

两栖动物的染色体及其演化

李 树 深

(云南大学生物系,昆明 650031)

脊椎动物从水生进化到陆生的过程中,两栖动物有着“承先启后”的重要作用。两栖动物能在陆地存活,但无陆地繁殖的本领。是一群过渡类群。“二者兼而有之”的过渡性质,不仅表现在形态、生态和生理机能上,而且还反映在遗传物质-DNA-的携带者-染色体的特征上。60年代后,两栖动物的核型研究有了长足的发展,而70年代以来,分带技术的应用,对于某些特殊位点和染色体细微结构又有了进一步的认识。两栖动物具有染色体大,数目少,种间差异小;核内DNA含量高,种间差异大的特点。这些特点既有选择性适应意义,又有长期适应——进化的意义。

一、核 型

对于中期相染色体数目和形态描述谓之核型。两栖动物染色体视大小可分二类。一为微小染色体(microchromosome),一般小无明显的着丝点形态;另一类谓之大染色体(macrochromosome),一般较大,且有明确的着丝点位置。后者根据其相对大小,可再分为大型(large)和小型(small)染色体,可两者之间并无严格的界限。大染色体的类型有中部着丝点(M)、亚中部(SM)、亚端部(ST)和端部(T)着丝点等四种类型,前三种通常计为二个染色体臂(NF),故称双臂染色体。最后一种类型计为一个臂,称之单臂染色体。由不同大小、形态各异的染色体组成的核型称A型(assymmetrical);由大小不同的双臂染色体组成的称S型(symmetrical),A型可再分为Ab(bimodal)和Au(unimodal)二类,前者内含微小染色体,而后者则不含有^[26]。现将现存三目

两栖动物的核型分述于后:

(一) 蚓螈目(Gymnophiona) 八个现存科有四个有核型资料, $2n = 20-38$, 大多为含有数目不等(1-15对)微小染色体的Ab型。较原始的鱼螈科(Ichthyophiidae)和尾螈科(Uraotyphlidae) $2n = 36-42$, 内含14-30个微小染色体, *Ichthyophis beldomei*, $2n = 42$, 内有30个微小染色体。较特化的游螈科(Typhlonectidae) $2n = 20-28$, 不含微小染色体;介于二者之间的蚓螈科(Caecillidae) $2n = 24-38$, 大多数种属都有微小染色体(2-20), 但少数种属(*Siphonops*, *Caecilia*)则无^[27,40]。可见该目的核型演化总趋势是染色体数目由多趋少,其中微小染色体由多变少,从有到无,由Ab型转为Au型,而最后演化成S型。

(二) 有尾目(Caudata) 该目约有30%的已知种和90%的现存属做过核型分析, $2n$ 从小鲛科(Hynobiidae)的66变化到新大陆蝾螈科的22。隐鳃螈亚目(包括小鲛科和隐鳃螈科(Cryptobranchidae))有较多的染色体, $2n = 56-66$, 含22-52个微小染色体。*Hynobius retardatus*, $2n = 40$, 且无微小染色体,甚称特殊。故该亚目大多数为Ab型。钝口螈科(Ambystomadae)和无肺螈科(Plethodontidae), $2n = 26-28$, S型(*Aneides*等属的少数种为A型)。蝾螈科(Salamandridae) $2n = 22-24$ S型。洞螈科(Proteidae), $2n = 38$, *Necturus*有一对微小染色体,是一群中间类型。鳗螈科(Sirenidae)比较特殊, $2n = 46-52$, 可能是一群四倍体类型。因此,有尾目的核型演化方向是:(1)染色体数目逐渐减少。

(2) 微小染色体由多变少, 最后到没有。从 Ab 型演变为 Au 型, 以至 S 型^[24, 25, 29, 38]。但在某些种属发生辐射演化时, 可能出现 S 逆变为 A 的情况, 这是臂间倒位所致, 如 *Aneides*, *Oedipina*, *Necturus* 几属的核型变化^[17]。

(三) 无尾目 (Anura) 处于原始地位的尾蟾 (*Ascaphus*) 和产婆蟾 (*Alytes*) (*Discoglossidae*), 不仅数目多 $2n = 38-46$, 而且有 8—18 对微小染色体^[13]。而在特化无尾类, 不仅染色体数目渐次减少, 而且不再出现微小染色体。在绝大多数无尾类科中出现的 $2n = 26$, 可能是高等无尾类的原始核型, 在各自的辐射分化中, 独立地发生染色体数目的增多和减少。如细趾蟾科 (*Leptodactylidae*), $2n = 18-36$; 雨蛙科 (*Hylidae*), $2n = 22-30$; 蛙科 (*Ranidae*), $2n = 14-64$; 而蟾蜍科 (*Bufo* *nae*), $2n = 20$ 或 22 。着丝点融合、不等易位或臂间倒位可能导致数目减少, 而着丝点分离则是数目增多的原因^[19, 26]。蛙科中分布在我国西南山区的双团棘胸蛙 (*Rana phrynoides*), $2n = 64$, 且都为 T 染色体^[1]。它不应是蛙属的原始核型, 十分可能是次生地分离的结果。非洲的蛙科种类 *Astylosternus diadimatus*, $2n = 54$ 亦全部为 T, 被认为是分离所致^[8]。

综上所述, 现存三目两栖动物的原始核型都是由染色体数目多, 并有数目不等的微小染色体组成, 为 Ab 型。通过着丝点融合和微小染色体逐步整合到大染色体上, 以致完全无微小染色体出现, 在特化类群的核型中, 染色体数目减少, 由 Au 型转为 S 型。实验证明: 原始类群中微小染色体上的 5S DNA 基因, 在无微小染色体的高等类群中被整合到大染色体上。三目的这种核型演化是相互独立完成的。在某些特化类中, 伴随其辐射分化和物种形成, 着丝点分离, 可使数目增加; 臂间倒位可改变着丝点位置, 使核型由 S 转为 A^[19, 26]。有实验证明端粒可重新获得着丝点功能^[15]。

现存三目两栖动物由于辐射适应, 在外形和某些解剖结构有一定的差异; 因此长期有着单元或多元起源的争论。Gardiner^[12] 认为三

者同属无甲亚纲 (*Lissamphiba*), 同是化石离椎类 (*Temnospondylous*) 的姊妹群或后裔。因此, 其祖先应是具有 Ab 型的化石离椎类, 这种核型与现存肌鳍鱼类 (两栖类的远祖) 的有很大的差异, 如肺鱼类染色体数目少, 无微小染色体, 为典型的 S 型。

二、性染色体及多倍体

两栖动物的性染色体代表着染色体性别异化的初级阶段。早期的核型研究证明具有异形性染色体的种类寥寥无几, 而分带研究, 使具有异染色质化, 而有相同染色体形态的性染色体屡有发现, 称之为同形异配性染色体 (图 1B)。与羊膜动物迥然不同, 两栖动物中核型异形性染色体的种类为数甚少。如大头蛙 (*Pyxicephalus adspersus*)^[34] *Necturus maculosus*^[38]; 而多数为同形异染色质化异配性性染色体, 如 *Rana esculenta* 和中华大蟾蜍^[2, 3, 31]。两栖动物的性染色体可分为 (1) 雄性异配性染色体, 即 XX/XY 型, 计有无尾目的 *R. esculenta* (蛙科), *Gastrotheca rebbanubae* (雨蛙科), *Eupsophus migueli* (细趾蟾科); 有尾目 *Necturus* 属 (洞螈科) 的 5 种, *Triturus* 属 (蝾螈科) 的 3 种; 无肺螈科的南美几个属, 即 *Dendrotriton*, *Nototriton*, *Oedipina* 和 *Thorius*。(2) 雌性异配性染色体, 即 ZZ/ZW 型, 在无尾目中计有大头蛙, 中华大蟾蜍, *Discoglossus pictus* (盘舌蟾科); 有尾目中有 *Pleurodiles poireti*, *P. walti*, *Triturus cristatus* (蝾螈科) *Siren intermedia* (鳗螈科) *Ambystoma laterale* (纯口螈科)。蚓螈目尚未发现异配性染色体^[10, 36]。

与性染色体处于初级阶段相关, 两栖动物也有为数不多的多倍体物种和居群。有尾目的几种钝口螈——*Ambystoma platinium*, *A. tremblayi*, *A. texanumxlaterale*, 都是三倍体 ($14 \times 3 = 42$) 雌核发生种类, 还有 *Siren lacertima* 和 *Pseudobranchis striatus*, 为两性生殖的四倍体 ($13 \times 4 = 52, 16 \times 4 = 64$)。无尾目则有 *Xenopus rewezenziensis* ($18 \times 6 = 108$), *X. vestitus*, *X. sp.* ($18 \times 4 = 72$), *Neobatrachus*

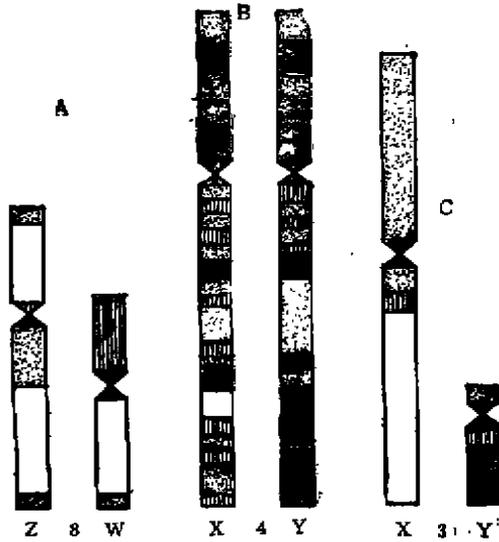


图1 两栖动物的异配性染色体 A. 大头蛙 ZW 型^[34]; B. *Rana esculenta* XY 型^[31]; C. *Necturus maculosus*: XY 型^[34]。数字(8,4,3)代表染色体对顺序号。

sudelli, *N. sutor* ($12 \times 4 = 48$), *Ceratoshryx atrita*, *C. ornata* ($13 \times 8 = 104$), *Odontophrynus americanus**, *Pleurodema bibronii*, *P. kriegi*, *Bufo danatensis*, *B. viridis** ($11 \times 4 = 44$), *B. sp.* ($10 \times 4 = 40$) *Hyla versicolor* ($12 \times 4 = 48$) *Phyllomedusa burmeisteri*, *Dicroplossus occipitalis* ($13 \times 4 = 52$) *Tomopterna delalandii* ($13 \times 4 = 52$)^[7,10,11,21]。蚓螈目未发现。

两栖动物的多倍体大都是杂交而成的。有二个或更多的二倍体类型的祖先种者,谓之异源多倍体 (Autopolyploidy); 另一种类型是由一个祖先种因各种诱变因子自然发生的,称为同源多倍体 (Autopolyploidy); 在减数分裂时可形成多价体联合,若多倍体形成时间延长,往往出现多倍体物种二倍体化,多价体也随之逐渐减少。

两栖动物中,只有少数种类具有超数染色体,如 *Leiopelma*, *Ascaphus* 两属的少数种^[24]。

三、带型 (Banding pattern)

该带型亦可称分化核型 (differentiation karyotype), 用于两栖动物的带型计有 Q-带、C-带、N-带、Ag-NORs 带、BrdUrd 复制带

等。在羊膜动物中广泛采用的 G-带、R-带 (反转带) 在两栖类中并不成功, 只有在 *Xenopus laevis*, *X. muelleri* 上有过报道, 但带纹很不理想, 国内有人尝试高分辨 G-带, 但重复性差。大多数两栖动物的 G-带、R-带不能显示, 给同源染色体的配对和识别带来困难。有一种观点认为, 产生这种现象是由于两栖动物染色体高度螺旋化的结果。Schmid^[32] 测定了蟾蜍中期染色体单位长度的 DNA 量, 结果表明它比人的高 1.5—3.0 倍, 致使带纹间距太小, 造成在光学显微镜下无法辨清^[32]。最近, Schmid^[32] 对 10 种无尾类的中期染色体进行测定, 发现事实并非如此, 如锄足蟾科的 *Scaphiopus bomsifrons*, *S. cauchi* 以及 *Xenopus laevis* 等, 其染色体单位长度的 DNA 量比人的要小, 可同样不显示 G-带^[37]。还应指出的是两栖动物虽然有 Q-带显示, 但却不是常染色质区域的带纹, 只显示异染色质区, 而与羊膜动物的 Q-带是不一样的。两栖动物的这种显带特点, 表明其常染色质有一种特殊的 DNA 组织结构。Holmquist^[35] 指出脊椎动物各纲的 DNA 特有碱基对成分是有差异的, 是近代演化的结果, 并认为变温动物的重 GC-DNA 区域较少, 缺少恒温动物所具有的长碱基 ($\geq 200\text{kb}$) 同源区域 (isochores), 而恒温动物常染色质区域的 Q-、G-、R-带是与这种结构相关的^[3]。目前, 利用 BrdU 的渗入、Giemsa, Hoechst 33258 复染的复制带技术可能是对两栖动物进行常染色质区域分化染色的唯一行之有效的方 法^[3,31,20]。

两栖类有二种 C-带, 一种是用碱预处理、解育后, 用 Giemsa 染色; 另一种是先用荧光染料处理后, Giemsa 染色, 即荧光 C-带。常规 Giemsa C-带有着丝点、着丝点周围、端部和插入 (中间) 型等四种, 是特异性染异染色质区域的, 可它并不能显示全部染色质区域。荧光 C-带在一定程度上弥补这一缺点, 芥子嗪吡啶的荧光 C-带可使 Giemsa C-带不显示的异染色

* 表示内有二倍体居群。

质区域发强光。

不同的荧光染料有碱基特异性,一类是 AT-特异,如 Hoechst 33258、阿的平、吖啶黄、芥子喹吖啶;另一类是 GC-特异,如色霉素、光神霉素 (Mithramycin)、放线菌素 D 等。有二种荧光 C-带类型: $C^+Q^-MM^-$ 和 $C^+Q^+MM^-$ (C^+ 表示 Giemsa C-带阳性, MM^+ ——光神霉素发强光, MM^- ——光神霉素发弱光, Q^+ ——芥子喹吖啶发强光, Q^- ——芥子喹吖啶发弱光), 这表明两栖动物有二种不同的异染色质, 一种富 AT, 一种富 GC^[35]。前者优先分布在臂中间和端部, 后者主要分布在着丝点附近, 一般 MM^+ 区域多于 Q^+ 区域^[37]。

两栖动物 C-带比较丰富, 有些种类 (*Hyla*, *Bufo*) 有 3—5 个 C-带^[32], 再常见的是着丝点 C-带。澳洲雨蛙 (*Lizoria*) 的整个臂 C-带阳性, 据查是常染色质转变为异染色质的结果^[38]。

³H-18S + 28S 原位杂交表明银染和 N-带技术是显示 NOR 的简便可靠方法。大多数两栖动物的 NOR 只有一对, 我们在少数锄足蟾科中发现二对 NORs。Ag-NORs 有近着丝点、插入、端位和末端等四种类型, 并有较普遍的 Ag-NORs 异形现象, 这是连续重复、丢失或减数分裂不等交换所致^[37]。Ag-NORs 的分布和位置具有种属特异性, 如齿突蟾 (*Scutiger*) 和齿蟾 (*Oreolalax*) 都有一对 NOR, 前者位于 2p, 后者位于 6q。在进化过程, 该基因位点通过相互易位、倒位等重组转移到另一染色体或片段。

用光神霉素染色, NOR 发强荧光, 表明其异染色质富 GC, 但不一定是有转录活性的 rRNA 区域。而银染或 N-带一般是显示有转录活性的 rRNA^[36, 37]。银染区域则不一定是 NOR, 而是附加的^[38, 61]。

银染与 N-带虽均为与显示 NOR 有关, 但机理有所不同。银染是银离子与某些蛋白质作用的结果, 而 N-带则是 Giemsa 染料与染色质某些蛋白结合的产物, 二者的作用底物——蛋白质可能不同。N-带的染色结果比较稳定, 而银染可由于培养条件、发育阶段的不同,

rRNA 基因是否具有转录活性而发生变化。与 N-带有关的染色质有二种非组蛋白成分 (NHCP), 分子量分别为 41000 和 55000, 称之为 N-带蛋白。

C-带、N-带及银染技术都与染色体的异染色质, 即重复顺序相关, 故三者有一定的关系。C-带有时与银染一致, 但很多是不一致的, 在有尾类中尤为明显^[61], N-带和银染也有类似情况, 银染并非总是 NOR。这表明异染色质具有异质性^[39, 37]。同时, 也存在着常染色质转变为异染色质的事例^[61]。

四、两栖动物基因组大小——“C 值怪事”

单倍性基因组的核 DNA 量大小称为 C 值, 二倍性基因组的称为 2C 值。资料表明蚓螈目的 $2C = 7.4—27.9\text{pg}$ ^[61]; 无尾目为 $2.0—36.0\text{pg}$, 众数值为 10pg ^[23]; 有尾目为 $33—192\text{pg}$, 明显地分为二群, 陆生类群仅 $33—82\text{pg}$, 而具有幼体成熟现象的种类可高达 $91—192\text{pg}$ ^[61]。可见从总体看, 两栖类的 C 值远比机能水平的哺乳动物、鸟大, 尤以有尾目甚之, 可高几倍至几十倍。若以基因数与 DNA 量正相关为由, 那么这种现象可称为两栖动物具有的第一个“C 值怪事”。

处于相近演化水平或具有相似机体结构水平的类群, 却有相差甚远的 C 值, 这是两栖动物的第二个“C 值怪事”。*Xenopus* 中的 *X. tropicalis* $C = 1.5\text{pg}$, 而 *X. laevis* $C = 3.0\text{pg}$ ^[61]; *Plethodon dunnii*, 47.5pg , 而 *P. cinereus* 22.5pg ; 在 *Ambystoma* 的 C 值变幅为 $40—103\text{pg}$; *Amphiuma* 的二个种的 C 值分别为 130 和 192pg ^[61]。可是 *Xenopus* 的二个种的 $2n$ 都是 36 ; *Plethodon* 和 *Amphiuma*, $2n = 28$ 。可见相互间并无倍性关系。

不同科之间也有类似情况, *Xenopus laevis* (Pipidae) $2n = 36$, $C = 3.0\text{pg}$, *Bufo bufo* (Bufonidae) $2n = 22$, $C = 7.0\text{pg}$, *Trisurus cristatus* (Salamandridae) $2n = 22$ $C = 23.0\text{pg}$, *Necturus maculosus* (Proteidae) $2n = 38$,

$C = 52.0\text{pg}^{[28,29]}$ 。这些数据表明具有相同或相近 $2n$ 而 C 值相差很大,二者间并无平行关系。

根据 DNA 再结合动力学实验,表明无论是科间、属间或种间的 C 值差异,主要是重复 DNA 的差异: *Xenopus laevis* ($C = 3.0\text{pg}$) *Bufo bufo* ($C = 7.0\text{pg}$), 而简单顺序分别为 1.9 和 1.4pg, 二者相差无几,而且 C 值大者简单顺序反而少。还有 *Triturus cristatus* ($2n = 24$) $C = 23.0\text{pg}$ *Necturus maculosus* ($2n = 38$) $C = 52.0\text{pg}$, 而简单顺序分别为 10.8 和 12.0pg, 相差甚少。重复顺序的增加主要是中等重复顺序。有尾目的简单顺序为 6.3—45.0pg, 无尾目为 2.6—7.6pg, 两者相差一个数量级。还发现简单顺序的相对量随基因组的增大而减少^[6,9,28,29]。

在多倍体化的演化过程中 C 值随着 $2n$ 的倍增而倍增,如 *Xenopus tropicalis* $2n = 20$ $2C = 3.55\text{pg}$, *X. laevis* $2n = 36$, $2C = 6.35$ — 8.45pg , 而四倍体 *X. vestitus* ($4n = 72$) 则是 12.57—12.83pg, 六倍体的 *X. ruwenzoriensis* ($6n = 108$) 是 16.25pg。 *Odontophrynus*, *Hyla* 属内种间也有类似情况^[10,28,29]。

两栖动物起源于总鳍鱼或肺鱼? 尚未定论。现存总鳍鱼-矛尾鱼之 $2C = 2.8\text{pg}$, 根据化石骨细胞测定,化石总鳍鱼是 5.0—10.0pg, 与现生无尾目接近,而化石和现生肺鱼为 80—163pg, 又与现生有尾目接近。因此,两栖动物的大基因组可能与其祖先相关。

两栖动物目级以下阶元间 C 值的较大变异,可能是一种选择性适应特征, C 值与红细胞的体积,核体积和表面积正相关,而与细胞表面积/细胞体积之比呈逆相关^[6,28,29]。在无尾类和 C 值 $< 70\text{pg}$ 的有尾类中上述关系尤为明显。而 C 值 $> 70\text{pg}$ 且具童体生殖的有尾类中,并无这种相关性^[6,10]。 C 值与胚胎发育速度之间逆相关,低者发育速度快,因此在冷水环境中发育的无尾类和发育期长具有童体生殖的有尾类,有较大的基因组。童体生殖的有尾类的大量 DNA 是通过结构基因的连续重复获得的,被认为是一群“进化不育”的动物。细胞体积,发

育速度及胞核 DNA 量的变化是 r -选择与 K -选择之间相互平衡的结果, r -选择有利于小的细胞、快的发育速度和低的 C 值, K -选择却与之相反^[6]。

参 考 文 献

- [1] 刘万国等 1984 蛙属中的一个特殊核型——双团棘胸蛙的核型及其 C -带和银带的研究。遗传学报 11 (1): 61—64。
- [2] 尚克刚等 1983 中华大蟾蜍 ZW 型性别决定的细胞遗传学的证据。遗传学报 10(4): 298—305。
- [3] 温昌祥等 1983 中华大蟾蜍染色体分带和姐妹染色单体互换研究。遗传学报 10(4): 291—297。
- [4] 温昌祥 1984 两栖类染色体分带技术研究进展。动物学研究 5(1)增刊: 33—37。
- [5] Bernardi G. et al. 1985 The mosaic genome of warm-blood Vertebrates. Science 228: 953—958.
- [6] Birstein V. J. 1982 Structural characteristics of genome organization in Amphibians: differential staining of chromosomes and DNA structure. Jour. Molecular Evolution 18: 73—91.
- [7] Bogart J. P and M. Tandy. 1976 Polyploid Amphibians: three more diploidtetraploid cryptic species of frogs. Science 193: 334—335.
- [8] ————. 1981 Chromosome lineage in African rainforest frogs. Monit. Zool. Italiani NS Suppl. 15: 55—91.
- [9] Cavalier-Smith T. 1978 Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, Selection for cell volume and cell growth rate and the solution of the DNA C -value paradox. J. Cell Sci. 34: 247—278.
- [10] Duellman W. E and L Trueb. 1985 Biology of Amphibians, Mc Graw-Hill Book Company, New York, St. Louis, San Francisco.
- [11] Fischberg M., and H. R. Kobel. 1978 Two polyploid *Xenopus* species from western Uganda. Experientia, 34: 1012—1014.
- [12] Gardiner B. G. 1983 Gnathostoma Vertebrate and the classification of the Amphibia. Zool. J. Linnean Soc. 79: 1—59.
- [13] Green D. M. et al. 1980 Karyology and systematic relationships of the tailed frog *Ascaphus truci*. Herpetologica 36: 346—352.
- [14] Green D. M. et al. 1987 Supernumerary chromosome variation and heterochromatin distribution in the endemic New Zealand frog *Leiopelma hochstetteri*. Chromosoma (Berl.) 95: 339—344.
- [15] Holmquist G. P. B. Dancis 1979 Telomere replication kinetochore and Satellite DNA evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 76: 4566—4570.
- [16] Horner H. A et al., 1983 C value and cell volume, their significance in the evolution and development of Amphibians. J. Cell Sci. 63: 135—146.
- [17] Kezer J and S. K. Sessions, 1979 Chromosome variation in the plethodontid salamander, *Ancides ferreus*. Chromosoma 71: 65—80.

- [18] King M. 1980 C-banding studies on Australian Hylid Frog: secondary constriction structure and the concept of Euchromatin Transformation. *Chromosoma* (Berl.) 80: 191—217.
- [19] Kuramoto M. 1985 Karyological divergence in three ptylymantine frog family Ranidae. *Amphibia-Repsila* 6(4): 355—362.
- [20] Kuro-o M., et al., 1987 Cytogenetic studies of *Hynobiidae* (Urodela), VI. R-banding patterns in five pond-type *Hynobius* from Korea and Japan. *Cytogenetics and Cell Genetica* 44: 69—75.
- [21] Mahony M. and E. S. Robinson 1980 Polypoidy in the Australian leptodactylid frog genus *Neobatrachus*. *Chromosoma* 61: 199—212.
- [22] ————. 1986 Nucleolar organizer region (NOR) location in karyotypes of Australian ground frogs (Family Myobatrachidae): *Genica* (the Hague) 68(2): 119—127.
- [23] Matsui, S. et al. 1986 N-band proteins of nucleolar organizers; chromosomal mapping, subnucleolar localization and ribosomal DNA binding. *Chromosoma* 93 (3): 231—242
- [24] Morescalchi, A. 1975 Chromosome evolution in caudate Amphibia. *Evol. Biol.* 6: 339—387.
- [25] ————. 1977 "Phylogenetic aspects of karyological evidence" in M. K. Hecht, P. C. Goody and B. M. Hecht (eds.), Major patterns in Vertebrate Evolution, New York Plenum Press, 149—193.
- [26] ————. 1979 New developments in Vertebrate Cytotaxonomy I. Cytotaxonomy of the Amphibians. *Genetica* 50: 179—193.
- [27] Nussbaum, R. A and G. Treisman 1981 Cytotaxonomy of *Ichthyophis glutinosus* and *I. kohni* two primitive caecilians from southeast Asia. *J. Herpetol.* 15: 109—113.
- [28] Olmo, E and A. Morescalchi 1975 Evolution of the genome and cell sizes in Salamanders. *Experientia*, 31: 804—806.
- [29] ————. 1978 Genome and cell sizes in frogs: a comparison with salamanders *Experientia*. 34: 44—46.
- [30] Rocchi, A 1982 On the heterogeneity of heterochromatin. *Caryologia* 35(2): 169—189.
- [31] Schemmepf W and M. Schmid. 1981 Chromosome banding in Amphibia VI. BrdU-replication patterns in Anura and demonstration of XX/XY sex chromosomes in *Rana esculenta*. *Chromosoma* 83: 697—710.
- [32] Schmid, M 1978 Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma* 66: 361—388.
- [33] ————. 1978a Chromosome banding in Amphibia II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizers in Ranidae, Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma* 68: 131—148.
- [34] ————. 1980 Chromosome banding in Amphibia V. Highly differentiated ZW/YZ sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus asperus* (Anura, Ranidae). *Chromosoma* 80: 69—96.
- [35] ————. 1980a Chromosome banding in Amphibia IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosomes region in Anura. *Chromosoma* 77: 83—103.
- [36] ————. 1983 Evolution of sex chromosome and heterogametic system in Amphibia. *Differentiation* 23 (Suppl.): 13—22.
- [37] Schmid, M et al., 1987 Chromosome banding in Amphibia XI. Constitutive heterochromatin, nucleolus organizers, 18S+28S and 5S ribosomal RNA genes in Ascaphiidae, Pipiidae, Discoglossidae and Pelobatidae. *Chromosoma* 95(4): 271—284.
- [38] Sessions S. K. 1980 Evidence for a highly differentiated sex chromosome heteromorphism in the salamander *Necturus maculosus* (Rafinesque). *Chromosoma* (Berl.) 77: 157—168.
- [39] Sessions, S. K. et al. 1982 Cytogenetics of Chinese Giant Salamander *Andrias davidianus* (Blanchard): the Evolutionary Significance of Cryptobranchoid karyotypes. *Chromosoma* 86(3): 341—357.
- [40] Wake, M. H. et al. 1980 The karyotypes of *Typhlocetes compressicauda* (Amphibia, Gymnophiona) with comments on chromosome evolution in caecilians. *Experientia* 36: 171—172.