

Dr. Robert J. Behnke  
Department of Fishery and  
Wildlife Biology  
Colorado State University  
Fort Collins, Colorado 80523  
USA

January 29, 1992

Dear Dr. Behnke,

I'm sending for you the manuscript with description of the karyotype of smallmouth charr *Salvelinus elgyticus* from Elgygytgyn Lake in Central Chukotka according to your invitation for publication. I had written about this paper in my previous letter. I hope this paper will be suitable for Journal of Ichthyology.

The paper was prepared according to Journal of Fish Biology instruction to authors. If you will have some remarks to the paper preparing by such type or others (to shape, style, contents of the paper and so on) I glad to see them.

Sincerely yours



S. Frolov



Webster prefers 'char' to 'charr', and lists the latter as a variant (spelling) of the former.

Karyotype and chromosomal variability in smallmouth charr, *Salvelinus elgyticus*, Viktorovsky et Glubokovsky, from Elgygytgyn Lake

S. V. Frolov

Institute of Marine Biology, Russian Academy of Sciences, 17 Palchevskogo Street, Vladivostok, Russia

The karyotype of the endemic smallmouth charr, *Salvelinus elgyticus*, Viktorovsky et Glubokovsky from Elgygytgyn Lake, Central Chukotka Peninsula, was examined. Although morphological divergence of smallmouth charr from other species of charr is very great, its karyotype is very similar to Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). It consists of 76-78 chromosomes,  $2n=77$ . Almost all fish studied exhibited mosaics in chromosome number with predominance of cells with  $2n=77$  karyotype. Similarity of  $2n=77$  karyotype of smallmouth charr with *Salvelinus alpinus* (L.) one indicates that smallmouth charr ancestor have come from the Arctic region. The

Abstr

1. INTRODUCTION

The charrs of the genus *Salvelinus* attract researcher's attention for a long time. There are two opposing points of view on systematics and phylogeny of these fishes in Russia. The main differences have centered on differences of opinion concerning classification at intraspecific and interspecific levels. The first point of view is based on recognition of a few "good" species of charr: *Salvelinus namaycush* (Walbaum), *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and extremely



polymorphic Arctic charr <sup>complex, 2-grouped under</sup> *Salvelinus alpinus* (L.) ~~are real~~  
~~species~~. This opinion <sup>has been long</sup> expressed by Prof. K.A. Savvaitova and  
 her colleagues (Savvaitova, 1989). The second <sup>more</sup> point of view <sup>reflects the classification</sup> is  
~~closed to the idea of~~ <sup>numerous species of</sup> Berg (1948) that Arctic and Pacific  
 regions are inhabited by ~~plenty~~ <sup>that can</sup> widely distributed and locally  
 endemic ~~species of~~ charrs which may be separated on the basis  
 of their morphological characters. <sup>In recent years</sup> some of new species of  
 charrs <sup>have been</sup> ~~are~~ described <sup>that including two species from Lake Elgygytyn</sup> (Glubokovsky, 1977;  
 Viktorovsky <sup>et al.</sup>, 1981; <sup>Chereshnev and Skopets, 1990</sup> Chereshnev <sup>et al.</sup>, 1989). These  
 authors divide ~~the~~ Palearctic charr species into two  
 phylogenetic groups <sup>the more primitive</sup> ~~in~~ the more archaic Arctic group of species  
<sup>that which includes</sup> ~~in that number~~ *Salvelinus alpinus* (L.), *Salvelinus boganidae*,  
~~Berg~~ *Salvelinus czerskii* Prjagin, *Salvelinus neiva* <sup>and</sup> Taranetz,  
*Salvelinus taranetzi* (Kaganovsky) and the more advanced Pacific  
 group of species <sup>that including</sup> (among others) *Salvelinus leucomaenis*,  
 (Pallas), *Salvelinus malma* (Walbaum), *Salvelinus curilus*  
 (Pallas), <sup>and</sup> *Salvelinus albus* (Glubokovsky). Obviously some  
 questions on <sup>the</sup> charr problem may be resolved by investigation <sup>ing</sup> of  
 endemic charrs <sup>of</sup> inhabiting some lakes in <sup>the</sup> Arctic region and  
<sup>on</sup> the Kamchatka Peninsula. <sup>One of such lakes is</sup> Elgygytyn Lake in  
 the Central Chukotka <sup>SK Peninsula has highly divergent</sup> where three species of charrs were found  
 (Viktorovsky <sup>et al.</sup>, 1981; Chereshnev & Skopets, 1990). Two  
 out of these <sup>the</sup> species, the longfin charr, *Salvelinus svetovidovi*,  
 Chereshnev et Skopets, and <sup>the</sup> a smallmouth charr, *Salvelinus*  
*elgyticus* <sup>the</sup> Viktorovsky et Glubokovsky are endemic <sup>to</sup> of this lake;  
 the third species, <sup>recognized as</sup> ~~boganide charr~~, *Salvelinus boganidae*, ~~Berg~~ is  
 a Siberian endemic.



The karyotype of <sup>the</sup> smallmouth charr<sup>s</sup> is described in <sup>this</sup> present paper.

## II MATERIALS AND METHODS

Karyotypes of 8 smallmouth charrs (3 females and 5 males) were studied. Fishes were captured by nets at depths between 5 and 100 m. Identification of samples as smallmouth charr was made by ~~its~~ morphological features (Viktorovsky <sup>from</sup> et al., 1981). After colchicine injection (1 ml of 0.5% solution per 1000 g of body weight), ~~fishes~~ <sup>a</sup> were placed in ~~fishpond~~ <sup>with a</sup> at depth <sup>of</sup> 5 m. Chromosomal slides were prepared by <sup>The</sup> air-drying method (Frolov, 1989). The main steps of this method are <sup>a</sup> preparing of kidney cell suspension in 0.5% solution of KCl ~~by syringe~~, hypotonic treatment by 0.5% solution of KCl <sup>for</sup> during 25-30 min, centrifugation of suspension with 1000 r.p.m. <sup>for</sup> during 5 min, fixation of sediment by ethanol-glacial acetic acid (3:1) <sup>for one</sup> during an hour <sup>placing samples at</sup> and dropping the fixed suspension on slides. Slides were stained with Giemsa (4% solution in phosphate buffer pH 6.8).

## III RESULTS

Results of chromosome counting in kidney cells and counting of cells studied in each fish are shown in Table 1. The karyotype of smallmouth charr is variable, and consists of 76-78 chromosomes with <sup>a</sup> constant  $2n=98$ . Obviously, <sup>the</sup> variability of chromosome number is <sup>the result of</sup> based on Robertsonian rearrangement <sup>exhibit</sup>. Almost all fishes studied are mosaic in chromosome number with <sup>a</sup> predominance of cells with 77 chromosomes. No connection of



chromosome number <sup>with</sup> and sex of fishes studied was found.

9 The karyotype of ~~smallmouth char~~ <sup>##</sup>  $2n=78$  consists of 18 metacentric, 2 submetacentric and 58 subtelo- and acrocentric chromosomes, <sup>##</sup>  $NF=98$  (Fig. 1(a)). <sup>##</sup> The two out of <sup>the</sup> four smallest metacentric chromosomes have <sup>3</sup> satellite <sup>on</sup> in their <sup>short</sup> small arms. Submetacentric chromosomes are equal in ~~their~~ length to metacentric chromosomes of the second pair; they have satellite <sup>s</sup> on in their short arms too. Satellites are not visible in all metaphase spreads and <sup>are</sup> often visible only in one chromosome of each pair (Fig. <sup>##</sup> 1). Subtelo- and acrocentric chromosomes grade evenly from ~~the~~ largest to ~~the~~ smallest. The largest are equal in ~~their~~ length to metacentrics of the seventh pair; <sup>##</sup> the smallest are much shorter than <sup>the</sup> smallest metacentrics. In some spreads the first pair <sup>of</sup> acrocentrics are distinctly longer than the second pair <sup>of</sup> acrocentrics.

<sup>##</sup> The <sup>##</sup> karyotype  $2n=77$  <sup>has</sup> there is one additional metacentric but two acrocentrics are absent (Fig. 1(b)). <sup>##</sup> An unpaired metacentric is some <sup>what</sup> longer <sup>than</sup> or equal in its length to metacentrics of the first pair. Karyotype  $2n=76$  is characterized by having two additional metacentrics <sup>##</sup> and <sup>##</sup> <sup>locking</sup> missing four acrocentrics (Fig. 1(c)). Cells with such <sup>2</sup> karyotype were noted in three fishes.

#### IV DISCUSSION

Studying of the char's in places of endemism and sympatry of different species <sup>##</sup> can provide <sup>##</sup> information for <sup>##</sup> a better understanding of their systematics, evolution and phylogeny. <sup>##</sup> Elgygytgyr Lake in Central Chukotka <sup>##</sup> is <sup>##</sup> typical refugium and <sup>##</sup> site of endemism. It



lies (is situated) at <sup>an</sup> elevation of 490 m and during <sup>the</sup> Pleistocene it was <sup>un</sup>glaciated <sup>and</sup> <sup>not</sup> submerged by <sup>the</sup> sea water during <sup>a</sup> ocean transgressions. This lake was formed in <sup>a</sup> meteorite crater 3.5 to 0.5 million years ago (Gurov & Gurova, 1981). During <sup>the</sup> <sup>past</sup> time it <sup>has</sup> had higher water level in some periods, flowing <sup>to the</sup> in Kolyma River (Arctic basin) and may <sup>have</sup> served as a refugium for charps of <sup>the</sup> Arctic region. <sup>At</sup> <sup>present</sup> it <sup>has</sup> outlet is to the flowing in Anadyr River (Bering Sea, Pacific basin).

??  
+ or -  
?

The Smallmouth charp is one out of three species of charps inhabiting <sup>the</sup> Elgygytgyn Lake. It is a charp living at depths <sup>of</sup> 50 m <sup>or</sup> more. According to morphological data it has some similarities to <sup>the</sup> charps of the Arctic group, especially with Arctic charp *Salvelinus alpinus* (Viktorovsky <sup>et al.</sup>, 1981); <sup>At</sup> however, the great <sup>reflecting</sup> divergence of smallmouth charp <sup>in</sup> <sup>direction</sup> <sup>to</sup> for feeding <sup>on</sup> <sup>benthic</sup> bottom plankton organisms <sup>is</sup> unique among charps.

In spite of great morphological divergence, smallmouth charp's <sup>is</sup> karyotype which <sup>is</sup> quite similar to <sup>the</sup> karyotype of <sup>the</sup> Arctic charp studying by some authors (Cavender, 1984; Hartley, 1989; Pleyte <sup>et al.</sup>, 1989). <sup>The</sup> smallmouth charp karyotype <sup>of</sup>  $2n=78$ ,  $NF=98$  is apparently identical to <sup>the</sup> *alpinus* in gross morphology. ~~Considerable similarity of these two karyotypes is in a good accordance with morphological data.~~ This similarity of karyotypes also <sup>the</sup> <sup>of</sup> <sup>the</sup> indicates that smallmouth charp <sup>ancestors</sup> had <sup>come</sup> gone in Elgygytgyn Lake from <sup>the</sup> Arctic basin. <sup>The</sup> Pliocene origin <sup>of</sup> Elgygytgyn Lake <sup>and</sup> <sup>considering</sup> <sup>the</sup> <sup>degree</sup> <sup>of</sup> <sup>divergence</sup> <sup>peculiarity</sup> of smallmouth charp, it is strange that <sup>divergence</sup> of its karyotype <sup>is</sup> so small. This <sup>situation</sup> may serve as good <sup>appears</sup> to be



2<sup>n</sup> example of uneven rates of morphological and karyological evolutions.

~~Mosaicism of smallmouth charr karyotype is its peculiarity.~~  
 Such type <sup>Polymorphic</sup> of <sup>2n</sup> karyotype <sup>variability</sup> is known in different species of salmonine fishes (Ohno <sup>nom</sup> et al., 1965; Hartley & Horne, 1984; Hartley, 1988). It has <sup>s</sup> been ~~also~~ described in some species of charrs such as *Salvelinus namaycush* (Walbaum) <sup>2nd</sup> and *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) (Davisson <sup>nom</sup> et al., 1973), endemic charrs of Kronotskoye Lake on Kamchatka (Viktorovsky, 1978), <sup>2nd</sup> *Salvelinus albus* Glubokovsky from <sup>The</sup> Kamchatka River (Frolov, in press). According <sup>to current</sup> present day data, <sup>S. alpinus</sup> Arctic charr, ~~has~~ consistently <sup>has</sup> a <sup>of ##</sup> ~~invariable~~ karyotype <sup>##</sup>  $2n=78$ ,  $NF=98$  almost in all populations in Canada, Norway and Scotland (Cavender, 1984; Phillips <sup>nom</sup> et al., 1988; Pleyte <sup>nom</sup> et al., 1989). One <sup>had</sup> out of 27 fishes studied with  $2n=77$ ,  $NF=98$  was found <sup>from one</sup> in the ~~only~~ population in Scotland (Hartley, 1989), <sup>was</sup> and 80 chromosomes with 20 metacentrics were ~~claimed for a relict population in~~ <sup>described in</sup> fishes from USA <sup>(Maine)</sup> <sup>USA</sup> population (Disney & Wright, 1987). ~~But~~ this type of chromosomal variability, <sup>However,</sup> differs from intraindividual mosaicism founded in smallmouth charr.

Another peculiarity of <sup>the</sup> smallmouth ~~charr~~ karyotype is a predominance of cells with <sup>2n</sup> odd number of chromosomes. Almost 70% of <sup>The</sup> cells observed have  $2n=77$ ,  $NF=98$ . ~~Obviously such heterozygous state of karyotype demonstrates an initial stage of smallmouth charr karyotype divergence and may reflect the tendency of~~ chromosome number reduction <sup>in it</sup> during evolution of this ~~charr~~ karyotype.



Acknowledgement. The author

- 7 -

My thanks to Dr. M. B. Skopets (Institute of Biological Problems of the North, Magadan) for his technical assistance in obtaining the ~~fish samples~~ <sup>specimens</sup> and its identification, ~~to~~ <sup>To</sup> Mrs. A. V. Molodichenko (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for ~~help in translation~~ <sup>help in translation</sup> and revision of the English language version of the manuscript and ~~to~~ <sup>To</sup> Dr. M. K. Glubokovsky (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for his ~~critical~~ <sup>reviews</sup> comments of this manuscript.

Literature Cited  
References.

- Berg, L. S. (1948). *Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries*, Vol. 1. Leningrad, Acad. Sci. USSR Press. 466 p. [In Russian].
- Cavender, T. M. (1984). Cytotaxonomy of North American *Salvelinus*. In *Biology of the Arctic char*, Proceedings of the International Symposium on Arctic Char, Winnipeg, Manitoba, May 1981, [Johnston, L. & Burns, B. L. eds], pp. 431-445. Winnipeg, Univ. Manitoba Press.
- Chereshnev, I. A., Skopets, M. B. & Gudkov, P. K. (1989). New species of char *Salvelinus levanidovi* sp. nov. from the Okhotsk Sea basin. *Voprosy Ichthyologii* **29**, 691-704 [In Russian].
- Chereshnev, I. A. & Skopets, M. B. (1990). *Salvethymus svetovidovi* gen. et sp. nova <sup>1</sup>/<sub>M</sub> a new endemic fish of the subfamily Salmoninae from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). *Voprosy Ichthyologii* **30**, 201-213. [In Russian].
- Davison, M. T., Wright, J. E. & Atherton, L. M. (1973). Cytogenetic analysis of pseudolincage of LDH loci in the



teleost genus *Salvelinus*. *Genetica* **73**, 645-658.

Disney, J.E. & Wright, J.E., Jr. (1987). Cytogenetic analysis of a *Salvelinus* hybrid reveals an evolutionary relationship between the parental species. *Cytogenetics and Cell Genetics* **45**, 196-205.

Frolov, S.V. (1989). Differentiation of sex chromosomes in the *Salmonidae*. 1. Karyotype and sex chromosomes in *Parasalmo mykiss*. *Tsitologia* **31**, 1391-1394. [In Russian].

Frolov, S.V. Karyotypes of *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and white char *S. albus* Glubokovsky from the Kamchatka River basin. In *Biology of the charids of the Far East* (Chereshnev, I.A. & Glubokovsky, M.K., eds). Vladivostok, Far East Sci. Branch Press (in press). [In Russian].

Glubokovsky, M.K. (1977). *Salvelinus albus* sp. n. from the Kamchatka River basin. *Biologiya Morya* **4**, 49-57 [In Russian].

Gurov, E.P. & Gurova, E.P. (1981). Geological structure and shock metamorphism of volcanic rocks in impact crater Elgygytgyn. Kiev, Inst. Geol. Sci. 60 p. [In Russian].

Hartley, S.E. (1988). Cytogenetic studies of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Journal of Fish Biology* **33**, 735-740.

Hartley, S.E. (1989). Chromosomes and constitutive heterochromatin distribution in Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.) (Pisces: Salmonidae). *Genetica* **79**, 161-169.

Hartley, S.E. & Horne, M.T. (1984). Chromosome polymorphism and constitutive heterochromatin in Atlantic salmon, *Salmo*

ia)  
7  
1



salar. *Chromosoma* **89**, 377-380.

Ohno, S., Stenius, C., Faisst, E. & Zenzes, M. T. (1965). Post-zygotic chromosomal rearrangement in rainbow trout (*Salmo irideus* Gibbons). *Cytogenetics* **4**, 117-129.

Phillips, R. B.; Pleyte, K. A. & Hartley, S. E. (1988). Stock-specific differences in the number and chromosome position of the nucleolar organizer regions in arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Cytogenetics and Cell Genetics* **48**, 9-12.

Pleyte, K. A., Phillips, R. B. & Hartley, S. E. (1989). Q-band chromosomal polymorphisms in arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Genome* **32**, 129-133.

Savvaitova, K. A. (1989). Arctic char (structure of population systems, perspectives of using of reserves in economy). Moscow, Agropromizdat. 223 p. [In Russian.]

Viktorovsky, R. M. (1978). Mechanisms of speciation of the char of Kronotskoye Lake. Moscow, Nauka. 111 p. [In Russian.]

Viktorovsky, R. M., Glubokovsky, M. K., Ermolenko, L. N. & Skopets, M. B. (1981). Char of the genus *Salvelinus* from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). In *Fishes in salmonine rivers ecosystems of the Far East* (Levanidov, V. A. ed.), p. 67-78. Vladivostok, Far East Sci. Center Press. [In Russian.]

Er  
or  
yn  
?



[Table 11] Chromosome numbers in kidney cells of smallmouth charr *Salvelinus elgyticus* Victorovsky et Glubokovsky

Fish Sex	Number of cells				Total
	NF=98		NF=98		
	2n=76	2n=77	2n=78		
1 m	-	5	4	-	9
2 m	-	21	-	1	22
3 f	-	10	11	-	21
4 f	-	3	8	1	12
5 m	3	16	-	-	19
6 m	1	8	1	-	10
7 m	1	9	-	1	11
8 f	-	2	-	1	3
Total	5	74	24	4	107

set no



Legend to figure

[Figure 7] Karyotypes of smallmouth charr, *Salvelinus elgyticus*  
Viktorovsky et Glubokovsky  $2n=78$ ,  $NF=98$  (a),  $2n=77$ ,  
 $NF=98$  (b), and  $2n=76$ ,  $NF=98$  (c). Chromosomes with  
satellites are underlined.



# Karyotype and Chromosomal Variability in Smallmouth Char, *Salvelinus elgyticus*, from Lake Elgygytgyn

S.V. Frolov

Institute of Marine Biology

Russian Academy of Sciences

Vladivostok

The karyotype of the endemic smallmouth char, *Salvelinus elgyticus*, from Lake Elgygytgyn, central Chukotsk Peninsula, was examined. Although morphological divergence of smallmouth char from other species of char is great, its karyotype is similar to Arctic char, *Salvelinus alpinus*. It consists of 76–78 chromosomes,  $NF = 98$ . Almost all fish studied exhibited mosaics in chromosome number with a predominance of cells with  $2n = 77$ . The karyotype of the smallmouth char indicates that its ancestor came from the Arctic region.

## Introduction

There are two opposing points of view on systematics and phylogeny of char in Russia. The main differences have centered on clarification at intraspecific and interspecific levels. One point of view is based on recognition of a few "good" species—*Salvelinus namaycush*, *S. fontinalis*, *S. leucomaenis*, and an extremely polymorphic Arctic char complex, grouped under *S. alpinus*. This



opinion has long been expressed by K.A. Savvaitova and her colleagues (Savvaitova, 1989). The second viewpoint reflects the classification of Berg (1948) that Arctic and Pacific regions are inhabited by numerous species of widely distributed and locally endemic char that can be separated on the basis of morphological characters.

In recent years, new species of chars have been described that include two species from Lake Elgygytgyn (Glubokovsky, 1977; Viktorovsky et al., 1981; Chereshev and Skopets, 1990; Chereshev et al., 1989). These authors divide Palearctic char species into two phylogenetic groups—a more primitive Arctic group of species that includes *Salvelinus alpinus*, *S. boganidae*, *S. czerskii*, *S. neiva*, and *S. taranetzi*, and a more advanced Pacific group of species that includes *S. leucomaenis*, *S. malma*, *S. curilus*, and *S. albus*.

Some questions on the char problem may be resolved by investigating endemic char of some lakes in the Arctic region and the Kamchatkan Peninsula. Lake Elgygytgyn in the central Chukotsk Peninsula has three highly divergent species of chars (Viktorovsky et al., 1981; Chereshev and Skopets, 1990). Two of these species—the longfin char, *Salvethymus svetovidovi*, and the smallmouth char, *Salvelinus elgyticus*—are endemic to this lake; the third species, recognized as *Salvelinus boganidae*, is a Siberian endemic.

The karyotype of the smallmouth char is described in this paper.

#### Materials and Methods

Karyotypes of 8 smallmouth char (3 females and 5 males) were studied. Fishes were captured by nets at depths between 5 and 100 m. Identification of samples as smallmouth char was



made by morphological features (Viktorovsky et al., 1981). After colchicine injection (1 ml of 0.5 percent solution per 100 g of body weight), chromosomal slides were prepared by the air-dry method (Frolov, 1989). The main steps of this method are a kidney-cell suspension in 0.5 percent solution of KCl, hypotonic treatment by 0.5 percent solution of KCl for 25–30 min, centrifugation of suspension at 1000 rpm for 5 min, fixation of sediment by ethanol-glacial acetic acid (3:1) for 1 h, and placing samples of the fixed suspension on slides. Slides were stained with Giemsa (4 percent solution in phosphate buffer pH 6.8).

### Results

Results of chromosome counting in kidney cells in each fish are shown in the table. The karyotype of smallmouth char is variable, consisting of 76–78 chromosomes with a constant NF = 98. Obviously, the variability of chromosome number is the result of Robertsonian rearrangement. Almost all fish studied exhibit a mosaic in chromosome number with a predominance of cells with 77 chromosomes. No connection of chromosome number with sex was found.

The karyotype of  $2n = 78$  consists of 18 metacentric, 2 submetacentric, and 58 subtelo- and acrocentric chromosomes, NF = 98 (Fig. (a)). Two of the four smallest metacentric chromosomes have a satellite on their short arms. Submetacentric chromosomes are equal in length to metacentric chromosomes of the second pair; they have satellites on their short arms too. Satellites are not visible in all metaphase spreads and are often visible only in one chromosome of each pair (Figure). Subtelo- and acrocentric chromosomes grade evenly from largest to smallest. The largest are equal in length to metacentrics of the seventh pair; the smallest are much shorter than the smallest metacentrics. In some spreads, the first pair of acrocentrics are distinctly longer than the second pair of acrocentrics.



The karyotype  $2n = 77$  has one additional metacentric but two acrocentrics are absent (Fig. (b)). An unpaired metacentric is somewhat longer than or equal in its length to metacentrics of the first pair. Karyotype  $2n = 76$  is characterized by having two additional metacentrics and lacking four acrocentrics (Fig. (c)). Cells with such a karyotype were noted in three fish.

### Discussion

Study of chars in places of endemism and sympatry of different species can provide useful information for better understanding their systematics, evolution, and phylogeny. Lake Elgygytgyn in central Chukotsk is a typical refugium and site of endemism. It lies at an elevation of 490 m and during the Pleistocene it was unglaciated and not submerged by the sea during ocean transgressions. This lake was formed in a meteorite crater  $3.5 \pm 0.5$  million years ago (Gurov and Gurova, 1981). During the past, it has had higher water levels in some periods, flowing to the Kolyma River (Arctic basin) and may have served as a refugium for char of the Arctic region. At present, its outlet is to the Anadyr River (Bering Sea, Pacific basin).

The smallmouth char is one of three char species inhabiting the lake. It lives at depths of 50 m or more. According to morphological data, it has some similarities to chars of the Arctic group, especially the Arctic char, *Salvelinus alpinus* (Viktorovsky et al., 1981); however, the great divergence of smallmouth char reflecting adaptations for feeding on benthic planktonic organisms is unique among chars.



In spite of great morphological divergence, the smallmouth char's karyotype is quite similar to the karyotype of the Arctic char (Cavender, 1984; Hartley, 1989; Pleyte et al., 1989). The smallmouth char karyotype of  $2n = 78$ ,  $NF = 98$  is apparently identical to *alpinus* in gross morphology. This similarity of karyotypes indicates that the ancestor of the smallmouth char came from the Arctic basin. Considering the Pliocene origin of Lake Elgygytgyn and the degree of morphological divergence of smallmouth char, it is strange that its karyotype shows so little divergence. This appears to be an example of uneven rates of morphological and karyological evolution.

Polymorphic karyotypes are known in different salmonine fishes (Ohno et al., 1965; Hartley and Horne, 1984; Hartley, 1988). It has been described in such chars as *Salvelinus namaycush* and *S. fontinalis* (Davisson et al., 1973), endemic chars of Lake Kronotskoye on Kamchatka (Viktorovsky, 1978), and *S. albus* from the Kamchatka River (Frolov, in press). According to current data, *S. alpinus* consistently has a karyotype of  $2n = 78$ ,  $NF = 98$  in all populations in Canada, Norway, and Scotland (Cavender, 1984; Phillips et al., 1988; Pleyte et al., 1989). One of 27 fish from one population in Scotland (Hartley, 1989) had  $2n = 77$ ,  $NF = 98$ , and 80 chromosomes with 20 metacentrics were claimed for a relict population in Maine (USA) (Disney and Wright, 1987). This type of chromosomal variability, however, differs from intra-individual mosaicism found in smallmouth char.

Another peculiarity of the smallmouth-char karyotype is a predominance of cells with an odd number of chromosomes. Almost 70 percent of the cells observed have  $2n = 77$ ,  $NF = 98$ . This may indicate a tendency for reduction in chromosome number during evolution of this karyotype.



*Acknowledgment.* The author thanks Dr. M.B Skopets (Institute of Biological Problems of the North, Magadan) for technical assistance in obtaining the specimens, Mrs. A.V. Molodichenko (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for help in translation, and Dr. M.K. Glubokovsky (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for critically reviewing the manuscript.

#### Literature Cited

- Berg, L.S. 1948. *Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries*, Vol. 1. Leningrad, Acad. Sci. USSR Press. [In Russian.]
- Cavender, T.M. 1984. Cytotaxonomy of North American *Salvelinus*. In *Biology of the Arctic char, Proceedings of the International Symposium on Arctic Char, Winnipeg, Manitoba, May 1981*, ed. L. Johnston and B.L. Burns. Winnipeg, Univ. Manitoba Press, 431–445.
- Chereshnev, I.A., M.B. Skopets, and P.K. Gudkov. 1989. New species of char *Salvelinus levandovi* sp. nov. from the Sea of Okhotsk basin. *Voprosy ikhtiologii*, **29**, 691–704. [In Russian.]
- Chereshnev, I.A., and M.B. Skopets. 1990. *Salvethymus svetovidovi* gen et sp. nova—a new endemic fish of the subfamily *Salmoninae* from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). *Voprosy ikhtiologii*, **30**, 201–213. [In Russian.]
- Davisson, M.T., J.E. Wright, and L.M. Atherton. 1973. Cytogenetic analysis of pseudolinkage of LDH loci in the teleost genus *Salvelinus*. *Genetica*, **73**, 645–658.
- Disney, J.E., and J.E. Wright, Jr. 1987. Cytogenetic analysis of a *Salvelinus* hybrid reveals an evolutionary relationship between the parental species. *Cytogenetics and Cell Genetics*, **45**, 196–205.



- Frolov, S.V. 1989. Differentiation of sex chromosomes in the *Salmonidae*. 1. Karyotype and sex chromosomes in *Parasalmo mykiss*. *Tsytologia*, **31**, 1391–1394. [In Russian.]
- Frolov, S.V. Karyotypes of *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and white char *S. albus* Glubokovsky from the Kamchatka River basin. In *Biology of the chars of the Far East* (I.A. Chereshev and M.K. Glubokovsky, eds.). Vladivostok, Far East Sci. Branch Press (in press). [In Russian.]
- Glubokovsky, M.K. 1977. *Salvelinus albus* sp. n. from the Kamchatka River basin. *Biologiya morya*, **4**, 49–57. [In Russian.]
- Gurov, E.P., and E.P. Gurova. 1981. Geological structure and shock metamorphism of volcanic rocks in impact crater Elgygytgyn. Kiev. Inst. Geol. Sci. [In Russian.]
- Hartley, S.E. 1988. Cytogenetic studies of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Journal of Fish Biology*, **33**, 735–740.
- Hartley, S.E. 1989. Chromosomes and constitutive heterochromatin distribution in Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.) (Pisces: Salmonidae). *Genetica*, **79**, 161–169.
- Hartley, S.E., and M.T. Horne. 1984. Chromosome polymorphism and constitutive heterochromatin in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Chromosoma*, **89**, 377–380.
- Ohno, S., C. Stenius, E. Faisst, and M.T. Zenzes. 1965. Post-zygotic chromosomal rearrangement in rainbow trout (*Salmo irideus* Gibbons). *Cytogenetics*, **4**, 117–129.
- Phillips, R.B., K.A. Pleyte, and S.E. Hartley. 1988. Stock-specific differences in the number and chromosome position of the nucleolar organizer regions in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Cytogenetics and Cell Genetics*, **48**, 9–12.
- Pleyte, K.A., R.B. Phillips, and S.E. Hartley. 1989. Q-band chromosomal polymorphisms in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Genome*, **32**, 129–133.
- Savvaitova, K.A. 1989. Arctic chars (structure of population systems, perspectives of using reserves in economy). Moscow, Agropromizdat. [In Russian.]



Viktorovsky, R.M. 1978. Mechanisms of speciation of the chars of Lake Kronotskoye. Moscow, Nauka. [In Russian.]

Viktorovsky, R.M., M.K. Glubokovsky, L.N. Yermolenko, and M.B. Skopets. 1981. Chars of the genus *Salvelinus* from Lake Elgygytyn (Central Chukotka). In *Fishes in salmonine ecosystems of the Far East* (V.A. Levanidov, ed). Vladivostok, Far East Sci. Center Press, 67-78. [In Russian.]

[Figure caption]

Karyotypes of smallmouth char, *Salvelinus elgyticus* Viktorovsky et Glubokovsky  $2n = 78$ ,  $NF = 98$  (a),  $2n = 77$ ,  $NF = 98$  (b), and  $2n = 76$ ,  $NF = 98$  (c). Chromosomes with satellites are underlined.



[Table]

Chromosome Numbers in Kidney Cells of Smallmouth Char  
*Salvelinus elgyticus* Victorovsky et Glubokovsky

Fish No.	Sex	Number of cells				Total
		NF = 98		NF = 98		
		2n = 76	2n = 77	2n = 78		
1	M	—	5	4	—	9
2	M	—	21	—	1	22
3	F	—	10	11	—	21
4	F	—	3	8	1	12
5	M	3	16	—	—	19
6	M	1	8	1	—	10
7	M	1	9	—	1	11
8	F	—	2	—	1	3
Total	—	5	74	24	4	107





Dr. Robert J. Behnke  
Department of Fishery and  
Wildlife Biology  
Colorado State University  
Fort Collins, CO 80523  
USA



XX XY XX XX XX XX XX XX XX XX

XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX

(a)

Y XY XY XX XX XX XX XX XX XX

XY

XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX

(b)

XX XY XY XY XY XY XY XY XY XY

XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX XX

(c)



2 nd



**Karyotype and chromosomal variability in smallmouth  
charr, *Salvelinus elgyticus* Viktorovsky et  
Glubokovsky from Elgygytgyn Lake**

S. V. Frolov

Institute of Marine Biology, Russian Academy of Sciences,  
17 Palchevskogo Street, Vladivostok, Russia

Karyotype of endemic smallmouth charr *Salvelinus elgyticus* Viktorovsky et Glubokovsky from Elgygytgyn Lake in Central Chukotka have been studied. Although morphological divergence of smallmouth charr is very great, its karyotype is very similar to Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) one and consists of 76-78 chromosomes, NF=98. Almost all fishes studied are mosaics in chromosome number with predominance of cells with  $2n=77$  karyotype. Similarity of  $2n=78$  karyotype of smallmouth charr with *Salvelinus alpinus* (L.) one indicates that smallmouth charr ancestor have gone in Elgygytgyn Lake from Arctic basin.

I. INTRODUCTION

The charrs of the genus *Salvelinus* attract researcher's attention for a long time. There are two opposite points of view on systematics and phylogeny of these fishes in Russia. The main problem is identification of charr's specimens on intraspecific and interspecific levels. The first point of view is based on recognition that only some "good" species of charrs - *Salvelinus namaycush* (Walbaum), *Salvelinus fontinalis* (~~Mitchill~~), *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and extremely



polymorphic arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) are real species. This opinion is expressed by Dr. K. A. Savvaitova and her colleagues (Savvaitova, 1989). The second point of view is closed to the idea of L. S. Berg (1948) that Arctic and Pacific regions are inhabited by plenty widely distributed and local endemic species of charrs which may be separated on the basis of their morphological characters. Some of new species of charrs are described presently too (Glubokovsky, 1977; Viktorovsky et al., 1981; Chereshev et al., 1989). These authors divide the Palearctic charr species into two phylogenetic groups: the more archaic Arctic group of species (in that number *Salvelinus alpinus* (L.), *Salvelinus boganidae* Berg, *Salvelinus czerskii* Drjagin, *Salvelinus neiva* Taranetz, *Salvelinus taranetzi* Kaganovsky) and the more advanced Pacific group of species (among others *Salvelinus leucomaenis* (Pallas), *Salvelinus malma* (Walbaum), *Salvelinus curilus* (Pallas), *Salvelinus albus* Glubokovsky). Obviously some questions on Charr Problem may be resolved by investigation of endemic charrs inhabiting some lakes in Arctic region and Kamchatka Peninsula. One of such lakes is Elgygytgyn Lake in Central Chukotka where three species of charrs were found (Viktorovsky et al., 1981; Chereshev & Skopets, 1990). Two out of this species - longfin charr, *Salvelinus svetovidovi* Chereshev et Skopets and smallmouth charr, *Salvelinus elgyticus* Viktorovsky et Glubokovsky are endemic of this lake, the third species boganide charr, *Salvelinus boganidae* Berg is Sibirian endemic.



Karyotype of smallmouth charr is described in present paper.

## II. MATERIAL AND METHODS

Karyotypes of 8 smallmouth charrs (3 females and 5 males) were studied. Fishes were captured by nets at depths between 5 and 100 m. Identification of samples as smallmouth charr was made by its morphological features (Viktorovsky *et al.*, 1981). After colchicine injection (1 ml of 0.5% solution per 1000 g of body weight) fishes were placed in fish-pond at depth 5 m. Chromosomal slides were prepared by air-drying method (Frolov, 1989). The main steps of this method are preparing of kidney cell suspension in 0.5% solution of KCl by syringe, hypotonic treatment by 0.5% solution of KCl during 25-30 min, centrifugation of suspension with 1000 r.p.m. during 5 min, fixation of sediment by ethanol-glacial acetic acid (3:1) during an hour and dropping the fixed suspension on slides. Slides were stained with Giemsa (4% solution in phosphate buffer pH 6.8).

## III. RESULTS

Results of chromosome counting in kidney cells and counting of cells studied in each fish are shown in Table I. Karyotype of smallmouth charr is variable and consists of 76-78 chromosomes with constant  $NF=98$ . Obviously variability of chromosome number is based on Robertsonian rearrangement. Almost all fishes studied are mosaic in chromosome number with predominance of cells with 77 chromosomes. No connection of



chromosome number and sex of fishes studied was found.

Karyotype of smallmouth charr  $2n=78$  consists of 18 metacentric, 2 submetacentric and 58 subtelo- and acrocentric chromosomes,  $NF=98$  [Fig. 1(a)]. The two out of four smallest metacentric chromosomes have satellite in their small arms. Submetacentric chromosomes are equal in their length to metacentric chromosomes of the second pair, they have satellite in their short arms too. Satellites are not visible in all metaphase spreads and often visible only in one chromosome of each pair (Fig. 1). Subtelo- and acrocentric chromosomes grade evenly from the largest to the smallest. The largest are equal in their length to metacentrics of the seventh pair, the smallest are much shorter than smallest metacentrics. In some spreads the first pair acrocentrics are distinctly longer than the second pair acrocentrics.

In karyotype  $2n=77$  there is one additional metacentric but two acrocentrics are absent [Fig. 1(b)]. Unpaired metacentric is some longer or equal in its length to metacentrics of the first pair. Karyotype  $2n=76$  is characterized by having two additional metacentrics and missing four acrocentrics [Fig. 1(c)]. Cells with such karyotype were noted in three fishes.

#### IV. DISCUSSION

Studying of the charrs in places of endemism and sympatry of different species seems to be very usefull in terms of systematics, evolution and phylogeny. Elgygytgyn Lake in Central Chukotka is typical refugium and place of endemism. It



is situated at the altitude of 490 m and during pleistocene was not subjected of glaciation or submerged by sea water during Ocean transgressions. This lake was formed in meteoric crater 3.5+0.5 millions years ago (Gurov & Gurova, 1981). During that time it had higher water level in some periods, flowing in Kolyma River (Arctic basin) and may served as refugium for charrs of Arctic region. At nowadays it has flowing in Anadyr River (Bering Sea, Pacific basin).

Smallmouth charr is one out of three species of charrs inhabiting Elgygytgyn Lake. It is a charr living at depths 50 m and more. According to morphological data it has some likeness with charrs of the Arctic group especialy with Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) (Viktorovsky et al., 1981). At the same time divergence of smallmouth charr in direction to feeding of bottom plancton organisms are unique among charrs.

In spite of great morphological divergence smallmouth charr has karyotype which very similar to karyotype of Arctic charr studying by some authors (Cavender, 1984; Hartley, 1989; Pleyte et al., 1989). But smallmouth charr karyotype  $2n=78$ ,  $NF=98$  is apparantly identical to them in gross morphology. Considerable similarity of these two karyotypes is in a good accordance with morphological data. This similarity of karyotypes also indicates that smallmouth charr ancestor had gone in Elgygytgyn Lake from Arctic basin. To take into account very great age of Elgygytgyn Lake and morphological peculiarity of smallmouth charr it is strange that divergence of its karyotype is so small. This situation may serve as good



example of uneven rates of morphological and karyological evolutions.

Mosaicism of smallmouth charr karyotype is its peculiarity. Such type of karyotype variability is known in different species of salmonine fishes (Ohno *et al.*, 1965; Hartley & Horne, 1984; Hartley, 1988). It have been also described in some species of charrs such as *Salvelinus namaycush* (Walbaum), *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) (Davisson *et al.*, 1973), endemic charrs of Kronotskoye Lake on Kamchatka (Viktorovsky, 1978), *Salvelinus albus* Glubokovsky from Kamchatka River (Frolov, in press). According present day data Arctic charr has invariable karyotype  $2n=78$ ,  $NF=98$  almost in all populations in Canada, Norway and Scotland (Cavender, 1984; Phillips *et al.*, 1988; Pleyte *et al.*, 1989). One out of 27 fishes studied with  $2n=77$ ,  $NF=98$  was found in the only population in Scotland (Hartley, 1989), and 80 chromosomes with 20 metacentrics were described in fishes from USA (Maine) population (Disney & Wright, 1987). But this type of chromosomal variability differs from intraindividual mosaicism founded in smallmouth charr.

Another peculiarity of smallmouth charr karyotype is predominance of cells with odd number of chromosomes. Almost 70% of cells observed have  $2n=77$ ,  $NF=98$ . Obviously such heterozygous state of karyotype demonstrates an initial stage of smallmouth charr karyotype divergence and may reflect the tendency of chromosome number reduction during evolution of this charr karyotype.



My thanks to Dr M.B. Skopets (Institute of Biological Problems of the North, Magadan) for his technical assistance in obtaining the fish samples and its identification, Mrs A.V. Molodichenko (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for revision of the English language version of the manuscript and Dr M.K. Glubokovsky (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for his critical comments of this manuscript.

### References

- Berg, L.S. (1948). *Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries*, Vol.1. Leningrad: Acad. Sci. USSR Press. 466 p. (In Russian).
- Cavender, T.M. (1984). Cytotaxonomy of North American *Salvelinus*. In *Biology of the Arctic charr, Proceedings of the International Symposium on Arctic Charr, Winnipeg, Manitoba, May 1981*. (Johnston, L. & Burns, B.L., eds), pp. 431-445. Winnipeg: Univ. Manitoba Press.
- Chereshnev, I.A., Skopets, M.B. & Gudkov, P.K. (1989). New species of charr *Salvelinus levanidovi* sp. nov. from Okhotsk Sea basin. *Voprosy Ichthyologii* **29**, 691-704 (In Russian).
- Chereshnev, I.A. & Skopets, M.B. (1990). *Salvethymus svetovidovi* gen. et sp. nova - a new endemic fish of the subfamily *Salmoninae* from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). *Voprosy Ichthyologii* **30**, 201-213. (In Russian).
- Davissou, M.T., Wright, J.E. & Atherton, L.M. (1973). Cytogenetic analysis of pseudolincage of LDH loci in the



- teleost genus *Salvelinus*. *Genetica* **73**, 645-658.
- Disney, J.E. & Wright, J.E., Jr. (1987). Cytogenetic analysis of a *Salvelinus* hybrid reveal an evolutionary relationship between the parental species. *Cytogenetics and Cell Genetics* **45**, 196-205.
- Frolov, S.V. (1989). Differentiation of sex chromosomes in the *Salmonidae*. I. Karyotype and sex chromosomes in *Parasalmo mykiss*. *Tsytologia* **31**, 1391-1394. (In Russian).
- Frolov, S.V. Karyotypes of *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and white charr *S. albus* Glubokovsky from Kamchatka River basin. In *Biology of the charrs of the Far East*. (Chereshnev, I.A. & Glubokovsky, M.K., eds). Vladivostok: Far East Sci. Branch Press (in press). (In Russian).
- Glubokovsky, M.K. (1977). *Salvelinus albus* sp. n. from Kamchatka River basin. *Biologiya Morya* **4**, 49-57 (In Russian).
- Gurov, E.P. & Gurova, E.P. (1981). Geological structure and shock metamorphism of volcanic rocks in impact crater Elgygytgyn. Kiev: Inst. Geol. Sci. 60 p. (In Russian).
- Hartley, S.E. (1988). Cytogenetic studies of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Journal of Fish Biology* **33**, 735-740.
- Hartley, S.E. (1989). Chromosomes and constitutive heterochromatin distribution in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) (Pisces: Salmonidae). *Genetica* **79**, 161-169.
- Hartley, S.E. & Horne, M.T. (1984). Chromosome polymorphism and constitutive heterochromatin in Atlantic salmon, *Salmo*



*salar*. *Chromosoma* **89**, 377-380.

- Ohno, S., Stenius, C., Faisst, E. & Zenzes, M.T. (1965). Post-zygotic chromosomal rearrangement in rainbow trout (*Salmo irideus* Gibbons). *Cytogenetics* **4**, 117-129.
- Phillips, R.B., Pleyte, K.A. & Hartley, S.E. (1988). Stock-specific differences in the number and chromosome position of the nucleolar organizer regions in arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Cytogenetics and Cell Genetics* **48**, 9-12.
- Pleyte, K.A., Phillips, R.B. & Hartley, S.E. (1989). Q-band chromosomal polymorphisms in arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Genome* **32**, 129-133.
- Savvaitova, K.A. (1989). Arctic charrs (structure of population systems, perspectives <sup>economic</sup> ~~for~~ <sup>of the resource</sup> ~~using~~ ~~of reserves in~~ ~~economy~~). Moscow: Agropromizdat. 223 p. (In Russian).
- Viktorovsky, R.M. (1978). Mechanisms of speciation of the charrs of Kronotskoye Lake. Moscow: Nauka. 111 p. (In Russian).
- Viktorovsky, R.M., Glubokovsky, M.K., Ermolenko, L.N. & Skopets, M.B. (1981). Charrs of the genus *Salvelinus* from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). In *Fishes in salmonine rivers ecosystems of the Far East* (Levanidov, V.A., ed.), p. 67-78. Vladivostok: Far East Sci. Center Press. (In Russian).



Table I. Chromosome numbers in kidney cells of smallmouth  
charr *Salvelinus elgyticus* ~~Victorovsky et Glubokovsky,~~

Fish Sex		Number of cells				
		NF=98		NF=98		
		2n=76	2n=77	2n=78	Total	
1	m	-	5	4	-	9
2	m	-	21	-	1	22
3	f	-	10	11	-	21
4	f	-	3	8	1	12
5	m	3	16	-	-	19
6	m	1	8	1	-	10
7	m	1	9	-	1	11
8	f	-	2	-	1	3
Total		5	74	24	4	107



*Legend to figure*

Fig. 1. Karyotypes of smallmouth charr, *Salvelinus elgyticus*  
~~Viktorovsky et Glubokovsky~~  $2n=78$ ,  $NF=98$  (a),  $2n=77$ ,  
 $NF=98$  (b) and  $2n=76$ ,  $NF=98$  (c). Chromosomes with  
satellites are underlined.



S.V.Frolov  
Institute of Marine Biology  
Far East Branch  
Russian Academy of Sciences  
Vladivostok 690041  
RUSSIA



Dr. Robert J. Behnke  
Department of Fishery and Wildlife Biology  
Colorado State University  
Fort Collins, CO 80523,  
USA

с.в.100



Figures



Figs. 1-3

Originals







Fig. 1







Fig. 2



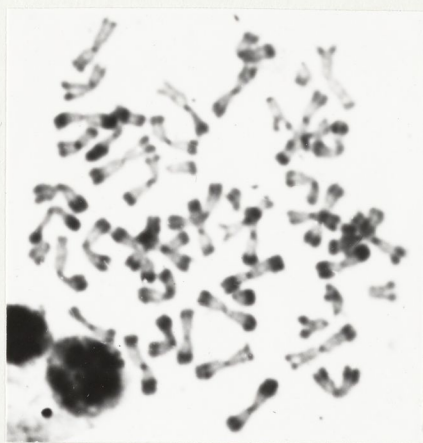




Fig. 3



Unusual chromosome set and constitutive  
heterochromatin in new endemic salmonine fish  
*Salvethymus svetovidovi*

S.V.Frolov

Institute of Marine Biology

Russian Academy of Sciences

Vladivostok

The karyotype of new endemic salmonine fish, *Salvethymus svetovidovi*, close related to *Salvelinus*, from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka) was examined. It consists of very low for salmonine fishes number of chromosomes - 56, NF=98. Some peculiarities of *Salvethymus svetovidovi* karyotype show its likeness to karyotypes of *Salvelinus alpinus* and *S.namaycush* and allow to propose that *Salvethymus svetovidovi* was separated from common with other chars phylogenetic line earlier than any modern species of genus *Salvelinus*. The rate of karyotype rearrangements during independent evolution of *Salvethymus svetovidovi* was probably very high.

#### Introduction

There are three species of salmonine fishes inhabit ancient (more than 3 million years old) Lake Elgygytgyn in Central Chukotka. Two of them - endemic for Lake Elgygytgyn smallmouth char, *Salvelinus elgyticus*, and Siberian endemic boganide char, *S.boganidae*, are typical members of genus *Salvelinus* as showed their morphological and karyological characters (Viktorovsky et al., 1981; Frolov, 1992, in press). But the third species was described as new genus and species of salmonine fish - longfin char, *Salvethymus svetovidovi* (Chereshnev and Skopets, 1990). Some of its morphological characters showed that this species is more similar to chars of the genus *Salvelinus* than to fishes of other genera of *Salmonidae*. It was proposed that this fish is more ancient than all modern species of *Salvelinus* and more close related just to their ancient form (Chereshnev and Skopets, 1990). Apparently the data about karyotype of longfin char will be very useful for more clear idea in char's phylogeny the more so, as it has very unusual for char fishes chromosome set.



### Materials and Methods

Karyotypes of 13 longfin charrs (6 females and 7 males) were studied. Fishes were captured by nets at depths 50-100 m. They were identified as longfin charrs by morphological features (Chereshnev and Skopetz, 1990). Chromosomal slides were prepared by air-dry method from kidney tissue (Frolov, 1989) after colchicine injection (1 ml of 0.5 percent solution per 100 g of body weight per night). Slides were stained with Giemsa (4 percent solution in phosphate buffer pH 6.8) or by the C-banding method (Sumner, 1972).

### Results

All fishes studied had  $2n=56$  karyotypes comprising 42 metacentric and 14 acrocentric chromosomes,  $NF=98$  (table, fig. 1). Metacentric chromosomes are very similar in their morphology and gradually decrease in their length. Sometimes few middle sized submetacentrics can be visible in spreads (fig. 1, 2). These chromosomes have different structure and may have satellites or satellite-like structure at their long (fig. 2a) or short arms (fig. 2b). Depend on presence or absence of satellites these chromosomes are looked as metacentric or submetacentric. Acrocentric chromosomes are very similar in their length, all of them have not visible second arms. The longest acrocentric chromosomes are considerably shorter than the shortest metacentric.

C-banding revealed small heterochromatic bands at centromeres of some metacentric and few acrocentric chromosomes. The majority of metacentrics have large conspicuous C-bands at one or both telomeres. All acrocentrics also have C-bands at telomeres. The length of C-bands measured on enlarged microphotograph (fig. 3<sup>a</sup>) was 28.5% of the whole length of chromosome set.

No differences between males and females karyotypes was found.

### Discussion

Most of specialists suggest that karyotype evolution in *Salmonidae* including *Salvelinus* was carried out mainly by Robertsonian fusion and pericentric inversions in direction of



lower numbers of chromosomes and chromosome arms (Viktorovsky, 1978; Hartley, 1989; Cavender and Kimura, 1989). According to this point of view such characters of char's karyotypes as higher number of chromosomes ( $2n=84-86$ ) which is accompanied by low number of two-armed chromosomes, higher arm chromosome number (NF=100), gradual decreasing of acrocentrics length must be regarded as primitive. Decreased numbers of chromosomes and chromosome arms ( $2n=78-82$ , NF=98), appearance in karyotypes of submetacentric chromosomes as result of pericentric inversion and large acrocentric chromosomes as result of centromere shift are considered as derived (Viktorovsky, 1978; Ueda and Ojima, 1983b; Cavender and Kimura, 1989).

Karyotype of longfin char contains only 56 chromosomes. Such low number of chromosomes in karyotype is very unusual for chars which have as rule 76-86 chromosomes. But chromosome arm number is typical for *Salvelinus* - different species have NF=98-100 (Viktorovsky, 1978; Cavender, 1984; Cavender and Kimura, 1989). Not less than 22 Robertsonian fusion and 1 pericentric inversion have taken place during evolution of its karyotype from karyotype of salmonid fishes ancestor (roughly 100 acrocentric chromosomes). It assumes very high rate of karyotype evolution in longfin char, which has as result of this process the most derived karyotype if compare with *Salvelinus* species.

Among more than 50 karyologically studied salmonid fishes only four species - *Oncorhynchus gorbuscha* ( $2n=52-54$ , NF=104), *Parasalmo apache* ( $2n=56$ , NF=106), *P.gilae* ( $2n=56$ , NF=105) and *Salmo salar* ( $2n=56-58$ , NF=74) have so derived karyotypes (Nygren et al., 1968; Miller, 1972; Beamish and Miller, 1977; Gorshkov and Gorshkova, 1981). So, karyotype of longfin char is one more evidence for predominance of Robertsonian fusion in karyotype evolution in *Salmonidae*. These data also suggest independent and parallel karyotype evolution in different salmonid taxa.

There are some marker chromosomes in *Salvelinus* karyotypes. One of them are a pair of submetacentric chromosomes. The presence of these chromosomes in karyotypes of some Pacific taxa was one of the reason for dividing chars on two groups - Arctic group with *S.alpinus*, *S.namaycush* and *S.fontinalis* and Pacific group with *S.leucomaenis*, *S.malma*, endemic chars of Lake Kronotskoye (Kamchatka) (Viktorovsky, 1978). These chromosomes in



karyotypes of all Pacific taxa including *S.confluentus* was pointed out by Cavender and Kimura (1989). Submetacentric chromosomes can also be found in published karyotypes of Arctic chars taxa - *S.alpinus* (Phillips and Ihssen, 1985; Disney and Wright, 1987; Hartley, 1989), *S.fontinalis* (Capanna et al., 1973; Kligerman and Bloom, 1977; Ueda and Ojima, 1983b; Ueda, 1987; Hartley, 1991), probably *S.namaycush* (Phillips and Zajicek, 1982; Cavender, 1984), *S.elgyticus* (Frolov, 1992) and *S.boganidae* (Frolov, in press). Arm ratio in submetacentric chromosomes in these species is another -  $r=1.7$  instead of  $r=2.0$  in Pacific taxa.

There are also similar submetacentric chromosomes ( $r=1.7$ ) in some longfin char metaphases (fig. 1, 2). As rule these chromosomes have visible satellites which are at the short arms in some cases (fig. 2a, b), but at the long arms in others (fig. 2c, d). Morphology of these chromosomes is metacentric in the most of cells or submetacentric in others depending on displaing of satellites and secondary constrictions. Evidently these submetacentric chromosomes morphologically are more similar to submetacentric chromosomes in karyotypes of Arctic chars taxa.

The presence or absence of very long acrocentric chromosomes in char's karyotypes is also considered as good character in phylogenetic reconstructions. There are no such chromosomes in karyotypes of *S.fontinalis*, *S.namaycush*, *S.confluentus* and *S.leucomaenis* which have  $NF=100-102$  (Ueda and Ojima, 1983a, b; Cavender, 1984; Cavender and Kimura, 1989) but another karyologically studied chars with  $NF=98$  have them in their karyotypes (Nygren et al., 1971; Viktorovsky, 1978; Ueda and Ojima, 1983b; Hartley, 1989; Frolov, 1992, in press). *Salvethymus svetovidovi* has  $NF=98$  as the later chars, but has not long acrocentric marker chromosomes. The only explanation may be that these longfin char's acrocentrics have taken part in following Robertsonian fusion. Some arms in 1st-3rd pair metacentric chromosomes in longfin char karyotype are much longer than the longest acrocentric (fig. 1), so this assumption is quite probable.

Amount of constitutive heterochromatin revealed by C-banding method in longfin char karyotype is very large (fig. 3). The majority of char species studied by this method have



small C-bands at centromeres of many chromosomes and very rare have large C-bands at telomeres of few chromosomes (Ueda and Ojima, 1983a, b; Ueda et al., 1991; Hartley, 1991, Frolov, unpublished). Only two species - *S.alpinus* and *S.namaycush*, have large conspicuous C-bands at one or two telomeres in many metacentric and acrocentric chromosomes (Phillips and Zajicek, 1982; Hartley, 1989, 1991). The number and length of large C-positive bands at *Salvethymus svetovidovi* chromosomes are similar to those in *Salvelinus alpinus* and *S.namaycush*, but their length probably is longer than in these species and is equal to 28.5% of the length of chromosome set.

Apparently *Salvethymus svetovidovi* is very ancient species. Such assumption is based on knowledge of Lake Elgygytgyn history (the Lake was formed  $3.5 \pm 0.5$  million years ago - Gurov and Gurova, 1981) and morphological peculiarities of the species, which suggest phylogenetical proximity of *S.svetovidovi* just to ancestor of *Salvelinus* (Chereshnev and Skopets, 1990). At the same time longfin char has karyotype with two different types of characters. Some of them - submetacentric chromosomes with  $r=1.7$  and very large amount of heterochromatin, can be considered as primitive. *Salvethymus svetovidovi* shares them with *Salvelinus alpinus* and *S.namaycush* which are placed near the basis of char phylogenetic line (Viktorovsky, 1978; Cavender and Kimura, 1989). Another characters - very low number of chromosomes  $2n=56$  with high number of metacentric and  $NF=98$ , more probably may be considered as derived.

One may propose on the basis of karyological data that *Salvethymus svetovidovi* is actually ancient species which must be placed in the basis of phylogenetic line of char fishes (tribe *Salvelini* - Chereshnev and Skopets, 1990). Morphological and karyological characters suggest this point of view and are in good coordination. But morphological and karyological evolution in longfin char were carried out with different rates. Evidently the rate of karyotype evolution in this species in such small locality as Lake Elgygytgyn was extremely high if compare with those in *Salvelinus* species. So now *Salvethymus svetovidovi* has much more derived karyotype than any species of *Salvelinus*.

*Acknowledgment.* The author thanks Dr. M.B.Skopets (Institute of Biological Problems of the North, Magadan) for help



in catching the specimens, and Dr. M.K. Glubokovsky (Institute of Marine Biology, Vladivostok) for critically reviewing the manuscript.

#### Literature Cited

- Beamish, R.J., and R.R. Miller. 1977. Cytotaxonomic study of gila trout, *Salmo gilae*. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 34, 1041-1045.
- Capanna, E., S. Cataudella, and T. Gentile de Fronza. 1973. Some remarks on the karyotype of an intergeneric hybrid, *Salmo trutta* x *Salvelinus fontinalis* (Pisces: Salmoniformes). *Genetica*, 44, 194-206.
- Cavender, T.M. 1984. Cytotaxonomy of North American *Salvelinus*. In *Biology of the Arctic char, Proceedings of the International Symposium on Arctic char, Winnipeg, Manitoba, May 1981*, ed. L. Johnston and B.L. Burns. Winnipeg, Univ. Manitoba Press, 431-445.
- Cavender, T.M., and S. Kimura. 1989. Cytotaxonomy and interrelationships of the Pacific basin *Salvelinus*. *Physiol. Ecol. Japan, Spec. Vol. 1*, 49-68.
- Chereshnev, I.A., and M.B. Skopets. 1990. *Salvethymus svetovidovi* gen. et sp. nova - a new endemic fish of the subfamily Salmoninae from Lake Elgygytgyn (Central Chukotka). *Voprosy Ikhtiologii*, 30, 201-213. [In Russian.]
- Disney, J.E., and J.E. Wright, Jr. 1987. Cytogenetic analysis of a *Salvelinus* hybrid reveals an evolutionary relationship between the parental species. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 45, 196-205.
- Erolov, S.V. 1989. Differentiation of sex chromosomes in the Salmonidae. 1. Karyotype and sex chromosomes in *Parasalmo mykiss*. *Tsytologia*, 31, 1391-1394. [In Russian.]
- Erolov, S.V. 1992. Karyotype and chromosomal variability in smallmouth char, *Salvelinus elgyticus*, from Lake Elgygytgyn. *J. Ichthiol.*, 32, 61-66.
- Erolov, S.V. Chromosomal variability in boganide char, *Salvelinus boganidae*, from Lake Elgygytgyn. *Genetika* (in press). [In Russian.]
- Gorshkov, S.A., and G.V. Gorshkova. 1981. Chromosomal polymorphism in pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha*. *Tsytologia*, 23, 954-960. [In Russian.]



- Gurov, E.P., and E.P.Gurova. 1981. Geological structure and shock metamorphism of volcanic rocks in impact crater Elgygytgyn. Kiev. Inst. Geol. Sci., 60 p. [In Russian.]
- Hartley, S.E. 1987. The chromosomes of salmonid fishes. *Biol. Rev.*, 62, 197-214.
- Hartley, S.E. 1989. Chromosomes and constitutive heterochromatin distribution in Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.)(Pisces: Salmonidae). *Genetica*, 79, 161-169.
- Hartley, S.E. 1991. C, Q, and restriction enzyme banding of the chromosomes in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Hereditas*, 114, 253-261.
- Kligerman, A.D., and S.E.Bloom. 1977. Rapid chromosome preparation from solid tissues of fishes. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 34, 266-269.
- Miller, R.R. 1972. Classification of the native trouts of Arizona with the description of a new species, *Salmo apache*. *Copeia*, 3, 401-422.
- Nygren, A., B.Nilsson, and M.Jahnke. 1968. Cytological studies in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ann. Acad. Reg. sc. Upsaliensis*, 12, 21-52.
- Nygren, A., B.Nilsson, and M.Jahnke. 1971. Cytological studies in *Salmo trutta* and *Salmo alpinus*. *Hereditas*, 67, 259-268.
- Phillips, R.B., and K.D.Zajicek. 1982. Q band chromosomal polymorphisms in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Genetics*, 101, 227-234.
- Phillips, R.B. and P.E.Ihssen. 1985. Chromosome banding in salmonid fishes: nucleolar organizer regions in *Salmo* and *Salvelinus*. *Can. J. Genet. Cytol.* 27, 433-440.
- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, 75, 304-306.
- Ueda, T. 1987. The nucleolus organizer regions in the chromosomes of three species in the genus *Salvelinus* (Salmonidae). *Bull. Fac. Educ. Utsunomiya. Univ.*, 37, 67-73. [In Japanese.]
- Ueda, T., and Y.Ojima. 1983a. Geographic and chromosomal polymorphisms in the iwana (*Salvelinus leucomaenis*). *Proc. Jap. Acad.*, 59B, 259-262.
- Ueda, T., and Y. Ojima. 1983b. Karyotypes with C-banding patterns of two species in the genus *Salvelinus* of the family Salmonidae. *Proc. Jap. Acad.*, 59B, 343-346.



Ueda, T., H. Fukuda, and J. Kobayashi. 1991. Karyological study of the Dolly Varden *Salvelinus malma* from Alaska. *Jap. J. Ichthyol.*, 37, 354-357.

Viktorovsky, R.M. 1978. Mechanisms of speciation of the chars of Lake Kronotskoye. Moscow, Nauka. [In Russian.]



[Table]

Chromosome numbers in kidney cells of longfin char  
*Salvethymus svetovidovi* Chereshev et Skopets

Fish No	Sex	Number of cells					Total
		2n=54	2n=55	2n=56	2n=57	2n=58	
1	F	2	1	7	-	-	10
2	F	-	-	7	-	-	7
3	F	-	-	14	1	-	15
4	F	-	5	13	-	-	18
5	F	-	-	12	-	-	12
6	F	-	-	6	-	-	6
7	M	2	-	11	-	-	13
8	M	-	-	9	-	-	9
9	M	-	2	16	-	-	18
10	M	-	2	11	-	-	13
11	M	-	-	12	-	-	12
12	M	1	5	18	-	-	24
13	M	-	2	13	-	1	16
Total		5	17	149	1	1	173

## [Figures captions]

Fig. 1. Metaphase and karyotype of longfin char, *Salvethymus svetovidovi* Chereshev et Skopets 2n=56, NF=98. Submetacentric chromosomes are underlined. Scale=10  $\mu$ m.

Fig. 2. Submetacentric chromosomes of different morphology (arrows) and those with satellites (arrowheads) in metaphases of longfin char, *Salvethymus svetovidovi* Chereshev et Skopets. Scale=10  $\mu$ m.

Fig. 3. C-banded metaphases of longfin char, *Salvethymus svetovidovi* Chereshev et Skopets. Scale=10  $\mu$ m.



Dr. S. V. Frolov  
Institute of Marine Biology  
Far East Branch  
Russian Academy of Sciences  
Vladivostok 690041  
RUSSIA



Dr. Robert J. Behnke  
Department of Fishery and Wildlife Biology  
Colorado State University  
Fort Collins, CO 80523, USA

*elgoyticee papa*  
*- es 5 copres*



# БИОЛОГИЯ МОРЯ

Издается с февраля 1975 г.

ВЛАДИВОСТОК

Выходит 6 раз в год

## № 5, 1991

### СОДЕРЖАНИЕ

Механизмы дифференциации половых хромосом у лососевых рыб. Фролов С.В. . . . .	3
Строение гонады медузы <i>Gonionemus vertens vertens</i> . Дуркина В.Б., Карасева Е.М., Ламаш Н.Е., Худик И.П. . . . .	18
Микроскультура раковин и рост трех видов гребешков рода <i>Chlamys</i> у острова Онекотан Курильских островов. Силина А.В., Позднякова Л.А. . . . .	23
Внутриклеточные эндосимбионты и паразиты в кишечном эпителии киноринх. Адрианов А.В., Малахов В.В., Юшин В.В. . . . .	31
Трофические связи углохвостой креветки в западной части Берингова моря. Згуровский К.А., Федина Ж.М. . . . .	42
Рост бокоплава <i>Lagunogammarus oceanicus</i> в природе и экспериментальных условиях. Луппова Е.Н. . . . .	50
Численность и активность денитрифицирующих бактерий в мягких грунтах залива Восток Японского моря. Дутьцева О.А., Одинцов В.С. . . . .	56
Влияние краткосрочного понижения солёности на адаптивные возможности личинок приморского гребешка. Ярославцева Л.М., Сергеева Э.П., Чан Г.М. . . . .	63
Соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и происхождение органического углерода в поверхностном слое донных осадков мелководных бухт залива Посёта Японского моря. Жакин А.В., Кияшко С.И. . . . .	67
Оценка экологической ситуации в вершине Амурского залива Японского моря по микроэлементному составу гигантской устрицы. Христофорова Н.К., Чернова Е.Н. . . . .	75
<b>Биология - практике</b>	
Современная продукция мировой аквакультуры. Моисеев П.А. . . . .	83
<b>Методы исследований</b>	
Методика популяционно-фенетического исследования горбуши по вариантам рисунка на хвостовом плавнике. Макоедов А.Н., Агапова Г.А. . . . .	92
<b>Краткие сообщения</b>	
Аутоакклиматизация промыслового двусторчатого моллюска <i>Cunearca cornea</i> в Керченском проливе. Иванов Д.А. . . . .	95
Восстановление щупалец у ранних пентактул голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i> . Долматов И.Ю. . . . .	99
<b>Хроника</b>	
Второе всесоюзное совещание по изучению полихет. Багавеева Э.В. . . . .	102

© Институт биологии моря ДВО АН СССР

© Отделение общей биологии АН СССР

© Издательство «Наука»



# BIOLOGIYA MORYA

## (MARINE BIOLOGY)

Founded in 1975

VLADIVOSTOK

Bimonthly

N 5, 1991

### Contents

Mechanisms of sex chromosome differentiation in Salmonidae. Frolov S.V. . . . . .	3
The organization of gonads of the medusa <i>Gonionemus vertens vertens</i> . Durkina V.B., Karaseva E.M., Lamash N.E., Khudik I.P. . . . . .	18
Microsculpture of the shell and growth rates of three scallop species of the genus <i>Chlamys</i> at Onkotan Island, the Kurile Islands. Silina A.V., Pozdnyakova L.A. . . . . .	23
Intracellular endosymbionts and parasites in the gut epithelium of kinorhynchs (Cephalorhyncha, Kinorhyncha). Adrianov A.V., Malakhov V.V., Yushin V.V. . . . . .	31
Trophic relationships of the humpy shrimp <i>Pandalus goniurus</i> in the western Bering Sea. Zgurovsky K.A., Fedina Zh.M. . . . . .	42
Growth of the gammarid amphipod <i>Lagunogammarus oceanicus</i> in nature and under experimental conditions. Luppova E.N. . . . . .	50
Number and activity of denitrifying bacteria in soft sediments of Vostok Bay, Sea of Japan. Dultseva O.A., Odintsov V.S. . . . . .	56
The effect of short-term decrease in salinity on the adaptability of larvae of the Japanese scallop <i>Mizuhopecten yessoensis</i> . Yaroslavtseva L.M., Sergeeva E.P., Chan G.M. . . . . .	63
<sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C ratios and the origin of organic carbon in the bottom sediments of Possjet Bay, the Sea of Japan. Zhakin A.V., Kiyashko S.I. . . . . .	67
Evaluation of the ecological situation in the inland part of Amur Bay of the Sea of Japan by the content of trace elements in the giant oyster. Khristoforova N.K., Chernova E.N. . . . . .	75
<b>Biology - practical application</b>	
Current World production of aquaculture. Moiseev P.A. . . . . .	83
<b>Methods of investigation</b>	
A method of population-phenetic study of pink salmon by design variants of the caudal fin. Makoedov A.N., Agapova G.A. . . . . .	92
<b>Brief notes</b>	
Autoacclimatization of the commercial bivalve <i>Cunearca cornea</i> in the Kerch Strait. Ivanov D.A. . . . . .	95
Regeneration of tentacles in early pentactulae of the holothurian <i>Eupentacta fraudatrix</i> . Dolmatov I.Yu. . . . . .	99
<b>Chronicle</b>	
The second all-union conference on polychaetes. Bagaveeva E.V. . . . . .	102

© Institute of Marine Biology, FEB AS USSR

© Department of General Biology, AS USSR

© «Nauka» Press



## МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ У ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

С.В.Фролов

*Лаборатория популяционной биологии Института биологии моря ДВО АН СССР,  
Владивосток 690032*

В работе обобщены данные, касающиеся процесса дифференциации половых хромосом у лососевых рыб. Этот процесс рассмотрен с двух сторон – генетической и морфологической дифференциации. Показано отличие механизмов дифференциации половых хромосом у рыб от таковой у других позвоночных животных. Отмечена независимость процесса эволюции половых хромосом не только в разных надвидовых таксонах лососевых рыб, но и у разных видов.

**Mechanisms of sex chromosome differentiation in Salmonidae.**  
S.V.Frolov (Laboratory of Population Biology, Institute of Marine Biology, Far East Branch, Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok 690032)

The author generalizes on data concerning differentiation of sex chromosomes in Salmonidae. Two sides of this process – genetical and morphological – are considered. The differences in mechanisms of sex chromosome differentiation of fishes and other vertebrates are shown. The independence of the evolution of sex chromosomes not only in different superspecies taxa of salmonids, but also in different species is pointed out. (Biologiya morya, Vladivostok, 1991, N 5, p. 3- 17).

Дифференциация половых хромосом у подавляющего большинства животных согласно теории, предложенной Мюллером (Muller, 1914), происходит путем потери функциональной активности и редукции Y- либо W-хромосомы гетерогаметного пола. Вначале в одной из пар аутосом появляется определяющий пол ген, разные аллели которого обуславливают развитие мужского либо женского пола. Результатом этих генетических различий является подавление кроссинговера между половыми хромосомами, что, в свою очередь, способствует сохранению в половой хромосоме гетерогаметного пола вредных рецессивных мутаций. Находясь в гетерозиготном состоянии, эти мутации способны накапливаться, приводя к потере функциональной активности и гетерохроматинизации части этой хромосомы. Завершает процесс элиминация гетерохроматинового участка Y-(W-) хромосомы, приводящая к появлению морфологических различий между половыми хромосомами гетерогаметного пола.

Дифференциация половых хромосом рыб осуществляется несколько иначе. Сначала изоморфные половые хромосомы, как и у других животных, различаются по наличию в них разных аллелей одного или нескольких определяющих пол генов (Кирпичников, 1979; Gold, 1979). Морфологические же различия между половыми хромосомами возникают путем разнообразных хромосомных перестроек. Инверсии и делеции приводят к незначительным их морфо-



логическим различиям (Ojima, 1982, 1983), а транслокации половых хромосом на аутосомы - к образованию систем множественных половых хромосом, которые у рыб очень разнообразны и многочисленны. Такой механизм морфологической дифференциации половых хромосом обуславливает существование разных систем определения пола у представителей одного семейства и даже рода. Гетерохроматинизации половых хромосом у рыб, как правило, не происходит. Она отмечена в настоящее время лишь у нескольких видов (Ojima, Takai, 1979; Naat, Schmid, 1984; Galetti, Jr., Foresti, 1986). При этом генетические различия половых хромосом у большинства видов остаются, по-видимому, на уровне немногих определяющих пол генов.

Сем. Salmonidae кариологически изучено достаточно полно: известны кариотипы 56 видов (70% из признаваемых разными авторами). Однако данные о цитогенетических механизмах определения пола у лососевых рыб до недавнего времени отсутствовали, что привело к предположению об изоморфности половых хромосом у большинства видов семейства (Кирпичников, 1979, 1987; Gold, 1979). К этим взглядам склонялось большинство кариологов, работавших с лососевыми рыбами. Результатом явилось то, что большинству исследований кариотипов лососевых рыб были свойственны те же недостатки, что и работам на других группах рыб: исследование кариотипов единичных особей; игнорирование пола исследуемых особей; использование для описания кариотипов эмбрионов и неполовозрелых особей; малое число клеток (часто 2-5), исследуемых у каждой особи; поверхностный анализ кариотипа, описание лишь основных его признаков.

При этом большинство исследователей обращали внимание на различия кариотипов у особей разных популяций, рас, вариантов скрещиваний и мозаицизм, но только не на различия кариотипов у особей разного пола. Понятно, что обнаружение гетерохромосом при таком подходе к исследованию кариотипа крайне проблематично и возможно только в случаях резких различий морфологии или числа хромосом в кариотипах самок и самцов. Возможно, именно это является одной из причин упоминаний в литературе большого числа видов рыб с множественными половыми хромосомами.

В связи с этим не удивительно, что первые сообщения о наличии у лососевых рыб гетероморфных половых хромосом появились, когда кариотипы большинства видов были уже известны (Thorgaard, 1977, 1978). Гетероморфные половые хромосомы были обнаружены у радужной форели *Parasalmo gairdneri* и нерки *Oncorhynchus nerka*, кариотипы которых исследовались до этого многократно. Дальнейшие исследования не только подтвердили эти данные (Ueda, 1983; Ueda, Ojima, 1984a,b; Шеленкова, 1986; Фролов, 1990a), но и привели к выявлению таких хромосом еще у трех видов - американской озерной палии *Salvelinus namaycush*, микижи *Parasalmo mykiss* и сибирской ряпушки *Coregonus sardinella* (Phillips, Ihssen, 1985; Фролов, 1989, 1990b).



## Генетическая дифференциация половых хромосом у лососевых рыб

У большинства кариологически исследованных видов лососевых рыб гетероморфные половые хромосомы не выявлены. Очевидно, это можно объяснить не только рассмотренными причинами методического характера, но и тем, что половые хромосомы у рыб этого семейства находятся на разных стадиях дифференциации и у какой-то части видов действительно изоморфны. В большинстве случаев изоморфные половые хромосомы у лососевых рыб не выявляются и с помощью методов дифференциального окрашивания хромосом, в том числе и метода С-окрашивания, эффективного для выявления гетерохроматинизированных Y-(W-)хромосом у других животных (Abe, Muramoto, 1974; Фролов, 1981; Ueda, 1983; Ueda, Ojima, 1983, и др.). По-видимому, такие половые хромосомы различаются по наличию в них разных аллелей одного или немногих определяющих пол генов, их возникновение не сопровождалось гетерохроматинизацией.

О незначительных генетических различиях изоморфных половых хромосом лососевых рыб свидетельствует и возможность гормональной инверсии пола у всех исследованных видов. Причем изменение пола возможно в обе стороны — как генетических самок в фенотипических самцов (5 видов), так и генетических самцов в фенотипических самок (7 видов) (Donaldson, Hunter, 1982; Yamazaki, 1983). Для некоторых видов показаны нормальное развитие и плодовитость инвертированных особей. Скрещивание инвертированных особей с нормальными дает возможность судить о типе гетерогаметности у изучаемого вида. При скрещивании инвертированных самок с нормальными потомство состоит только из самок при XX-XY системе определения пола либо из самок и самцов при ZZ-ZW системе определения пола; при скрещивании инвертированных самцов с нормальными оно состоит только из самцов при ZZ-ZW системе определения пола и из самцов и самок при системе определения пола XX-XY. Таким путем показана мужская гетерогаметность у радужной форели *P. gairdneri*, кижуча *Oncorhynchus kisutch*, чавычи *O. tshawytscha* (Johnston et al., 1979; Okada et al., 1979; Hunter et al., 1982, 1983).

Более того, при скрещивании инвертированных самцов (фенотипических XY-самок) с нормальными XY-самцами в потомстве появляются особи трех генотипов: XX (нормальные самки), XY (нормальные самцы) и YY-самцы. YY-самцы вполне жизнеспособны у кижуча, имеющего, по-видимому, изоморфные половые хромосомы (Hunter et al., 1982). У радужной форели, имеющей гетероморфные половые хромосомы, YY-самцы нежизнеспособны по одним данным (Johnston et al., 1979), но наряду с YY-гермафродитами не только жизнеспособны, но и плодовиты по другим (Chevassus et al., 1988). Жизнеспособность YY-самцов свидетельствует об очень слабых гене-



тических различиях половых хромосом у кижуча и радужной форели, которых, однако, достаточно для доминантного определения Y-хромосомой мужского пола: у радужной форели в фенотипических самцов развиваются даже триплоиды с XXУ половыми хромосомами (Thorgaard, Gall, 1979).

Сведения о типе гетерогаметности и степени генетической дифференциации половых хромосом дает также анализ гиногенетического потомства, развивающегося исключительно за счет генетического материала яйца. В случае мужской гетерогаметности все оно состоит из самок – генотип XX, в случае женской – из самцов ZZ и самок WW (если они выживают). Таким путем показана мужская гетерогаметность у кижуча (Refstie et al., 1982), горбуши *O.gorbuscha* (Максимович, Петрова, 1990) и женская у пеляди *Coregonus peled* (Полякова, 1985, 1987).

Соотношение полов в первом гиногенетическом поколении пеляди – 3 самки:1 самцу. Это отвергает предположение о системе определения пола ZZ-ZW, так как в этом случае должно развиваться равное количество самок и самцов (WW-самок из гамет W и ZZ-самцов из гамет Z). Система определения пола у пеляди должна включать множественные половые хромосомы ZZZZ-ZZWW (Полякова, 1985). Однако получение от самок ZZWW в первом гиногенетическом поколении соотношения 3 самки:1 самцу требует допущения, что Z- и W-хромосомы пеляди исходно гомологичны, различаются только по определяющим пол генам и должны конъюгировать в мейозе с образованием тетравалента. Из образующихся в этом случае гамет ZZ, ZW, ZW и WW и возможно получение в потомстве соотношения 3 самки:1 самцу (самец ZZZZ, 2 самки ZZWW и жизнеспособная самка WWWW). В этом случае объяснимы и результаты, полученные во втором гиногенетическом поколении, – наличие в потомстве одних гиногенетических самок только самок, а в потомстве других – и самок, и самцов (Полякова, 1987). Очевидно, что в первом случае потомство получено от WWWW-самок, а во втором – от нормальной ZZWW (соотношение полов в потомстве должно быть 3 самки:1 самцу, как и в первом гиногенетическом поколении). Такое объяснение результатов экспериментов предполагает наличие у пеляди полиморфизма по половым хромосомам, поскольку в норме скрещивания самки ZZWW с самцом ZZZZ должно привести к появлению в потомстве самцов ZZZW (из гамет ZW и ZZ), а их скрещивание с самками ZZWW – к появлению самок ZWWW. На основе очень слабой генетической дифференциации половых хромосом у лососевых рыб существование такого полиморфизма половых хромосом (самки ZZWW и ZWWW, самцы ZZZZ и ZZZW) представляется вполне возможным, тем более что свободное скрещивание особей с такими генотипами в сумме дает соотношение полов в потомстве 1:1. Наиболее часто встречающимися при такой системе определения пола должны быть генотипы ZZWW (самки) и ZZZW (самцы).



Гетерохроматинизация половых хромосом является важным этапом их дифференциации у животных многих таксонов. Практически во всех случаях гетерохроматинизации и последующему уменьшению размеров подвергаются Y- либо W-хромосомы. У большинства видов рыб как с изоморфными, так и с гетероморфными половыми хромосомами гетерохроматинизации половых хромосом не происходит. В настоящее время она показана только у серебряного карася *Carassius auratus* (Ojima, Takai, 1979) и четырех видов рода *Leporinus* (Galetti, Jr., Foresti, 1986).

У лососевых рыб гетерохроматинизации половых хромосом также не происходит (Abe, Muramoto, 1974; Thorgaard, 1977, 1978; Ueda, Ojima, 1984a, b; Phillips, Ihssen, 1985; Шеленкова, 1986, 1987a; Фролов, 1989, 1990a, б). Исключением является чавыча *O. tshawytscha*, у которой наблюдается полиморфизм в Q-окрашивании нескольких пар акроцентрических хромосом (Phillips et al., 1985). Хотя работа выполнена на эмбриональном материале, анализ окрашивания одной из пар этих хромосом в потомстве трех скрещиваний показывает, что различия в окрашивании носят наследственный характер. Кроме того, один из типов окрашивания встречается приблизительно у половины эмбрионов и не отмечен в гетерозиготном состоянии. Это позволяет достаточно уверенно предполагать связь наблюдаемого полиморфизма в окрашивании одной из пар хромосом с половым диморфизмом при системе определения пола XX-XY. В этом случае морфологически идентичные X- и Y-хромосомы различаются только по величине гетерохроматиновых блоков, выявляемых данным методом окрашивания, причем Y-хромосома имеет окрашиваемый участок больших размеров. Подобные различия могли возникнуть, по-видимому, только одним путем — за счет гетерохроматинизации дополнительного участка Y-хромосомы. Эти результаты находятся в соответствии с имеющимися данными о гетерогаметности самцов чавычи, полученными в экспериментах по инверсии пола у этого вида (Hunter et al., 1983). Окончательным подтверждением существования у чавычи такой системы половых хромосом и механизма их генетической дифференциации явились бы идентичные результаты, полученные при исследовании кариотипов особей с известным полом.

### Морфологическая дифференциация половых хромосом у лососевых рыб

Род *Salvelinus*. В настоящее время известны кариотипы 8 видов рода, 5 из них исследованы с применением методов дифференциального окрашивания. Гетероморфные половые хромосомы выявлены только у американской озерной палии *S. namaycush* (Phillips, Ihssen, 1985). Кариотип этого вида исследовали до этого неоднократно (Wright, 1955; Wahl, 1960; Davisson et al., 1973). Однако различия кариотипов самок и самцов не были обнаружены, даже подчеркивалось их отсутствие. В то же время на фотографиях метафазных пластинок



в некоторых работах (Kligerman, Bloom, 1977) наблюдаются явные различия в морфологии метацентрических хромосом одной из пар. Эти различия отмечали некоторые исследователи (Викторовский, 1978), однако причина их не была ясна из-за крайней ограниченности имевшегося материала. Достоверность этих различий была доказана только с переходом исследований на качественно новый методический уровень работы, в частности, с началом использования метода культивирования тканей, обеспечивающего такое количество пригодных для исследования метафаз, которое позволяет проводить дифференцированное изучение кариотипов самок и самцов. Применение при этом метода Q-окрашивания, выявляющего гетерохроматиновые районы хромосом, позволило выяснить природу наблюдаемого гетероморфизма.

Кариотип американской озерной палии состоит из 84 хромосом, причем только 16 из них двуплечие. Половыми являются хромосомы второй пары двуплечих хромосом, изоморфные у самок (мета-субметацентрические) и гетероморфные у самцов (мета-субметацентрическая и субметацентрическая), т.е. система определения пола XX-XY. Маркером X-хромосомы является ярко светящийся блок гетерохроматина в теломерном районе ее более короткого плеча. Y-хромосома не имеет светящегося блока, ее короткое плечо меньше короткого плеча X-хромосомы на величину этого блока. Таким образом, морфологические различия X- и Y-хромосом незначительны и надежно выявляются лишь при использовании Q-метода дифференциального окрашивания хромосом.

Гетероморфизм блоков гетерохроматина в одной из пар двуплечих хромосом отмечен у двух видов гольцов, близких к американской озерной палии, — американской ручьевой палии *S. fontinalis* и арктического гольца *S. alpinus* (Phillips, Zajicek, 1982; Phillips, Ihssen, 1985). Причем у американской ручьевой палии эта пара хромосом также вторая по размерам среди двуплечих хромосом. Природа гетероморфизма блоков гетерохроматина у этих видов, однако, не ясна.

Авторы трактуют морфологические различия половых хромосом американской озерной палии как начальный этап дифференциации половых хромосом, осуществляющейся путем добавления гетерохроматинового материала к X-хромосоме. Следует, однако, отметить, что характерной чертой дифференциации половых хромосом у всех диплоидных бисексуальных организмов является ее осуществление в результате изменений непарной Y- или W-хромосомы (Bull, 1978). Исключения из этого правила — дифференциация половых хромосом путем изменения X-хромосомы, чрезвычайно редки и надежно доказаны только у двух видов черепах (Bull et al., 1974; Sites et al., 1979) и одного вида рыб (Ojima, Takai, 1979). Более вероятно будет, по-видимому, предположить, что морфологическая дифференциация половых хромосом у американской озерной палии осуществилась путем делеции теломерного гетерохроматинового участка Y-хромосомы. Это предположение вполне вероятно, поскольку делеция гетерохро-



матинового участка, не связанная с потерей активного генетического материала, не влияет заметно на жизнеспособность особей. Его вероятность еще более возрастает с учетом сведений о кариотипах других видов гольцов, исследованных с помощью Q-окрашивания. У одного из них — мальмы *S. malma*, пара двуплечих хромосом, сходная по раз-

палии, также имеет светящиеся блоки гетерохроматина в теломерном районе одного из плеч. Эти хромосомы, однако, изоморфны у обоих полов (Abe, Muramoto, 1974).

Род *Parasalmo*. Он объединяет 9 видов, два из которых — микижа *P. mykiss* и камчатская семга *P. penshinensis*, обитают на территории СССР. Кариотипы 6 видов очень сходны между собой и содержат 56-60 хромосом при  $NF=104-106$ . Сходна и структура их кариотипов. Однако кариотипы лишь трех видов рода — радужной форели *P. gairdneri*, лосося Кларка *P. clarki* и микижи, изучены достаточно подробно. Сведения о кариотипах остальных видов отрывочны и содержат лишь данные о числе хромосом и хромосомных плеч.

Радужная форель явилась первым среди лососевых рыб видом, у которого были описаны гетероморфные половые хромосомы (Thorgaard, 1977). Ими оказалась единственная в кариотипе пара субтелоцентрических хромосом, короткие плечи которых изоморфны у самок и гетероморфны у самцов (система определения пола XX-XY). Подтверждением именно такой трактовки гетероморфизма субтелоцентрических хромосом явилось описание таких же различий у самок и самцов линий радужной форели, разводимых в Японии (Ueda, Ojima, 1984b). Очень незначительные морфологические различия X- и Y-хромосом, наличие в популяциях значительного числа самцов с изоморфными субтелоцентрическими хромосомами (в среднем 17% — Thorgaard, 1983) явилось, вероятно, одной из причин того, что половые хромосомы у радужной форели были обнаружены более чем через 20 лет после первоописания ее кариотипа (Bundenberg de Jong, 1955).

Кариотипы микижи и камчатской семги практически идентичны кариотипу радужной форели. Оба вида также имеют в кариотипах одну пару субтелоцентрических хромосом, гетероморфных у самцов. Кариотип микижи исследован достаточно подробно, поэтому можно сделать вывод о том, что субтелоцентрические хромосомы этого вида являются половыми (Фролов, 1989). В отношении субтелоцентрических хромосом камчатской семги это можно только с определенной степенью уверенности предположить: ее кариотип исследован на очень ограниченном материале, а отмеченному гетероморфизму авторы дают другую трактовку (Горшкова, Горшков, 1985). Также ограничены данные о хромосомных наборах американских видов рода, имеющих такой же, как и у радужной форели, кариотип: *P. gilae*, *P. aguabonita*, redband trout (Miller, 1972; Gold, Gall, 1975; Beamish, Miller, 1977; Gold, 1977).



Механизм морфологической дифференциации половых хромосом радужной форели и микижи сходен (Thorgaard, 1977; Фролов, 1989). Его можно предположить, исходя из морфологических различий X- и Y-хромосом. Они возникли, вероятнее всего, в результате делеции части короткого плеча Y-хромосомы, идентичной до этого с X-хромосомой (рис.1). Противоположный механизм возникновения таких различий – дупликация теломерного района короткого плеча X-хромосомы, не подтверждается данными С-окрашивания половых хромосом этих видов: и X-, и Y-хромосомы у них имеют лишь незначительные гетерохроматиновые блоки в прицентромерных районах. Возникшие морфологические различия X- и Y-хромосом незначительны и достоверно выявляются лишь при исследовании большого числа особей и большого числа клеток у каждой из них. Трудности в выявлении гетероморфизма половых хромосом обусловлены и наличием у радужной форели самцов с изоморфными половыми хромосомами, а у микижи – мозаицизма по длине короткого плеча Y-хромосомы.

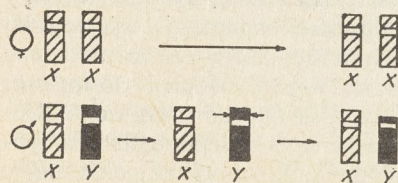


Рис. 1. Морфологическая дифференциация половых хромосом микижи *Parasalmo mykiss*.

X – X-хромосома, Y – Y-хромосома

Значительное сходство кариотипов и проявления морфологической дифференциации половых хромосом микижи и радужной форели позволяют сделать предположение и о степени генетической дифференциации половых хромосом у микижи. По-видимому, она столь же незначительна, как и у радужной форели. И хотя экспериментов по гормональной инверсии пола у микижи не проводили, их результат на основании представленных данных нетрудно предсказать.

Род *Oncorhynchus*. Кариотипы всех 6 видов рода в настоящее время известны (Simon, 1963; Muramoto et al., 1974; Горшкова, 1978, и др.) и исследованы с использованием методов дифференциального окрашивания хромосом (Ueda, 1983; Ueda et al., 1985; Phillips et al., 1985, 1986; Phillips, Kapuscinski, 1987). Однако у большинства видов не выявлены различия ни в морфологии, ни в окрашиваемости хромосом самок и самцов. Использованный в большинстве работ эмбриональный материал не дает возможности однозначно трактовать какие-либо различия даже при наличии полиморфизма.

Наиболее подробно исследованным видом является нерка *O. nerka*. Она изучена кариологически из разных популяций Азии и Америки. Как и в случае с радужной форелью, кариотип нерки исследовался в течение длительного времени, прежде чем различия ка-



риотипов самок и самцов этого вида были выявлены в американских популяциях (Thorgaard, 1978), хотя они и проявляются в различиях чисел хромосом: у самцов  $2n=57$ ,  $NF=104$ , у самок  $2n=58$ ,  $NF=104$ . Основная причина этого кроется, очевидно, в том, что во всех более ранних работах (и в ряде более поздних) использовался преимущественно эмбриональный материал, а взрослые особи либо молодь с дифференцированными гонадами лишь единично (Simon, 1963; Sasaki et al., 1968; Черненко, 1971, 1980; Fukuoka, 1972; Горшкова, 1978, 1980, и др.). Кроме того, в некоторых популяциях отдельные самцы нерки, как оказалось, имеют сходный с самками кариотип  $2n=58$ ,  $NF=104$  (Fukuoka, 1972; Шеленкова, 1986). Исследования последних лет полностью подтвердили существование различий кариотипов самок и самцов нерки: идентичные данные были получены при исследовании кариотипа нерки из ряда азиатских популяций (Ueda, 1983; Ueda, Ojima, 1984a; Шеленкова, 1986, 1987a,б; Фролов, 1990a). По-видимому, такие различия кариотипов самок и самцов свойственны нерке по всему ее ареалу.

Эти различия состоят в том, что в кариотипе самцов имеется 47 мета- и субметацентрических и 10 акроцентрических хромосом, а в кариотипе самок 46 мета- и субметацентрических и 12 акроцентрических хромосом. Механизм их возникновения был рассмотрен при первом описании (Thorgaard, 1978). Это – Y-аутосомная транслокация. Исходя из структуры кариотипа нерки, можно предположить, что Y-хромосома и аутосома, участвовавшие в этой транслокации, были акроцентрическими (так же, как и X-хромосома), т.е. эта транслокация относится к Робертсоновским, наиболее распространенным в эволюции кариотипов лососевых рыб (рис. 2). В данном случае эта транслокация осуществилась, по-видимому, без потери участков участвовавших в ней хромосом, поскольку ни в одной из акроцентрических хромосом кариотипа нерки вторые короткие плечи не наблюдаются. Более того, в образовавшейся таким образом метацентрической Y-хромосоме сохранены, скорее всего, обе центромеры исходных Y-хромосомы и аутосомы. В пользу этого говорят результаты C-окрашивания: Y-хромосома имеет в два раза больший блок окрашивающегося гетерохроматина в прицентромерном районе, чем любая из акроцентрических хромосом (Шеленкова, 1987a; Фролов 1990a), в некоторых случаях этот блок гетерохроматина выглядит двойным (Шеленкова, 1987б).

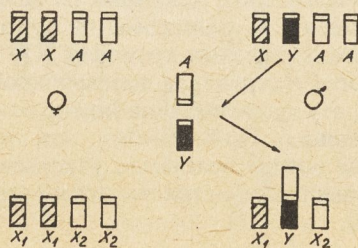


Рис. 2. Образование системы множественных половых хромосом нерки *Oncorhynchus nerka*. X – X-хромосома, Y – Y-хромосома, A – аутосома



Что касается степени генетической дифференциации половых хромосом нерки, то она, по-видимому, минимальна и состоит лишь в наличии в них разных аллелей определяющего пол гена. В данном случае Y-аутосомная транслокация, обусловившая морфологическую дифференциацию X- и Y-хромосом, не сопровождалась сколько-нибудь заметной потерей генетического материала Y-хромосомы и аутосомы.

Род *Coregonus*. Хотя кариотипы многих видов сиговых рыб (а обитающих на территории СССР практически всех) известны, в настоящее время гетероморфные половые хромосомы выявлены только у одного из них – сибирской ряпушки *C. sardinella* (Фролов, 1990б). Помимо субъективных причин, общих для кариологических исследований лососевых рыб всех групп, здесь имеются и серьезные трудности объективного характера, связанные со структурой кариотипа сиговых. Подавляющее большинство видов имеет кариотип, состоящий из 80 хромосом, из которых относительно легко идентифицируются только 18–20 двуплечих. Одноплечие хромосомы образуют постепенно уменьшающийся по размерам ряд, в котором выделение пар хромосом условно даже при использовании метода С-окрашивания хромосом. Выявление гетероморфных половых хромосом в таком кариотипе реально при условиях, что они двуплечие или одна из них гетерохроматизирована. Либо это возможно при использовании методов окрашивания, позволяющих точно идентифицировать гомологичные хромосомы. К сожалению, большинство попыток применения этих методов при исследовании кариотипов лососевых (в частности, метода G-окрашивания) не привели к положительным результатам.

Из четырех исследованных с использованием метода С-окрашивания видов рода (Фролов, 1988) ни у одного не обнаружено гетерохроматизации хромосом какой-либо пары. Лишь сибирская ряпушка оказалась удобным объектом: различия кариотипов самок и самцов этого вида касаются именно числа и морфологии двуплечих хромосом – в кариотипе самок их 18 (8 мета- и 10 субметацентрических), в кариотипе самцов 19 (10 мета- и 9 субметацентрических), одноплечих хромосом 62 у особей обоих полов. Две субметацентрические хромосомы кариотипа самок и одна непарная у самцов идентифицированы как X-хромосомы, а две метацентрические кариотипа самцов – как  $Y_1$  (самая крупная из двуплечих) и  $Y_2$  (самая мелкая из двуплечих) хромосомы. Такие структура кариотипа и морфология половых хромосом позволили предположить механизм их возникновения – путем транслокации исходной X-хромосомы на аутосому и образования системы множественных половых хромосом XX-XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> (рис. 3). Основываясь на морфологии и структуре половых хромосом, выявляемой при С-окрашивании, эту транслокацию можно отнести к центромерно-теломерному соединению. По-видимому, эта транслокация осуществилась без заметной потери материала участвовавших в ней хромосом и не привела к существенным генетическим различиям между половыми хромосомами.



Кариотип европейской ряпушки *C. albula* очень сходен с кариотипом сибирской ряпушки (Nygren et al., 1971). По описанию авторов, ее кариотип содержит 80 хромосом: 16 двуплечих и 64 одноплечих,  $NF=96$ . Исследованы кариотипы как самок, так и самцов, но различий в них не обнаружено. Однако приведенный в работе иллюстративный материал вызывает сомнения в его правильной интерпретации авторами. Во-первых, правильность трактовки некоторых хромосом на приведенной кариограмме. Некоторые из них, помещенные в ряд двуплечих хромосом, являются, вероятнее всего, результатом наложения двух акроцентрических (первая в третьей и вторая в восьмой парах двуплечих хромосом). Другие, явно двуплечие, помещены в пары с акроцентрическими (первая во второй, третьей и тридцатой парах, вторая в пятой парах одноплечих хромосом) (Nygren et al., 1971; рис.7). Во-вторых, повод для сомнений также дают фотографии метафазных пластинок: на одной из них на рис.8 насчитывается лишь 77 хромосом, а не 80, как следует из подписи к нему; метафазная пластинка на рис.9, из которой приготовлена кариограмма рис.7, получена из семенников и содержит, на наш взгляд, не 80 хромосом, а 81. Ее анализ позволяет выделить в ней 19 двуплечих хромосом. В-третьих, сразу обращает на себя внимание на этой метафазной пластинке одна из двуплечих хромосом, лежащая отдельно от других хромосом на семи часах: она явно крупнее всех других хромосом, гомолога ей нет. Более четко видна на этой метафазной пластинке и морфология расположенной ниже центра пластинки очень мелкой метацентрической хромосомы (на кариограмме она первая в тридцатой парах одноплечих хромосом). По относительным размерам и морфологии эти две хромосомы соответствуют  $Y_1$ - и  $Y_2$ -хромосомам сибирской ряпушки (Фролов, 1990б). Изложенное заставляет нас сделать вывод, что кариотипы двух видов ряпушек идентичны и оба они имеют систему определения пола  $XX-XY_1Y_2$ .

Сибирская ряпушка обитает и в Северной Америке, но кариотип ее из этих популяций неизвестен. Однако описаны (все на эмбриональном материале) кариотипы пяти других американских видов сигов: *C. clupeiformes* -  $2n=80$ ,  $NF=108$ ; *C. artedi* -  $2n=80$ ,  $NF=106$ ; *C. hoji* -  $2n=80$ ,  $NF=96$ ; *C. reinghardi* -  $2n=80$ ,  $NF=104$ ; *C. zenithicus* -  $2n=80$ ,  $NF=98$  (Booke, 1968). Четыре последних вида таксономически близки сибирской ряпушке, а кариотипы двух из них по числам хромосом и

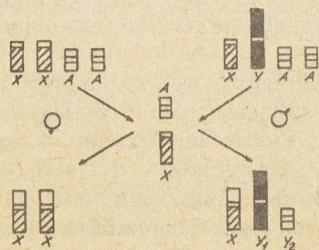


Рис. 3. Образование системы множественных половых хромосом сибирской ряпушки *Coregonus sardinella*.

Обозначения как на рис. 2



хромосомных плеч сходны с кариотипом самок сибирской ряпушки. На наш взгляд, вполне реально обнаружение у этих видов такой же системы определения пола, как и у последней. Для проверки этого предположения необходимо тщательное исследование кариотипов американских видов сигов с применением современных методов анализа хромосом. В таком исследовании кариотипов нуждаются и виды Евразии, поскольку большинство их кариотипов исследовано методами тотального окрашивания хромосом и без отдельного анализа кариотипов самок и самцов.

### Заключение

В настоящее время в результате цитогенетических исследований наши представления о структуре, механизмах и эволюции кариотипов лососевых рыб значительно расширились. В частности, эти исследования привели к выявлению у целого ряда видов разнообразных систем определения пола, а у пяти видов — гетероморфных половых хромосом. Имеющиеся данные свидетельствуют о существенных отличиях процесса дифференциации половых хромосом у рыб, в том числе и лососевых, от такового у других позвоночных животных.

У лососевых рыб этот процесс протекает в два этапа. На первом происходит генетическая дифференциация половых хромосом путем появления в них разных аллелей одного или нескольких определяющих пол генов. Половые хромосомы на этом этапе изоморфны. Их гетерохроматинизации не происходит, что затрудняет или делает невозможным их выявление цитогенетическими методами (редким исключением являются, возможно, половые хромосомы чавычи). Генетические различия половых хромосом на этом этапе дифференциации незначительны и не препятствуют полной гормональной инверсии пола в обоих направлениях с получением не только жизнеспособных, но и плодовитых ревертантов и жизнеспособных YY-самцов.

На следующем этапе происходит морфологическая дифференциация половых хромосом. Она осуществляется в большинстве случаев путем однократных хромосомных перестроек типа делеций, приводящих к незначительным морфологическим различиям половых хромосом, и транслокаций половых хромосом на аутосомы с образованием множественных половых хромосом. Генетические различия половых хромосом при этом становятся более существенными, но не препятствующими, однако, гормональной инверсии пола с получением жизнеспособных особей.

Как и у других рыб, характерной чертой эволюции половых хромосом лососевых рыб является ее независимость не только в разных надвидовых таксонах, но и у разных видов. Определяющим при этом является, вероятно, упрощенный, по сравнению с таковым у других позвоночных животных, механизм дифференциации половых хромосом, который выражается в двух случайных и однократных преобразованиях их генетической и морфологической структуры без



промежуточного этапа накопления генетических различий и гетерохроматинизации. Следствием такой независимости эволюции половых хромосом является большое разнообразие систем определения пола у лососевых рыб. Уже в настоящее время выявлены системы половых хромосом XX-XY у представителей родов *Salvelinus* и *Parasalmo*, XX-XY и  $X_1X_1X_2X_2-X_1X_2Y$  у двух видов рода *Oncorhynchus*, XX-XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> и ZZZZ-ZZWW у двух видов рода *Coregonus*. Вполне реально предположить, что в ближайшее время этот список будет продолжен. При этом наиболее вероятно выявление гетероморфных половых хромосом в группах близких видов, у некоторых из которых такие хромосомы уже известны, в частности у некоторых видов родов *Salvelinus* и *Parasalmo*. Все это позволяет отказаться от широко распространенного мнения об изоморфности половых хромосом у большинства видов лососевых.

### Литература

- Викторовский Р. М. 1978. Механизмы видообразования у голецов Кроноцкого озера. М.: Наука. 110 с. Горшкова Г. В. 1978. Некоторые особенности кариотипов тихоокеанских лососей // Цитология. Т. 20, N 12. С. 1432-1435. Горшкова Г. В. 1980. Кариология и хромосомный полиморфизм тихоокеанских лососей // Кариологическая изменчивость, мутагенез и гиногенез у рыб. Л.: Наука. С. 29-33. Горшкова Г. В., Горшков С. А. 1985. Кариотипы камчатских благородных лососей рода *Salmo* // Вопр. ихтиол. Т. 25, N 4. С. 553-560. Кирпичников В. С. 1979. Генетические основы селекции рыб. Л.: Наука. 392 с. Кирпичников В. С. 1987. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука. 520 с. Максимович А. А., Петрова Г. А. 1980. Радиационный диплоидный гиногенез у горбуши // Матер. I Международ. совещ. по биол. тихоокеанских лососей. М.: ВНИРО. С. 151-155. Полякова Л. А. 1985. Рыбоводно-биологическая характеристика первого гиногенетического поколения пеляди (*Coregonus peled* Gm.) // Генетические и экологические проблемы разведения лососевых рыб: Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. Л.: ГосНИОРХ. Вып. 228. С. 34-44. Полякова Л. А. 1987. Итоги разработки метода индуцированного гиногенеза у пеляди (*Coregonus peled* Gm.) // Генетические методы селекции рыб: Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. Л.: ГосНИОРХ. Вып. 261. С. 4-15. Фролов С. В. 1981. Исследование кариотипа микижи методом дифференциального окрашивания хромосом // Биол. моря. N 6. с. 73-75. Фролов С. В. 1988. Природа вариабельности кариотипов у лососевых рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток. 20 с. Фролов С. В. 1989. Дифференциация половых хромосом у лососевых рыб. 1. Кариотип и половые хромосомы микижи *Parasalmo mykiss* // Цитология. Т. 31, N 11. С. 1391-1394. Фролов С. В. 1990а. Дифференциация половых хромосом у лососевых рыб. 2. Кариотип и половые хромосомы нерки *Oncorhynchus nerka* // Цитология. Т. 32, N 5. С. 509-514. Фролов С. В. 1990б. Дифференциация половых хромосом у лососевых рыб. 3. Множественные половые хромосомы сибирской ряпушки *Coregonus sardinella* // Цитология. Т. 32, N 6. С. 659-663. Черненко Е. В. 1971. О хромосомном наборе нерки // Науч. сообщ. Ин-та биол. моря. Владивосток. Вып. 2. С. 228-231. Черненко Е. В. 1980. Хромосомный полиморфизм у нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Кариологическая изменчивость, мутагенез и гиногенез у рыб. Л.: Наука. С. 24-28. Шеленкова Н. Ю. 1986. Исследование кариотипов двух изолированных популяций камчатской нерки *Oncorhynchus nerka* // Цитология. Т. 28, N 7. С. 735-739. Шеленкова Н. Ю. 1987а. Исследование кариотипов двух видов тихоокеанских лососей - *Oncorhynchus nerka* и *O. kisutch* - методом окрашивания на С-блоки // Цитология. Т. 29, N 1. С. 100-104. Шеленкова Н. Ю. 1987б. Структура и изменчивость кариотипа камчатской нерки и некоторых других видов лососевых рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л. 20 с.



- Abe S., Muramoto J.I. 1974. Differential staining of chromosomes of two salmonid species, *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and *Salvelinus malma* (Walbaum) // Proc. Jap. Acad. V. 50B. P. 507-511.
- Beamish R.J., Miller R.R. 1977. Cytotaxonomic study of gila trout *Salmo gilae* // J. Fish. Res. Board Can. V. 34. P. 1041-1045.
- Booke H.E. 1968. Cytotaxonomic studies of the coregoninae fishes of the Great Lakes, USA: DNA and karyotype analysis // J. Fish. Res. Board Can. V. 25. P. 1667-1687.
- Bull J. J. 1978. Sex chromosomes in haploid dioecy: a unique contrast to Miller's theory for diploid dioecy // Amer. Natur. V. 112. P. 245-250.
- Bull J.J., Moon R.J., Legler J.M. 1974. Male heterogamety in kinosternid turtles (genus *Staurotypus*) // Cytogenet. Cell Genet. V. 13. P. 419-425.
- Bundenberg de Jong C.M. 1955. Cytological studies on *Salmo irideus* // Genetics. V. 27. P. 472-483.
- Chevassus B., Devaux A., Chourrout D., Jalabert B. 1988. Production of YY rainbow males by self-fertilization of induced hermaphrodites // J. Hered. V. 79. P. 89-92.
- Davissou M.T., Wright J.E., Atherton L.M. 1973. Cytogenetic analysis of pseudolinkage of LDH loci in the teleost genus *Salvelinus* // Genetics. V. 73. P. 645-658.
- Donaldson E.M., Hunter G.A. 1982. Sex control in fish with particular reference to salmonids // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 39. P. 99-110.
- Fukuoka H. 1972. Chromosomes of the sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) // Jap. J. Genet. V. 47. P. 459-464.
- Galetti P.M., Jr., Foresti F. 1986. Evolution of the ZZ/ZW system in *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). Role of constitutive heterochromatin // Cytogenet. Cell Genet. V. 43. P. 43-46.
- Gold J.R. 1977. Systematics of Western North American trout (*Salmo*), with notes on the redband trout of Sheepheaven Creek, California // Can. J. Zool. V. 55. P. 1858-1873.
- Gold J.R. 1979. Cytogenetics // Fish physiology. L; N. Y.: Acad. Press. V. 8. P. 353-405.
- Gold J.R., Gall G.A. 1975. Chromosome cytology and polymorphism in the California High Sierra golden trout (*Salmo aguabonita*) // Can. J. Genet. Cytol. V. 17. P. 41-53.
- Haat T., Schmid M. 1984. An early stage of ZW/ZZ sex chromosome differentiation in *Poecilia sphenops* var. *melanostica* (Poeciliidae, Cyprinodontiformes) // Chromosoma. V. 89. P. 37-41.
- Hunter G.A., Donaldson E.M., Goets F.W., Edgell P.R. 1982. Production of all-female and sterile groups of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and experimental evidence for male heterogamety // Trans. Amer. Fish. Soc. V. 111. P. 367-372.
- Hunter G.A., Donaldson E.M., Stoss J., Baker J. 1983. Production of monosex female groups of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by the fertilization of normal ova with sperm from sex-reversed females // Aquaculture. V. 33. P. 355-364.
- Johnston R., Simpson T.H., Youngson A.F., Whitehead C. 1979. Sex reversal in salmonid culture. Part 2. The progeny of sex-reversed rainbow trout // Aquaculture. V. 18. P. 13-19.
- Kligerman A.D., Bloom S.E. 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes // J. Fish. Res. Board Can. V. 34. P. 266-269.
- Miller R.R. 1972. Classification of the native trouts of Arizona with the description of a new species, *Salmo apache* // Copeia. N 3. P. 401-422.
- Muller H.J. 1914. A gene for the fourth chromosome of *Drosophila* // J. Exp. Zool. V. 17. P. 324-336.
- Muramoto J., Azumi J., Fukuoka H. 1974. Karyotypes of 9 species of the Salmonidae // C.I.S. N 17. P. 20-23.
- Nygren A., Nilsson B., Jahnke M. 1971. Cytological studies in *Thymallus thymallus* and *Coregonus albula* // Hereditas. V. 67. P. 269-274.
- Ojima Y. 1982. Evolution of the sex chromosomes in Pisces // Kromosomo. N 27-28. P. 849-859.
- Ojima Y. 1983. Fish cytogenetics // Chromosomes in evolution of eukaryotic groups. V. 1. Boca Raton: CRC Press Inc. P. 111-145.
- Ojima Y., Takai A. 1979. Further cytogenetic studies on the origin of the gold-fish // Proc. Jap. Acad. V. 55B. P. 346-350.
- Okada H., Matsumoto H., Yamazaki F. 1979. Functional masculinization of genetic females in rainbow trout // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. V. 45. P. 413-419.
- Phillips R.B., Ihssen P.E. 1985. Identification of the sex chromosomes in lake trout (*Salvelinus namaycush*) // Cytogenet. Cell Genet. V. 39. P. 14-18.
- Phillips R.B., Kapuscinski A.R. 1987. A robertsonian polymorphism in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) involving the nucleolar organizer region // Cytogenet. Cell Genet. V. 44. P. 148-152.
- Phillips R.B., Zajicek K.D. 1982. Q-band chromosomal polymorphism in lake trout (*Salvelinus namaycush*) // Genetica. V. 101. P. 227-234.
- Phillips R.B., Zajicek K.D., Utter F.M. 1985. Q-band chromosomal polymorphism in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Copeia. N



2. P. 272-278. Phillips R.B., Zajicek K.D., Utter F.M. 1986. Chromosome banding in salmonid fishes: nucleolar organizer regions in *Oncorhynchus* // Can. J. Genet. Cytol. V. 28. P. 502-510. Refstie T., Stoss J., Donaldson E.M. 1982. Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock // Aquaculture. V. 29. P. 67-82. Sasaki M., Hitotsumachi S., Makino S., Terao T. 1968 (1969). A comparative study of the chromosomes in the chum salmon, the kokanee salmon and their hybrids // Carliologia. V. 21. P. 389-394. Simon R.C. 1963. Chromosome morphology and species evolution in the five North American species of Pacific salmon (*Oncorhynchus*) // J. Morphol. V. 112. P. 77-97. Sites J.W., Bickham J.W., Haiduk M.W. 1979. Derived X chromosome in the turtle genus *Staurotypus* // Science. V. 206. P. 1410-1412. Thorgaard G.H. 1977. Heteromorphic sex chromosomes in the male rainbow trout // Science. V. 196. P. 900-902. Thorgaard G.H. 1978. Sex chromosomes in the sockeye salmon: a Y-autosome fusion // Can. J. Genet. Cytol. V. 20. P. 349-354. Thorgaard G.H. 1983. Chromosomal differences among rainbow trout populations // Copeia. N 3. P. 656-662. Thorgaard G.H., Gall G.A.E. 1979. Adult triploids in a rainbow trout family // Genetics. V. 93. P. 961-973. Ueda T. 1983. Cytogenetical characters of 4 species in the Salmonid fishes // Bull. Fac. Educ. Utsunomiya Univ. N 34. P. 53-61. Ueda T., Ojima Y. 1983. Karyotypes with C-banding patterns of two species in the genus *Salvelinus* of the family Salmonidae // Proc. Jap. Acad. V. 59B. P. 343-346. Ueda T., Ojima Y. 1984a. Sex chromosomes in the kokanee salmon *Oncorhynchus nerka* // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. V. 50. P. 1495-1498. Ueda T., Ojima Y. 1984b. Sex chromosomes in the rainbow trout *Salmo gairdneri* // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. V. 50. P. 1495-1504. Ueda T., Ojima Y., Naka K. 1985. Chromosomal polymorphism in the Biwa trout (Salmonidae) with the increase or decrease in constitutive heterochromatin // Proc. Jap. Acad. V. 61B. P. 483-485. Wahl R.W. 1960. Chromosome morphology in lake trout *Salvelinus namaycush* // Copeia. N 1. P. 16-19. Wright J.E. 1955. Chromosome number in trout // Progr. Fish. Cult. V. 17. P. 172-176. Yamazaki F. 1983. Sex control and manipulation in fish // Aquaculture. V. 33. P. 329-354.

Поступила 18 X 1990, утверждена 27 III 1991



## СТРОЕНИЕ ГОНАДЫ МЕДУЗЫ *GONIONEMUS VERTENS* *VERTENS*

В.Б.Дуркина, Е.М.Карасева, Н.Е.Ламаш, И.П.Худик

Лаборатория регуляции размножения и Лаборатория сравнительной цитологии  
Института биологии моря ДВО АН СССР, Владивосток 690032

Описано гистологическое строение зрелой половой железы самцов, самок и гермафродитных особей медузы *Gonionemus vertens vertens*, выловленных в Амурском заливе Японского моря.

The organization of gonads of the medusa *Gonionemus vertens vertens*. V.B.Durkina, E.M.Karaseva, N.E.Lamash, I.P.Khudik (Laboratory of Regulation of Reproduction and Laboratory of Comparative Cytology, Institute of Marine Biology, Far East Branch, Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok 690032)

The histological organization of ripe female, male and hermaphrodite gonads of the medusa *Gonionemus vertens vertens* captured in Amur Bay of the Sea of Japan is described. (Biologiya моря, Vladivostok, 1991, N 5, p. 18-22).

Медузы рода *Gonionemus* широко распространены в водах Тихого, Индийского и Атлантического океанов. В настоящее время род *Gonionemus* относят к сем. Olindiadidae (Werner, 1984). Наумов (1955) предложил свести известные к тому времени девять видов гониемом к трем: *G.gemmifera*, *G.survaensis* и *G.vertens*. Интересующий нас вид – ядовитая медуза "крестовик" *G.vertens* L.Agassiz, 1862, периодически появляется в массовом количестве в малождливые годы с жаркими летними месяцами у берегов южного Приморья, особенно в санаторно-курортной зоне Амурского залива г.Владивостока, вызывая тяжелые поражения людей. Наумов (1955), Микулич и Наумов (1974) считают тихоокеанского "крестовика" подвидом *G.vertens vertens* в отличие от медуз *G.vertens murbachi*, обитающих в водах Атлантического океана и не обладающих токсичностью. Имеются сведения об экологии, распространении, жизненном цикле и бесполом размножении *G.vertens* и его подвида *G.vertens vertens* (Tambs-Lyche, 1964; Микулич, 1974; Микулич, Наумов, 1974; Edwards, 1976; Uchida, 1976; Bakker, 1980), однако отсутствуют данные об организации половой железы и гаметогенезе гониемом. В предлагаемой работе описывается строение репродуктивной системы медузы "крестовик".

### Материал и методика

Исследования выполнены на медузе *Gonionemus vertens vertens*. Животные были отловлены 24 июля и 14 августа 1989 г. в Амурском заливе Японского моря в пригородной зоне г.Владивостока. Медуз фиксировали в жидкости Буэна. Участок тела с гонадой вырезали, заливали в парафин по общепринятой методике и готовили срезы толщиной 5–6 мкм. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином. В работе проанализировано состояние гонад у 31 особи.



УДК 575:597.554.5

## АНАЛИЗ КАРИОТИПА ГИБРИДОВ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALBAUM) И СИМЫ *O. MASOU* (BREVOORT)

© 1992 г. ФРОЛОВ С.В., МАКСИМОВИЧ А.А.

Исследован кариотип межвидовых гибридов горбуши *O. gorbuscha* (самки) и симы *O. masou* (живые самцы). Несмотря на значительные различия кариотипов родительских видов ( $2n = 52-54$  у горбуши нечетных лет и  $2n = 66$  у симы) гибридные особи вполне жизнеспособны. Их кариотип представляет собой сумму гаплоидных наборов хромосом родительских видов. Отмечена изменчивость ядрышкообразующих районов хромосом, приводящая к варьированию размеров и морфологии несущих их хромосом.

Проблема изменчивости кариотипов лососевых рыб привлекает внимание исследователей с момента описания хромосомного мозаицизма на основе робертсоновских транслокаций у радужной форели *Parasalmo gairdneri* [1]. С тех пор различные типы изменчивости кариотипа на основе разнообразных механизмов были предположены для целого ряда видов лососевых рыб. Наиболее интересной из них является изменчивость кариотипа горбуши *O. gorbuscha*, особи смежных поколений которой различаются по числу хромосом (в четные годы  $2n = 52$ , в нечетные годы преимущественно  $2n = 53-54$ ) при постоянстве числа хромосомных плеч [2, 3]. Представляет большой интерес характер наследования хромосом у этого вида в ряду поколений, особенно поколений нечетных лет. Одним из способов его изучения является исследование кариотипов гибридов горбуши с близким видом, заметно отличающимся от нее по числу и морфологии хромосом. Таким удобным и обитающим совместно с горбушей является сима *O. masou* ( $2n = 66$ ). Исследованию кариотипов гибридов этих двух видов и посвящена настоящая работа.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для работы послужили 10 одновозрастных мальков (4 самки и 6 самцов, возраст 0+) двух размерных групп ( $AC = 60-65$  мм и  $AC = 80-85$  мм), полученных при скрещивании в сентябре 1987 г. 12 самок горбуши и 5 карликовых самцов симы. Производители были отловлены в реке Белой (горбуша) и притоке этой реки ключе Теплом (сима) в районе пос. Сокол (южный Сахалин). Икру инкубировали на Соколовском рыбопроизводном заводе. Мальков выращивали в аквариумах с декабря 1987 г. по сентябрь 1988 г. Препараты хромосом готовили из клеток переднего отдела почки по методу воздушного высушивания [4]. Тотальное окрашивание хромосом проводили азуром-эозином. Для выявления ядрышкообразующих районов хромосом (ЯОР) применяли метод Ag-окрашивания [5]. Всего исследовали 340 метафазных пластинок, из них 182 дифференциально окрашенных. Числа хромосом подсчитывали во всех тотально окрашенных и части дифференциально окрашенных метафазных пластинках (табл. 1).



Распределение числа хромосом в клетках предпочки гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou*

Особь	Число исследованных клеток, окрашенных		Число клеток с разным числом хромосом					
	тотально	Ag	56	57	58	59	59—60	60
1	10	1	—	—	1	2	1	6
2	8	9	—	—	1(B)	7	1	—
3	11	35	—	—	—	19	—	—
4	22	31	1	1	—	27(B)	—	—
5	5	—	1	—	—	4	—	—
6	3	—	—	—	—	2	1	—
7	52	71	2	3	7	38(B)	3	—
8	15	14	1	1	1	11	—	1
9	12	9	—	—	—	1	3	14
10	19	12	—	—	1	2	—	20
Всего	158	182	5	5	11	113	9	41

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

По числу хромосом исследованные особи ясно разделяются на две группы. В первой мальки имеют в кариотипе 59 хромосом, во второй — 60. У особей обеих групп класс клеток с модальным числом хромосом заметно преобладает и составляет от 60 до 100% от общего числа исследованных клеток. Наблюдаемые колебания чисел хромосом мы склонны отнести к артефактам, обусловленным потерями хромосом в процессе приготовления препаратов, а не истинной изменчивостью числа хромосом. В пользу этого говорит практически полное отсутствие клеток с числами хромосом выше модального у рыб обеих групп.

Кариотип особей с 59 хромосомами включает 45 мета- и субметацентрических, 10 субтелоцентрических и 4 акроцентрических хромосом (рис. 1). Поскольку кариотип является гибридным, хромосомы в кариограмме расположены согласно их морфологии и размеров в виде рядов одноплечих и двуплечих хромосом без выделения пар гомологичных хромосом. В кариотипе рыб с 60 хромосомами 44 мета- и субметацентрических, 10 субтелоцентрических и 6 акроцентрических хромосом. В трех метафазных пластинках от трех особей отмечены по одному очень мелкому элементу (рис. 2, табл. 1), сходному по размерам с мелкими добавочными хромосомами, описанными у двух видов сиговых рыб [6, 7].

При Ag-окрашивании выявляются три типа ЯОР — в теломерном районе короткого плеча одной из субтелоцентрических хромосом и в прицентромерном районе длинного плеча крупной субметацентрической (у особей с  $2n = 59$ ) либо в прицентромерном районе крупной акроцентрической хромосомы (у особей с  $2n = 60$ ) (рис. 3). Окрашиваемые ЯОР на всех хромосомах очень изменчивы. Нами выделены несколько типов хромосом, несущих ЯОР, на основании выявленной морфологии этих районов (рис. 4).

### ОБСУЖДЕНИЕ

К сожалению, кариотипы самок горбуши и карликовых самцов симы, являвшихся родителями рассматриваемых гибридов, нами не исследованы. Однако данные о кариотипах этих видов имеются в литературе. О кариотипе симы, в том числе и юга Сахалина, существует много сведений [8—12]. Все авторы отмечают в нем 66 хромосом и, в зависимости от классификации хромосом некоторых пар, 100—104 хромосомных плеча. По нашим данным кариотип симы (молоди из ключа Теплого, в котором выловлены использованные в скрещивании карликовые самцы) содержит 34 мета-





Рис. 1. Метафазные пластинки (а, б) и кариогаммы (в, г) гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou*: а, в —  $2n = 59$ ,  $NF = 104$ , б, г —  $2n = 60$ ,  $NF = 104$ . М-СМ — мета- и субмета-, СТ — субтело-, А — акроцентрические хромосомы. Об.  $100\times$ , ок.  $7\times$

и субметацентрических и 8 акроцентрических хромосом, т.е. ее кариотип  $2n = 66$ ,  $NF = 104$ , что согласуется с данными других исследователей.

Кариотип горбуши также исследовался неоднократно. Большинство авторов отмечали в нем 52 хромосомы [9, 10, 13]. Однако позже были убедительно показаны существенные различия кариотипов особей смежных лет. Рыбы четных лет нереста имеют в кариотипе 52 дуплетные (мета- и субметацентрические) хромосомы, рыбы



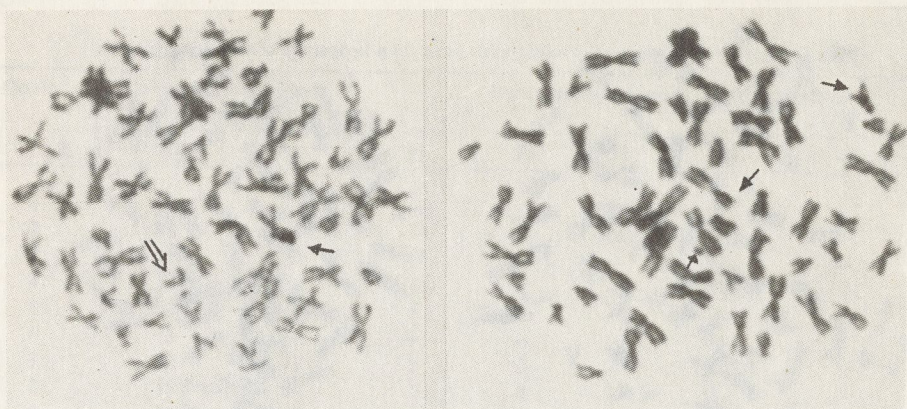


Рис. 2. Метафазные пластинки гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou* с добавочными (?) хромосомами (указаны стрелками). Двойные стрелки — маркерные хромосомы кариотипа горбуши. Об. 100 $\times$ , ок. 7 $\times$

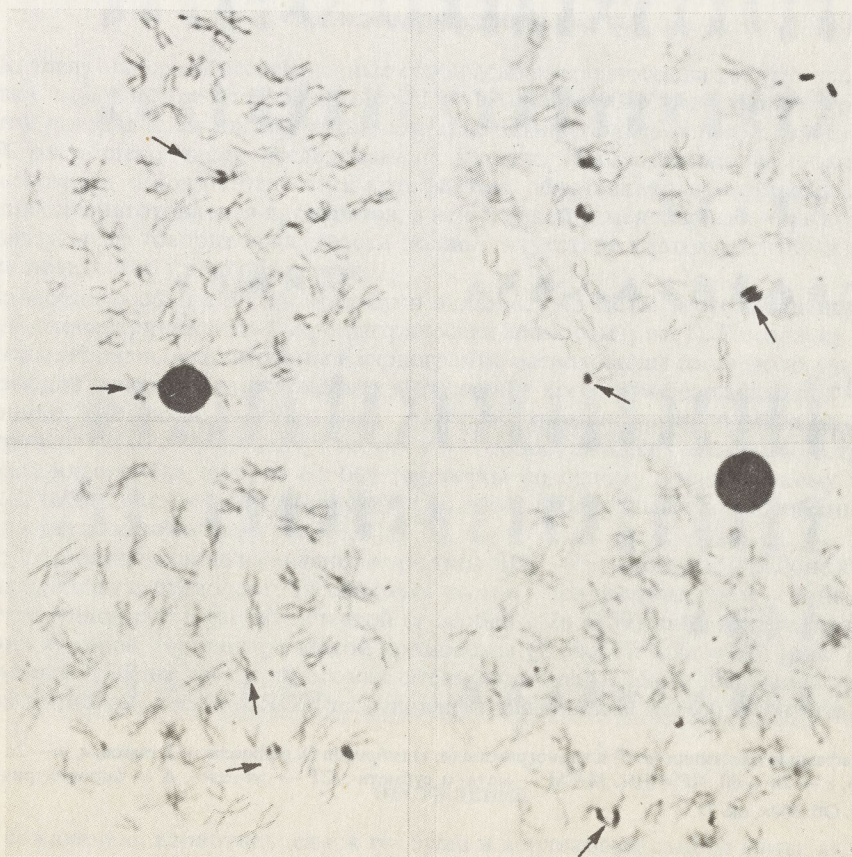


Рис. 3. Изменчивость ЯОР хромосом в кариотипах гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou*. Об. 100 $\times$ , ок. 1 $\times$



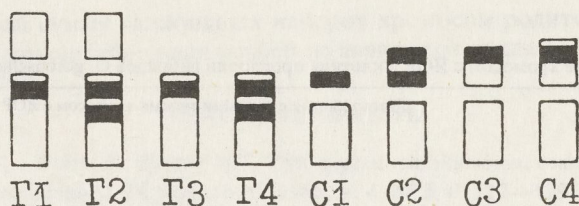


Рис. 4. Типы хромосом, несущих ЯОР, в кариотипах гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou*

нечетных лет нереста — преимущественно 53—54 хромосомы (50—51 мета- и субметацентрических и 2—4 акроцентрических) при стабильном числе хромосомных плеч  $NF = 104$ . Эти различия кариотипов отмечены у рыб как Сахалина, так и Камчатки [2, 3]. Существование различающихся кариотипов у горбуши Камчатки ( $2n = 52$  и  $2n = 53$  при  $NF = 104$ ) позже было подтверждено одним из авторов [14]. Эти различия обусловлены разделением одной из крупных субметацентрических хромосом на две акроцентрические либо обратным процессом.

В свете данных о кариотипах горбуши разных лет нереста ( $n = 26$  в четные и  $n = 26$ — $27$  в нечетные годы) становятся понятными полученные нами данные о кариотипах гибридов от скрещивания ее с симой ( $n = 33$ ). Поскольку исследованные нами гибридные особи являются продуктом скрещивания симы с горбушей 1987 г. нереста (нечетного), то суммирование гаплоидных наборов хромосом родительских видов приводит за счет существования у горбуши двух типов гамет к появлению двух гибридных кариотипов —  $2n = 59$  ( $n = 26 \times n = 33$ ) и  $2n = 60$  ( $n = 27 \times n = 33$ ). Более того, различие кариотипов гибридных особей однозначно указывает, что среди самок горбуши, использованных для скрещивания, были особи с  $2n = 53$ — $54$ . Гибриды с кариотипом  $2n = 59$  численно преобладают, но это преобладание обусловлено, вероятнее всего, именно наличием у горбуши кариотипа  $2n = 54$ . По размерам гибридные особи с разными кариотипами не различаются. Хотя все гибриды более крупных размеров имеют в хромосомном наборе 59 хромосом, такой же набор отмечен и у части более мелких рыб.

То, что кариотип гибридов является суммой гаплоидных наборов хромосом родительских видов, подтверждает и его структура. У симы в гаплоидном наборе 19 метацентрических, 10 субтелоцентрических и 4 акроцентрических хромосом ( $n = 33$ ), у горбуши нечетного года нереста 26 мета- и субметацентрических ( $n = 26$ ) либо 25 мета- и субметацентрических и 2 акроцентрических хромосом ( $n = 27$ ), а у гибридов 45 мета- и субметацентрических, 10 субтелоцентрических и 4 акроцентрических ( $2n = 59$ ) либо 44 мета- и субметацентрических, 10 субтелоцентрических и 6 акроцентрических хромосом ( $2n = 60$ ). Более того, и тотальное, и (еще лучше) Ag-окрашивание позволяют выделить группы хромосом и отдельные хромосомы, являющиеся маркерными для кариотипов родительских видов. В гибридных кариотипах  $2n = 59$  идентифицируются группы субтелоцентрических и акроцентрических хромосом кариотипа симы, отсутствующие у горбуши при  $n = 26$ , в кариотипах  $2n = 60$  — только субтелоцентрические хромосомы симы и в обоих — одна из субтелоцентрических хромосом, имеющая ядрышкообразующий район (см. рис. 3—4). Из кариотипа горбуши можно идентифицировать характерные для него мелкую субметацентрическую хромосому с удлинненным центромерным районом и крупную субметацентрическую ( $2n = 59$ ) либо крупную акроцентрическую ( $2n = 60$ ) хромосомы с ЯОР, расположенным около центромеры (см. рис. 1—3). Эти хромосомы являются маркерными для кариотипа горбуши и выявляются в нем на метафазных пластинках и кариограммах, представленных разными авторами [2, 3, 9, 14—16]. При этом крупные субметацентрические хромосомы часто можно выявить и без Ag-окрашивания по слабо окрашивающему участку длинного плеча, расположенному около центромеры (см. рис. 1, а, в; 2, б).



Распределение хромосом с ЯОР в клетках предпочки гибридов *O. gorbuscha* и *O. masou*

Особь	Число исследованных клеток	Число клеток с разными типами хромосом с ЯОР											
		Г1	Г2	Г3	Г4	Г1С1	Г1С2	Г1С3	Г1С4	Г2С1	Г3С1	Г4С1	Г4С2
1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
2	9	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	35	6	12	—	—	10	—	—	—	7	—	—	—
4	31	1	3	—	—	19	1	—	—	7	—	—	—
7	71	47	16	—	—	6	—	—	—	2	—	—	—
8	14	1	—	—	—	5	—	2	3	3	—	—	—
9	9	—	—	2	2	—	—	—	—	—	3	1	1
10	12	—	—	9	2	—	—	—	—	—	1	—	—
Всего	182	59	35	11	4	40	1	2	3	19	5	1	1

Примечание. Обозначения хромосом, как на рис. 4.

Исследование активных ЯОР у гибридных особей показало, что частота окрашиваемости (и соответственно активности) ЯОР, происходящих из генома горбуши, значительно выше — они активны во всех исследованных клетках, тогда как ЯОР генома симы — лишь в 40% клеток и только при активных ЯОР горбуши (табл. 2). Наиболее часто встречаются одинарные ЯОР горбуши — Г1 и Г3 (частота встречаемости соответственно 65,5 и 72,5%) и симы — С1 (они отмечены в 90,5% клеток с активными ЯОР симы). При наличии в клетке гибрида двух окрашивающихся ЯОР они, как правило, также одиночные в хромосомах обоих видов. Какой-либо закономерности в таком проявлении активности ЯОР нами не выявлено. Их активность не коррелирует ни с размерами, ни с полом гибридов. Вероятнее всего, именно такое состояние активности ЯОР является нормой для родительских видов и не изменяется у гибридов. В этом случае наличие двойных или сдвинутых по оси хромосомы активных ЯОР следует рассматривать как производное состояние.

В литературе имеются сведения о кариотипе гибридов горбуши и проходной симы —  $2n = 59$  [10], что соответствует одному из описанных нами кариотипов. Сведений о гибридах горбуши и симы с  $2n = 60$  мы не обнаружили. Поскольку в работе Араи [10] также использованы гибриды от скрещивания горбуши нечетного (1977) года нереста, вполне вероятно, что его данные объясняются случайным использованием в работе особи горбуши с  $2n = 52$ , которые встречаются в нечетные годы в небольшом количестве в других частях ареала [2, 3]. Предположение об идентичности кариотипов горбуши смежных лет, заходящей на нерест в Японию (Араи использовал в работе рыбу с о. Хоккайдо), представляется менее вероятным. Исключена и возможность неправильного подсчета хромосом у гибридов, поскольку автором представлен материал очень высокого качества, не допускающий двойного толкования.

Данные о кариотипах гибридов симы и горбуши, а также гибридов этих видов с другими видами тихоокеанских лососей показывают, что во всех случаях они представляют собой по числу хромосом и структуре сумму гаплоидных наборов хромосом родительских видов даже у нежизнеспособных особей [10, 11, 17].

Суммируя изложенное, можно отметить, что, несмотря на значительные различия кариотипов горбуши ( $2n = 52-54$ ,  $NF = 104$ ) и симы ( $2n = 66$ ,  $NF = 104$ ), полученные при их скрещивании гибриды вполне жизнеспособны. Их развитие не сопровождается нарушениями генетического аппарата, а кариотип по числу хромосом и структуре



представляет собой сумму гаплоидных наборов хромосом родительских видов. При этом скорость развития гибридных особей не зависит от числа хромосом в кариотипе ( $2n = 59$  или  $2n = 60$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ohno S., Stenius C., Faisst E., Zenes M.T. Post-zygotic chromosomal rearrangements in rainbow trout (*Salmo irideus* Gibbons) // *Cytogenetics*. 1965. V. 4. № 2. P. 117—129.
2. Горшков С.А., Горшкова Г.В. Хромосомный полиморфизм горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* // *Цитология*. 1981. Т. 23. № 8. С. 954—960.
3. Горшкова Г.В., Горшков С.А. Хромосомный полиморфизм горбуши четных и нечетных лет // *Докл. АН СССР*. 1983. Т. 272. № 4. С. 1023—1024.
4. Фролов С.В. Дифференциация половых хромосом у лососевых рыб. I. Кариотип и половые хромосомы микижи *Parasalmo mykiss* // *Цитология*. 1989. Т. 31. № 11. С. 1391—1394.
5. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method // *Experientia*. 1980. V. 36. P. 1014—1015.
6. Фролов С.В. Добавочные хромосомы в кариотипе чира // *Цитология*. 1986а. Т. 28. № 2. С. 215—219.
7. Фролов С.В. Полиморфизм и мозаицизм по добавочным хромосомам у сибирской ряпушки // *Цитология*. 1986б. Т. 28. № 7. С. 740—744.
8. Черненко Е.В., Викторовский Р.М. Хромосомные наборы симы, кунджи и южной мальмы // *Науч. сообщ. Ин-та биол. моря*. 1971. Вып. 2. С. 232—235.
9. Muramoto J., Azumi J., Fukuoka H. Karyotypes of 9 species of the Salmonidae // *CIS*. 1974. № 17. P. 20—23.
10. Arai K. Developmental genetic studies on salmonides: morphogenesis, isozyme phenotypes and chromosomes in hybrid embryos // *Mem. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 1984. V. 31. P. 1—94.
11. Yamazaki F., Arai K., Terao T. Chromosomes of the hybrids between masu salmon and chinook salmon // *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 1987. V. 38. P. 34—37.
12. Ueda T., Sato R., Kabayashi J. The origin of the genome of haploid masu salmon and rainbow trout recognized in abnormal embryos // *Nip. Suisan Gak.* 1988. V. 54. P. 619—625.
13. Simon R.C. Chromosome morphology and species evolution in the five North American species of Pacific salmon (*Oncorhynchus*) // *J. Morphol.* 1963. V. 112. P. 77—97.
14. Фролов С.В. Природа вариабельности кариотипов у лососевых рыб: Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: Ин-т биологии моря, 1988. 20 с.
15. Phillips R.B., Zajicek K.D., Utter F.M. Chromosome banding in salmonid fishes: nucleolar organizer regions in *Oncorhynchus* // *Canad. J. Genet. and Cytol.* 1986. V. 28. P. 502—510.
16. Phillips R.B., Kapuscinski A.R.D. A Robertsonian polymorphism in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) involving the nucleolar organizer region // *Cytogenet. Cell. Genet.* 1987. V. 44. P. 148—152.
17. Sasaki M., Hitotsumachi S., Makino S., Terao T. A comparative study of the chromosomes in the chum salmon, the kokanee salmon and their hybrids // *Caryologia*. 1968 (1969). V. 21. P. 389—394.

Институт биологии моря  
ДВО РАН, Владивосток

Поступила в редакцию  
10.VI.1991

#### KARYOTYPE ANALYSIS OF PINK SALMON *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALBAUM) AND MASU SALMON *O. MASOU* (BREVOORT) HYBRIDS

FROLOV S.V., MAXIMOVICH A.A.

*Institute of Marine Biology, Russian Academy of Sciences  
Far East Division, Vladivostok*

#### S u m m a r y

The karyotype of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (females) and masu salmon *O. masou* (freshwater males) hybrids was studied. Although the karyotypes of pink salmon and masu salmon are very different ( $2n = 57-54$ ) in pink salmon in uneven years and  $2n = 66$  in masu salmon), hybrids are quite viable. Their karyotypes contain the sum of haploid sets of parental species. Variability of NORs leading to different size and morphology of chromosomes with NORs was noted.



УДК 575.113:598.816

## АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ВОРОН (CORVIDAE, PASSERIFORMES) ИЗ ЗОНЫ ПЕРЕКРЫВАЮЩИХСЯ АРЕАЛОВ И ГИБРИДИЗАЦИИ

© 1992 г. КРЮКОВ А.П., УФЫРКИША О.В., ЧЕЛОМИНА Г.Н.

Проведен рестрикционный анализ яДНК и электрофоретический анализ сывороточных белков крови серой *Corvus cornix*, черной *C. corone* ворон и их естественных гибридов. У родительских форм различий не обнаружено. Гибриды характеризуются повышенной изменчивостью количества повторов ДНК в рестриктивных фрагментах, а также наличием собственных вариантов альбумина, посттрансферрина и эстеразы. Подтверждены общие принципы организации генома птиц и наследования признаков у гибридов.

Одним из наиболее известных примеров естественной гибридизации животных является скрещивание серой и черной ворон. Несмотря на то, что он описан во многих учебниках по теории эволюции, систематике, зоогеографии, ситуация до сих пор не изучена во многих отношениях: на уровне структуры генома, аллозимной изменчивости, оценки потока генов между скрещивающимися формами. Не определен также таксономический статус гибридирующих форм, и разными авторами серой и черной воронам придается либо видовой, либо подвидовой ранг.

Целью настоящей работы является анализ геномов гибридов между серой *Corvus cornix* L. и черной *C. corone* L. воронами в сравнении с фенотипически «чистыми» исходными формами. Молодых птиц отлавливали в окрестностях пос. Итат и Тисуль Кемеровской обл., где находится центр их узкой стабильной зоны гибридизации [1]. В сборе материала принимали участие В.Н. Блинов и Л.Н. Пашкова.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В молекулярно-генетических исследованиях был использован метод рестрикционного анализа ДНК [2]. Препараты ДНК получали индивидуально из ядер печени 17 особей стандартным фенольно-детергентным способом с обработкой РНКазой и проназой. Гидролиз ДНК, разделение рестриктивных фрагментов и денситометрию выполняли, как описано ранее [3]. Использовали три тетрапуклеатидные нуклеазы рестрикции: *AluI*, *BspRI* и *Sau3a*, выпускаемые НПО «Фермент» (Вильнюс). Биохимические исследования основывались на анализе в полиакриламидных гелях некоторых белков крови 34 особей. Альбумины и эстеразы анализировали по методике Дэвиса [4], остальные белки — по Ганэ [5].

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Картины расщепления яДНК оказались нуклеазоспецифичными. Однако качественных различий в организации генома разных форм ворон не обнаружено (рис. 1). Нуклеаза *Sau3a* выявила по одному дискретному фрагменту в низко- и высокомолекулярной областях спектра размером примерно 660 пн (минорный компонент) и 237 пн соответственно. Рестриктаза *AluI* во всех геномах обнаружила повторяющуюся ДНК с типичной тандемной организацией, где длина единицы повторяемости составляет 210 пн. С помощью *BspRI* идентифицирован повтор, организованный более сложно. Размеры *BspRI*-фрагментов кратны  $n \times 30$ ,  $n \times 35$  или  $(n \times 30) + 5$  пн. Следо-



The positive results in more than one test referred to above would suggest the mutagenic potential of *Euglena* sp. in mice system and thereby all groups of microbes (Stainer et al. 1976) are now found to have mutagenic potential as advocated by Manna (1989). However more studies are in progress for further verification.

*Acknowledgements* : Financial supports received from the UGC and INSA, New Delhi are gratefully acknowledged for the work.

#### References

- Manna, G.K. 1985. In : Instructional Workshop on Perspectives in Chromosome Research. (Ed.) S.C.Roy. Dept. Botany, Calcutta Univ., 55-72. Manna, G.K. 1989. *Pers. Cytol. Genet.*, **6** : 47-58. Manna, G.K. 1991. In : Environmental Mutagenesis (Eds) R.C. Sobti & G. Obe. Narosa Publ. House, New Delhi (*In Press*) Stainer, R.Y., Adelberg, E.A. & Ingraham, J.L. 1976. (Eds) General Microbiology 4th Edition. The Macmillan Press, London.

*Department of Zoology, University of Kalyani, Kalyani 741 235, India*

#### 5. Frolov, S.V. : **Karyotype of *Stenodus leucichthys nelma* from Anadyr' River**

*Stenodus leucichthys* is one of the species of subfamily Coregoninae (*Salmonidae, Pisces*). It is widely distributed in the rivers of European, Asian and American North. One of subspecies, *S.l. nelma*, inhabits the rivers of Russian and Alaskan North. The karyotypes of many coregonine species of the genus *Coregonus* are known now (Viktorovsky *et al.*, 1983), but there is only one report about karyotype of *S. leucichthys* from Alaska (Booke, 1975). This paper reports the karyotype of North Asian *S. leucichthys* from Anadyr' River.



Fig. 1. Karyotype of *S. l. nelma*,  $2n=76$ ,  $NF=98$ .

Top row, metacentrics; second row, meta-submetacentrics and submetacentrics; third to sixth rows, acrocentrics.



Karyotype of *S.l. nelma* consists of 76 chromosomes, with 14 metacentrics, 2 meta-sub-metacentric, 6 submeta-subtelocentric and 54 acrocentric without visible short arms (Fig. 1). Including the short arms of submeta-subtelocentric chromosomes a total arm number is 98. Metacentrics slightly decrease in length from 1st to 7th pair. The largest submeta-subtelocentrics are equal in length with 1st pair of metacentrics. 1st acrocentric pair is very long, but other acrocentrics slightly decrease in length from 2nd to last pair. One pair of acrocentrics has a structure like the satellite in telomeric region.

This karyotype strongly differs from those described by Booke (1975) for Alaskan *S. leucichthys*- $2n=74$ ,  $NF=108$ . The difference in chromosome numbers in these two karyotypes may be explained by polymorphism noted for some species of salmonine fishes, but the reality of such great difference in  $NF$  is doubtful. It may be due to difficulties in chromosome arm counting in chromosomes prepared from *S. leucichthys* embryos without colchicine treatment as in Booke's report. So, further investigation of the *S. leucichthys* karyotype must be carried on by modern methods of analysis.

The *S. leucichthys* karyotype also strongly differs from those of coregonine fishes of the genus *Coregonus*. The main difference is that the former has 6 large submeta-subtelocentrics while the later has only 2 similar chromosomes.

#### References

- Booke, H.E. 1975. J. Fish. Res. Bd Can. **32**: 295-296. Frolov, S.V. 1989. Tsytologia **31**: 1391-1394 (in Russian with English summary). Viktorovsky, R.M., Ermolenko, L.N., Makoedov, A.N., Frolov, S.V. & Shevchishin, A.A. 1983. Tsytologia **25**: 1309-1315 (in Russian with English summary).

*Institute of Marine Biology, Far East Branch, Academy of Sciences of the CIS, Vladivostok, CIS*

#### 6. Frolov, S.V. & Miller, I.N. : **Karyotypes of *Salvelinus malma* and *S.leucomaenis* from North Primorye**

There are many reports concerned with karyotypes of *Salvelinus* species. Great differences in chromosome numbers and chromosome arm numbers in *S. malma* karyotypes in Japan (Abe & Muramoto 1974, Ueda & Ojima 1983b, Ueda 1987, Cavender & Kimura 1989) and Kamchatka (Viktorovsky 1975) have been described. Differences in *S. leucomaenis* karyotypes in Japan (Abe & Muramoto 1974, Ueda & Ojima 1983a, Ueda 1987, Cavender & Kimura 1989) and in Sakhalin and South Primorye (Chernenko & Viktorovsky 1971, Viktorovsky 1975) also have been reported. This report presents the karyotypes of *Salvelinus malma* from Kabanya River and *S. leucomaenis* from Edinka River (North Primorye).

Twelve individuals (8 females and 4 males) of the *S. malma* and seven individuals (3 females and 4 males) of *S. leucomaenis* were used in the present study. Chromosome slides were made by air-drying method (Frolov 1989).

Karyotype of *S. malma* consists of 82 chromosomes, with 14 metacentric, 4 submetacentric and 64 subtelo- and acrocentric,  $NF=100$  (Fig. 1). The largest submetacentrics are as large as metacentrics of the 3-4 pairs. The smallest ones have a satellite-like structure in their short arms and may look as subtelocentrics or acrocentrics in different cells. The same variable in morphology submetacentrics present in karyotypes of white charr *S. albus* and *S. leucomaenis* from Kamchatka River too (Frolov in press). Such type of morphological variability is a peculiar of chromosomes with NORs. Usually, the acrocentrics in the first pair are much



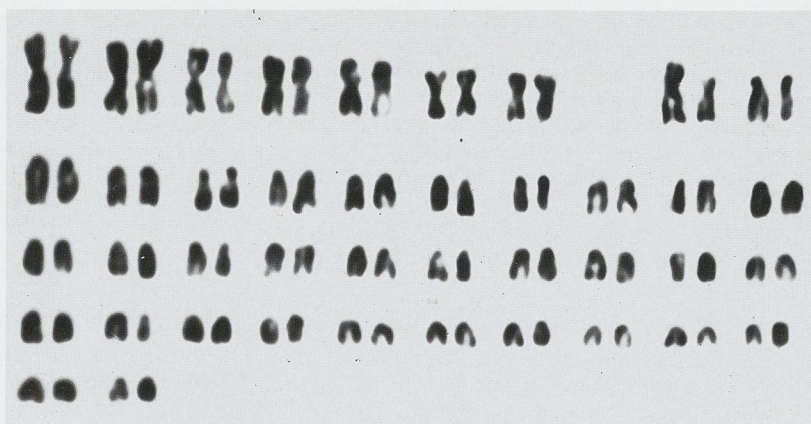


Fig. 1. Karyotype of *S. malma*,  $2n=82$ ,  $NF=100$ .  
Top row, meta- and submetacentrics; second to fifth rows, subtelocentric and acrocentrics.

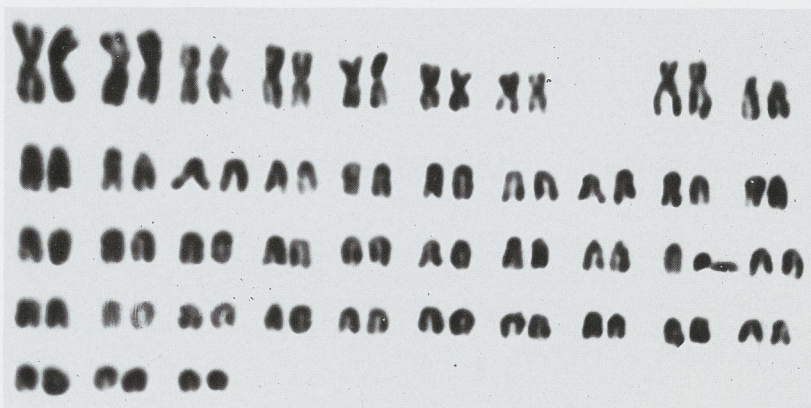


Fig. 2. Karyotype of *S. leucomaenis*,  $2n=84$ ,  $NF=102$ .  
Top row, meta- and submetacentrics; second to fifth rows, subtelocentric and acrocentrics.

longer than in the second one ("huge" in terms of Ueda & Ojima 1983b).

There are 84 chromosomes in *S. leucomaenis* karyotype (Fig. 2). It consists of 14 metacentric, 4 submetacentric and 66 subtelocentric and acrocentric chromosomes,  $NF=102$ . The smallest submetacentrics have the satellite-like structure in their short arms and may look as subtelocentrics or acrocentrics in some cells as those in *S. malma* Karyotype.

No differences in karyotypes of males and females were found in both species.

Karyotype of *S. malma* from Kabanya River is identical with karyotypes of *S.m. malma* and *S.m. krascheninnikovi* from Hokkaido (Ueda & Ojima 1983b, Ueda 1987, Cavender & Kimura 1989). They have the same number of chromosomes and the same marker chromosomes- the large submetacentrics, the submetacentrics with satellites (NORs) and the huge acrocentrics in the first pair. So, Karyotype of *S. malma* from Kabanya River is typical for Southern Dolly Varden. We assume these three forms are the same taxon which must be considered as *S.m. krascheninnikovi* according to Berg's (1948) nomenclature.



Karyotype of *S. leucomaenis* from Edinka River is identical with karyotypes of this species from Kamchatka (Frolov in press) and Japan (Abe & Muramoto 1974, Ueda & Ojima 1983a, Ueda 1987, Cavender & Kimura 1989). Differences in NF (100 or 102) reported in some papers are due to different classification of submetacentrics with satellites-like structure (NORs). But in South Sakhalin and South Prymorye *S. leucomaenis* have 84-86 (mainly 86) chromosomes (Chernenko & Viktorovsky 1971, Viktorovsky 1975). These data differ from other ones. So, further studies of *S. leucomaenis* karyotype from different populations are under way in order to investigate chromosome variation in this species.

*Acknowledgement*: We wish to thank Mr. I. Parpura, Pacific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Vladivostok for his help in fishing the specimens.

#### References

- Abe, S. & Muramoto, J-i. 1974. Proc. Jap. Acad. **50**: 507-511. Berg, L.S. 1948. Freshwater Fishes of the USSR and Adjacent Countries. Acad. Sci. USSR Press (in Russian). Cavender, T.M. & Kimura, S. 1989. Physiol. Ecol. Japan, Spec. Vol. 1: 49-68. Chernenko, E.V. & Viktorovsky, R.M. 1971. Comm. Inst. Mar. Biol. **2**: 232-235 (in Russian). Frolov, S.V. 1989. Tsytologia. **31**: 1391-1394 (in Russian with English summary). Frolov, S.V. 1991. In: Biology of the Charms of the Far East. Far East Branch Acad. Sci. USSR Press (in press). Ueda, T. 1987. Bull. Fac. Educ. Utsunomiya Univ. **37**: 67-73. Ueda, T. & Ojima, Y. 1983a. Proc. Jap. Acad. Ser. B. **59**: 259-262. Ueda, T. & Ojima, Y. 1983b. Proc. Jap. Acad. Ser. B. **59**: 343-346. Viktorovsky, R.M. 1975. Zool. J. **54**: 787-789 (In Russian with English summary).

*Institute of Marine Biology, Far East Branch, Academy of Sciences of the CIS, Vladivostok, CIS*

#### 7. Iwatsubo, Y. & Naruhashi, N. : **Cytological study of a triploid *Potentilla riparia* Murata (Rosaceae)**

*Potentilla riparia* is an endemic plant of Japan distributed in the central and western parts of Honshu and Shikoku, and in the eastern part of Kyushu districts (Ohwi 1983). It has  $2n=14$  chromosomes, including 4 metacentric pairs, 2 submetacentric pairs and one satellite subtelocentric pair (Iwatsubo & Naruhashi 1991). One triploid plant ( $2n=21$ ) had been collected at Kunigino, Yasuharakamihigashi, Shionoe-cho, Kagawa-gun, Kagawa Prefecture in July 1986 and was cultivated in the Botanical Garden of Toyama University. The karyotype and meiotic chromosome configurations at metaphase I of this triploid plant were examined in this study.

The ordinary squash technique for the chromosomes was used. For examination of karyotype, root tips collected from potted plants were pretreated by immersing them in a 2 mM 8-hydroxyquinoline solution for one hour at room temperature, and then kept at 5°C for 15 hours. Root tips were fixed in a 1:3 acetic acid and ethyl alcohol mixture for one hour, and soaked in 1N HCl for a few hours, and then macerated in 1N HCl for 11.5 minutes. After staining in 1.5% lacto-propionic orcein, meristematic cells of the root tips were squashed and metaphase chromosomes were observed. Chromosome form was expressed using the nomenclature of Levan *et al.* (1964). To study chromosome configurations at meiotic metaphase I, young flower buds were fixed in Newcomer's fluid for 3 hours at room temperature and macerated with the same treatment as for the root tips. Flower buds were stained with Schiff's reagent and anthers were squashed in 1.5% lacto-propionic orcein. Pollen fertility was estimated on the basis of size and stainability in lacto-propionic orcein.

This plant had  $2n=21$  chromosomes (Fig. 2). In the somatic metaphase cell, the lengths of chromosomes ranged from 1.7  $\mu\text{m}$  to 1.1  $\mu\text{m}$ , and the arm ratio varied from 1.1 to 4.5 (Table 1). The chromosome complement was composed of three groups comprising 12 metacentric chromosomes, 6 submetacentric chromosomes and 3 subtelocentric chromosomes (Fig. 3). A satellite was constantly found on the short arm of one subtelocentric chromosome.



Int. Symp. on Genetics of Subarctic  
Fish and Shellfish

Juneau Ak

T. I. Tolstik. Fisheries and Oceanography, Petropavlovsk  
M.V. Vorhovsky  
Lev Zhivotovsky - Inst. Genetics, Moscow