C, et al. Karyotyping and cytogenetic mapping of Atlantic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758) [J]. *Animal Genetics*, 2012, **43**(6): 746—752
- [3] Ghigliotti L, Bolla S L, Duc M, et al. Induction of meiotic gynogenesis in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) through pressure shock [J]. *Animal Reproduction Science*, 2011, **127**(1-2): 91—99
- [4] Kalchugin, P V, Zuenko, Yu I, Nuzhdin, V A. Specific features of distribution of juvenile Cod *Gadus macrocephalus* (Gadidae) in Peter the Great Bay [J]. *Journal of Ichthyology*, 2004, **44**(9): 752—756
- [5] Savin A B, Kalchugin P V. Seasonal distribution and migrations of Pacific cod *Gadus macrocephalus* (Gadidae) in the northwestern part of the sea of Japan and adjacent water areas [J]. *Journal of Ichthyology*, 2011, **51**(4): 291—305
- [6] Poltev Y N. Some issues related to reproduction of Pacific cod *Gadus macrocephalus* in waters of the eastern coast of the northern Kuril Islands and the southern extremity of Kamchatka [J]. *Journal of Ichthyology*, 2008, **48**(4): 345—355
- [7] Narimatsu Y, Ueda Y, Okuda T, et al. The effect of temporal changes in life-history traits on reproductive potential in an exploited population of Pacific cod, *Gadus macrocephalus* [J]. *Journal of Marine Science*, 2010, **67**(8): 1659—1666
- [8] Laurel B J, Hurst T P, Copeman L A, et al. The role of temperature on the growth and survival of early and late hatching Pacific cod larvae (*Gadus macrocephalus*) [J]. *Journal of Plankton Research*, 2008, **30**(9): 1051—1060
- [9] Stroganov A N, Orlov A M, Buryakova M E, et al. On genetic differentiation of the Pacific cod *Gadus macrocephalus* Tilesius, 1810 (Gadiformes: Gadidae) [J]. *Russian Journal of Marine Biology*, 2009, **35**(6): 490—493
- [10] Jiang Z Q, Zhang Z M, Zhao C, et al. The gonad development and nutrition source of Pacific cod *Gadus macrocephalus* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2012, **27**(4): 315—320 [姜志强, 张志明, 赵翀, 等. 太平洋鳕性腺发育及营养来源的初步研究. 大连海洋大学学报, 2012, **27**(4): 315—320]
- [11] Wang W, Jiang Z Q, Meng F P, et al. The effects of sharply changes in temperature on survival and indices of physiology and biochemistry in Pacific cod *Gadus macrocephalus* [J]. *Fisheries Science*, 2012, **31**(8): 463—466 [王伟, 姜志强, 孟凡平, 等. 急性温度胁迫对太平洋鳕仔稚鱼成活率、生理生化指标的影响. 水产科学, 2012, **31**(8): 463—466]
- [12] Lin Y H. A PHA injection method *in vivo* for the rapid obtainment of large numbers of metaphase figures from kidney cells of teleosts [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1982, **6**(3): 201—208 [林义浩. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法. 水产学报, 1982, **6**(3): 201—208]
- [13] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, **52**(2): 201—220
- [14] Howell M W, 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
- [15] Xu D D, You F, Lou B, et al. Comparative analysis of karyotype and C-banding in female and male *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(3): 552—557 [徐冬冬, 尤锋, 楼宝, 等. 条石鲷雌雄鱼核型及 C-带的比较分析. 水生生物学报, 2012, **36**(3): 552—557]
- [16] Zhang B, Wang X L, Yang C G, et al. Identification of the genetic sex of tonguefish (*Cynoglossus semilaevis*) by the method of the peripheral blood lymphocytic cell culture and chromosome preparation [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(3): 430—435 [张博, 王贤丽, 杨长庚, 等. 半滑舌鲷血淋巴细胞体外培养及其染色体制备在性别鉴定中的应用. 水生生物学报, 2011, **35**(3): 430—435]
- [17] Klinkhardt M B. Karyotypic divergence between species of Gadidae (Pisces, Gadiformes) [J]. *Cytobios*, 1994, **77**(3):

- 207—214
- [18] Caputo V R, Sorice R, Vitturi H, *et al.* Cytogenetic studies in some species of Scorpaeniformes (Teleostei: Percomorpha) [J]. *Chemistry Research*, 1998, **6**(4): 255—262
- [19] Zhou D. Study on chromosome in fish [J]. *Zoological Research*, 1984, **5**(S1): 38—51 [周敏. 鱼类染色体研究. 动物学研究, 1984, **5**(S1): 38—51]
- [20] 小岛吉雄. Fish Cell Genetics [M]. Lin Y H compile. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press. 1990, 8—33 [小岛吉雄. 鱼类细胞遗传学. 林义浩, 编译. 广州: 广东科技出版社. 1990, 8—33]
- [21] Ji H S, Zhou Y C, Cai Y, *et al.* The karyotype and Ag-NORs of Grouper *Epinephelus sexfasciatus* [J]. *Fisheries Science*, 2011, **30**(8): 463—466 [吉华松, 周永灿, 蔡岩, 等. 六带石斑鱼染色体核型和银染研究. 水产科学, 2011, **30**(8): 463—466]
- [22] Li S S. Fish cytotaxonomy [J]. *Biological Sciences Dynamic*, 1981, **2**: 8—15 [李树深. 鱼类细胞分类学. 生物科学动态, 1981, **2**: 8—15]
- [23] Kiyohiko I, Hiroshi Y. Chromosomes in three species of Gadidae (Pisces) [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1985, **51**(1): 25—28
- [24] Nygren A, Bergkist G, Windahl T, *et al.* Cytological studies in Gadidae (Pisces) [J]. *Hereditas*, 1974, **76**(2): 173—178
- [25] Mao L J, Li Y J. Karyotype analyses of five species of marine fishes [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2002, **17**(2): 108—113 [毛连菊, 李雅娟. 5种海水鱼类染色体的组型分析. 大连水产学院, 2002, **17**(2): 108—113]
- [26] Wang Z X, Zhang J X. Study on the incompatibility of fish hybridization [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1986, **10**(2): 171—179 [王祖熊, 张锦霞. 鱼类杂交不亲和性的研究. 水生生物学报, 1986, **10**(2): 171—179]
- [27] 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—94
- [28] Chen Y L, Wang Y, Wu W S, *et al.* Analysis of chromosome complement C-Banding and Ag-NORs of *Astronotus ocellatus* and *Pterophyllum scalare* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2005, **40**(6): 84—90 [陈友铃, 汪彦, 吴文珊, 等. 星丽鱼和天使鱼的核型及银染和C带. 动物学杂志, 2005, **40**(6): 84—90]
- [29] Li D. Study on karyotype and digestive physiology of *Platichthys stellatus pallas* [D]. Thesis for Master of Science. Ocean University of China, Qingdao. 2009 [李迪. 星突江鲈染色体核型和消化生理研究. 硕士学位论文, 中国海洋大学, 青岛. 2009]
- [30] Wang Y Y, Liu X Z, Xu Y J, *et al.* Study on chromosome banding patterns of *Verasper moseri* [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2011, **32**(4): 7—13 [王妍妍, 柳学周, 徐永江, 等. 条斑星鲈染色体带型研究. 渔业科学进展, 2011, **32**(4): 7—13]
- [31] Gold J R. Sliver staining and heteromorphism of chromosomal nucleolus organizer regions in North American cyprinid fishes [J]. *Copeia*, 1984, **10**(1): 133—139
- [32] Cao F J, Liu C W. Studies on karyotype and Ag-NOR banding of *Plectorhinchus cinctus* nad *Pletorhinchus pictus* [J]. *Journal Oceanography in Taiwan Strait*, 2008, **27**(1): 47—50 [曹伏君, 刘楚吾. 花尾胡椒鲷、胡椒鲷的染色体核型与Ag-NORs带研究. 台湾海峡, 2008, **27**(1): 47—50]

CHROMOSOME KARYOTYPIC ANALYSIS AND Ag-NORs OF PACIFIC COD *GADUS MACROCEPHALUS*

FAN Rui, JIANG Zhi-Qiang, LI Ya-Juan, GAO Xiao-Qiang, QIAN Cong and GAO Min

(Key Laboratory of North Mariculture, Ministry of Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: Lymphocytes were collected and utilized for Ag-staining to study the karyotype of wild Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*). The results showed that the diploid chromosome number of *Gadus macrocephalus* was $2n=46$, and their karyotype was composed of four pairs of metacentric chromosome, three pairs of submetacentric chromosome, ten pairs of subtelocentric chromosome, six pairs of telocentric chromosome, and 60 chromosome arms. Thus, the karyotypic formulae are $2n=46=8m+6sm+20st+12t$ and $NF=60$. The quantification of Ag-NOR sites in interphase/metaphase cells demonstrated the polymorphisms from one to three. In the interphase, the frequency of two Ag-NORs was 82%, and in the metaphase, 87.1% cells had one Ag-NOR. The secondary constriction was observed in the No.12 subtelocentric chromosome, where Ag-NORs located. No Ag-NORs combination and sex related heteromorphic chromosome were found in the current study.

Key words: *Gadus macrocephalus*; Chromosome; Karyotype; Ag-NORs