

条斑星鲈染色体带型研究

王妍妍 柳学周* 徐永江 刘新富

(农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所
青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 266071)

摘要 开展了条斑星鲈染色体 C-带、Ag-NORs 带及 G-带的研究。结果发现,条斑星鲈染色体显示较为复杂的 C-带,有 4 对染色体整体呈阳性深染,分别为 3、13、20、22 号染色体;3 对具居间 C-带,分别为 1、4、8 号染色体;9 号染色体整体显示阴性,其余有大小不一的着丝粒 C-带。计算其异染色质含量为 54.91%。银染分裂相中 Ag-NORs 出现的数目以两个的频率最高,达 87.5%,与此相一致,在间期核中通过银染表现出两个核仁的间期核数目的频率也最高,故确定条斑星鲈染色体具有 1 对 Ag-NORs,位于亚中部着丝点染色体的短臂上,为端部 Ag-NOR。Ag-NORs 的数目为 1~3 个,以出现两个 Ag-NOR 的频率最高,达 87.5%,与此相同的是,在间期核中,通过银染表现出两个核仁的间期核数目的频率也最高。G-带研究显示,条斑星鲈有 37 条深染带,22 条浅染带。

关键词 条斑星鲈 C-带 Ag-NORs 带 G-带

中图分类号 Q343.2; Q959.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)04-0006-08

Study on chromosome banding patterns of *Verasper moseri*

WANG Yan-yan LIU Xue-zhou* XU Yong-jiang LIU Xin-fu

(Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, 266071)

ABSTRACT The C-binding, Ag-NORs, and G-banding patterns of the metaphase chromosomes of barfin flounder *Verasper moseri* were investigated in this study. The results showed that the interstitial regions of most chromosomes exhibited positive C-bands, in which the whole 3rd, 13th, 20th, and 22nd pair of chromosomes showed totally positive C-band, whilst the 1st, 4th and 8th pair of chromosomes only showed positive C-bands in the middle region, the rest with centromeric positive C-bands. However, the 9th pair of chromosomes showed negative result. The C-banding heretochromatin occupied 54.91% of the total chromosome in the present study. Silver staining study showed that most chromosomes featured two silver-stained nuclear organizing regions (Ag-NORs) with the percentage of 87.5%. Accordingly, the interphase nucleus with 2 nucleolus appeared most frequently, thus it is supposed that the barfin flounder bears a pair of Ag-NORs which located at the end of short arm of the submetacentric chromo-

国家鲆鲽类产业技术体系建设项目(CARS-50)、国家“863”计划项目(2006AA10A414;2010AA10A402)和公益性农业行业专项项目(nyhyzx07-046)共同资助

* 通讯作者。E-mail:liuxz@ysfri.ac.cn, Tel:(0532)85830506

收稿日期:2010-07-23;接受日期:2011-02-23

作者简介:王妍妍(1983-),女,硕士,主要从事鱼类种质资源及遗传多样性研究。E-mail:wangyishch@163.com

somes. A total of 59 positive G-bands (37 strong, 22 light) were recorded in 23 pairs of chromosomes. These results would provide basic data for the genomic research and biodiversity conservation of barfin flounder.

KEY WORDS *Verasper moseri* C-binding Ag-NORs G-banding

条斑星鲽 *Verasper moseri* Jordan et Gilbert 属鲽形目 Pleuronectiformes、鲽科 Pleronectidae、星鲽属 *Verasper*, 为冷温性大型底栖鱼种。在日本海侧分布在北海道至若狭湾沿岸, 在太平洋侧分布在千岛至茨城县附近以及鄂霍次克海沿岸(李文姬等 2006), 在我国黄、渤海也有分布记录(孟庆闻等 1995), 属北方品系鲽类, 现已多年未见渔获。条斑星鲽具有生长快、抗逆强、耐低温等优良特性, 外观形体较大, 肉质细嫩鲜美, 鳍边胶质厚而有弹性, 营养丰富, 易于烹饪, 深受消费者喜爱。我国自 2004 年从日本引进条斑星鲽苗种, 随后进行了养殖和繁育技术研究(柳学周等 2009), 现已达到了规模化苗种繁育, 人工养殖规模逐渐扩大。

染色体显带技术是一项借助于某些特殊的染色程序使染色体在一定部位出现深浅不一带纹的细胞学方法。由于特定的染色体有其特定的带纹, 因此显带技术可作为鉴别染色体组和单条染色体的手段, 从而可以深入地认识染色体结构和遗传的关系。20 世纪 70 年代以来, 许多学者试图将多种染色体显带技术应用于鱼类染色体分析, 其中 C-带、Ag-NORs 带等报道较多(任修海等 1991; 王昌留 2003; 庄志猛 2006), Q-带、G-带、R-带等的研究较少, 鲆鲽类染色体带型研究国内仅见半滑舌鳎(庄志猛 2006), 鱼类染色体带型的研究正在逐步开展。条斑星鲽染色体的核型研究本文作者已做过报道(王妍妍等 2009), 其带型的研究国内外尚未见报道。本研究对条斑星鲽染色体 C-带、G-带及 Ag-NORs 带等带型进行了初步的研究和分析, 为星鲽的染色体组学、种质资源保护、遗传育种和增殖研究提供遗传背景资料, 对海洋鱼类多样性保护也具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用条斑星鲽取自青岛忠海水产有限公司, 为从日本引进的亲鱼繁育的后代, 试验共使用 2 龄鱼 8 尾, 体重为 0.9~1.2 kg, 体长为 31~36 cm, 体高为 16~18 cm。试验于 2009 年 3 月在养殖场进行, 实验用鱼直接在养殖池内流水培育, 培育条件为: 水温 16~18 °C、盐度 28~30。

1.2 方法

采用活体注射植物血细胞凝集素(PHA)和秋水仙素, 常规空气干燥法制备染色体。

1.2.1 C-带带型制片

采用 Sumner(1972)的方法并稍作修改, 染色体制片在 60 °C 的 5% Ba(OH)₂ 水溶液中处理约 9~12 min, 然后在 0.4 mol/L HCl 中室温处理 11 min, 在 60 °C 的 2×SSC 溶液中孵育 1 h, 最后用 10% Giemsa 染液染色 30 min, 蒸馏水冲洗干净, 自然干燥。

1.2.2 C-带带型分析(王昌留 2003)

1.2.2.1 C-带块位置

着丝粒带: 带纹分布在着丝粒及其附近两侧; 端带: 带纹分布在染色体臂端; 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。根据其所在位置又细分为近着丝粒带、中间带、亚中间带和亚端带等。

1.2.2.2 C-带块长度

绝对长度(AL): 即实测长度; 相对长度(RL): 即某染色体带纹实测长度占该染色体实测长度的比值。

$$\text{带纹相对长度} = \frac{\text{某一染色体带纹长度}}{\text{该染色体长度}} \times 100\% \quad (1)$$

C-带块着色程度: 即着色的强、弱程度; C-带纹总数; 异染色质含量: 即染色体上 C-带相对长度之和。

$$\text{异染色质含量} = \frac{\text{染色体组中 C-带带纹总长度}}{\text{染色体组中染色体总长度}} \times 100\% \quad (2)$$

在 100 倍油镜下检查显带标本,如着丝粒区域或异染色质部位、次缢痕部位深染,染色体其他部位基本上不上色,即为可取标本,若观察到染色体均呈白色,那么可能为碱处理或 $2 \times \text{SSC}$ 温育过度。对于较好的制片,做好标记,以便进行拍照。利用测得的染色体 C-带的相对长度,在 Excel 中绘制条斑星鲈染色体 C-带模式图(乔永刚等 2006)。

1.2.3 Ag-NORs 带型

1.2.3.1 制片

采用 Howell 等(1980)的快速银染法,50% AgNO_3 溶液与 2% 明胶溶液以 2:1 混合后,立即滴加到染色体制片上,覆以盖玻片后在 65°C 温箱中处理约 3~5 min,当整张片子呈棕黄色时取出,流水冲洗干净,自然干燥。

1.2.3.2 带型分析

Ag-NORs 的差异表现为以下 4 个方面:Ag-NORs 位点的绝对数目;Ag-NORs 位点在染色体上的位置;Ag-NORs 之间的相对大小;每个细胞中活性 Ag-NORs 位点的数目。

观察 100 个以上的分裂相和细胞核,仔细区分 Ag-NORs 位置和杂质,以确定 Ag-NORs 的数目,并观察 Ag-NORs 的大小、位置等。取 30 个以上典型的分裂相进行核型分析,确定 Ag-NORs 的位置。经测量、剪贴、重排等进行条斑星鲈 Ag-NORs 带型分析,并利用 Excel 绘制其模式图。

1.2.4 G-带带型

1.2.4.1 制片

采用王昌留(2003)的方法稍作修改,将制备好未经染色的标本放在 66°C 的干燥箱中老化 2 h。在新配制的 0.3% 胰酶-0.02% EDTA(1:1)混合液中, $33\sim 37^\circ\text{C}$ 处理 5~7 min,蒸馏水冲洗干净后 Giemsa 染色。

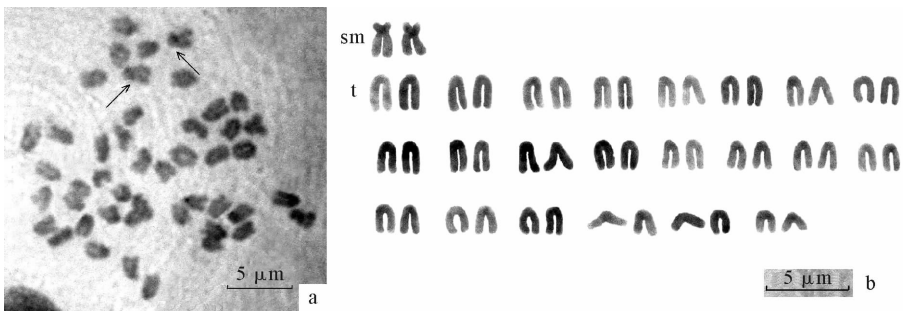
1.2.4.2 G-带带型分析

选择 30 个染色体分散良好、带型清楚的分裂相,进行拍照。结合形态,根据带型分清每对同源染色体,使之配对并按长度、着丝点位置等指标排列起来,选择清晰而标准的相片,作成 G 带核型图。根据相片分析和显微镜确定染色体带的数量、相对位置,同时结合染色深浅、带纹宽窄等特征,利用 Excel 绘制其模式图。

2 结果

2.1 C-带带型分析

分析了 30 个清晰的条斑星鲈 C 带染色体中期分裂相,经拍照、测量、剪贴、重排制做 C-带核型图,其分裂相和核型见图 1。



注:箭头示 1 对亚中部着丝点染色体

Note: The arrows show the submetacentric chromosome

图 1 条斑星鲈染色体 C-带分裂相(a)及核型(b)

Fig. 1 The C-banding metaphase chromosomes(a) and karyotype(b) of *V. moseri*

如图 1 所示,条斑星鲈的 46 条染色体多数有大小不一的 C-带深染,其中有 4 对整条呈阳性深染,分别为 3、13、20、22 号染色体;3 对有居间(Interstitial)C-带,分别为 2、4、8 号染色体;9 号染色体整条为阴性,1 对亚中部染色体具有靠近短臂的着丝粒带,其余大多具有着丝粒 C-带。同源染色体 C-带的大小、位置及着色强度基本相同,不同染色体的 C-带有一定的差异。

通过测量和计算,得出条斑星鲈单倍体组每条染色体的 C-带相对长度见表 1,按照公式(2),得出其异染色质含量为 54.91%。根据计算结果绘制条斑星鲈 C-带带型模式图(图 2)。

表 1 条斑星鲈染色体 C-带相对长度

Table 1 Relative length of C-banding in *V. moseri*

染色体序号 Chromosome pair No.	染色体长度 Actual chromosome length(μm)	C-带带宽 Width of C-banding (μm)	C-带相对长度 (C-带带宽/染色体长度) Relative length of C-banding(%)	染色体序号 Chromosome pair No.	染色体长度 Actual chromosome length (μm)	C-带带宽 Width of C-banding (μm)	C-带相对长度 (C-带带宽/染色体长度) Relative length of C-banding(%)
1	2.06	0.34	16.38	13	1.66	1.66	100
2	2.22	0.52+0.39+0.78	76.29	14	1.63	0.35	21.43
3	2.05	2.05	100	15	1.59	0.32	20
4	2.00	0.38+0.63	50.08	16	1.55	0.72	46.15
5	1.94	0.85+0.85	87.50	17	1.52	0.59	38.46
6	1.88	0.71	37.97	18	1.48	0.62	42.31
7	1.86	0.66+0.90	83.87	19	1.41	0.28	20
8	1.82	0.68+0.46	62.50	20	1.31	1.31	100
9	1.78	0	0	21	1.26	0.42	33.33
10	1.74	0.93	53.33	22	1.19	1.19	100
11	1.71	0.68	40	23	0.88	0.38	43.48
12	1.68	0.79+0.56	80				

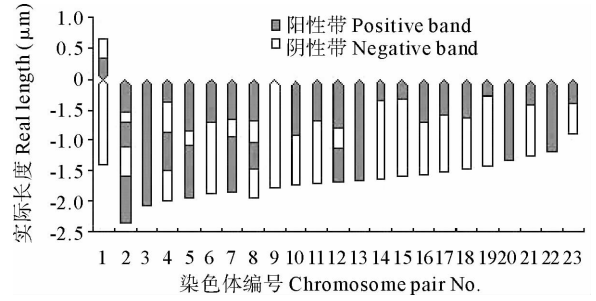


图 2 条斑星鲈染色体 C-带模式

Fig. 2 The schema chart of C-banding of *V. moseri*

2.2 Ag-NORs 带型分析

2.2.1 Ag-NORs 位点的绝对数目

Ag-NORs 的数目在不同的细胞中表现出不同的多态性,其数目为 1~3 个。各种数目的 Ag-NORs 出现的频率相差较大,出现两个 Ag-NOR 的频率最高,达 87.5%;而出现 3 个 Ag-NORs 的频率最低,只有 3.12%(表 2)。与此相一致的是,在间期核中,通过银染表现出两个核仁的间期核数目的频率最高,多达 70%(图 3-a);1 个核仁的间期核数目为 26%(图 3-b);3 个核仁的间期核数目为 4%(图 3-c)。

2.2.2 Ag-NORs 位点在染色体上的位置

选择染色体数目完整、Ag-NOR 显示清晰的中期分裂相进行分析,条斑星鲈仅显示 1 对 NORs,它位于亚中部着丝点染色体的短臂上,为端部 Ag-NOR(图 4-a)。在银染色的核型中未发现 NOR 的联合现象。银染色的条斑星鲈染色体分裂相和核型见图 4-a、图 4-b,通过测量和计算,用 Excel 绘制其模式图(图 5)。

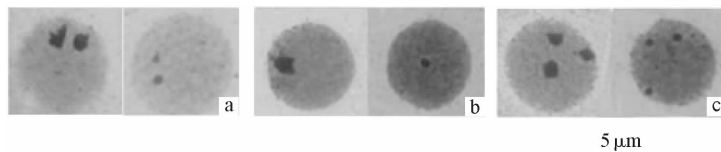
表 2 条斑星鲈 32 个分裂相中各种数目的 Ag-NORs 出现的频率

Table 2 The frequencies of Ag-NORs appearance in *V. moseri*

类型 Type	Ag-NORs 数目 Number of Ag-NORs	观察分裂相数 Number of observed metaphase	频率(%) Appearance frequency of Ag-NORs
A	1	3	9.38
B	2	28	87.5
C	3	1	3.12

2.2.3 Ag-NORs 之间的相对大小

观察发现间期细胞核中 NORs 的大小与数目呈不规则变化,有的 NOR 较大,呈大的不规则圆形;有的则较小,表现为小点状,如图 3。其大小与数目的多少没有一定的规律。

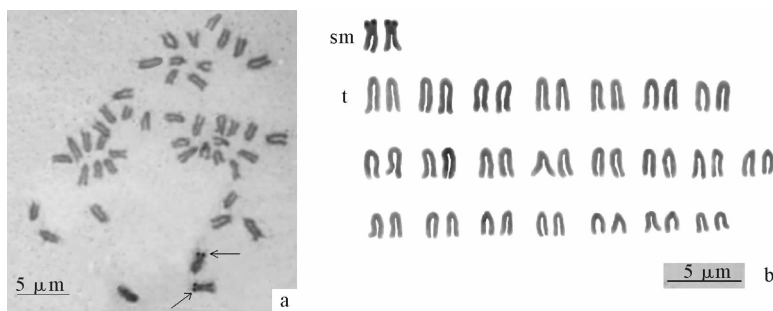


a. 具两个核仁;b. 具 1 个核仁;c. 具 3 个核仁

a. Nucleus with two nucleoli; b. Nucleus with one nucleolus; c. Nucleus with three nucleoli

图 3 条斑星鲷间期核

Fig. 3 The nucleus of *V. moseri*



注:箭头示亚中部着丝点染色体

Note: The arrows show the submetacentric chromosome

图 4 条斑星鲷染色体 Ag-NORs 分裂相(a)及核型(b)

Fig. 4 The Ag-NORs metaphase chromosomes(a)and karyotype(b)of *V. moseri*

2.3 G-带带型分析

选择 30 个染色体分散良好、带型清楚的分裂相进行拍照。条斑星鲷头肾细胞中,以处于细胞分裂前中期的染色体带纹较为清晰(图 6-a)。通过测量和计算,结合形态,根据带型分清每 1 对同源染色体,使之配对并按长度、着丝点位置等指标排列起来,选择 1 张清晰而标准的相片,作成 G 带核型图(图 6-b)。根据相片分析和显微镜确定染色体带的数量、相对位置,同时结合染色深浅、带纹宽窄等特征测绘出模式图(图 7)。G 带在染色体上的分布情况见表 3。

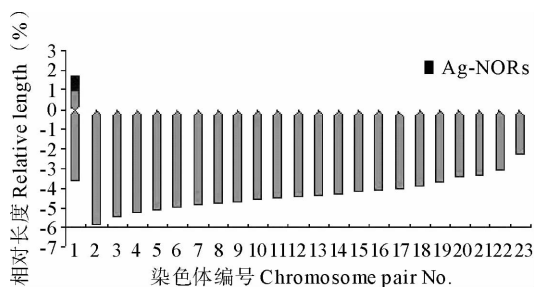
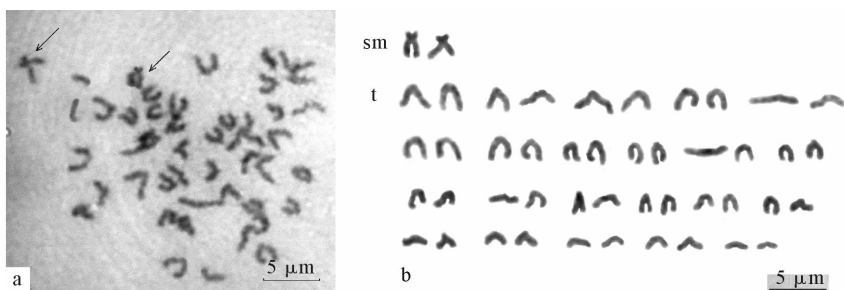


图 5 条斑星鲷染色体 Ag-NORs 模式

Fig. 5 The scheme chart of Ag-NORs of *V. moseri*



注:箭头示一对亚中部着丝点染色体

Note: The arrows show the submetacentric chromosome

图 6 条斑星鲷染色体 G-带分裂相(a)及核型(b)

Fig. 6 The G-banding metaphase chromosomes(a)and karyotype(b)of *V. moseri*

分析了主要的 G 带,即着色深的显带在染色体上的分布。G 带模式图见图 7,可以看出,条斑星鲷亚中部着丝点染色体的短臂全部为 G 带深染,长臂的近端部也有大部分深染;22 对端着丝点染色体有 6 对染色体的 G 带均为全部深染,1 对未显示 G 带深染,其余染色体显示出不同类型的 G-带。实验中观察到,G 带型容易受染色体收缩程度的影响,收缩较大的中期染色体显示较少的 G 带带型,本实验所得的中期染色体收缩程度均较大,故显示出的带较少,试验方法待进一步改进。与 G 带型相比,C 带型重复性好,染色体带型较清楚。

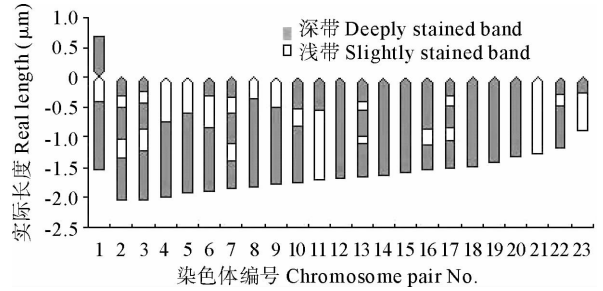


图 7 条斑星鲷染色体 G-带模式

Fig. 7 The scheme chart of G-banding of *V. moseri*

表 3 条斑星鲷各染色体对中 G-带分布

Table 3 Distribution of G-bands in chromosomal pairs of *V. moseri*

染色体编号 Chromosome pair No.	深带 Number of deeply stained bands	浅带 Slightly stained bands	总计 Total	染色体编号 Chromosome pair No.	深带 Number of deeply stained bands	浅带 Slightly stained bands	总计 Total
1	2	1	3	13	3	2	5
2	3	2	5	14	1	0	1
3	3	2	5	15	1	0	1
4	1	1	2	16	2	1	3
5	1	1	2	17	3	2	5
6	2	1	3	18	1	0	1
7	3	2	5	19	1	0	1
8	1	1	2	20	1	0	1
9	1	1	2	21	0	1	1
10	2	1	3	22	2	1	3
11	1	1	2	23	1	1	2
12	1	0	1	合计 Total	37	22	59

3 讨论

本研究首次报道了条斑星鲷染色体带型,初步研究了条斑星鲷染色体 C-带、Ag-NORs 带和 G 带带型的特征。

3.1 关于 C-带

C 带对应染色体中异染色质化区域,此区域含有大量无转录活性的重复的 DNA 序列。在本研究中,条斑星鲷的 C 带异染色质大多数出现在着丝粒端,少部分为整条染色体显示 C 带阳性和居间 C 带,这与染色体中 C 带异染色质通常主要出现在着丝粒端(Gold *et al.* 1990; Mayr *et al.* 1987; Pisano *et al.* 1997; Ocalewicz *et al.* 2004)相符合,但半滑舌鲷(庄志猛 2006)的染色体在着丝粒区只有少部分显示 C 带阳性,与传统观点着丝粒区主要由异染色质组成不相吻合。另外,半滑舌鲷的 6 号和 12 号染色体,有时还可呈全部 C 带着色;本研究条斑星鲷的 3、13、20、22 号染色体也呈现整条染色体全部为 C 带阳性,关于染色体呈整条结构异染色质化现象的报道尚不多(郭超文等 1997、1999;王昌留 2003),其成因有待于进一步研究。通过统计分析,条斑星鲷结构异染色质在染色体上所占的比率,即阳性 C 带占染色体的 54.91%,比半滑舌鲷(庄志猛 2006)的 30.03%高很多,与头索动物青岛文昌鱼(王昌留 2003)的 54.3%相似,陈春生等(1986)指出动物中着丝粒 C-带可能是有关 DNA 的起始位置,然后经过各种染色体重组,出现了插入带和端带,故具着丝粒 C-带

的物种表现出原始性,说明条斑星鲈可能处于相对原始的进化地位。

众所周知,染色体异染色质区域所对应的是众多的C带区域,这与基因重组和连续变异有密切的关系(Olmo *et al.*, 1986)。因此,条斑星鲈的C带异染色质的分布较丰富可能暗示着一种“可塑性”的存在,也就是说,它们可以经过基因突变而形成新的基因型和基因序列重排(Miklos *et al.*, 1982;Rocco *et al.*, 2002)。

3.2 关于 Ag-NORs 带

核仁组织区是由次缢痕部位伸出的DNA袈组成,是18S、5.8S及28S rRNA合成的场所。在脊索动物中位于染色体的次缢痕部位(Sumner 1990;Rooney *et al.*, 1992;Goodpasture *et al.*, 1995;Formas *et al.*, 2000)。次缢痕是染色体上的一个缢缩的部位。每种生物的染色体组中一般至少有1条或1对染色体上有次缢痕,它可作为鉴定某条染色体的标志。

一般认为银染技术可以在前中期染色体上辨别rDNA的转录活性(Howell *et al.*, 1980)。NOR带的形态变化与染色质的凝缩状态及核仁组织者的转录活性相关(Sola *et al.*, 1988),核仁组织者的转录活性越强,则银染越深,染色面积越大。银染并不是染rDNA,而是染核仁组织者所结合的酸性蛋白质(Schmid 1980;Sumner 1990),这些酸性蛋白质与转录活性相关,无活性的或沉默的核仁组织者不能用银染方法检测其存在。每种生物基因组的核仁组织者的实际数目和分布位置具有一定的物种特异性,用显示NOR带的染色体进行核型分析作为核型进化的指标来探讨近缘物种间的系统演化,已在哺乳类等脊椎动物中广泛应用(Howell 1977;Schwarzacher *et al.*, 1978)。

用银染方法处理条斑星鲈染色体,发现仅在亚中部着丝点染色体的短臂上呈现阳性结果,且为端部Ag-NOR,也许具有带有不确切随体的次缢痕。Amemiya等(1990)和Martins等(1995)根据不同鱼类NOR的研究结果,提出NOR为1对并位于染色体端部的是原始类群。因此,从NOR带结果看,也说明条斑星鲈属于较原始的类群。

3.3 G-带纹的显示

G显带技术最初源于哺乳动物的染色体研究,显带方法有很多种,有些已成功地应用于变温脊椎动物,如鱼类(Blaxhall 1983;Amores *et al.*, 1999;王昌留 2003;庄志猛 2006)、两栖类(Schmid 1980;Sekiya *et al.*, 1983)和爬行类(Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1996;胡启平等 1999)。刘凌云(1988)在用BrdU处理鱼类染色体高分辨G带时,在同一实验条件下,所得不同长度的染色体具有不同数目的带纹,随染色体长度的增加,带纹数目也增加,但又各有其特征,说明染色体是处在有规律的动态变化中,也说明染色体上的带纹是相对恒定、是自然存在的。在染色体缩短时,带纹融汇以致减少,随着染色体的伸长,使其原有的带纹显示出来。

本研究在实验过程中发现利用胰酶法制备G带时,选择前中期的分裂相(染色体收缩程度小)、掌握好片龄、胰酶浓度及处理时间至关重要。染色体处于前中期其带纹较中期丰富,便于较准确的做出带纹比较和分析;片龄应在10d左右,片龄太短,容易被胰酶消化过度而成“空泡状”,时间不易掌握;片龄太长,又难以被消化。关于鱼类G带的研究报道很少,主要因为其重复性较差,带纹不稳定。本实验所得的中期染色体收缩程度均较大,故显示出的带较少,没有进行G带的分区和命名,试验方法有待进一步改进。

参 考 文 献

- 王昌留. 2003. 青岛文昌鱼染色体的核型及带型研究. 见:中国海洋大学博士学位论文
- 王妍妍,柳学周,徐永江,吴莹莹. 2009. 条斑星鲈染色体核型分析. 渔业科学进展, 30(2): 8~13
- 任修海,余其兴,韦萍. 1991. 黄鳝染色体A9-NORs多态性的研究. 遗传学报, 18(4): 304~311
- 李文姬,李华琳. 2006. 日本条斑星鲈的生物学及增殖概况. 水产科学, 25(10): 533~536
- 乔永刚,宋芸. 2006. 利用EXCLE制作核型模式图. 农业网络信息, (10): 97~98
- 刘凌云. 1988. BrdU处理的鱼类染色体高分辨G带带型分析. 遗传学报, 15(2): 117~121
- 庄志猛. 2006. 半滑舌鳎早期发育生物学与种质资源研究. 见:中国海洋大学博士学位论文

- 陈春生,孟阳春. 1986. 上海真厉螭的染色体组型及其C带研究. 遗传学报, 13(4):295~301
- 孟庆闻,苏锦祥,缪学祖. 1995. 鱼类分类学. 北京:中国农业出版社,962~963
- 柳学周,徐永江,刘新富,陈超,王妍妍,马爱军. 2009. 条斑星鲈 *Verasper moseri* 的早期生长发育特征. 海洋与湖沼, 40(6):699~706
- 胡启平,接燕荣. 1999. 南草蜥的核型和G带带型分析. 广西医科大学学报, 16(2):137~139
- 郭超文,马虹. 1997. 棕黑锦蛇赤峰亚种染色体组型、C带和Ag-NoRs研究. 遗传, 19(3):20~22
- 高建民. 1989. 小山蛙和中国雨蛙的核型及其C带和银染的研究. 遗传学报, 16(1):42~48
- 耿德贵,王景明,江山,王芳. 1999. 鱼类染色体显带的研究进展. 动物学杂志, 34(1):40~43
- Amemiya, C. T., and Gold, J. R. 1990. Cytogenetic studies in North American minnows (Cyprinidae). XVII. Chromosomal NOR phenotypes of 12 species with comments on cytosystematic relationships among 50 species. Hereditas, 112:231~247
- Amores, A., and Postlethwait, J. H. 1999. Banded chromosomes and the zebrafish karyotype. Methods in Cell Biology, 60:323~338
- Blaxhall, P. C. 1983. Chromosome karyotyping of fish using conventional and G banding methods. J. Fish Biol. 22:417~424
- Ferraro, M., Lavia, P., Pelliccia, F., and de CaPoa, A. 1981. Clonal inheritance of rRNA gene activity: Cytological evidence in human cells. Chromosoma, 84(3):345~351
- Formas, J. R., and Cuevas, C. C. 2000. Comparative cytogenetic analysis of the Chilean leptodactylid frog genus *Telmatobufo*, with the description of the chromosomes of *T. venustus*. Proceedings of the Biological Society of Washington, 113(4):890~899
- Gold, J. R. 1984. Silver-staining and heteromorphism of chromosomal nucleolus organizer regions in North American cyprinid fishes. Copeia, 1:133~139
- Gold, J. R., Li, Y. C., and Shipley, N. S. 1990. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. J. Fish Biol. 37: 563~575
- Goodpasture, C., and Bloom, S. E. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. Chromosoma, 53(1):37~50
- Howell, W. M. 1977. Visualization of ribosomal gene activity; silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. Chromosoma, 62(4):361~367
- Howell, W. M., and Black, D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia, 36: 1 014~1 015
- Hsu, T. C., Spirito, S. E., and Pardue, M. L. 1975. Distribution of 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. Chromosoma, 53: 25~36
- Martins, I. C., Portella-Castro, A. L. B., and Julio, Jr. H. F. 1995. Chromosome analysis of 5 species of the Cichlidae family. (Pisces-Perciformes) from the Parana River. Cytologia, 60:223~231
- Mayr, B., Kalat, M., Rab, P., and Lambrou, M. 1987. Band karyotypes and specific types of heterochromatins in several species of European percid fishes (Percidea, Pisces). Genetics, 75: 199~205
- Miklos, G. L. G., and Gill, A. C. 1982. Nucleotide sequences of highly repeated DNAs; Compilation of comments. Genet. Res. 39(1):1~30
- Ocalewicz, K., Jankun, M., and Boron, A. 2004. Karyotypic characterization of bream, *Abramis brama* (Pisces, Cyprinidae). Folia Zool. 53(3): 329~334
- Olmo, E., Reptilia. In: John, B. (Ed.). 1986. Chordata, Animal Cytogenetics, Vol. 4. Gebrueder Borntraeger, Berlin/Stuttgart
- Pisano, E., Ozouf-Costaz, C., Bonillo, C., Caimo, A., Rossettli, S., and Williams, R. 1997. Cytogenetics of the antarctic icefish *Champocephalus gumari* Lönnberg, (Notothenioidae). Comp. Biochem. Physiol. 118A(4): 1 087~1 094
- Rocco, L., Morescalchi, M. A., Costagliola, D., and Stingo, V. 2002. Karyotype and genome characterization in four cartilaginous fishes. Gene, 295: 289~298
- Schmid, M. 1980. Chromosome banding in amphibia. IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. Chromosoma, 77(1): 83~103
- Schwarzacher, H. G., Mikelsaar, A. V., and Schnedl, W. 1978. The nature of the Ag-staining of nucleolus organizer regions. Electron- and light-microscopic studies on human cells interphase, mitosis, and meiosis. Cytogenet Cell Genet. 20(1-6):24~39
- Sekiya, K., and Nakagawa, H. 1983. Cytogenetics of *Xenopus laevis*. I. G-banding pattern of *Xenopus laevis* chromosomes. Experientia, 39(7): 786~787
- Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp. Cell. Res. 75(1):304~306
- Sumner, A. T. 1990. Chromosome banding. London:Unwin Hyman
- Sola, L., Natili, G. L., and Cataudella, S. 1988. Cytogenetical characterization of *Odontesthes bonariensis* (pisces, Atherinidae), an Argentine species introduced in Italy. Genetica, 77:217~224
- Weltens, R., Kirsch-Volders, M., Hens, L., Defrise-Gussenhoven, E., and Susanne, C. 1985. NOR variability in twins. Acta Genet Med Gemellol (Roma), 34(3~4):141~151
- Yonenaga-Yassuda, Y., Mori, L., Chu, T. H., and Rodrigues, M. T. 1996. Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid radiation: *Procellosaurinus* and *Vanzosaura* (Squamata, Gymnophthalmidae). Cytogenet. Cell Genet. 74(3):203~210