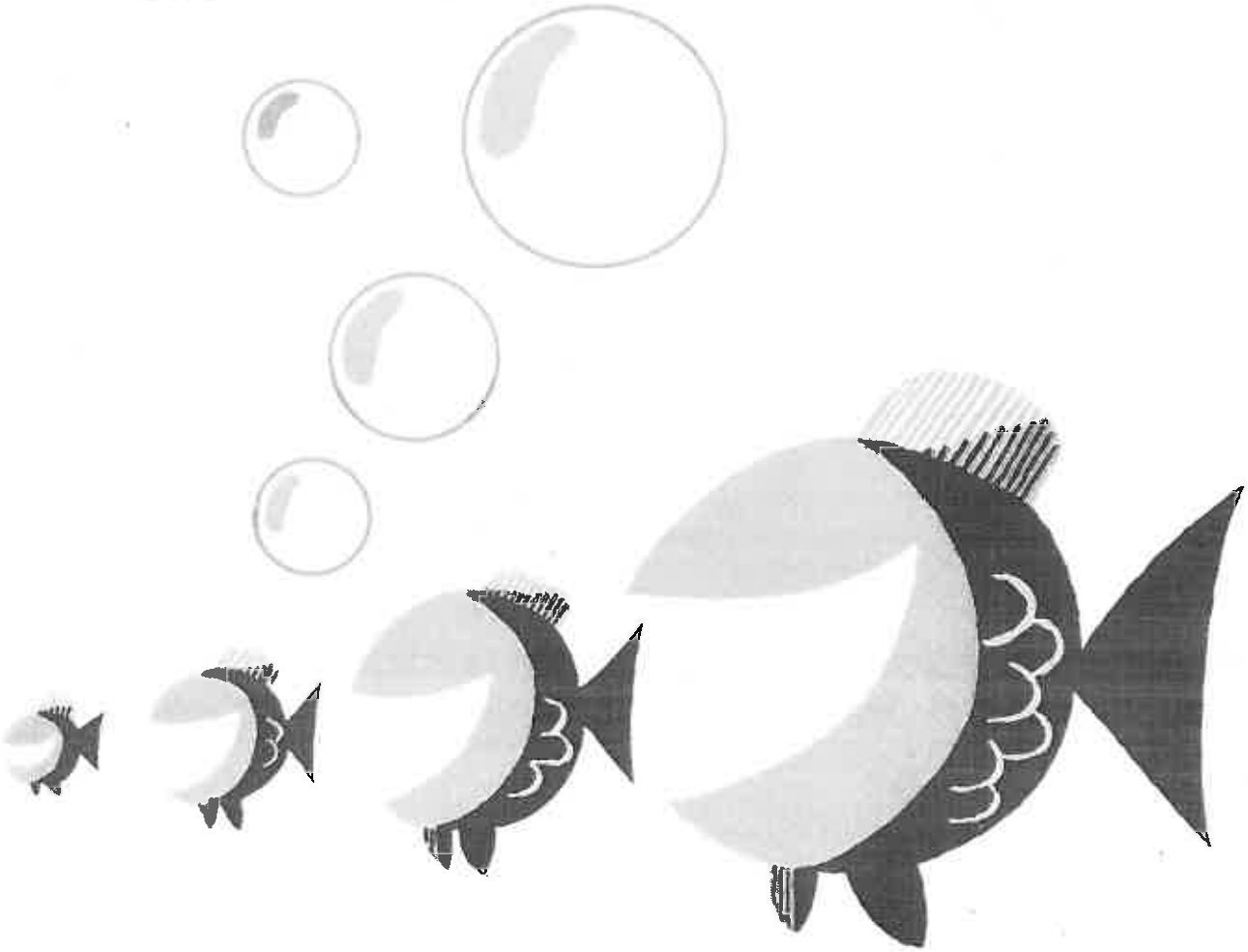
RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS
KALANTUTKIMUSOSASTO

MONISTETTUJA JULKAISUJA

64
1987



RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS
KALANTUTKIMUSOSASTO

MONISTETTUJA JULKAISUJA

Toimittaja: Viljo Nylund. Toimitussihteerit: Marja-Liisa Koljonen, Petri Suuronen.

Julkaisun jakelusta päätetään kunkin numeron osalta erikseen.

Julkaisua koskevat tiedustelut osoitetaan Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston kirjastolle, PL 193, 00131 Helsinki 13.

Monistettuja julkaisuja on jatkoa sarjalle: "Maataloushallituksen kalataloudellinen tutkimustoimisto. Monistettuja julkaisuja". Kalantutkimusosaston muut julkaisusarjat ovat "Finnish Fisheries Research", "Suomen kalatalous", "Tiedonantoja" ja "Meddelanden".

Redaktör: Viljo Nylund. Redaktionssekreterare: Marja-Liisa Koljonen, Petri Suuronen.

Publikationens distribuering fastställes skilt för varje nummer.

Förfrågningar angående tidskriften riktas till bibliotekarien, Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet, fiskeriforskningsavdelningen, PB 193, 00131 Helsingfors 13.

Tidskriften är fortsättning på "Maataloushallituksen kalataloudellinen tutkimustoimisto. Monistettuja julkaisuja". Övriga publikationsserier från fiskeriforskningsavdelningen är "Finnish Fisheries Research", "Suomen kalatalous", "Tiedonantoja" och "Meddelanden".

RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS, KALANTUTKIMUSOSASTO

MONISTETTUJA JULKAISUJA

No 64 1987

KROMOSOMIMÄÄRITYS APUNA SIIKOJEN TAKSONOMISTEN ONGELMIEN RATKAISEMISESSA

Keijo Juntunen

HELSINKI 1987

ISBN 951-9092-93-5
ISSN 0358-4623
Helsinki 1987
Yliopistopaino

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ

ESIPUHE

I KIRJALLISUUSKATSAUS 1

1. JOHDANTO 1

2. SIIAN TAKSONOMINEN TUTKIMUS 3

2.1. Tutkimuksen historiaa; eurooppalainen siikatutkimus 3

2.2. Siikojen systemaattinen luokittelu 6

2.2.1 Sukupuu 6

2.2.2 Alaheimo Coregoninae 7

2.2.2.1 Suku Prosopium 7

2.2.2.2 Suku Stenodus 7

2.2.3 Suku Coregonus 9

2.2.3.1 Yleistä 9

2.2.3.2 Alasuku Leucicthys 10

2.2.3.3 Alasuku Coregonus 12

2.2.3.4 Coregonus-suvun lajit Pohjois-Amerikassa 14

2.3. Siikojen taksonomiseen tutkimukseen käytetyistä menetelmistä 14

3. KROMOSMITUTKIMUS APUNA TAKSONOMISTEN ONGELMIEN RATKAISEMISESSA 19

3.1 Kromosomitutkimuksen mahdollisuudet 19

3.2 Kromosomitutkimuksen metodinen kehitys kaloilla 20

3.2.1 Preparaattien valmistus 20

3.2.2 Mitoottiset inhibiittorit 21

3.2.3 Hypotoniakäsittely ja solujen fiksaatio 22

3.2.4 Kromosomivärjäykset 22

3.2.5 Soluviljelymenetelmät 23

3.2.5.1 Fibroplastiviljely 23

3.2.5.2 Leukosyyttiviljely 23

3.3 Siikojen kromosomitutkimukset 24

3.3.1 Kromosomitutkimukset - suku Prosopium 25
3.3.2 Kromosomitutkimukset - suku Stenodus 26
3.3.3 Kromosomitutkimukset - suku Coregonus 27
3.3.4 Yhteenveto siikojen kromosomitutkimuksista 33

II TUTKIMUSOSA

4. TYÖN TARKOITUS 35

5. TUTKIMUSMATERIAALI 35

6. MENETELMÄT 37
6.1 Näytteenotto 37
6.2 Leukosyyttien viljely 37
6.2.1 Viljelyn kulku 37
6.2.2 Viljelyliuoksen valmistus 38
6.2.3 Valkosolujen rikastaminen 38
6.2.4 Viljelyolosuhteet 39
6.2.5 Viljelyn lopetus 40
6.3 Kromosomipreparaattien valmistus 40
6.3.1 Preparaattien valmistus 40
6.3.2 Giemsa-värjäys 40
6.3.3 Heterokromatiinin värjäys 41
6.4 Mikrovalokuvaus 41
6.5 Analysointimenetelmät 42

7. TULOKSET 43

8. TULOSTEN TARKASTELU 57

KIRJALLISUUSLUETTELO 60

LIITE

I KIRJALLISUUSKATSAUS

1. JOHDANTO

Siika (Coregonus sp.) on tärkeä kala sekä kotitarve- ja virkistyskalastajille että ammattikalastajille. Sen tärkeimpiä pyyntialueita ovat järvet Oulujärvi ja Saimaa, tekoaltaat Lokka ja Porttipahta, sekä Perämeren rannikko ja Merenkurkku (Lehtonen ja Salojärvi, 1978).

Ihminen on toiminnallaan huonontanut siian elinmahdollisuuksia. Useita sisävesien ja mereen laskevien jokien siikakantoja on jo tuhottu. Voimalaitosten rakentaminen ja vesien säännöstely, uiton helpottamiseksi suoritetut koskien, jokien ja salmien perkaukset sekä jätevesikuormituksen lisääntyminen ovat voimakkaimmin vaikuttaneet siikakantojen tuhoon tai muuttumiseen. Myös harkitsemattomilla siikaistutuksilla on aiheutettu vahinkoja luonnonvaraisille siikakannoille.

Tämän päivän siikaongelma ei ole kvantitatiivinen, vaan se on kvalitatiivinen. Olemassa olevilla viljelysysteemeillä (kalanviljelylaitokset ja luonnonravintolammikot) voidaan tuottaa riittävä määrä poikasia kalavesien hoitoa varten. Varsinkin Pohjois-Suomessa on istutuspoikasista jo ylitarjontaa.

Siian olemassa olevan geneettisen materiaalin säilyttämiseksi on pyrittävä tekemään kaikki mahdollinen. Jos näin ei tehdä, etenemme kohti yleissiikaa jonka monimuotoisuus on kadonnut. Tänä päivänä siian perimää suojellaan emokalaparvien (kalanviljelylaitokset ja emokalajärvet) ja luonnon mädinhankinnan avulla. Emokalaparvet on pyritty muodostamaan kaikista tärkeimmistä vielä säilytettävissä olevista siikakannoista. Luonnon mädinhan-

kinnalla pyritään täydentämään olemassa olevia emokalastoja ja paikoissa missä on vahva luonnonkanta, istutuksiin tarvittava poikasmateriaali tuotetaan pelkästään luonnon kaloista lypsetystä mädistä.

Keskeistä tässä työssä on pystyä luotettavasti arvioimaan kulloinkin kysymyksessä olevan siikamateriaalin taustaa. Nykyinen emokalasto on luotu vaihtelevasta määrästä kaloja, joiden valinta emokaloiksi on perustunut lähinnä siivilähampaiden lukumäärään, kutuaikaan ja -paikkaan sekä paikallistuntemukseen. Menettelytapa on voinut olla riittävä ennen suurimittaisten siianpoikasistutusten alkamista, mutta on epäselvää riittääkö se tänä päivänä, jolloin vesistöihin istutetaan kymmeniä miljoonia kesänvanhoja siianpoikasia vuosittain.

Käytännön kalanviljelyn ja kalavesien hoidon suunnittelua vaikeuttaa siian taksonomiassa esiintyvät puutteellisuudet. Eri siikamuotojen sukulaisuussuhteita lajitasoa alempien siikaryhmien osalta ei ole vielä toistaiseksi voitu luotettavasti osoittaa. Erimielisyyttä esiintyy myös siitä millä tasolla systemaattisessa hierarkiassa kulloinkin kysymyksessä oleva ryhmä on. Suomessa tavattavien siikamuotojen taksonomisesta asemasta ja sukulaisuussuhteista vallitsee erimielisyyttä eri tutkijoiden välillä. Siian taksonomisten ongelmien ratkaisemiseksi on pyrittävä kehittämään menetelmiä joilla päästään lähemmäksi kalojen perimää. Siikojen ulkoisessa fenotyypissä havaittavat erot eivät yksinään riitä antamaan vastausta taksonomisiin kysymyksiin.

Kirjallisuusosassa käsitellään siikojen taksomisen tutkimuksen historiaa ja metodologiaa sekä pyritään antamaan kuva vallalla olevasta taksonomisesta luokittelusta siioilla. Lisäksi tarkastellaan kromosomitutkimuksen mahdollisuuksia siian taksonomisten ongelmien ratkaisemisessa.

2. SIIAN TAKSONOMINEN TUTKIMUS

2.1. Tutkimuksen historiaa: eurooppalainen siikatutkimus

Siiat (Coregoninae) ovat hyvin monimuotoinen kalalajiryhmä, joille on tunnusomaista sopeutuminen mitä erilaisimpiin ekologisiin olosuhteisiin. Siikojen levinneisyysalue on pohjoisella pallonpuoliskolla napapiirin molemmin puolin. Levinneisyysalueen laidat noudattelevat yleensä viimeisien jääkausien reuna-alueita. Siikojen eriytyminen harjuksista ja muista salmonideista tapahtui tertiäärikauden puoleenväliin mennessä. Jo silloin oli erotettavissa siikasuvut Prosopium, Coregonus ja Stenodus. Coregonus-suvun iäksi on arvioitu n. 25 miljoonaa vuotta (Obruchev, 1967).

Reshetnikovin (1963) mukaan tärkein siikojen evoluutiota ohjannut tekijä on ollut ravinto. Alaheimon Coregoninae lajisto vaihtelee ravintokäyttäytymiseltään petokaloista planktonsyöjiin. Behnke (1972) painottaa jääkauden eri vaiheiden aikana syntyneiden isolaatioiden ja niiden purkautumisen mekitystä lajiutumisprosessissa.

Siikojen taksonominen tutkimus on lähtöisin 1700-luvulta Linnaeuksen (1758 Ref. Svärdson 1979) Systema naturae-ajoilta. 1800-luvulla Widegren (1863 Ref. Järvi 1928) ryhmitteli Ruotsissa esiintyvät siiat morfologian perusteella 5 eri lajiin. Malmgren (1863 Ref. Järvi 1928) jaotteli suomalaiset siiat kuuteen eri lajiin. Jaottelu perustui lähinnä Laatokassa sekä merialueella esiintyviin siikamuotoihin ja niiden erottamiseen morfologisesti toisistaan. Merkittävänä taksonomisen tutkimuksen tapahtumana voidaan pitää Kesslerin (1864 Ref. Järvi 1928) havaintoa siivilähampaiden käyttökelpoisuudesta eri siikamuotojen tunnistamisessa. Vuosisadan lopulla Smitt (1886 Ref. Järvi 1928) esitti, että Fennoskandinavian siikamuodot kuuluivat samaan lajiin Coregonus lavaretus L., minkä hän jakoi edelleen kahteen ryhmään: Muksun-ryhmä ja Polcur-ryhmä. Ryhmäjako perustui pääasias-

sa eroihin pään morfologiassa ja siivilähampaiden lukumäärässä. Keskieurooppalaisten siikojen taksonomiaa tutki ensimmäisenä Nüsslin (1882, 1903 Ref. Järvi 1928). Hän painotti siivilähammastarkastelun merkitystä siikojen lajien määrityksessä. Nüsslinin viitoittamaa tietä jatkoi Thienemann (1915, 1921, 1922 Ref. Järvi 1928). Hän perehtyi perinpohjaisesti siivilähampaiden morfologiaan sekä lukumääriin, minkä perusteella hän luokitteli siiat kolmeen ryhmään: Fera-Holsatus, Lavaretus ja Wartmanni-Genorosus. Odenwall (1929) pyrki luokittelemaan siiat lähtien yhdestä Coregonus lavaretus-tyypistä joka eli Itämeressä. Siikojen lajiutumiseen olisi hänen mukaan vaikuttanut maanpinnan kohoaminen, jolloin siikalaji Coregonus lavaretus (L.) jäi sisävesiin ja kehittyi kohti tiheä- ja harvasiivilähampaisia muotoja. Järvi (1928) jakoi siiat kahdeksaan muotoon, jotka myöhemmin (Järvi 1943) yhdisti kolmeksi lajiksi. Luokittelunsa hän perusti siivilähampaiden lukumäärään ja maantieteelliseen levinneisyyteen.

Keski-Euroopan alppijärvien siikojen taksonomisia tutkimuksia jatkoi Wagler (1937, 1950 Ref. Behnke 1972), joka jaotteli alppijärvien siiat neljään lajiin kasvukäyrien perusteella. Steinmann (1951 Ref. Behnke, 1972) puolestaan jakoi alppien siikapopulaatiot viiteen ekotyyppiin, jotka hänen mielestään kuuluivat lavaretus-ryhmään. Nämä siikapopulaatiot olisivat syntyneet sympatrisesti lajista Coregonus lavaretus (L.) jääkauden jälkeisinä aikoina. Kosswigin (1963) teorian mukaan nykyiset eurooppalaiset siiat olisivat peräisin kahdesta esi-isätyypistä, tiheäsiivilähampainen ja harvasiivilähampainen siika. Nämä siiat olisivat hybridisoituneet Isossa Jääjärvessä, mistä syntynyt perimäaines olisi myöhemmin ohjautunut jääkauden jälkeen syntyneisiin pieniin vesistöihin, missä lajiutuminen olisi tapahtunut sympatrisesti kussakin järvessä. Dottrens (1959 Ref. Behnke 1972) jakoi Länsi-Euroopan siiat viiteen lajiin siivilähampaiden lukumäärän perusteella.

Neuvostoliitossa esiintyvä runsaslukuinen erimuotoisten siikojen

joukko on aiheuttanut ongelmia taksonomiseen luokitteluun. Bergin (1948) mukaan Euroopan Coregonus lavaretus -kompleksi olisi muodostonut siikamuodoista C. lavaretus lavaretus (L.) ja C. lavaretus pidschian (Gmelin). Hän painotti sympatrisen lajiutumisen merkitystä siikojen evoluutiossa. Bergin mukaan Coregonus muksun oli selvästi muista siioista poikkeava ja sitä voitiin pitää omana lajinaan. Pravdinin (1966) mukaan Suomen ja Karjalan tiheäsiivilähampaiset siiat eivät olisi peräisin lajista Coregonus muksun (Pallas), vaan lajista Coregonus lavaretus (L.). Reshetnikovin (1963) käsitys siikojen lajiutumisesta noudatteli paljolti Bergin ja Pravdinin esittämää. Hänen mukaansa eurooppalaisia siikoja tulisi käsitellä lajina Coregonus lavaretus (L.).

Svärdsonin (1957) mukaan eurooppalaiset siiat olisivat peräisin ylälajin Coregonus lavaretus viidestä sisarlajista. Nämä lajit vaelsivat Pohjois-Eurooppaan kahdessa vaiheessa lajiuduttuaan allopatrisesti jääjärvissä jääkausien välisinä aikoina. Ensin tulivat C. pidschian, C. oxyrhynchus ja C. peled. Myöhemmin saapuivat C. nasus ja C. lavaretus. Hänen luokittelunsa perustui siivilähampaiden lukumäärään ja siikojen ekologiseen vertailuun. Svärdson (1970) luopui käyttämästä tieteellisiä nimiä C. nasus ja C. peled.

Suomalainen siikasystemaatikko Himberg (1970) kritisoi Svärdsonin tulkintaa ja esitti Kosswigin (1963) teorian pohjalta että, nykyinen eurooppalainen siikalajisto olisi syntynyt hybridisoitumalla siperialaisista lajeista Coregonus pidschian (Gmelin) ja Coregonus muksun (Pallas) viimeisen jääkauden jälkeen. Hänen mukaansa nykyiset siiat voidaan jakaa kolmeen "kryptiseen" eli epäselvään lajiin, jotka ovat: harvasiivilähampainen muoto, tiheäsiivilähampainen muoto ja näiden välimuoto. Luokittelunsa Himberg perusti siivilähampaiden lukumäärään ja kalojen maantieteelliseen esiintymiseen.

Svärdson (1979) julkaisi uuden ehdotuksen Euroopan siikojen

luokittelemiseksi. Uudessa luokittelussaan Svärdson jakoi eurooppalaiset siiat kahteen ryhmään, Coregonus peled-ryhmään ja Coregonus pidschian-ryhmään. Näiden ryhmien kantalajeina hän piti Siperiassa jääkauden ulkopuolella eläneitä lajeja. C. peled - ryhmään hän laski mukaan 3 lajia: C. pallasi (Val.), C. nilssoni (Val.) ja C. wartmanni (Bloch). Vastaavasti C. pidschian-ryhmään kuului C. fera (Jur), C. acronius (Rapp) ja C. lavaretus (L.). Hänen luokittelunsa perustui lähinnä siivilähampaiden lukumäärään ja kalojen kokoon kuten hänen aikaisemmatkin työnsä.

Viimeisin eurooppalaisia siikoja koskeva luokitusehdotus on Reshetnikovin (1980) ehdotus, minkä mukaan Euroopassa esiintyy vain yksi siikalaji Coregonus lavaretus (L.) s.l. Reshetnikov jakaa lajin Coregonus lavaretus kuuteen alalajiin. Niistä viisi esiintyy Euroopassa ja ne ovat C. lavaretus lavaretus (L.), C. lavaretus pallasi (Val.), C. lavaretus mediospinatus (Pravdin), C. lavaretus pidschian (Gmelin) ja C. lavaretus maraenoides (Poljakow).

2.2 Siikojen systemaattinen luokittelu

2.2.1 Sukupuu

Siiat kuuluvat luokan Osteichthyes (luukalat) alaluokkaan Actinopterygii (viuhkaeväiset). Alaluokan sisällä ne luetaan kuuluviksi lahkoon Salmoniformes (lohikalat) ja edelleen alalahkoon Salmonoidei (Varjo 1981).

Greenwood et al. (1966) jakaa alalahkon Salmonoidei osteologisten tutkimusten perusteella kolmeen heimoon: Osmeridae (kuoreet), Salmonidae (lohet) ja Plecoglossidae. Norden (1961) jakaa heimon Salmonidae kolmeen alaheimoon Salmoninae, Coregoninae ja Thymallinae. Ryhmien asemasta systemaattisessa hierarkiassa ollaan eri mieltä.

Eräiden tutkijoiden, mm. Vladykov (1970)ja Reshetnikov (1975) mielestä siiat tulisi lukea kuuluviksi erilliseen heimoon Coregonidae, joka kuuluisi yläheimoon Salmonoidae. Dorofeyeva et al. (1980) ovat kuitenkin sitä mieltä, että tähänastisten tutkimustulosten mukaan on perusteltua lukea siiat alaheimoon Coregoninae. Alaheimo Coregoninae jakaantuu kolmeen sukuun Prosopium, Coregonus ja Stenodus (ks. kuva 1).

2.2.2 Alaheimo Coregoninae

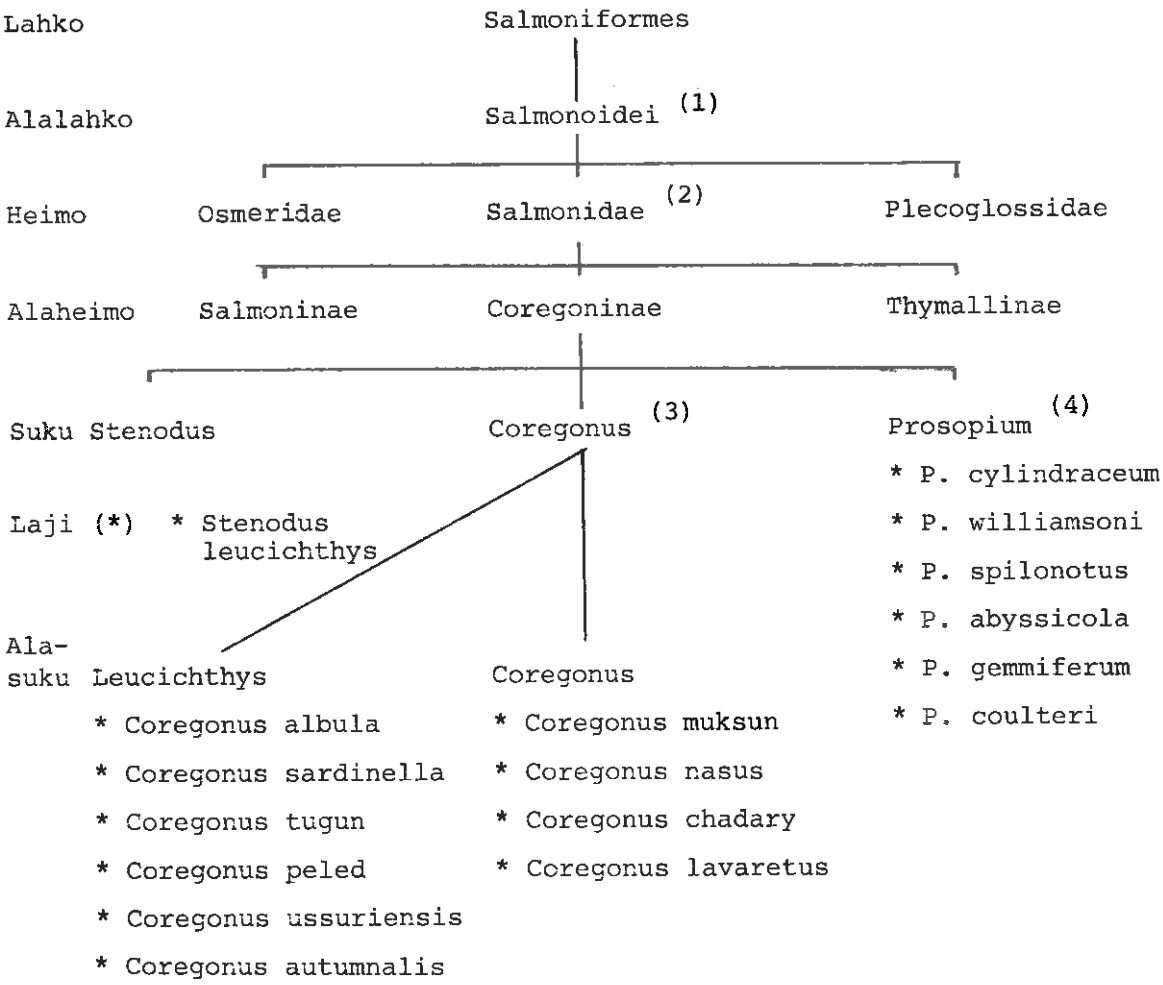
2.2.2.1 Suku Prosopium

Prosopium-sukuun kuuluu 6 lajia: Prosopium gemmiferum (Snyder), Prosopium abyssicola (Snyder), Prosopium spilonotus (Snyder), Prosopium williamsoni (Girard), Prosopium cylindraceum (Pallas) ja Prosopium coulteri (Eigenmann et Eigenmann). Kaikki Prosopium-suvun lajit esiintyvät Pohjois-Amerikassa. Vain yksi näistä, P. cylindraceum, esiintyy mantereen ulkopuolella laajalle levinneenä Siperiassa (Norden 1961). Prosopium-suvun asemaa erillisenä siikaryhmänä on vahvistettu DNA-hybridisaatioon perustuvilla tutkimuksilla (Mednikov et al. 1977).

Prosopium-sukua pidetään alaheimon Coregoninae suvuista primitiivisimpinä. Prosopium -suvun kalat erottuvat muista siioista mm. poikaslaikkujen, pyöreän ruumiinmuodon ja eräiden luiden morfologian perusteella (Norden, 1961). McPhail ja Lindsey (1970 Ref. Booke 1974) täydensivät jaottelun perusteita ottamalla huomioon lisää morfologisia kriteereitä kuten kylkiviivan suomujen lukumäärä, siivilähampaiden lukumäärä ja umpisuolenlisäkkeiden lukumäärä. Booke (1974) vahvisti sytotaksonomisiin tutkimuksiin perustuen Nordenin (1970) tekemän jaottelun, mutta esitti uuden teorian Prosopium-suvun lajien polveutumisesta.

2.2.2.2 Suku Stenodus

Kuva 1. Siikojen systemaattinen luokittelu



(1) Greenwood et al. (1966)

(2) Norden (1961)

(3) Dorofeyeva et al. (1980)

(4) Booke (1968, 1970, 1974)

Stenodus-suvussa on vain yksi laji, Stenodus leucichthys (Güldenstädt). Tämä laji jaetaan osteologisten erojen perusteella kahdeksi alalajiksi S. leucichthys leucichthys ja S. leucichthys nelma (Berg 1948 Ref. Behnke 1972; Shaposnikova, 1967a Ref. Dorofeyeva et al. 1980).

Suvun kalat ovat isokokoisia petokaloja. Kalat poikkeavat muista siikasuvuista mm. suuren suun, kehittyneemmän hampaiston ja leukojen perusteella. Kaloja esiintyy pohjoisissa arktisissa joissa Neuvostoliitossa ja Pohjois-Amerikassa.

Booken (1975) sytotaksonomisten tutkimusten mukaan lajin Stenodus leucichthys karyotyyppi on hyvin lähellä siian Coregonus clupeaformis karyotyyppiä. Hän esittää, että suku Stenodus olisi eronnut suvusta Coregonus näiden kromosomistossa tapahtuneen Robertsonian translokaation seurauksena siikojen evoluution alkuvaiheilla.

2.2.3 Suku Coregonus

2.2.3.1 Yleistä

Coregonus-suku on kolmas ja laajin alaheimon Coregoninae suvuista. Suvun kalojen suu on huomattavasti pienempi kuin Stenodus-suvun kaloilla. Ruumiin muodon suhteen Coregonus-suvun kalat poikkeavat sekä Prosopium että Stenodus- suvun kaloista: edellisillä se on usein litistynyt, jälkimmäisillä pyöreä. Selvin ero Prosopium-suvun siikoihin on poikaslaikkujen ja kallon luihin kuuluvan basibranchiaali-levyn puuttuminen.

Coregonus-sukuun kuuluu noin 20 lajia Euroopassa, Siperiassa ja Pohjois-Amerikassa. Sukuun kuuluvia lajeja esiintyy Pohjoisen Jäämeren, Tyynen valtameren ja Atlantin valtameren alueilla. Niitä on löydetty myös Volgan ja Amurin alueilta sekä Mongoliasta. Levinneisyyden eteläraja on 40-50 astetta pohjoista leveyttä (Dorofeyeva et al. 1980).

Suvulle on ominaista suuri monimuotoisuus. Ravinnokseen kalat käyttävät planktonia ja pohjaeläimiä, harvemmin kaloja. Reshetnikovin (1963) mukaan ravinto on siikojen evoluution päätekijä ja siten monimuotoisuus selittyisi adaptoitumisella erilaisiin ravintotilanteisiin. Lajien kyky sietää suolapitoista vettä vaihtelee. Osa lajeista on stabiileja kuten esim. Coregonus tugun, mutta on myös lajeja jotka esiintyvät hyvin monimuotoisena, esimerkiksi Coregonus albula ja Coregonus lavaretus.

Coregonus-suku jaetaan kahdeksi alasuvuksi: Coregonus ja Leucichthys . Jako alasukuihin perustuu lähinnä Bergin (1948 Ref. Shaposnikova 1970) ja Shaposnikovan (1970) osteologisiin määrityksiin, sekä Chellewoldin (1970) proteiinielektroforeesituloksiin. Mednikov et al. (1977) osoittivat DNA-hybridisaatiomenetelmällä, että alasuvut Coregonus ja Leucichthys kuuluvat selvästi eri ryhmiin.

2.2.3.2 Alasuku Leucichthys

Alasuvun Leucichthys kalat erottaa alasuvun Coregonus kaloista suun asennon ja leukojen muodon perusteella. Kalojen suun leuat ovat joko tasapitkät tai alaleuka on pitempi. Vastaavasti ylä- ja alaleuan luiden morfologiassa on eroja. Kalalajit joiden alaleuka on yläleukaa pitempi ovat yleensä planktonsyöjiä (Shaposnikova 1970).

Dorofeyeva et al. (1980) esittää, että alasukuun Leucichthys kuuluu varsinaisesti 6 lajia: Coregonus albula (Linne), Coregonus sardinella (Valenciennes), Coregonus tugun (Pallas), Coregonus peled (Gmelin), Coregonus ussuriensis (Berg) ja Coregonus autumnalis (Pallas). C. albula ja C. sardinella ovat läheistä sukua toisilleen ja niinpä lajien jaottelussa on esiintynyt epäselvyyttä. Behnken (1972) mukaan lajit C. albula ja C. sardinella ovat saman lajin 2 alalajia. Myös Shaposnikova (1970) kannatti tätä jakoa, mutta myöhemmin hän yhtyi (Dorofeyeva et al.1980) toisten neuvostoliittolaisten siikatutkijoiden näkemyk-

siin ja tunnusti nämä täysivertaisiksi lajeiksi.

Muikkua (Coregonus albula) tavataan Euroopassa ja Neuvostoliitossa Vienanmeren länsipuolella. Muikkua voi esiintyä samassa järvessä useina sympatrisina populaatioina. Tästä esimerkkinä on Laatokan ja Onegan muikkupopulaatiot (Berg 1948, ref Behnke 1972). Samassa järvessä voi esiintyä sekä syys- talvi-, että kevätkutuisia populaatioita. Kevättalvella kuteva muikkupopulaatio on löytynyt muunmuassa Kuhmon Änättijärvestä, missä se esiintyy rinnan syyskutuisen populaation kanssa (Airaksinen 1968a ja 1968b). Svärdsonin (1979) mielestä kevätkutuinen muikku on oma lajinsa ja hän antaa sille nimen Coregonus trybomi. Vuorinen et al. (1981) tutkivat suomalaisia muikkupopulaatioita proteiinielektroforeesin avulla ja totesivat, että tutkimustulokset eivät tue Svärdsonin esitystä.

Lajin Coregonus sardinella levinneisyyslaue ulottuu Vienanmerestä itään aina Pohjois-Amerikkaan saakka. C. sardinella viihtyy virtaavissa vesistöissä ja murtovesissä toisin kuin sen lähisukulainen muikku C. albula, joka on yleensä sisämaan järvien asukas.

Peled-siika Coregonus peled esiintyy Neuvostoliitossa kahtena muotona. Nämä muodot voivat esiintyä myös sympatrisesti samassa järvessä. Peled-siika on tyypillinen järvien pelagisen alueen asukas, mutta sitä on tavattu myös virtaavista paikoista (jokimuoto). Tälle lajille on tyypillistä suuri ekologinen muuntelu, minkä vuoksi se on myös tullut suosituksi viljelykalaksi ja sitä onkin siirtoistutettu moniin paikkoihin mm. Suomeen ja Puolaan. Svärdsonin (1979) teorian mukaan Skandinaviassa esiintyvät tiheäsiivilähampaiset siiat olisivat polveutuneet jokipeledistä. Näin ollen meikäläinen planktonsiika (Svärdsonin (1957) luokituksen mukainen C. peled tai Svärdsonin (1979) luokituksen mukainen C. pallasi) olisi sukua varsinaiselle peled-siialle C. peled. Lokshina (1980) vertasi proteiinielektroforeesitutkimuksessaan Neuvostoliitossa esiintyviä siikalajeja

C. peled, C. nasus, C. albula, C. lavaretus pallasi ja C. lavaretus pidschian keskenään. Vertailun mukaan lähinnä toisiaan olivat lajit C. lavaretus pidschian ja C. peled sekä C. lavaretus pidschian ja C. lavaretus pallasi. Näistä siikalajiesta meikäläistä planktonsiikaa vastasi lähinnä Syamozero-järven C. lavaretus pallasi. Tiedot lajin C. peled ja Skandinaviassa esiintyvien tiheäsiivilähampaisten siikojen sukulaisuussuhteista ovat edelleen puuttelliset.

Coregonus tugun on yksi selvimmin erotettavista lajeista Coregonus-suvussa. Sillä on vähiten selkärangan nikamia Coregonus -alasuvun lajeista. C. tugun on muikun kokoinen kääpiölaji, joka elää makeissa jokivesistöissä. Muikusta tämä laji eroaa suunasennon ja siivilähampaiden lukumäärän perusteella. C. tugun esiintyy endeemisenä Siperian joissa (Nikolsky ja Reshetnikov, 1970).

Coregonus autumnalis eli Omulsiika luetaan myös alasukuun Leycichthys. Omulsiika on suolaisissä vesissä viihtyvä suhteellisen suurikokoiseksi kasvava siika. Lajia tavataan jokisuissa Siperiassa, Kanadassa ja Alaskassa. Baikaljärven Omulsiika luetaan tämän lajin alalajiksi. Ferguson et al (1978) osoittivat, että Irlannissa esiintyvä C. pollan on proteiinielektroforeettisten tutkimusten perusteella hyvin lähellä lajia C. autumnalis. He ehdottivat että kyseistä siikaryhmää voitaisiin pitää C. autumnalis -lajin alalajina.

Coregonus ussuriensis tavataan makeassa vedessä sekä järvi- että jokimuotoina. Aikuisena tämä siika on petokala. Alasukuun Leycichthys se luetaan lähinnä terminaalisen suun muodon perusteella.

2.2.3.3. Alasuku Coregonus

Dorofeyeva et al (1980) jakaa alasuvun Coregonus kalat neljään

lajiin: Coregonus muksun (Pallas), Coregonus nasus (Pallas), Coregonus chadary (Dybowski) ja Coregonus lavaretus (Linne) sensu lato. Alasuvun lajeille on yhteistä alapuolinen suu. Jako eri lajeihin perustuu morfologisiin ja ekologisiin eroihin sekä erilaisilla biokemiallisilla tutkimusmenetelmillä saatuihin eroihin.

Coregonus nasus on harvasiivilähampainen (18-27) siika. Laji on muihin alasuvun lajeihin verrattuna sangen stabiili. Lajia tavataan Siperian ja Pohjois-Amerikan joissa ja järvissä. Lajin kalat erottaa selvästi pienen pään, tylpän kuonon ja pienten silmien perusteella. Kalat ovat isokokoisia ja niiden elinikä vaihtelee 10-15 vuoteen. Mätimunat ovat suuria. Niiden läpimitta on n. 4 mm (Nikolsky ja Reshetnikov, 1970). Svärdson (1957) käytti tieteellistä nimeä C. nasus eräälle Skandinaviassa esiintyvälle harvasiivilähampaiselle siikaryhmälle. Kysymys on kuitenkin aivan eri siikalajista ja Svärdson (1970) lakkasikin käyttämästä tätä nimeä luokittelussaan. Lokshinan (1980) elektoroforeesiin perustunut proteiiniivertailu vahvisti lajin C. nasus eriytynyttä asemaa siikalajien joukossa.

Coregonus muksun on tiheäsiivilähampainen (yleensä 51-56) siikamuoto, joka esiintyy Neuvostoliiton pohjoisissa joissa aina Siperiaa myöten. Lajille on tunnusomaista alapuolinen suu. Kalojen ravinto vaihtelee planktonista pohjaeläimiin. Siikojen keskipituus on 50-60 cm ja paino 1,6-2,0 kg (Nikolsky ja Reshetnikov, 1970). Neuvostoliittolaisten tutkijoiden mielestä Suomessa ei esiinny tätä lajia. Himbergin (1970) mukaan Karjalassa ja Suomessa esiintyvät tiheäsiivilähampaiset siiat olisivat läheistä sukua C. muksun-lajille.

Coregonus chadary on Amurin alueella esiintyvä siikalaji jonka siivilähampaiden lukumäärä on 23-24. Laji on ilmeisesti läheistä sukua siialle C. lavaretus pidschian. Ne eroavat toisistaan kuonon korkeuden ja pään pituuden perusteella (Nikolsky ja Reshetnikov, 1970).

Coregonus lavaretus (L.) sensu lato on hyvin monimuotoinen siikalaji, jolle on vaikea löytää mitään tyypillistä selvää ominaisuutta. Lajin eri siikamuodot poikkeavat toisistaan elinympäristön, siivilähampaiden lukumäärän ja suun asennon suhteen (Nikolsky ja Reshetnikov, 1970). Lajin levinneisyysalue on hyvin laaja käsittäen alueita pohjoisen Napapiirin molemmilta puolilta Euroopassa, Aasiassa ja Pohjois-Amerikassa. Dorofeyevan et al (1980) mukaan kirjallisuudessa on kuvattu jo yli 100 eri taksonomiselle tasolle kuuluvaa muotoa, jotka Shaposnikova (1976, 1977a) jakaa 16 alalajiin. Reshetnikovin (1980) mukaan alalajeja on 6: C. lavaretus lavaretus (L.), C. lavaretus pallasi (Val.), C. lavaretus mediospinatus (Pravdin), C. lavaretus maraenoides (Poljakow), C. lavaretus pidschian (Gmelin) ja C. lavaretus baunti (Muchomedijarov). Taksonomista jaottelua vaikeuttaa lisäksi samoissa vesissä rinnakkain esiintyvät eri ekologiset muodot, joiden väliltä (toisin kuin alalajien) ei ole löydettävissä selvää maantieteellistä rajaa, vaan ne voivat esiintyä jopa täysin rinnakkain (Dorofeyeva et al., 1980).

2.2.3.4. Coregonus-suvun lajit Pohjois-Amerikassa

Reshetnikovin (1980) mukaan Pohjois-Amerikassa esiintyy 5 Coregonus-sukuun kuuluvaa lajia. Lajeista 3 kuuluu alasukuun Leucichthys ja ne ovat Coregonus sardinella (Valenciennes), Coregonus artedii (Lesueur) ja Coregonus autumnalis (Pallas). Alasuvun Coregonus lajeista Pohjois-Amerikassa tavataan Coregonus nasus (Pallas) ja Coregonus clupeaformis (Mitchill), joka Reshetnikovin mielestä on sama kuin Coregonus lavaretus pidschian (Gmelin).

2.3. Siikojen taksonomiseen tutkimukseen käytetyistä menetelmistä

Siikojen taksonominen luokittelu perustuu nykyään paljolti eri ryhmien erottamiseen toisistaan morfologisten piirteiden perus-

teella (Dorofeyeva et al 1980; Reshetnikov 1980). Taksonomisen tutkimuksen edistyminen on suuressa määrin kiinni tutkimusmenetelmien kehityksestä. Tutkimuksen alkuaikoina 1700 ja 1800-luvuilla siikamuodot pyrittiin erottamaan toisistaan pelkästään morfologian perusteella (esim. Widegren 1863). Lajien tunnistamiseksi toisistaan pyrittiin etsimään mahdollisimman luotettavia fenotyyppiin liittyviä piirteitä, joita voitiin luotettavasti mitata. Tällaisia morfologisia piirteitä ovat olleet muunmuassa ruumiin, pään ja suun muoto sekä mittasuhteet, kylkiviivan suomujen lukumäärä, umpisuolenlisäkkeiden lukumäärä jne. Taksonomisen tutkimuksen ensimmäinen merkkipaalu oli havainto siivilähampaiden morfologian ja lukumäärän käyttökelpoisuudesta lajin määrityksessä. Ensimmäisenä tämän seikan oivalsi Kessler (1864 Ref. Järvi 1928). Thienemannin (1915, 1921, 1922 Ref. Järvi 1928) luokittelu oli varsinaisesti ensimmäinen siivilähampaisiin perustuva ja myöhemmin siivilähampaiden lukumääriä on käytetty taksonomisessa tutkimuksessa apuna aina meidän päiviimme saakka. Siivilähampaiden käyttökelpoisuus perustuu niiden periytyvyysominaisuuksiin: siivilähampaiden lukumäärä ja muoto pysyvät kohtalaisen vakiona sukupolvesta toiseen. Siivilähampaiden merkitys taksonomisessa tutkimuksessa on vähentynyt Thienemannin ajoilta sen jälkeen kun havaittiin että ne eivät yksinään riitä ratkomaan taksonomisia ongelmia.

Lindsey (1981) varoittaa luottamasta liikaa siivilähampaisiin, mutta tähdentää kuitenkin niiden käyttökelpoisuutta lajin määrityksessä luotettavimpana tunnetuista morfologisista piirteistä.

Muita morfologiaan perustuvia taksonomisen tutkimuksen metodeja ovat osteologiset määritykset, joita ovat käyttäneet mm. Norden (1961, 1970), Gasowska (1960) ja Shaposnikova (1970, 1975). Nämä tutkijat ovat pyrkineet selvittämään eri lohikalojen ja siikamuotojen sukulaisuussuhteita vertaamalla luiden muotoa ja sijaintia tarkastettavien ryhmien välillä. Siikojen tunnistuksessa on huomiota kiinnitetty kallon ja erityisesti suun luihin, sekä selkärangan luihin. Tämän päivän siikataksonomia perustuu huo-

mattavassa määrin osteoligisiin määrityksiin.

Ekologisen tarkastelun tärkeyttä siikojen taksonomisessa tutkimuksessa painotti ensimmäisenä Wagler (1937, 1950). Myöhemmin tämä näkökulma on kuulunut oleellisena osana taksonomiseen tutkimukseen.

Uuden vaiheen siian taksonomiseen tutkimukseen ovat tuoneet biokemialliset ja sytogeneettiset tutkimusmenetelmät.

Biokemiallisista menetelmistä ovat erilaiset elektroforeesin sovellutukset yleisimpiä. Elektoroforeesimenetelmillä tutkitaan proteiinipolymorfismia. Chellewold (1970) tutki pohjois-amerikkalaisia ja eurooppalaisia siikoja elektroforeesilla ja immunologisilla menetelmillä. Tutkimuksillaan hän varmisti jo aikaisemmin lähinnä morfologisiin menetelmiin perustuvan siikojen jaottelun sukuihin Prosopium, Stenodus, Coregonus ja Leucichthys. Clayton ja Franzin (1970), Lindsey et al (1970) ja Clayton et al (1973) havaitsivat tutkimuksissaan Pohjois-Amerikan siioilla hemoglobiinin, glyseroli- 3-fosfaatti dehydrogenaasin ja laktaasi dehydrogenaasin lajin sisäistä polymorfismia.

Ferguson (1974) tutki tärkkelysgeelielektoriforeesilla sydänlihaksen ja valkoisen lihaksen proteiineja Britannian ja Irlannin siikamuodoista. Hän päätyi erottelemaan siiat kolmeen eri lajiin, Coregonus albula, C. pollan ja C. clupeaformis. Myöhemmin Ferguson et al (1978) tarkensivat Irlannissa esiintyvän siikamuodon C. pollan systemaattista asemaa osoittamalla sen olevan hyvin läheistä sukua Alaskassa esiintyvälle siikalajille C. autumnalis. Heidän mukaan siikaryhmää C. pollan voitaisiin pitää lajin C. autumnalis alalajina. Clayton et al. (1973) ja Franzin et al. (1977) tutkivat Kanadassa siikamuodon Coregonus clupeaformis jääkauden jälkeistä leviämistä elektroforeesivertailulla. Heidän tutkimuksensa perustui lihaksen entsyymejä (glyseroli- 3-fosfaattidehydrogenaasin (G-3-PDH) ja laktaattidehydrogenaasin (LDH) koodaavien geenien alleelifrekvenssien vertailuun eri

populaatioiden väillä. Kirkpatric ja Selander (1979) erotti siikaryhmän C. clupeaformis kaksi sympatrista muotoa toisistaan tärkkelysgeelielektoroforeesilla seitsemän polymorfisen lokuksen (aldolaasi, L-glyserofosfaattidehydrogenaasi-B, laktaatti dehydrogenaasi-1 ja -2, malaattientsyymi, peptidaasi ja fosfoglukomutaasi-1) perusteella. Lokshina (1980) vertaili polyakryyliamidielektroforeesimenetelmään perustuen viittä Neuvostoliitossa esiintyvää siikamuotoa (Coregonus peled, C. nasus, C. albula, C. lavaretus pallasi ja C. lavaretus pidschian) ja niiden sukulaisuussuhteita. "Similarity"-indexiin perustuen hän esitti että lähimpänä toisiaan ovat siiat C. lavaretus pidschian ja C. lavaretus pallasi sekä C. lavaretus pidschian ja C. peled. C. nasus erosi selvästi muista tutkituista siioista. Ermolenko (1985) puolestaan havaitsi valkoisen lihaksen isotsyymien (LDH, ME ja -GPD) ja myogeenien vertailussaan, että isotsyymien polymorfismi oli korkea, mutta lajien väliset erot siioilla Coregonus lavaretus pidschian, Coregonus sardinella ja Coregonus nasus eivät olleet merkitseviä. Vuorinen et al (1981) tutkivat tärkkelysgeelielektroforeesilla suomalaisia eri vuodenaikoina kutevia muikkukantoja. Tutkituista 25 entsyymilokuksesta löytyi 5 selvästi polymorfista lokusta. Tutkimuksen mukaan eri vuodenaikoina kutevat populaatiot eivät olleet eri lajeja, vaan kysymyksessä oli eriytyminen eri populaatioiksi sopeutumalla talven happiolosuhteisiin, joka on yhteydessä humuksen esiintymiseen ja veden lämpötilaan.

Ihssen at al. (1981) tutkivat Suurten Järvien alueella siian Coregonus clupeaformis (Mitchill) eri allopatrisia kantoja. He havaitsivat, että eri kannat erosivat toisistaan ekologisesti ja morfologisesti. Tutkitut 5 kantaa poikkesivat toisistaan myös proteiinielektroforeesilla saatujen tulosten perusteella. He havaitsivat eroja alleelifrekvensseissä kuudessa tutkituista 32 elektroforeettisesta lokuksesta. Proteiinivertailuun ja meristisiin mittauksiin perustuvat dendrogrammit olivat yhteneviä, mutta morfometrisiin mittauksiin perustuva dendrogrammi poikkesi haarautumismalliltaan edellisistä.

Vuorinen ja Piironen (1984) tekivät risteytyskokeita siian ja muikun välillä. Elektroforeesiin perustuen he osoittivat kahdeksan entsyymilokuksen periytyvän mendelistisesti.

Muita biokemiallisia taksonomiseen tutkimukseen soveltuvia menetelmiä ovat immunogeneettiset menetelmät ja DNA-hybridisaatioon perustuvat menetelmät. Näiden menetelmien käyttö siikatutkimuksessa on ollut vähäistä. Mednikov et al. (1977) tutkivat DNA-hybridisaatiomenetelmällä alaheimon Coregoninae sukujen taksonomista asemaa. Tutkimuksessaan he päätyivät neljään toisistaan selvästi erillään olevaan ryhmään: Stenodus, Leucichthys, Coregonus s. str. ja Prosopium. Lähinnä toisiaan olivat suvut Stenodus ja Leucichthys.

3. KROMOSOMITUTKIMUS APUNA TAKSONOMISTEN ONGELMIEN RATKAISEMISESSA

3.1. Kromosomitutkimuksen mahdollisuudet

Eliöiden toimintoja ohjaava geneettinen materiaali, DNA, sijaitsee eukaryooteilla solun tumassa. Solun jakautumisvaiheessa kromatiinirihmat kiertyvät kromosomeiksi. Mitoosin eli tumanjakautumisen metafaasivaiheen aikana kromosomit saavuttavat muodon joka on tunnusomainen kullekin lajille. Metafaasivaiheisten kromosomien lukumäärää, kokoa ja morfologiaa nimitetään yhteisesti karyotyypiksi.

Karyotyyppi on kullekin lajille ominainen. Koska geneettinen materiaali on koromosomeissa, voidaan vetää johtopäätös, että kullakin genomilla on oma erityinen muotonsa. Karyotyyppi, silloin kun sen morfologisia piirteitä tarkastellaan, on osa fenotyyppiä eli ilmiasua, joka on syntynyt evoluution tuloksena. Eri taksonomisten ryhmien karyotyypeissä on havaittavissa enemmän tai vähemmän selviä muutoksia, joista voidaan vetää, kuten mistä tahansa morfologisesta piirteestä, fylogeneettisiä johtopäätöksiä. Kromosomistojen vertailulla ei voida kuitenkaan saada vastausta kaikkiin systematiikan ja evoluution ongelmiin. Karyologisen tiedon arvoa suhteessa muihin piirteisiin ei pidä ylikorostaa. Kuitenkin sen arvoa lisää tosiseikka, että se sisältää perittävän perintöaineksen eli johtolangan lajien evolutiiviseen historiaan (Benazzi 1973).

Kudosviljely- ja kromosomivärjäysmenetelmissä on 70- ja 80-luvulla tapahtunut voimakasta kehittymistä. Kalojen veren lymfosyyteistä soluviljelymenetelmillä saadut hyvälaatuiset kromosomipreparaatit ja kromosomien raitavärjäysmenetelmät mahdollistavat kromosomien entistä yksityiskohtaisemman tarkastelun. Raitavärjäyksillä voidaan kromosomeista erottaa erilaisia vyöhykkeitä eli "raitoja", joiden kokoa ja järjestystä tutkimalla saadaan entistä yksityiskohtaisempaa tietoa karyotyypeistä ja niissä

tapahtuneista muutoksista (esim. deleetiot, inversiot ja translokaatiot).

Kromosomitutkimuksen mahdollisuudet taksonomisten ongelmien ratkaisemisessa perustuvat vertailtavien ryhmien karyotyypeissä ilmeneviin muutoksiin. Nykyisen tiedon valossa ei ole täysin selvää minkä tason taksonomisiin ongelmiin karyotyyppitutkimuksessa löytyy apua. Benazzin (1973) mielestä karyotyyppianalyysit ovat hyödyllisimpiä suku ja heimotasolla. Kromosomien diagnostiikka on kuitenkin noista ajoista parantunut huomattavasti metodisen kehityksen myötä. Siikatutkimuksessa menetelmän käyttöä puoltaa kaksi seikkaa. Ensiksi lohikalojen kromosomistoissa on havaittu huomattavaa polymorfismia (Hartley ja Horne 1982), mistä johtuu että erojen löytäminen lähisukulaisilla kaloilla on mahdollista. Toiseksi siikojen taksonominen ongelma on koko alaheimon Coregoninae ja etenkin sen sukujen ongelma. Tällä hetkellä tutkijoiden välillä vallitsee eriäviä käsityksiä siitä, minkä taksonomisen tason (yläheimo, heimo, suku, laji, alalaji jne.) ongelmasta kulloinkin on kysymys.

3.2. Kromosomitutkimuksen metodinen kehitys kaloilla

3.2.1. Preparaattien valmistus

Ensimmäiset kromosomitutkimukset tehtiin parafiinileikkeistä. Prokofievan (1934) kuuluisa kromosomitutkimus perustui parafiinileiketekniikkaan. Hän valoi 6-8 vrk vanhojen mätimunien alkiot parafiiniin, leikkasi 10-15 um vahvuisia leikkeitä ja värjäsi ne Heidenhainin hematoksyliinillä. Käyttämällään menetelmällä hän pystyi kuvaamaan mm. siian C. lavaretus baeri (Kessler) somaattiset kromosomit.

Belkingin (1921) kehittämä squash-menetelmä on ehkä eniten käytetty kromosomipreparaattien valmistusmenetelmä. Siinä metafaasivaiheen soluja sisältävän kudospala puristetaan objektiivi- ja peitinlasin väliin, jolloin kromosomit leviävät ja asettuvat

samaan tasoon. Squash-menetelmän etu on sen nopeus. Menetelmän ongelmana on ei-toivottu solujen rikkoutuminen. Lisäksi preparaatin kromosomien valokuvaaminen on vaikeaa koska, kromosomit saattavat sijaita useassa eri tasossa preparaattilevyllä (Denton 1973).

Air dry-menetelmä on uusin tapa valmistaa kromosomipreparaatteja. Sen periaatteena on, että preparaattilevylle laitetut metafaasivaiheen solut hajotetaan, jolloin kromosomit leviävät erilleen toisistaan ja kiinnittyvät preparaattilevyn pintaan. Preparaattien valmistamisesta on olemassa useita variaatioita, missä käytetään apuna solususpension ja preparaattilevyn lämpötilaeroja, puhallusta, pudotuskorkeutta jne. Preparaattilevyjen kuivaamistapa vaihtelee ilmakuivauksesta liekkikuivaukseen. Air dry-menetelmällä valmistetut kromosomipreparaatit ovat yleensä laadultaan parempia kuin squash-menetelmällä saadut. Tämä johtuu siitä, että air dry-preparaatissa kromosomit leviävät paremmin ja katkoksia syntyy vähemmän.

3.2.2 Mitoottiset inhibiittorit

Kolkisiini on erään sipulikasvin juuresta eristetty alkaloidi. Kolkisiinilla (kuten muillakin mitoottisilla inhibiittoreilla) estetään tumasukkulan muodostuminen, jolloin solusykli pysähtyy metafaasivaiheeseen. Kolkisiinin avulla saadaan siten enemmän analysoitavia metafaasi-vaiheessa olevia soluja. Suuret kolkisiiniannokset voivat olla haitallisia kromosomeille ja ne voivat aiheuttaa kromosomien kutistumista (Denton, 1973).

Jos kromosominäyte aiotaan ottaa elävästä kalasta, injisoidaan mitoottinen inhibiittori kalan lihakseen tai vatsaonteloon muutamia tunteja ennen näytteenottoa. Soluviljelyssä mitoottinen inhibiittori lisätään noin 1-2 tuntia ennen viljelyn päättymistä.

Muita mitoottisia inhibiittoreita ovat mm. Colcemid ja Velban

(Denton, 1973).

3.2.3. Hypotoniakäsittely ja solujen fiksaatio

Kromosomitutkimuksen helpottamiseksi Hsu (1952) kehitti nisäkkäillä hypotoniakäsittelyn. Hypotoniakäsittelyssä solut turvotetaan hypotonisella suolaliuoksella. Hypotoniakäsittely tehdään soluviljelyssä yleensä 0,075 M kaliumkloridi-liuoksella. Myös natriumsitraattiliuosta on käytetty. Hypotonia käsittelyyn vaadittava aika vaihtelee eri solukkojen välillä. Dentonin (1973) mukaan se on myös riippuvainen lämpötilasta siten, että korkeammassa lämpötilassa käsittelyaika lyhenee.

Solujen hypotoniakäsittely päättyy yleensä fiksaatioon. Eniten käytetty fiksatiivi on metanolista ja väkevästä etikkahaposta suhteessa 3:1 valmistettu liuos. Fiksatiivin pitää olla aina tuore (Denton, 1973).

3.2.4 Kromosomivärjäykset

Kromosomien yksityiskohtainen tarkastelu ei ole normaalilla valomikroskoopilla mahdollista ilman kromosomipreparaattien värjäystä (faasikontrastimikroskoopilla voidaan tarkastella myös värjäämättömiä kromosomeja). Värjäyksen avulla saadaan parempi kontrasti, jolloin yksityiskohdat saadaan paremmin näkyviin.

Perinteisistä värjäysmenetelmistä tunnetuimpia ovat Aseto-orseiini, Giemsa ja Feulgen. Asetoni-orseiini on ollut aikaisemmin yleisimmin käytetty kalojen kromosomien värjäysaine. Sitä ovat käyttäneet mm. Simon (1964), McPhail ja Jones (1966), Luekeng ja Foerster (1969), Heckman ja Brubaker (1970) ja Denton (1973). Nykyään leukosyyttiviljelyn yleistyttyä on Giemsan käyttö tullut yleisemmäksi. Värjäystapaa ovat käyttäneet mm. Ohno (1965), Grammelvedt (1974), Plaxhall (1983), Hartley & Horn (1984) ja Palva (1986).

Uusinta värjäystekniikkaa edustavat raitavärjäykset. Raitavärjäysmenetelmistä tunnetuimmat ovat C-, G-, R ja Q-raitavärjäykset sekä hopeavärjäys. Kalojen kromosomitutkimuksissa on eniten käytetty C-värjäystä, tarkemmin CBG-raitavärjäystä. CBG-värjäyksessä värjäytyvät kromosomien osat sisältävät konstitutiivista heterokromatiinia (Arrighi ja Hsu, 1971). Värjäyksessä kromosomien DNA esikäsitellään kemikaaleilla, joilla saadaan aikaan kromosomien DNA:n denaturaatio ja renaturaatio prosesseja. Esikäsittely muuttaa kromosmien värjäytyvyysominaisuuksia siten, että vain konstitutiivista heterokromatiivia sisältävät jaksot värjäytyvät. Värjäykseen käytetään Giemsa-väriä. CBG-värjäystä ovat tutkimuksissaan käyttäneet mm. Abe ja Muramoto (1974), Zenzes ja Voiculescu (1975), Thorgaard (1976), Lee ja Wright (1981), Hartley ja Horne (1984a), Ueda ja Ojima (1984) ja Palva (1986).

3.2.5. Soluviljelymenetelmät

3.2.5.1. Fibroplastiviljely

Fibroplastiviljely perustuu primaarisolukon kasvattamiseen kudospalasta. Viljelyyn sopivaa kudosta on esimerkiksi munuainen, maksa, sydän, perna, kidukset ja evät. Kudospalasta kasvaa ravintoliuoksessa primäärisolukkoa. Kasvun edetessä jakaantumisvaiheessa olevien solujen määrä lisääntyy ja kun kasvu on edennyt riittävän pitkälle viljely lopetetaan ja primaarisolukon soluista tehdään kromosomipreparaatteja. Dentonin (1973) mukaan viljelyn kesto vaihtelee 6 vuorokaudesta kahteen kuukauteen riippuen kalojen koosta ja iästä sekä kudoksen laadusta. Kaloilla fibroblastiviljelyyn perustuvaa kromosomitutkimusta ovat tehneet mm. Wolf ja Quimby (1969), Chiarelli et al. (1969)sekä Lueken ja Foerster (1969).

3.2.5.2. Leukosyyttiviljely

Leukosyyttien käyttö kromosomitutkimuksissa perustuu mitogeenei-

hin, joilla saadaan aikaan jo erikoistuneiden valkosolujen induktio ja jakaantuminen. Nowell (1960) indusoi vahingossa leukosyyttien jakaantumisen valkosoluviljelmissään phytohemaglutiinilla (PHA), jota hän käytti punasolujen eristämiseen. Toinen soluviljelyissä paljon käytetty mitogeeni on Pokeweed (PWM). Nykyisin on yleisimmin käytössä PWM-mitogeeni, koska sen on todettu indusoivan sekä T-että B-lymfosyyttejä, toisin kuin PHA, joka indusoi vain T-soluja (Hsu, 1979).

Kalojen kromosomitutkimuksissa leukosyyttiviljely on syrjäyttänyt fibroplastiviljelyn. Menetelmää ovat käyttäneet mm. Heckman and Brubaker (1970), Heckman et al (1971), Ojima et al (1970), Plaxhall ja Daisley (1973), Grammeltvedt (1974), Blaxhall (1983), Hartley ja Horne (1984) ja Palva (1986). Leukosyyttiviljelyn etuna on, että kromosomianalyysi voidaan tehdä vähäisestä verimäärästä ilman että kalaa tarvitsee välttämättä tappaa. Viljelyä varten kaloista otetaan verinäyte, jonka valkosolut eristetään ja siirretään ravintoliuokseen. Soluviljelmään lisätään mitogeenia, joka käynnistää solujen jakaantumisen. Kun viljelysykli on edennyt metafaasivaiheeseen lisätään solujen joukkoon kolkisiinia ja viljely lopetetaan. Mitogeeneilla indusoidusta valkosoluviljelystä saadaan paljon hyvälaatuisia metafaaseja.

3.3. Siikojen kromosomitutkimukset

Ensimmäisen siian kromosomistoa kuvaavan tutkimuksen ilmestymisestä on kulunut jo yli 50 vuotta. Siikoja koskevaa kromosomitutkimusta on kuitenkin tehty varsin vähän. Julkaisut käsittelevät, kuten valtaosa siikoja koskevasta kirjallisuudesta, siikaongelmia paikallisesta näkökulmasta. Toisin sanoen kromosomitutkimuksesta on pyritty hakemaan apua saman maantieteellisen alueen, (usein saman järven) eri siikamuotojen erottamiseen toisistaan. Tästä johtuu, että olemassa olevan kirjallisuuden pohjalta on vaikea ryhtyä vetämään mitään yhteistä taksonomista tarkastelua siikojen lajiutumisesta. Seuraavassa luon katsauksen

alaheimoon Coregoninae kuuluvien siikojen kromosomitutkimuksista.

3.3.1. Kromosomitutkimukset - suku Prosopium

Prosopium-suvun sytotaksonomiaa on tutkinut Booke (1968, 1970, 1974). Hänen tutkimuksensa käsittivät kaikki Pohjois-Amerikasta löydetyt suvun 6 lajia. Booken kromosomitutkimukset perustuivat hedelmöitettyjen mätimunien alkioiden kromosomien tarkasteluun.

Taulukko 1 Prosopium-sukuun kuuluvien lajien kromosomien lukumäärä ja morfologia (Booke, 1974).

Laji	Kromosomien diploidi lukumäärä (2n)	Metasentriset kromosomit	Submetasentriset kromosomit	Akrosentriset kromosomit	Käsivarsien yhteislukumäärä (NF)
P. coulteri	82	10	8	64	100
P. cylindraceum	78	12	10	56	100
P. williamsoni	78	8	14	56	100
P. spilonotus	74	12	14	48	100
P. abyssicola	72	12	16	44	100
P. gemmiferum	64	24	12	28	100

Kromosomipreparaattien valmistus perustui squash-menetelmään. Kustakin lajista hän laski vähintään 10 metafaasia saadakseen selville kromosomien diploidin lukumäärän. Karyotyypeissä ei ollut havaittavissa sukupuolista dimorfismia. Myöskään vaihtelua kromosomien diploidissa lukumäärässä ei ollut havaittavissa.

Booken (1974) mukaan erot lajien kromosomien diploidissa lukumäärissä johtuvat Robertsonian translokaatiosta (ks. taulukko 1). Hypoteesissään Prosopium-suvun fylogeniasta hän käytti karyologisen tiedon lisäksi mm.Nordenin (1961 ja 1970) sekä McPhailin ja Lindsin (1970) esittämiä tuloksia eri lajien morfologisista eroista. Booke (1974) päätyi tukemaan Nordenin (1961 ja 1970) osteologisiin määrityksiin perustuvaa lajijakoa, mutta esitti oman hypoteesinsa lajiutumistapahtumista. Booken mukaan kromosomien diploidi lukumäärä on pienentynyt evoluution edetessä asteittain. Korkein lukumäärä olisi osoitus primitiivisimmästä tai evolutiivisesti vanhimmasta lajista ja vastaavasti alhaisin lukumäärä erikoistuneimmasta tai nuorimmasta lajista. Booken mukaan selvimmin erillään muista lajeista on P. coulteri, joka on primitiivisin ja laajimmalle levinnyt. Lajit P. cylindraceum ja P. williamsoni olisivat yhteisiä esi-isiä lajeille P. spilonotus, P. abussicola ja P. gemmiferum.

3.3.2. Kromosomitutkimukset - suku Stenodus

Booke (1975) perehtyi myös Stenodus-suvun sytotaksonomiaan. Näytekalat olivat peräisin Yukon-joen latvoilta Alaskasta. Mätimunien embryoista squash-menetelmällä tekemistään kromosomipreparaateista hän määritti lajille Stenodus leucichthys karyotyypin, jonka kromosomien diploidi lukumäärä oli 74. Metasentristen kromosomien lukumäärä 20, submetasentristen 14 ja akrosentristen määrä 40. Käsivarsien kokonaismäärä (NF) oli 108. Kromosomien diploidi lukumäärä (2n) perustuu 20 laskettuun metafaasiin.

Booken mielestä lajin S. leucichthys karyotyyppi on lähellä siian C. clupeaformis karyotyyppiä ja hän ehdottaakin, että suku Stenodus ehkä eriytyi suvusta Coregonus kromosomeissa tapahtuneen Robertsonian translokaation seurauksena siikojen evoluution alkuvaiheilla. Tätä käsitystä tukee myös hänen aikaisempi tutkimuksensa (Booke, 1968) jonka mukaan monen Coregonus-suvun lajin DNA-määrät ovat samansuuruisia kuin lajilla S. leucichthys.

Nordenin (1961) morfologisen tiedon ja tutkimustulostensa perusteella Booke vahvistaa suvun Stenodus asemaa alaheimossa Coregoninae ja vahvistaa Nordenin (1961) näkemyksen että suku Stenodus on lähempänä sukua Coregonus kuin Prosopium.

3.3.3. Kromosomitutkimukst - suku Coregonus

Siikojen kromosomitutkimus alkoi Prokofievan (1934) klassisesta työstä, missä hän kuvasi parafiinileiketekniikkaan perustuen siian Coregonus lavaretus baeri (Kessler) kromosomit. Kromosomien, jotka olivat peräisin hedelmöitetyn mätimunan alkiosta, diploidiksi lukumääräksi (2n) hän sai 80. Kromosomit hän jakoi neljään tyyppiin. Näistä 6 paria oli pitkiä V-muotoisia kromosomeja, joista 3 paria oli silmiinpistävän pitkiä. Kromosomit olivat keskeltä kuristuneita. Kromosomeista 2 paria muodosti J-muotoist kromosomit joissa kurouma oli submediaaninen. Seuraava ryhmä oli isot sauvamaiet kromosomit joilla oli pää ("headed"). Loput hän luki pieniin sauvamaisiin kromosomeihin, joiden pää oli enemmän tai vähemmän havaittavissa.

Svärdsonin (1945 Ref. Karbe 1964) tutkimus oli toinen merkittävä kromosomitutkimus. Hän tutki kromosomeja n. 2 vuorokauden ikäisistä alkioista ja havaitsi, että siialla Coregonus lavaretus (L.) ja muikulla C. albula (L.) diploidi kromosomien lukumäärä (2n) oli 80. Molemmilta lajeilta hän löysi 8 paria V-muotoisia kromosomeja. Tutkimistaan soluista Svärdson havaitsi myös toisenlaisia kromosomimääriä, jotka olivat lähellä lukumääriä 20, 40 ja 60. Siialta C. lavaretus hän havaitsi noin puolista tutkimistaan alkioista pienen kromosomin jota hän nimitti sukupuolikromosomiksi.

Keski-Euroopan siikataksonomiaa ryhtyi ensimmäisenä kromosomien pohjalta tarkastelemaan Kupka (1948, 1950). Ensimmäisessä työssään hän tutki kahta eri siikamuotoa sekä Zurich-järvestä että Wierwaldstätter-järvestä. Tutkimuksissaan 3 päivän vanhoilla embryoilla hän havaitsi, että Zurich-järven siiat erosivat

toisistaan kromosomistoltaan siten, että ryhmän C. schinzii duplex (Fat.) siioilla oli 72 kromosomia, toisinkuin ryhmän C. asperi maraenoidy (Fat.) siioilla, joilla oli 36 kromosomia. Wierwaldstätter-järven siioilta C. wartmanni coeruleus(Fat.) ja C. exiguus albellus (Fat.) hän löysi molemmilta 72 kromosomia. Toisessa työssään Kupka (1950) löysi 2-5 vrk vanhoista embryoista siialta C. wartmanni (Bloch) myös 72 kromosomia. Tässä tutkimuksessa hän havaitsi lisäksi useita embryoita joiden lukumäärä vaihteli. Erään embryon kromosomien lukumääräksi hän ilmoitti 18.

Ambühl (1953 Ref. Karbe 1964) jatkoi keskieuroopan siikojen kromosomitutkimuksia. Hänen työnsä perustui kromosomien määrittämiseen 24-102 tunnin ikäisistä alkioista. Hänen tuloksissaan kromosomien lukumäärä vaihteli runsaasti (45-90).

Suomalainen (1958) tutki suomalaisten siikojen alkioita ja löysi kromosomeja 17, 57 tai 80. Hänen mielestään suomalaisissa siioissa oli ainakin 2 eri muotoa joista toisella oli 34 ja toisella 80 diploidia kromosomia. Kromosomilukumäärän 57 hän ehdotti kuuluvan hybridimuodolle, joka oli peräisin vanhemmista, joiden diploidi kromosomien lukumäärä (2n) oli 34 ja 80.

Keskieuroopan siikatutkimusta jatkoi Bargetzi (1960, Ref. Karbe 1964). Hän tutki Neuenbürger-järven siikojen Coregonus fera (Jurine) ja Coregonus macrophthalmus (Nüsslin) alkioita ja sai niiden diploidiksi kromosomien lukumääräksi (2n) 78. Hän oli ensimmäinen siikojen kromosomien tutkija, joka käytti kromosomiston analysoinnissa apuna mikrovalokuvausta.

Karbe (1964) paneutui seuraavana Keski-Euroopan siikojen kromosomitutkimuksiin. Hänen tutkimuksensa aineisto koostui Boodenjärven siioista (4 muotoa), joita hän vertaili Wierwaldstätterjärven (3 muotoa) ja Zurich-järven siikoihin (2 muotoa). Karbe valmisti kromosomipreparaatit siittiösoluista Orseiini-etikkahappo-Squash -menetelmällä, mutta määritti kromosomeja myös

alkioiden somaattisista soluista. Osalle materiaalia hän kokeili hypotonia-käsittelyä. Kromosomien laskeminen perustui valokuviin. Tutkituilla siioilla sukusolujen kromosomien lukumäärä oli vakio. Kaikilla tutkituilla siikamuodoilla kromosomien diploidi lukumäärä (2N) oli 96 ja vastaavasti haploidi lukumäärä (N) oli 48. Kaikki tutkitut kromosomit olivat sauvan muotoisia. Somaattisten solujen kromosomien lukumäärä ei ollut vakio ja se vaihteli 96-48. Tämän vaihtelun hän esitti aiheutuvan mitoottisista häiriöistä, minkä hän selitti olevan ilmaus tutkimiensa siikojen hybridimäisestä luonteesta.

Viktorosky (1964)tutki siikojen Coregonus peled ja Coregonus lavaretus baunti kromosomistoja mätimunien alkioista. Molempien lajien diploidiksi kromosomien lukumääräksi (2n) hän sai 80. Lajilla C. peled kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä vaihteli 5-6 pariin ja siikamuodolla C. lavaretus baunti 8-10 pariin.

Booke (1968) tutki Pohjois-Amerikan Suurten Järvien Coregonus-sukuun kuuluvien siikojen Coregonus clupeaformis (Mitchill), Coregonus artedii (Le Sueur), Coregonus reighardi (Koelz), Coregonus zenithicus (Jordan & Evermann) ja Coregonus hoyi (Gill) kromosomeja. Määritykset hän teki Carnoy-fiksatiivilla käsitellyistä ja squash-tekniikalla alkioista valmistetuista kromosomipreparaateista. Kromosomien värjäykseen hän käytti aceto-orseiinia. Kustakin lajista hän laski vähintään 20 metafaasia. Kaikkien tutkittujen siikalajien kromosomien diploidi lukumäärä (2n) oli 80. Booken tutkimusten mukaan siikalajit erosivat kuitenkin toisistaan kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärän perusteella siten, että vain kahdella siikalajilla tutkituista (C. zenithicus ja C. hoyi) oli samanlainen kromosomisto (ks. taulukko 3).

Vuonna 1971 julkaisi ruotsalaiset tutkijat (Nygren et al. 1971a ja 1971b) kaksi Coregonus-sukua käsittelevää kromosomitutkimusta. Nämä tutkimukset olivat siioilla ensimmäiset missä käytet-

tiin kolkisiinia metafaasien lukumäärän ja laadun kohottamiseksi. Kalat esikäsiteltiin kolkisiinilla ruiskuttamalla niihin 0,8 ml 0,5 % kolkisiinia per 100 g kalaa. Kolkisiini annettiin kaloille 3 tuntia ennen fiksointia. Kromosomipreparaatit tehtiin squash -tekniikalla munuaisten etuosan kudoksesta tai siittiösolusta.

Ensimmäisessä tutkimuksessa Nygren et al. (1971a) määrittivät Mälare-järven muikun Coregonus albula (L.) kromosomiston ja saivat diploidiksi kromosomien lukumääräksi (2n) 80. Kromosomeista 8 paria oli metasentrisiä ja 32 paria akrosentrisiä. NF oli 96. Meioosissa esiintyi usein yksi kvadrivalentti kromosomi, jonka otaksuttiin aiheutuneen resiprokkisesta translokaatiosta. Mitoottisen kromosomiston määritys perustui 22 laskettuun metafaasiin. Muikun karyotyyppi oli samanlainen kuin minkä Svärdson (1945) kuvasi.

Toisessa tutkimuksessa Nygren et al. (1971b) tutkivat 4 eri siikalajia (Svärdsonin 1957 luokitus): Pite-joen ja Siljan-järven Coregonus lavaretus, Revsunda-järven C. pidschian, Hornavan-järven C. peled ja Storlaisan-järven C. nasus. Kaikki määritykset tehtiin munuaisista lukuunottamatta Revsunda-järven C. pidschian ja Siljan-järven C. lavaretus siikoja, joiden kromosomit määritettiin testiksestä. Kaikkien tutkittujen siikalajien kromosomien diploidi lukumäärä (2n) oli 80. Kromosomien lukumäärä perustui laskettujen metafaasien määrään seuraavasti: C. pidschian (munuainen 12), C. lavaretus (munuainen 4, testis 6), C. peled (munuainen 5) ja C. nasus (testis 12). Metasentristen kromosmien lukumäärät jakaantuivat kahteen ryhmään siten, että lukuunottamatta lajia C. nasus kaikilla lajeilla löytyi metafaaseja joissa niitä oli 12, mutta myös metafaaseja, joissa metasentrisiä kromosomeja oli 18 (taulukko 2).

Taulukko 2

Kromosomien diploidi lukumäärä (2n), metasentristen kromosomien lukumäärä ja käsivarsien kokonaislukumäärä (NF) eri siikalajeilla (koottu Nygrenin et al. (1971a,b) kromosomitutkimuksista). Suluissa olevat luvut ilmaisevat laskettujen metafaasien määrän, johon esitetyt kromosomiluvut perustuvat.

Laji	2n	Metasentristen kromosomien lukumäärä	NF
Coregonus albula	80 (19)	16 (-)	96 (-)
Coregonus nasus	80 (12)	12 (10)	92 (10)
Coregonus lavaretus	80 (10)	12 (3)	92 (3)
Coregonus lavaretus		18 (1)	98 (1)
Coregonus peled	80 (5)	12 (3)	92 (3)
Coregonus peled		18 (2)	98 (2)
Coregonus pidschian	80 (14)	12 (3)	92 (3)
Coregonus pidsbhian		18 (3)	98 (3)

Kaidanova ja Efanov (1976) tutkivat Chudskoy-siian C. lavaretus maraenoides karyotyyppiä. Heidän työnsä perustui kolkisiinin ja etikkahappo-alkoholi (3:1) fiksatiivin käyttöön. Aseto-Orseiinilla värjätyistä preparaateista he määrittivät diploidiksi kromosomien lukumääräksi (2n) 80. Näistä 22 oli kaksikäsivartisia ja loput yksikäsivartisia. Kromosomien polymorfismia ei havaittu.

Kaidanova (1978) tutki Neuvostoliitossa esiintyvien siikalajien Coregonus muksun ja Coregonus peled kromosomeja kolmen päivän ikäisistä embryoista ja pikkupoikasista. Kromosomien diploidi lukumäärä vaihteli siialla C. peled 70-76 ja siialla C. muksun 76-80. Aineiston perusteella Kaidanova totesi siikalajilla C.

peled olevan 74 ja vastaavasti lajilla C. muksun 78 diploidia kromosomia. Vastaavat NF:n arvot olivat 96 ja 100. Kromosomien lukumäärissä esiintyvien muutosten oletettiin olevan osoitus Robertsonin polymorfismista.

Viktorovsky ja Maximova (1978) tutkivat siian Coregonus ussuriensis karyotyyppiä. Diploidi kromosomien lukumäärä (2n) vaihteli 80-82, joista 5-6 paria oli metasentrisiä, 4 paria submetasentrisiä ja 30-32 paria telosentrisiä kromosomeja.

Ruchkyan ja Arakelyan (1980) ehdottivat kromosomitutkimuksiinsa perusruen, että Sevan-järven siika on hybridimuoto sinne istutetuista siioista Coregonus lavaretus maraenoides ja Coregonus lavaretus ludoga. 2n on sama kaikilla muodoilla muutta NF:n arvot poikkesivat toisistaan siten, että siikamuodolla C. lavaretus ludoga NF oli 98, muodolla C. lavaretus maraenoides 102 ja hybridimuodolla eli Sevan-järven siialla NF oli 100. Sevanin siian metasentristen ja akrosentristen kromosomiparien heteromorfismin ehdotetaan olevan osoitus Sevanin siikapopulaatiossa esiintyvästä polymorfismista.

Viktorovsky (1982) tutki Itä-Siperian siikojen Coregonus nasus ja C. lavaretus pidschian kromosomeja. C. nasus- lajilla diploidi kromosomien lukumäärä vaihteli 58-60 NF:n ollessa 92. Kromosomeista oli 11-12 paria metasentrisiä, 5 paria submetasentrisiä ja 12-14 paria subtelo- ja telosentrisiä. Vastaavasti C. lavaretus pidschian lajin 2n vaihteli 80-82, NF oli 102 ja kromosomeista oli 6-7 paria metasentrisiä, 4 paria submetasentrisiä ja 29-31 paria subtelo- ja telosentrisiä. Viktorovsky toteaa että karyologisissa analyyseissä ei ole löytynyt vielä eroa siikojen C. lavaretus pidschian ja C. lavaretus maraenoidis väliltä. Sensijaan laji C. nasus eroaa selvästi muista Coregonus-suvun lajeista.

3.3.4. Yhteenveto siikojen kromosomitutkimuksista

Siikojen kromosomitutkimuksessa voidaan nähdä edistysaskelia kuten squash-tekniikan, hypotoniakäsittelyn ja kolkisiinin käyttöönotto. Kuitenkin voidaan todeta, että siikojen kromosomitutkimus ei ole edistynyt siinä määrin kuin useilla muilla lohikaloilla. Esimerkiksi soluviljelymenetelmiä ei ole lainkaan sovellettu siioille. Suurin osa tähän saakka suoritetuista tutkimuksista perustuu embryoistä squash-tekniikalla tehtyjen kromosomipreparaattien analysointiin. Kromomosomivärjäykset ovat jo kauan perustuneet aseto-orseiinivärjäykseen. Raitavärjäysmenetemien soveltamisesta siioille ei löydy mainintoja kirjallisuudessa.

Kromosomitutkimuksissa esitetty informaatio perustuu kromosomien lukumääriin ja niiden luokitteluun eri morfologian (sentromeerin sijainti) perusteella. Yksityiskohtaisempia kromosomikuvauksia ei ole kuin vain harvoista suurimmista kromosomeista Nygren et al (1971b). Siikojen kromosomitutkimusta käsittelevän kirjallisuuden pohjalta voi todeta, että luotettavan kromosomimäärityksen tekeminen käytetyillä menetelmillä on ollut vaikeaa. Tätä osoittaa mm. alhaiset tutkittujen metafaasien määrät ja kromosomien lukumäärissä esiintyvä suuri hajonta. Useat tutkijat odottavat kromosomitutkimuksilta apua siian taksonomisiin ongelmiin. Kromosomitutkimuksen eteneminen odottaa selvästi uutta askelta metodisessa kehityksessä. Yhteenveto raportoiduista kromosomien lukumääristä eri siioilla on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Yhteenveto alaheimon Coregoninae siikojen kromosomitutkimuksista. Taulukon tutkimukset on ryhmitetty maantieteellisesti seuraavan jaottelun mukaan: Skandinavia, Neuvostoliitto, Keski-Eurooppa ja Pohjois-Amerikka.

	Kromosomien lukumäärä 2n	Meta-sentriset	Akro-sentriset	NF	Kudos josta kromosomit on määritetty	Tutkittujen kalojen alkuperä	Kirjallisuusviite
Coregonus albula L.	80	16	64	96	Alkio	Ruotsi	Svärdson 1945
Coregonus lavaretus L.	80	16	64	96	Alkio	Ruotsi	"
Coregonus lavaretus -group	17, 57 tai 80	-	-	-	Alkio	Suomi	Suomalainen 1958
Coregonus albula L.	80	16	64	96	Testis, munuainen	Ruotsi; Mälare-järvi	Nygren et al. 1971a
Coregonus nasus (Pallas) sensu Svärdson	80	12	68	92	Munuainen	Ruotsi; Storlaisan-järvi	Nygren et al. 1981b
Coregonus pidschian (Gmelin) sensu Svärdson	80	12 tai 18	62 tai 68	92 tai 98	Testis	Ruotsi; Revsunda-järvi	"
Coregonus lavaretus L.	80	12 tai 18	62 tai 68	92 tai 98	Testis, munuainen	Ruotsi; Pite-joki, Siljan-järvi	"
Coregonus peled (Gmelin) sensu Svärdson	80	12 tai 18	62 tai 68	92 tai 98	Munuainen	Ruotsi; Hornavan-järvi	"
Coregonus lavaretus baeri (Kessler)	80	16	64	96	Alkio	USSR	Prokofieva 1934
Coregonus peled (Gmelin)	80	10 tai 12	68 tai 70	90-92	Alkio	USSR	Viktorovsky 1964
Coregonus lavaretus baunti (Muchomedijarov)	80	16,18 tai 20	60,72 tai 74	96-100	Alkio	USSR	"
Coregonus lavaretus maraenoides (Poljakov)	80	22	58	102	-	USSR	Kaidanova et al. 1976
Coregonus peled (Gmelin)	74	22	52	96	Alkio ja pikkupoikaset	USSR	Kaidanova 1978
Coregonus muksun (Pallas)	78	22	56	100	Alkio		"
Coregonus ussuriensis (Berg)	80-82	18 tai	60,62	98-102	-	USSR	Viktorovsky et al. 1978
Coregonus lavaretus maraenoides (Poljakov)	80	22	58	102	-	USSR; Sevan-järvi	Ruchkyan et al. 1980
Coregonus lavaretus budoga (Poljakov)	80	18	62	98	-	" "	"

Taulukko 3 jatkuu

Coregonus nasus (Pallas)	58-60	32 tai 34	22,26 tai 28	92	-	USSR; Itä-Siperia	Viktorovsky et al. 1982
Coregonus lavaretus pidschian (Gmelin)	80-82	20 tai	58,60	102	-	" "	"
Coregonus schinzii duplex (Fatio)	72	-	-	-	Alkio	Sveitsi; Zurich-järvi	Kupka 1948
Coregonus asperi maraenoides (Fatio)	36	-	-	-	Alkio	" "	"
Coregonus wartmanni coeruleus (Fatio)	72	-	-	-	Alkio	" Vierwaldstätter-järvi	"
Coregonus exiguus albellus (Fatio)	70±	-	-	-	Alkio	" "	"
Coregonus fera (Jurine)	78	-	-	-	Alkio	Sveitsi; Neuenburger-järvi	Bargetzi, 1960
Coregonus macrophthalmus (Nusslin)	78	-	-	-	Alkio	" "	"
Coregonus wartmanni (Bloch)	96	-	-	96	Testis	Saksa; Bodensee-järvi	Karbe 1964
Coregonus macrophthalmus (Nusslin)	96	-	-	96	"	"	"
Coregonus fera (Jurine)	96	-	-	96	Testis	"	"
Coregonus acronius (Rapp)	96	-	-	96	Testis	"	"
Coregonus clupeaformis (Mitchill)	80	28	52	108	Alkio	P-Amerikka; Superior-järvi	Booke 1968
Coregonus artedii Le Sueur	80	26	54	106	Alkio	P-Amerikka, Superior-järvi, Pickereljärvi	"
Coregonus reighardi (Koelz)	80	24	56	104	Alkio	P-Amerikka, Huronjärvi	"
Coregonus zenithicus (Jordan et Everman)	80	18	62	98	Alkio	" , Superior-järvi	"
Coregonus hoyi (Gill)	80	18	62	98	Alkio	" "	"
Prosopium coulteri (Eigenmann et Eigenmann)	82	18	64	100	Alkio	P-Amerikka; Superior-järvi	Booke 1968
Prosopium cylindraceum (Pallas)	78	22	56	100	Alkio	" "	"
Prosopium williamsoni (Girard)	78	22	56	100	Alkio	P-Amerikka; Bear Lake järvi	"
Prosopium spilonotus (Snyder)	74	26	48	100	Alkio	" "	Booke 1974
Prosopium abyssicola (Snyder)	72	28	44	100	Alkio	" "	"
Prosopium gemmiferum (Snyder)	64	36	28	100	Alkio	" "	"
Stenodus leucichthys (Güldenstädt)	74	34	40	108	Alkio	Alaska; Chatanika-joki	Booke 1975

II TUTKIMUSOSA

4.TYÖN TARKOITUS

Työn tarkoitus oli määrittää siian (Coregonus sp.) karyotyyppi soluviljelymenetelmän ja heterokromatiini-värjäyksen avulla, sekä tutkia eri siikalajien ja kantojen karyotyyppien mahdollisia eroja.

5. TUTKIMUSMATERIAALI

Tutkimus tehtiin siioista otetuista verinäytteistä. Kustakin kalasta tarvittiin vähintään 0,5-1,0 ml verta lymfosyyttien viljelyä varten. Tutkimuksen näytekalat (yhteensä 122 kpl) hankittiin tutkimuksen eri vaiheissa (taulukko 4). Kuusi ensimmäistä erää (luonnonkaloja) tarvittiin soluviljelymenetelmän modifiointia varten. Varsinaiset näytekalat (4 erää) otettiin Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitoksen emokalastosta ja Oulujokisuun luonnonpopulaatiosta. Kuvaukset opinnäytetyön eri vaiheissa käytetystä siikamateriaalista esitetään liitteessä 1.

Taulukko 4. Tutkimuksen näytemateriaali näytteenottokerroittain.

Aika ja paikka	Laji/kanta	Lukumäärä	
		Yksilöitä	Koiras/Naaras
Kalliojärvi XII/1983	Luonnonpopulaatio	9	5/4
Lentuankoski 15.7.1984	Luonnonpopulaatio	9	3/6
Lentuankoski 05.8.1984	Luonnonpopulaatio	4	1/3
Kianta 12.8.1984	Luonnonpopulaatio	3	1/2
Kalliojärven suvanto 03.9.1984	Luonnonpopulaatio	2	2/0
Kalliojärvi 16.9.1984	Luonnonpopulaatio	10	5/5
Pohjois-Suomen keskuskvl 3.10.1984	Peled-siika/USSR	12	9/3
	Pohjasiika/Inari	12	6/6
	Pohjasiika/Oivanki	12	7/5
	Planktonsiika/Sotkamonr.	12	6/5 (1kpl?)
Oulujokisuu 11.10.1984	Vaellussiika/Oulujoki (luonnonpopulaatio)	12	8/4
Pohjois-Suomen keskuskvl 29.10.1984	Peled-siika/USSR	4	2/2
	Pohjasiika/Inari	8	2/6
	Planktonsiika/Sotkamonr.	5	2/3
Oulujokisuu 02.11.1984	Vaellussiika/Oulujoki (luonnonpopulaatio)	12	9/3

6 MENETELMÄT

6.1. Näytteen otto

Näytekaloja pyydettiin verkolla, haavilla, lipolla ja perholla. Kalliojärven ja Kiantajärven siikanäytteet pyydettiin verkolla. Lentuankosken siiat perholla ja Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitoksen näytteet haavilla. Oulujokisuusta hankitut näytteet pyydettiin lippoamalla ja niitä säilytettiin sumpussa verinäytteenottohetkeen saakka.

Verinäytteet pyrittiin ottamaan mahdollisimman nopeasti sen jälkeen kun näytekala oli nostettu vedestä. Verkolla pyydetyistä näytekaloista verinäyte otettiin veneessä, perholla pyydetyistä kosken rannalla ja kalanviljelylaitoksen kaloista altaan äärellä.

Näytekala tainnutettiin nopeasti ja verinäyte otettiin aseptisesti injektioneulalla Vacutainer 21 G (valmistaja: Becton Dickinson) selkärangan alapuolella sijaitsevasta valtimo-laskimokompleksista. Verinäytteet otettiin heparinisoituihin 2,5 tai 10 ml Vacutainer -putkiin (Becton, Dickinson). Verinäytteiden lämpeneminen pyrittiin estämään ottamalla näytteet jääkaapissa +4 C temperoituihin näyteputkiin, joita säilytettiin ja kuljetettiin samalla tavalla temperoidussa termospullossa.

6.2. Leukosyyttien viljely

6.2.1. Viljelyn kulku

Kromosomien määritys suoritettiin veren valkosoluista. Leukosyy-

tit rikastettiin verestä ja siirettiin kasvamaan viljelyliuokseen mihin oli lisätty mitogeenia. Solusyklin edettyä metafaasivaiheeseen viljely pysäytettiin kolkisiinilla, solut käsiteltiin hypotonisella kaliumkloridi-liuoksella ja fiksoitiin. Solususpensiota "pestiin" fiksatiivilla vähintään kolme kertaa ennen näytteiden varastoimista (-20 C).

Kaikki työvaiheet suoritettiin aseptisesti.

6.2.2. Viljelyliuoksen valmistus

Kutakin viljelykertaa varten valmistettiin oma tuore viljelyalusta. Viljelyputkiin (Falcon) tehdystä liuoksesta kuhunkin viljelyputkeen jaettiin 4,1 ml valmiiksi sekoitettua viljelyalustaa. Viljelyalusta sisälsi seuraavat aineet:

- ravintoliuos (McCoy, MEM tai RPMI 1640; Gibco)	3,0 ml
- seerumi (Foetal Calf Serum, heat inactived; Gibco)	0,8 ml
- antibiootti (pencillium, streptomycin; Gibco)	0,1 ml
- mitogeeni (Pokeweed; Gibco)	0,1 ml
- kolesteroli (cholesten -3 -B -ol; Sigma)	0,1 ml
	yht. 4,1 ml

6.2.3. Valkosolujen rikastaminen

Riittävän metafaasimäärän saamiseksi oli valkosoluja pyrittävä saamaan mahdollisimman paljon soluviljelyyn. Hyvin laskeutuneesta verinäytteestä saatiin riittävä määrä valkosoluja plasman ja punasolukerroksen rajapinnalle muodostuneesta valkosolukerroksesta.

Riittävän valkosolumäärän saamiseksi tarvittiin kuitenkin parem-

pi valkosolujen rikastamismenetelmä. Jotta leukosyyttiköyhän verinäytteen valkosolut olisi saatu mahdollisimman tarkasti talteen kehitettiin seuraava menetelmä. Verinäytteen joukkoon lisättiin aseptisesti soluviljelyssä käytettävän ravintoliuoksen ja fetaaliseerumin seosta tarkoituksena lisätä näytteen tilavuutta (fetaaliseerumin käytön tarkoitus oli pitää solususpension viskositeetti sopivana). Sentrifugoimalla näytettä eri kierrosnopeuksilla ja poistamalla vuorotellen eri faasit solu-seerumi-puskuroitu suolaliuos -seoksesta saatiin talteen runsaasti valkosoluja sisältävä solususpensio. Seuraavassa on esitetty lyhyesti rikastuksessa käytetty menetelmä:

1) Verinäytteeseen lisättiin aseptisesti seerumin (Foetal Calf serum) ja ravintoliuoksen (MEM, McCoy tai RPMI 1640) seos. Lisätyn liuoksen tilavuus oli 2 - 3 kertainen veren tilavuuteen verrattuna ja lisätyn seerumin tilavuus oli n. 20 % kokonaistilavuudesta.

2) Kun kaikkiin näyteputkiin oli lisätty seerumin ja ravintoliuoksen seos, ne sekoitettiin ja sentrifugoitiin nopeudella 300 rpm 10 minuutin ajan.

3) Punasolukerroksen yläpuolella oleva valkosolurikas yläfaasi siirrettiin aseptisesti viljelyputkiin ja sen jälkeen valkosolut sentrifugoitiin viljelyputkien pohjalle nopeudella 800 rpm 10 minuutin ajan.

4) Toisen sentrifugoinnin jälkeen valkosolujen yläpuoleinen faasi poistettiin ja solukerroksen päälle lisättiin viljelyliuos.

6.2.4. Viljelyolosuhteet

Soluviljelmiä inkuboitiin viljelykaapissa + 18 C lämpötilassa. Viljelyaika oli kaikille saman erän näytteille yhtä pitkä. Koska

solusyklin pituutta ei tiedetty, jouduttiin oikeata viljelyaikaa hakemaan kokeilemalla. Eri näyteryhmien välillä viljelyaika vaihteli 5 - 7 vuorokauteen.

Viljelyputkien sisältö sekoitettin kerran päivässä kääntelemällä putkia hellävaraisesti ylösalaisin.

6.2.5. Viljelyn lopetus

Viljely lopetettiin lisäämällä kolkisiinia (Colsemid; Gibco) 30 minuuttia ennen varsinaisen viljelyajan päättymisestä. Kolkisiinin lisäys ja inkubointi tapahtui huoneen lämpötilassa. Käsittelyn jälkeen solut sentrifugoitiin ja käsiteltiin 0,075 M kaliumkloridi-liuoksella. Hypotoniakäsittelyaika oli yleensä 20 minuuttia. Myös pidempiä käsittelyaikoja kokeiltiin. Näytteet sentrifugoitiin, kaliumkloridi-liuos poistettiin ja solususpensioon lisättiin jääetikasta ja metanolista suhteella 1:3 valmistettu fiksatiivi.

6.3. Kromosomipreparaattien valmistus

6.3.1. Preparaattien valmistus

Kromosomipreparaatit valmistettiin ns. "air dry" -menetelmällä. Jääetikka-metanoli -fiksatiivissa olevaa solususpensiota pudotettiin pisara puhtaalle jääkylmälle objektiivilasille, minkä jälkeen preparaatit kuivattiin huoneilmassa tai käyttämällä kuumailmapuhallinta. Metafaasivaiheisten leukosyyttien hajoittaminen oli vaikeaa, siksi kromosomien leviämistä pyrittiin edistämään useilla erilaisilla menetelmillä, kuten esim. etanoli-etikkahapposuhteen vaihtelu.

6.3.2. Giemsa-värjäys

Kromosomit värjättiin 2 %:lla Giemsalla Giemsapuskurissa (1,42 g Na_2HPO_4 x $2H_2O$ ja 0,49 g KH_2PO_4 1000 ml:ssa H_2O:ta; ja pH 7,0). Tämän jälkeen objektiivilasit huuhdottiin nopeasti tislatulla vedellä, annettiin kuivua ja valokuvattiin joko Entellanilla ja peitinlasilla peitettyinä tai paljaina.

6.3.3. Heterokromatiinin värjäys

Kromosmien CBG-värjäyksessä sovellettiin Sumnerin (1972) modifioitua CBG-värjäysmenetelmää (Mäkinen et al. 1981).

Vuorokauden vanhat preparaatit käsiteltiin 0,2 M HCl-liuoksessa huoneenlämpötilassa 60 minuutin ajan ja huuhdeltiin nopeasti tislatulla vedellä. Tämän jälkeen preparaatteja käsiteltiin tuoreella, huoneen lämpötilaiseen tislattuun veteen valmistetulla 5 %:lla $Ba(OH)_2$ -liuoksella 20-30 minuuttia. Preparaatit huuhdottiin nopeasti tislatulla vedellä ja inkuboitiin 2 x SSC-liuoksessa (0,3 M NaCl ja 0,03 M natriumsitraatti) +60 °C lämpötilassa 60 minuutin ajan.

Preparaatit värjättiin 2 prosenttisella Giemsalla (Merck), joka oli valmistettu Sörensenin puskuriin (1,42g Na_2HPO_4 x 2 H_2O ja 0,49g KH_2PO_4 1000 ml:ssa H_2O:ta; pH 7,0), Värjäys suoritettiin huoneenlämpötilassa värjäysajan ollessa 2 tuntia.

Lopuksi preparaatit huuhdeltiin tislatulla vedellä ja niiden annettiin kuivua huoneenlämpötilassa, minkä jälkeen ne olivat valmiita tarkasteltaviksi mikroskoopilla.

6.4. Mikrovalokuvaus

Värjäämättömiä kromosomi-preparaatteja tarkasteltiin faasikontrastilla Leitz Orthoplan mikroskoopilla. Tarkempi kromosomien analysointi suoritettiin joko Giemsa tai CBG-värjätyistä kromosomipreparaateista.

Metafaasit valokuvattiin mikroskooppiin kytketyllä Orthomat kameralla (Wild). Kuvauksessa käytettiin 100 x öljyimmersio-objektiivia. Valotus tapahtui automaattisesti ja johtuen kromosomien pienestä koosta valokuvauksessa käytettiin yleensä suurinta mahdollista zoomin suurennosta.

Kromosomit kuvattiin mustavalkoiselle Agfa Ortho 25 -filmille (15 Din). Filmi kehitettiin Agfa Rodinalin vesi-liuoksella (1:75, 20 °C, 10 minuuttia).

6.5. Analysointimenetelmät

Soluviljelyn onnistumista kuvattiin havainnoimalla indusoituneita ja metafaasivaiheisia leukosyyttejä. Indusoituneet leukosyytit kertovat solun jakautumisen käynnistymisestä.

Metafaasien kromosomit laskettiin valokuvien perusteella ja näin määritettiin metafaasin diploidi kromosomilukumäärä 2n sekä käsivarsien lukumäärä N F.

Kromosomit leikattiin valokuvista ja näistä muodostettiin karyotyyppi. Muutamat metafaaseista analysoitiin Manninen et al. (1984,1985) kehittämällä puoliautomaattisella kuvananalysointimenetelmällä. Menetelmä perustuu MINC/DECLAB 23 -laboratoriotietokoneen ja HP-7221C xy-plotterin käyttöön, missä piirturin kynä on korvattu optisella sensorilla HEDS-1000.

7. TULOKSET

Soluviljely onnistui parhaiten verinäytteistä, jotka oli otettu stressaantumattomista kaloista välittömästi kalan vedestä nostamisen jälkeen. Viljelysyklin pituus vaihteli 5-7 vuorokauteen. Kromosomipreparaattien valmistus onnistui parhaiten tuoreista juuri fiksatuista leukosyyteistä. Soluista, jotka olivat olleet fiksatiivissa pidempään kuin yhden kuukauden, oli vaikea valmistaa kromosomipreparaatteja. Analysoitavia metafaaseja saatiin yleensä eniten verinäytteistä, joiden valkosoluja rikastettiin.

Leukosyyttiviljelyn tulokset kustakin näytteenottoerästä on esitetty taulukossa 5. Solujen indusoituminen todettiin 89 näytteessä. Metafaaseja havaittiin yhteensä 68 näytekalasta. Kromosomit laskettiin kuitenkin vain 18 näytekalalta. Kutakin kalayksilöä kohti laskettujen matafaasien määrä vaihteli 1-8. Karyotyyppi määritettiin yhteensä kahdeksalta kalalta.

Peled-siioilta (Coregonus peled) laskettujen kromosomien lukumäärä on esitetty taulukossa 6. Kromosomien diploidi lukumäärä (2n) eri metafaaseissa vaihtelee 74-76 ja kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä 20-22. Kaikilla yksilöillä esiintyy yleisimmin karyotyyppi, jossa 2n on 76 ja NF on 22. Planktonsiian (Coregonus pallasi) kromosomien lukumäärät on esitetty taulukossa 7. Kromosomien diploidi lukumäärä (2n) vaihtelee eri metafaaseissa 74-80 ja kaksikäsivartisten lukumäärä 18-24. Kaikilla yksilöillä on yleisin kromosomisto jossa 2n on 80 ja NF on 102. Pohjasiialla (Coregonus fera) vastaavasti kromosomien diploidi lukumäärä eri metafaaseissa vaihteli 78-82 ja kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä 18-22 (taulukko 8).

Kromosomilukumäärien jakaantuminen tutkituissa leukosyyteissä on esitetty taulukoissa 9 ja 10.

Kuvassa 2 on esitetty peled-siian (C. peled) CBG-värjätty karyo-

tyyppi. Kaikki sentromeerialueet värjäytyivät tummiksi. Lisäksi interstitiaalista konstitutiivista heterokromatiinia esiintyi kaksikäsivartisilla pareilla 12 ja 13. Kromosomiparin numero 11 lyhyet käsivarret osoittautuivat olevan heterokromaattisia ja värjäytyivät täten kokonaan tummiksi.

CBG-värjäyksen perusteella voitiin peled-siialta tunnistaa 7 paria kaksikäsivartisia ja 2 paria yksikäsivartisia kromosomeja. Loput kromosomit on asetettu pituusjärjestykseen numeeristen arvojen perusteella (vrt. kuva 3).

Taulukossa 11 on esitetty peled-siian (näytekala CO-8) kromosomien suhteelliset pituudet, sentromeeri-indeksit ja käsivarsien suhteet laskettuina Levan et al. (1964) menetelmän mukaan. Kaksikäsivartisista kromosomeista kuuluu 3 paria M-ryhmään, 7 paria m-ryhmään ja yksi sm-ryhmään. Loput 26 kromosomiparia ovat telosentrisia.

Kuvassa 4 on esitetty planktonsiian (C. pallasi) CBG-värjätty karyotyyppi. Sentromeerialueet värjäytyivät tummiksi. Interstitiaalista heterokromatiinia esiintyi kaksikäsivartisilla kromosomeilla pareissa numero 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ja 8 sekä yksikäsivartisessa parissa numero 12. Kromosomiparin numero 11 lyhyet käsivarret värjäytyivät kokonaan tummiksi.

CBG-värjäyksen perusteella voitiin planktonsiialta tunnistaa 7 paria kaksikäsivartisia ja 1 pari yksikäsivartisia kromosomeja. Loput kromosomit on asetettu pituusjärjestykseen numeeristen arvojen peruseella (vrt. kuva 5).

Taulukossa 12 on esitetty planktonsiian (näytekala CO-42) kromosomien suhteelliset pituudet, sentromeeri-indeksit ja käsivarsien suhteet laskettuina Levan et al. (1964) menetelmän mukaan. Kaksikäsivartisista kromosomeista kuuluu 6 paria m-ryhmään, 1 pari sm-ryhmään ja 4 st-ryhmään. Loput 29 paria ovat telosentrisia kromosomeja.

Taulukko 5. Leukosyyttiviljelyn tulokset näyte-erittäin. Sarakkeissa esitetyt luvut ilmoittavat näytekalojen määrän analysoinnin eri vaiheissa. Näyte-erät on lueteltu taulukon yläpuolella.

1. Kalliojärvi, XII/1983
2. Lentuankoski 15.7.1984
3. Lentuankoski 5.8.1984
4. Kianta-Akonlahti 12.8.1984
5. Kalliojärven suvanto 3.9.1984
6. Kalliojärvi 6.9.1984
7. P-SKKVL 3.10.1984
8. Oulujokisuu 11.10.1984
9. P-SKKVL 29.10.1984
10. Oulujokisuu 2.11.1984

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.				8.	9.			10.	Yhteensä
Näytekalojen kokonaislkm	9	9	4	3	2	10	12	12	12	12	12	4	8	5	12	114
Induktio havaittu	0	7	2	3	2	7	11	5	10	9	8	3	7	5	10	89
Kromosomit havaittu	0	5	2	3	2	6	10	1	8	7	4	3	7	4	6	68
Metafaaseja valokuvattu	0	4	2	1	0	2	4	0	2	3	1	1	1	2	2	25
Kromosomit laskettu	0	2	1	1	0	2	4	0	2	1	0	1	1	2	1	18
Karyotyyppi määritetty	0	0	1	0	0	2	2	0	0	1	0	1	0	1	0	8

Taulukko 6. Peled-siian Coregonus peled (Gmelin) kromosomien lukumäärät eri yksilöillä. Taulukossa on esitetty kaikkien laskettujen metafaasien arvot.

Näytekalan numero	Kromosomien diploidi lukumäärä 2n	Kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä	Käsivarsien yhteislukumäärä NF
CO-1	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
	74	22	96
	76	22	98
CO-2	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
	76	20	96
	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
CO-8	74	22	96
	76	22	98
	76	22	98
CO-10	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
C-173	75	22	97
	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98
	76	22	98

Taulukko 7. Plankton siian (Sotkamonreitti; Nivanvirta) Coregonus pallasi kromosomien lukumäärä tutkituilla yksilöillä eri soluissa.

Näytekalan numero	Kromosomien diploidi lukumäärä 2n	Kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä	Käsivarsien yhteislukumäärä NF
CO-42	78	22	100
	80	22	102
	80	20	100
	74	20	94
	80	24	104
	78	22	100
	80	22	102
C-184	78	22	100
	78	22	100
	77	22	99
	80	22	102
	79	23	102
	80	22	102
	80	22	102
C-187	80	18	98
	80	22	102
	80	22	102

Taulukko 8. Inarin pohjasiian Coregonus fera kromosomien lukumäärä tutkituilla yksilöillä eri soluissa.

Näytekalan numero	Kromosomien diploidi lukumäärä 2n	Kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä	Käsivarsien lukumäärä NF
CO-27	80	20	100
	82	20	102
C-180	80	22	102
	80	20	100
	80	20	100
	78	18	96
CO-34	80	20	100

Taulukko 9. Leukosyyteistä laskettujen kromosomien lukumäärien jakaantuminen peled-siialla Coregonus peled, Inarin pohjasiialla Coregonus fera ja Nivanvirran planktonsiialla Coregonus pallasi. Kalat ovat peräisin Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitokselta.

Laji	Näytekalan numero, sukupuoli ja siivilähampaiden lukumäärä			Soluista laskettujen kromosomimäärien jakaantuminen									NF	Tutkittuja soluja yhteensä
				74	75	76	77	78	79	80	81	82		
Peled-siika	CO-1	Koiras	61	1		4							98	5
	CO-2	Koiras	59			7							96,98	7
	CO-8	Koiras	57	1		2							96,98	3
	CO-10	Naaras	61			5							98	5
	C-183	Naaras	59		1	4							97,98	5
Pohjasiika	CO-27	Naaras	22							1		1	100,102	2
	C-180	Naaras	21					1		3			96-102	4
	CO-34	Koiras	22							1			100	1
Planktonsiika	CO-42	Koiras	46	1				2		4			94-104	7
	C-184	Naaras	48				1	2	1	3			99-102	7
	C-187	Naaras	53				1	1	1	3			97-102	6

Taulukko 10. Luonnonpopulaatioista peräisin olevista siioista todettuja kromosomien lukumääriä.

Näytteenotto-paikka	Näytekalan numero, sukupuoli ja siivi-lähampaiden luku-määrä			Soluista laskettujen kromosomimäärien jakaantuminen 78	79	80	81	82	NF	Tutkittuja soluja yhteensä
Kianta-Akonlahti	C-89	Koiras	43		1				102	1
Kalliojärvi	C-106	Naaras	49			1			102	1
	C-109	Naaras	54		1				104	1
Lentunakoski	C-53	Naaras	47			1			102	1
	C-67	Koiras	48			2			98,100	2
	C-74	Naaras	32		1	7			98,100	8
Oulujokisuu	C-197	Naaras	30			3			100	3

Taulukko 11. Peled-siian Coregonus peled kromosomien suhteelliset pituudet, sentromeeri-indeksit ja käsivarvien suhteet laskettuina Levan et al. (1964) nomenklatuurin mukaan. Taulukossa on annettu yhden mitatun karyotyypin arvot näytekalalta CO-8.

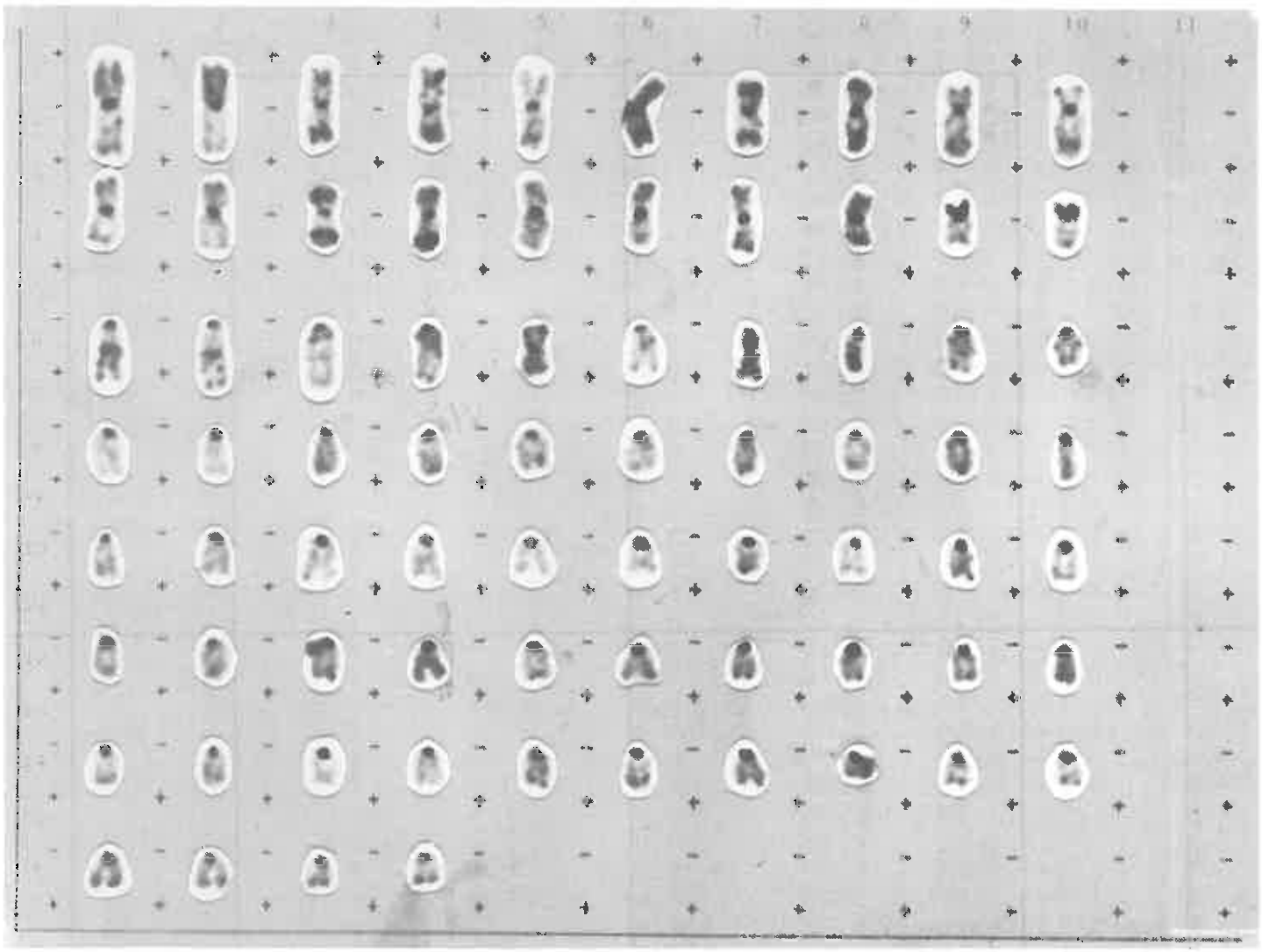
Pari	Kromosomit	Suhteellinen pituus	Sentromeeri indeksi	Käsivarsien suhde	Tyyppi
1	1/ 1- 2/ 1	4.87	46.73	1.14	m
2	5/ 1- 6/ 1	4.15	51.41	0.95	M
3	3/ 1- 4/ 1	4.13	51.35	0.95	M
4	9/ 1-10/ 1	3.83	34.25	1.92	sm
5	5/ 3- 2/ 3	3.75	47.13	1.12	m
6	7/ 1- 8/ 1	3.73	45.90	1.18	m
7	7/ 3- 1/ 3	3.50	43.90	1.28	m
8	3/ 3- 4/ 3	3.42	47.79	1.09	m
9	8/ 3- 6/ 3	3.18	51.49	0.94	M
10	5/ 5- 7/ 5	3.03	47.10	1.12	m
11	9/ 3-10/ 3	2.52	37.78	1.65	m
12	3/ 6- 4/ 6	3.69	0.0	-	T
13	1/ 6- 2/ 6	3.49	0.0	-	T
14	5/ 8- 6/ 8	2.57	0.0	-	T
15	3/10- 4/10	2.52	0.0	-	T
16	6/ 6- 8/ 6	2.46	0.0	-	T
17	3/ 8- 4/ 8	2.45	0.0	-	T
18	9/ 6-10/ 6	2.44	0.0	-	T
19	1/ 8- 2/ 8	2.41	0.0	-	T
20	7/ 8- 8/ 8	2.38	0.0	-	T
21	9/ 8-10/ 8	2.34	0.0	-	T
22	1/10- 2/10	2.24	0.0	-	T
23	1/12- 2/12	2.19	0.0	-	T
24	5/10- 6/10	2.19	0.0	-	T
25	9/10-10/10	2.18	0.0	-	T
26	3/12- 4/12	2.18	0.0	-	T
27	3/14- 4/14	2.15	0.0	-	T
28	5/14- 6/14	2.15	0.0	-	T
29	5/12- 6/12	2.13	0.0	-	T
30	7/10- 8/10	2.12	0.0	-	T
31	1/14- 2/14	2.11	0.0	-	T
32	7/12- 8/12	2.05	0.0	-	T
33	9/14-10/14	2.03	0.0	-	T
34	9/12-10/12	2.01	0.0	-	T
35	1/16- 2/16	1.91	0.0	-	T
36	3/16- 4/16	1.81	0.0	-	T
37	7/14- 8/14	1.69	0.0	-	T

2n = 74 NF = 96

Taulukko 12. Planktonsiian Coregonus pallasi kromosomien suhteelliset pituudet, sentromeeri-indeksti ja käsivarsien suhteet Levan et al. (1964) nomenklatuurin mukaan. Taulukossa on annettu yhden mitatun karyotyypin arvot näytekalalta CO-42.

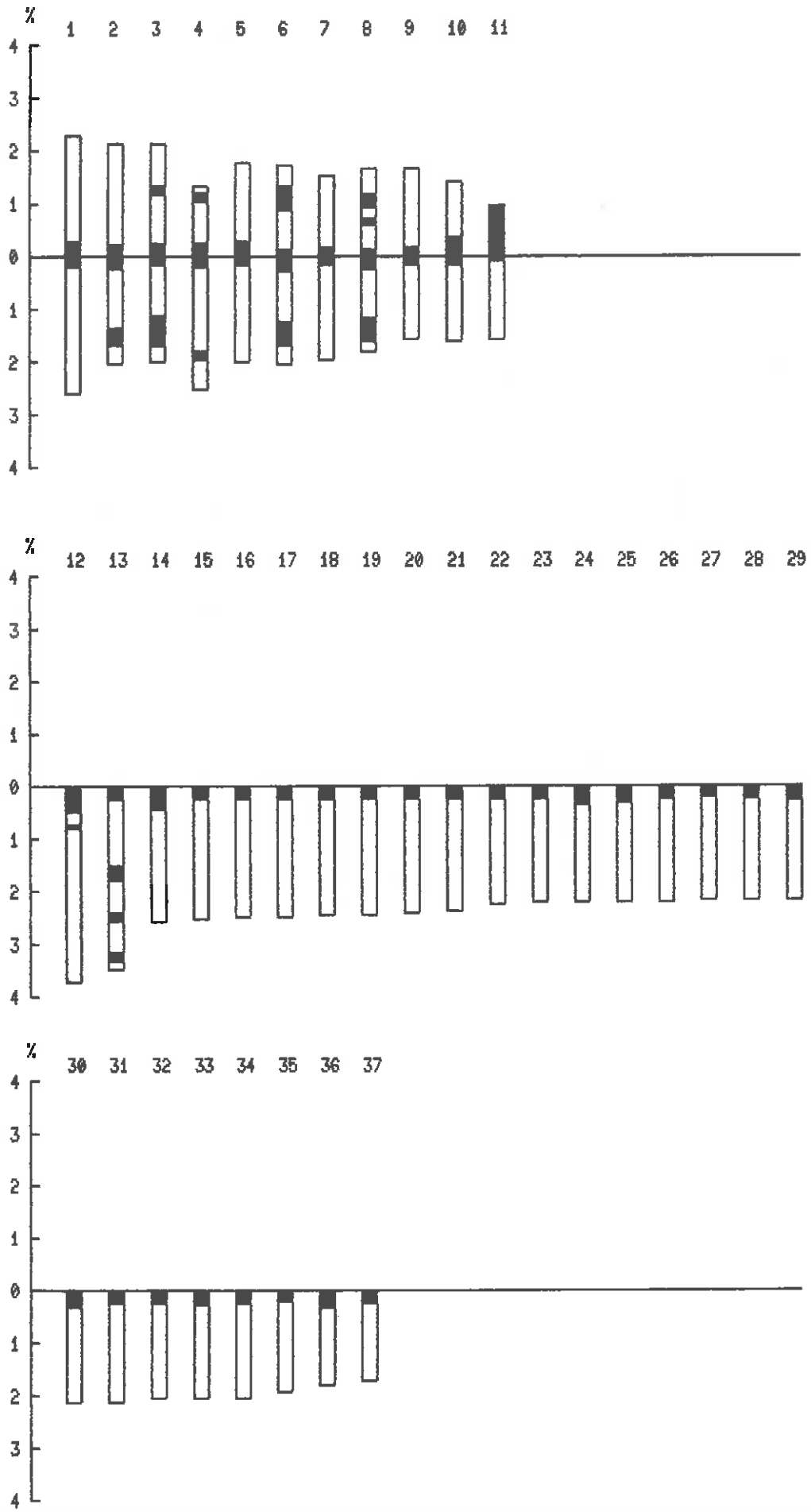
Pari	Kromosomit	Suhteellinen pituus	Sentromeeri indeksi	Käsivarvien suhde	Tyyppi
1	1/ 2- 2/ 2	5.54	42.98	1.33	m
2	5/ 1- 6/ 1	4.07	43.37	1.31	m
3	3/ 1- 4/ 1	4.05	43.24	1.31	m
4	7/ 1- 8/ 1	3.98	42.16	1.37	m
5	9/ 1-10/ 1	3.49	39.56	1.53	m
6	9/ 3-10/ 3	2.98	44.10	1.27	m
7	5/ 3- 6/ 3	3.17	34.25	1.92	sm
8	3/ 3- 4/ 3	3.42	13.73	6.28	st
9	3/ 7- 8/ 7	2.48	12.60	6.94	st
10	7/ 3- 8/ 3	2.05	18.39	4.44	st
11	1/ 5- 2/ 5	1.92	16.25	5.15	st
12	3/ 6- 4/ 6	3.31	0.0	-	T
13	5/ 6- 6/ 6	3.23	0.0	-	T
14	1/ 8- 2/ 8	2.61	0.0	-	T
15	11/ 8- 1/10	2.48	0.0	-	T
16	9/ 8-10/ 8	2.42	0.0	-	T
17	7/ 8- 4/ 8	2.38	0.0	-	T
18	7/ 6- 8/ 6	2.38	0.0	-	T
19	10/10-11/10	2.32	0.0	-	T
20	1/12- 2/12	2.31	0.0	-	T
21	5/ 8- 6/ 8	2.28	0.0	-	T
22	9/ 6-10/ 6	2.26	0.0	-	T
23	8/10- 9/10	2.20	0.0	-	T
24	2/10- 3/10	2.18	0.0	-	T
25	4/10- 5/10	2.16	0.0	-	T
26	6/10- 7/10	2.16	0.0	-	T
27	10/14-11/14	2.06	0.0	-	T
28	3/12- 4/12	1.99	0.0	-	T
29	3/14- 9/14	1.97	0.0	-	T
30	11/12- 1/14	1.96	0.0	-	T
31	7/12- 8/12	1.95	0.0	-	T
32	2/14- 8/14	1.90	0.0	-	T
33	1/16- 2/16	1.89	0.0	-	T
34	9/12-10/12	1.86	0.0	-	T
35	5/12- 6/12	1.83	0.0	-	T
36	6/14- 7/14	1.80	0.0	-	T
37	3/16- 4/16	1.78	0.0	-	T
38	5/16- 6/16	1.77	0.0	-	T
39	4/14- 5/14	1.76	0.0	-	T
40	7/16- 8/16	1.62	0.0	-	T

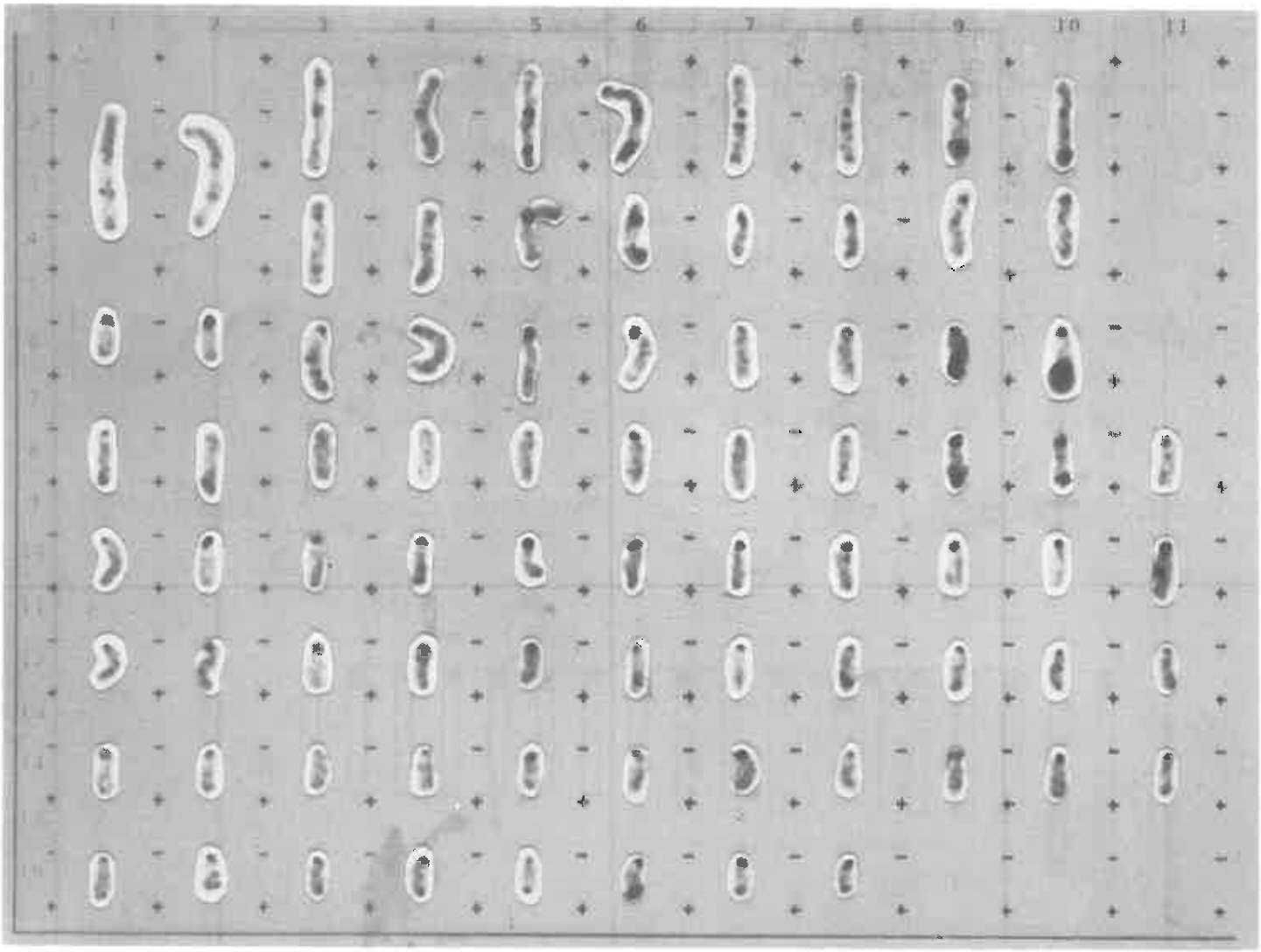
2n = 80 NF = 102



Kuva 2. Peled-siian Coregonus peled CBG-värjätty karyotyyppi näytekalasta CO-8. Suurennos 3200 X.

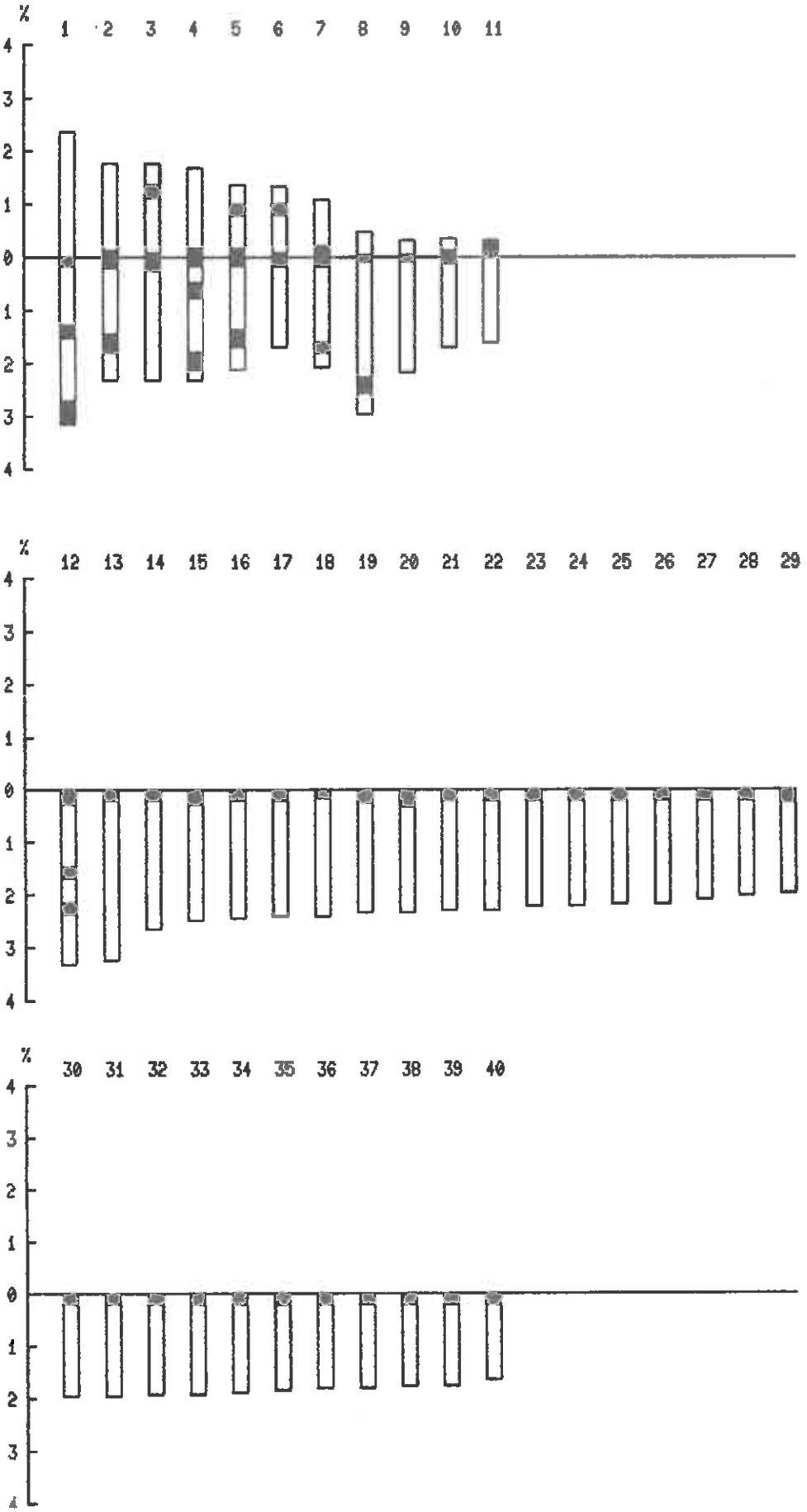
Kuva 3. Haploidi idiogrammi peled-siian (Coregonus peled) kromosomistosta (näytekala CO-8). Kromosomit on järjestetty pituusjärjestykseen sentromeerin paikan mukaan. Konstitutiivinen heterokromatiivi on ilmaistu mustina alueina.





Kuva 4. Plantonsiian Coregonus pallasi CBG-värjätty karyotyyppi näytekalasta CO-42. Suurennos 3200 X.

Kuva 5. Haploidi idiogrammi planktonsiian Coregonus pallasi kromosomistosta (näytekala CO-42). Kromosomit on järjestetty pituusjärjestykseen sentromeerin paikan mukaan. Konstitutiivinen heterokromatiini on ilmaistu mustina alueina.



8. TULOSTEN TARKASTELU

Kirjallisuudesta ei löydy mainintoja leukosyyttien viljelyyn perustuvasta kromosomien määritysmenetelmästä siioilla. Siksi tässä työssä esitetyt tulokset eivät ole täysin vertailukelpoisia muilla menetelmillä saatuihin tuloksiin.

Leukosyyttiviljelyyn perustuvalla kromosomien määritysmenetelmällä voidaan saada hyvälaatuisia kromosomipreparaatteja. Menetelmä on kuitenkin herkkä ja ammattitaitoa vaativa. Ensimmäinen kriittinen vaihe on kalanäytteen hankkiminen. Viljelyn onnistuminen riippuu näytekalan kunnosta. Paras verinäyte saatiin stressaantumattomasta kalasta. Jos kala joutui olemaan stressaantuneena kauemmin kuin viisi minuuttia, löytyi sen verestä runsaasti trombosyyttejä ja verinäyte hyytyi helposti. Casillasin ja Smithin (1977) mukaan kirjolohella trombosyyttien määrä tulee kolminkertaiseksi 20-30 minuutin kuluttua stressin alkamisesta. Pitkäaikaisesta stressistä, kuten usean vuorokauden sumputus, aiheutui siioille lisäksi veren valkosolujen vähenemistä. Leukopeniaa havaittiin erityisesti ensimmäisen näytteenottokerran siikojen verinäytteissä. Leukosyyttiviljely onnistui tällaisista verinäytteistä huonosti ilman leukosyyttien rikastamista. Mazeaud et al. (1977) mukaan leukopenia on kaloilla yleisesti havaittu sekundaarinen stressivaste.

Soluviljelyn kesto vaihteli eri näyte-erien välillä 5-7 vuorokauteen. Koska metafaasivaiheisia kromosomeja löytyi kestoltaan eri pituisista soluviljelyistä, voidaan todeta, että mitogeeni vaikuttaa eri tavalla eri leukosyytteihin.

Kromosomipreparaattien tekeminen oli vaikeaa, sillä metafaasivaiheisia leukosyyttejä ei aina saatu rikki tai kromosomeja ei saatu kunnolla leviämään objektiivilasille. Päällekkäisyys vaikeutti kromosomien laskemista ja tunnistamista. Hypotoniakäsittelyajan pidentäminen ei parantanut kromosomien leviämistä. Koska hypotonialioksen konsentraatio oli aina sama, voidaan

vetää johtopäätös, että käytetyn hypotonialiuoksen (0,075 M kaliumkloridiliuos) konsentraatio oli liian suuri ja solut eivät turvonneet riittävästi ennen fiksausta. Solujen huonon hajoamisen syynä oli ilmeisesti myös liian pitkä varastointiaika. Parhaat metafaasit saatiin tuoreista juuri fiksatuista leukosyyteistä. Kromosomipreparaattien tekeminen soluista, joita oli varastoitu kuukausi tai kauemmin, oli hyvin vaikeaa. Palvan (1986) mukaan solususpensio säilyy -20 °C:ssa hyvänä useita kuukausia.

Kromosomit analysoitiin pääasiassa CBG-värjätyistä metafaaseista. CBG-värjäystä ei kirjallisuuden mukaan ole aikaisemmin käytetty siioilla. Värjäyksellä aikaansaadut raidat helpottivat kromosomien identifiointia ja asettamista pareiksi. CBG-värjäyksen avulla peled-siialta Coregonus peled voitiin tunnistaa 9 paria ja vastaavasti planktonsiialta Coregonus pallasi 8 paria kromosomeja. Useimmilta tutkituilta siioilta löytyi 1 pari kaksikäsivartisia kromosomeja joiden lyhyemmät käsivarret värjäytyivät kokonaan tummiksi.

Peled-siian (Coregonus peled) kromosomien diploidi lukumäärä (2n) oli 76 ja käsivarsien yhteislukumäärä (NF) oli 98. Viktorovskyn (1964) mukaan peled-siialla 2n on 80 ja NF on 90-92. Kaidanovan (1978) mukaan peled-siian diploidissa kromosomistossa (2n) on 74 kromosomia (hänen tutkimuksissaan 2n vaihteli 70-76). Käsivarsien yhteislukumääräksi NF Kaidanova sai 96. Sekä Viktorovskyn että Kaidanovan tutkimukset perustuivat alkioista squash-tekniikalla tehtyihin kromosomipreparaatteihin. Erot kromosomien lukumäärissä saattaa johtua metodisista tekijöistä.

Tutkituilla suomalaisilla siioilla planktonsiika (C. pallasi) ja pohjasiika (C. fera) kromosomien diploidi lukumäärä (2n) oli yleensä 80 ja NF oli 102. Tulokset ovat samansuuntasia Svärdsonin (1945) ja Nygren et al. (1971a, b) tulosten kanssa.

Peled-siian (Coregonus peled) kromosomisto poikkesi selvästi

tutkittujen suomalaisten siikojen kromosomiesta.

Kromosomien diploidin lukumäärän (2n) vaihtelua ei suppean aineiston perusteella voida luotettavasti selittää. Poikkeavat arvot saattavat olla osoitus Robertsonian polymorfismista, mutta yhtä hyvin voi olla kysymys esimerkiksi kromosomipreparaattien valmistusvaiheessa tapahtuneesta kromosomien häviämisestä. Kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärän vaihtelu johtuu useimmissa tapauksissa siitä, että pieniä kaksikäsivartisia kromosomeja on vaikea tunnistaa huonolaatuisista kromosomipreparaateista. On mahdollista, että kaksikäsivartisten kromosomien lukumäärä todellisuudessa on raportoitua suurempi, sillä joistakin hyvälaatuisista preparaateista voitiin havaita kaksikäsivartisia kromosomeja joilla toinen käsivarsipari oli hyvin pieni. Tällaisia kromosomeja esiintyy myös järvitaimenella Salmo trutta m. lacustris L. (Palva 1986).

Työssä saatujen tulosten ja kokemusten perusteella voidaan sanoa, että kromosomitutkimuksella voidaan saada uutta informaatiota siikojen taksonomisten ongelmien ratkaisemiseen ainakin lajitasolla (vrt. Coregonus peled ja Coregonus pallasi). Jatkotutkimuksissa tulisi keskittyä lajitasoa alempien siikaryhmien kromosomistojen vertailuun.

KIRJALLISUUSLUETTELO

Abe S and Muramoto J: Differential staining of chromosomes of two salmonid species, Salvelinus leucomaenis (Pallas) and Salvelinus malma (Walbaum). Proc Japan Acad 50:507-511, 1974.

Airaksinen KJ: Preliminary notes on the winterspawning vendace (Coregonus albula L.) in some Finnish lakes. Ann Zool Fenn 5(3):312-314, 1968a.

Airaksinen KJ: Vinter- och vårlekande siklöja. Fiskeritidskrift för Finland, N.S, 12:41-44, 1968b.

Ambühl H: Uber die Mitoseverhältnisse im Felchenei (Coregonus lavaretus L. Steinnman) Schweiz Z Hydrol 15:221-234,1953. Ref Karbe L, 1964.

Arrighi FE and Hsu TC: Localization of heterochromation in human chromosomes. Cytogenetics 10:81-86, 1971.

Bargetzi JP: Application de methodes d'analyse biochimique a'un probleme taxonomique: les Coregones du lac de Neuchatel. Schweiz Z Hydrol 22:641-758,1960, Ref. Karbe L, 1964.

Behnke RJ: The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. J Fish Res Bd Canada 29: 639-671, 1972.

Belling J: On counting chromosomes in pollen mother cells. Am Natural 55:573-574, 1921, Ref. Hsu T C 1979.

Benazzi M: Cytotaxonomy and evolution: general remarks s. 3-14. In Chiarelli A B ja Capanna E: Cytotaxonomy and vertebrate evolution, Academic Press, London ja New York, 1973.

Berg LS: Freshwater fishes of the U.S.S.R and adjacent countries. Zool Inst Akad Nauk SSSR 1(27), vol 1: 466 p, 1948 Ref.

Behnke R J 1972.

Booke HE: A cytotaxonomic study of the round whitefishes, Genus Prosopium: Copeia 1: 115-119, 1974.

Booke HE: Cytotaxonomy of the salmonid fish Stenodus leucichthys. J Fish Res Board Can 32: 295-296, 1975.

Booke HE: Cytotaxonomic studies of the Coregonine fishes of the Great Lakes USA: DNA and karyotype analysis. J Fish Res Board Can 25:1667-1687, 1968.

Booke HE: Speciation parametres in Coregonine fishes: I Egg II Karyotype, 61-66. C C Lindsey ja C S Woods. Biology of Coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Casillas E and Smith SL: Effects of stress on blood coagulation and hematology in rainbow trout (Salmo gairdneri). J Fish Biol 10:481-491, 1977.

Cavender TM: A comparison of coregonines and other Salmonids with the earliest known teleostean fishes, 1-32. In C C Lindsey and C S Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Chellewold JR: The genetic relationships of intergeneric and intergeographical Coregonids as determined by protein properties, 115-126. CC Lindsey and CS Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Chiarelli B, Ferrantelli O and Cucchi C: The caryotype of some teleostea fish obtained by tissue culture in vitro. Experientia 25:426-427, 1969.

Clayton JW and Franzin WG: Genetics of multiple lactate dehydrogenase isozymes in muscle tissue of lake whitefish (Coregonus

clupeaformis) F Fish Res Board Can 27:1115-1121, 1970.

Clayton JW, Franzin WG and Tretiak DN: Genetics of Glyserol-3-phosphate Dehydrogenase Isozymes on white muscle of lake whitefish (Coregonus clupeaformis). J Fish Res Board Can 30: 187-193, 1973

Denton TE: Fish chromosome methodology. Publ C C Thomas, Sprinfield, Illinois, 1973.

Dorofeyeva Ye A, Zinov`vyev Ye A, Klyukanov VA, Reshetnikov Yu S, Savvaitova KA and Shaposnikova G KH: The present state of research into the phylogeny and classification of Salmonidei. Journal of Ichthyology, 5:1-19, 1980.

Ermolenko LN: Electrophoretic study of three whitefish species from the East Siberian Sea. Bislogiya Morya %:32-36, 1985.

Ferguson A: The genetic relationships of the Coregonid fishes of Britain and Ireland indicated by electrophretic analysis of tissue protein: J Fish Biol 6:311-315, 1974.

Ferguson A: Myoglobin polymorphism in pollan (osteichthys: Coregoninae). Anim Blood Grps biochem Genet 6:25-29, 1975.

Ferguson A, Himberg K-J M, Svärdson G: Systematics of the Irish pollan (Coregonus pollan Thompson): an electrophoretic comparison with other Holartic Coregoninae. J Fish Biol 12: 221-233, 1978.

Franzin WG and Clayton JW: A Biochemical genetic study of Zoogeography of lake whitefish (Coregonus clupeaformis) in Western Canada. J Fish Res Board Can 34:617-625, 1977.

Gasowska M: Genus Coregonus discussed on connection with a new systematic feature that of shape and proportion of os maxillare

and os supramaxillare. Ann Zool 18:471-513, 1960.

Grammelveldt A-F: A method obtaining chromosome preparations from rainbow trout (Salmo gairdneri) by leukocyte culture. Norw J Zool 22:129-134, 1974.

Greenwood PH, Rosen DE, Weitzman SH, Myers GS: Phyletic studies of teleoste fishes, with a provisional classification of living forms. Bull Amer Museum Natur Hist 131 (4), 1966.

Hartley SE and Horne MT: Chromosome polymorphism and constitutive heterochromatin in Atlantic salmon, Salmo salar. Chromosoma (Berl) 89:377-380, 1984a.

Hartley SE and Horne MT: Chromosome polymophism in the rainbow trout (Salmo gairdneri Richardsson). Chromosoma (Berl) 87:461-468, 1982.

Hartley SE and Horne MT: Chromosome relationships in the genus Salmo. Chromosoma (Berl) 190:229-237, 1984b.

Heckman RJ, Allendorf FW and Wright JE: Trout leucocytes: growth in oxygenated cultures. Science 173:246-247, 1971.

Heckman JR and Brubaker PE: Chromosome preparation from fish blood leukocytes. Prog Fish-Cult 32:206-208, 1970.

Himberg K-J M: A systematic and zoogeographic study of some North-European coregonids, 219-250, C C Lindsey and C S Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Hsu TC: Mammalian chromosomes in vitro. I The Karyotype of man. J Hered 43:172, 1952.

Ihssen PE, Evans DO, Christie WJ, Reckahn JA and DesJardine RL:

Life history, morphology, and electrophoretic characteristics of five allopatric stocks of lake whitefish (Coregonus clupeaformis) in the Great Lakes region. Can J Fish Aguat Sci 38:1790-1807, 1981.

Juntunen M: Suomussalmen Kiantajärven jokikutuisista siikakannoista. Opinnäytetyö kalatalousteknikon tutkintoa varten, 1981.

Järvi TH: Uber die Arten und Formen der Coregonen s.str. in Finland. Acta Zool Fennica 5: 1-259, 1928.

Järvi TH: Zur Kenntnis der Coregonenformen Nord-Finnlands insbesondere des Kuusamo-Gebietes. Acta Zool Fennica 40: 1-91, 1943.

Kaidanova TI: A comparative karyological analysis of some salmon and whitefish species p. 16-23 In: Karyolical variability, mutagenesis and garyogenesis of fishes. Inst Cytol Acad Sci USSR, Leningrad, 1980.

Kaidanova TI and Efanov GV: Caryotype of Chudskoy whitefish. Izvestija Gosud nauchno-issled. Inst Ozern Rechn Rybn Khos (Gos Niorkh) 107:94-97, 1976.

Kaidanova TI: Study of caryotypes in two species of the whitefish. Izvestija Gosud nauchno-issled. Inst Ozern Rechn Rybn Khos (Gos Niorkh) 130:50-55, 1978.

Karbe L: Die Chromosomen verhältnisse bei den Coregonen des Bodensees und einiger weiterer voralpiner Seen, ein Beitrag zum Problem der speziation on der Gattung Coregonus. Z Zool Syst Evol 2:18-40, 1964.

Kessler RK: Opisanie ryb", kotoryya vstrzhchayutsya v" vodakh" S. Peterburgskoi Guberniu. Uzl Russk Entom Obshch, 1864. Ref Järvi TH, 1928.

Kirkpatrick M and Selander RK: Genetics of speciation on lake whitefish in the Allegash basin. Evolution 33(1):478-485, 1979.

Kosswig C: Ways of speciation in fishes. Copeia 2:238-244, 1963.

Kupka E: Chorosomale Verschiedenheiten bei schweizerischen Coregonen (Felchen) Revue Suisse Zool 55:285-293, 1948.

Kupka E: Die Mitosen- und Chromosomen verhältmisse bei der grossen Schwebrenke, Coregonus wartmanni (Bloch) des Attersees. (Cytologishe Untersuchungen an Coregonen II). Osterr Zool Z 2:605-623, 1950 Ref. Karbe W, 1964.

Lee GM and Wright JE: Mitotic and meiotic analysis of brook trout Salvelinus fontinalis. J Hered 72:321-327, 1981.

Lehtonen H, Salojärvi K: Kotitarve- ja virkistyskalastus Suomessa vuonna 1975. Suomen kalatalous 48:41-55, 1978.

Levan A, Fredga K, Sandberg AA: Nomenclature for centromeric position of chromosomes. Hereditas 50:201-220,1964.

Lind EA, Kaukoranta E: Characteristics, population structure and migration of the whitefish, Coregonus lavaretus (L.) in the Oulujoki river. Ichthyol Fenn Borealis 4:160-217, 1974.

Lindsey CC: Stocks are chameleons: plasticity in gill rakers of coregonid fishes. Can J Fish Aquat Sci 38:1497-1506, 1981.

Lindsey CC, Clayton JW and Franzin WG: Zoogeographic problems and protein variation in the Coregonus clupeaformis whitefish species complex, 127-146. C C Lindsey and C S Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Linnaeus C: Systema Naturae. Edit 10, Stockholm 1758 Ref. Svärdson, G 1979.

Lokshina AB: Comparative electrophoretical analysis of some proteins in whitefishes s. 40-57. Teoksessa Problems of genetics and selection of fishes, Gosniorkh, Leningrad, 1980.

Lueken W and Foerster W: Chromosomen untersuchungen bei Fishen mit einer vereinfachten Zellkulturtechnik. Zool Anz 183:168-176, 1969.

Malmgren AJ: Kritisk översigt af Finlands Fiskfauna.mDisp. Helsingfors, 1863. Ref. Järvi TH, 1928.

Manninen K, Olkkonen H, Palva T, Räsänen T, Hakumäki M: Laboratory computory aided digital image recording by optical reflective sensor. Proc of the Biological Engineering Society. DEM 7. 6th Nordic Meeting, Aberdeen, Scotland, 1984.

Manninen JK, Palva TK, Olkkonen H, Räsänen T, O ja E and Hakumäki M: Laboratory computor aided picture digitizing system based on high resolution optical reflective sensor. Journal of the International Federation for Medical & Biologizal Engineering 23(7):268, 1985.

Mazeaud MM, Mazeaud F and Donaldson EM: Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Trans Am Fish Soc 106(3):201-212, 1977.

McPhail JD and Jones RL: A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes. J Fish Res Bd Can 23(5):767-769, 1966.

McPhail J and Lindsey CC: Freswater fishes of Northwestern Canada and Alaska. Fish Res Bd Can, Bull. 173, 1970.

Mednikov BM, Reshetnikov YuS and Shubina Ye A: A study of the affinities of whitefishes (Coregonidae) by the method of molecular DNA hybridization. Zool Zhurn 56(3):333-341, 1977.

Mäkinen A, Lohi O, Juvonen M: Supernumerary chromosome in the chromosomally polymorphic Blue Fox, Alopex lagopus. Hereditas 94:227-279,1981.

Nikolsky GV & Reshetnikov YuS: Systematics of coregonid fishes in USSR; intraspecies variability and difficulties in taxonomy 251-266. CC Lindsey and CS Woods Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Norden CR: Comparative osteology of representative salmonid fishes with particular reference to the grayling (Thymallus arcticus) and its phylogeny. J Fish Res Bd Can 18(5): 679-791, 1961.

Norden C: Evolution and distribution on the genus Prosopium p. 67-80. CC Lindsey and CS Woods. Biology of Coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Nowell PC: Phytohemagglutin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res 20:462-466, 1960.

Nüsslin O: Beiträge zur Kenntnis der Coregonus Arten des Bodensees und einiger anderer nahegelegener nordalpiner Seen. Zoollogischer Anzeiger, 1882. Ref Järvi TH, 1928.

Nüsslin O: Die Schweiger Coregonenspecies. Zoollogischer Anzeiger, 1903. Ref. Järvi TH, 1928.

Nygren A, Leijon U, Nilsson, Jahnke M: Cytologigal studies in Coregonus from Sweden. Ann Acad Regiae Sci Ups 15:5-20, 1971b.

Nygren A, Nilsson B, Jahnke M: Cytological studies in Thymallus thymallus and Coregonus albula. Hereditas 67:269-274, 1971a.

Obruchev DV: Fundamentals of Paleontology X I, Agnatha, Pisces. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem 1967.

Odenwall E: On the classification of the various forms of Coregoni s. str. of Northern Europe. Memoranda Soc. Fauna et Flora Fennica 5: 116-125, 1929.

Ohno S, Stenius C, Faisst E, Zenzes MT: Postzygotic chromosomal rearrangements in rainbow trout (Salmo irideus Gibbons). Cytogenetics 4:117-129, 1965.

Ojima Y, Hitotsumachi S and Hayashi M: A blood culture method for fish chromosomes. Japan J Genetics 45:161-162, 1970.

Palva TK: Cytogenetic and mitochondrional DNA analyses of four salmonid fish species. Publications of the University of Kuopio, Natural sciences, Original reports 6, 1986.

Plaxhall PC: Chromosome caryotype of fish. J Fish Biol 22:417-424, 1983.

Plaxhall PC: Fish chromosome technigues - a review of selected litterature. J Fish Biol 7:315-320, 1975.

Plaxhall PC and Daisley KW: Routine methods for use whith fish blood. J Fish Biol 5:771-781, 1973.

Pravdin IF: Est li v vodoemakh evropeiskogo severa sig muksun? Tr. Karel Otd. Gos Nauch-Issled Inst. Ozern. Rechn. Ryb. Khoz. 4:3-9, 1966 Ref. Behnke R, 1972.

Prokofieva A: On the chromosome morfology of certain pisces, cytologia 5:498-506, 1934.

Pruuki V: Siikojen lajikysymys - nimiston ja luokittelun kirjavuutta. Suomen kalastuslehti : 21-24, 1985.

Reshetnikov Yu S. Ekologija i sistematika Sigovyh ryb. Nauka. Moskova 300 s., 1980.

Reshetnikov Yu S: On the variability of whitefishes. Zool Journal 42 (8): 1187-1199, 1963.

Reshetnikov Yu S: Taxonomic status of coregonid fishes. Zoologieskij Zurnal 54: 1656-1671, 1975.

Ruchkyan RG, Arakelyan GL: Karyological bases of hybrid Origin of Sevan whitefish Coregonus lavaretus p. 34-42. In Karyological variability, mutagenesis and gynogenesis of fishes. Inst Cytol Acad Sci USSR, Leningrad, 1980.

Salojärvi K, Auvinen H: A computer program for classifying sympatric whitefish (Coregonus lavaretus L. s.l.) stocks. Finnish Fish Res 2:23-28, 1980.

Shaposnikova G Kh: The history of the spread whitefishes of the Genus Coregonus. In: Zoogeografiya i sistematika ryb. Leningrad, USSR Acad Sci Press, 1976 Ref. Dorofeyeava et al. 1980.

Shaposnikova G Kh: The history of the spread of whitefishes of the polymorphous species Coregonus lavaretus and some reflections on its intraspesific differentiation. In: Osnovy klassifikatsii i filogenii lososevidnykh ryb. Leningrad, published by the Inst of Zoology, USSR Academy of Sciences 1977a, Ref. Dorofeyeva et al. 1980.

Shaposnikova G Kh: On the taxonomy of whitefishes from the USSR, s. 195-207. Teoksessa C C Lindsey and C S Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, Man 1970.

Shaposnikova G Kh: A comaparative description of the inconnu Stenodus leucichthys nelma and the "Caspian inconnu" Stenodus leucichthys leucichthys. Vopr Ikhtiol, 1967 Ref. Dorofeyeva et al., 1980.

Shaposnikova G Kh: Taxonomic relations between some representa-

tives of the family Salmonidae. Zoologiceskij Zurnal 54(4): 575-582, 1975.

Simon RC: Fixation and fat extraction before staining and squashing, for chromosomes of fish embryos. Stain technology 39:45-47, 1964.

Smitt FA: Kritisk förteckning över de i riksmuseum befindtliga Salmonider. Svenska Vetenskaps-Akad. Handl. Bd. 21 Nr 8, 1886. Ref. Järvi TH, 1928.

Steinmann P: Monographie der schweizerischen Koregon. Beitrag zum problem der Entstehung neuen Arten. Schweiz Z Hydrol 13:54-155, 1951 Ref. Behnke R, 1972.

Summer AT: A simple technique for demostrating centromeric heterochromatin. Exp Cell Res 75:305-306, 1972.

Suomalainen E: On polyploidy in animals. Proc Finnish Ac Sci and Lett, 1958.

Svärdson G: Chromosome studies on Salmonidae. Rep Inst Fresw Res Drottningholm 23, 1945. Ref. Karbe L 1964.

Svärdson G: The coregonid problem VI. The palearctic species and their integrades. Rep Inst Freshw Res Drottningholm 38:267-356, 1957.

Svärdson G: Signifiance of introgression in coregonid evolution s. 33-59. Teoksessa Biology of Coregonid Fishes. C C Lindsey and C S Woods. Univ Manitoba Press, Winnipeg, 1970.

Svärdson G: Speciation of Scandinavian coregonus. Rep. Inst. Freswater Res. Drottingholm 57, 1979.

Thienemann A: Untersuchungen an Coregonen. Zeitschrift f. Fisc-

herei. N F Bd 1. S. 168-196, 1915. Ref. Järvi TH, 1928.

Thienemann A: Weitere Untersuchungen an Coregonen. Archiv f. Hydrobiologie Bd. XIII. S. 415-471, 1922. Ref. Järvi TH, 1928

Thienemann A: Untersuchungen an Coregonen. Zeitschrift fishherei. N F Bd 1: 168-196, 1915. Ref. Järvi TH, 1928.

Thorgaard GH: Robertsonian polymorphism and constitutive heterchromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (Salmo gairdneri). Cytogenet Cell Genet 17:174-184, 1976.

Ueda T ja Ojima Y: Sex chromosomes in the rainbow trout Salmo gairdneri. Bull Jap Soc Sci Fish 50:1499-1504, 1984.

Varjo M: Kalanimiluettelo. Luonnontutkija 85 (lisänide): 1-60, 1981

Viktorovsky RM: Chromosome sets of Coregonus peled and C. lavaretus baunti. Tsitologiya 6:636-638, 1964.

Viktorovsky RM, Ermolenko: The chromosomal complexes of Coregonus nasus and coregonus lavaretus and the problem of Coregonus karyotype divergence. Tsitologiya 24(7):797-801,1982.

Viktorovsky RM, Maximova TG: Chromosomal complex of the Ussuri whitefish and some aspects of the evolution of whitefish karyotypes Tsitologiya 20(8): 967-970, 1978.

Vladykov VD: Pearl tubercles and certain cranical peculiarities useful in the taxonomy of Coregonid genera, s. 167-193. C C Lindsey and K S Woods. Biology of coregonid fishes. Univ Manitoba Press, Winnipeg, Man, 1970.

Vuorinen J and Piironen J: Inheritance and joint segregation of biochemical loci in European whitefish, genus Coregonus. Heredi-

tas 101:97-102, 1984.

Vuorinen J, Himberg M K-J, Lankinen P: Genetic differentation in Coregonus albula (L.) (Salmonidae) populations in Finland. Hereditas 94:113-121, 1981.

Wagler E: Die Coregonen in den Seen des Voralpengebiets. IX. Die Systematik der Voralpencoregonen. Int Rev Hydrobiol 35:345-446, 1937.

Wagler E: Die Coregonen in den Seen des Voralpengebietes. XI. Herkunft und Einwanderung der Voralpencoregonen. Veroeff. Zool Staatssamlung (Munich) 1:3-62, 1950. Ref. Behnke R, 1972.

Widegren H: Bidrag till kännedom of Sveriges salmonider översigt of Vetenskaps - Akad. Förhandl. År 1863. Ref. Järvi TH, 1928.

Wolf K and Quimby MC: Fish cell and tissue culture. In: Hoar WS and Randall DJ (ed.): Fish Physiology, Vol 3, Academic Press, New York, 1969.

Zenzes MT and Voiculescu I: C-banding patterns in Salmo trutta, a species of tetraploid origin. Genetica 45:531-536, 1975.

Liite 1.

Siikamateriaalin taustatiedot: kuvaus mäytekaloista ja näytteenotosta näytteenottokerroittain sekä taulukko kalakohtaisista mittauksista ja määrityksistä.

1. Kalliojärvi, Kuhmo XII/1986

Näytekalat pyydettiin verkolla ja osaa kaloista sumputettiin. Kalat kuljetettiin happipakkauksissa Kuopion yliopistolle, missä otettiin verinäyte. Verinäytteen ja pyyntihetken välinen aika oli joillakin kaloilla useita vuorokausia. Kalat ovat luonnopopulaatiosta peräisin ja edustavat lähinnä Oulujoen sotkamonpuoleisen vesistöreitin latvaosilla esiintyviä tiheäsiivilähampaisia siikoja, jotka Svärdsonin (1979) luokituksen mukaan kuuluisivat lähinnä ryhmään Coregonus pallasi (Valenciennes).

2. Lentuankoski, Kuhmo 15.7.1984

Näytteet pyydettiin perholla Lentuankosken välisuvannosta. Verinäytteenottotapahtuman ja pyyntihetken välinen aika oli 4-6 minuuttia. Viljely aloitettiin Kuopiossa vajaan vuorokauden kuluttua. Kalat ovat luonnonvaraisia tai istutettuja. Siivilähampaiden lukumäärä on alhaisempi kuin vesistöreitin latvoilla, mutta kuitenkin useimpia näytekaloista voidaan pitää tyypiltään tiheäsiivilähampaisina. Lentuankoski kuuluu Oulujoen Sotkamon puoleiseen vesitöreittiin. Alueen siikoja on kuvannut aikaisemmin Salojärvi ja Auvinen (1980).

3. Lentuankoski, Kuhmo 5.8.1984

Näytteenotto oli samanlainen kuin edellä. Yhden näytekalan siivilähampaiden lukumäärä jäi laskematta. Neljästä näytekalasta yksi poikkesi selvästi siivilähampaiden perusteella samasta

paikasta aiemmin saaduista kaloista ja se on siivilähampaiden perusteella lähinnä harva- ja tiheäsiivilähampaisten välimuototyyppiä. Viljely aloitettiin vajaan vuorokauden kuluttua näytteenotosta.

4. Kianta, Akonlahti 12.8.1984

Näytekalat pyydettiin verkolla. Verinäyte otettiin 10 min-2 h verkkoon joutumisen jälkeen heti kun kala oli päästetty irti verkosta. Viljely aloitettiin puolen vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Kiannan Akonlahden siiat olivat luonnovaraisia tai istutettuja. Kianta kuuluu Oulujoen Hyrynsalmen puoleiseen vesistöreittiin. Alueen siikoja on kuvannut aikaisemmin mm. Juntunen M. (1981).

5. Kalliojärven suvanto, Kuhmo 3.9.1984

Näytekalat pyydettiin verkolla ja verinäyte otettiin heti verkosta irroittamisen jälkeen n. 10-25 minuuttia kalan tarttumisesta pyydykseen. Kalat kuuluivat Oulujoen Sotkamon puoleisen vesistöreitin latvaosissa esiintyvään tiheäsiivilähampaisiin siikoihin ja olivat todennäköisesti luonnonvaraisia. Viljely aloitettiin noin vuorokauden kuluttua.

6. Kalliojärvi, Kuhmo 16.9.1984

Näytekalat pyydettiin verkolla ja verinäyte otettiin heti verkosta irroittamisen jälkeen n. 10 min - 2 h senjälkeen kun kalat olivat tarttuneet verkkoon. Viljely aloitettiin n. 1/2-1 vuorokautta näytteenoton jälkeen. Siikojen tausta vrt. muut Kalliojärven siiat.

7. Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitos, Taivalkoski 3.10.1984

Näytekalat otettiin neljästä emokalaparvesta. Verinäytteenotto tapahtui altaiden reunalla 1-3 minuttia sen jälkeen kun kalat oli haavittu altaasta. Viljely aloitettiin Kuopiossa noin vuorokauden kuluttua näytteenotosta.

Ivalojoen pohjasiiat (harvasiivilähampainen siikamuoto) ovat peräisin emokalaparvesta PoS 1/78-79 (allas D 9), josta otettiin yhteensä 20 näytekalaa. Emokalaparvi on muodostettu Ivalojoen mädinhankintapyynnissä 5.-12.10.1978 ja 5.-11.10.1979 lypsetystä mädistä haudotuista ja Harrijärven luonnonravintolammikossa jatkokasvatetuista 1- ja 2-kesäisistä poikasista. Harrijärven luonnonravintolammikoista poikasia siirrettiin Sarmijärven kalanviljelylaitokseeen, mistä osa edelleen 15.6.1983 Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitokseen. Svärdsonin 1979 luokituksen mukaan Inarin pohjasiiat kuuluisivat C. Pidschian-ryhmään ja tarkemmin lajiin C. fera (Jurine).

Oivangin pohjasiikaa (harvasiivilähampainen siikamuoto) sisältävä emokalaparvi, PoS 1/75 (allas V 3), on peräisin Kuusamon Oivankijärven Kylmäperästä syksyllä 1975 suoritetusta mädinhankinnasta. Mädista kuoriutuneet poikaset siirretään Käylän kalanviljelylaitoksessa suoritetun haudonnan jälkeen Jäkälälammin luonnonravintolammikkoon, mistä ne edelleen siirrettiin Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitokselle emokalakasvatukseen. Siikojen taksonominen luokittelu vrt. Inarin pohjasiika.

Peled-siika (Coregonus peled (Gmelin)) tuotiin Suomeen Neuvostoliitosta v. 1965. Mädistä kuoriutuneita poikasia istutettiin Valkeisen lampeen (emokalajärvi), mistä saatiin mätiä jo v. 1967. Peuralampeen ja Hanhilampeen siirretyistä poikasista nuotattiin laitokselle emokalasto, josta lypsettiin 3.11.-10.12.1976 mätiä yhteensä 63 litraa. Tästä mätierästä ja Valkeisen lammesta 5.11.-15.12.1976 hankitusta mätierästä (25,4 l) kuoriutuneita poikasia annettiin kasvatussopimuksella 910 000 poikasta Jyrävän Siika Oy:lle Maunujärveen. Emokalasto PeS 1/76 (josta näytekalat ovat peräisin) on perustettu Maunujärvestä

palautteena Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitokselle tuoduista poikasista. Kalat oli näytteenottohetkellä altaasta LB 1.

Nivanvirran planktonsiika (PlS 1/76) on kasvatettu mädistä joka on lypsetty Kuhomn Nivanvirrasta pyydystetystä plaktonsiioista. Vastakuoriutuneet poikaset vietiin Pahalammen luonnonravintolammikkoon jatkokasvatettavaksi, mistä ne siirrettiin 2-kesäisinä Pohjois-Suomen keskuskalanviljelylaitokselle emokalakasvatukseen. Näytekalat otettiin altaaasta G 8. Siikoja on kuvannut Salojärvi ja Auvinen (1980). Svärdonin (1979) luokituksen mukaan siiat kuuluisivat lajiin Coregonus pallasi (Valenciennes).

8. Oulujokisuu, Oulu 11.10.1984 ja 2.11.1984

Näytekalat kuuluivat siivilähampaiden lukumäärän perusteella Oulujokisuulle kudulle nousevaan vaellussiikapopulaatioon Coregonus lavaretus (L.). Alueen kaloja on kuvannut mm. Lind ja Kaukoranta 1974. Kalat oli pyydystetty lippoamalla ja niitä säilytettiin sumpuissa. Verinäytteet otettiin paikan päällä sumputetuista kaloista välittömästi sumpusta nostamisen jälkeen. Pyyntiajankohdan ja verinäytteenoton välinen aika ts. sumputusaika vaihteli näytekaloilla 12 tunnista useisiin vuorokausiin.

RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS,
KALANTUTKIMUSOSASTO

MONISTETTUJA JULKAISUJA

No 45. LOUHIMO, J. ja HONKASALO, L.: Taimenkanta ja taimenen ympäristövaatimukset Evon Luutajoessa. 1—74.

JUTILA, E.: Vaikkojoen kunnostussuunnitelmaa koskeva tarkastus- ja selvitystyö. 75—96.

JUTILA, E.: Selvitys Vieksinjoen vesistön uittolaitteiden ja -rakenteiden kalataloudelle aiheuttamista haitoista sekä niiden poistamiseksi tarvittavista toimenpiteistä. 97—112.

JUTILA, E.: Hossanjoen uittoperkauksien aiheuttamat kalataloudelliset vahingot sekä niiden poistamiseksi tarvittavat toimenpiteet. Hossanjoen uittosäännön kumoamiseen liittyvä kalataloudellinen selvitys. 113—126. Helsinki 1986.

No 46. Nahkiainen-nejonögon -symposiumin, 17.—18.10.1979 Kalajoki. Toim. T. Järvenpää ja K. Westman. Helsinki 1986. 107 s.

No 47. LEHTONEN, H., BÖHLING, P. och HUDD, R.: Siken och sikfisket i Kvarkenområdet. Helsinki 1986. 76 s.

No 48. Suunnitelma Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston toiminnaksi vuodelle 1986. Helsinki 1986. 178 s.

No 49. ERONEN, T., HANSKI, A., HYYTINEN, L. ja KAIJOMAA, V-M.: Vuoksen vesistöalueen lohi- ja taimenkantojen hoidon puiteohjelma. Helsinki 1986. 117 s.

No 50. TUUNAINEN, P., VUORINEN, P., RASK, M., JÄRVENPÄÄ, T. ja VUORINEN, M.: Happaman laskeuman vaikutukset kaloihin. Raportti vuodelta 1985. English summary: Effects of acidic deposition on fish, Report 1985. 1—39.

TIKKA, J. ja PAASIVIRTA, L.: Ahvenen populaatiorakenne, kasvu ja tuotanto kahdessa eteläsuomalaisessa metsäjärvessä. 40—63. Helsinki 1986.

No 51. Valtion kalanviljelyn VII neuvottelupäivät 12.—14.4. 1983 Punkaharjulla. Toim. A. Vihervuori. Helsinki 1986. 119 s.

No 52. NIKINMAA, B.: Inverkan av ljus och insekttilskott till födan på tillväxten hos laxyngel Salmo salar. Helsinki 1986. 79 s.

No 53. Papers presented at ICES Statutory Meetings in 1984—86 by Finnish participants. Helsinki 1986. 260 pp.

No 54. JÄRVENPÄÄ, T.: Veden vähähappisuuden ja happamuuden vaikutukset ravun hemolymfaan. Helsinki 1986. 64 s.

No 55. NYLUND, V.: Ravun loisen, Psorospermium haeckeli Hilgendorf rakenne, haittavaikutukset ja taksonominen asema. Helsinki 1986. 60 s.

No 56. KETTUNEN, J. ja HILDÉN, M.: Populaatioanalyysi ja sen herkkyys parametrien muutoksille. Helsinki 1986. 50 s.

No 57. IKONEN, E., JUTILA, E., KOLJONEN, M-L., PRUUKI, V. ja ROMAKKANIEMI, A.: Tornionjoen vesistön meritaimenkantojen tila, geneettiset erot ja viljelytarpeet. Helsinki 1986. 103 s.

No 58. SALOJÄRVI, K. ja HUUSKO, A.: Sotkamon reitin velvoitehoidon tulokset v. 1981—1985, tuloksiin vaikuttavat tekijät ja suositukset hoidon kehittämiseksi. Helsinki 1987. 311 s.

No 59. HEINONEN, M.: Suur-Saimaan siikojen taksonomia ja geneettinen muuntelu. Helsinki 1987. 88 s.

No 60. PENNANEN, J.T.: Kokemäenjoen vesistön toutaimen hoito- ja suojeluohjelma. Helsinki 1987. 56 s.

No 61. Suunnitelma Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston toiminnaksi vuodelle 1987. Helsinki 1987. 184 s.

No 62. IKONEN, E., AHLFORS, P., MIKKOLA, J. ja SAURA, A.: Meritaimenen ja lohen elvyttäminen Vantaanjoen vesistössä. Helsinki 1987. 106 s.

No 63. WESTMAN, K., SOIVIO, A., AUTTI, M., JUOLA, M., ARO, M., NENONEN, O. ja TUUNAINEN, P.: Kemi- ja Iijoen lohivelvoitteen hoito. Helsinki 1987. 81 s.

SISÄLTÖ

JUNTUNEN, K.: Kromosomimääritys apuna siikojen taksonomisten ongelmien ratkaisemisessa. 77 s.

ISBN 951-9092-93-5
ISSN 0358-4623