

Jarmo Koskiniemi  
Maataloustieteiden laitos  
Kotieläintiede  
Helsingin yliopisto  
0504151624  
[jarmo.koskiniemi@helsinki.fi](mailto:jarmo.koskiniemi@helsinki.fi)

31.3.2015

## Raumanjoen ja Eurajoen taimenten geneettinen analyysi

### Näytteet

Jussi Aaltonen toimitti syksyllä 2014 Helsingin yliopiston maataloustieteiden laitoksen ja Luke:n genotyypityslaboratorioon 48 taimennäytettä Raumajoelta ja 8 näytettä Eurajoesta (Taulukot 1 ja 2). Raumajoelta on aikaisemmin tutkittu 37 taimenta.

Tarkoituksena oli selvittää taimenkantojen geneettistä rakennetta, kuten muuntelun määrää, erilaistumista ja alkuperää.

Raumajoen näytteiden analyysin tilaajana oli Rauman kaupunki (Juha Hyvärinen) ja Eurajoen näytteiden tilaajana Varsinais-Suomen ELY-keskus (Leena Rannikko).

### Laboratorioanalyysit, vertailunäytteet ja tilastolliset menetelmät

Näytteet analysoitiin samalla tavoin kuin laboratoriossa on aikaisemminkin analysoitu taimennäytteitä:

- DNA eristettiin tehtiin Qiagen Blood&Tissue kitillä (linkki:[Qiagen](#)). DNA:ta saatiin 400 mikrolitraa (konsentraatio n. 50-100 ng/mikrolitra). Analyysissä käytettiin n. 10 mikrolitraa DNA:ta ja loput säilöttiin laboratorion DNA-varastoon. Eristyksestä jäljelle jääneitä eväpaloja säilytetään laboratorion varastossa, mutta näytteet hävitetään, kun säilytystila tarvitaan uudemmille näytteille.
- PCR tehtiin Qiagen Type-it pcr-kitillä (linkki:[Qiagen](#)).
- PCR-reaktiot analysoitiin Abi 3130 -kapillaarielektroforeesilaitteella (linkki:[Abi](#)). Genotyypitys tehtiin analysoimalla elektroforeesilaitteen raakadata GeneMapper5 -ohjelmistolla (linkki:[Genemapper](#)).
- Genotyyppi koostui 16 mikrosatelliittilokuksesta: BS131, OneU9, SSa197, SSa289, SSa407, SSa85, SSos1311, SSos1417, SSos1438, SSsp1605, SSsp2201, Str15INRA, Str60INRA, Str73INRA, Str85INRA ja Strutta58.

Vertailuaineistoksi otettiin aikaisemmin tutkitut näytteet:

- Raumajoen taimenet vuosilta 2007 (5 kalaa), 2008 (13 kalaa) ja 2009 (19 kalaa). Tässä selvityksessä käytettiin aiemmista poiketen täyttä 16 lokuksen genotyyppidataa. Aiemmin tarkastelu rajattiin vertailunäytteiden takia 10 lokukseen.

Tästä johtuen tulokset voivat hieman poiketa aiemmista. 16 lokuksen käyttö lisää analyysien tilastollista luotettavuutta.

- Rautalamminreitti, 50 kalaa, RKTL:n viljelykanta.
- Isojoki, 50 kalaa, yhdistelmä RKTL:n viljelykanta ja villikalaja eri vuosilta.
- Karvianjoki, 50 kalaa, villikalaja Paholuomasta, Pukanluomasta ja Honkajoelta vuosilta 2007 ja 2009
- Pinkjärvenoja, 28 villikalaa vuodelta 2014.
- Aurajoki, Halikonjoki, Ingarskijanjoki, Kiskonjoki, Kiskonjoki-Perniönjoki, Paimionjoki, Purilanjoki ja Uskelanjoki, näytteiden tiedot löytyvät [Healfish-raportista](#).

Genotyypiaineisto analysoitiin tilastollisesti:

- kantojen geneettiset etäisyydet (Nei et. al. -84) laskettiin Populations 1.2.32 -ohjelmalla (linkki:[Populations](#)). Geneettinen etäisyys vaihtelee välillä 0-1.
- hierarkkinen puurakenne (dendrogrammi) laskettiin Populations 1.2.32 -ohjelmalla ja piirrettiin Treeview -ohjelmalla (linkki:[Treeview](#)). Dendrogrammi kuvaa graafisesti kantojen geneettiset etäisyydet niin, että geneettisesti samankaltaiset kannat ryhmittyvät puurakenteessa samaan haaraan.
- kantojen geneettisten erojen tilastollinen merkitsevyys testattiin Fstat 2.9.3.2 -ohjelmalla (linkki:[Fstat](#)).
- kantojen geenidiversiteetti (heterotsygotia-aste) sekä havaitut alleelimäärät ja alleelirikkaudet laskettiin Fstat 2.9.3.2. -ohjelmalla. Geenidiversiteetti ja alleelimäärät mittaavat kantojen geneettisen muuntelun määrää. Geenidiversiteetti vaihtelee välillä 0-1, ja alleelimäärä voi periaatteessa olla miten iso tahansa. Alleelirikkaus on otoskokojen (tutkittujen kalamäärien) erojen vaikutusta tasaava alleelimäärän mitta.
- kantojen privaattialleelit (vain yhdessä vertailussa mukana olevassa kannassa esiintyvät geenimuodot) etsittiin GenAlEx 6.5. -ohjelmalla (linkki:[GenAlEx](#)). Privaattialleeli ei tarkoita, että kyseistä alleelia ei voisi esiintyä jossain vertailuun kuulumattomassa kannassa.
- individual assignment -testit tehtiin GeneClass2 -ohjelmalla (linkki:[GeneClass](#)). IA-testeissä kullekin kullekin kalalle etsittiin kanta, johon se genotyypinsä perusteella parhaiten sopi. Vertailuaineistona kullekin kalalle käytettiin koko aineistoa niin, että testattava kala poistettiin vertailuaineistosta, jotta välttyttiin vertaamasta kalaa itseensä.
- kalojen sukulaisuudet laskettiin Coancestry 1.0.1.5. -ohjelmalla (linkki:[Coancestry](#)). Ohjelman laskemista 7 estimaattorista valittiin TrioML. Tämä vaihtelee välillä 0-1 niin, että n. 0,5 on täyssisarten ja vanhempien ja jälkeläisten välinen sukulaisuus ja 0,25 puolisisarten välinen sukulaisuus. Vahvasti sukusiittoisissa populaatioissa sukulaisuus voi olla yli 0,5.

## Tulokset

Raumajoen 2014 näyte ryhmittyi samaan haaraan aikaisempien Raumajoen näytteiden kanssa (Kuva 1.). Isojoki ryhmittyi samaan haaraan näiden kanssa. Dendrogrammin rakenne säilyi samana, kun Raumajoen näytteet yhdistettiin (Kuva 2.). Tällöin yhdistetty Raumanjoki ja Isojoki olivat hyvin lähellä toisiaan samassa haarassa.

Raumajoen 2014 näytteen geneettinen etäisyys (Taulukko 3a.) Isojokeen oli 0,09, mikä oli sama kuin vuoden 2008 näytteen etäisyys ja lähes sama kuin 2009 näytteen etäisyys. 2007 5 kalan näyte poikkesi Isojoesta ja muista Raumajoen näytteistä selvästi enemmän. 2007 näytteen erot muihin näytteisiin eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä pienestä näytekoosta johtuen.

Yhdistetyn Raumajoen näytteen etäisyys Isojokeen oli vain 0,05 ja selvästi pienempi kuin minkään yksittäisen näytteen etäisyys (Taulukko 3b.). Ero Isojoen ja yhdistetyn Raumajoen näytteen välillä oli kuitenkin tilastollisesti merkitsevä. Kuitenkin näyttää siltä, että mitä enemmän kaloja Raumajoesta tutkitaan, sitä lähemmäs Isojokea geenimuotojen frekvenssit asettuvat ja myös sitä pienempi on Raumajoen ja Isojoen välinen geneettinen etäisyys.

Eurajoki muodosti dendrogrammissa oman selvästi muista kannoista erottuvan haaran, joka yhdistyi Rautalammin ja Halikonjoen muodostamaan haaraan. Pienin geneettinen etäisyys oli kuitenkin Isojokeen (0,26) ja myös etäisyys Aurajokeen ja Kiskonjokeen (0,27) oli pienempi kuin etäisyys Halikonjokeen (0,34) ja Rautalammiin (0,29). Dendrogrammin antama kuva Eurajoen sijainnista ei siksi ole täysin luotettava.

Individual assignment –testeissä (Taulukko 4.) Raumajoen 85 kalasta 66 sijoittui omaan kantaan, 18 Isojokeen ja 1 Kiskonjokeen. Paras ja toiseksi todennäköisin kanta on lähes poikkeuksetta joko Raumanjoki tai Isojoki. Tulos on yhdenmukainen etäisyyden ja ryhmittelyanalyysin kanssa. Raumajoen taimen on geneettisesti hyvin lähellä Isojoen kanta, mutta ei kuitenkaan geneettisesti täysin sama kanta. Ero voi periaatteessa selittyä joko sillä, että joessa on muutakin kuin isojokista geenistöä tai alunperin isojokinen geenistö on jo eriytynyt alkuperäisestä.

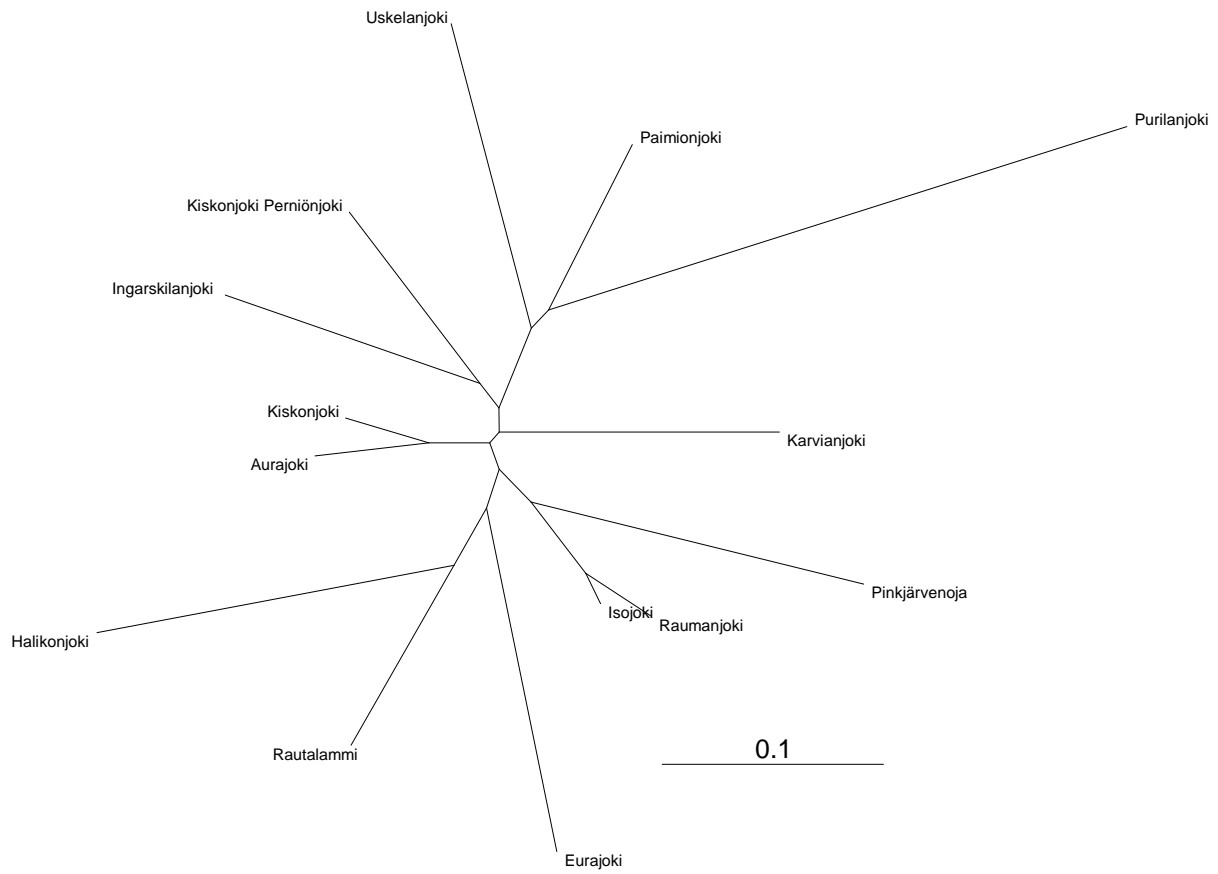
Eurojoen 7 taimenta sijoittuivat 100% todennäköisyydellä omaan kantaansa, ja yksi sijoittui Isojokeen. Tulos on yhteneväinen geneettisen etäisyyden kanssa, koska Eurajoen etäisyydet muihin kantoihin olivat varsin suuret, ja pienin etäisyys oli juuri Isojokeen. Mitään Rautalammin taimeneen viittaavaa ei havaittu.

Raumanjoessa havaittiin yksi privaattialleeli (Taulukko 5.). Alleeli SSa289\*171 on havaittu suomalaisissa taimenkannoissa aikaisemmin, joten kyseessä ei ole täysin uniikki alleeli. Alleeli havaittiin yhdessä vuoden 2014 kalassa. Koska kyseessä on vain yksittäinen alleeli, ei havainnosta voi kovin pitkälle meneviä johtopäätelmiä tehdä. Havainto kuitenkin viittaisi siihen, että Raumajoessa voi olla muutakin kuin isojokista geenistöä.

Eurojoesta ei privaattialleeleita löytynyt.



**Kuva 1. Dendrogrammi**



**Kuva 2. Dendrogrammi (Raumanjoen 4 näytettä yhdistettynä)**

Perinnöllisen muuntelun määrä (geenidiversiteetti, alleelimäärä ja alleelirikkaus, Taulukko 7.) oli Raumajoessa hyvin korkea. Geenidiversiteetti oli 0,64, mikä oli selvästi keskimääräistä suurempi. Myös alleelirikkaus oli selvästi keskimääräistä suurempi. Korkeat arvot ovat tyypillisiä kannoille, joiden efektiivinen koko on iso tai joissa on sekoittuneena useamman kannan kaloja.

Raumajoen taimenten keskimääräinen sukulaisuus oli varsin pieni, 0,06 (Taulukko 6.). Uusimmassa 2014 näytteessä havaittiin jonkin verran korkeitakin sukulaisuuksia, mutta keskimäärin sukulaisuus oli 2014 kaloilla vain 0,10. 2007 kalojen keskimääräinen sukulaisuus oli 0,14, mikä johtui siitä, että 5 kalan joukossa oli yksi identtinen kalapari (tai mahdollisesti sama kala kahteen kertaan). Matala sukulaisuusaste tarkoittaa, että kannassa ei juuri esiinny sukusiitosrasitusta ja tukee geenidiversiteetin ja alleelimäärien perusteella saatua kuvaa efektiivisestä koosta.

Myös Eurajoen perinnöllinen muuntelu oli runsasta. Heterotsygotia-aste oli sama kuin Raumajoessa, ja alleelirikkaus oli vain hieman keskimääräistä pienempi (4,1). Myös Eurajoen kalojen sukulaisuus oli varsin pientä, ja tulos indikoi myös Eurajoessa kohtalaisen suurta efektiivistä kokoa.

Perinnöllinen muuntelu on välttämätön edellytys kannan säilymiselle ja sopeutumiselle muuttuviin olosuhteisiin, ja tältä osin molempien kantojen tilanne näyttää kohtalaisen hyvältä.