

'n Vergelykende studie van die karyotipes van *Tilapia rendalli*, *Tilapia sparrmanii* en *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae)

A. Swanepoel*, E.H.H. Meyer en N.D. Nel
Navorsingsinstituut vir Vee- en Suiwelkunde, Privaat sak X2, Irene 1675

Ontvang 19 Februarie 1991; aanvaar 23 Mei 1992

UITTREKSEL

Chromosoompreparate is van gestimuleerde limfosietkulture verkry deur middel van 'n kombinasie en modifikasie van verskeie metodes. Tilapia rendalli, T. sparrmanii en Oreochromis mossambicus se somatiese chromosoomgetal is onderskeidelik 44, 42 en 44. Chromosoompare L1 en L2 kon maklik in alle karyotipes geïdentifiseer word en is dus kenmerkend van die tilapias. Tilapia sparrmanii het nog 'n groot metasentriese chromosoompaar (L3), wat gepaardgaan met die reduksie van twee in die totale chromosoomgetal. Die F-chromosome is in twee groepe verdeel, naamlik 'n submetasentriese (sm) en 'n telosentriese (t) groep. T. rendalli het 8 sm-chromosome, terwyl T. sparrmanni en O. mossambicus elk 6 chromosome in die sm-groep het. Die res van die F-chromosome was almal telosentries. Met die standaardtegnieke was die identifikasie van die geslagschromosome in die karyotipes van tilapia nog nie moontlik nie.

ABSTRACT

A comparative study of the karyotypes of Tilapia rendalli, T. sparrmanii and Oreochromis mossambicus (Cichlidae)

Optimal chromosome preparations were obtained from stimulated lymphocyte cultures with a new method based on a combination and modification of several techniques. Tilapia rendalli, T. sparrmanii and Oreochromis mossambicus have somatic chromosome numbers of 44, 42 and 44, respectively. Chromosome pairs L1 and L2 are easily identified in all the karyotypes and distinctive of the tilapias. Tilapia sparrmanii has one additional large metacentric chromosome pair (L3), which occurs concurrently with the reduction of two in the total chromosome number. The F chromosomes were divided into two groups, viz a submetacentric (sm) and a telocentric (t) group. T. rendalli has 8 sm chromosomes, while both T. sparrmanii and O. mossambicus have 6 chromosomes in the sm group. The rest of the F chromosomes were telocentric. The identification of the sex chromosomes in the karyotypes of tilapia has thus far not been possible using standard techniques.

INLEIDING

Die tilapias behoort aan die familie Cichlidae wat meer as 700 spesies bevat. Die familie word gekenmerk deur die bilaterale afplatting van die liggaam en die aanwesigheid

van slegs een paar neusgate. Volgens Hickling¹ is die tilapias belangrike teelvis in baie tropiese gebiede waar hulle bydra om die proteïentekort in oorbevolkte gebiede aan te vul.

*Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

Die identifikasie van die verskillende tilapias is moeilik omdat baie isolate, ekotipes, subspecies, verwante spesies en onderlinge hibriede in die groot verspreidingsgebied voorkom.

Onbeheerde reproduksie in teeldamme met 'n beperkte wateroppervlak het 'n oormaat klein, minder ekonomiese vis tot gevolg. Dit kan verhoed word deur net een geslag aan te hou. Mannetjies groei tot 30% vinniger as wyfies en word om dié rede vir so 'n gemanipuleerde eengeslagproduksiestelsel verkies.²

Die geslagsbepalingsmeganisme van die tilapias is tans onbekend. Identifikasie van die geslagschromosome in 'n kariotipe-analise was tot dusver nie moontlik nie. 'n Kennis van die geslagsbepalingsmeganisme kan nuttig wees vir die teling van net manlike tilapias. Dit sal dan moontlik wees om geneties manlike (fenotopies vroulik) of geneties vroulike (fenotopies manlik) visse te selekteer deur van sitogenetiese identifikasie gebruik te maak.³

Die doel van hierdie studie was dus om 'n kariotipiese ondersoek van drie inheemse tilapias te onderneem, veral ten opsigte van morfologies onderskeibare eienskappe en chromosoomverwantskappe wat mag voorkom. Die chromosoomgetal is bepaal en daar is gepoog om die geslagschromosome te identifiseer.

MATERIAAL EN METODEDES

Drie tilapias, naamlik *Tilapia rendalli*, *T. sparrmanii* en *Oreochromis mossambicus*, is in hierdie studie ondersoek. Hulle taksonomiese identiteit is gebaseer op Jubb⁴ se beskrywings. Die lengte van die visse wat ondersoek is, was ongeveer 10 cm en hulle was almal geslagsryp.

Chromosoompreparate is met 'n leukosietkultuurtegniek gemaak wat spesifiek vir tilapia ontwikkel is. 'n 0,2 ml gehepariniseerde bloedmonster is asepties van die koudale arterie getrek. Die kwantitatiewe en/of kwalitatiewe vereistes vir optimale kweking van bloedselle is bepaal deur die groeimedium te varieer ten opsigte van die tipe of konsentrasie van glutamien, phytohaemagglutinin, serum en aanvanklike seldigtheid. Kulture is gehalveer en op die 2de en 4de dag met 5%-CO₂ behandel. Na 72 uur se inkubasie is die kulture met 'n mitotiese inhibeerder (Colcemid) behandel, gevolg deur 'n hipotoniese oplossing (0,075%-KCl) en fiksasie in Metanol : Ysasynsuur (3:1). Gefikseerde selle is op voorwerpglasies gedrup, vir 30 minute gedroog en met Giemsa gekleur.⁵

Die chromosoomgetalle is vir elke geslag in ten minste 50 selle tydens metafase bepaal. Selle met goeie metafaseverspreidings is met 'n mikroskoopkamera afgeneem, waarna afdrukke gemaak is. Die individuele chromosome is uitgesny en in homoloë pare volgens afnemende lengte en sentromeerposisie gerangskik. Van elke geslag is 'n fotokariotipe gemaak.

RESULTATE

Chromosoomgetal

Die somatiese chromosoomgetal van die drie spesies is soos volg: *Tilapia rendalli* 44, *T. sparrmanii* 42 en *Oreochromis mossambicus* 44.

Dit is opvallend dat die chromosoomgetal van *T. sparrmanii* afwyk van die ander twee spesies. Dit is veral interessant dat dit van *T. rendalli* wat volgens bestaande

taksonomie tot dieselfde spesie behoort, verskil, maar dit is nie uniek nie, want sulke Robertsonse veranderinge kom in baie diersoorte voor.⁶

Chromosoommorfologie

Die chromosome word morfologies in twee groepe verdeel, naamlik L en F, waar L die langer, maklik uitkenbare chromosome en F die kleiner, fundamentele chromosome van die komplement uitmaak.⁷ In al drie spesies vorm die grootste paar (L1) 'n kenmerkende paar in beide geslagte. Volgens sentromeerposisie is vier verskillende tipes chromosome onderskei, naamlik metasentries (m), subtelosentries (st), submetasentries (sm) en telosentries (t).

Eenduidige afparing van die chromosome of identifikasie van die pare was nie altyd objektief moontlik nie; gevolglik is 'n rekenaargesteunde skanderingsmetodiek ontwikkel.

Geen geslagschromosome kon visueel of met die chromosoomanalise geïdentifiseer word nie.

Tilapia rendalli

Die kariotipe van *T. rendalli* word in figuur 1 gegee. Die somatiese kariotipe kan as volg beskryf word: 4L(2st_2st) + 40F(8sm + 32st en t). 'n Onderskeiding tussen manlike en vroulike kariotipes was nie moontlik nie.



FIGUUR 1: Kariotipe van *Tilapia rendalli*. L = dubbellengte chromosoompare, F = fundamentele chromosoompare, st = subtelosentries, sm = submetasentries, t = telosentries.

Die L-chromosome kon in al die kariotipes maklik afgepaar word. Dit was opvallend dat daar in die L1-paar in al twee geslagte altyd 'n duidelike lengteverskil tussen die twee chromosome was. Hierdie paar was gemiddeld 3,28 keer langer as die gemiddelde lengte van die F-chromosome. Die tweede langste paar, L2, was gemiddeld 1,88 keer langer as die gemiddelde lengte van die F-chromosome.

Die verskil in lengte en armverhouding tussen die F-chromosome was klein en afnemend. Die onderskeid tussen die sm- en st-chromosome (onderskeidelik 8 en 32 in elke groep) was in die meeste kariotipes moontlik, maar in saamgetrekte metafases was 'n effense variasie waarneembaar in die getal chromosome wat in elke groep ingedeel is.

Tilapia sparrmanii

Figuur 2 toon die kariotipe van *T. sparrmanii*. Geen verskille is tussen manlike en vroulike kariotipes waargeneem nie. Hierdie kariotipe kan as volg beskryf word : 6L(2st + 2st + 2m) + 36F(6sm + 30st en t).

Die drie pare L-chromosome kan maklik uitgeken word. Die L3-chromosoompaar is metasentriese en afwesig in die ander twee spesies. Die langste paar, L1 is 2,96 keer langer as die gemiddeld van die F-chromosome, terwyl die L2-paar 1,97 keer langer is. Die groot metasentriese paar, L3, is 2,28 keer langer as die gemiddelde F-chromosome. Van die F-

chromosome toon soms ook kortarms, maar dit is nie konstant waarneembaar in al die preparate nie.

Oreochromis mossambicus

Die kariotipe van *O. mossambicus* word in figuur 3 gegee. Die kariotipes van beide geslagte kom weereens ooreen. Die kariotipebeskrywing is as volg : 4L(2st + 2st) + 40F(6sm + 34st en t).

Hierdie spesie se chromosoomgetal stem ooreen met dié van *T. rendalli*, behalwe dat slegs ses submetasentriese F-chromosome in plaas van agt identifiseerbaar is, maar in dié opsig stem dit ooreen met die aantal submetasentriese F-chromosome van *T. sparrmanii*. Die L1-chromosoompaar is 3,09 keer langer as die gemiddeld van die F-chromosome, terwyl die L2-paar 1,77 keer langer is. Sommige van die chromosome het klein kortarms getoon, maar dit was nie in alle kariotipes waarneembaar nie.

BESPREKING

Daar bestaan groot leemtes in die kariotipiese ondersoeke van tilapias. Die tilapias is onlangs in drie verskillende genera geklassifiseer.⁷ *Oreochromis mossambicus* (in plaas van *Tilapia mossambica*⁸ of *Sarotherodon mossambica*⁹) is nou die gebruikelike naam vir een van die spesies wat



FIGUUR 2: Kariotipe van *Tilapia sparrmanii*. L = dubbellektrige chromosoompare, F = fundamentele chromosoompare, st = subtelosentriese, sm = submetasentriese, t = telosentriese.



FIGUUR 3: Kariotipe van *Oreochromis mossambicus*. L = dubbellektrige chromosoompare, F = fundamentele chromosoompare, st = subtelosentriese, sm = submetasentriese, t = telosentriese.

ondersoek is. Dit skep verwarring aangesien die karotipevergelykings onder verskillende spesiesname in die literatuur voorkom.

Die chromosoomgetalle verkry vir *T. rendalli* ($2n = 44$), *T. sparrmanii* ($2n = 42$) en *O. mossambicus* ($2n = 44$) stem ooreen met die bevindings in die literatuur.^{8,9,10,11}

Dit is opvallend dat die gepubliseerde kariotipes nie altyd 'n duidelike chromosoommorfologie toon nie. Baie van die outeurs verskil dan ook van mekaar betreffende die morfologie. Vervoort¹¹ maak gebruik van relatiewe chromosoomlengtes en sentromeerposisie as kriteria vir chromosoomrangskikking. Die komplement word opgedeel in L- en F-chromosome, waar L groot, dubbellengte chromosome voorstel en F die kleiner, fundamentele chromosome. Hierdie rangskikking is ook met groot sukses in die huidige studie toegepas.

Oreochromis mossambicus

Natarajan en Subrahmanyam¹² het bevind dat die kariotipe van *T. mossambica* (*O. mossambicus* van hierdie studie) met $2n = 44$ meestal uit metasentriese chromosome bestaan. In dieselfde studie beskryf hulle die twee baie groot chromosome met subterminale sentromere en die res almal met klein mediane sentromere. Die mitotiese metafases van die huidige ondersoek wys egter duidelik dat die meeste chromosome subtelosentries is. Fukuoka & Muramoto¹³ ondersoek ook *T. mossambica* (= *O. mossambicus*) ($2n = 44$) en gee die kariotipebeskrywing as volg aan: 18 st + 26 t; FN = 62. Hulle onderskei reeds die L1- en L2-chromosoompare. Minrong & Hongxi⁸ beskryf *T. mossambica* (= *O. mossambicus*) ($n = 22$) se kariotipe as 1t-chromosoompaar, 4 sm- en 17 st-chromosoompare. Twee minder sm-chromosome is in die huidige studie gevind, wat weer ooreenstem met Thompson⁹ se bevindinge vir *Sarotherodon mossambica* (= *O. mossambicus*). 'n Moontlike verklaring vir hierdie waargenome verskille sal later in die bespreking gegee word.

Tilapia rendalli

Die literatuurbevinding ten opsigte van *T. rendalli* het grootliks ooreengestem. Michele en Takahashi¹⁰ het *T. rendalli* ($2n = 44$) ondersoek en gevind dat al die chromosome ongeveer dieselfde lengte het, behalwe die eerste paar wat ongeveer drie keer langer as die ander is. In die huidige studie is ook gevind dat die eerste chromosoompaar drie keer (3,28) langer as die res van die chromosome is. Volgens Michele en Takahashi¹⁰ is die res van die chromosoomkomplement akrosentries, behalwe pare 3, 10, 11 en 18, wat submetasentries is. In die huidige studie is ook 4 pare submetasentriese chromosome in die kariotipes waargeneem. Net soos Michele en Takahashi,¹⁰ kon die tweede langste paar ook in die huidige studie maklik in al die kariotipes uitgeken word. Geen vergelykende kariotipebeskrywing kon egter in die literatuur gevind word nie.

Tilapia sparrmanii

Die kariotipebeskrywing van Vervoort⁷ vir *T. sparrmanii* is as volg: $2n = 42$; 6L (4st + 2m) + 36F (6m en sm + 30st en t). Dit vergelyk goed met die huidige beskrywing. Vervoort⁷ se L1-paar is 2,3 tot 2,8 keer langer as die gemiddelde lengtes van die F-chromosome. Die huidige ondersoek dui op 'n

lengte van 2,96 keer die lengte van die F-chromosome.

Vervoort se tweede grootste paar, L2, was 1,5 tot 1,8 keer die lengte van die F-chromosome, teenoor die waarde van 1,97 wat in die huidige ondersoek verkry is. Hierdie lengteverskille is klein as in aanmerking geneem word dat daar met relatiewe lengtes gewerk is. Vervoort⁷ vind ook dat klein variasies in die getal chromosome in elke groep voorkom, maar skryf dit toe aan variasie in armverhoudings tussen preparate, of metingsfoute van die chromosome wat naby die grenslyn tussen sm en st lê.

Die groot metasentriese chromosoompaar wat by *T. sparrmanii* voorkom, is moontlik die gevolg van 'n Robertsonse translokasie wat tussen twee nie-homoloë chromosome plaasgevind het om die groot metasentriese chromosoom te vorm.¹⁴ Dit kon ook as gevolg van 'n sentriese fusie ontstaan het; addisionele vergelykende data oor sentromeeromvang en funksie mag verdere uitsluitel hieroor gee.

Algemene vergelyking

Benewens die verskille en ooreenkomste wat die huidige ondersoek se kariotipebeskrywings met dié van ander outeurs getoon het, verskil die fundamentele getal (FN) van die bestudeerde tilapias van dié wat in die literatuur beskryf word. Volgens Michele en Takahashi¹⁰ is *Tilapia rendalli* se FN 52; dit stem ooreen met die syfer wat in huidige studie verkry is. *Oreochromis mossambicus* (= *T. mossambica*) se FN = 62 volgens Fukuoka en Muramoto¹³, maar die huidige ondersoek toon FN = 50. 'n Moontlike verklaring vir hierdie verskil is dat die kortarms van sommige st-chromosome verskillend geïnterpreteer is. Verskeie outeurs beskou die m- en sm-chromosome as twee-armchromosome en die st- en t-chromosome as eenarmchromosome. Soms kan die getal chromosoomarms nie objektief bepaal word nie, aangesien daar geen duidelike skeidslyn tussen chromosome met en sonder sigbare kortarms is nie. Die FN-waarde vir *T. sparrmanii* van 50⁷ stem ooreen met dit wat in die huidige studie verkry is.

Die L1- en L2-pare kom in al drie die spesies wat ondersoek is voor, en kan beskou word as karakteristiek van die tilapias. L1 is gemiddeld 3,1 keer langer en L2 gemiddeld 1,8 keer langer as die gemiddelde F-chromosome. 'n Dubbellengte st-chromosoom kan uit twee F-chromosome ontstaan – of direk deur tandemfusie met verlies van 'n sentromeer, of meer waarskynlik deur sentriese fusie gevolg deur 'n perisentriese inversie. Dubbellengte t-chromosome is skaars in die meeste diergroepe.¹⁵ L1 en L2 het moontlik uit die kleiner tilapia-chromosome evolueer, en die variasie van L1 kan as sekondêr beskou word. L2 lyk baie eenders in al die spesies wat bestudeer is.⁷

Vervoort⁷ stel voor dat die modale tilapiakariotipe se chromosoomgetal $2n = 44$ is met 4L (st) en 40F (meestal st- en t-) chromosome. Hierdie chromosome kon van 'n komplement met $2n = 48$, wat hoofsaaklik uit st- en t-chromosome bestaan, afkomstig wees, soos die volgende bevindings toon: Die meeste lede van die suborde Percoidei wat tot dusver gekariotipeer is, het $2n = 48$ met hoofsaaklik st- en t-chromosome. 'n Kariotipiese studie van 9 spesies wat aan 7 genera van die Cichlidae behoort, dui op 'n somatiese komplement van 48 chromosome in hierdie familie, en dit is moontlik dat die voorouer van die Cichlidae ook 48

chromosome besit het. Die afname van die chromosoomgetal na $2n = 44$, wat karakteristiek van die tilapias is, is moontlik die gevolg van die vorming van die twee groot akrosentriese pare (L1 en L2). As aangeneem word dat $2n = 44$ die "primitiewe" chromosoomgetal van tilapia is, is die 42 chromosome van *T. sparrmanii* en die 40 chromosome van *T. mariae* moontlik die gevolg van verdere Robertsonse chromosoomfusie.⁷ Kariotipe-evolusie binne hierdie genus moet egter met meer ondersoek gestaaf word.

Thompson⁹ vind in sy ondersoek dat die tilapias wat aan die genus *Sarotherodon* (= *Oreochromis*) behoort chromosoomgetalle van 44 het, byvoorbeeld, *S. mossambica* (= *O. mossambicus*) het $2n = 44$ en *S. aureus* (= *O. aureus*) $2n = 44$, terwyl ander tilapias minder as 44 chromosome het, byvoorbeeld *Tilapia sparrmanii* met $2n = 42$ en *T. mariae* met $2n = 40$. Al vier die spesies het twee paar st-chromosome, wat baie lank is in vergelyking met die res van die chromosoomkomplement. Hierdie chromosome is kenmerkend van die meeste tilapia spesies [*Tilapia*, *Sarotherodon* (= *Oreochromis*)] waarvan die chromosoommorfologie bekend is.⁹ Verder word beweer dat die kariotipes van sowel *T. sparrmanii* as *T. mariae* vier metasentriese chromosome het wat hulle onderskei van *Sarotherodon* (= *Oreochromis*).

In teenstelling met hierdie bevindings het die huidige studie duidelik getoon dat daar wel submetasentriese tot metasentriese chromosome by *Oreochromis mossambicus* (= *T. mossambica*) voorkom. Die genera *Tilapia* en *Sarotherodon* (= *Oreochromis*) kan dus nie op grond van die voorkoms van submetasentriese tot metasentriese chromosome van mekaar onderskei word nie.

Sanchez, Alcocer en Espinosa¹⁶ se sitologiese studie op sommige hibriedpopulasies van tilapias in Mexiko, toon 'n eenvormige kariotipe met 44 chromosome (6sm + 4st + 34t). Hierdie kariotipe bly kenmerkend van alle tilapias te wees, asook vir hulle hibriede.

Die L1-(st) en L2-(st) pare is kenmerkend van al die kariotipes. Daar is submetasentriese tot metasentriese chromosome in die res van die komplement teenwoordig, maar dit blyk dat die getal van spesie tot spesie verskil. Die meeste F-chromosome is st en t. Daar is geen uitkenbare geslagschromosome gevind nie. Die manlike en vroulike geslag kon dus nie in enige van die kariotipes onderskei word op die basis van chromosoomstruktuur nie, behalwe in die geval van *T. sparrmanii*, waar 'n moontlike onderskeid in die aantal kortarms kan bestaan.

GEVOLGTREKKING

Uit die literatuurstudie en die huidige ondersoek kan afgelei word dat die kariotipe van tilapias meestal uit 44 chromosome bestaan en dat die ander getalle slegs by uitsondering

voorkom, maar strukturele polimorfisme kom ook by die tilapias voor. Die *T. sparrmanii*-visse wat ondersoek is se chromosoomgetal het afgewyk van $2n = 44$; dit was $2n = 42$. In teenstelling met die Salmonidae, waar chromosoompolimorfisme tussen en binne individue van populasies¹⁷ voorkom, is die chromosoomkomplement van die tilapias dus betreklik stabiel. Chromosoompolimorfisme kom ook by die Gobiidae-groep voor, soos gevind deur Thode, Giles en Alvarez.¹⁸ Die polimorfisme wat by genoemde families gevind is, is waarskynlik toe te skryf aan hulle tetraploïede voorouers.

LITERATUURVERWYSINGS

- Hickling, C.F. (1973). The cultivation of *Tilapia*, *Sci. Am.*, 208, 143 – 152.
- Avtalion, R.R. (1982). In: *The biology and culture of tilapias*. Pullin, R.S.V. & Lowe-McConnel, R.H. eds. (International Centre for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines), Iclarm Conference Proceedings, p. 269 – 277.
- Nijjar, B., Nateg, C.K. & Amedjo, S.D. (1985). Chromosome studies on *Sarotherodon niloticus*, *S. multifasciatus* and *T. busumana* (Cichlidae, Pisces), *Project Report, University of Science and Technology, Kumasi, Ghana*, 256 – 260.
- Jubb, R.A. (1967). *Freshwater fishes of Southern Africa* (A. Balkema, Cape Town).
- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M. & Hungerford, D.A. (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood, *Exp. Cell Res.*, 20, 613 – 616.
- Brown, W.V. (1972). *Textbook of cytogenetics* (T.V. Mosby, St. Louis).
- Vervoort, A. (1980). The karyotypes of seven species of *Tilapia* (Teleostei: Cichlidae), *Cytologia*, 45, 651 – 656.
- Minrong, C. & Hongxi, C. (1983). A comparative study of karyotypes in 3 *Tilapia* species. *Acta Genetica Sinica*, 10, 56 – 62.
- Thompson, K.W. (1981). Karyotypes of six species of African Cichlidae (Pisces: Perciformes), *Experientia*, 37, 351 – 352.
- Michele, J.L. & Takahashi, C.S. (1977). Comparative cytology of *Tilapia rendalli* and *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Pisces), *Cytologia*, 42, 535 – 537.
- Krishnaja, A.P. & Rege, M.S., (1980). Some observations on the chromosomes of certain teleosts using a simple method, *Indian J. Exp. Biol.*, 18, 268 – 270.
- Natarajan, R. & Subrahmanyam, K. (1968). A preliminary study on the chromosomes of *Tilapia mossambica* (Peters), *Curr. Sci.*, 37, 262 – 263.
- Fukuoka, H. & Muramoto, J. (1975). Somatic and meiotic chromosomes of *Tilapia mossambica*, *Int. Chromosome Serv.*, 18, 4 – 6.
- Denton, T.E. (1973). *Fish chromosome methodology*. (Charles C. Thomas).
- White, M.J.D., (1973). *The Chromosomes*. (Chapman and Hall, London).
- Sanchez, I.C., Alcocer, M.U. & Espinosa, J.A. (1983). Estudios cromosómico de poblaciones del género *Tilapia* Smith (Pisces, Cichlidae), provenientes de tres regiones de México, *Veterinaria Méx.*, 14, 137 – 144.
- Schniedewind, H. & Michelmann, H.W. (1982). Karyotype studies in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Proceedings 5th European colloquium on Cytogenetics of domestic animals*, Milano – Gargnano Italy, 7 – 11 June.
- Thode, G., Giles, V. & Alvarez, M.C., (1985). Multiple chromosome polymorphism in *Gobius paganellus* (Teleostei, Perciformes), *Heredity* 54, 3 – 7.