

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

9.3.2015

# Keuruun ja Multian taimenkannan geneettinen analyysi

---

## Näytteet

Helsingin yliopiston maataloustieteiden laitoksen ja Luke:n genotyypityslaboratorio sai syksyllä 2014 analysoitaviksi 253 taimennäytettä, jotka olivat peräisin Muuramenjoesta (50), Konneveden Siikakoskelta ja Kellankoskelta (47), Pielaveden Koivujoesta (104) ja Joutsan Rutajoesta (52). Lisäksi saatiin 62 näytettä Multian Saikanjoelta (22) ja Hännättömänjoelta (26) sekä Keuruun Joenpolvenjoelta (2) ja Myllylän Asunnanjoelta (12). Näytteet olivat alkoholiin säilöttyjä eväpaloja. Näytteiden tietoja löytyy liitetäulukosta. Osa tuloksista on raportoitu aiemminkin (Jarmo Koskiniemi 6.11.2014).

## Laboratorioanalyysit, vertailunäytteet ja tilastolliset menetelmät

Näytteet analysoitiin samalla tavoin kuin laboratoriossa on aikaisemminkin analysoitu taimennäytteitä:

- DNA eristettiin tehtiin Qiagen Blood&Tissue kitillä (linkki:[Qiagen](#)).
- 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, SSosl311, SSosl417, SSosl438, SSsp1605, SSsp2201, Str15INRA, Str60INRA, Str73INRA, Str85INRA ja Strutta58.

Vertailuaineistoksi otettiin aikaisemmin tutkitut kannat:

- Rautalamminreitti, 50 kalaa, RKTL:n viljelykanta (järvitaimen).
- Isojoki, 50 kalaa, yhdistelmä RKTL:n viljelykanta ja villikalaja eri vuosilta (meritaimen).
- Luutajoki, 40 kalaa, RKTL:n viljelykanta (purotaimen).
- Moksinjoki, 15 villikalaa vuosilta 2012 ja 2013.
- Pirkanmaa, 50 kalaa, sekanäyte, jossa villikalaja vuodelta 2013 Näsijärven, Virtain ja Kyrösjärven alueilta
- Saarijärven Peltojoki, 15 villikalaa vuodelta 2014

Genotyypiaineisto analysoitiin tilastollisesti:

- kantojen geneettiset etäisyydet (Nei et. al. -84) laskettiin Populations 1.2.32 -ohjelmalla (linkki:[Populations](#)). Geneettinen etäisyys vaihtelee välillä 0-1. Keuruun Joenpolvenjoki jätettiin etäisyysvertailusta pois liian pienen kalamäärän (2) takia.
- hierarkkinen puurakenne (eli 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. Myöskään tähän vertailuun ei otettu Joenpolvenjokea mukaan.
- kantojen privaattialleelit (vain yhdessä kannassa esiintyvät geenimuodot) etsittiin GenAEx 6.5. -ohjelmalla (linkki:[GenAEx](#)). 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 nyt tutkittua kahdeksaa kantaa niin, että testattava kala poistettiin vertailuaineistosta ja kolmea viljelykantaa (Isojoki, Luutajoki ja Rautalammi).
- 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 sukusiitteisissä populaatioissa sukulaisuus voi olla yli 0,5.

## Tulokset

Multian ja Keuruun kaikki taimenet sijoituivat individual assignment -testeissä omiin kantoihinsa (Taulukko 1. ja liitetaulukko). Keuruun Joenpolven joen kaksi kalaa tesattiin myös niin, että referenssidatassa ei ollut kumpaakaan Joenpolvenjoen kalaa (liitetaulukko). Tällöin molemmat kalat sijoituivat Multian Hännättömänjokeen. Mitään Luutajokeen, Rautalammiin tai Isojokeen viittaavaa ei testissä siis paljastunut ja kaikki neljä kantaa näyttäisivät olevan geneettisesti yhtenäisiä ja muista kannoissa selvästi poikkeavia.

Muuramenjoen, Konneveden Siikakosken ja Kellankosken, Pielaveden Koivujoen ja Joutsan Rutajoen kalat sijoituivat pääsääntöisesti omiin kantoihinsa, mutta hajontaakin oli runsaasti. Kaikissa kannoissa havaittiin Rautalammiin sijoittuvia kaloja, ja erityisen runsaasti näitä oli Muuramenjoessa ja Konneveden Siikakoskessa ja Kellankoskessa.

Taulukko 1. Individual assignment –testien yhteenveto (kalojen sijoittuminen eri kantoihin genotyyppinsä perusteella). Kunkin kannan (rivit) kohdalla kuhunkin kantaan (sarakkeet) sijoittuvien kalojen määrä. Yksittäisten kalojen testitulokset ovat liitetaulukossa.

	Multia_Saikanjoki	Multia_Hännättömänjoki	Keuruu_Joenpolvenjoki	Keuruu_Asunnanjoki_Myllylä	Muuramenjoki	Konneveden_Siikakoski_Kellankoski	Pielaveden_Koivujoki	Joutsan_Rutajoki	Isojoki	Rautalammi	Lutajoki
Multia_Saikanjoki	22										
Multia_Hännättömänjoki		26									
Keuruu_Joenpolvenjoki			2								
Keuruu_Asunnanjoki_Myllylä				12							
Muuramenjoki					30	8	2	10			
Konneveden_Siikakoski_Kellankoski					3	24	1	3	16		
Pielaveden_Koivujoki					1	2	99	2			
Joutsan_Rutajoki					2	2	46	2			

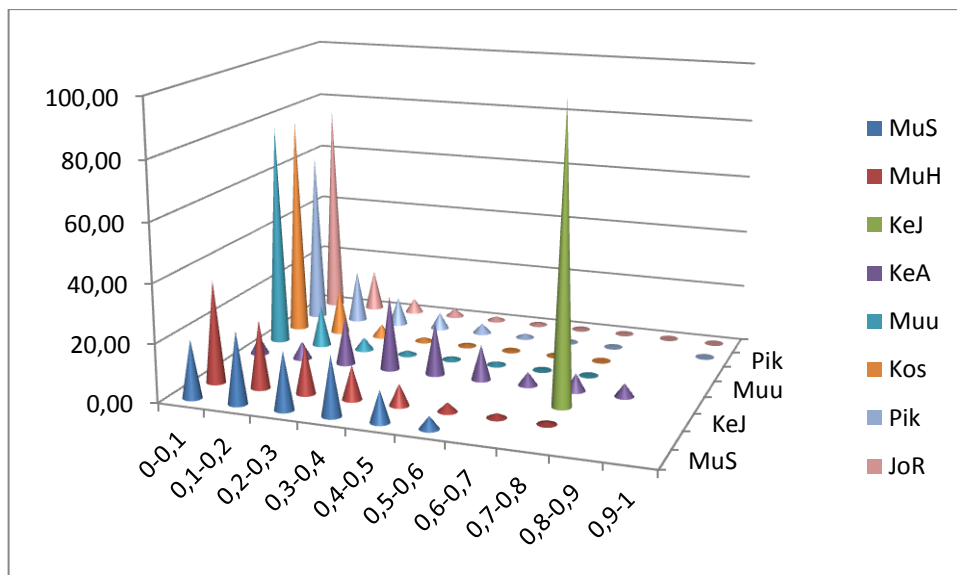
Keuruun Joenpolvenjoen kahden kalan erittäin korkea sukulaisuus (Taulukko 2. ja liitetaulukko ja Kuva 1.) tarkoittaa, että kalat ovat suurella todennäköisyydellä täyssisaria. Myös Keuruun Asunnanjoessa havaittiin runsaasti korkeita sukulaisuuksia (keskiarvo 0,4). Multian Saikanjoessa ja Hännättömänjoessa sukulaisuudet olivat keskimäärin 0,2, ja Saikanjoen jakauma painottui hieman isompiin sukulaisuuksiin kuin Hännättömänjoessa.

Muuramenjoen, Konneveden Siikakosken ja Kellankosken, Pielaveden Koivujoen ja Joutsan Rutajoen kalojen sukulaisuudet olivat selvästi pienempiä kuin Keuruun-Multian kannoissa (keskiarvot olivat 0,1 kaikissa). Huomattakoon, että sekä Koivujoessa että Rutajoessa havaittiin geneettisesti identtiset kalaparit (sukulaisuus 1, liitetaulukko). Vaikka ei ole täysin mahdotonta, että kahdella kalalla on täysin sama genotyyppi, niin voidaan myös epäillä, että samasta kalasta on otettu kaksi näytettä.

Keuruun Asunnanjoen korkea sukulaisuus on syytä panna merkille. Korkea sukulaisuus tarkoittaa isoa sukusiitosrasitusta (kannan elinvoimaisuuden laskua). Joenpolvenjoen kahden kalan sukulaisuuden perusteella ei voi arvioida koko kannan tilaa luotettavasti.

Taulukko 2. Sukulaisuusjakauma (prosentteina kussakin luokassa) kussakin kannassa. Katso myös Kuva 1. Yksittäisten kalojen väliset sukulaisuudet löytyvät liitetaulukosta.

	Multia_Saikanjoki	Multia_Hämnättömänjoki	Keuruu_Joenpovenjoki	Keuruu_Asumanjoki_Nylylä	Muuramenjoki	Konneveden_Siikakoski_Kellankoski	Pielaveden_Koivujoki	Joutsan_Rutajoki
0-0,1	19,9	35,4		6,1	77,6	76,8	60,5	75,0
0,1-0,2	24,7	23,4		6,1	14,1	16,2	18,3	14,3
0,2-0,3	19,9	16,6		16,7	4,4	4,3	9,9	5,1
0,3-0,4	20,3	11,7		25,8	1,5	1,4	5,8	2,7
0,4-0,5	10,8	7,4		18,2	1,0	0,6	3,5	1,4
0,5-0,6	4,3	3,1		12,1	1,0	0,3	1,4	0,8
0,6-0,7		1,5		4,5	0,3	0,3	0,4	0,4
0,7-0,8		0,9	100,0	6,1	0,1	0,1	0,1	0,2
0,8-0,9				4,5				0,1
0,9-1							0,0	0,1
Minimi	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Maksimi	0,6	0,8		0,9	0,7	0,7	1,0	1,0
Keskiarvo	0,2	0,2		0,4	0,1	0,1	0,1	0,1



Kuva 1. Sukulaisuusjakaumat.

Keuruun ja Multian kannoissa vain Asunnanjoessa havaittiin yksi privaattialleeli. Muuramenjoessa niitä havaittiin 5, Konneveden Siikakoskessa ja Kellankoskessa 1, Pielaveden Koivujoessa 2 ja Joutsan Rutajoessa 3. Keuruun ja Multian kannoissa ei tämän tuloksen perusteella esiinny juurikaan geenistöä, mitä ei löydy muualtakin, mutta muissa kannoissa tällaista 'privaattia' geenistöä esiintyy jonkin verran.

Taulukko 3. Privaattialleelien (vain yhdessä kannassa esiintyvien geenimuotojen) määrät (Npriv) eri kannoissa.

Kanta	Npriv
Keuruu_Asunanjoki_Myllylä	1
Muuramenjoki	5
Konneveden_Siikakoski_Kellankoski	1
Pielaveden_Koivujoki	2
Joutsan_Rutajoki	3
Luutajoki	5
Isojoki	7
Rautalammi	5
Pirkanmaa	5

Geenidiversiteetti ja alleelimäärät (erityisesti alleelirikkaus) ovat tärkeitä kantojen geneettisen muuntelun määrän indikaattoreita. Geneettinen muuntelu on välttämätöntä, jotta kanta pystyy vastaamaan ympäristön paineisiin.

Multian Saikanjoen ja Hännättömänjoen geenidiversiteetit olivat koko aineiston keskiarvoa korkeammat, mutta alleelirikkaudet hieman keskiarvoa pienemmät (Taulukko 4.). Myös Pielaveden Koivujoen geenidiversiteetti oli korkea, mutta alleelirikkaus hieman keskimääräistä pienempi. Muuramenjoen sekä Konneveden Siikakosken ja Kellankosken kannoissa sekä geenidiversiteetti että alleelirikkaudet olivat keskimääräistä korkeampia.

Joutsan Rutajoen geenidiversiteetti ja alleelirikkaus olivat lähellä vertailussa olleen Pirkanmaa. Pirkanmaahan oli yhdistetty kaloja eri kannoista, ja tällaisen 'sekanäytteen' muuntelu on tyypillisesti aina huomattavan korkea puhtaisiin kantoihin verrattuna.

Keuruun Asunnanjoen geenidiversiteetti ja alleelirikkaus olivat huomattavan pieniä, lähes vertailun minimin (Moksinjoki) tasolla. Moksinjoen kannassa yhdenkään tutkitun lokuksen alleelimäärä ei ollut yli 4, mikä viittasi siihen, että kanta (tai näytekalat) voivat olla yhden kutuparin jälkeläisiä. Asunnanjoen yksittäisten lokusten alleelimäärien maksimi oli 5, mikä viittaa hyvin pieneen efektiiviseen kokoon (kanta tai ainakin näytekalat voivat olla peräisin kolmesta kalasta). Asunnanjoen kannan tulos on yhteensopiva korkean sukulaisuuden kanssa, mikä havaittiin aiemmin.

Taulukko 4. Otokoot (N), geenidiversiteetit (H), havaitut alleelimäärät (Nall) ja alleelirikkaudet (R). Lisäksi yksittäisten lokusten alleelimäärien minimi ja maksimi (Nallmin ja Nallmax).

	<u>N</u>	<u>H</u>	<u>Nall</u>	<u>Nallmin</u>	<u>Nallmax</u>	<u>R</u>
<b>Multia_Saikanjoki</b>	22	0,64	5	2	9	4,2
<b>Multia_Hännättömänjoki</b>	26	0,64	3	3	11	4,6
<b>Keuruu_Asunnanjoki_Mylylä</b>	12	0,42	2	1	5	2,9
<b>Muuramenjoki</b>	50	0,64	5	2	19	5,9
<b>Konneveden_Siikakoski_Kellankoski</b>	47	0,63	3	2	18	5,6
<b>Pielaveden_Koivujoki</b>	104	0,63	4	2	14	4,6
<b>Joutsan_Rutajoki</b>	52	0,66	6	3	18	6,1
<b>Saarijarvi_Peltojoki</b>	15	0,61	3	2	10	4,5
<b>Luutajoki</b>	40	0,58	3	2	9	4,2
<b>Isojoki</b>	50	0,67	7	4	17	5,8
<b>Rautalammi</b>	50	0,64	6	3	23	5,8
<b>Moksinjoki</b>	15	0,40	2	1	4	2,2
<b>Pirkanmaa</b>	50	0,70	6	2	24	6,6
Keskiarvo	41	0,61	4,2			4,9
Minimi	12	0,40	2			2,2
Maksimi	104	0,70	7			6,6

Taulukko 5. Geneettiset etäisyydet (alacolmio) ja erojen tilastolliset merkitsevyydet (yläkolmio, \*=tilastollisesti merkitsevä ero ja NS=ei merkitsevä ero).

	Multia_Saikanjoki	Multia_Hännättömänjoki	Keuruu_Asunnanjoki_Mylylä	Muuramenjoki	Konneveden_Siikakoski_Kellankoski	Pielaveden_Koivujoki	Joutsan_Rutajoki	Saarijarvi_Peltojoki	Luutajoki	Isojoki	Rautalammi	Moksinjoki	Pirkanmaa
<b>Multia_Saikanjoki</b>		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>Multia_Hännättömänjoki</b>	0,17		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>Keuruu_Asunnanjoki_Mylylä</b>	0,34	0,37		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>Muuramenjoki</b>	0,28	0,24	0,26		*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>Konneveden_Siikakoski_Kellankoski</b>	0,31	0,25	0,25	0,05		*	*	*	*	*	NS	*	*
<b>Pielaveden_Koivujoki</b>	0,30	0,26	0,29	0,13	0,10		*	*	*	*	*	*	*

Joutsan_Rutajoki	0,31	0,24	0,29	0,09	0,09	0,16		*	*	*	*	*	*
Saarijarvi_Peltojoki	0,38	0,33	0,35	0,17	0,16	0,22	0,18		*	*	*	*	*
Luutajoki	0,19	0,20	0,37	0,29	0,31	0,30	0,30	0,37		*	*	*	*
Isojoki	0,30	0,29	0,39	0,20	0,22	0,27	0,23	0,29	0,30		*	*	*
Rautalammi	0,30	0,26	0,25	0,06	0,04	0,10	0,09	0,17	0,30	0,20		*	*
Moksinjoki	0,40	0,37	0,36	0,29	0,29	0,36	0,28	0,35	0,34	0,44	0,29		*
Pirkanmaa	0,20	0,19	0,26	0,08	0,08	0,14	0,09	0,18	0,24	0,16	0,08	0,33	

Keskiarvo 0,24

Minimi 0,04

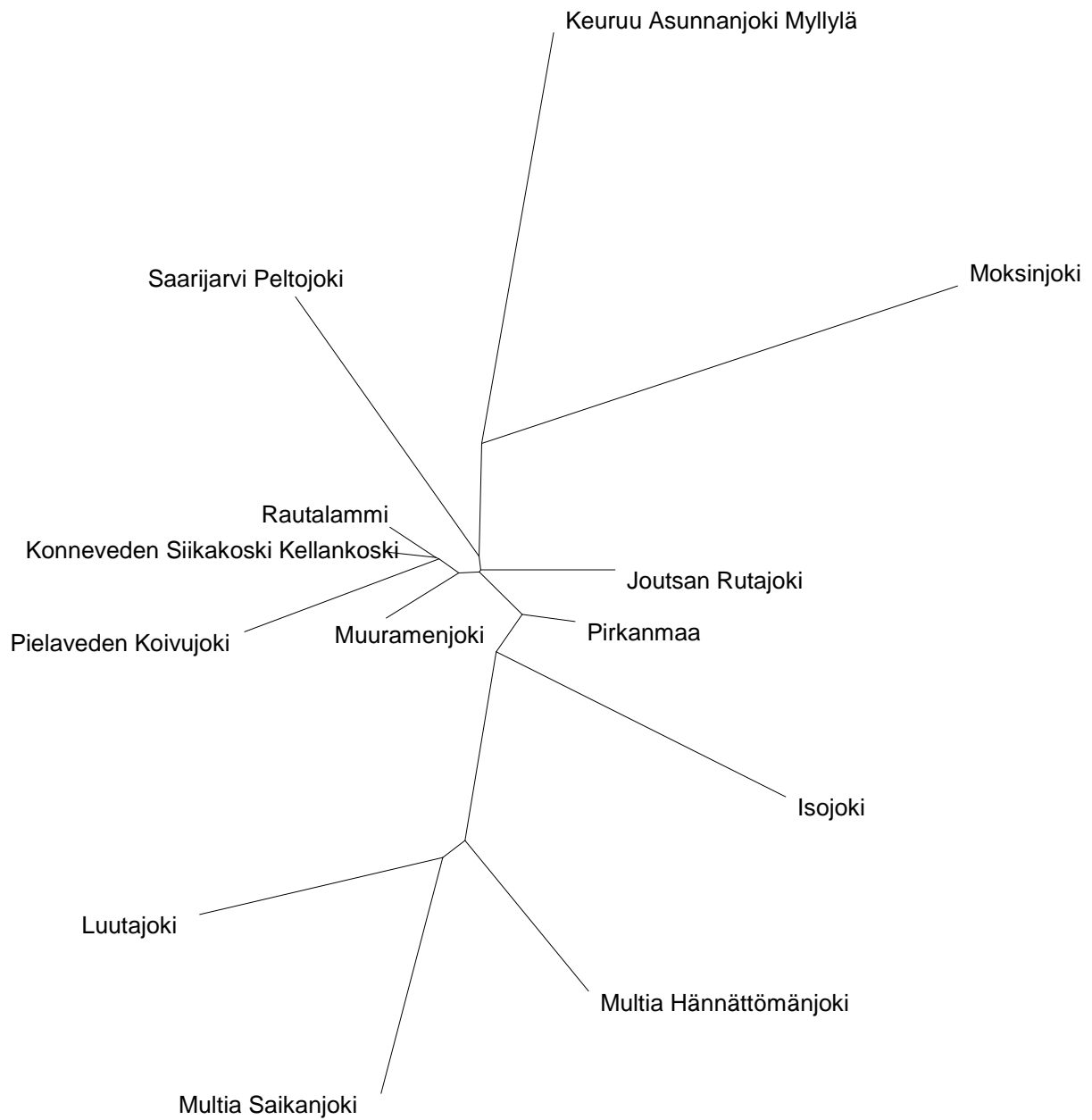
Maksimi 0,44

Vertailun pienin geneettinen etäisyys havaittiin Rautalammin ja Konneveden Siikakosken ja Kellankosken välillä (0,04, Taulukko 5). Ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Konneveden Siikakosken ja Kellankosken etäisyys Muuramenjokeen oli myös hyvin pieni, samaten Muuramenjoen ja Rautalammin välinen etäisyys. Pieleveden Koivujoen etäisyydet näihin ovat myös varsin pieniä, ja nämä neljä kantaa haarautuivatkin dendrogrammissa samaan ryhmään. Lähelle tätä ryhmää yhdistyy dendrogrammissa myös Joutsan Rutajoki, jonka etäisyydet neljään muuhun ovat hyvin pieniä. Kuudentena tähän tiiviiseen ryhmään liittyy Pirkanmaan sekanäyte. Tulos on hyvin yhteensopiva individual assignment –testin kanssa.

Multian Saikanjoen ja Hännättömänjoen välinen etäisyys oli 0,17, mikä oli hieman pienempi kuin näiden kantojen etäisyys Luutajokeen ja Pirkanmaan sekanäytteeseen. Muihin vertailukantoihin etäisyydet olivat selvästi isompia. Tulos näkyy hyvin dendrogrammissa (kuva 1.), missä Multian kannat ryhmittyvät samaan haaraan Luutajoen kanssa ja selvästi erilleen yllä kuvastusta tiiviistä kuuden kannan ryhmästä.

Keuruun Asunnanjoen etäisyydet kaikkiin muihin kantoihin ovat suuria (yli keskiarvon), ja kanta ryhmitty dendrogrammissa selvästi omaan haaraan muista erilleen.

0.1



Kuva 2. Dendrogrammi (etäisyyksien mittakaava oikealla ylhäällä).