

Kuhakantojen geneettinen kartoitus

– kuinka suuret ovat kuhakantojemme väliset perinnölliset erot?

Marjatta Säisä, Matti Salminen, Marja-Liisa Koljonen, Jukka Ruuhijärvi ja Pekka Hyvärinen



RIISTA – JA KALATALOUS — SELVITYKSIÄ

8/2008

RIISTA- JA KALATALOUS

S E L V I T Y K S I Ä

8 / 2 0 0 8

Kuhakantojen geneettinen kartoitus – kuinka suuret ovat kuhakantojemme väliset perinnölliset erot?

Marjatta Säisä, Matti Salminen, Marja-Liisa Koljonen,
Jukka Ruuhijärvi ja Pekka Hyvärinen



RIISTAN- JA KALANTUTKIMUS

Julkaisija:

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos
Helsinki 2008

Kannen kuvat: Jukka Ruuhijärvi

Julkaisujen myynti:

www.rktl.fi/julkaisut

www.juvenes.fi/verkkokauppa

Pdf-julkaisu verkossa:

www.rktl.fi/julkaisut

ISBN 978-951-776-619-7 (painettu)

ISBN 978-951-776-620-3 (verkkojulkaisu)

ISSN 1796-8887 (painettu)

ISSN 1796-8895 (verkkojulkaisu)

Painopaikka: Tampereen Yliopistopaino Oy – Juvenes Print

Sisällys

Tiivistelmä	5
Sammandrag	6
Abstract	7
1. Onko Suomessa vielä alkuperäisiä kuhakantoja?	8
2. Yhdeksän kuhakantaa tutkittiin	9
2.1 Rannikon kannat	9
2.2 Sisävesien kannat.....	10
2.3 DNA-analyysit.....	11
2.4 Monimuotoisuuden mittaaminen.....	11
2.5 Kantojen erojen mittaaminen	12
2.6 Kantojen väliset geneettiset etäisyydet	12
3. Kuhakantojen perimässä suurta vaihtelua	12
3.1 Mikrosatelliitit	12
3.2 Tunnusluvut.....	13
3.3 Kantojen väliset erot	13
3.4 Kantojen väliset geneettiset etäisyydet.....	13
3.5 Vertailua aiempiin tutkimuksiin.....	15
4. Yhteenveto ja johtopäätökset.....	16
Kiitokset.....	16
Viitteet.....	17

Tiivistelmä

Työssä tutkittiin mikrosatelliitti-DNA-analyysillä kuuden järven, Averian, Lohjanjärven, Painion, Vanajanselän, Oulujärven ja Kemijärven sekä kolmen rannikkoalueen, Vanhankaupunginlahden, Västanfjärdin ja Taivassalon kuhakantojen geneettistä monimuotoisuutta ja kantojen välisiä eroja. Lohjanjärven, Oulujärven ja Vanajanselän kuhakantojen alkuperäistä monimuotoisuutta kartoitettiin näytteistä, jotka oli kerätty ennen viimeaikaisia laajoja ja pääosin vierailta kannoilla tehtyjä istutuksia. DNA eristettiin suomu- tai evänäytteistä, ja siitä tutkittiin 12 eri geenipaikan eli lokuksen muuntelua. Sekä kuhakantojen sisäinen että niiden välinen muuntelu oli huomattavan suurta. Sisävesien kannat olivat muuntelevampia kuin rannikon kannat. Eniten muuntelua oli Vanajanselän ja vähiten Vanhankaupunginlahden kannassa. Siirtoistutuksien aikoinaan perustettujen Painion ja Averian kantojen monimuotoisuus oli yhtä suurta kuin alkuperältään luonnonvaraisten kantojen. Geneettisiin etäisyyksiin perustuvassa ryhmittelyssä rannikkoalueen kannat asettuivat omaksi tiiviiksi ryhmäkseen. Sisävesikannat muodostivat hajanaisemman ryhmän, jossa Oulujärven ja Kemijärven kannat erottuivat selkeimmin muista. Perinnöllisesti erilaisimmat olivat Taivassalon ja Kemijärven kannat. Kuhakannoissamme jäljellä oleva perinnöllinen monimuotoisuus tulisi turvata käyttämällä istutuksissa vain kunkin vesistön tai alueen omaa kantaa olevia poikasia.

Asiasanat: kuha, kalakannat, erot, mikrosatelliitti-DNA, perinnöllinen muuntelu, istutukset

Säisä, M., Salminen, M., Koljonen, M-L., Ruuhijärvi, J. & Hyvärinen, P. 2008. Kuhakantojen geneettinen kartoitus: kuinka suuret ovat kuhakantojemme väliset perinnölliset erot? *Riista- ja kalatalous – Selvityksiä* 8/2008. 19 s.

Sammandrag

Genom analys av fiskars mikrosatellit-DNA undersöktes den genetiska mångformigheten och skillnaderna mellan de olika bestånden i sex insjöar, Averia, Lojo träsk, Painionjärvi, Vanajanselkä, Ule träsk och Kemi träsk samt i tre kustområden, Gammelstadsviken, Västanfjärd och Taivassalo. Den ursprungliga mångformigheten kartlades hos bestånden i Lojo träsk, Ule träsk och Vanajanselkä utgående från prover, som samlats in före de omfattande utsättningar, som gjorts under senare tid, huvudsakligen med främmande stammar. Man isolerade DNA från fjäll- och fenprover och undersökte mutationer i 12 olika genlokus. Både inom gösbestånden och mellan olika bestånd var variationen betydande. Insjöbestånden var mer varierade än kustens olika bestånd. Flest mutationer fanns i Vanajanselkäns bestånd och minst i Gammelstadsvikens. Mångformigheten hos bestånden i Painio och Averia, som i tiden grundades genom överflyttning av fisk, var lika stor som hos bestånd med naturligt ursprung. I den gruppering, som baserades på genetiskt avstånd, utgjorde kustens bestånd en egen sammanhållen grupp. Insjöbestånden bildade en mer spridd grupp, där bestånden i Ule träsk och Kemi träsk tydligt skiljde sig från de övriga. Mest genetiskt åtskilda var bestånden i Taivassalo och Kemi träsk. Man bör trygga den återstående genetiska mångformigheten hos våra gösbestånd genom att vid utsättningar enbart använda yngel från det aktuella vattendraget eller området.

Nyckelord: gös, fiskbestånd, skillnader, mikrosatellit-DNA, genetisk variation, utsättning av fisk

Säisä, M., Salminen, M., Koljonen, M-L., Ruuhijärvi, J. & Hyvärinen, P. 2008. Kuhakantojen geneettinen kartoitus: kuinka suuret ovat kuhakantojemme väliset perinnölliset erot? *Riista- ja kalatalous – Selvityksiä* 8/2008. 19 s.

Abstract

Microsatellite DNA-analysis was applied to investigate the pattern of genetic diversity among six freshwater and three coastal stocks of pike-perch. The DNA for the 12-loci microsatellite-analysis was extracted from scale or fin samples. The results indicated marked genetic diversity both within and between the stocks. In general, the freshwater stocks showed higher genetic diversity than the coastal ones. The two stocks originally established through stockings (Painio, Aperia) grouped near to the source stock of Lohjanjärvi and their diversity level was nearly the same. In terms of genetic distance, the coastal stocks (Vanhankaupunginlahti, Västanfjärd and Taivassalo) grouped tightly together. The freshwater populations formed a looser group, in which the northern lakes Oulujärvi and Kemijärvi showed great distance from each other and from the southern lakes.

Keywords: DNA microsatellite variation, pike-perch, genetic diversity, fish stocking

Säisä, M., Salminen, M., Koljonen, M-L., Ruuhijärvi, J. & Hyvärinen, P. 2008. Preliminary study on the genetic diversity among Finnish pike-perch stocks. *Riista- ja kalatalous – Selvityksiä* 8/2008. 19 s.

1. Onko Suomessa vielä alkuperäisiä kuhakantoja?

Kuhaistutuksissa on käytetty laajasti vieraista vesistöistä peräisin olevia kantoja. Suuri osa etenkin pienempien tai keskikokoisten järvien kuhakannoista on perustettu 1900-luvun alkupuolella siirtämällä emokaloja tai mätiä toisista vesistöistä (Ruuhijärvi ja Salminen 1992). Kuhanviljelyn menetelmien kehittämissä 1980-luvulla Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen (RKTL) hoitama kuhan mädinhanke keskittyi Karjaanjoen vesistön Hiidenveteen laskevaan Averijärveen ja Vanajaveden reitille (Vanajanselkä ja useita pikkujärviä). Kuhan vastakuoriutuneiden poikasten tuotanto siirtyi 1990-luvulla pääasiassa yksityisille kalanviljely-yrityksille ja emokalojen pyynti keskittyi Someron Painioon Karjaanjoen latvoilla sekä Pirkkalan Pyhäjärveen, joka sijaitsee alavirtaan Vanajavedestä. Poikastarpeen kasvaessa näistä paikoista peräisin olevia poikasia käytettiin ja käytetään edelleen istutuksissa koko maassa saadoissa järvissä sekä rannikolla. Monessa uudemmassakin mädinhankevesistössä emokukat ovat alun perin Averiaasta, Painiosta tai Vanajaveden vesistöistä peräisin. Esimerkiksi Kainuun istutuksiin tuotettavat kuhanpoikaset ovat pääosin olleet peräisin Kuhmon Kivijärvestä, johon on kotiutettu Vanajaveden kuha.

Alkuperäiset kuhakannat vaarantava istutuskäytäntö on perustunut myös siihen, että kuhakantojen perinnölliset erot on tunnettu huonosti ja otaksuttu vähäisiksi. Tuoreet entsyymi-geeneihin (Poulet ym. 2004) ja mikrosatelliitti-DNA:han (Björklund ym. 2007) perustuvat tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että kuhakantojen välillä on huomattavaa perinnöllistä erilaistumista. Erilaistumisen asteeseen vaikuttavia tekijöitä ovat mm. leviämishistoria, kantojen välinen geenivirta (vaellukset ja istutukset) sekä pienissä populaatioissa sukupolvesta toiseen siirtyvien geenien satunnainen vaihtelu. Näiden tuloksena on syntynyt ns. kvalitatiivisia perinnöllisiä eroja mm. mikrosatelliittigeenien frekvensseihin. Kuhakantojen välillä voisi siten olla merkittäviä eroja myös paikallisiin oloihin sopeutumisen seurauksena kehittyneissä, lisääntymismenestyksen kannalta tärkeissä ns. kvantitatiivisissa perinnöllisissä ominaisuuksissa, kuten kasvussa, sukukypsyysissä ja kudun ajoittumisessa. Kuhakantoja hoidettaessa istutuskantojen valinnalla voi siten olla suuri merkitys paitsi monimuotoisuuden säilymisen, myös istukkaiden menestymisen ja istutusten tuloksellisuuden kannalta.

Pitkään jatkuneiden siirtojen ja poikasistutusten vuoksi suurin osa Suomen alkuperäisistä kuhakannoista lienee sekoittunut, ja osa kannoista on saattanut hävitä kokonaan. Tilanteen kartoittamiseksi RKTL ja Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitos ovat käynnistäneet kaksivuotisen (2007–2008) yhteistyöhankkeen, jossa mikrosatelliitti-DNA:ssa esiintyvän muuntelun avulla tutkitaan kuhakantojemme geneettistä rakennetta ja viime vuosikymmenten laajojen istutusten siinä mahdollisesti aiheuttamia muutoksia. Tutkimustuloksia voidaan hyödyntää kuhakantojen hoitoa ja niiden monimuotoisuuden suojelua koskevassa suunnittelussa ja päätöksenteossa.

Tässä raportissa esitetään tuloksia tutkimuksen ensimmäisestä vaiheesta, jossa kartoitettiin kuuden kalastuksen tai mädinhankinnan kannalta tärkeän kuhajärven ja kolmen rannikkoalueen kuhakannan välisiä alkuperäisiä perinnöllisiä eroja. Tutkimuksen vuonna 2008 toteutettavassa toisessa vaiheessa tutkitaan tarkemmin istutusten vaikutuksia kuhakantojen perinnölliseen monimuotoisuuteen.

2. Yhdeksän kuhakantaa tutkittiin

Mikrosatelliitti-DNA:ssa esiintyvää muuntelua tutkittiin yhdeksässä eri kuhakannassa. Rannikolta tutkittavina olivat Vanhankaupunginlahden, Västanfjärdin ja Taivassalon kuhakannat. Sisävesiä edustivat kalastuksen kannalta merkittävät Lohjanjärven, Vanajanselän, Oulujärven ja Kemijärven kuhakannat ja istutuskantoina tärkeät Vihdin Averian ja Someron Painion kannat (taulukko 1, kuva 1). DNA eristettiin evä-, lihaskudos- tai suomunäytteistä, jotka mahdollisuuksien mukaan edustivat kunkin vesistön tai alueen alkuperäisiä kuhakantoja (Toivonen ym. 1981). Yhteensä tutkittiin 511 kuhaa.

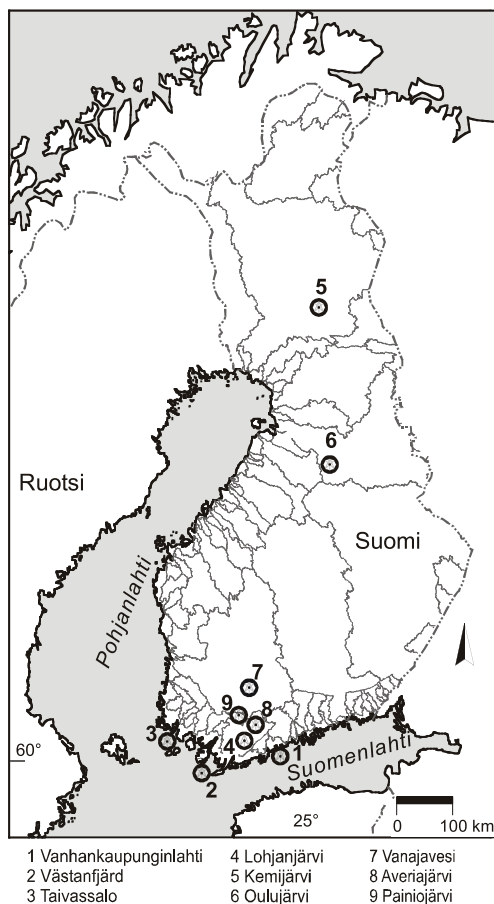
2.1 Rannikon kannat

Vanhankaupunginlahti, *Västanfjärd* ja *Taivassalo* ovat kuhan ammatti- ja virkistyskalastukselle tärkeitä rannikkoalueita, joiden kuhakantoja ei juuri ole sekoitettu istutuksiin. Tämän vuoksi analyysit voitiin tehdä hyvin tuoreista, vuosina 2001–2005 kerätyistä saalisnäytteistä, jotka edustivat vuosiluokkia 1994–2002.

Merkintätutkimusten perusteella rannikon eri kutulahtien kuhakantoja voidaan pitää erillisinä (Lehtonen 1985). Saaristomeren alueen kuhien (*Västanfjärd* ja *Taivassalo*) Suomenlahden (*Vanhankaupunginlahti*) kuhia hitaampi kasvu (Lehtonen 1985, Vanninen 2006) viittaa mahdollisesti kasvuominaisuuksien perinnöllisiin eroihin. Kantojen todennäköinen perinnöllinen eriytyminen saattaa näkyä myös mikrosatelliittimuuntelussa. Analyysien kiinnostavuutta lisää myös tieto siitä, että Saaristomereltä 1900-luvun alkupuoliskolla siirretyt kuhat ovat mahdollisesti olleet useiden Etelä-Suomen pikkujärvien kuhakantojen perustajia. (Hakola ja Juvonen 1964).

Taulukko 1. Tutkimuksen kuhakantojen näytetiedot

	Vesistö	N	Pyyntivuosi	Vuosiluokat	
<i>Rannikkoalueen kannat</i>					
1	Vanhankaupunginlahti	60	2004–2005	1997–2002	nykyinen
2	Västanfjärd	60	2003–2004	1995–2001	nykyinen
3	Taivassalo	60	2001–2005	1994–1999	nykyinen
<i>Järvikannat</i>					
4	Lohjanjärvi	60	1982–1986	1979–1981	alkuperäinen
5	Kemijärvi	61	1959	ikä ei määritetty	alkuperäinen
6	Oulujärvi	15	1946	1936–1943	alkuperäinen
7	Vanajavesi	60	1988–1991	1984–1986	alkuperäinen
8	Averijärvi	63	1984	1979–1982	alkuperäinen
9	Painiojärvi	74	2006	ikä ei määritetty	nykyinen
	Yhteensä	513			



Kuva 1. Tutkittujen kuhakantojen kotivesistöjen sijainti.

2.2 Sisävesien kannat

Lohjanjärvessä on kalastukselle tärkeä, alun perin luonnonvaraisesti syntynyt kuhakanta (Toivonen ym. 1981), johon istutukset mm. Vanajaveden, Averian ja Painion kannoilla ovat vuodesta 1991 alkaen vaikuttaneet (Salminen ym. 2005). Tämän tutkimuksen näytteet edustavat alkuperäistä, istutuksin sekoittamatonta kantaa 1980-luvulta (vuosiluokkaan 1990 saakka).

Kemijärven luonnonvarainen kuhakanta (Toivonen ym. 1981) on aikoinaan ollut kalastukselle tärkeä, mutta sittemmin se on taantunut ja lähes hävinnyt. Kantaa ei vielä liene istutuksilla sekoitettu, mutta suunnitelmissa on ollut runsaiden elvytysistutusten aloittaminen. Tavoitteena on ollut poikastuotannon käynnistäminen Kemijärvestä pyydystetyistä emokaloista (Kiuru 2006). Tämän tutkimuksen näytteet vuodelta 1959 edustavat Kemijärven alkuperäistä kuhakantaa.

Oulujärven luonnonvarainen (Toivonen ym. 1981) kuhakanta on ollut kalastukselle 1950- ja 1960-luvuilla tärkeä, mutta sittemmin se on hiipunut. Kantaan ovat 1985 alkaen vaikuttaneet runsaat istutukset, joissa on käytetty pääasiassa Kuhmon Kivijärvestä hankitusta mädistä

kasvatettuja poikasia. Kivijärvi on emokalajärvi, jonka kanta on peräisin Vanajanselästä. Tämän tutkimuksen näytteet vuodelta 1946 edustavat Oulujärven alkuperäistä kantaa. Suomut on saatu RKTL:lle aikoinaan Kalataloussäätiöltä. Näistä suomusta määritettyjä kasvutietoja ovat aiemmin raportoineet Sutela ja Hyvärinen (1998).

Kokemäenjoen vesistön *Vanajanselässä*, sen ylä- ja alapuolisella vesireitillä ja siihen laskevissa pienemmissä järvissä elää useita luonnonvaraisia (Toivonen ym. 1981) ja runsaita kalastukselle tärkeitä kuhakantoja, joita on myös käytetty 1980-luvulta alkaen laajasti muiden järvien istutuksiin. Viime vuosina itse Vanajanselkään on järven oman kannan sijaan kuitenkin istutettu Painion kuhaa. Vanajanselän alkuperäiskantaa edustavat näytteet ovat vuosilta 1988–1991.

Vihdin *Averia* Karjaanjoen vesistössä on Lohjanjärven yläpuolinen kuhanviljelylle tärkeä emokalajärvi, jonka omaa runsasta kuhakantaa ei ole istutuksin sekoitettu. Kanta ei ole alkuperältään luonnonvarainen (Toivonen ym. 1981), vaan se on aikanaan (1930–1950-luvuilla) perustettu tuntematonta, mahdollisesti Lohjanjärven tai Hiidenveden kantaa istuttamalla (Halme 1961–1962, Toivonen ym. 1981). Tämän tutkimuksen näytteet on kerätty vuonna 1984 ja ne edustavat vuosiluokkia 1979–1982.

Paimionjoen latvoilla Somerolla sijaitseva *Painio* on toinen kuhanviljelylle tärkeä emokalajärvi, jonka omaa kuhakantaa ei liene istutuksilla sekoitettu. Tämäkään kanta ei ole alkuperäinen, vaan se on perustettu siirtämällä järveen emokaloja (1932) ja mätä (1938) Lohjanjärvestä (Halme 1961–1962). Näytteet analyysiin kerättiin kevään 2006 mädinhankinnan yhteydessä, ja ne edustanevat vuosiluokkia 1990–2003.

2.3 DNA-analyysit

Kuhien perinnöllinen muuntelu määritettiin evä-, lihaskudos- tai suomenäytteestä käyttäen mikrosatelliitti-DNA-analyysiä. Näytteistä eristettiin DNA DNeasy 96 Blood & Tissue Kit -menetelmällä (Qiagen), ja kustakin kalasta monistettiin 12 DNA-mikrosatelliittialuetta (liite 1). Mikrosatelliitit ovat lyhyitä DNA:n jaksoja (esim. $(GT)_n$), jotka toistuvat genomissa. Toistojaksot ovat yleensä 1–6 emäsparia pitkiä, eivätkä ne tuota mitään varsinaista geenituotetta, vaan ne voivat olla esim. geenien välisillä alueilla. Mikrosatelliittien eri geenimuodot ovat eripituisia toistojaksoja ja ne periytyvät normaalisti mendelistisesti.

Yhtenä tutkimuksen tavoitteena oli löytää 10–16 mikrosatelliittialuetta, jotka ovat muuntelevia ja käyttökelpoisia kuhakantojen geneettisissä analyyseissä.

2.4 Monimuotoisuuden mittaus

Monimuotoisuuden tunnuslukuina käytettiin havaittua geenimuotojen (alleelien) määrää, sekä otoskoon suhteen korjattua alleelimäärää (alleelirikkaus, allelic richness, A_p), jonka avulla alun perin erisuuruisia otoksia on mahdollista verrata keskenään. Lisäksi monimuotoisuutta arvioitiin käyttämällä apuna havaittua heterotsygotia-astetta (H_o), joka kuvaa erilaiset geenimuodot omaavien yksilöiden suhteellista osuutta populaatiossa, ja odotettua heterotsygotia-astetta eli geenidiversiteettiä (H_e), joka on populaation teoreettinen laskennallinen diversiteettitaso. Jos odotettu ja havaittu heterotsygotia-aste ovat yhtä suuria, yksilöt lisääntyvät kannan sisällä satunnaisesti, eikä sukusiitos (pieni H_o) tai populaatioiden sekoittuminen (suuri H_o) ole aiheuttanut voimakkaita muutoksia genotyypijakaumassa.

2.5 Kantojen erojen mittaus

Kantojen välisten erojen mittaus perustuu eroihin niiden geenimuotojen suhteellisissa osuuksissa (frekvensseissä) ja määrissä. F_{st} -arvo kertoo kantojen välisestä suhteellisesta erilaisuudesta. Se kuvaa, kuinka suuri osuus kantojen perinnöllisestä kokonaisuunneltusta on seurausta kantojen välisistä perinnöllisistä eroista. Esim. $F_{st} = 0.05$ tarkoittaa sitä, että 5.0 % kokonaisuunneltusta on seurausta kantojen välisistä perinnöllisistä eroista, ja loput yksilöiden välisistä eroista kantojen sisällä.

2.6 Kantojen väliset geneettiset etäisyydet

Kantojen väliset geneettiset etäisyydet on laskettu käyttämällä alleelifrekvenssiaineistoon perustuva D_A etäisyysmenetelmää (Nei ym. 1983). Simulaatioilla on osoitettu D_A -etäisyyksien sopivan erittäin hyvin mikrosatelliittien avulla tehtävään populaatioiden sukupuun selvitykseen. Eri menetelmien avulla laskettujen etäisyysmatriisien tulkinnan helpottamiseksi etäisyysmatriiseista muodostetaan graafinen esitys. Yleinen tapa on muodostaa etäisyyksistä fylogeneettinen puu eli ns. dendrogrammi, joka kertoo eri kantojen suhteellisen geneettisen etäisyyden toisistaan. Dendrogrammien muodostamiseen on kehitetty erilaisia laskentamalleja, algoritmeja. Tässä työssä käytettiin NJ- algoritmia (neighbour joining; Saitou ja Nei 1987). NJ-algoritmia käytettäessä muodostetaan populaatioista ryhmiä pyrkien löytämään etäisyyspuu, eli dendrogrammi, jonka oksien kokonaispituus saa pienimmän mahdollisen arvon. Oksien pituudet kuvaavat populaatioiden ainutlaatuisuutta suhteessa muihin populaatioihin. Oksia yhdistävien viivojen pituudet kuvaavat populaatioiden välisiä perinnöllisiä eroja. Mitä lähemmäs toisiaan kannat sijoittuvat puussa, sitä samankaltaisempia ne ovat. Muodostettujen kantaryhmien varmuutta (todennäköisyyttä, että ne ovat oikeita) testataan bootstrap-menetelmällä, jossa toistetaan analyysi useita kertoja. Jokaisessa haarautumiskohdassa oleva numero kertoo kuinka todennäköistä on, että kanta sijoittuu juuri kyseiseen kohtaan, eli kuinka suuressa osassa toistoja ryhmittymisen vastasi kuvattua ryhmittymää, kun laskenta on toistettu 1000 kertaa. Mikäli luku on yli 50, tarkoittaa se yli 50 %:n todennäköisyyttä, ja sijoittumista voidaan pitää melko varmana.

3. Kuhakantojen perimässä suurta vaihtelua

3.1 Mikrosatelliitit

Kuhan ja sen lähisukuisten kalojen geneettisiä analyysejä varten julkaistuja mikrosatelliittialukkeita etsittiin kirjallisuudesta, ja niistä lupaavimmat valittiin testattavaksi. Kaiken kaikkiaan testattiin 19 mahdollista lokusta, joista kantojen monimuotoisuutta kuvaamaan valittiin kaksitoista muuntelevaa mikrosatelliittilokusta (liite 1). Hylkäämisperusteina lokuksille oli joko huono monistuvuus PCR-olosuhteissa tai muuntelun vähäisyys. Erilaisten havaittujen geenimuotojen määrä vaihteli välillä 3 (*Svi33*)–19 (*Svi6*) (liite 2). Alleelimäärissä ja -frekvensseissä oli kantojen välillä eroja.

Kahden historiallisen populaation, Oulujärven (vuodelta 1946) ja Kemijärven (vuodelta 1959) vanhat suomenäytteet olivat odotusten mukaan hieman haasteellisempia laboratorio-työn kannalta, mutta jopa näistä vanhoista näytteistä onnistuttiin saamaan geneettistä tietoa kannoista. Tiedyt lokukset osoittautuivat kuitenkin vanhojen näytteiden osalta laboratorioteknisesti vaikeammiksi (lokukset *Pfla2*, *Pfla9* ja *Svi9*).

3.2 Tunnusluvut

Erlaisia geenimuotoja (alleeleja) havaittiin kaiken kaikkiaan yhteensä 134 (liite 2). Eniten geenimuotoja havaittiin Vanajaveden kannassa (69) ja vähiten historiallisessa Oulujärven kannassa (19). Oulujärven kantaa edustava näyte oli kuitenkin hyvin pieni, vain 15 kalaa, joten luku ei tässä mielessä ole vertailukelpoinen suurempiin näytteisiin nähden (taulukko 1). Kun havaitut alleelimäärät korjattiin otoskoon suhteen vertailukelpoisiksi, vähiten alleeleja löytyi Vanhankaupunginlahden kannasta (10,6 alleelia yhteensä viidessä lokuksessa, tai 37,4 alleelia kahdessatoista lokuksessa; liite 3). Eniten alleeleja löytyi Vanajaveden kannasta (17,1 alleelia viidessä lokuksessa, tai 54,9 alleelia kahdessatoista lokuksessa). Rannikkoalueiden kannoissa oli näin arvioituna keskimäärin hieman vähemmän alleeleja (keskimäärin 11,2 alleelia viiden lokuksen keskiarvona, ja 37,7 kahdentoista lokuksen keskiarvona) kuin järvalueiden kannoissa (keskimäärin 14,9 alleelia viiden lokuksen keskiarvona, ja 48,4 kahdentoista lokuksen keskiarvona). Vanhankaupunginlahden kanta poikkesi geenimuotojen määrän suhteen tilastollisesti merkitsevästi Vanajaveden kannasta.

Havaittu heterotsygotia-aste (H_o) oli 24–45 %, ja geenidiversiteetti (H_e) 29–46 % (liite 2). Minkään kahden kannan geenidiversiteetit eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. Rannikkoalueen kantojen keskimääräinen geenidiversiteetti oli hieman alhaisempi (33 %) kuin järvikantojen (41 %). Myöskään tutkittujen kantojen havaitut (H_o) ja odotetut (H_e) heterotsygotia-asteet eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan.

3.3 Kantojen väliset erot

Kaikkien tutkittujen kantojen alleelijakaumat poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. Yli kaikkien kantojen laskettu F_{st} -arvo oli huomattavan korkea 0,20, ja kun kantoja tarkasteltiin ryhmiteltynä rannikkoalueen kannoiksi ja järvikannoiksi, molempien ryhmien F_{st} -arvo oli edelleen 0,11. Kahden kannan välillä suurin havaittu F_{st} -arvo oli 0,33 (Taivassalo – Kemijärvi) ja pienin 0,01 (Taivassalo – Västanfjärd; taulukko 2).

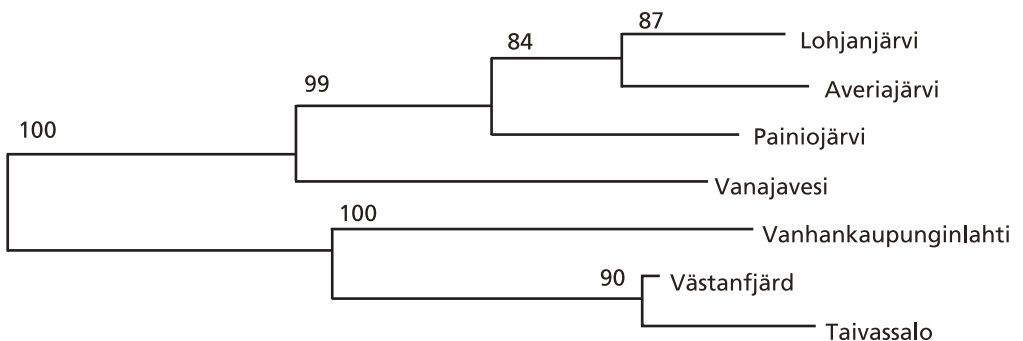
3.4 Kantojen väliset geneettiset etäisyydet

Kantojen väliset geneettiset D_A -etäisyydet olivat 0,02–0,28 (taulukko 2). Pienin havaittu geneettinen etäisyys oli kahden Saaristomeren kannan, Taivassalon ja Västanfjärdin välillä (0,02). Suurin havaittu etäisyys oli Taivassalon rannikkoalueen kannan ja historiallisen Kemijärven kannan välillä (0,28). Yli kaikkien kantojen ja lokusten laskettu keskimääräinen etäisyys oli 0,17, rannikkoalueen kantojen keskimääräinen etäisyys toisiinsa oli 0,07 ja järvikantojen 0,15. Järvikantojen keskimääräinen etäisyys toisiinsa ilman historiallisia Oulujärven ja Kemijärven kantoja oli 0,08. Historiallisen Kemijärven kannan etäisyys muihin kantoihin oli keskimäärin 0,23 ja Oulujärven 0,21. Oulujärven ja Kemijärven kantojen keskinäinen etäisyys oli 0,23.

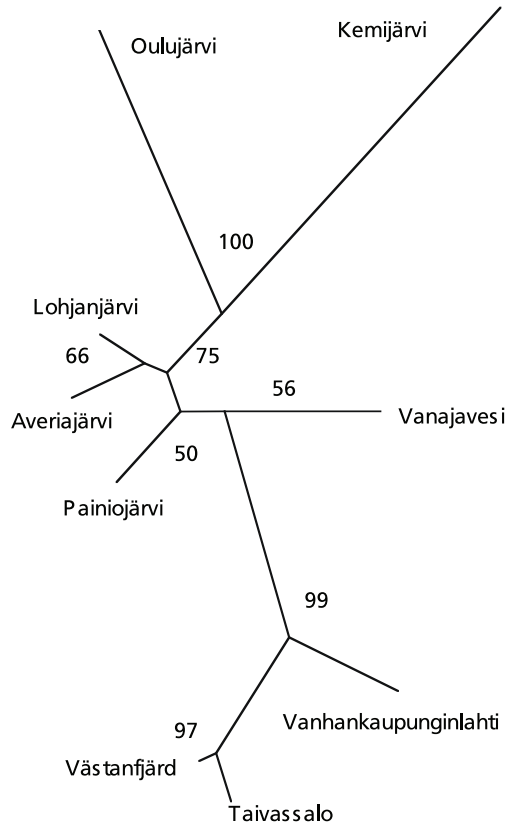
Taulukko 2. Yläkolmiossa kantojen välisiä eroja kuvaavat F_{st} -estimaatit ja alakolmiossa kantojen väliset geneettiset etäisyydet.

	Vanhankaupunginlahti	Lohjanjärvi	Kemijärvi	Oulujärvi	Vanajavesi	Averiajärvi	Painiojärvi	Västanfjärd	Taivassalo
Vanhankaupunginlahti	***	0,20	0,30	0,22	0,17	0,22	0,20	0,13	0,17
Lohjanjärvi	0,17	***	0,20	0,10	0,09	0,01	0,04	0,27	0,31
Kemijärvi	0,26	0,18	***	0,07	0,22	0,20	0,23	0,31	0,33
Oulujärvi	0,23	0,15	0,23	***	0,13	0,12	0,19	0,21	0,21
Vanajavesi	0,17	0,11	0,23	0,21	***	0,09	0,09	0,19	0,22
Averiajärvi	0,17	0,04	0,20	0,15	0,11	***	0,02	0,27	0,31
Painiojärvi	0,16	0,06	0,21	0,18	0,09	0,07	***	0,25	0,29
Västanfjärd	0,09	0,19	0,26	0,27	0,16	0,18	0,15	***	0,01
Taivassalo	0,10	0,19	0,28	0,26	0,17	0,20	0,17	0,02	***

D_A -etäisyyksien perusteella piirrettyssä dendrogrammissa rannikkoalueen kannat ja järvikannat erottuivat selvästi toisistaan (kuvat 2 ja 3). Kaksi Saaristomereltä peräisin olevaa kanta, Västanfjärd ja Taivassalo muodostava oman ryhmänsä, johon Suomenlahdelta peräisin oleva Vanhankaupunginlahden kanta liittyy. Järvikannoista Lohjanjärven ja Averiajärven kanta ryhmittyvät lähimmäksi toisiaan, ja samaan ryhmään yhdistyvät myös Painiojärven ja Vanajaveden kannat. Averiajärven kanta on aikanaan, 1930–1950, perustettu mahdollisesti istuttamalla Lohjanjärven kanta, samoin Painiojärven kanta on perustettu 1930-luvulla siirtämällä siihen emokaloja ja mätää Lohjanjärvestä. Historialliset Kemijärven ja Oulujärven kannat erottuvat selvimmän omiksi omaleimaisiksi haaroikseen, jotka eivät ryhmity keskenään eivätkä



Kuva 2. Dendrogrammi kuhapopulaatioista piirrettynä 11 DNA-mikrosatelliitti-locuksen aineiston perusteella. Puiden haarojen sijainnin todennäköisyys on ilmaistu prosentteina. Populaatioiden välisten viivojen pituudet kuvastavat niiden välisiä perinnöllisiä etäisyyksiä.



Kuva 3. Juureton dendrogrammi tutkituista kuhapopulaatioista. Puiden haarojen sijainnin todennäköisyys on ilmaistu prosentteina. Populaatioita yhdistävien viivojen pituudet kuvastavat niiden välisiä perinnöllisiä etäisyyksiä.

minkään muunkaan kannan kanssa yhteen. Puun rakenteen tilastollinen varmuus on erittäin suuri, kun historialliset kannat jätetään pois analyysistä (alhaisinkin todennäköisyys on 84 %; kuva 2), ja kohtuullisen suuri kun historialliset kannat ovat mukana analyysissä (kuva 3).

3.5 Vertailua aiempiin tutkimuksiin

Pyrkimyksenä oli käyttää analyyseissä samoja geenilokuksia kuin Ruotsissa käynnissä olevassa Skandinavian kuhakantojen levinneisyshistoriaa koskevassa hankkeessa. Tämä pyrkimys saavutettiin lukuun ottamatta yhtä lokusta, *Svi10*, joka osoittautui laboratorioteknisesti hankalaksi. Ruotsalaisessa hankkeessa käytössä on ollut kahdeksan mikrosatelliittilokusta.

Tässä tutkimuksessa havaitut alleelikoot vastasivat hyvin Björklund ym. (2007) havaitsemia alleelikokoja. Verrattaessa muihin tutkimuksiin, havaitut alleelikoot saattoivat poiketa huomattavastikin, mutta kuhalaji on ollut toinen (esim. Borer ym. 1999 tutkimuksessa *Stizostedion vitreum*, valkosilmäkuha).

4. Yhteenveto ja johtopäätökset

1. Työssä tutkittiin kuuden eri järven (Averia, Lohjanjärvi, Painio, Vanajanselkä, Oulujärvi, Kemijärvi) ja kolmen eri rannikkoalueen (Västanfjärd, Taivassalo, Vanhankaupunginlahdi) kuhakantojen alkuperäistä, ennen viime vuosikymmenten laajoja istutuksia esiintynyttä perinnöllistä muuntelua.
2. Työssä testattiin kaikkiaan 19 mikrosatelliittialuetta eli lokusta, joista 12 osoittautui analyysien kannalta riittävän muunteleviksi ja myös laboratorioteknisesti käyttökelpoisiksi.
3. Tutkimuksen tulokset osoittivat, että suomu-, evä- tai lihaskudosnäytteistä eristetystä DNA:sta on mikrosatelliitti analyysin avulla mahdollista saada käyttökelpoista tietoa kuhakantojen geneettisestä monimuotoisuudesta ja kantojen välisistä eroista.
4. Tutkittujen kuhakantojen sisäinen ja myös niiden välinen muuntelu oli huomattavan suurta.
5. Muuntelevin (monimuotoisin) kuhakannoista oli Vanajanselän kanta, ja vähiten muunteleva Vanhankaupunginlahden kanta. Järvikannat olivat keskimäärin muuntelevampia kuin rannikkoalueen kannat, vaikka missään tutkituista kannoista havaittu muuntelu ei ollut vähäistä.
6. Alunperin siirtoistutuksin perustettujen kantojen (Painio ja Averia) perinnöllisen monimuotoisuuden määrä oli yhtä suuri kuin alkuperältään luonnonvaraistenkin kantojen (kaikki muut).
7. Geneettisten etäisyyksien analyysissä rannikkoalueen kannat asettuivat omaksi tiiviiksi ryhmäkseen. Sisävesikannat muodostivat heterogeenisemmän ryhmän, jossa varsinkin Oulujärven ja Kemijärven kuhakannat erottuivat muista. Kaikista kannoista kauimpana toisistaan olivat Taivassalon ja Kemijärven kannat.
8. Lohjanjärven, Vanajanselän ja Oulujärven kuhakantojen nykyinen geneettinen rakenne saattaa merkittävästi poiketa tässä tutkitusta, historiallisesta rakenteesta, sillä näihin järviin on viime vuosikymmeninä tehty laajoja kuhaistutuksia, joissa on pääosin käytetty vieraita kuhakantoja. Istutusten vaikutuksia analysoidaan projektin seuraavassa vaiheessa.
9. Kuhakannossamme jäljellä oleva perinnöllinen monimuotoisuus tulisi joka tapauksessa turvata käyttämällä istutuksissa kunkin vesistön ja alueen omaa kantaa olevia poikasia.

Kiitokset

Kiitämme kalanviljely-yrittäjä Jukka Kummunsaloa Painion ja Olli Piirista Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksestä Vanajanselän kuhanäytteistä. Näytekuhien iänmäärittäksen suoritti Karl Sundman. Nina Peuhkurilta, Jari Raitaniemeltä ja Tapio Kiurulta saimme hyödyllisiä kommentteja ja parannusehdotuksia käsikirjoitukseen.

Viitteet

- Borer, S. O., Miller, L. M. & Kapuscinski, A. R. 1999. Microsatellites in walleye *Stizostedion vitreum*. *Molecular Ecology* 8: 335–346.
- Björklund, M., Aho, T. & Larsson, C. 2007. Genetic differentiation in pikeperch (*Sander lucioperca*): the relative importance of gene flow, drift and common history. *Journal of Fish Biology* 71(suppl.B): 264–278.
- Hakola, T. P. & Juvonen, O. 1964. Kuhan viljely ja pyynti. Suomen kalastusyhdistys n:o 39. Helsinki. 39 s.
- Halme, E. 1961–1962. Kalanistutukset Suomessa vuoteen 1958. Helsinki, Maataloushallituksen kalataloudellinen tutkimustoimisto. *Monistettuja julkaisuja* 14–18, 21. 1054 s.
- Kiuru, T. 2006. Kemijärven kuhakannan elvyttäminen. Hankesuunnitelma. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Moniste.
- Leclerc, D., Wirth, T. & Bernatchez, L. 2000. Isolation and characterization of microsatellites loci in the yellow perch (*Perca flavescens*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Molecular Ecology* 9: 993–1011.
- Lehtonen, H. 1985. Stocks of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) and their management in the Archipelago Sea and the Gulf of Finland. *Finnish Fisheries Research* 5: 1–16.
- Nei, M., Tajima, F. & Tateno, Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19: 153–170.
- Poulet, N., Berrebi, P., Crivelli, A. J., Lek, S. & Argillier, C. 2004. Genetic and morphometric variations in the pikeperch (*Sander lucioperca* L.) of a fragmented delta. *Archiv für Hydrobiologie* 159 (4): 531–554.
- Ruuhijärvi, J. ja Salminen, M. 1992. Kuvanviljelyn ja kuhaistutusten historiaa ja näkymiä. *Suomen Kalatalous* 60: 222–233.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbour joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular and Biological Evolution* 4: 406–425.
- Salminen, M., Salmi, P., Kankainen, M. & Setälä, J. 2005. Oliko kuhien istuttaminen Lohjanjärveen kalavarojen kestävää käyttöä? *Suomen Kalastuslehti* 6: 8-12.
- Sutela, T. ja Hyvärinen, P. 1998. Oulujoen vesistön kuhakantojen tila ja hoidon kehittämismahdollisuudet. *Kala- ja riistaraportteja* 113:1–18.
- Toivonen, J., Antere, I. & Lehtonen, H. 1981. Kuhan esiintyminen Suomessa. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Kalantutkimusosasto. *Tiedonantoja* 17: 31–50.
- Vanninen, V. 2006. Itäisen Suomenlahden kuha – tutkimustuloksia vuosilta 1999–2005. *Kaakkois-Suomen ympäristökeskuksen raportteja* 2. 37 s.

LIITE 1

Tutkimuksessa käytetyt mikrosatelliittilokukset. Toistojakson tyyppi, havaittujen alleelien määrä ja koko, alkuperäinen julkaisu ja laji jolle aluke on julkaistu. *Perca flavescens* on amerikkalainen kelta-ahven, *Stizostedion vitreum*, nyk. *Sander vitreus* on amerikkalainen valkosilmäkuha.

	Lokus	Toistojakso	Alleeleja	Koko	Julkaisu	Laji
1	Pfla2	(CA)23	9	197–271	Leclerc ym. 2000	<i>Perca flavescens</i>
2	Pfla3	(TG)18	8	95–117	Leclerc ym. 2000	<i>Perca flavescens</i>
3	Pfla8	(TG)39	16	167–203	Leclerc ym. 2000	<i>Perca flavescens</i>
4	Pfla9	(TG)24	10	166–234	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
5	Svi4	(AC)16	17	98–166	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
6	Svi6	(AC)6	19	115–165	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
7	Svi7	(TG)22	18	201–249	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
8	Svi8	(TG)22	8	104–140	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
9	Svi9	(CA)18AA(CA)3A(AC)4	11	167–235	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
10	Svi11	(TG)26G(TG)8	5	107–121	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
11	Svi18	(AC)18	10	132–182	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>
12	Svi33	(AC)14	3	75–83	Borer ym. 1999	<i>Stizostedion vitreum</i>

LIITE 2

Havaitut alleelimäärät, H_o : Havaittu heterotsygoottisten yksilöiden osuus (heterotsygotia-aste) ja sen keskivirhe. H_e : Odotettu heterotsygoottisten yksilöiden osuus (geenidiversiteetti) ja sen keskivirhe.

Kanta	Svi11	Svi9	Svi6	Svi7	Svi4	Svi8	Pfla9	Pfla2	Pfla3	Pfla8	Svi33	Svi18	Yht.	Ho%	He%
Vanhankaupungin-lahti	2	2	4	8	6	3	3	4	3	5	1	4	45	38 ± 3	37 ± 2
Lohjanjärvi	3	2	8	7	7	4	3	3	4	10	3	5	59	40 ± 3	39 ± 2
Kemijärvi	4	3	9	7	7	3	4	–	5	8	2	4	56	32 ± 4	44 ± 3
Oulujärvi	2	–	4	3	2	2	–	–	2	1	2	1	19	24 ± 6	37 ± 7
Vanajavesi	3	1	9	9	8	3	4	5	5	12	2	8	69	45 ± 3	46 ± 3
Averiajärvi	3	4	7	6	7	3	5	3	5	8	2	5	58	38 ± 3	39 ± 2
Painiojärvi	3	4	9	9	6	3	4	4	4	6	2	6	60	36 ± 3	37 ± 2
Västanfjärd	2	2	6	11	4	4	3	5	4	9	2	6	58	38 ± 3	34 ± 2
Taivassalo	3	1	5	8	6	2	3	3	3	6	2	5	47	34 ± 3	29 ± 2
Yhteensä	5	11	19	18	17	8	10	9	8	16	3	10	134	38 ± 1	46 ± 1

LIITE 3

Otoskokorjatut alleelimäärät kannoittain 9 ja 21 yksilön näytteille (alleelien rikkaus, A_i).

Kanta	Otoskokona 9 yksilöä					Yht.
	Svi11	Svi6	Svi4	Pfla3	Svi33	
Vanhakaupunginlahti	1,2	2,2	4,1	2,2	1,0	10,6
Lohjanjärvi	1,9	5,1	4,3	1,6	2,1	15,1
Kemijärvi	1,9	4,9	3,9	2,7	2,0	15,4
Oulujärvi	1,8	4,0	2,0	2,0	2,0	11,8
Vanajavesi	2,2	5,1	4,6	3,3	1,8	17,1
Averiajärvi	1,9	4,8	4,6	1,9	2,0	15,2
Painiojärvi	2,2	4,2	4,3	2,2	1,8	14,7
Västanfjärd	1,8	2,6	2,5	2,9	1,5	11,3
Taivassalo	1,9	2,5	3,1	2,4	1,7	11,7

Kanta	Otoskokona 21 yksilöä												Yht.
	Svi11	Svi9	Svi6	Svi7	Svi4	Svi8	Pfla9	Pfla2	Pfla3	Pfla8	Svi33	Svi18	
Vanhakaup.	1,4	2,0	2,7	6,1	4,7	2,7	3,0	2,9	2,4	4,6	1,0	4,0	37,4
Lohjanjärvi	2,3	2,0	6,5	4,9	5,1	2,9	3,0	2,4	2,3	7,0	2,4	4,3	45,1
Kemijärvi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oulujärvi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vanajavesi	2,6	1,0	6,8	7,5	6,2	2,1	3,6	4,4	4,3	8,0	2,0	6,6	54,9
Averiajärvi	2,5	4,0	5,9	4,3	5,9	2,9	4,5	2,4	2,9	6,2	2,0	4,9	48,3
Painiojärvi	2,7	3,2	5,6	5,5	4,8	1,9	3,7	2,7	3,2	4,9	2,0	5,2	45,2
Västanfjärd	2,0	1,6	3,8	7,0	3,1	3,0	2,9	3,1	3,3	5,0	1,8	3,6	40,3
Taivassalo	2,6	1,0	3,8	5,8	4,2	1,8	3,0	2,4	2,8	3,0	2,0	3,1	35,4



JULKAISIJA

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Viikinkaari 4

PL 2

00791 Helsinki

Puh. 0205 7511, faksi 0205 751 201

www.rktl.fi