



RAUANJOEN TAIMENEN GENEETTINEN KARTOITUS

Tuomas Leinonen, Pirjo Tanhuanpää

Johdanto

Vuonna 2021 kerättyjä Rauanjoen taimennäytteitä toimitettiin syyskuussa 2021 31 kpl Jokioisiin Luken DNA-laboratorion analysoitavaksi. Työn tilasi pj. Kirsi Karhio Pro Höytiäinen ry:stä. Tehtävänä oli Rauanjoen taimenkannan geneettinen vertailu muihin alueen taimenkantoihin ja käytettyihin istutuskantoihin.

Vertailuaineistona käytettiin Juuanjoesta ja Vuoksen vesistöstä aiemmin analysoituja taimennäytteitä^{1,2}. Vertailuaineistossa olevia Heinäveden ja Pielisjoen reittien taimenia on käytetty Luken Enonkoskella ylläpidettävän hoitokannan perustamiseen eli ne edustavat ns. Vuoksen vesistön yleiskantaa.

Aineisto ja menetelmät

Taimennäytteet

Taimennäytteitä oli yhteensä 1085 kpl (Taulukko 1). Pielisen reitiltä oli yhteensä 138 näytettä, Heinäveden reitiltä 455 ja Lieksanjoen reitiltä yhteensä 127 näytettä. Koitajoen reitin kaikki 74 näytettä olivat Ala-Koitajoesta. Rautalamminreitin 260 näytettä ovat Luken Enonkoskella ylläpidettävästä hoitokannasta.

Laboratoriomenetelmät

Taimenen evänpaloista analysoitiin 16 DNA-mikrosatelliittilokusta Luken ja HY:n yhteisesti kehittämällä menetelmällä. Taimenten kudoksenäytteiden DNA eristettiin Qiagen DNEasy Tissue-eristyskitillä. Näytteistä analysoitiin 16 DNA-mikrosatelliittigeenipaikan muuntelu. Käytetyt laboratoriomenetelmät olivat samat, kuin aiemminkin on käytetty Luke:n (RKTL:n) taimenen geneettisessä tutkimuksessa³. Määritetyt DNA-mikrosatelliittilokukset olivat BS131, SSosl311, SSosl417, SSosl438, Str15INRA, Str60INRA, Strutta58, OneU9, SSa197, SSa407, SSa85, Str73INRA, Str85INRA, SSa289, SSsp1605 ja SSsp2201. PCR-reaktiot analysoitiin genotyyppityslaboratorion Abi-kapillaarielektroforeesilaitteella ja laitteistoon kuuluvalla GeneMapper-ohjelmistolla. Laboratoriotyöt tehtiin Luken Jokioisten laboratoriossa.

Taulukko 1. Analysoidut taimennäytteet, niiden alkuperä, lukumäärä (N) ja näytteenottovuosi.

Reitti, joki	N	Vuosi
Juuanjoki - Latvat	32	2019
Juuanjok - Herralankoski	35	2019
Pielisjoki - Kuurna, Emot	71	2012-2013
<i>Pielisen reitti</i>	<i>138</i>	
Heinäveden reitti - Karvionkosket	65	2012-2013
Heinäveden reitti - Kermankoski - Emot	220	1999-2013
Heinäveden reitti - Kermankoski, Vihonvuonne	104	2013
Heinäveden reitti - Kermankoski, Poikaset	66	2012-2013
<i>Heinäveden reitti</i>	<i>455</i>	
Lieksanjoki, Emot	80	1999-2013
Lieksanjoki, Poikaset	47	2000-2002
<i>Lieksanjoen reitti</i>	<i>127</i>	
Ala-Koitajoki	74	2011-2013
Rautalamminreitti (RAU)	260	2016
Rauanjoki	31	2021
Yhteensä	1085	

Tilastolliset menetelmät

Perinnöllisen muuntelun määrä kuvattiin keskimääräisenä monimuotoisuutena eli diversiteettinä, geenimuoto- eli alleelimäärinä populaatiossa ja alleelirikkkautena, joka on pienimpään otoskokoon standardoitu alleelimäärä. Pelkkä havaittu alleelimäärä voi kuvata paitsi kantojen alleelimäärän eroa myös pelkkää otoskokojen eroa.

Taimenkantojen sisäistä muuntelua kuvaavat suureet laskettiin R-ohjelmiston⁴ *diveRsity*⁵ paketilla, jolla laskettiin myös populaatioiden välistä geneettistä etäisyyttä kuvaavat F_{ST} -arvot. Populaatioiden välisiä geneettisiä etäisyyksiä kuvaavat D_A -arvot⁶ laskettiin *populations* – ohjelmalla (versio 1.2.32). Erotteluanalyysi tehtiin R-ohjelmiston *adegenet*-paketilla⁷. Populaatioiden sisäinen sukulaisuus laskettiin *demeRelate* R-paketilla.

Populaation tehollinen koko (N_e) ja täyssisarperheiden määrä Rauanjoen taimennäytteelle laskettiin COLONY-ohjelmalla⁸.

Tulokset

Rauanjoen taimennäytteiden perinnöllinen muuntelu

Rauanjoen taimenten perinnöllinen muuntelu oli selkeästi pienempää kuin vertailluissa taimenkannoissa (Taulukko 2). Lisäksi satunnaispariutumista kuvaava F_{IS} indeksi oli selkeästi nollaa suurempi viitaten sukusiitokseen. Muissa vertailupopulaatioissa F_{IS} indeksi ei ollut tilastollisesti merkitsevästi nollaa suurempi (Taulukko 2).

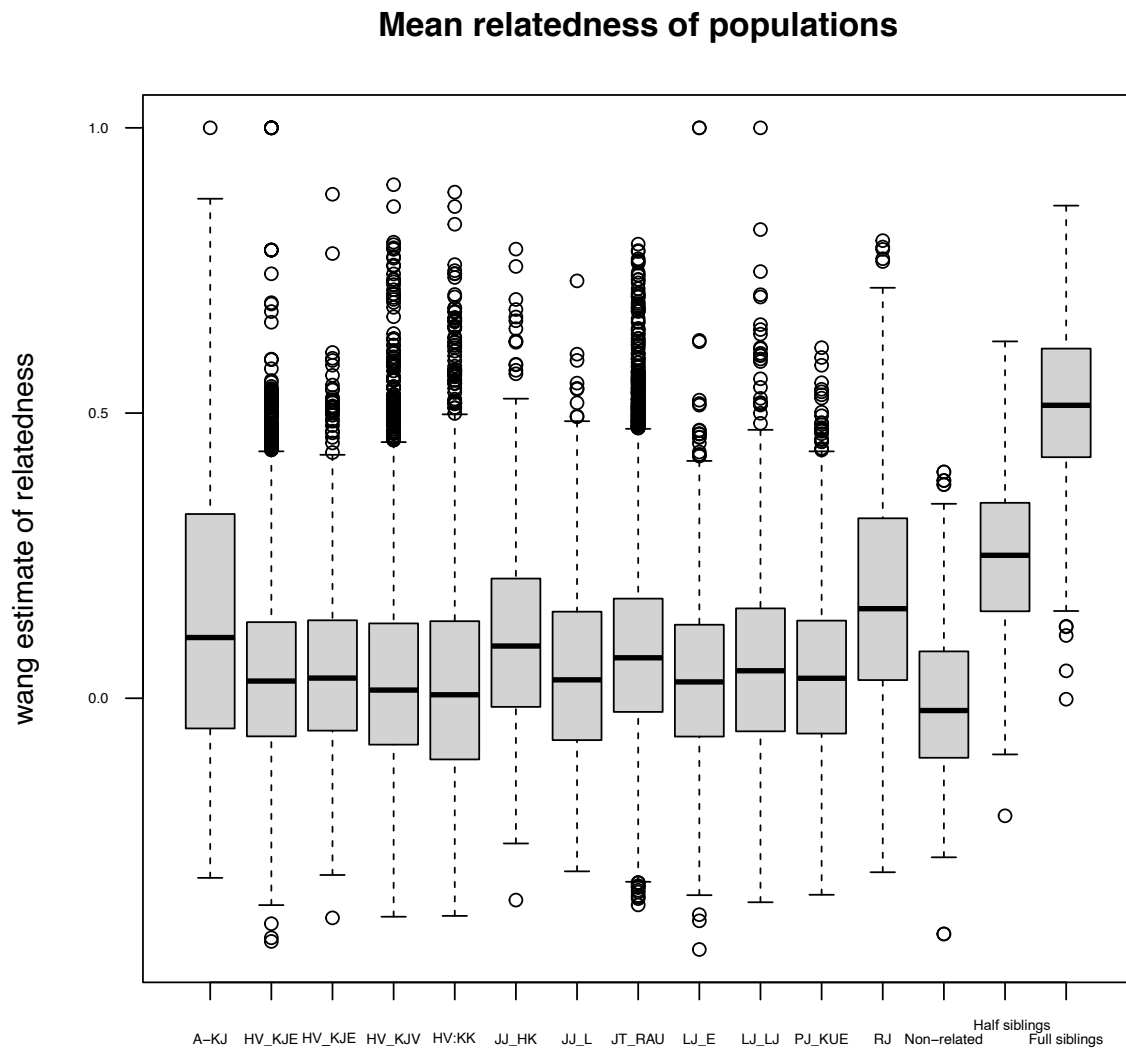
Rauanjoen taimenpopulaation tehollinen populaatiokoko (N_e) oli 25 (95% LV: 15-45), mikä on pienempi kuin lyhyellä aikavälillä elinkelpoiselle populaatiolle suositeltu $N_e > 50$.

Täyssisarperheiden määrä Rauanjoen 31 yksilön taimennäytteessä oli 22. Viidessä täyssisarperheessä oli kahdesta neljään täyssisarusta.

Taulukko 2. Analysoiden taimennäytteiden otoskoko (N), havaittu alleelien määrä (A), sisäinen geneettinen diversiteetti (%), keskimääräinen geenilokuskohtainen alleelirikkaus (A_r ; standardoitu pienimmälle otoskoolle, 31 yksilölle) ja satunnaispariutumista mittaava F_{IS} 95% luottamusväleinen.

Reitti, joki	N	A	%	A_r	F_{IS} (95% CI)
Juuanjoki - Latvat	32	125	65.1	6.96	-0,0298 (-0,0808-0,0196)
Juuanjok - Herralankoski	35	101	55.81	5.91	-0,0758 (-0,1151--0,0349)
Pielisjoki - Kuurna, Emot	71	130	68.92	6.75	-0,0096 (-0,0421-0,0204)
<i>Pielisen reitti</i>	<i>138</i>	<i>157</i>	<i>76.71</i>	<i>7.76</i>	<i>0.0055 (-0.0151-0.0249)</i>
Heinäveden reitti - Karvionkosket	65	122	64.85	6.68	-0,0303 (-0,0629-0,0034)
Heinäveden reitti - Kermankoski - Emot	220	158	81.31	7.34	0,0068 (-0,0114-0,0251)
Heinäveden reitti - Kermankoski, Vihonvuonne	104	133	72.26	6.95	-0,0015 (-0,032-0,0273)
Heinäveden reitti - Kermankoski, Enonkoski	66	129	71.63	6.81	-0,0067 (-0,0375-0,0207)
<i>Heinäveden reitti</i>	<i>455</i>	<i>164</i>	<i>83.58</i>	<i>7.56</i>	<i>0.0065 (-0.0065-0.0198)</i>
Lieksanjoki, Emot	80	139	74.41	7.13	-0,0083 (-0,0405-0,0237)
Lieksanjoki	47	121	66.77	6.52	-0,0245 (-0,0623-0,0164)
<i>Lieksanjoen reitti</i>	<i>127</i>	<i>144</i>	<i>76.15</i>	<i>7.21</i>	<i>-0.0084 (-0.0337-0.0165)</i>
Ala-Koitajoki	74	115	64.14	5.97	-0,0306 (-0,0818-0,0151)
Rautalamminreitti (RAU)	260	159	81.33	7.28	0,0116 (-0,0054-0,0269)
Rauanjoki	31	79	47.39	4.48	0,1268 (0,0548-0,1939)

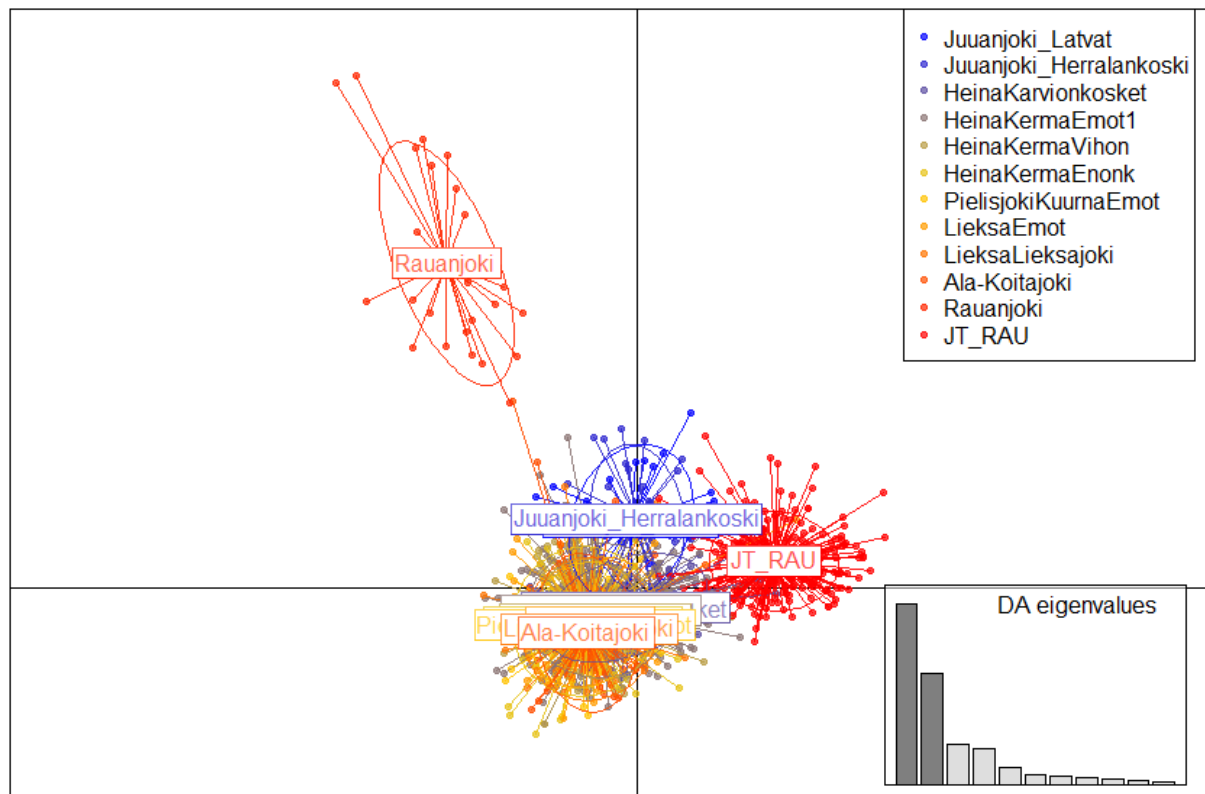
Rauanjoen taimennäytteiden keskinäinen sukulaisuus oli korkeampi (keskiarvo = 0,185) kuin muissa vertailluissa taimennäytteissä (Kuva 1). Rauanjoen taimennäytteiden sukulaisuus on korkeampi kuin serkusten välinen sukulaisuus (0,125), mutta alempi kuin puolisisarusten välinen sukulaisuus (0,25).



Kuva 1. Analysoitujen taimennäytteiden keskimääräinen sukulaisuus (r_{wang}), sekä viitearvot ei-sukulaisille (non-related), puolisisaruksille (half siblings) ja täyssisaruksille (full siblings).

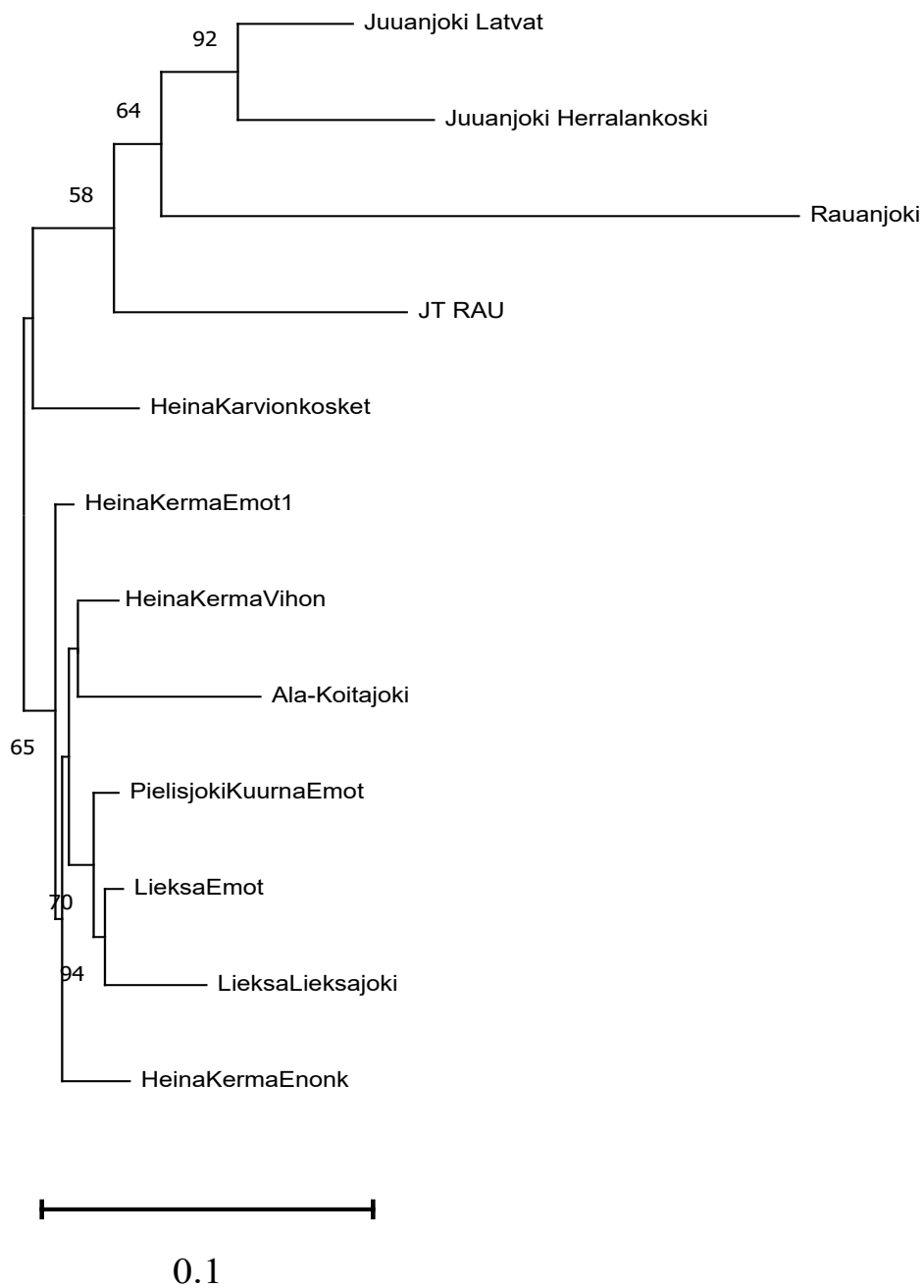
Taimennäytteiden perinnöllinen erilaistuminen

Rauanjoen taimenet erosivat selkeästi muista vertailluista taimenkannoista (Kuva 2). Tarkastellut taimenkannat voidaan jakaa geneettisten erojen perusteella karkeasti neljään ryhmään: 1. Rauanjoki, 2. Juuanjoen taimenet, 3. Heinäveden ja Pielisjoen reitin taimenet, 4. Rautalamminreitin taimenet. Populaatioiden geneettiseen erilaistumiseen voivat vaikuttaa myös erot otoskoossa ja sukulaisuudessa. Suuret otoskoot erottuvat selkeämmin erotteluanalyyssissä (esim. DAPC) kuin populaatiot, joissa on pienempi otoskoko. Samoin populaatioissa, joissa geneettinen muuntelu on vähäistä tai sukulaisuus korkea – kuten Rauanjoen taimennäytteessä – geneettiset erot muihin populaatioihin voivat korostua.



Kuva 2. Taimennäytteiden erilaistuminen 16 mikrosatelliittilokuksen perusteella. Kuvassa jokaisen yksilön pistemäärä kahdella ensimmäisellä (ja ominaisarvoiltaan selkeästi merkitsevimmällä; oikean alakulman upote) pääkomponenttien erotteluanalyysin (DAPC) akselilla. Ellipsien sisällä on 95% kunkin populaation pistemääräistä.

Rauanjoki eroaa geneettisesti selkeästi muista tarkastelluista taimenkannoista myös geneettisiä etäisyyksiä tarkasteltaessa (Kuva 3, Taulukko 3). D_A kertoo 'absoluuttisen' geneettisen etäisyyden ja F_{ST} kuvaa populaatioiden välisiä geneettisiä eroja ottaen huomioon populaatioiden sisäisen geneettisen muuntelun. Rauanjoen geneettinen ero muista taimenkannoista oli selkeästi suurin ($F_{ST} = 0,12 - 0,17$) ja sitä voidaan pitää suurena verrattuna muiden taimenkantojen geneettisiin eroihin. Selkeimmin Rauanjoen taimennäyte erosi Rautalamminreitin hoitokannan näytteistä (Taulukko 3) ja lähimpänä Rauanjoen taimenia olivat Juuanjoen taimennäytteet (Kuva 3).



Kuva 3. Taimennäytteiden geneettiset etäisyydet mitattuna D_A indeksillä⁶ Neighbour-joining-sukupuun avulla kuvattuna. Puun haaroissa on bootstrap-tukiarvot, jotka kertovat kuinka monessa prosentissa tuhannesta toistosta haaran populaatiot ryhmittyvät yhteen. (kuvassa näytetty vain tukiarvot > 50%).

Yhteenveto

Rauanjoen taimennäytteet erosivat selkeästi kaikista vertailussa mukana olleista taimennäytteistä (Heinäveden, Pielisjoen, Lieksanjoen, Koitajoen ja Rautalammin reitit). Rauanjoen taimennäytteessä ei näkynyt myöskään merkkejä sekoittumisesta muihin alueen luonnonvaraisesti lisääntyviin tai Lukella viljelyssä oleviin Vuoksen ja Rautalamminreitin hoitokantoihin. Rauanjoen taimenten tehollinen populaatiokoko oli selkeästi alle 50, jota pidetään elinvoimaisen populaation raja-arvona. Näytteessä olevien yksilöiden sukulaisuus oli myös korkea ja siinä oli viitteitä sukusiitoksesta.

Rauanjoen taimenkannan tilanteen tarkempaa selvitystä varten tarvittaisiin lisää näytteitä eri ikäisistä poikasista ja mahdollisesti emoista. Tarkempi analyysi Rauanjoen ja muiden lähialueiden taimenkantojen ja mahdollisten istutuskantojen geneettisestä sekoittumisesta (admixture) olisi mahdollista tehdä.

Taulukko 3. Taimennäytteiden perinnöllinen erilaistuminen (F_{ST} ja 95% luottamusvälit).

	Ala-Koitajoki	HeinäKarvionk	HeinäKermaEmot	HeinäKermaEnonk	HeinäKermaVihon	Juuanj_Herralank	Juuanj_Latvat	LieksaEmot	LieksaLieksajoki	PielisjKuurnaEmot	RAU_JT
Ala-Koitajoki											
HeinäKarvionkosket	0,04 (0,03-0,06)										
HeinäKermaEmot1	0,03 (0,02-0,04)	0,01 (0,007-0,01)									
HeinäKermaEnonk	0,03 (0,02-0,05)	0,01 (0,008-0,02)	0,004 (0,001-0,009)								
HeinäKermaVihon	0,03 (0,01-0,04)	0,01 (0,009-0,02)	0,004 (0,001-0,009)	0,009 (0,003-0,01)							
Juuanjoki_Herralankoski	0,08 (0,06-0,09)	0,06 (0,05-0,08)	0,05 (0,04-0,06)	0,06 (0,04-0,07)	0,05 (0,04-0,07)						
Juuanjoki_Latvat	0,05 (0,04-0,07)	0,03 (0,02-0,05)	0,02 (0,01-0,04)	0,03 (0,01-0,05)	0,03 (0,02-0,04)	0,03 (0,01-0,04)					
LieksaEmot	0,03 (0,01-0,04)	0,01 (0,00-0,02)	0,00 (0,00-0,00)	0,01 (0,00-0,01)	0,00 (0,00-0,01)	0,05 (0,04-0,07)	0,02 (0,01-0,04)				
LieksaLieksajoki	0,04 (0,03-0,06)	0,02 (0,01-0,03)	0,01 (0,00-0,02)	0,01 (0,00-0,03)	0,01 (0,00-0,02)	0,07 (0,05-0,09)	0,03 (0,02-0,05)	0,004 (-0,0022-0,01)			
PielisjokiKuurnaEmot	0,02 (0,01-0,03)	0,01 (0,00-0,02)	0,00 (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,02)	0,00 (0,00-0,01)	0,05 (0,04-0,07)	0,03 (0,02-0,04)	0,0001 (-0,005-0,00)	0,007 (-0,004-0,01)		
RAU_JT	0,08 (0,07-0,10)	0,05 (0,04-0,06)	0,06 (0,05-0,07)	0,08 (0,07-0,10)	0,07 (0,06-0,08)	0,07 (0,06-0,09)	0,06 (0,05-0,08)	0,07 (0,06-0,08)	0,08 (0,06-0,09)	0,07 (0,06-0,08)	
Rauanjoki	0,14 (0,12-0,16)	0,12 (0,11-0,14)	0,11 (0,10-0,13)	0,12 (0,10-0,14)	0,12 (0,10-0,13)	0,12 (0,10-0,14)	0,10 (0,08-0,12)	0,12 (0,10-0,14)	0,14 (0,12-0,16)	0,12 (0,10-0,13)	0,17 (0,15-0,19)

Viitteet

- (1) Piironen, J.; Koljonen, M.-L.; Koskiniemi, J. *Vuoksen Vesistön Ja Mäntyharjun Reitin Taimenkantojen Geneettinen Kartoitus. Luonnonvara- Ja Biotalous Tutkimus.*; Luonnonvara- ja biotalous tutkimus; 7/2016; p 20.
- (2) Koljonen, M.-L.; Tanhuanpää, P. *Juuanjoen Taimenen Geneettinen Kartoitus.*; Luonnonvarakeskus.
- (3) Koskiniemi, J.; Koljonen, M.-L.; Leinonen, T. University of Helsinki and Natural Resources Institute Finland (Luke) Protocol for DNA Extraction and Multiplex PCR Genotyping of 16 Microsatellites for Brown Trout (*Salmo Trutta* L.). *protocols.io* **2020**.
- (4) R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing.*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2019.
- (5) Keenan, K.; McGinnity, P.; Cross, T. F.; Crozier, W. W.; Prodöhl, P. A. DiveRsity: An R Package for the Estimation and Exploration of Population Genetics Parameters and Their Associated Errors. *Methods Ecol. Evol.* **2013**, 4 (8), 782–788.
<https://doi.org/10.1111/2041-210x.12067>.
- (6) Nei, M.; Tajima, F.; Tateno, Y. Accuracy of Estimated Phylogenetic Trees from Molecular Data. *J. Mol. Evol.* **1983**, 19 (2), 153–170.
<https://doi.org/10.1007/bf02300753>.
- (7) Jombart, T. Adegnet: A R Package for the Multivariate Analysis of Genetic Markers. *Bioinformatics* **2008**, 24 (11), 1403–1405.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>.
- (8) Jones, O. R.; Wang, J. COLONY: A Program for Parentage and Sibship Inference from Multilocus Genotype Data. *Mol. Ecol. Resour.* **2010**, 10 (3), 551–555.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02787.x>.