

# 泽蛙、日本林蛙、饰纹姬蛙不同地理居群的核型多样性

钱晓薇<sup>1</sup>, 朱睦元<sup>2</sup>

(1. 温州师范学院生物系, 浙江 温州 325027; 2. 浙江大学生命科学院, 杭州 310012)

**摘要:** 本文研究了温州地区的泽蛙、日本林蛙、饰纹姬蛙的核型, 并分析了 9 个地理居群泽蛙的核型、4 个地理居群日本林蛙的核型和 3 个地理居群饰纹姬蛙的核型。结果表明, 不同地理居群的同种蛙均有相同的染色体数和核型模式。泽蛙、日本林蛙都为  $2n = 26$ ,  $NF = 52$ , 核模式  $5 + 8$ , 饰纹姬蛙  $2n = 24$ ,  $NF = 48$ , 核模式  $6 + 6$ 。但同一种蛙的不同地理居群之间在 SM 数目和顺序、次缢痕或随体的位置等都有所不同, 说明不同地理居群的同种蛙的染色体具有丰富的多样性。故保护蛙品种资源多样性, 不仅要整个群体上考虑, 而且要针对每个品种(或类群)进行保护。

**关键词:** 泽蛙; 日本林蛙指明亚种; 饰纹姬蛙; 染色体多样性

中图分类号: Q343; Q959.5<sup>+</sup>3

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)03-0144-05

## Karyotype Diversity of Different Geographical Population of *Rana limmocharis boie*, *Rana j. Japonica* and *Microhyla ornata*

QIAN Xiao-wei<sup>1</sup>, ZHU Mu-yuan<sup>2</sup>

(1. Department of Biology, Wenzhou Teachers College, Wenzhou 325027; 2. Life Science College, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** The karyotypes of *Rana limmocharis boie*, *Rana j. Japonica* and *Microhyla ornata* from Wenzhou were studied. The karyotypes of nine populations of *Rana limmocharis boie*, four populations of *Rana j. Japonica* and three populations of *Microhyla ornata* from different geographical regions were compared. The results demonstrated that the same species of different geographical populations have the same amount of chromosome and karyotypic formulae. *Rana limmocharis boie* and *Rana j. Japonica* have  $2n = 26$ ,  $NF = 52$  and  $5 + 8$  karyotypic formulae. *Microhyla ornata* has  $2n = 24$ ,  $NF = 48$  and  $6 + 6$  karyotypic formulae. But some dissimilarities were found among them. First the number and sequence of submetacentric chromosome were different among them, and then the secondary constriction (SC) or satellite (Sat) were also different. It was showed that the chromosomes of same species of different geographical population have diversities. Conservation of frog genetic diversity must be considered of not only the genetic diversity conservation of the total frog population but also that of every frog breed.

**Key words:** *Rana limmocharis boie*; *Rana j. Japonica*; *Microhyla ornata*; karyotype diversity

泽蛙(*Rana limmocharis boie*)、日本林蛙指明亚种(*Rana j. japonica*)、饰纹姬蛙(*Microhyla ornata*)均为无尾目动物。关于这 3 种蛙的核型国内外已有许多报道<sup>[1~13]</sup>, 不同产地的同种蛙的核型有异。关于温州地区的蛙报道甚少, 只有章菊明报道过温州产的虎纹蛙的核型<sup>[1]</sup>。为此作者研究了温州地区的泽蛙、日本林蛙以及饰纹姬蛙的核型, 并比较了同种蛙不同

地理居群的核型, 以揭示不同地理居群的同种蛙的染色体的差异程度, 为保护蛙资源提供一点资料。

### 1 材料与方 法

泽蛙、日本林蛙指名亚种均捕自温州师范学院校园, 饰纹姬蛙捕自温州火车站附近的农田。泽蛙 4♀6♂、日本林蛙 5♀7♂、饰纹姬蛙 6♀7♂。染色

体标本制作按常规骨髓细胞空气干燥法,秋水仙素的剂量为  $10\mu\text{g/g}$  体重,作用时间  $2\sim 5\text{h}^{[1]}$ 。每种蛙计数 100 个中期分裂相,并选择 10 个分散好、主缢痕、次缢痕清晰的分裂相进行拍照、放大,测量、计算染色体相对长度和臂比指数。按 Levan 等人提出的标准进行形态分类<sup>[2]</sup>: 臂比指数  $1.0\sim 1.7$  为中部着丝粒染色体 (M),  $1.7\sim 3.0$  为亚中着丝粒染色体 (SM),  $3.0\sim 7.0$  为亚端着丝粒染色体 (ST), 指数  $> 7.0$  为端着丝粒染色体 (T); 相对长度大于 9% 的为大型染色体组, 相对长度小于 7% 的为小型染色体组。

## 2 结果分析

### 2.1 不同地理居群泽蛙的核型

温州居群泽蛙体细胞均为  $2n = 26$ ,  $NF = 52$ 。

No1~5 为大型染色体, No6~13 为小型染色体。No3、4、8 均为 SM 染色体, 其余诸对概为 M 染色体(见表 1), 6p 上有 1 对明显的次缢痕(见图 1)。

温州居群:  $2n = 26(20M + 6SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 3、4、8 等 3 对为 SM, 其余诸对概为 M, 1 对次缢痕位于 6p 上。

日本福冈居群:  $2n = 26(22M + 4SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 4、8 等 2 对为 SM, 其余诸对概为 M, 1 对次缢痕位于 7p 上<sup>[3]</sup>。

日本奄美大岛居群:  $2n = 26(18M + 8SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 2、4、8、11 等 4 对为 SM, 其余诸对概为 M, 1 对次缢痕位于 7p 上<sup>[3]</sup>。

菲律宾居群:  $2n = 26(20M + 6SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 4、8、11 等 3 对为 SM, 其余诸对概为 M, 1 对次缢痕位于 9p 上<sup>[3]</sup>。

安徽居群:  $2n = 26(16M + 8SM + 2ST)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 6 为 ST, No 3、7、8、11 等 4 对为 SM, 其余均为 M, 1 对次缢痕位于 7p 上<sup>[4]</sup>。

四川成都居群:  $2n = 26(22M + 4SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 3、8 等 2 对为 SM, 其余均为 M, 1 对次缢痕位于 6p 上<sup>[5]</sup>。

四川峨眉山居群:  $2n = 26(22M + 4SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 4、8 等 2 对为 SM, 其余诸对均为 M, 1 对次缢痕位于 6p 上<sup>[3]</sup>。

广东居群:  $2n = 26(22M + 4SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 3、8 等 2 对为 SM, 其余均为 M, 1 对次缢痕位于 7p 上<sup>[6]</sup>。

福建居群:  $2n = 26(20M + 6SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 3、8、11 等 3 对为 SM, 其余均为 M, 2 对次缢痕位于 6p、7p 上<sup>[7]</sup>。

9 个居群均无与性别相关的异形染色体(见表 1)。

### 2.2 不同地理居群日本林蛙指明亚种的核型

温州居群日本林蛙指名亚种, 体细胞  $2n = 26$ ,  $NF = 52$ 。No1~5 为大型染色体, No6~13 为小型染色体。No3、8、11 为 SM 染色体, 其余诸对概为 M 染色体(见表 2), 7q、9p、11p 上各有 1 对明显的次缢痕(见图 1)。

表 1 不同居群泽蛙的核型数据

	温州(本文)			日本福冈 <sup>[3]</sup>	日本奄美大岛 <sup>[3]</sup>	菲律宾 <sup>[3]</sup>	安徽 <sup>[4]</sup>	四川成都 <sup>[5]</sup>	四川峨眉山 <sup>[3]</sup>	广东 <sup>[6]</sup>	福建 <sup>[7]</sup> *
	RL	AR	LC	LC	LC	LC	LC	LC	LC	LC	LC
1	14.38 ± 0.76	1.14 ± 0.07	M	M	M	M	M	M	M	M	M
2	12.26 ± 0.46	1.48 ± 0.17	M	M	SM	M	M	M	M	M	M
3	11.00 ± 0.49	1.94 ± 0.18	SM	M	M	M	SM	SM	M	SM	SM
4	10.51 ± 0.86	1.70 ± 0.21	SM	SM	SM	SM	M	M	SM	M	M
5	9.57 ± 0.52	1.27 ± 0.13	M	M	M	M	M	M	M	M	M
6	6.09 ± 0.52	1.38 ± 0.18	M	M	M	M	ST	M	M	M	M
7	5.86 ± 0.60	1.18 ± 0.13	M	M	M	M	SM	M	M	M	M
8	5.76 ± 0.22	2.20 ± 0.16	SM	SM	SM	SM	SM	SM	SM	SM	SM
9	5.71 ± 0.63	1.35 ± 0.13	M	M	M	M	M	M	M	M	M
10	4.90 ± 0.30	1.24 ± 0.10	M	M	M	M	M	M	M	M	M
11	4.70 ± 0.39	1.69 ± 0.35	M	M	SM	SM	SM	M	M	M	SM
12	4.57 ± 0.34	1.45 ± 0.18	M	M	M	M	M	M	M	M	M
13	4.24 ± 0.42	1.15 ± 0.09	M	M	M	M	M	M	M	M	M

RL 相对长度(Relative length); AR 臂比值(Arm ratio); LC 着丝粒位置(Location of centromere)

表 2 不同居群的日本林蛙指明亚种的核型数据

	温州(本文)			峨眉山 <sup>[11]</sup>			杭州 <sup>[10]</sup>			日本 <sup>[8,9]</sup>
	RL	AR	LC	RL	AR	LC	RL	AR	LC	LC
1	13.45±0.99	1.14±0.06	M	15.01±0.78	1.29±0.06	M	13.19±0.19	1.07±0.02	M	M
2	11.17±0.62	1.49±0.21	M	12.70±0.71	1.77±0.16	SM	12.33±0.33	1.48±0.03	M	M
3	10.33±0.51	1.96±0.17	SM	11.66±0.69	2.31±0.36	SM	10.88±0.16	1.77±0.06	SM	SM
4	10.26±0.49	1.36±0.15	M	10.79±0.59	1.34±0.23	M	10.70±0.23	1.26±0.04	M	M
5	9.39±0.59	1.29±0.16	M	9.60±0.68	1.36±0.15	M	9.56±0.21	1.37±0.05	M	M
6	6.57±0.52	1.20±0.08	M	6.28±0.28	1.26±0.10	M	6.42±0.13	1.63±0.16	M	M
7	6.18±0.49	1.55±0.22	M	5.58±0.48	3.14±0.47	ST	5.89±0.11	2.43±0.21	SM	SM
8	6.07±0.54	2.47±0.40	SM	5.32±0.44	1.33±0.08	M	5.85±0.13	1.24±0.04	M	M
9	6.01±0.44	1.22±0.09	M	5.09±0.37	2.13±0.25	SM	5.46±0.16	3.82±0.40	ST	SM
10	5.42±0.32	1.24±0.19	M	4.78±0.34	1.20±0.12	M	5.28±0.23	2.22±0.24	SM	ST
11	5.32±0.31	1.88±0.27	SM	4.66±0.37	1.66±0.23	M	5.04±0.13	1.31±0.11	M	M
12	5.28±0.34	1.22±0.10	M	4.43±0.38	1.92±0.31	SM	4.92±0.13	2.13±0.22	SM	SM
13	4.57±0.29	1.31±0.17	M	4.08±0.37	1.32±0.22	M	4.52±0.14	1.18±0.09	M	SM

温州居群:  $2n = 2(20M + 6SM)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 3、8、11 等 3 对为 SM, 其余诸对概为 M。7q、9p、11p 上各有 1 对明显的次缢痕。

日本居群:  $2n = 2(14M + 10SM + 2ST)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 10 为 ST, No 3、7、9、12、13 等 5 对为 SM, 其余诸对概为 M。7q、9q 上各有 1 对次缢痕<sup>[8,9]</sup>。

杭州居群:  $2n = 2(16M + 8SM + 2ST)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 9 为 ST, No 3、7、10、12 等 4 对为 SM, 其余诸对概为 M。2p、3p、4p、5p、和 6q、7q 上各有 1 对次缢痕<sup>[10]</sup>。

峨眉山居群:  $2n = 2(16M + 8SM + 2ST)$ ,  $NF = 52$ ,  $5 + 8$  模式。No 7 为 ST, No 2、3、9、12 等 4 对为 SM, 其余

诸对概为 M。7q、11q 上各有 1 对次缢痕<sup>[11]</sup>, 见表 2。

### 2.3 不同地理居群饰纹姬蛙的核型

温州居群饰纹姬蛙体细胞  $2n = 24$ ,  $NF = 48$ 。No 1~6 为大型染色体, No 7~12 为小型染色体。No 4 为 SM, 其余诸对概为 M (见表 3), 3p 上有 1 对明显的次缢痕 (见图 1)。

以上 3 种蛙雌雄个体之间均未发现异型染色体。

温州居群:  $2n = 2(22M + 2SM)$ ,  $NF = 48$ ,  $6 + 6$  模式。No 4 为 SM, 其余各对均为 M。3p 上有 1 对次缢痕。四川居群:  $2n = 2(22M + 2SM)$ ,  $NF = 48$ ,  $6 + 6$  模式。No 3 为 SM, 其余诸对概为 M。未见次缢痕存在<sup>[12]</sup>。福

表 3 不同居群饰纹姬蛙的核型数据

	温州(本文)			四川 <sup>[12]</sup>			福州 <sup>[13]</sup>		
	RL	AR	LC	RL	AR	LC	RL	AR	LC
1	13.17±0.94	1.18±0.11	M	14.7±0.28	1.2±0.04	M	13.6±0.58	1.19±0.08	M
2	12.24±0.28	1.14±0.09	M	12.4±0.66	1.3±0.16	M	12.1±0.45	1.34±0.13	M
3	11.04±0.85	1.25±0.04	M	11.6±0.44	2.7±0.36	SM	10.8±0.80	2.28±0.32	SM
4	9.98±0.89	2.08±0.05	SM	11.1±0.39	1.4±0.13	M	10.7±0.75	1.37±0.22	M
5	8.78±0.36	1.20±0.16	M	9.3±0.36	1.3±0.15	M	9.1±0.45	1.19±0.14	M
6	8.49±0.42	1.05±0.14	M	8.4±0.33	1.2±0.06	M	8.3±0.50	1.14±0.12	M
7	6.33±0.38	1.52±0.20	M	6.3±0.28	1.6±0.27	M	6.7±0.29	1.68±0.21	M
8	6.31±0.28	1.46±0.36	M	5.9±0.17	1.5±0.30	M	6.4±0.41	1.41±0.19	M
9	6.22±0.25	1.32±0.16	M	5.8±0.23	1.6±0.21	M	5.9±0.41	1.53±0.12	M
10	5.94±0.22	1.50±0.18	M	5.5±0.29	1.3±0.09	M	5.8±0.39	1.26±0.15	M
11	5.90±0.13	1.21±0.24	M	5.3±0.39	1.4±0.33	M	5.5±0.35	1.44±0.15	M
12	5.61±0.18	1.29±0.09	M	4.6±0.29	1.2±0.05	M	5.2±0.32	1.13±0.06	M

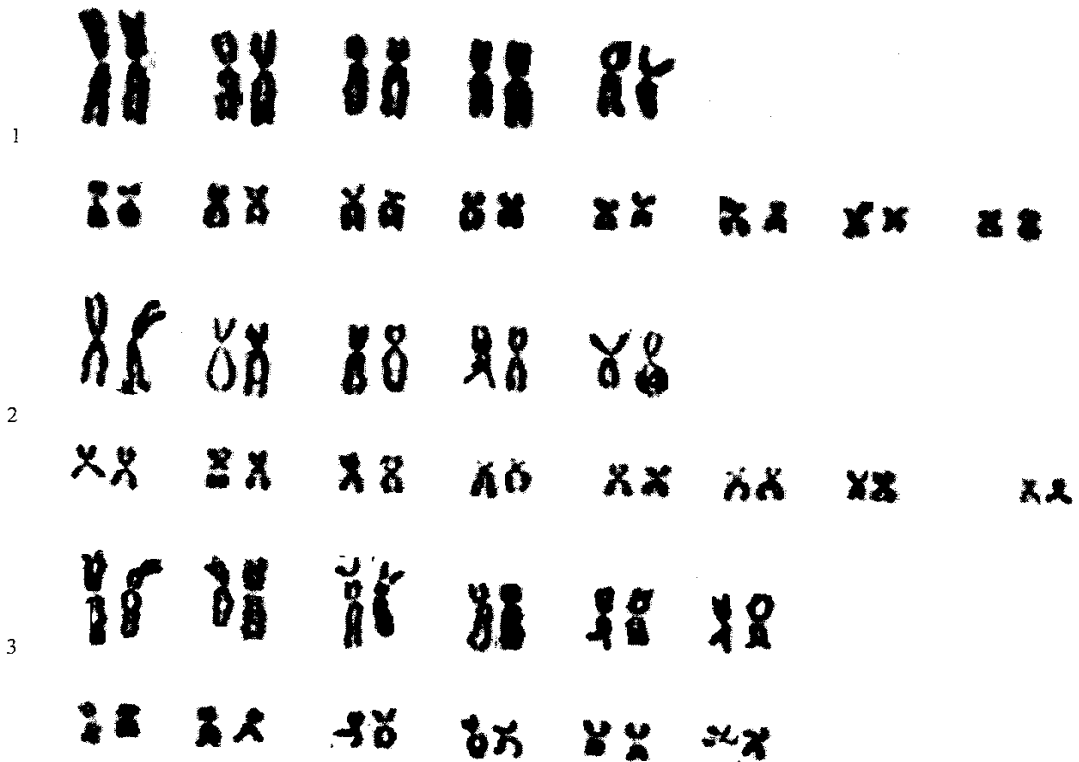


图 1 温州产三种蛙的染色体组型

1. 泽蛙; 2. 日本林蛙; 3. 饰纹姬蛙。

州居群:  $2n = 24(22M + 2SM)$ ,  $NF = 48$ ,  $6+6$  模式。  
No3 为 SM, 其余诸对都为 M (见表 3)。9q 上有 1 对明显次缢痕, 3q 上有时出现 1 个次缢痕 (即其中一条具次缢痕)<sup>[13]</sup>。

### 3 讨 论

#### 3.1 泽蛙染色体多样性

从表 1 可以看出 9 个不同地理居群的  $2n$  均为 26、核型模式  $5+8$ 、 $NF = 52$ , 都由双臂染色体组成, 这些是相同的方面。但是相互间在 SM 的数目、顺序、次缢痕等方面都存在着一定的差异。在这 9 个群居中 No1、5、9、10、12、13 均 M, No8 均为 SM。只有日本奄美大岛居群的 No2 为 SM, 其余 8 个居群的 No2 均为 M; 温州、安徽、四川成都、广东、福建等 5 个居群的 No3 为 SM, 其余 4 个居群的 No3 均为 M; 温州、日本福冈、日本奄美大岛、菲律宾、四川峨眉山等 5 个居群的 No4 为 SM, 其余 5 个居群的 No4 均为 M; 只有安徽居群的 No6、No7 分别为 ST、SM, 其余 8 个居群的 No6、No7 均为 M; 日本奄美大岛、菲律宾、安徽、福建等 4 个居群的 No11 均为 SM, 其余 5 个居群的 No11 均为 M。9 个居群中, 只有福建居群有 2 对次缢痕,

分别位于 6p 和 7p 上, 其余 8 个居群均只有 1 对次缢痕; 其中温州、四川成都、四川峨眉山 3 个居群的 1 对次缢痕在 6p 上; 日本福冈、日本奄美大岛、安徽、广东等 4 个居群的 1 对次缢痕在 7p 上; 菲律宾居群的 1 对次缢痕在 9p 上。

#### 3.2 日本林蛙指名亚种染色体多样性

从表 2 可以看出, 四个不同地理居群的  $2n$  均为 26、核型模式  $5+8$ 、 $NF = 52$ , 都由双臂染色体组成。4 个居群的 No1、4、5、6 均为 M, No3 均为 SM。峨眉山居群的 No2 为 SM, 其余 3 个居群的 No2 均为 M。杭州、日本居群的 No7 为 SM, 而峨眉山、温州居群的 No7 分别为 ST、M。峨眉山、杭州、日本居群的 No8、11 都为 M, 温州居群的 No8、11 为 SM; 峨眉山、杭州、日本居群的 No12 均为 SM, 温州的 No12 为 M。峨眉山、日本居群的 No9 为 SM, 杭州、温州居群的 No9 分别为 ST、M。峨眉山、温州居群的 No10 为 M, 杭州、日本居群的 No10 分别为 SM、ST。峨眉山、杭州、温州居群的 No13 均为 M, 日本居群的 No13 为 SM。温州居群有 3 对次缢痕, 分别位于 7q、9p 和 11p; 峨眉山、日本居群各有两对次缢痕, 分别位于 7q 和 11q、7q 和 9q 上<sup>[8, 11]</sup>; 杭州居群有 6 对次缢痕, 分别位于 2p、3p、4p、5p、6q、7q

上<sup>[10]</sup>。

### 3.3 饰纹姬蛙染色体多样性

从表 3 可知 3 个不同地理居群的  $2n$  都为 24, 核型模式  $6+6, NF=48$ , 都由双臂染色体组成。3 个居群都有 1 对 SM 染色体和 11 对 M 染色体。其中温州居群的 No4 为 SM, 其余诸对均为 M; 福州居群、四川居群的 No3 为 SM, 其余诸对均为 M。温州居群有 1 对次缢痕在 3p 上, 福州居群有 2 对次缢痕分别位于 3q 和 9q 上, 四川居群中未见次缢痕。

综上所述, 不同居群的泽蛙、日本林蛙、饰纹姬蛙, 在核型水平上存在着不同程度的差异。众所周知, 蛙是捕获庄稼害虫的能手, 故要加以保护。由于蛙具有如此丰富的染色体多样性, 故保护蛙资源不仅要整个群体上考虑, 而且要针对每一个类群进行保护。

### 参考文献:

- [1] 章菊明, 王爱华, 郭平. 虎纹蛙的染色体组型[J]. 动物学研究, 1984, 3(3): 33~38.
- [2] Levan A. et al. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52: 201~220.
- [3] 谭安鸣, 吴政安, 赵尔宓. 泽蛙的染色体组型、C 带和 Ag-NORs 研究[J]. 两栖爬行动物学报, 1986, 3(3): 176~180.
- [4] 温昌祥, 姜书庭. 中国产泽蛙的染色体组型[J]. 遗传, 1983, 5(3): 27~28.
- [5] 杨玉华. 泽蛙 (*Rana limnocharis* Boie) 的核型及核仁组织者区 (NORs) 的研究[J]. 四川大学学报, 1983, 1: 90~96.
- [6] 何海晏. 广东九种无尾类染色体组型比较研究[J]. 两栖爬行动物学报, 1986, 3(3): 171~175.
- [7] 陈凤英, 曾科文, 王槐等. 泽蛙的染色体组型研究[J]. 野生动物, 1994, 6: 40~43.
- [8] 仓本满, 古谷英三, 竹上政夫, 矢野子. 日本(台湾)のカエル数種の核型[J]. Bull. Fukuoka Univ. Educ., 20(3): 67~78.
- [9] Seto, T. Cytogenetic studies in lower vertebrate. II. Karyological studies of several species of frogs (*Ranidae*) [J]. Cytologia, 1965, 30: 437~446.
- [10] 韦今来, 潘凯元. 日本林蛙 (*Rana japonica japonica*) 染色体组型的初步研究[J]. 杭州大学学报, 1983, 1(1): 97~101.
- [11] 赵尔宓, 谭安鸣, 吴政安. 日本林蛙的染色体研究及 C-带带型细胞分类学价值的初步探讨[J]. 动物分类学报, 1987, 12(2): 213~218.
- [12] 陈文元, 王子淑, 王喜忠等. 四川六种蛙染色体组型的比较研究[J]. 动物学研究, 1983, 4(1): 83~88.
- [13] 高建民, 赵翔, 丁汉波. 两种姬蛙染色体组型的比较研究[J]. 两栖爬行动物学报, 1985, 3(3): 163~165.

## · 会 讯 ·

### 中国遗传学会“伦理法学和社会问题委员会”第一次委员会会议纪要

中国遗传学会“伦理法学和社会问题委员会”会议于 2000 年 3 月 1 日~3 日在河北省正定召开。傅继梁主任委员主持了会议。到会委员们分别来自遗传学、伦理学、法学和哲学等岗位, 大家从宏观上论述了开展伦理学工作的重要性。当前我们的一些工作热点如: 基因组学、医学遗传学、生殖发育工程以及遗传咨询、亲子鉴定、安乐死、艾滋病、流产等都涉及到伦理学的研究, 这是我国起步较晚但却是非常重要的课题。委员们认为本届委员会的任务是: 大力开展宣传普及工作, 推动伦理学的研究, 探讨法规与规范的提案, 提交有关部门或立法机构参考; 开展与领导层的对话, 加深对伦理学的认识。委员会建议:

一、在《遗传》杂志开辟“遗传与伦理法学和社会”专栏, 由邱仁宗、李本富、陈仁彪、王延光、候一平、赵明杰、朱俊真、倪慧芳等撰写或组织文章。

二、由候一平委员负责向教育部或卫生部申请继续教育工程办班许可, 由委员授课, 授予听课学员学分。经费由候一平委员筹措。

三、召开“伦理法学和社会”国际会议。委员会提出了两个方案, 一个方案是 2005 年召开, 一个方案是 2002 年召开。第一个方案的理由是需要国内研究工作积累, 不急于召开。第二个方案的理由是为推动工作开展及时间安排, 可以尽早召开。请各委员考虑。

四、会议上分发了“生物伦理学”“医学与哲学”“中国社科院应用伦理研究中心通讯”以及世界卫生组织的“Proposed International Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and Genetics Services”(WHO Human Genetics Programme 1998) 等参考书籍和资料。会议要求委员们提出我们自己的指导原则, 并于 5 月底寄至傅继梁主任委员及王延光副主任委员处。

会议希望从事遗传学各分支领域的科学工作者能与伦理学家、法学家和社会学家一道, 以崭新的伦理道德观念对人类所面临的由生物科学高技术发展带来的难题作出正确的反应, 在科学界构筑起相应的科学道德规范, 为国家决策机构提供制定既有利于生命科学、医学发展, 又有利于地球上生命质量及周围环境的法规和政策的社会学基础和哲学基础, 把伦理学的工作推向深入。

中国遗传学会  
2000 年 3 月