

Vähän geneettistä vaihtelua naudan Y-kromosomissa

Juha Kantanen ja Johanna Vilkki

MTT Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, 31600 Jokioinen, juha.kantanen@mtt.fi, johanna.vilkki@mtt.fi

Johdanto

Luonnosta 8 000 – 10 000 vuotta sitten otetut nautaeläimet, niiden geneettiset erot ja tuhansia vuosia kestäneen kesytyshistorian aikana rotujen ja yksilöiden välille kehittynyt geneettinen vaihtelu muodostavat kesyn naudan geenivarat. Naudan geenivaroja on tutkittu autosomaalisten mikrosatelliittien, emänpuolelta periytyvän mitokondrio-DNA:n ja isänpuolelta periytyvän Y-kromosomaalisen DNA:n avulla (esimerkiksi Bradley ym. 1996; MacHugh ym. 1997; Hanotte ym. 2000).

Molekyyligeneettisestä markkeriaineistosta tarkastellaan rotujen sisäistä geneettistä vaihtelua, rotujen geenipoolin kehitystä, rotujen välisiä sukulaisuussuhteita ja kesytettyjen eläinlajien historiaa (Bradley ym. 1996; Hanotte ym. 2000). Rotujen sisäisen ja välisen geneettisen vaihtelun perusteella tunnistetaan ne eläinrodut, jotka ansaitsevat tulla säilytetyksi geneettisen ainutkertaisuutensa vuoksi (Eding ym. 2002).

Rodun geenipoolin kehitys voidaan selvittää täsmällisemmin, kun on tutkittu monipuolisesti erilaisia DNA-markkereita (Bradley ym. 1996; MacHugh ym. 1997; Hanotte ym. 2000). Kotieläinrodun tuotanto-ominaisuuksia on usein kehitetty risteytysten avulla. Tällöin on käytetty vieraan rodun sonneja uuden geeniaineksen saamiseksi. Tämän vuoksi mitokondrio-DNA:n ja Y-kromosomin antama tieto rotujen sukulaisuussuhteista voi poiketa toisistaan (Bradley ym. 1996; Hanotte ym. 2000). Tähän mennessä vain muutamissa nautarotujen molekyyligeneettistä muuntelua kartoittaneissa tutkimuksissa on hyödynnetty Y-kromosomin markkereita (Bradley ym. 1994; Edwards ym. 2000; Hanotte ym. 2000).

Tässä tutkimuksessa olemme analysoineet kuuden Y-kromosomaalisen mikrosatelliitin alleelista muuntelua. Analysoitujen mikrosatelliittien ei oletettu sijaitsevan Y-kromosomin pseudoautosomaalisella alueella. Tutkimusaineistossa oli sekä *Bos taurus taurus* -rotuja (kyytträtön taurine-tyypin nauta) ja *Bos taurus indicus* -rotuja (kyytträllinen seebu). Mitokondrio-DNA:n tutkimukset ovat osoittaneet, että näillä kahdella nautatyypillä on toisistaan poikkeava domestikaatiohistoria (Bradley ym. 1996).

Aineisto ja menetelmät

DNA eristettiin 483 sonnin pakastetusta siemennesteestä tai verestä käyttäen Zadwornyn ja Kuhnlein (1990) tai Millerin ym. (1988) esittämiä DNA:n eristysmenetelmiä. Tutkittuja rotuja oli 72. Sekä kyytträttömiä taurine-rotuja että kyytträllisiä seeburotuja tutkittiin. Mukana oli sekä maidontuotantoon että lihantuotantoon jalostettuja rotuja. Rodut olivat alkuperältään Intiasta, Etelä-Amerikasta, Afrikasta, Lähi-Idästä, Venäjältä ja Itä-Siperiasta, Ukrainasta, Valko-Venäjältä, Etelä-Euroopasta, Länsi-Euroopasta, Keski-Euroopasta, Pohjois-Euroopasta, Baltiasta ja Brittein saarilta. Suomalaisista roduista tutkittiin Suomen ayrshire, Suomen holstein-friisiläinen, itäsuomenkarja, länsisuomenkarja ja pohjoissuomenkarja. Samasta rodusta valittiin tutkittavaksi sonneja, joilla oli toisistaan poikkeava isänpuoleinen polveutumisen. Kaikista roduista ei voitu tehdä polveutumisen tarkistusta. Tällöin rodusta analysoitiin satunnaisotos eri sonneja.

Näytteistä analysoitiin kuusi Y-kromosomaalista mikrosatelliittia: INRA124, INRA126, INRA189, BM861, DYZ-1 ja BYM-1 (Bradley ym. 1994; Edwards ym. 2000; Ward ym. 2001).

Tilastolliset analyysit tehtiin joko lokuksittain tai käyttäen haplotyyppiaineistoa eli lokusten alleeliyhdistelmiä. Lokuskohtaisesti laskettiin koko 483 sonnin aineistosta eri alleelien frekvenssit ja eri lokusten geneettiset varianssit. Lokuskohtaiset geneettiset varianssit laskettiin Kayser ym. (2000) esittämän kaavan mukaan. Laskennassa huomioidaan lokuksen eri alleelien koko emäspareina ilmaistuna, alleelien keskimääräinen koko ja tutkittujen kromosomien lukumäärä.

Haplotyyppiainestosta laskettiin haplotyyppidiversiteetti (Nei 1987) kullekin rodulle erikseen ja kaikkien eri rotujen yhdistetylle aineistolle. Kahden rodun väliset F_{ST} geneettiset etäisyydet (Reynolds ym. 1983) laskettiin niinikään haplotyyppiaineiston perusteella. Rotujen väliset geneettiset etäisyydet havainnollistettiin kaksikulotteisena karttana. Rotujen sisäisen ja välisen geneettisen vaihtelun arvioitiin ARLEQUIN-ohjelmistolla (<http://anthropologie.unige.ch/arlequin>).

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Lokuskohtainen vaihtelu

Taulukossa 1 on esitetty kuuden tutkitun Y-kromosomaalisen mikrosatelliitin eri alleeleiden frekvenssit ja lokuskohtaiset geneettiset varianssit laskettuna koko aineistosta.

Taulukko 1. Koko aineistosta (483 sonnia) lasketut alleelifrekvenssit ja lokusten geneettiset varianssit. Alleelit on nimetty alleelien koon eli emäsparien (bp) mukaan.

| Lokus Alleelit (bp) | Frekvenssit | Lokuksen geneettinen Varianssi |
|---------------------|-------------|--------------------------------|
| INRA124 | | 0.248 |
| 130 | 0.066253 | |
| 132 | 0.933747 | |
| INRA189 | | 20.375 |
| 82 | 0.012422 | |
| 88 | 0.068323 | |
| 90 | 0.026915 | |
| 98 | 0.573499 | |
| 100 | 0.028986 | |
| 102 | 0.128364 | |
| 104 | 0.130435 | |
| 106 | 0.031056 | |
| BM861 | | 0.317 |
| 156 | 0.060041 | |
| 158 | 0.919255 | |
| 160 | 0.020704 | |
| INRA126 | | 2.755 |
| 180 | 0.012422 | |
| 182 | 0.126294 | |
| 184 | 0.451346 | |
| 186 | 0.347826 | |
| 188 | 0.057971 | |
| 190 | 0.004141 | |
| DYZ-1 | | 6.440 |
| 360 | 0.204969 | |
| 362 | 0.190476 | |
| 364 | 0.008282 | |
| 366 | 0.596273 | |
| BYM-1 | | 1.570 |
| 252 | 0.008282 | |
| 254 | 0.043478 | |
| 256 | 0.209110 | |
| 258 | 0.720497 | |
| 260 | 0.016563 | |
| 262 | 0.002070 | |

INRA189-locus osoittautui muita lokuksia muuntelevammaksi, mikä osoittaa markkerin hyödyllisyyden rotujen välisten geneettisten erojen tarkastelussa. Alleelifrekvenssit noudattivat yksihiippuista jakaumaa, toisin sanoen jokaisessa lokuksessa oli yksi muita yleisempi alleeli. Lukuunottamatta INRA189-locusta markkereiden alleelikokojen vaihtelu noudatti säännönmukaisuutta: peräkkäisten alleeleiden kokoero oli kaksi emäsparia. Tämä viittaa siihen, että tutkitut Y-kromosomaaliset mikrosatelliitit noudattavat askelmallista mutaatiomallia.

INRA124^{130bp}-alleeli esiintyi vain seeburoduilla ja vastaavasti INRA124^{132bp}-alleeli vain taurine-roduilla.

Haplotyyppidiversiteetti

Koko aineistosta löytyi 94 erilaista haplotyyppiä. Koko aineiston haplotyyppidiversiteetti oli 0.43.

Roduissa oli tyypillisesti vain 1-5 erilaista haplotyyppiä. Siten joissakin roduissa kaikilla tutkituilla sonneilla oli sama haplotyyppi eli tällöin rodun haplotyyppidiversiteetti oli 0. Eniten rodun sisäistä vaihtelua todettiin eräissä afrikkalaisissa roduissa (haplotyyppidiversiteetti 0.61-0.72). Suomalaisista roduista muuntelevin oli itäsuomenkarja (11 tutkittua sonnia), josta todettiin neljä erilaista haplotyyppiä. Rodun haplotyyppidiversiteetti oli 0.27. Suomen ayrshire-sonneja tutkittiin 14. Näillä oli kolme erilaista haplotyyppiä. Rodun haplotyyppidiversiteetti oli 0.06. Vastaavasti Suomen holstein-friisiläisrodusta (aineistona 11 sonnia) todettiin neljä haplotyyppiä ja haplotyyppidiversiteetti 0.14.

Rotujen väliset geneettiset etäisyydet

Rotujen ryhmittelyä varten laskettiin haplotyyppiaineistosta rotujen väliset F_{ST} geneettiset etäisyydet ja havainnollistettiin geneettiset etäisyydet kaksiolotteisella kartalla. Haplotyyppiaineiston perusteella taurine-tyypin rodut voitiin karkeasti jakaa kahteen erilliseen ryhmään. Seeburodut muodostivat oman ryhmän. Itäsuomenkarja ei kuulunut samaan taurine-ryhmään kuin muut suomalaiset rodut.

Johtopäätökset

Naudan Y-kromosomaaliset mikrosatelliitit ilmentävät vähemmän muuntelua kuin autosomaaliset mikrosatelliitit. Kantasen ym. (2000) pohjoiseurooppalaisten nautarotujen aineisto osoitti, että tutkituissa autosomaalisissa mikrosatelliiteissa oli 4 – 14 alleelia. Y-kromosomin mikrosatelliittien vähäisempää muuntelua selittää se seikka, että Y-kromosomeja on vähemmän kuin muita kromosomeja. Panmiktisessä nisäkäs populaatiossa, jossa on yhtä paljon uroksia ja naaraita, yhtä Y-kromosomia kohden on kolme X-kromosomia ja neljä autosomia. Tämä tutkimus osoitti toisaalta myös sen, että kesyllä naudalla on vähän Y-kromosomin haplotyyppijä. Kayser ym. (2000) analysoivat 20 ihmispopulaatiosta seitsemän mikrosatelliittia ja totesivat 598 erillistä haplotyyppiä. Myös nautarotujen haplotyyppidiversiteetin arvot olivat huomattavasti pienempiä kuin ihmispopulaatioiden saama arvot (0.86 – 0.99; Kayser ym. 2000). Kesyn naudän vähäinen Y-kromosomin muuntelu johtuu erityisesti siitä, että eri sukupolvissa on usein ollut vain muutamia lisääntyviä uroksia.

Naudan Y-kromosomin haplotyyppistä todettiin kaksi päätyyppiä: *Bos taurus taurus* – ja *Bos taurus indicus* –tyyppi. Aikaisemmin on havaittu (Bradley ym. 1996), että myös mitokondrio-DNA:n D-loopin sekvenssien perusteella taurine- ja seeburodut voidaan luokitella omiksi ryhmikseen. Tätä huomattavaa sekvenssieroa on selitetty sillä, että nykyinen kyttyrätön nauta ja kyttyräallinen seebu perustuvat eri kesytystapahtumiin ja eri alkuhäikäpopulaatioihin. Y-kromosomitutkimus antoi lisätodistetta näiden kahden nautatyyppin erillisille domestikaatiohistorialle. Suomalaisten nautarotujen geneettiset etäisyydet viittaavat siihen, että itäsuomenkarjalla olisi ainakin osittain erilainen rotuhistoria kuin länsi- ja pohjoissuomenkarjalla.

Kirjallisuus

Bradley, D.G., MacHugh, D.E., Cunningham, P. & Loftus R.T. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 93: 5131-5135.

Bradley, D.G., MacHugh, D.E., Loftus, R.T., Sow, R.S., Hoste, C.H. & Cunningham, E.P. 1994. Zebu-taurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in West African trypan-tolerant cattle populations. *Anim. Genet.* 25: 7-12.

Eding, H., Crooijmans, R. P.M.A., Groenen, M.A.M. & Meuwissen, T.H.E. 2002. Assessing the contribution of breeds to genetic diversity in conservation schemes. *Genetics Selection Evolution* 34: 613-633.

Edwards, C.J., Gaillard, C., Bradley, D.G. & MacHugh, D.E. 2000. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. *Anim. Genet.* 31: 127-130.

Hanotte, O., Tawah, C.L., Bradley, D.G., Okomo, M., Verjee, Y., Ochieng, J. & Rege J.E.O. 2000. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-Saharan African cattle breeds. *Molecular Ecol.* 9: 387-396.

- Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L-E., Lien, S., Vilkki, J., Brusgaard, K., Eythorsdottir, E., Danell, B. & Adalsteinsson, S.** 2000. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *J of Heredity* 91 (6): 446-457.
- MacHugh, D.E., Shriver, M.D., Loftus, R.T., Cunningham, P. & Bradley D.G.** 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of Taurine and Zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 146: 1071-1086.
- Miller, S.A., Dykes, D.D. & Polesky, H.F.** 1988. A simple salting out procedure for extractin DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- Nei, M.** 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, USA.
- Reynolds, J., Weir, B.S. & Cockerham, C.C.** 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-779.
- Zadworny, D. & Kuhnlein, U.** 1990. The identification of kappa-casein genotype in Holstein dairy cattle using the polymerase chain reaction. *Theor. Appl. Genet.* 80: 631-634.
- Ward, T.J., Skow, L.C., Gallagher, D.S., Schnabel, R.D., Nall, C.A., Kolenda, C.E., Davis, S.K., Taylor, J.F. & Derr, J.N.** 2001. Differential introgression of uniparentally inherited markers in bison populations with hybrid ancestries. *Anim. Genet.* 32: 89-91.