

文章编号: 1004 - 7271 (2008) 06 - 0689 - 06

## 条纹斑竹鲨的核型研究

谢仰杰<sup>1,2</sup>, 翁朝红<sup>2</sup>

(1. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005;

2. 集美大学水产学院省高校水产科学技术与食品安全重点实验室, 福建 厦门 361021)

**摘要:**以条纹斑竹鲨活体为材料, 采用体内注射秋水仙素和低渗—空气干燥制片法, 对条纹斑竹鲨 (*Chiloscyllium plagiosum*) 的染色体组型进行了分析。结果表明, 条纹斑竹鲨的二倍体染色体数为  $2n = 104$ , 核型公式为  $2n = 40m + 26sm + 8st + 30t$ , 染色体总臂数  $NF = 170$ 。其中第 31 对染色体带有随体。对所得结果与相近种类的核型进行比较, 表明条纹斑竹鲨在已知核型的软骨鱼类中是二倍体数最多的种类之一, 据此可以认为条纹斑竹鲨是比较原始的种类。条纹斑竹鲨的双臂染色体 ( $m$  和  $sm$  染色体) 较多, 占 63.5%, 在鲨形总目中是较高的, 与其它二倍体染色体数较多的鲨类差异甚大。条纹斑竹鲨的  $NF$  也大大高于其它已有  $NF$  研究报道的软骨鱼类。

**关键词:** 条纹斑竹鲨; 核型; 染色体

中图分类号: Q 959.423 文献标识码: A

## Karyotypic study on *Chiloscyllium plagiosum*

XIE Yang-jie<sup>1,2</sup>, WENG Zhao-hong<sup>2</sup>

(1. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The karyotype of *Chiloscyllium plagiosum* was studied by means of injecting colchicines, hypotonic treatment and air-dry technique. The results showed that the chromosome number of diploid cell of *C. plagiosum* was 104, the karyotype was  $2n = 40m + 26sm + 8st + 30t$ ,  $NF = 170$ , and the 31th pair of chromosomes had satellites. Compared to other Chondrichthyes so far studied, *C. plagiosum* was one of the sharks that has the highest chromosome number, and it suggested that *C. plagiosum* is a primitive species. *C. plagiosum* had a high percentage (63.5%) of biarmed elements among Selachomorpha, different from other sharks that had a high chromosome number. Furthermore, its  $NF$  was higher than any other sharks so far studied.

**Key words:** *Chiloscyllium plagiosum*; karyotype; chromosome

染色体组型或核型分析是染色体研究中的一项基本内容, 是遗传学研究的基础。迄今为止, 国内对鱼类的染色体组型进行了较多的研究<sup>[1-4]</sup>, 但均未涉及软骨鱼类。国外共报道了 70 种软骨鱼的核型, 占现存 838 种软骨鱼类的 8.35%, 包括 31 种鲨类, 37 种鳐类和 2 种全头类<sup>[5]</sup>。条纹斑竹鲨

收稿日期: 2008-06-28

基金项目: 国家自然科学基金 (40776083, 40876080); 厦门市科技项目 (3502Z20063022)

作者简介: 谢仰杰 (1967 -), 男, 福建长汀人, 副教授, 博士, 主要从事水产鱼类生物学和增殖技术方面的研究。E-mail: yjxie@jmu.edu.cn

[*Chiloscyllium plagiosum* (Bennett, 1830)] 隶属于须鲨目 (Orectolobiformes)、斑竹鲨科 (Hemiscylliidae)、斑竹鲨属<sup>[6]</sup>, 是我国 15 种产量较高的鲨类之一<sup>[7]</sup>。关于条纹斑竹鲨的核型研究, 国内外均未见报道。本文对条纹斑竹鲨的染色体组型进行研究, 得出其核型公式, 以期为条纹斑竹鲨的遗传学深入研究提供基础资料, 同时也丰富软骨鱼类染色体研究资料, 弥补国内软骨鱼类核型研究的空白。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料来源

实验用条纹斑竹鲨购自厦门, 雌鱼和雄鱼各 3 尾, 全长 44.4 ~ 55.3 cm, 体重 310.0 ~ 450.1 g。

### 1.2 染色体制片方法

#### 1.2.1 前处理

腹腔注射秋水仙素 (Colchicine) 溶液, 最终剂量为 10  $\mu\text{g/g}$  体重; 12 ~ 24 h 后取脾脏, 在改良生理盐水 (SHBSS; 在 Hank's 生理盐水基础上加入 6 g/L 的 NaCl 和 20 g/L 的尿素)<sup>[8]</sup> 中清洗 2 遍, 然后置于装有少许 SHBSS 的培养皿中, 两手各持镊子, 反复拉扯, 捣碎并分散脾脏细胞, 制成细胞悬液。

#### 1.2.2 低渗

参照文献<sup>[8]</sup>, 采用不同的低渗液进行对比试验, 低渗液的配制见表 1。每组加 5 mL 低渗液和 0.5 mL 脾脏细胞悬液。用吸管轻轻吹打混合均匀后, 室温下低渗 20 ~ 30 min。低渗结束时, 加入 0.5 ~ 1.0 mL 的卡诺固定液, 用吸管吹打均匀, 1 000 r/min 离心 5 min。

表 1 低渗液的组成  
Tab. 1 Compose of hypotonic solution

组分	低渗液编号					
	A	B	C	D	E	F
水	100%	0	0	0	0	0
0.075 mol/L KCl	0	100%	80%	70%	60%	0
SHBSS	0	0	20%	30%	40%	100%

#### 1.2.3 固定

先吸除上清液, 加入少许预冷固定液, 吹打均匀, 再加入 2 ~ 3 mL 新配的固定液, 静置 30 ~ 60 min, 1 000 r/min 离心 5 min。重复固定 3 次。第 3 次固定后可置于冰箱中 (4  $^{\circ}\text{C}$ ) 保存过夜。

#### 1.2.4 滴片

吸除上清液, 加入适量的新鲜固定液, 将细胞吹打均匀。取冷冻玻片, 使之成 45 度倾斜。吸取细胞悬浊液在玻片上滴 2 ~ 3 滴, 滴片高度为 50 cm 以上。之后, 轻轻吹动玻片, 使细胞分散开来。然后放置 2 天以上, 待其自然干燥。

#### 1.2.5 染色

用 pH6.8 的 1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) 将 Giemsa 染色母液按 1:9 的比例稀释, 配成工作染色液 (现用现配)。然后放置 2 根平行的玻璃棒于搪瓷盘中, 把要染色的玻片标本平放于玻璃棒上, 细胞面朝上。滴上 1 ~ 2 ml 的工作染色液, 使之完全覆盖住细胞, 并去掉气泡。染色 10 ~ 20 min 后, 倾去染色液, 在自来水下简单冲洗, 晾干。玻片干燥后即可置于显微镜下观察和拍摄。

## 1.3 染色体的分析方法

### 1.3.1 染色体二倍体数 (2n) 的确定

选取 100 个分散良好、形态清晰、数目完整的分裂相图片, 打印后或直接在 photoshop 等绘图软件下进行计数。根据结果找出染色体数目的众数, 据此确定染色体二倍体数 (2n)。

### 1.3.2 染色体分组和臂数计算的标准

染色体分组采用 Levan 的标准<sup>[9]</sup>, 按臂比 (长臂长度/短臂长度) 将染色体分为 4 组: (1) 中部着丝

粒染色体 (metacentrics, m), 臂比为 1.0 ~ 1.7; (2) 亚中部着丝粒染色体 (submetacentrics, sm), 臂比为 1.7 ~ 3.0; (3) 亚端部着丝粒染色体 (subtelocentrics, st), 臂比为 3.0 ~ 7.0; (4) 端部着丝粒染色体 (telocentrics, t), 臂比为 7.0 ~  $\infty$ 。

染色体臂数 (fundamental number, fundamental arm number, NF) 的计算采用以下方法: 中部和亚中部着丝粒染色体的臂数计为 2, 亚端部和端部着丝粒染色体的臂数计为 1<sup>[10]</sup>。

### 1.3.3 染色体分组的方法

选取 15 个数目完整、分散良好、长度适当 (正中期) 的、着丝粒清楚、2 条染色单体适度分开、形态清晰的分裂相图片, 采用 photoshop 等图形软件, 对染色体进行切割、配对, 再测量每条染色体的长臂和短臂长度, 计算各对染色体的臂比和相对长度, 按照上述标准分为 m、sm、st 和 t 共 4 组后, 分别根据染色体长度按从大到小的顺序编号和排列。

### 1.3.4 其它形态特征的观察

除测量和分组配对外, 对染色体的其它形态特征, 如有无异形染色体对、次缢痕、随体等进行观察。

## 2 结果

### 2.1 中期分裂相染色体标本制作结果

不同低渗液进行低渗的制片效果不同, 单独采用蒸馏水、0.075 mol/L KCl 和 SHBSS 作为低渗液, 均无法获得染色体分散良好的中期分裂相, 采用 0.075 mol/L KCl 和 SHBSS 按一定比例混合的低渗液, 可以获得染色体分散比较理想的中期分裂相。其中 C<sup>#</sup> (含 20% SHBSS) 和 D<sup>#</sup> (含 30% SHBSS) 低渗液 (表 1) 制片效果最好。

### 2.2 染色体数目

检查了条纹斑竹鲨的染色体分散较好的中期分裂相 100 个, 其中染色体数目为 104 的有 75 个, 占 75%, 少于或多于 104 的共有 25 个, 表明条纹斑竹鲨的二倍体染色体数目为  $2n = 104$  (表 2)。

表 2 条纹斑竹鲨的染色体数目  
Tab.2 The chromosome number of *C. plagiosum*

项目	染色体数目						总计
	<98	100	102	104	106	>108	
分裂相数	7	8	4	75	4	2	100
比例 (%)	7	8	4	75	4	2	100

### 2.3 染色体组型分析

染色体的组型数据统计结果见表 3。这些染色体的长度由大到小分布较均匀, 最大的为  $4.886 \pm 0.133 \mu\text{m}$ , 最小的为  $1.328 \pm 0.073 \mu\text{m}$  (图 1, 图 2)。按照 Levan<sup>[9]</sup> 的分类标准, 在条纹斑竹鲨的 52 对染色体中, 中部着丝点染色体 (m) 20 对, 亚中部着丝点染色体 (sm) 13 对, 亚端部着丝点染色体 4 对, 端部着丝点染色体 15 对, 因此条纹斑竹鲨的核型公式为  $2n = 104, 40m + 26sm + 8st + 30t, NF = 170$ 。其中第 31 对染色体为随体染色体, 这是条纹斑竹鲨染色体组型的明显特征。未发现性染色体。

## 3 讨论

低渗是染色体制片过程中非常重要的一个环节, 低渗处理直接影响到中期分裂相染色体的分散程度。由于软骨鱼类体内含高浓度的尿素, 以及软骨鱼类染色体数目较大, 使得广泛用于硬骨鱼类染色体核型分析的低渗处理方法在软骨鱼类无法获得令人满意的结果。我们在不断试验的基础上, 结合相关文献<sup>[8]</sup>, 采用 0.075 mol/L KCl 和 SHBSS (即 Hank's 生理盐水中加入 6 g/L 的 NaCl 和 20 g/L 尿素的改良生理盐水) 按一定比例混合作为低渗液, 获得了比较理想的效果。

表3 条纹斑竹鲨核型分析数据

Tab.3 The data of the karyotype of *C. plagiosum*

染色体对编号	染色体长度 (Mean ± SD)/ $\mu\text{m}$	相对长度 (Mean ± SD)	臂比 (Mean ± SD)	类型
1	4.237 ± 0.335	1.608 ± 0.127	1.624 ± 0.012	m
2	3.922 ± 0.309	1.489 ± 0.117	1.247 ± 0.233	m
3	3.131 ± 0.264	1.188 ± 0.100	1.291 ± 0.030	m
4	2.874 ± 0.193	1.091 ± 0.073	1.464 ± 0.064	m
5	2.756 ± 0.022	1.046 ± 0.009	1.129 ± 0.011	m
6	2.734 ± 0.051	1.038 ± 0.019	1.240 ± 0.007	m
7	2.662 ± 0.043	1.011 ± 0.016	1.692 ± 0.038	m
8	2.628 ± 0.129	0.997 ± 0.049	1.012 ± 0.014	m
9	2.464 ± 0.077	0.935 ± 0.029	1.365 ± 0.007	m
10	2.407 ± 0.243	0.914 ± 0.092	1.552 ± 0.493	m
11	2.356 ± 0.015	0.894 ± 0.006	1.530 ± 0.087	m
12	2.249 ± 0.114	0.854 ± 0.043	1.539 ± 0.215	m
13	2.245 ± 0.090	0.852 ± 0.034	1.143 ± 0.060	m
14	2.027 ± 0.006	0.769 ± 0.002	1.081 ± 0.070	m
15	2.014 ± 0.006	0.764 ± 0.002	1.294 ± 0.038	m
16	1.939 ± 0.077	0.736 ± 0.029	1.345 ± 0.109	m
17	1.869 ± 0.079	0.710 ± 0.030	1.224 ± 0.001	m
18	1.743 ± 0.013	0.662 ± 0.005	1.639 ± 0.00	m
19	1.631 ± 0.056	0.619 ± 0.021	1.490 ± 0.240	m
20	1.443 ± 0.030	0.548 ± 0.011	1.133 ± 0.050	m
21	4.713 ± 0.198	1.789 ± 0.075	1.726 ± 0.003	sm
22	4.023 ± 0.683	1.527 ± 0.259	2.116 ± 0.050	sm
23	3.516 ± 0.243	1.335 ± 0.092	2.456 ± 0.112	sm
24	3.335 ± 0.013	1.266 ± 0.005	2.006 ± 0.002	sm
25	3.231 ± 0.028	1.227 ± 0.011	2.376 ± 0.004	sm
26	3.108 ± 0.071	1.180 ± 0.027	1.851 ± 0.134	sm
27	2.882 ± 0.242	1.094 ± 0.092	2.320 ± 0.449	sm
28	2.563 ± 0.172	0.973 ± 0.065	2.902 ± 0.062	sm
29	2.485 ± 0.021	0.943 ± 0.008	2.247 ± 0.011	sm
30	2.445 ± 0.279	0.928 ± 0.106	2.324 ± 0.027	sm
31	2.313 ± 0.320	0.878 ± 0.122	2.001 ± 0.131	sm
32	1.918 ± 0.182	0.728 ± 0.069	2.909 ± 0.196	sm
33	1.532 ± 0.013	0.581 ± 0.005	2.757 ± 0.037	sm
34	4.886 ± 0.133	1.855 ± 0.050	4.537 ± 0.562	st
35	4.104 ± 0.172	1.558 ± 0.065	3.379 ± 0.781	st
36	3.200 ± 0.159	1.215 ± 0.060	3.804 ± 0.117	st
37	1.599 ± 0.034	0.607 ± 0.013	3.019 ± 0.645	st
38	3.147 ± 0.062	1.194 ± 0.023	$\infty$	t
39	2.986 ± 0.026	1.134 ± 0.010	$\infty$	t
40	2.727 ± 0.004	1.035 ± 0.00	$\infty$	t
41	2.118 ± 0.007	0.804 ± 0.003	$\infty$	t
42	2.006 ± 0.006	0.761 ± 0.002	$\infty$	t
43	1.991 ± 0.015	0.756 ± 0.006	$\infty$	t
44	1.958 ± 0.021	0.743 ± 0.008	$\infty$	t
45	1.917 ± 0.004	0.728 ± 0.001	$\infty$	t
46	1.863 ± 0.002	0.707 ± 0.001	$\infty$	t
47	1.835 ± 0.004	0.696 ± 0.001	$\infty$	t
48	1.771 ± 0.041	0.672 ± 0.016	$\infty$	t
49	1.693 ± 0.009	0.643 ± 0.011	$\infty$	t
50	1.644 ± 0.007	0.624 ± 0.011	$\infty$	t
51	1.558 ± 0.028	0.591 ± 0.011	$\infty$	t
52	1.328 ± 0.073	0.504 ± 0.028	$\infty$	t

注:m. 中部着丝粒染色体;sm. 亚中部着丝粒染色体;st. 亚端部着丝粒染色体;t. 端部着丝粒染色体; $\infty$ . 无限大

目前已知的 70 种软骨鱼类的二倍体染色体数为 52 ~ 104 (巴西双鳍电鳐二倍体染色体数为 28 例外),普遍高于淡水鱼类的二倍体染色体数<sup>[5]</sup>,其中 31 种鲨鱼的二倍体染色体数为 60 ~ 104 (表 4)。总体说来,比较原始的种类具有较多的二倍体染色体数<sup>[5,11-12]</sup>。本文研究得出条纹斑竹鲨染色体的二倍体数为 104,在已知染色体核型的软骨鱼类中是二倍体数最多的种类之一,与六鳃鲨目的扁头哈那鲨 *Notorynchus cepedianus*<sup>[13]</sup> 和七鳃鲨 *Notorynchus maculatus*<sup>[8]</sup> 相同,与须鲨目的铰口鲨 *Ginglymostoma cirratum* (2n = 102)<sup>[14]</sup> 相近。据此可以说明条纹斑竹鲨是比较原始的种类。

已报道的 31 种鲨类中,染色体形态的差异主要表现在不同种类的单臂染色体(端部和亚端部着丝粒染色体)和双臂染色体(中部和亚中部着丝粒染色体)数目和微染色体数目的变化。条纹斑竹鲨的双臂染色体(m 和 sm 染色体)较多,为 66 条,占 63.5%,在鲨形总目中是较高的,与其它几种二倍体染色体数较多的鲨类(如六鳃鲨目、虎鲨目鱼类,表 4)差异甚大。条纹斑竹鲨的 NF = 170,也大大高于其它所有已有研究报道的软骨鱼类。这个有趣的结果值得进一步的深入探讨。

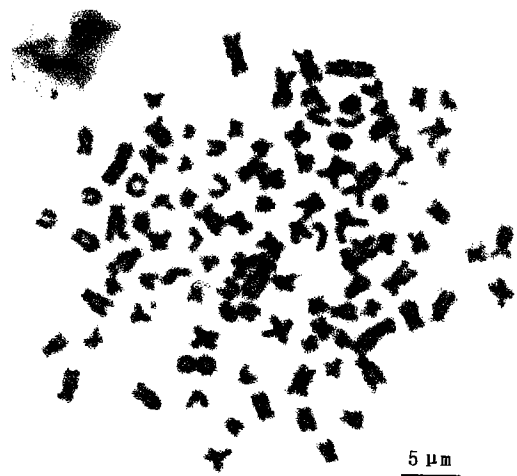


图 1 条纹斑竹鲨二倍体细胞中期分裂相染色体  
Fig. 1 The metaphase chromosomes of *C. plagiosum*

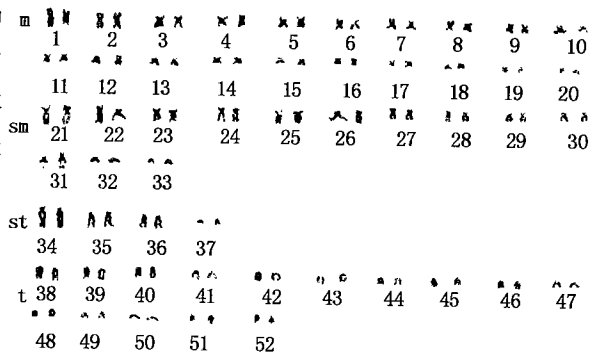


图 2 条纹斑竹鲨的染色体组型图  
Fig. 2 The karyotype of *C. plagiosum*

表 4 鲨形总目鱼类的核型  
Tab. 4 Karyotypes of Selachomorpha

种 类	二倍体 染色体数	臂数	核型		资料来源
			m, sm	st, t	
鲨形总目 Selachomorpha	60 ~ 104	84 ~ 170	8 ~ 66	0 ~ 96	
皱鳃鲨 <i>Chlamydoselachus anguineus</i>	100	112	12	88	[15]
扁头哈那鲨 <i>Notorynchus cepedianus</i>	104	112	8	96	[13]
七鳃鲨 <i>Notorynchus maculatus</i>	104	110			[8]
黑腹乌鲨 <i>Etmopterus spinax</i>	62				[16]
小乌鲨 <i>Etmopterus pusillus</i>	86				[17]
尖背角鲨 <i>Oxynotus centrina</i>	62	118	56	6	[18]
白斑角鲨 <i>Squalus acanthias</i>	78	116	38	40	[19]
白斑角鲨 <i>Squalus acanthias</i>	60	120	60	0	[20]
太平洋白斑角鲨 <i>Squalus suckleyi</i>	62	82	20	42	[21]
加州扁鲨 <i>Squatina californica</i>	88	112	24	64	[8]
佛氏虎鲨 <i>Heterodontus francisci</i>	102	128	26	76	[13, 20]
宽纹虎鲨 <i>Heterodontus japonicus</i>	102	112	10	92	[15]
条纹斑竹鲨 <i>Chiloscyllium plagiosum</i>	104	170	66	38	本文
铰口鲨 <i>Ginglymostoma cirratum</i>	102				[14]
噬人鲨 <i>Carcharodon carcharias</i>	82	130	48	34	[13]
锥齿鲨 <i>Carcharias taurus</i>	84	132			[20]
阴影绒毛鲨 <i>Cephaloscyllium umbratile</i>	64	98	34	30	[22]
东太平洋绒毛鲨 <i>Cephaloscyllium ventriosum</i>	64	110	46	18	[13]
小点猫鲨 <i>Scyliorhinus canicula</i>	62	94	32	30	[23]

·续上表·

种 类	二倍体 染色体数	臂数	核型		资料来源
			<i>m, sm</i>	<i>st, t</i>	
斑点猫鲨 <i>Scyliorhinus stellaris</i>	72	122	50	22	[23]
虎纹猫鲨 <i>Scyliorhinus torazame</i>	64	90	26	38	[22]
大眼星鲨 <i>Mustelus canis</i>	80	124	44	36	[20]
白斑星鲨 <i>Mustelus manazo</i>	68	112	44	24	[24]
半带皱唇鲨 <i>Triakis semifasciata</i>	70~72	122~124	52	18~20	[13]
皱唇鲨 <i>Triakis scyllia</i>	72	108	36	36	[24]
黑吻真鲨 <i>Carcharhinus acronotus</i>	84	116	32	52	[13]
黑梢真鲨 <i>Carcharhinus limbatus</i>	80±	110	30	50	[13]
暗吻真鲨 <i>Carcharhinus obscurus</i>	78±	98	20	58	[25]
铅灰真鲨 <i>Carcharhinus plumbeus</i>	74	92	18	56	[25]
鼬鲨 <i>Galeocerdo cuvier</i>	86	126	40	46	[20]
大青鲨 <i>Prionace glauca</i>	86	116	30	56	[25]
大西洋斜锯牙鲨 <i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	80±	124	44	36	[13]
路氏双髻鲨 <i>Sphyrna lewini</i>	78	96	18	60	[13]

## 参考文献:

- [1] 余先觉,周 瞰,李渝成,等. 中国淡水鱼类染色体[M]. 北京:科学出版社,1989:1-166.
- [2] 楼允东. 中国鱼类染色体组型研究的进展[J]. 水产学报,1997,21(增刊):82-96.
- [3] 王梅林,郑家声,朱丽岩,等. 我国海洋鱼类和贝类染色体组型研究进展[J]. 青岛海洋大学学报,2000,30(2):277-284.
- [4] 赵金良. 我国海水鱼和咸淡水鱼染色体组型研究概述[J]. 上海水产大学学报,2000,9(4):344-347.
- [5] 谢仰杰,翁朝红,苏永全,等. 软骨鱼类染色体研究进展[J]. 中国水产科学,2006,13(5):856-866.
- [6] 朱元鼎,孟庆闻. 中国动物志 圆口纲 软骨鱼纲[M]. 北京:科学出版社,2001,134-137.
- [7] 张清榕,杨圣云. 中国软骨鱼类种类、地理分布及资源[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2005,44(增刊):207-211.
- [8] Maddock M B, Schwartz F J. Elasmobranch cytogenetics: methods and sex chromosomes[J]. Bull Mar Sci, 1996, 58(1):147-155.
- [9] Levan A, Fredge K, Sandberg A A. Nomenclature or centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2):201-220.
- [10] 吴仲庆. 水产生物遗传育种学[M]. 厦门:厦门大学出版社,2000:7-25.
- [11] Stingo V, Rocco L. Selachian cytogenetics: a review[J]. Genetica, 2001, 111:329-347.
- [12] Stingo V, Rocco L. Chondrichthyan cytogenetics: a comparison with Teleosteans[J]. J Mol Evol, 1991, 33:76-82.
- [13] Schwartz F J, Maddock M B. Comparisons of karyotypes and cellular DNA contents within and between major lines of elasmobranch[M]// Uyeno T, Arai R, Taniuchi T, et al. Indo-Pacific fish biology. Tokyo: Ichthyol Soc Japan, 1986, 148-157.
- [14] Rocco L, Costagliola D, Liguori I, et al. Cytogenetic and molecular studies in the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum* (Galeomorphii, Heterodontiformes)[J]. Annales de Genetique, 2003, 46(2-3):98.
- [15] Ida H, Asahida T, Yano K, et al. Karyotypes of two sharks, *Chlamydoselachus anguineus* and *Heterodontus japonicus*, and their systematic implications[M]// Uyeno T, Arai R, Taniuchi T, et al. Indo-Pacific fish biology. Tokyo: Ichthyol Soc Japan, 1986, 158-163.
- [16] Stingo V, Du Buit M H, Odierna G. Genome size of some selachian fishes[J]. Boll Zool, 1980, 47:129-137.
- [17] Ojima Y and Yamamoto K. Cellular DNA contents of fishes determined by flow cytometry[J]. La Kromosomo II, 1990, 57:1871-1888.
- [18] Stingo V, Capriglione T. DNA and chromosomal evolution in cartilaginous fish[M]// Uyeno T, Arai R, Taniuchi T, et al. Indo-Pacific fish biology. Tokyo: Ichthyol Soc Japan, 1986, 140-147.
- [19] Nygren A, Jahnke M. Microchromosomes in primitive fishes[J]. Swed J Agric Res, 1972, 2:229-238.
- [20] Schwartz F J, Maddock M B. Cytogenetics of the elasmobranchs: Genome evolution and phylogenetic implications[J]. Marine & Freshwater Research, 2002, 53(2):491-502.
- [21] Makino S. The chromosomes of two elasmobranch fishes[J]. Cytologia, 1937, 2:867-876.
- [22] Asahida T, Ida H, Inoue T. Karyotypes and cellular DNA contents of two sharks in the family Scyliorhinidae[J]. Jap J Ichthyol, 1988, 35:215-219.
- [23] Stingo V. New developments in vertebrate cytology II. The chromosomes of the cartilaginous fishes[J]. Genetica, 1979, 50:227-239.
- [24] Asahida T, Ida H. Karyological notes on four sharks in the order Carcharhiniformes[J]. Jap J Ichthyol, 1989, 36:275-280.
- [25] Asahida T, Ida H, Hayashizaki K. Karyotypes and cellular DNA contents of some sharks in the order Carcharhiniformes[J]. Jap J Ichthyol, 1995, 42:21-26.