KYMMENEN KOIRARODUN PERINNÖLLINEN MONIMUOTOISUUS

Elina Paakala
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden laitos
Kotieläinten jalostustiede
2011

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty	Laitos — Institution — Department
Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta	Maataloustieteiden laitos

Tekijä — Författare — Author
Elina Paakala

Työn nimi — Arbetets titel — Title

Kymmenen koirarodun perinnöllinen monimuotoisuus

Oppiaine —Läroämne — Subject
Kotieläintiede

Työn laji — Arbetets art — Level	Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages
Maisterin tutkielma	Huhtikuu 2011	75

Tiivistelmä — Referat — Abstract

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää koirarotujen sisäistä ja välistä perinnöllistä muuntelua ja populaatioiden rakenteita. Tutkimuksessa käytettiin Finnzymes Oy:ltä saatua koirien mikrosatelliittimerkkeihin perustuvaa genotyypitysaineistoa. Lopullisessa aineistossa oli 395 koiraa kymmenestä keskenään varsin erilaisesta rodusta. Koirien määrä rotua kohti vaihteli 31:stä 53:een. Tutkimuksessa käytettiin 18 mikrosatelliittilokusta.

Alleelirikkaus vaihteli mikrosatelliittilokuksissa välillä 2,0 – 9,9. Kaikkein muuntelevin lokus oli AHT137 ja vähiten muunteleva AHTk211. Jackrussellinterrierin alleelirikkaus oli yli kaikkien lokusten tarkasteltuna suurinta ja cavalier kingcharlesinspanielin pienintä.

Eniten Hardy-Weinbergin tasapainosta poikkeavia mikrosatelliittilokuksia oli schipperke-rodulla. Coton de tulearin, saksanpaimenkoiran ja suomenlapinkoiran kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainossa. Cavalier kingcharlesinspanielin havaittu heterotsygotia-aste oli matalin kaikkien lokusten yli tarkasteltuna (0,50) ja suomenlapinkoiran korkein (0,73).

Ainoat tilastollisesti merkitsevät F_{IS}-arvot olivat schipperken lokuksessa INU030 (0,39) ja kaikkien lokusten yli tarkasteltuna (0,11). Eniten populaatioiden välisiin eroihin perustuvaa muuntelua oli cavalier kingcharlesinspanielin ja pitkäkarvaisen collien välillä (FST = 0,34) ja vähiten chihuahuan ja coton de tulearin välillä (F_{ST} = 0,07). Koko aineistossa noin 17,7 % populaatioiden välisestä geneettisestä muuntelusta johtui populaatioiden välisistä eroista. Rodut ovat tulosten perusteella selvästi erillisiä populaatioita. Coton de tulearin alleeliparit olivat selvästi eniten kytkentäepätasapainossa keskenään (94) ja tiibetinspanielin vähiten (15). Pitkäkarvaisen collien tehollinen populaatiokoko oli pienin (35) ja chihuahuan suurin (86).

Useiden populaatiogeneettisten tunnuslukujen perusteella nousivat esiin cavalier kingcharlesinspanieli, pitkäkarvainen collie ja schipperke perinnöllisen muuntelun vähäisyyden perusteella ja chihuahua, jackrussellinterrieri ja suomenlapinkoira keskimääräistä suuremman perinnöllisen muuntelun perusteella. Selityksiä geneettisen monimuotoisuuden vaihteluun näillä roduilla löytyy rotujen historiasta.

Avainsanat — Nyckelord — Keywords
Perinnöllinen monimuotoisuus, koira, mikrosatelliitti, sukusiitos, alleelirikkaus, heterotsygotia-aste, tehollinen populaatiokoko, kytkentäepätasapaino

Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited
Maataloustieteiden laitos ja Viikin kampuskirjasto

Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information
Työtä ohjasivat Kari Elo ja Marjatta Säisä

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty	Laitos — Institution — Department
Faculty of Agriculture and Forestry	Department of Agricultural Sciences

Tekijä — Författare — Author
Elina Paakala

Työn nimi — Arbetets titel — Title

Genetic diversity in ten dog breeds

Oppiaine —Läroämne — Subject
Animal Science

Työn laji — Arbetets art — Level	Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages
Master's thesis	April 2011	75

Tiivistelmä — Referat — Abstract

The aim of this master's thesis was to study genetic diversity within and between ten dog breeds. The original data was produced by Finnzymes Oy and it contained raw data files that were used to genotype microsatellite markers. The final data contained information from 395 dogs belonging to ten fairly different dog breeds. The amount of dogs per breed was from 31 to 53. The data was genotyped with 18 microsatellite markers.

Allelic richness varied between 2,0 – 9,9. The most variable microsatellite locus was AHT137 and the least variable AHTk211. Over all loci allelic richness was highest in Jack Russell Terrier and lowest in Cavalier King Charles Spaniel.

Schipperke had the largest amount of microsatellite loci that were not in Hardy-Weinberg equilibrium. In Coton de Tulear, German Shepherd Dog and Finnish Lapphund all microsatellite loci were in Hardy-Weinberg equilibrium. The lowest overall heterozygosity was in Cavalier King Charles Spaniel (0,50) and highest in Finnish Lapphund (0,73).

The only statistically significant F_{IS}-values were in Schipperke in locus INU030 (0,39) and over all loci (0,11). The most distant breeds according to F_{ST}-value were Cavalier King Charles Spaniel and Rough Collie (0,34) and the closest breeds were Chihuahua and Coton de Tulear (0,07). Overall between breeds diversity was 17,7 %. On the grounds of these results the ten breeds are distinct populations. Coton de Tulear had clearly the highest amount of allele pairs in linkage disequilibrium (94) and Tibetan Spaniel the lowest amount (15). Effective population size was lowest in Rough Collie (35) and highest in Chihuahua (86).

Based on many population genetic measures Cavalier King Charles Spaniel, Rough Collie and Schipperke seem to have the lowest genetic diversity and Chihuahua, Jack Russel Terrier and Finnish Lapphound the highest. Reasons for different levels of genetic diversity can be found on histories of these dog breeds.

Avainsanat — Nyckelord — Keywords
Genetic diversity, dog, microsatellite, inbreeding, allelic richness, heterozygosity, effective population size, linkage disequilibrium

Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited
Department of Agricultural Sciences and Viikki Campus Library

Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information
Supervisors Kari Elo and Marjatta Säisä

SISÄLLYS

1 JOHDANTO **6**

2 KATSAUS KIRJALLISUUTEEN **7**

2.1 Koiran historiaa **7**

2.2 Mikrosatelliitit **9**

2.3 Populaation sisäinen monimuotoisuus ja rakenne **12**

2.3.1 Sukusiitos 12

2.3.2 Alleelirikkaus 14

2.3.3 Heterotsygotia 15

2.3.4 Alleeli- ja genotyyppifrekvenssit 16

2.3.5 Tehollinen populaatiokoko 17

2.3.6 Kytkentätasapaino ja kytkentäepätasapaino 18

2.4 Populaatioiden geneettinen erilaistuminen **19**

3 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET **19**

4 AINEISTO JA MENETELMÄT **20**

4.1 Genotyyppiaineiston kuvaus **20**

4.2 Genotyyppi- ja sukulaisuusaineiston esikäsittely ja rajaus **20**

4.3 Valitut koirat **22**

4.4 Aineiston genotyypitys **24**

4.5. Käytetyt tilastolliset ohjelmistot ja analyysit **25**

5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU 30

5.1 Rotujen sisäinen geneettinen muuntelu ja rakenne 30

5.1.1 Alleelirikkaus 30

5.1.2. Heterotsygotia-asteet ja Hardy-Weinbergin tasapaino 32

5.1.3 Rotujen sisäinen rakenne F_{IS}-arvon perusteella 40

5.1.4 Tehollinen populaatiokoko 42

5.1.5 Mikrosatelliittilokusten kytkentäepätasapaino eri roduissa 44

5.2 Rotujen geneettinen erilaistuminen 46

5.3 Tulosten tarkastelu aineiston rakenteen ja rotujen jalostushistorioiden suhteen 48

6 JOHTOPÄÄTÖKSET 53

7 KIITOKSET 55

8 LÄHTEET 56

LIITE 1 64

LIITE 2 70

1 JOHDANTO

Rotukoirien jalostus on herättänyt keskustelua koiraharrastajien keskuudessa sekä laajemminkin yhteiskunnassa viime vuosina. Monet koirarodut ovat pieniä, suljettuja populaatioita, joissa sukusiitosaste on usein korkea ja tehollinen populaatiokoko pieni. Koirarotujen jalostus on vähentänyt perinnöllistä muuntelua. (Rooney ja Sargan 2010). Tästä johtuen koirien hedelmällisyysongelmat, geneettiset sairaudet ja rakenneongelmat ovat yleistyneet. Varsinaista jalostusta ei populaatiokooltaan pienissä roduissa voidakaan harjoittaa ilman perinnöllisen monimuotoisuuden menettämistä ja sukusiitosasteen merkittävää nousua.

Koirien genomisen tiedon lisäännyttyä on perinnöllistä monimuotoisuutta voitu tutkia DNA-tasolla esimerkiksi mikrosatelliittimerkkien avulla ja myöhemmin myös SNP-merkkeihin perustuen. Genomisen tiedon avulla saadaan tarkempia ja useamman sukupolven päähän ulottuvia tietoja koirien sukulaisuuksista kuin sukupuutiedoista, jotka ulottuvat vain muutamaan aiempaan sukupolveen ja voivat sisältää tahattomia tai tahallisia virheitä. Koirarotujen jalostuksen tai säilytyksen suunnittelu kestävällä tavalla on helpompaa, kun sukutiedot ja rodun nykytila tiedetään tarkasti.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin kymmenen koirarodun perinnöllistä monimuotoisuutta mikrosatelliittiaineiston perusteella. Aineistoksi muodostui 395 koiran näytetiedot. Koirat edustivat kymmentä eri rotua neljästä eri FCI:n roturyhmästä. Tutkimuksessa arvioitiin kymmenen koirarodun alleelirikkaus, havaittu ja odotettu heterotsygotia-aste, Hardy-Weinbergin tasapainotila, F_{IS}-arvo, tehollinen populaatiokoko, lokusten välinen parittainen kytkentäepätasapaino, F_{ST}-arvo sekä rotuihin assosioituminen.

2 KATSAUS KIRJALLISUUTEEN

Koira (*Canis lupus familiaris*) on poikkeuksellinen kotieläin valtavan rotukirjon ja käyttötapojen runsauden takia. Maailmassa erilaisia koirarotuja on yli neljä sataa. Rodut vaihtelevat muun muassa koon, värin, ruumiinrakenteen ja ominaisuuksien suhteen. Koiria on käytetty muun muassa metsästyksessä, vartioinnissa, laiduneläinten paimennuksessa, urheilueläimenä sekä seuraeläimenä ja lemmikkinä. Nykyään koiria käytetään esimerkiksi terapia-, opas- ja huumekoirina. Koiran merkitys lemmikkinä on lisääntynyt entisestään ja käyttö esimerkiksi metsästykseen ja paimennukseen on vähentynyt.

Koira on saanut aivan uuden merkityksen geneettisen tiedon lisääntyessä, kun koiraa on alettu käyttää lääketieteellisen tutkimuksen mallieläimenä (Galibert ym. 2004). Koiralla on paljon perinnöllisiä sairauksia, joita esiintyy myös ihmisellä. Koiraa voidaan käyttää tutkittaessa näiden sairauksien genotyyppi/fenotyyppi–suhteita ja analysoitaessa sairauksien syitä. Koiratutkimuksista on myös saatu lupaavia tuloksia geeniterapian käytöstä näissä sairauksissa (Switonski ym. 2004).

2.1 Koiran historiaa

Kaikki koirat ovat lähtöisin harmaasudesta (*Canis lupus*). Mitokondrio-DNA:n perusteella on arvioitu, että koira ja susi eriytyivät toisistaan jopa yli 100 000 vuotta sitten ja ovat peräisin samasta geenipoolista (Vila ym. 1997). 100 000 vuotta sitten on huomattavasti pitempi aika-arvio koirien domestikaation ajankohdasta kuin arkeologisten todisteiden valossa arvioitu noin 15 000 vuotta sitten (Zeder ym. 2006) tai jopa 31 000 vuotta sitten (Germonpre ym. 2009). Lyhyempi aika-arvio luultavasti viittaakin koiran ja ihmisen yhteiselon alkamiseen. Mitokondrio-DNA:n perusteella on päätelty, että koiran domestikoituminen tapahtui Itä-Aasiassa noin 15 000 vuotta sitten (Savolainen ym. 2002). Uudemman, SNP- ja haplotyyppianalyysiin perustuvan tutkimuksen mukaan koira ei domestikoitunut Aasiassa vaan Lähi-idässä (vonHoldt ym. 2010).

Uusimmat tutkimukset (mm. Vila ym. 2005, Pang ym. 2009) osoittavat, että koiran ja suden eriytymisen jälkeen tapahtui edelleen risteytymistä näiden lajien välillä. Esimerkiksi Skandinaviassa monet suomalaiset, ruotsalaiset ja saamelaiset pystykorvarodut

ovat risteytyneet suden kanssa domestikoitumisen jälkeenkin vielä 480 – 3 000 vuotta sitten. (Klütsch ym. 2010). VonHoldtin ym. (2010) mukaan näin on kuitenkin tapahtunut vain harvojen nykyisten rotujen, esimerkiksi basenjin, afgaaninvinttikoiran, akitan ja siperianhuskyn kohdalla. Tällaiset rodut luokitellaan ”muinaisiksi” roduiksi ja ne ovat yli 500 vuotta vanhoja. Koira ja susi pystyvätkin edelleen saamaan lisääntymiskykyisiä jälkeläisiä.

Jo 4 000 – 5 000 vuoden ajan on ollut olemassa erilaisia koiratyyppejä (esimerkiksi afgaaninvinttikoira ja japanilaisten pystykorvarotujen edeltäjät). Suurin osa koiraroduista on syntynyt vuoden 1850 paikkeilla ja sen jälkeen intensiivisen jalostustyön seurauksena (Björnerfeldt ym. 2008). Rotujen syntyyn vaikuttivat koiranäyttelyiden yleistyminen ja kennelklubien sekä kantakirjojen perustaminen.

Ensimmäiset koirat ovat luultavasti tulleet nykyisen Suomen alueelle ensimmäisten ihmisten mukana. Suomessa on viisi kotimaista koirarotua. Metsästyskoirarotuja ovat suomenpystykorva, karjalankarhukoira ja suomenajokoira (MTT 2010). Lisäksi Suomessa on kaksi poroa paimentavasta koirasta polveutuvaa koirarotua: lapinporokoira ja suomenlapinkoira.

Suomessa rekisteröitiin vuonna 2009 yli kolmestasadasta eri rodusta 50 800 pentua (Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry 2010a). Suomessa arvioidaan olevan noin 600 000 koiraa, joista 450 000 on puhdasrotuisia. Rotuihin ei yleensä oteta uusia koiria, vaan rekisterit ovat suljettuja. Poikkeuksen tekevät esimerkiksi jackrussellinterrieri, lapinporokoira ja suomenlapinkoira. Näihin rotuihin voidaan rekisteröidä koiria, jotka täyttävät rotuunoton vaatimukset. Rodut ovat usein täysin erillisiä populaatioitaan ilman risteyttämisiä lähirotujen kanssa joitakin poikkeuksia lukuun ottamatta. Rotujen risteyttämiseen tarvitaan Suomessa Kennelliiton lupa.

Monissa roduissa koirien lukumäärä on hyvin pieni. Joidenkin rotujen populaatio jakautuu edelleen pienempiin osiin värin, karvanlaadun, koon tai käyttötarkoituksen (käyttö- ja näyttelylinja) perusteella. Nämä seikat ja aiemmin suosittu linjajalostus sekä joidenkin suosittujen urosten liiallinen käyttö ovat pienentäneet koirarotujen perinnöllistä monimuotoisuutta. Joidenkin koirarotujen perinnöllistä monimuotoisuutta ovat vähentäneet myös esimerkiksi maailmansodista johtuneet populaatiokokojen rajut pienenemiset.

Sukusiitosasteiden noustessa on koirissa ilmennyt muun muassa rakenteellisia vikoja ja erilaisia perinnöllisiä sairauksia (Rooney ja Sargan 2010). Koirien jalostus onkin noussut puheenaiheeksi koiraharrastajien keskuudessa ja laajemminkin yhteiskunnassa. Suomessa rotujärjestöt ja Kennelliitto kiinnittävät asiaan entistä enemmän huomiota.

2.2 Mikrosatelliitit

Eliöiden genomeissa on toistojaksoja, jotka vaihtelevat paljon tai kohtalaisesti. Yksi toistojaksojen ryhmä on mikrosatelliitit (SSR eli simple sequence repeats). Mikrosatelliittien olemassaolo havaittiin ensimmäisen kerran noin 30 vuotta sitten (Litt ja Luty 1989, Weber 1990). Alussa niitä ei pidetty kiinnostavina, kunnes 1980-luvun lopulla huomattiin, että mikrosatelliitit ovat vahvoja mendelistisiä markkereita. Mikrosatelliiteista ja niiden molekyylirakenteesta sekä mutaatiovauhdista saadaan melko helposti tietoa, joten niiden käyttö yleistyi nopeasti. (Jarne ja Lagoda 1996). Mikrosatelliitteja on sittemmin käytetty tutkittaessa esimerkiksi perinnöllisiä sairauksia (mm. Young ym. 2005) ja lajien välisiä geneettisiä etäisyyksiä (mm. Parra ym. 2008). Mikrosatelliitteja on käytetty myös useissa tutkimuksissa tutkittaessa koirarotujen sisäistä ja välistä monimuotoisuutta (Zajc ja Sampson 1999, Koskinen ja Bredbacka 2000, Parra ym. 2008). Niillä saadaan tarkempaa ja pitemmälle ulottuvaa tietoa koirien sukulaisuuksista kuin sukupuutiedoista. Sukupuut ovat usein vain muutaman sukupolven mittaisia, jolloin yhteiset esivanhemmat eivät paljastu. Sukupuissa saattaa myös esiintyä tahattomia tai tahallisia virheitä.

Jos kahdelta yksilöltä tutkitaan tarpeeksi mikrosatelliitteja, ei kahdella toisilleen sukua olemattomalla yksilöllä ole samanlaisia alleeleja mikrosatelliittilokuksissa, paitsi jos alleelit ovat samanlaiset mutaatioista johtuen (IBS) (kts. kappele 2.3.1 Sukusiitos). Tällaiset tapaukset saadaan selville, kun tutkitaan tarpeeksi monta mikrosatelliittilokusta. Jos yksilöt puolestaan ovat sukua keskenään, ovat jotkin tai kaikki alleelit samanlaisia (Brown 1999). Tämän takia mikrosatelliitit ovat hyviä markkereita sukulaisuuden tutkimisessa. Mikrosatelliittien suhteellisen hitaan mutaatiovauhdin takia niiden seuraaminen sukupuissa on selkeää (Vaiman ym. 1994).

Mikrosatelliitit koostuvat 1 – 6 emäsparin mittaisista toistojaksoista. Tyypillisesti yhdessä toistojaksossa on joitakin kymmeniä toistoja (Brown 1999). Toistojaksoja voi olla

peräkkäin hyvin monia ja tyypillisesti mikrosatelliitit ovat eukaryooteilla pituudeltaan 1 – 5 kiloemästä. (Lesk 2007). Mikrosatelliitit ovat hyvin polymorfisia ja eukaryooteilla jakautuneet melko tasaisesti koko genomin alueelle, ollen kuitenkin harvinaisempia koodaavilla alueilla (Hancock, 1999). Mikrosatelliitit ovat kodominantteja ja ne periytyvät mendelistisesti (Jarne ja Lagoda 1996). Mikrosatelliittien määrä vaihtelee eri eliöillä. Useimmilla nisäkkäillä mikrosatelliitteja on arvioitu olevan noin 10 prosenttia koko genomista (Beckman ja Weber 1992). Mikrosatelliitteja on löydetty kaikista analysoiduista eliöistä.

Mikrosatelliiteilla on erilaisia perusrakenteita. Melkein kaikenlaisia yhdistelmiä yhden, kahden, kolmen ja useammankin nukleotidin mittaisista toistojaksoista esiintyy (Tautz 1989). Tavallisimmin mikrosatelliitissa toistuu vain kaksi emästä, esimerkiksi $(CA)_n$ (Schlötterer 1998). CA/TG-toistot ovat yleisimpiä kahden nukleotidin toistojaksoja ihmisen genomissa. Muiden nisäkkäiden genomit ovat tässä suhteessa samanlaisia. (Beckmann ja Weber 1992). Mikrosatelliitit voidaan jakaa kolmeen ryhmään niiden rakenteen perusteella. Jos toistojakso on täydellinen, toistuu sama kahden nukleotidin rakenne yhtenäisenä, esimerkiksi $(CA)_n$. Yhdistyneissä mikrosatelliiteissa useampi kahden nukleotidin toistojakso esiintyy yhdessä niiden lukumäärän vaihdellessa, esimerkiksi $(CA)_n(GA)_n$. Keskeytyneessä mikrosatelliitissa toistojakso koostuu useasta erilaisesta osasta, esimerkiksi $(CA)_nTA(CA)_nTT(CA)_n$. Kaikenlaiset yhdistelmät näistä tyypeistä ovat mahdollisia. (Weber 1990).

Mikrosatelliittien muuntelu perustuu toistojaksojen lisääntymiseen tai vähenemiseen. Weberin ja Wongin (1993) mukaan ihmisen mikrosatelliittien mutaatiovauhti on $1{,}2 \times 10^{-3}$ mutaatiota sukupolvessa lokusta kohti. Brinkmann ym. (1998) saivat vastaavaksi luvuksi $0 – 7 \times 10^{-3}$ ja Whittaker ym. (2003) $4{,}5 \times 10^{-4}$. Hiirien mikrosatelliitten mutaatiovauhti on puolestaan noin $4{,}7 \times 10^{-4}$ (Dallas 1992). Sikojen mikrosatelliittien mutaatiovauhdiksi on arvioitu 8×10^{-5} (Ellegren 1995). Koirien mikrosatelliittien mutaatiovauhdin on havaittu olevan $1{,}1 \times 10^{-2} – 3{,}9 \times 10^{-3}$ (Francisco ym. 1996, Irion ym. 2002, Parra ym. 2009).

Luultavasti yleisin mutaatiotyyppi, joka aiheuttaa mikrosatelliittien muuntelua on DNA-polymeraasin lipeäminen (slippage). Lipeäminen syntyy, kun DNA-synteesin aikana pidentyvä DNA-juoste pariutuu väärin mikrosatelliittialueella. Kun DNA-synteesi jat-

kuu väärin pariutuneessa juosteessa, lisääntyneet tai vähentyneet mikrosatelliittitoistot muodostavat silmukkarakenteen. DNA:n korjauksen yhteydessä suurin osa silmukoista häviää. Pitkissä ja GC-rikkaissa toistojaksoissa tapahtuu vähemmän lipeämistä kuin muunlaisissa toistojaksoissa. (Schlötterer 1998). Charkraborty ym. (1997) tulivat tutkiessaan di-, tri- ja tetranukleotiditoistojaksoja päätelmään, että mutaatiotaajuudella on käänteinen suhde toistojakson pituuteen eli että dinukleotiditoistojaksoissa tapahtuu eniten mutaatioita, trinukleotiditoistojaksoissa toiseksi eniten ja tetranukleotiditoistojaksoissa kaikkein vähiten. Toisaalta Weber ja Wong (1993) saivat selville tutkiessaan kahden, kolmen ja neljän nukleotidin mittaisia mikrosatelliitteja, että neljän nukleotidin mittaisilla toistojaksoilla on korkeampi mutaatiotaajuus kuin kahden nukleotidin mittaisilla. Myös Wierdl ym. (1997) tulivat siihen tulokseen, että toistojakson pituuden kasvaessa kasvaa myös sen epästabiilisuus eli mutaatioalttius. Kaikki mikrosatelliittilokukset eivät siis muutu evoluutiossa samalla tavalla. Nykyään yleinen käsitys on, että mutaatiovauhti kasvaa alleelitoistojen määrän kasvaessa (esim. Brinkmann ym. 1998, Whittaker ym. 2003, Ellegren 2004).

Mikrosatelliiteissa esiintyy myös niin sanottuja nolla-alleeleja. Nämä alleelit ovat olemassa DNA:ssa toistojaksoina mutta ne eivät monistu PCR:ssä (polymerase chain reaction), jos alukkeiden kiinnittymiskohdassa on tapahtunut yhden tai useamman emäksen mutaatio (Callen ym. 1993). Nolla-alleeleilla voi olla suuri vaikutus havaitun heterotsygotian vähenemiseen, kun sitä verrataan odotettuun heterotsygotiaan Hardy-Weinbergin yhtälön perusteella.

Mikrosatelliitteja on käytetty jo pitkään tutkittaessa populaatioiden perinnöllistä monimuotoisuutta. Uusin, nopeasti yleistyvä tapa tutkia näitä seikkoja on käyttää SNP-dataa. SNP:llä (single nucleotide polymorphism) tarkoitetaan yhden emäksen muuntelua. SNP-merkkejä on runsaasti ja ne ovat levittäytyneet koko genomin alueelle useimpien lajien genomeissa. SNP:iin perustuvaan genotyypitykseen tarvittava DNA-sekvenssi on lyhyempi kuin mikrosatelliitteihin perustuvassa genotyypityksessä (Morin ym. 2004).

2.3 Populaation sisäinen monimuotoisuus ja rakenne

Geneettinen monimuotoisuus (ts. perinnöllinen monimuotoisuus, vaihtelu) ilmenee hieman erilaisina DNA-sekvensseinä yksilön, rodun tai lajin perimässä. Geneettinen vaihtelu on populaatiossa olevien alleelien ja genotyyppien vaihtelua. Vaihtelua tarvitaan sopeuduttaessa muuttuvaan elinympäristöön. Kotieläinten kyseessä ollessa vaihtelu on tärkeää myös siksi, että ilman muuntelua ominaisuuksia ei voitaisi jalostaa haluttuun suuntaan. Vaihtelun väheneminen ilmenee yleensä elinvoimaisuuden menettämisenä: lyhyellä aikavälillä esiintyy sukusiitostaantumaa ja pitkällä aikavälillä myös haitalliset mutaatiot kerääntyvät populaatioon ja ilmenevät esimerkiksi perinnöllisinä sairauksina. Luonnonvalinta karsii kyllä haitallisia mutaatioita mutta sukusiitoksen aiheuttama kytkentä hidastaa karsiutumista. Perinnöllistä monimuotoisuutta mitataan ja kuvataan esimerkiksi alleelien ja genotyyppien frekvensseinä, alleelirikkautena sekä havaittuna ja odotettuna heterotsygotiana.

2.3.1 Sukusiitos

Sukusiitos tarkoittaa toisilleen sukua olevien yksilöiden pariutumista keskenään (Falconer ja Mackay 1996). Yksilöt ovat toisilleen sukua, jos niillä on yksi tai useampi yhteinen esivanhempi. Tällaisten yksilöiden jälkeläinen on sukusiitetty. Jos sukusiitetty jälkeläinen pariutuu itselleen sukua olemattoman yksilön kanssa, ei niiden jälkeläinen ole enää sukusiitetty vaan sukusiitos purkautuu. Sukusiitosta ei voi välttää suljetuissa populaatioissa. Pienissä populaatioissa sukulaistuminen on nopeampaa kuin suurissa. Sukusiitos lisää myös lajin tai rodun riskiä kuolla sukupuuttoon.

Sukusiitoksen seurauksena yksilöllä on suurempi todennäköisyys periä jonkin tietyn lokuksen alleelit, jotka ovat kopioita samasta DNA-sekvenssistä samalta esivanhemmalta, kuin jos sukusiitosta ei olisi (Falconer ja Mackay 1996). Tällaisiin alleeleihin viitataan termillä ”identical by descent” (IBD) eli ”alkuperältään identtiset”. Jonkin tietyn lokuksen alleelit voivat olla samanlaiset, vaikka niitä ei olisikaan peritty samalta esivanhemmalta. Tällöin käytetään termiä ”identical by state” (IBS). Sukusiitosta mitataan sukusiitoskertoimella (F). Sukusiitoskerroin on todennäköisyys, että lokuksen molemmat alleelit ovat IBD. Sukusiitoskerroin saa arvoja väliltä 0 - 1. Sukusiitoskerroin 1 tarkoittaa täysin sukusiitettyä yksilöä ja 0, että sukusiitosta ei ole lainkaan.

Koirarotujen sukusiitosasteiksi on havaittu esimerkiksi kuuden eri koirarodun suomalaispopulaatioissa 1,14 – 5,44 % (Mäki ym. 2001), viidessä hollantilaisessa koirarodussa 1,8 – 7,0 % (Nielen ym. 2001) ja useassa kymmenessä eri koirarodussa 0,2 – 8,8 % (Leroy ym. 2009a). Karjalainen ja Ojala (1997) saivat suomenajokoiran ja suomenpystykorvan sukusiitosasteiksi 3,12 % ja 7,16 %. Naudoilla sukusiitosasteet ovat vain muutaman prosentin luokkaa, esimerkiksi irlantilaisessa limousin-populaatiossa 0,57 % ja holstein-friisiläispopulaatiossa 1,35 % (McParland ym. 2007). Jersey-rodussa on sukusiitosasteeksi laskettu 1,20 % (Miglior ym. 1992). Esimerkiksi hannoverinhevosen sukusiitosaste on Hamannin ja Distlin (2008) mukaan 1,33 %.

Sukusiitos heikentää lisääntymistoimintoja ja elinvoimaisuutta (Falconer ja Mackay 1996). Tätä kutsutaan sukusiitostaantumaksi. Vaikutukset näkyvät esimerkiksi jälkeläisten määrän laskuna, jälkeläiskuolleisuuden lisääntymisenä sekä sperman laadun ja määrän sekä emojen jälkeläisten hoitokyvyn heikkenemisenä. Sukusiitostaantuma vaikuttaa myös muihin ominaisuuksiin, kuten kokoon ja esimerkiksi susien (Räikkönen ym. 2006) synnynnäisiin vikoihin. Vaikutus on kuitenkin suurinta lisääntymisominaisuuksissa (Frankham ym. 2002). Wildt ym. (1982) tutkivat sukusiitoksen vaikutuksia koiriin ja saivat selville, että sukusiitoskertoimen vaihdellessa välillä 0,13 – 0,56 seurauksena voi olla lisääntymisominaisuuksien heikkenemistä. Sukusiitoksen vaikutukset vaihtelevat yksilöittäin, roduittain ja lajeittain. Esimerkiksi Urfer (2009) ei havainnut sukusiitoksella olevan vaikutusta pentuekokoon ruotsalaisessa irlanninsusikoirapopulaatiossa. Tutkimuksessa käytettiin 30 sukupolven sukupuutietoja.

Sukusiitostaantumalle vastakkainen ilmiö on heteroosi, jossa sukusiitos ja sen haittavaikutukset purkautuvat. Heteroosivaikutus ilmenee sukusiitetyn yksilön jälkeläisissä, kun se on paritettu sellaisen yksilön kanssa, joka ei ole sille sukua. Tätä on käytetty hyväksi jo kauan muun muassa lihakarjan ja sikojen kasvatuksessa parempien lisääntymisominaisuuksien ja lihantuotannon saavuttamiseksi risteyttämällä erirotuisia eläimiä keskenään. Cassady ym. (2002) tutkivat heteroosivaikutusta neljän sikarodun risteytyksissä. Tuloksista selvisi, että risteytyseläinten paino kasvoi ja nisien sekä porsaiden määrä lisääntyi heteroosin vaikutuksesta, eli sukusiitoksen purkautuminen paransi lisääntymisominaisuuksia.

Jos sukusiitosastetta arvioidaan sukupuutietojen perusteella, riippuu sukusiitosasteen suuruus täysin siitä, miten pitkältä ajalta tietoja on saatavissa. Jos tietoja on kerätty pitkään, ovat sukusiitosasteet yleensä korkeita. Jos taas tietoja on vain lyhyeltä ajalta, eivät yhteiset esi-isät paljastu ja sukusiitosasteet jäävät alhaisiksi. Hitaasti tapahtuva sukusiitosasteen nousu aiheuttaa vähemmän sukusiitostaantumaa kuin nopea sukusiitosasteen nousu. Tämä johtuu siitä, että hitaasti tapahtuvaan sukusiitosasteen nousuun ehditään sopeutua evolutiivisin keinoin. Sukusiitosasteen nousun hillitsemiseksi on tärkeää käyttää niin paljon uroksia ja naaraita seuraavan sukupolven vanhempina kuin mahdollista. Uroksia ja naaraita olisi myös hyvä olla sama määrä.

Homotsygotialla tarkoitetaan jonkin lokuksen alleelien samanlaisuutta (esimerkiksi AA tai aa) ja heterotsygotialla niiden erilaisuutta (esimerkiksi Aa). Sukusiitos lisää homotsygotiaa ja vähentää heterotsygotiaa. Tällöin ei-sukusiitetyssä populaatiossa hyvin pienillä frekvensseillä esiintyvien resessiivisten alleelien homotsygoituminen tulee todennäköisemmäksi, jolloin resessiivinen ominaisuus voi ilmetä. Sukusiitos ei kuitenkaan muuta alleelifrekvenssejä, se vain ”järjestää” alleeleja uudella tavalla (Frankham ym. 2002).

2.3.2 Alleelirikkaus

Alleelien määrä riippuu paljon tarkastellun aineiston koosta, joten suuressa otoksessa on todennäköisemmin enemmän alleeleja kuin pienessä. Alleelirikkautta käytetään kuvaamaan alleelien monimuotoisuutta lokuksessa. Alleelirikkaus tarkoittaa otoskoolla korjattua alleelien määrää yhdessä lokuksessa. Koska tunnusluku on otoskoolla korjattu, voidaan eri kokoisia populaatioita vertailla sen suhteen keskenään. Jos kyseessä on useampi kuin yksi lokus, alleelirikkaus kuvaa keskimääräistä alleelien määrää lokuksessa (Frankham ym. 2002). Mitä suuremman arvon alleelirikkaus saa, sitä monimuotoisempana voidaan ko. lokusta pitää.

Björnerfeldt ym. (2008) saivat alleelirikkauksia väliltä 1,9 – 4,4 tutkiessaan yhdeksää eri koirarotua. Coutts ja Harley (2009) puolestaan havaitsivat saksalaisperäisen ja eteläafrikkalaisen saksanpaimenkoirapopulaation alleelirikkauksiksi 5,5 ja 5,4. Leroy ym. (2009a) tutkivat useita koirarotuja. Alleelirikkaus vaihteli välillä 2,3 (bullterrieri) – 6,9 (cursinu, harvinainen korsikalainen rotu). Randall ym. (2010) tutkivat harvinaisen etio-

piansuden alapopulaatioita ja havaitsivat alleelirikkauksia väliltä 4,2 – 4,4. Lipinski ym. (2008) tutkivat 22 kissarotua, 17 maatiaiskissapopulaatiota eri maista ja kolmea villikissalajia ja saivat rotukissojen alleelirikkauksiksi arvoja väliltä 1,98 – 3,45, kun maatiaiskissojen alleelirikkaus oli keskimäärin 3,41 ja villikissojen 3,36. Se, mitä eläinlajeja on tutkittu ja millainen tehollinen populaatiokoko on ollut vaikuttavat alleelirikkauksiin. Myös DNA-merkin tyyppi vaikuttaa tulosten vertailtavuuteen. Näissä tutkimuksissa on kaikissä käytetty mikrosatelliittimerkkejä, joten tulokset ovat vertailukelpoisia.

2.3.3 Heterotsygotia

Perinnöllisen muuntelun määrää voidaan mitata myös heterotsygotia-asteen avulla. Havaittu heterotsygotia-aste tarkoittaa heterotsygoottien yksilöiden suhteellista osuutta populaatiossa. Odotettu heterotsygotia-aste on puolestaan alleelitaajuuksien perusteella odotettavissa oleva heterotsygotia-aste populaatiossa. Jos populaatio on Hardy-Weinbergin lain mukaisessa tasapainossa, ovat havaittu ja odotettu heterotsygotia yhtä suuria (Frankham 2002). Jos havaittu heterotsygotia-aste on odotettua pienempi, voidaan olettaa, että populaatiossa on tapahtunut sukusiitosta. Jos havaittu heterotsygotia-aste on puolestaan odotettua suurempi, on valinnassa pyritty erityisesti välttämään sukulaisparituksia tai populaatio on riittävän suuren populaatiokoon tai sattuman vaikutuksesta säästynyt sukusiitokselta.

Leroy ym. (2009a) havaitsivat usean kymmenen koirarodun havaituiksi ja odotetuiksi heterotsygotia-asteiksi 0,40 – 0,77 ja 0,37 – 0,77. Samassa tutkimuksessa tässä tutkimuksessa mukana olevien rotujen havaituiksi ja odotetuiksi heterotsygotia-asteiksi saatiin seuraavia arvoja: cavalier kingcharlesinspanieli 0,45 ja 0,47, coton de tulear 0,70 ja 0,73, saksanpaimenkoira 0,64 ja 0,67, jackrussellinterrieri (sis. parssonrussellinterrierin) 0,75 ja 0,77 sekä siperianhusky 0,60 ja 0,64. Zajc ym. (1997) saivat saksanpaimenkoiran havaitun heterotsygotia-asteen keskiarvoksi yli kaikkien mikrosatelliittimarkkerien 0,31 ja odotetun heterotsygotia-asteen keskiarvoksi yli kaikkien mikrosatelliittimarkkerien 0,43. Koskisen ja Bredbackan (2000) tutkimuksessa saksanpaimenkoiran havaittu ja odotettu heterotsygotia-aste olivat 0,62 ja 0,64. Coutts ja Harley (2009) saivat havaituiksi ja odotetuiksi heterotsygotia-asteiksi saksalaisperäiselle saksanpaimenkoirapopulaatiolle 0,60 ja 0,62 sekä eteläafrikkalaiselle populaatiolle 0,59 ja 0,61. Irion ym. (2003) saivat jackrussellinterrierin havaituksi heterotsygotia-asteeksi 0,76.

Irion ym. (2005) tutkivat balilaisten katukoirien geneettistä muuntelua ja saivat katukoirien havaituksi heterotsygotia-asteeksi 0,69, mikä oli korkeampi kuin 28 koirarodun (0,56) tai dingon (0,43) samassa tutkimuksessa havaitut heterotsygotia-asteet. Roy ym. (1994) tutkivat suden kaltaisia koiraeläimiä ja havaitsivat heterotsygotia-asteita väliltä 0,41 – 0,65. Rotukissojen havaittu keskimääräinen heterotsygotia-aste on Lipinskin ym. (2008) mukaan 0,51, kun se maatiaiskissoilla on 0,65, mutta villikissoilla 0,53, eli lähes sama kuin rotukissojen.

F_{IS}-arvo (Wright 1965) mittaa populaation heterotsygotiavajausta. F_{IS}-arvon ollessa positiivinen, esiintyy populaatiossa odotettua enemmän homotsygootteja yksilöitä. Tällöin voidaan olettaa, että populaatiossa on sukusiitosta, koska homotsygotia lisääntyy sukusiitoksen lisääntyessä. Jos F_{IS}-arvo on puolestaan negatiivinen, on populaatiossa odotettua enemmän heterotsygoottisia yksilöitä. Tällöin voidaan olettaa, että populaatiossa on ulkosiitosta, koska heterotsygotia lisääntyy ulkosiittoisissa populaatioissa.

Leroy ym. (2009a) havaitsivat usean koirarodun F_{IS}-arvoiksi -0,10 – 0,17. Bullterrierin F_{IS}-arvo oli matalin ja villakoiran korkein. Villakoira on jakautunut neljään eri rotumuunnokseen ja näidenkin sisällä useaan erillään jalostettavaan ryhmään värin perusteella (Fédération Cynologique Internationale 2010). Näiden ryhmien käsittely yhtenä ryhmänä voi vaikuttaa heterotsygotiaa lisäävästi. Toiseksi korkein F_{IS}-arvo oli cocker-spanielilla (0,14). Koskinen ja Bredbacka havaitsivat viiden koirarodun F_{IS}-arvoja väliltä 0,01 – 0,13. Rotukissojen (Lipinskin ym. 2008) F_{IS}-arvo oli keskimäärin 0,12, maatiaiskissojen 0,09 ja villikissojen 0,29.

2.3.4 Alleeli- ja genotyyppifrekvenssit

Alleelifrekvenssi tarkoittaa jonkin alleelin osuutta populaation kaikista alleeleista tietyssä lokuksessa. Genotyyppifrekvenssi puolestaan kertoo jonkin genotyypin osuuden kaikista populaation genotyypeistä. Jos alleelin frekvenssi on tarkastellussa populaatiossa alle 0,005 (0,5%), voidaan sitä pitää harvinaisena (Hartl ja Clark 2007). Tällaiset alleelit ovat usein haitallisia.

Hardy-Weinbergin (Hardy 1908, Weinberg 1908) yhtälö kuvaa alleeli- ja genotyyppifrekvenssien välisiä suhteita:

$AA : p^2$ $Aa : 2pq$ $aa : q^2$, $p + q = 1$,

missä p on alleelin A (dominoiva) frekvenssi ja q on alleelin a (resessiivinen) frekvenssi.

Genotyyppien yleisyys populaatiossa määräytyy siis alleelifrekvenssien mukaan. Oletuksena Hardy-Weinbergin yhtälössä on, että sukupolvet eivät ole päällekkäisiä, pariutuminen on satunnaista, populaation koko on hyvin suuri (ääretön) eikä tapahdu mutaatiota, migraatiota eikä valintaa. Alleeli- ja genotyyppifrekvenssit pysyvät samoina sukupolvesta toiseen, jos yllä mainitut ehdot täyttyvät. Käytännössä mikään populaatio, varsinkaan kotieläinpopulaatio, ei ole näiden oletusten mukainen. Jos populaatio ei ole Hardy-Weinbergin tasapainotilassa, on siihen vaikuttanut jokin yllä luetelluista tekijöistä. Kuitenkin jo seuraavassa sukupolvessa populaatio palautuu Hardy-Weinbergin tasapainotilaan, jos oletukset jälleen täyttyvät.

2.3.5 Tehollinen populaatiokoko

Tehollinen populaatiokoko on se yksilöiden määrä, joka riittäisi tuottamaan populaatiosta lasketun sukusiitoskertoimen, heterotsygotiavajeen tai varianssin alleelifrekvenssissä, jos ne käyttäytyisivät ideaalipopulaation lailla (Frankham ym. 2002). Tehollisen populaatiokoon estimaatteja (N_e) voidaan laskea usealla eri tavalla. Yleisesti se lasketaan lisääntyvien naaraiden ja urosten määrästä, joten se on pienempi kuin populaation kaikkien eläinten lukumäärä (N), koska kaikki eläimet populaatiossa eivät lisäänny (Wright 1931). Teholliseen populaatiokokoon vaikuttaa epätasainen sukupuolijakauma (lisääntyviä uroksia ja naaraita on eri määrä), populaatiokoon vaihtelu sukupolvittain, vaihtelu jälkeläisten lukumäärässä eläintä kohti, päällekkäiset sukupolvet sekä se, kuinka paljon lisääntyvät yksilöt ovat sukua toisilleen. Tehollisen populaatiokoon on kasvien ja eläinten luonnonpopulaatioissa havaittu olevan keskimäärin vain noin yksi kymmenesosa koko kannan koosta ja nisäkkäilläkin vain noin kolmasosa (Frankham 1995).

Tehollisen populaatiokoon laskentakaava ($N_e = 4N_mN_f / (N_m + N_f)$), jossa N_m on urosten ja N_f naaraiden määrä populaatiossa (Wright 1931) antaa todellisuutta suuremman arvion tehollisesta populaatiokoosta, koska se ottaa huomioon vain epätasaisen sukupuolijakauman. Populaatiokoon vaihtelu sukupolvittain ja vaihtelu jälkeläisten lukumäärässä

ovat kaksi tärkeintä syytä siihen, että tehollinen populaatiokoko on pienempi kuin koko populaatio. Sukupuolijakauman tasaisuus on tärkeää, koska esimerkiksi populaatio, jossa käytetään kahta urosta ja tuhatta naarasta, on teholliselta populaatiokooltaan yhtä suuri kuin populaatio, jossa käytetään neljää urosta ja neljää naarasta. Molemmissa tapauksissa tehollinen populaatiokoko on kahdeksan. Se kumman sukupuolen edustajia on vähemmän, painottuu enemmän tehollisen populaatiokoon estimaatissa (Frankham ym. 2002). Kotieläimillä ja varsinkin koirilla tehollinen populaatiokoko on yleensä hyvin pieni, koska niillä harjoitetaan intensiivistä jalostusvalintaa ja vain hyvin pieni osa populaatiosta lisääntyy.

Tehollinen populaatiokoko määrää perinnöllisen monimuotoisuuden vähenemisen ja sukusiitoksen määrän (Frankham ym. 2002). Tehollisen populaatiokoon tulisi olla vähintään 50 yksilöä, jos halutaan säilyttää lisääntymisominaisuudet hyvinä ja välttyä lyhyen aikavälin sukusiitostaantumalta. (Franklin 1980, Soule 1980). 50 yksilön tehollinen populaatiokoko vastaa yhden prosentin nousua sukusiitosasteessa sukupolvea kohti (Frankham ym. 2002). Evolutiivisen potentiaalin säilyttäminen vaatii jopa 5 000 yksilön suuruista populaatiokokoa (Lande 1995). Mitä suurempi tehollinen populaatiokoko on, sitä parempi. Tehollista populaatiokokoa voidaan kasvattaa käyttämällä mahdollisimman monia eri yksilöitä seuraavan sukupolven vanhempina esimerkiksi asettamalla rajoituksia jälkeläismääriin.

Koirarotujen teholliset populaatiokoot ovat yleisesti pieniä, vaikka poikkeuksiakin löytyy. Calboli ym. (2008) laskivat sukupuuaineiston perusteella kymmenen brittiläisen koirarodun teholliset populaatiokoot. Teholliset populaatiokoot vaihtelivat välillä 17 – 114.

2.3.6 Kytkentätasapaino ja kytkentäepätasapaino

Satunnaispariutuvassa suuressa populaatiossa genotyyppejä syntyy alleelifrekvenssien osoittamassa suhteessa. Jos näin ei tapahdu kahden tai useamman lokuksen suhteen, ovat alleelit lokuksissa kytkentäepätasapainossa. Kytkentäepätasapaino tarkoittaa sitä, että kahden tai useamman lokuksen tietyt alleelit eivät esiinny populaatiossa odotusten mukaisesti, vaan tietyt alleelit esiintyvät yhdessä odotettua useammin. Jos alleelit ovat kytkeytyneet, ne periytyvät yhdessä. Tällaista alleeliparia tai –ryhmää kutsutaan haplo-

tyypiksi. Kytkentäepätasapainoa mitataan haplotyyppien poikkeamana kytkentätasapainosta. (Frankham ym. 2002). Kytkentäepätasapainoa voi aiheuttaa muun muassa satunnaisajautuminen, geneettiset pullonkaulat ja valinta. Koska nämä samat tekijät vaikuttavat myös sukusiitosasteen nousuun, voidaan olettaa, että kytkentäepätasapainon esiintyminen viittaa sukusiitoksen esiintymiseen.

2.4 Populaatioiden geneettinen erilaistuminen

F_{ST}-arvo (Wright 1965) mittaa osapopulaatioiden välistä erilaisuutta. Se kertoo, montako prosenttia kokonaismuuntelusta esiintyy osapopulaatioiden välillä verrattuna osapopulaatioiden sisäiseen geneettiseen muunteluun. Se siis kertoo, kuinka lähellä osapopulaatiot ovat toisiaan geneettisesti. F_{ST}-arvot vaihtelevat nollasta yhteen. Jos populaatioiden väliset erot perustuvat vain yksilöiden välisiin eroihin, on F_{ST}-arvo nolla. Kun geneettinen muuntelu perustuu vain populaatioiden välisiin eroihin, on F_{ST}-arvo yksi.

3 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää koirarotujen sisäistä ja välistä perinnöllistä muuntelua ja populaatioiden rakenteita. Tutkimuksessa arvioitiin kymmenen koirarodun alleelirikkaus, havaittu ja odotettu heterotsygotia-aste, Hardy-Weinbergin tasapainotila, F_{IS}-arvo, tehollinen populaatiokoko, lokusten välinen parittainen kytkentäepätasapaino, F_{ST}-arvo sekä yksilöiden assosioituminen rotuihin.

4 AINEISTO JA MENETELMÄT

4.1 Genotyyppiaineiston kuvaus

Tutkimuksessa käytettiin Finnzymes Oy:ltä saatua koirien mikrosatelliittimerkkeihin perustuvaa genotyyppiaineistoa. Finnzymes Oy on yritys, joka tarjoaa polveutumis- ja tautimäärityksiä koirille, naudoille sekä sioille ja villisioille. Yritykselle on kertynyt genotyyppiaineistoja koirien DNA-tunniste- ja DNA-polveutumismääritystutkimuksista, joita yritys myy koiranomistajille. Aineistoa on vuoden 2002 heinäkuusta lähtien toukokuun puoleenväliin 2010. Finnzymes Oy on genotyypittänyt koirien näytteitä kehittämillään genotyypityskiteillä. Yhteen genotyypityskittiin on valittu useita mikrosatelliittimerkkejä, jotka voidaan analysoida yhdessä elektroforeesiajossa.

Yhteensä käytössä on ollut viisi eri kittiä seuraavasti: Panel 1 ja Panel 2 kesäkuusta 2003 lähtien, Panel 2.0 9.2. – 24.5.2007, Panel 1.1 ja Panel 2.1 24.5.2007 lähtien. Paneeleissa 2.0 ja 2.1 on täysin samat merkit. Eniten on käytetty Canine Genotypes™ Panel 1.1 – kittiä (Finnzymes Diagnostics 2007). Koirien genotyypitykset on tehty kapillaarielektroforeesiin perustuvilla DNA-analysaattoreilla. Aineisto saatiin Finnzymes Oy:ltä DNA-analysaattorien tulostiedostoina (ns. elektroferogrammeina). Yhteensä tiedostoja saatiin 1,86 gigatavua. Tulostiedostoja oli yhteensä 14 347 kappaletta.

4.2 Genotyyppi- ja sukulaisuusaineiston esikäsittely ja rajaus

Ensin aineistosta laskettiin koirien lukumäärä roduittain ja tarkistettiin, onko aineistossa mukana koiran rekisteri- tai tunnistemerkintänumero, joiden perusteella polveutumistiedot ovat saatavissa Suomen Kennelliitosta. Aineistossa oli yhteensä noin 7 000 koiraa, jotka jakautuivat noin kahteensataan eri rotuun. Lisäksi joukossa oli muutama sekarotuinen koira sekä noin 150 koiraa, joiden rotutiedot puuttuivat. Aineistossa oli myös jonkin verran koiria, joiden rotu oli ilmoitettu mutta niiden rekisteri- ja / tai tunnistenumero puuttui, joten ne jouduttiin jättämään tarkastelun ulkopuolelle, koska niiden polveutumista ei voitu saada selville. Tunnistemerkintänumeroita oli useammalla koiralla kuin rekisterinumeroita. Saattaa olla, että polveutumismääritystä tehtäessä pentueella ei vielä ole rekisterinumeroita tai kyseessä on ulkomainen tai tuontikoira, jolla ei ole suomalaista rekisterinumeroa. Koirat olivat pääasiassa suomalaisia koiria, mutta joukossa

oli myös tuonti- ja ulkomaisia koiria. Roduista valittiin tarkempaan tarkasteluun ne, joiden edustajia oli aineistossa yli sata yksilöä.

Joidenkin rotujen kohdalla haettiin lisätietoa väristä Suomen Kennelliiton KoiraNet Jalostustietojärjestelmästä (Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry 2010b), koska näissä roduissa erivärisiä koiria jalostetaan joko täysin tai jossain määrin erillisinä populaatioinaan. Tämän johdosta muutaman rodun populaatiot pirstoutuivat alle sadan yksilön ryhmiksi. Tällaisia monimutkaisia tapauksia olivat esimerkiksi cockerspanielit, jotka jaetaan kahteen ryhmään värin mukaan (yksiväriset ja kirjavat) sekä käyttötavan mukaan (näyttely- ja käyttölinja). Kääpiövillakoira taas jaetaan kahteen väriryhmään (aprikoosi, harmaa ja punainen sekä musta, ruskea ja valkoinen), joita nykyään saa risteyttää keskenään mutta joidenkin värien risteyttämistä ei suositella (Johanna Markola, Suomen Villakoirakerho ry, sähköposti kirjoittajalle 25.5.2010). Joitain samaan ryhmäänkään kuuluvia värejä ei risteytetä keskenään (esimerkiksi ruskea ja valkoinen). Oikeastaan kääpiövillakoiraa voidaan pitää villakoiran alarotuna, koska virallisesti kaikki neljä kokoluokkaa (iso, keskikokoinen, kääpiö ja toy) kuuluvat samaan rotuun (Fédération Cynologique Internationale 2010). Lopulta kääpiövillakoira päätettiin jättää tutkimuksen ulkopuolelle. Tanskandogit puolestaan jaetaan kolmeen eri väriryhmään (musta ja harlekiini, sininen sekä keltainen ja tiikerijuovainen), jotka ovat melko erillisiä populaatioita, vaikkakin viime vuosina on risteytetty koiria eri väriryhmistä (Suomen Tanskandoggi ry 2010).

Roduittain pyrittiin valitsemaan vähintään 30 koiran otos, joilla ei ole yhteisiä vanhempia tai isovanhempia. Näin meneteltiin, että saataisiin edustava otos roduista. Koska otoskoko oli tässä tutkimuksessa vain kymmeniä koiria, saman perheen jäsenet tekisivät otoksesta harhaisen. Suomen Kennelliittoon lähetettiin pyyntö saada sukulaisuustietoja 3 297:stä 18:aa eri rotua edustavasta koirasta. Varhaisin vuosi, jona koirat oli rekisteröity, vaihteli roduittain. Varhaisimmat näytteet olivat vuonna 1987 rekisteröidyiltä suomenlapinkoirilta. Kaikilta roduilta pyydettiin sukulaisuustiedot pyyntöajankohtaan asti (14.6.2010). Koirien sukulaisuustiedot ovat kyllä julkisesti saatavilla KoiraNet Jalostustietojärjestelmästä (Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry 2010b) mutta jokaisen koiran sukulaisuustietojen etsiminen sieltä yksitellen olisi ollut kovin työlästä. Rodut, joista oli testattu yli sata yksilöä, olivat pääsääntöisesti rotuja, joiden kokonaismäärä on muutenkin suuri Suomessa.

Kennelliitosta saadussa aineistossa oli mukana kaikki kyseisinä vuosina rekisteröidyt kunkin rodun koirat. Aineisto yhdistettiin Finnzymes Oy:stä saatuihin näytetietoihin Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmalla koiran rekisterinumeron perusteella ja ylimääräisten koirien tiedot karsittiin. Suomen Kennelliitosta saaduissa sukulaisuustiedoissa oli tiedot vain koiran isästä ja emästä. Isovanhempien tietojen yhdistäminen koiran tietoihin vaati niiden hakemista koiran isän ja emän perusteella Suomen Kennelliitosta saadusta datasta. Tämä onnistui Excel-ohjelmaan tehdyn kaavan avulla. Tässä vaiheessa koirat olivat näytenumeron mukaisessa järjestyksessä. Sellaisten koirien määrä, joilta oli sekä tarvittavat näyte-, tunniste- että sukulaisuustiedot oli lopulta 3 105 kappaletta. Kolmessa rodussa (cockerspanieli, estrelanvuoristokoira ja schipperke) koirien lopullinen määrä jäi hieman alle sadan, mutta rodut päätettiin silti pitää tutkimuksessa mukana.

Koirat, joilla ei ollut yhteisiä vanhempia tai isovanhempia valittiin lajittelemalla koirat ensin isänisän mukaan. Niistä, joilla oli sama isänisä, valittiin se koira, joka sattui olemaan taulukossa ensimmäisenä eli käytettiin systemaattista otantaa. Samalla tavalla meneteltiin myös emänisän, isänemän ja emänemän kohdalla. Samasta pentueesta tuli siis valituksi koira, joka oli testattu ensimmäisenä ja oli luultavasti rekisteröitykin ensimmäisenä. Koiria, joilla ei ole yhteisiä vanhempia tai isovanhempia oli yhteensä 945 kappaletta. Jacrussellinterriereissä ja suomenlapinkoirassa oli mukana koiria, joilla ei ollut polveutumistietoja ja / tai ne olivat rotuunotettuja, jolloin polveutumistiedot myös yleensä puuttuivat tai olivat puutteelliset. Muissakin roduissa oli muutama koira, joilla ei ollut täydellisiä kolmen sukupolven polveutumistietoja. Sukulaisuuksien perusteella valituista 945 koirasta karsiutui vielä 47 koiraa, koska niiden genotyypistystiedostoja ei jostain syystä löytynyt Finnzymes Oy:ltä saadusta datasta, vaikka koirien tiedot alkuperäisessä rotu- ja tunnistetiedot sisältävässä tiedostossa olivatkin.

4.3 Valitut koirat

Tutkimukseen otettiin lopulta mukaan vain yhdellä mikrosatelliittimerkkijoukolla (Canine Genotypes™ Panel1.1:llä) genotyypitettyjä näytteitä. Täten lopullisessa aineistossa oli mukana 395 koiraa kymmenestä keskenään varsin erilaisesta rodusta. Koirat edustivat neljää eri FCI:n (Fédération Cynologique Internationale) roturyhmää (taulukko 1): ryhmä 1: lammas- ja karjakoirat (pitkäkarvainen collie, saksanpaimenkoira ja schipper-

ke), ryhmä 3: terrierit (jackrussellinterrieri), ryhmä 5: pystykorvat ja alkukantaiset koirat (siperianhusky ja suomenlapinkoira) sekä ryhmä 9: seurakoirat ja kääpiökoirat (cavalier kingcharlesinspanieli, chihuahua, coton de tulear ja tiibetinspanieli). Myös rotujen alkuperäinen käyttötarkoitus vaihteli. Seurakoiriksi voidaan luokitella kaikki neljä ryhmään 9 kuuluvaa rotua. Näistä tiibetinspanieli on toiminut myös vahtikoirana tiibetiläisissä luostareissa (Tiibetinspanielit ry 2010). Paimenkoiria ovat pitkäkarvainen collie sekä saksanpaimenkoira: Samaan ryhmään 1 kuuluvaa schipperkeä on käytetty vahtikoirana mutta nykyään rotu on puhtaasti seurakoira (Suomen Schipperkekerho ry 2010). Jackrussellinterrieriä on käytetty kettujen ja muun riistan metsästyksessä (Suomen Jackrussellinterrierit ry 2010a). Siperianhusky puolestaan on rekikoira (Suomalainen Siperianhusky seura - Finska Siberian Husky -sällskapet ry 2010) ja suomenlapinkoiraa käytetään yhä porojen vahtina ja paimenena mutta aiemmin sitä on käytetty myös metsästykseen (Lappalaiskoirat ry 2010).

Tutkimukseen valittujen koirien määrä rotua kohti vaihteli 31:stä 53:een (taulukko 1). Uroksia oli yhteensä 241 kappaletta ja narttuja 154 kappaletta, eli urosten osuus oli noin 61 % ja narttujen osuus noin 39 % koko aineistosta. Uroksia oli narttuja enemmän muissa roduissa paitsi coton de tulearissa ja saksanpaimenkoirassa. Tutkimukseen valittujen koirien osuus Suomessa yhteensä rekisteröidyistä ko. rodun koirista vaihteli 0,05 %:sta (saksanpaimenkoira) 1,18 %:iin (schipperke). Tuonti- ja ulkomaisten koirien määrä vaihteli roduittain ollen alhaisin suomenlapinkoirissa (2 koiraa) ja korkein jackrussellinterriereissä (16 koiraa). Lisäksi jackrussellinterriereissä oli mukana 13 ja suomenlapinkoirissa 1 rotuunotettu koira. Nämä laskettiin mukaan rodun kotimaiseen populaatioon. Tuonti- ja ulkomaisten koirien osuus valituista koirista oli pääsääntöisesti 20 – 40 prosenttia, paitsi suomenlapinkoiralla, jolla se oli vain viisi prosenttia. Suomenlapinkoirien alhainen tuontimäärä johtuu rodun kotimaisuudesta, suurin suomenlapinkoirapopulaatio on Suomessa. Tuontikoirien osuus kaikista Suomessa vuonna 2009 rekisteröidyistä koirista näissä kymmenessä rodussa vaihteli 0,5 prosentista (suomenlapinkoira) 8 prosenttiin (schipperke). Suurimmassa osassa rotuja ulkomaista alkuperää olevien koirien osuus oli siis tässä tutkimuksessa suurempi kuin kunkin rodun suomalaisessa populaatiossa keskimäärin.

4.4 Aineiston genotyypitys

Aineiston genotyypitykseen käytettiin GeneMapper -ohjelman versiota 4.0 (Applied Biosystems, USA). Panel 1.1:ssä on 18 mikrosatelliittimerkkiä: AHT121, AHT137, AHTh171, AHTh260, AHTk211, AHTk253, CXX279**,** FH2054, FH2848, INRA21, INU005, INU030, INU055, REN162C04, REN169D01, REN169O18, REN247M23 ja REN54P11. Mukana on myös Amelogenin-merkki, joka ei ole mikrosatelliittimerkki vaan Y-kromosomissa oleva merkki, joka on mukana paneelissa sukupuolen määrittämistä varten. Taulukossa 2 ovat kaikkien käytettyjen mikrosatelliittimerkkien alukkeiden sekvenssit, alukkeiden kiinnittymislämpötilat PCR:ssä sekä kromosomit, joissa mikrosatelliittimerkit sijaitsevat koiran genomissa.

Aineistosta luotiin projekteja näytteen saapumispäivän mukaan kuukausittain. Jos kuukausittainen näytemäärä jäi pieneksi, yhdistettiin kaksi peräkkäistä kuukautta. Projektit analysoitiin GeneMapper -ohjelmalla ja elektroferogrammit käytiin läpi väärien ja puuttuvien tietojen korjaamiseksi.

Taulukko 1. Tutkimukseen valittujen koirien rodut, roturyhmät, lukumäärä, urosten ja narttujen lukumäärä, urosten osuus sekä tuonti- ja ulkomaisten koirien määrä roduittain.

Rotu	Lyh.	FCI	Lkm	U	N	U%	T
Cavalier kingcharlesinspanieli	CAV	9	41	27	14	66%	13
Chihuahua	CHI	9	35	26	9	74%	10
Collie, pitkäkarvainen	COL	1	35	26	9	74%	8
Coton de tulear	COT	9	49	22	27	45%	14
Jackrussellinterrieri	JAC	3	53	32	21	60%	16 + 13 rotuunottoa
Saksanpaimenkoira	SAK	1	43	20	23	47%	11
Schipperke	SCH	1	31	16	15	52%	13
Siperianhusky	SIP	5	37	24	13	65%	9
Suomenlapinkoira	SUO	5	37	26	11	70%	2 + 1 rotuunotto
Tiibetinspanieli	TSP	9	34	22	12	65%	7
Yhteensä			395	241	154	61%	103 + 14 rotuunottoa

Lyh. = lyhenne, FCI = FCI:n roturyhmä, Lkm = koirien määrä, U = urosten määrä, N = narttujen määrä, U% = urosten osuus, T = tuonti- ja ulkomaisten koirien määrä.

4.5. Käytetyt tilastolliset ohjelmistot ja analyysit

Genotyypityksen jälkeen genotyypit koottiin roduittain Excel -tiedostoon. Genotyyppiaineisto käsiteltiin The Excel Microsatellite Toolkit -ohjelmalla (versio 3.1.1, Park 2001), jolla aineisto muunnettiin Arlequin- (versio 3.5.1.2 Excoffier ja Lischer 2010), FSTAT- (versio 2.9.3.2, Goudet 1995) ja Structure- (versio 2.3.3, Pritchard ym. 2000) ohjelmille sopiviin muotoihin.

Koska tässä aineistossa eri rotujen havaintomäärät olivat erisuuruisia, käytettiin alleelien monimuotoisuutta kuvaamaan alleelirikkautta sen sijaan että olisi vain laskettu havaittujen alleelien määrä lokusta kohti. Alleelirikkaus kertoo eri alleelien odotetun määrän kun otoksessa on tietty määrä yksilöitä. Koska alleelirikkaus on otoskoon suhteen korjattu tunnusluku, voidaan eri rotuja verrata suoraan keskenään. Otoskoko määräytyy pienimmän otoksen mukaan, joka tässä aineistossa oli 31 (schipperke).

Taulukko 2. Mikrosatelliittimerkit.

Mikrosat.	Forward-aluke	Reverse-aluke	Cº	Krom.	Lähde
AHTk211	TTAGCAGCCGA GAAATACGC	ATTCGCCCGACT TTGGCA	63°C	26	Breen ym. 2001
CXX279	TGCTCAATGAAA TAAGCCAGG	GGCGACCTTCAT TCTCTGAC	55°C/ 59°C	22	Ostrander ym. 1993
REN169O18	CACCCAACCTGT CTGTTCCT	ACTGTGTGAGCC AATCCCTT	60°C	29	Breen ym. 2001
INU055	CCAGGCGTCCCT ATCCATCT	GCACCACTTTGG GCTCCTTC	60°C	10	AF421447
REN54P11	GGGGGAATTAA CAAAGCCTGAG	TGCAAATTCTGA GCCCCACTG	55°C	18	Mellersh ym. 2000
INRA21	ATGTAGTTGAGA TTTCTCCTACGG	TAATGGCTGATT TATTTGGTGG	60°C	21	Mariat ym. 1996
AHT137	TACAGAGCTCTT AACTGGGTCC	CCTTGCAAAGTG TCATTGCT	52 °C	11	Holmes ym. 1995
REN169D01	AGTGGGTTTGCA AGTGGAAC	AATAGCACATCT TCCCCACG	56 °C*	14	Breen ym. 2001
AHTh260	CGCTATACCCAC ACCAGGAC	CCACAGAGGAA GGGATGC	69°C	16	Breen ym. 2001
AHTk253	CTCAAAGGCGTT CTTTCCAG	GCACATGGAGG ACAAGCAC	56°C	23	Breen ym. 2001
INU005	CTTTCTACCAGC AAGGTTAC	TTCCCATTTAAT TGCCTCT	58°C	33	AF421441
INU030	GGCTCCATGCTC AAGTCTGT	CATTGAAAGGG AATGCTGGT	58°C	12	AF421466
Amelogenin	CAGCCAAACCTC CCTCTGC	CCCGCTTGGTCT TGTCTGTTGC	50°C	X	Salido ym. 1992
FH2848	CAAAACCAACC CATTCACTC	GTCACAAGGAC TTTTCTCCTG	56 °C*	2	Breen ym. 2001
AHT121	TATTGCGAATGT CACTGCTT	ATAGATACACTC TCTCTCCG	59°C	13	Holmes ym. 1995
FH2054	GCCTTATTCATT GCAGTTAGGG	ATGCTGAGTTTT GAACTTTCCC	58°C	12	Breen ym. 2001
REN162C04	TTCCCTTTGCTT TAGTAGGTTTTG	TGGCTGTATTCT TTGGCACA	56 °C*	7	Breen ym. 2001
AHTh171	CTCACCAGGCAT AGACACTCAG	CTCATTTGTTCA CGCACCC	53°C	6	Breen ym. 2001
REN247M23	TGGTAACACCA AGGCTTTCC	TGTCTTTTCCAT GGTGGTGA	56 °C*	15	Breen ym. 2001

Mikrosat. = mikrosatelliittimerkki, Cº = kiinnittymislämpötila, Krom. = kromosomi, * kiinnittymislämpötilan lähde Steckler 2010.

Alleelirikkaus (R_S) laskettiin FSTAT-ohjelman (versio 2.9.3.2, Goudet 1995) avulla. FSTAT käyttää El Mousadik'n ja Petit'n (1996) antamaa kaavaa alleelirikkaudelle perustuen Hurlbertin (1971) kaavaan eläinlajien odotetulle määrälle. Periaate on estimoida alleelien odotettua määrää "alaotoksessa", joka on kooltaan 2n:

$$R_S = \sum_{i=1}^{ni}[1 - \binom{2N - Ni}{2N} / \binom{2N}{2n}],$$

missä n = pienimmän otoksessa mukana olevan populaation yksilömäärä (tässä tutkimuksessa 31) ja N_i = alleelin i määrä 2N:ssä.

Heterotsygotia-astetta käytetään yleisesti kuvaamaan yksittäisen lokuksen monimuotoisuutta. Heterotsygotia-asteet laskettiin Arlequin-ohjelman versiolla 3.5.1.2 (Excoffier ja Lischer 2010). Heterotsygoottien havaittu (H_H) osuus yhdessä lokuksessa lasketaan jakamalla lokuksen suhteen heterotsygoottien yksilöiden määrä (h) kaikkien otoksessa olevien yksilöiden määrällä (n):

$$H_H = h / n.$$

Odotettu heterotsygotia lasketaan seuraavasti:

$$H_O = 1 - \sum p_i^2,$$

missä p_i on i:nnen alleelin frekvenssi lokuksessa (Nei 1978). Arlequin-ohjelma käyttää seuraavaa kaavaa (Nei 1987):

$$\hat{H} = (n / n - 1) (1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2),$$

missä n on yksilöiden määrä, k on haplotyyppien määrä ja p_i on i:nnen alleelin frekvenssi lokuksessa.

Hardy-Weinbergin tasapaino testattiin odotettujen ja havaittujen heterotsygotia-asteiden avulla. Poikkeamien havaitsemiseksi Hardy-Weinbergin tasapainotilasta Arlequin-ohjelma käyttää Guon ja Thompsonin (1992) menetelmää, joka käyttää Fisherin testille analogista testiä 2 x 2 –satunnaistaulukoille mutta laajennettuna kolmionmuotoiseksi satunnaisen kokoiseksi satunnaistaulukoksi. Riskitaso korjattiin vastaamaan 0,05 prosentin riskitasoa käyttämällä Sidakin korjausta (Sidak 1967):

$$p' \leq 1 - (1 - p)^{1/N},$$

missä p’ on tutkimuskohtainen riskitaso, p testikohtainen riskitaso ja N testien lukumäärä. Testien lukumäärä on mikrosatelliittilokusten lukumäärä (tässä tutkimuksessa 18).

Kaikille lokuksille erikseen sekä yli kaikkien lokusten laskettiin Wrightin (1965) määrittelemä fiksoitumisindeksi F_{IS} (f) eli F_{IS}-arvo FSTAT-ohjelman (versio 2.9.3.2, Goudet 1995) avulla Weirin ja Cockerhamin (1984) kuvaaman menetelmän mukaan. F_{IS}-arvo (f) mittaa osapopulaatioiden (rotujen) heterotsygotiavajauksia:

$$F_{IS} = (H_O - H_H) / H_O,$$

missä H_O kuvaa Hardy-Weinbergin tasapainon mukaisia odotettuja heterotsygotia-asteita osapopulaatioiden sisällä ja H_H koko populaation havaittua heterotsygotia-astetta. Jos F_{IS}-arvo on negatiivinen, on populaatiossa odotettua enemmän heterotsygoottisia yksilöitä. F_{IS}-arvon ollessa positiivinen, esiintyy populaatiossa odotettua enemmän homotsygootteja yksilöitä. Tällöin voidaan olettaa, että populaatiossa on sukusiitosta, koska homotsygotia lisääntyy sukusiitoksen lisääntyessä.

Koirarotujen tehollinen populaatiokoko laskettiin Excel-taulukkolaskentaohjelmalla Arlequin-ohjelman versiolla 3.5.1.2 (Excoffier ja Lischer 2010) laskettujen odotettujen heterotsygotia-asteiden ja kirjallisuudesta saadun mikrosatelliittien mutaatiovauhdin perusteella. Laskemisessa käytettiin Nein (1987) kuvaamaa kaavaa:

$$H_O = 4Nv / (1 + 4Nv),$$

missä H_O on odotettu heterotsygotia-aste, N on tehollinen populaatiokoko ja v on mutaatiovauhti (tässä tapauksessa mikrosatelliittien mutaatiovauhti). Kaavasta ratkaistiin N, jolloin se saatiin muotoon:

$$N = -H_O / (H_O 4v - 4v).$$

Koirien mikrosatelliittien mutaatiovauhdin on havaittu olevan $1{,}1 \times 10^{-2} - 3{,}9 \times 10^{-3}$ (Francisco ym. 1996, Irion ym. 2003, Parra ym. 2009). Tehollisen populaatiokoon laskemisessa käytettiin pienimmän ja suurimman arvon keskiarvoa, joka on 0,00745.

Lokusten välinen parittainen kytkentäepätasapaino laskettiin kaikille roduille Arlequin-ohjelman versiolla 3.5.1.2 (Excoffier ja Lischer 2010). Ohjelma käyttää Slatkinin ja Excoffierin (1996) kuvaamaa tapaa testata parittaista kytkentäepätasapainoa. Testaus

perustuu Hillin (1974) kehittämään testiin testata merkitsevää assosiaatiota alleelien välillä, kun vain genotyyppifrekvenssit ovat käytettävissä. Testauksessa käytetään EM- (Expectation-Maximization) algoritmia, jolla haplotyyppifrekvenssit saadaan selville alleelifrekvenssien perusteella. Sen jälkeen käytetään todennäköisyyssuhde –testiä määrittämään poikkeaako haplotyyppien jakautuminen merkitsevästi satunnaisesta jakautumisesta. Tämä vastaa tilastollisesti merkitsevän kytkentäepätasapainon testausta lokusten välillä. EM-algoritmi olettaa, että genotyyppifrekvenssit ovat kaikissa lokuksissa Hardy-Weinbergin tasapainossa.

F_{ST}-arvo mittaa osapopulaatioiden (tässä tutkimuksessa rotujen) välistä erilaisuutta. F_{ST}-arvo vaihtelee nollan ja yhden välillä. Jos populaatioiden väliset erot perustuvat vain yksilöiden välisiin eroihin, on F_{ST}-arvo nolla. Kun geneettinen muuntelu perustuu vain populaatioiden välisiin eroihin, on F_{ST}-arvo yksi. F_{ST}-arvo lasketaan seuraavalla kaavalla:

$$F_{ST} = (H_{Ok} – H_{Oka}) / H_{Ok},$$

missä H_{Ok} kuvaa Hardy-Weinbergin tasapainon mukaisia odotettuja heterotsygotia-asteita koko populaatiossa ja H_{Oka} osapopulaatioden sisäisten Hardy-Weinbergin tasapainon mukaisten odotettujen heterotsygotia-asteiden keskiarvoa.

Yksilöiden assosioitumista rotuihin tutkittiin Structure-ohjelmalla (versio 2.3.3, Pritchard ym. 2000). Structure-ohjelmalla voidaan päätellä populaation rakennetta ja määrittää, mihin populaatioihin yksilöt kuuluvat. Ohjelmaa käytettiin määrittämään, kuinka suurella todennäköisyydellä kukin yksilö kuuluu rotuun, johon sen oletetaan kuuluvan. Simuloinnissa käytettiin no admixture –mallia, jossa oletetaan, että yksilöt ovat diskreetisti peräisin yhdestä populaatiosta.

5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

5.1 Rotujen sisäinen geneettinen muuntelu ja rakenne

5.1.1 Alleelirikkaus

Alleelirikkautta tarkasteltiin sekä roduittain että lokuksittain. Alleelirikkaudet ovat schipperken kohdalla kokonaislukuja, koska tässä rodussa oli pienin yksilömäärä (31) ja FSTAT-ohjelma vertaa muita populaatioita populaatiokooltaan pienimpään populaatioon. Alleelirikkaus (taulukko 3) oli kaikkein suurinta (9,9) chihuahualla lokuksessa FH2054 ja kaikkein pienintä (2,0) cavalier kingcharlesinspanielin lokuksissa FH2848, INU030, INU055 ja REN247M23 sekä pitkäkarvaisen collien lokuksissa INU005, REN169D01 ja REN54P11. Vertailtaessa eri rotuja keskenään, jackrussellinterrierin alleelirikkaus oli suurinta kuudessa yksittäisessä mikrosatelliittilokuksessa ja chihuahuan viidessä mikrosatelliittilokuksessa. Cavalier kingcharlesinspanielin alleelirikkaus oli suurinta yhdeksässä mikrosatelliittilokuksessa ja pitkäkarvaisen collien seitsemässä mikrosatelliittilokuksessa. Alleelirikkauksien keskiarvot laskettiin roduittain ja lokuksittain. Keskiarvojen perusteella jackrussellinterrierin alleelirikkaus oli suurinta (7,0 alleelia / lokus) ja cavalier kingcharlesinspanielin pienintä (3,4 alleelia / lokus). Monimuotoisin mikrosatelliittilokus keskiarvojen perusteella oli AHT121 (6,8 alleelia) ja vähiten monimuotoinen INU030 (4,4 alleelia).

Leroy ym. (2009a) tutkivat 61 koirarotua 21 mikrosatelliittimerkillä. Tutkimuksessa käytettiin ISAG:n paneelia vuodelta 2005 (ISAG 2005), jossa oli mukana kaikki tässä tutkimuksessa käytetyn paneelin mikrosatelliittimerkit sekä lisäksi kolme muuta mikrosatelliittimerkkiä, joten tulokset ovat vertailukelpoisia tämän tutkimuksen tulosten kanssa. Alleelirikkaus vaihteli 2,3:sta (bullterrieri) 6,9:ään (cursinu, harvinainen korsikalainen rotu). Yhteisiä rotuja Leroyn ym. (2009a) tutkimuksessa ja tässä tutkimuksessa oli viisi (suluissa alleelirikkaus Leroyn ym. (2009a) ja tässä tutkimuksessa): cavalier kingcharlesinspanieli (3,1 ja 3,4), coton de tulear (6,0 ja 6,3), saksanpaimenkoira (4,8 ja 4,6), jackrussellinterrieri (Leroyn ym. (2009a) tutkimuksessa samassa populaatiossa mukana myös parssonrussellinterrieri) (6,3 ja 7,0) sekä siperianhusky (4,4 ja 5,5). Nämä luvut ovat samansuuntaisia toistensa kanssa, varsinkin cavalier kingcharlesinspanielilla, coton de tulearilla ja saksanpaimenkoiralla.

Björnerfeldt ym. (2008) havaitsivat alleelirikkauksia väliltä 1,9 – 4,4 tutkiessaan yhdeksää eri koirarotua 28 mikrosatelliittimerkillä, joista yksikään ei ollut sama kuin tässä tutkimuksessa käytetty mikrosatelliittimerkki. Nämä luvut olivat pienempiä kuin tässä tutkimuksessa saadut (3,4 – 7,0). Björnerfeldtin ym. (2008) tutkimuksessa ja tässä tutkimuksessa oli molemmissa mukana saksanpaimenkoira ja siperianhusky, joille Björnerfeldt ym. saivat alleelirikkauksiksi 2,6 ja 4,1. Vastaavat luvut tässä tutkimuksessa ovat 4,6 ja 5,5, jotka ovat selvästi suurempia arvoja. Coutts ja Harley (2009) puolestaan saivat saksalaisperäisen ja eteläafrikkalaisen saksanpaimenkoirapopulaation alleelirikkauksiksi 5,5 ja 5,4. Heidän tutkimuksessaan käytettiin viittätoista mikrosatelliittimerkkiä, joista viisi (CXX279, INRA21, AHTk253, AHT121 ja AHTh171) oli samoja tässä tutkimuksessa käytettyjen mikrosatelliittimerkkien kanssa. Arvot ovat noin yhtä alleelia suurempia arvoja kuin tässä tutkimuksessa havaitut. Randall ym. (2010) tutkivat harvinaisen etiopiansuden alapopulaatioita ja saivat alleelirikkauksia 4,2:sta 4,4:ään. Lipinski ym. (2008) saivat rotukissojen alleelirikkauksiksi arvoja 2,0:sta – 3,5:een, mitkä ovat selvästi pienempiä kuin tässä tutkimuksessa koiraroduille saadut alleelirikkauksien arvot.

Taulukko 3. Alleelirikkaus roduittain ja lokuksittain.

	CAV	CHI	COL	COT	JAC	SAK	SCH	SIP	SUO	TSP	Ka
AHT121	4,7	8,7	4,8	7,8	8,8	4,0	7,0	7,7	8,7	5,9	6,8
AHT137	3,8	8,9	3,0	7,5	9,7	5,2	7,0	5,0	7,0	6,9	6,4
AHTh171	3,8	7,9	4,9	7,4	7,8	4,7	7,0	6,8	7,9	3,9	6,2
AHTh260	4,8	6,9	3,9	5,9	7,8	5,9	7,0	8,0	8,5	3,9	6,2
AHTk211	3,0	4,0	4,8	5,7	4,8	4,0	6,0	5,8	4,8	3,9	4,7
AHTk253	3,0	5,0	2,9	5,9	5,7	5,8	5,0	4,8	5,0	3,0	4,6
CXX279	3,0	6,0	5,0	6,0	6,8	3,0	6,0	4,8	6,0	5,0	5,2
FH2054	2,8	9,9	4,9	7,6	8,8	5,4	8,0	8,0	6,8	8,7	7,1
FH2848	2,0	6,9	5,8	5,5	8,3	4,4	5,0	4,8	7,0	5,9	5,6
INRA21	4,7	5,0	4,0	5,9	6,1	4,0	5,0	3,0	4,0	5,0	4,7
INU005	3,0	6,0	2,0	5,9	6,8	3,0	5,0	5,0	6,0	5,0	4,8
INU030	2,0	5,0	2,9	6,1	5,7	3,6	5,0	5,0	4,8	4,0	4,4
INU055	2,0	7,9	6,9	7,4	5,7	5,0	5,0	4,0	5,0	4,9	5,4
REN162C04	4,0	5,0	5,0	5,9	7,1	4,7	6,0	5,0	6,0	4,0	5,3
REN169D01	5,0	6,9	2,0	6,5	7,5	4,6	4,0	5,0	6,0	5,0	5,2
REN169O18	3,8	6,9	2,9	6,5	6,4	6,4	6,0	5,8	5,0	5,0	5,5
REN247M23	2,0	5,9	3,0	4,9	6,8	4,0	5,0	3,8	6,0	3,0	4,4
REN54P11	4,0	7,7	2,0	5,9	5,8	4,9	5,0	6,8	3,8	4,0	5,0
Keskiarvo	3,4	6,7	3,9	6,3	7,0	4,6	5,8	5,5	6,0	4,8	

CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH =schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli, Ka = Keskiarvo.

5.1.2. Heterotsygotia-asteet ja Hardy-Weinbergin tasapaino

Havaitut heterotsygotia-asteet olivat koko aineistossa kaikissa lokuksissa pienempiä kuin odotetut heterotsygotia-asteet ja erot olivat tilastollisesti merkitseviä (taulukko 4). Kaikki lokukset poikkesivat siis Hardy-Weinbergin tasapainotilasta. Tämä on odotettu tulos, koska aineisto jakautuu osapopulaatioihin (rotuihin). Tällöin havaitun heterotsygotian pitääkin olla pienempää kuin odotetun heterotsygotian.

Hardy-Weinbergin tasapainon testauksen tuloksia tulkittaessa käytettiin p-arvoa 0,00285, joka vastaa 0,05 prosentin riskitasoa, kun otetaan huomioon moninkertainen testaaminen ($p' \leq 1 - (1 - p)^{1/N}$).

Rotukohtaisesti tarkasteltuna havaitut heterotsygotia-asteet poikkesivat merkitsevästi (taulukko 5) odotetuista heterotsygotia-asteista eli eivät olleet Hardy-Weinbergin tasapainossa seitsemässä eri mikrosatelliittilokuksessa kuudella eri rodulla (taulukko 6). Tässä tutkimuksessa oli mukana 10 rotua ja 18 lokusta eli yhteensä 180 tapausta. Poikkeamia Hardy-Weinbergin tasapainotilasta oli 10 tapauksessa eli vain noin 6 %:ssa tapauksia. Havaittu heterotsygotia-aste oli odotettua heterotsygotia-astetta korkeampi vain yhdessä tapauksessa: chihuahuan mikrosatelliittilokuksessa FH2054. Havaittu heterotsygotia-aste oli odotettua heterotsygotia-astetta alhaisempi chihuahuan lokuksessa AHT137, pitkäkarvaisen collien lokuksessa INU055, jackrussellinterrierin lokuksessa INU055, schipperken lokuksissa AHTk211, FH2054, INU005 ja INU030, siperianhuskyn lokuksessa FH2848 sekä tiibetinspanielin lokuksessa FH2848. Eniten poikkeamia Hardy-Weinbergin tasapainosta oli siis schipperken mikrosatelliittilokuksissa. Coton de tulearin, saksanpaimenkoiran ja suomenlapinkoiran kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa.

Taulukko 4. Havaitut ja odotetut heterotsygotia-asteet koko aineistossa.

Mikrosatelliittimerkki	N	H_H	H_O	P-arvo	Keskivirhe
AHT121	395	0,66	0,86	0,00	0,00
AHT137	395	0,70	0,87	0,00	0,00
AHTh171	395	0,69	0,86	0,00	0,00
AHTh260	395	0,65	0,81	0,00	0,00
AHTk211	395	0,58	0,76	0,00	0,00
AHTk253	395	0,63	0,72	0,00	0,00
CXX279	394	0,68	0,80	0,00	0,00
FH2054	394	0,65	0,85	0,00	0,00
FH2848	394	0,57	0,77	0,00	0,00
INRA21	395	0,60	0,78	0,00	0,00
INU005	395	0,60	0,75	0,00	0,00
INU030	395	0,56	0,74	0,00	0,00
INU055	395	0,54	0,71	0,00	0,00
REN162C04	395	0,65	0,77	0,00	0,00
REN169D01	395	0,65	0,80	0,00	0,00
REN169O18	395	0,67	0,81	0,00	0,00
REN247M23	395	0,54	0,68	0,00	0,00
REN54P11	395	0,61	0,81	0,00	0,00
Keskiarvo		0,62	0,77		
Keskivirhe		0,05	0,10		

N = yksilöiden määrä, HH = havaittu heterotsygotia-aste, HO = odotettu heterotsygotia-aste.

Taulukko 5. Kymmenen koirarodun mikrosatelliittilokusten Hardy-Weinbergin tasapainotestin p-arvot. Tilastollisesti merkitsevät erot lihavoitu.

Lokus	CAV	CHI	COL	COT	JAC
AHT121	0,17153	0,94022	0,92835	0,26735	0,43194
AHT137	0,74179	**0,00134**	1,00000	0,60566	0,50018
AHTh171	0,86062	0,14516	0,64482	0,14947	0,31374
AHTh260	0,20162	0,05860	0,83163	0,20590	0,83863
AHTk211	1,00000	0,70661	0,81507	0,26495	0,22954
AHTk253	0,23282	0,15064	1,00000	0,01243	0,41212
CXX279	0,33872	0,61921	0,38013	0,39896	0,99895
FH2054	0,33910	**0,00160**	0,00351	0,44418	0,06562
FH2848	0,53403	0,06664	0,29009	0,36473	0,41885
INRA21	0,67396	0,69118	0,12898	0,93849	0,10384
INU005	0,09811	0,38288	0,44994	0,05110	0,68689
INU030	0,19123	0,92212	0,74881	0,12559	0,50160
INU055	0,40167	0,01663	**0,00092**	0,24713	**0,00073**
REN162C04	0,42906	0,37225	0,21977	0,23734	0,40919
REN169D01	0,05233	0,43558	0,49713	0,15967	0,32459
REN169O18	0,15285	0,97106	0,60681	0,17154	0,10795
REN247M23	1,00000	0,17675	0,01402	0,02000	0,04485
REN54P11	0,03637	0,41553	0,32824	0,07973	0,53708

Taulukko 5 jatkuu.

Lokus	SAK	SCH	SIP	SUO	TSP
AHT121	0,36466	0,37670	0,71597	0,55024	0,44588
AHT137	0,37350	0,60136	0,02239	0,88056	0,33839
AHTh171	0,28658	0,12000	0,36319	0,43282	0,66798
AHTh260	0,54227	0,33310	0,01223	0,49381	0,69622
AHTk211	0,39690	**0,00210**	0,45289	0,02108	0,10101
AHTk253	0,05206	0,08534	0,36128	0,32879	0,04453
CXX279	0,27640	0,47979	0,52288	0,44334	0,07559
FH2054	0,35098	**0,00029**	0,07493	0,79756	0,14070
FH2848	0,39683	0,01151	**0,00002**	0,28893	**0,00000**
INRA21	0,86001	0,02840	0,71139	0,68373	0,16867
INU005	0,21160	**0,00259**	0,20614	0,10432	0,96629
INU030	0,25829	**0,00115**	0,01860	0,32749	0,51140
INU055	0,01295	0,79082	0,54834	0,01308	0,88134
REN162C04	0,40904	0,00360	0,24545	0,22737	0,94887
REN169D01	0,65429	0,48899	0,46181	0,57283	0,23552
REN169O18	0,10417	0,02692	0,65996	0,23994	0,48744
REN247M23	0,05570	0,12222	0,65066	0,10532	0,07506
REN54P11	0,12030	0,13157	0,10248	0,85800	0,09142

CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

Taulukko 6. Havaitut ja odotetut heterotsygotia-asteet roduittain ja lokuksittain. Tilastollisesti merkitsevät erot lihavoitu.

Lokus	CAV		CHI		COL		COT		JAC	
	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O
AHT121	0,22	0,27	0,86	0,81	0,51	0,48	0,71	0,72	0,79	0,79
AHT137	0,73	0,68	**0,69**	**0,81**	0,46	0,45	0,76	0,76	0,87	0,84
AHTh171	0,66	0,67	0,66	0,77	0,80	0,76	0,69	0,71	0,74	0,79
AHTh260	0,59	0,65	0,57	0,64	0,74	0,67	0,51	0,50	0,79	0,84
AHTk211	0,61	0,59	0,77	0,73	0,46	0,46	0,57	0,62	0,58	0,66
AHTk253	0,51	0,58	0,71	0,66	0,49	0,48	0,84	0,79	0,74	0,66
CXX279	0,44	0,50	0,80	0,71	0,69	0,54	0,73	0,77	0,85	0,80
FH2054	0,37	0,45	**0,83**	**0,80**	0,26	0,37	0,81	0,79	0,64	0,82
FH2848	0,44	0,49	0,63	0,79	0,69	0,73	0,54	0,63	0,75	0,81
INRA21	0,46	0,54	0,60	0,65	0,66	0,71	0,59	0,56	0,66	0,72
INU005	0,34	0,46	0,80	0,79	0,37	0,43	0,67	0,67	0,75	0,78
INU030	0,37	0,46	0,74	0,64	0,37	0,41	0,59	0,61	0,60	0,63
INU055	0,44	0,37	0,46	0,61	**0,29**	**0,44**	0,71	0,80	**0,55**	**0,71**
REN162C04	0,32	0,34	0,77	0,78	0,63	0,68	0,71	0,78	0,75	0,70
REN169D01	0,59	0,75	0,77	0,82	0,43	0,51	0,73	0,80	0,66	0,65
REN169O18	0,71	0,62	0,89	0,82	0,26	0,27	0,71	0,79	0,58	0,70
REN247M23	0,44	0,42	0,63	0,73	0,51	0,48	0,57	0,58	0,62	0,64
REN54P11	0,61	0,74	0,69	0,68	0,29	0,36	0,71	0,80	0,66	0,58
Keskiarvo	0,50	0,53	0,71	0,72	0,51	0,51	0,66	0,69	0,70	0,71
Keskivirhe	0,14	0,13	0,11	0,09	0,18	0,14	0,11	0,13	0,09	0,10

Taulukko 6 jatkuu.

Lokus	SAK		SCH		SIP		SUO		TSP	
	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O	H_H	H_O
AHT121	0,51	0,54	0,65	0,66	0,73	0,77	0,86	0,84	0,79	0,76
AHT137	0,65	0,66	0,74	0,70	0,49	0,71	0,78	0,85	0,79	0,81
AHTh171	0,60	0,65	0,68	0,82	0,70	0,77	0,78	0,72	0,53	0,44
AHTh260	0,72	0,78	0,68	0,79	0,73	0,86	0,76	0,80	0,41	0,49
AHTk211	0,70	0,66	**0,55**	**0,77**	0,57	0,62	0,65	0,61	0,35	0,40
AHTk253	0,47	0,51	0,65	0,71	0,59	0,64	0,86	0,77	0,35	0,46
CXX279	0,51	0,65	0,77	0,75	0,70	0,74	0,68	0,73	0,65	0,78
FH2054	0,70	0,69	**0,55**	**0,77**	0,76	0,84	0,81	0,79	0,74	0,72
FH2848	0,47	0,55	0,55	0,64	**0,30**	**0,45**	0,97	0,84	**0,32**	**0,75**
INRA21	0,58	0,57	0,52	0,72	0,68	0,58	0,62	0,66	0,59	0,64
INU005	0,53	0,56	**0,39**	**0,51**	0,59	0,58	0,70	0,80	0,79	0,78
INU030	0,65	0,54	**0,32**	**0,54**	0,51	0,60	0,62	0,58	0,74	0,68
INU055	0,70	0,77	0,45	0,41	0,59	0,71	0,51	0,55	0,62	0,67
REN162C04	0,67	0,72	0,48	0,68	0,59	0,66	0,84	0,79	0,68	0,67
REN169D01	0,49	0,51	0,45	0,49	0,76	0,71	0,84	0,79	0,74	0,78
REN169O18	0,70	0,81	0,81	0,70	0,65	0,74	0,81	0,74	0,59	0,61
REN247M23	0,44	0,52	0,61	0,72	0,62	0,58	0,46	0,49	0,50	0,50
REN54P11	0,51	0,60	0,84	0,72	0,76	0,80	0,62	0,58	0,38	0,42
Keskiarvo	0,58	0,61	0,59	0,66	0,63	0,68	0,73	0,71	0,59	0,62
Keskivirhe	0,10	0,11	0,14	0,13	0,11	0,12	0,13	0,12	0,16	0,14

CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

Kang ym. (2009) tutkivat viittä koirarotua. Rotua kohti tutkittiin 9 – 11 mikrosatelliittilokusta eli yhteensä mukana oli 50 eri tapausta. Näistä 18 tapausta eli noin 36 prosenttia erosi merkitsevästi Hardy-Weinbergin tasapainotilasta, mikä on huomattavasti enemmän kuin tässä tutkimuksessa. Kaikki poikkeamat kertoivat odotettua pienemmästä heterotsygotia-asteesta, toisin kuin tässä tutkimuksessa, jossa poikkeamia oli pääsääntöi-

sesti odotettua vähemmän heterotsygotian suuntaan mutta yhdessä tapauksessa myös odotettua suuremman heterotsygotian suuntaan.

Cavalier kingcharlesinspanielin havaittu heterotsygotia-aste kaikkien lokusten yli tarkasteltuna oli alhaisin (0,50) ja pitkäkarvaisen collien toiseksi alhaisin (0,51). Suomenlapinkoiran havaittu heterotsygotia-aste oli puolestaan korkein (0,73) ja chihuahuan (0,71) ja jackrussellinterrierin (0,71) heterotsygotia-asteet olivat toiseksi korkeimmat. Havaittujen heterotsygotia-asteiden keskivirheet olivat kuitenkin melko suuria (0,09 – 0,16). Tässä tutkimuksessa saadut suhteellisen korkeat heterotsygotia-asteet voivat selittyä sillä, että mikrosatelliittimerkit on valittu juuri sillä perusteella, että ne ovat hyvin vaihtelevia eivätkä siten edusta koiran keskivertoja mikrosatelliittimerkkejä. Schipperken ja siperianhuskyn havaittu heterotsygotia-aste yli kaikkien lokusten poikkesi eniten odotetusta heterotsygotia-asteesta (0,07 ja 0,05). Tulos on samankaltainen kuin merkitsevien lokusten kohdalla. Havaittujen heterotsygotioiden keskiarvo oli suurempi kuin odotettujen heterotsygotioiden keskiarvo vain suomenlapinkoiralla (0,02).

Zajc ym. (1997) saivat saksanpaimenkoiran havaitun heterotsygotia-asteen keskiarvoksi yli kaikkien mikrosatelliittimerkkien 0,31 ja odotetun heterotsygotia-asteen keskiarvoksi yli kaikkien mikrosatelliittimerkkien 0,43, mutta tutkimuksessa käytettiin eri mikrosatelliittimerkkejä kuin tässä tutkimuksessa. Käytettyjä mikrosatelliittimerkkejä oli 19 kappaletta. Tässä tutkimuksessa vastaavat luvut ovat 0,58 ja 0,61 eli huomattavasti korkeammat. Zajc´n ym. (1997) tutkimuksessa lukujen ero on tilastollisesti merkitsevä, toisin kuin tässä tutkimuksessa. Koskisen ja Bredbackan (2000) tutkimuksessa saksanpaimenkoiran havaittu ja odotettu heterotsygotia-aste olivat 0,62 ja 0,64, mitkä ovat hyvin samansuuntaiset kuin tässä tutkimuksessa saadut luvut. Tutkimuksessa käytettiin kuitenkin vain kymmentä mikrosatelliittimerkkiä, joista yksikään ei ollut sama tässä tutkimuksessa käytettyjen mikrosatelliittimerkkien kanssa. Coutts ja Harley (2009) saivat havaituiksi ja odotetuiksi heterotsygotia-asteiksi saksalaisperäisessä saksanpaimenkoirapopulaatiossa 0,60 ja 0,62 sekä eteläafrikkalaisessa saksanpaimenkoirapopulaatiossa 0,59 ja 0,61, jotka ovat miltei samat kuin tässä tutkimuksessa saadut tulokset. Heidän tutkimuksessaan käytettiin viittätoista mikrosatelliittimerkkiä, joista viisi (CXX279, INRA21, AHTk253, AHT121 ja AHTh171) oli samoja tässä tutkimuksessa käytettyjen mikrosatelliittimerkkien kanssa. Leroy ym. (2009a) saivat cavalier kingcharlesinspanielin havaituksi ja odotetuksi heterotsygotia-asteeksi 0,45 ja 0,47 (tässä tutkimuksessa

0,50 ja 0,53). Samassa tutkimuksessa vastaavat luvut olivat coton de tulearissa 0,70 ja 0,73 (0,66 ja 0,69), saksanpaimenkoirassa 0,64 ja 0,67 (0,58 ja 0,61), jackrussellinterrierissä (sis. parssonrussellinterrierin) 0,75 ja 0,77 (0,70 ja 0,71) sekä siperianhuskyssa 0,60 ja 0,64 (0,68 ja 0,73). Tutkimuksessa käytettiin ISAG:n paneelia vuodelta 2005 (ISAG 2005), jossa oli mukana kaikki tässä tutkimuksessa käytetyn paneelin mikrosatelliittimerkit sekä lisäksi kolme muuta mikrosatelliittimerkkiä. Tulokset ovat hyvin samansuuntaisia kaikissa viidessä rodussa. Irionin ym. (2003) tutkimuksessa jackrussellinterrierin havaituksi heterotsygotia-asteeksi saatiin 0,76, mikä on samansuuntainen kuin tässä tutkimuksessa saatu (0,70). Tutkimuksessa käytettiin sataa mikrosatelliittimerkkiä jaettuna 12 settiin.

Irion ym. (2005) tutkivat balilaisten katukoirien geneettistä muuntelua ja havaitsivat niiden heterotsygotia-asteeksi 0,69, mikä oli korkeampi kuin 28 koirarodun (0,56) tai dingon (0,43) samassa tutkimuksessa havaittu heterotsygotia-aste. Tutkimuksessa käytettiin 31 mikrosatelliittimerkkiä, joista neljä oli samoja kuin tässä tutkimuksessa käytetyt mikrosatelliittimerkit. Tässä tutkimuksessa kuitenkin chihuahuan, jackrussellinterrierin ja suomenlapinkoiran heterotsygotia-asteet yli kaikkien lokusten tarkasteltuna olivat tätä korkeammat. Roy ym. (1994) tutkivat suden kaltaisia koiraeläimiä ja saivat heterotsygotia-asteita väliltä 0,41 – 0,65. Tutkimuksessa käytettiin kymmentä mikrosatelliittimerkkiä.

5.1.3 Rotujen sisäinen rakenne F_{IS}-arvon perusteella

F_{IS}-arvot laskettiin kaikille kymmenelle koirarodulle 18 mikosatelliittilokuksessa (taulukko 7). Coton de tulearin, saksanpaimenkoiran ja siperianhuskyn mikrosatelliittilokuksissa oli eniten positiivisia F_{IS}-arvoja (14 kappaletta) ja suomenlapinkoiran mikrosatelliittilokuksissa eniten negatiivisia F_{IS}-arvoja (11 kappaletta). F_{IS}-arvojen keskiarvo oli suurin siperianhuskylla (0,09) ja pienin suomenlapinkoiralla (-0,02), joka on ainoa negatiivinen F_{IS}-arvojen keskiarvo. Kuitenkin ainoat merkitsevät arvot eli arvot, joiden p-arvo oli alle 0,00278 (vastaa 5 prosentin riskitasoa, kun huomioidaan moninkertainen testaaminen) olivat schipperken lokuksessa INU030 (0,39, p-arvo 0,0019) ja kaikkien lokusten yli tarkasteltuna (0,11, p-arvo 0,0009). Myös siperianhuskylla lokuksen AHT137 (F_{IS}-arvo 0,32) ja kaikkien lokusten yli tarkasteltuna (F_{IS}-arvo 0,09) saatu p-arvo olivat hyvin lähellä 0,00278:aa (molemmissa p-arvo 0,0028). Näiden tulosten

perusteella voidaan sanoa, että schipperkessä ja siperianhuskyssa on sattumaa vähemmän heterotsygoottisia yksilöitä, mikä puolestaan viittaa sukusiitokseen populaatioissa. Toisaalta schipperkellä oli myös matalin yksittäinen F_{IS}-arvo (-0,22 lokuksessa REN169O18), mutta tämä ei ollut tilastollisesti merkitsevä. F_{IS}-arvot lokuksittain kaikille alleeleille yli koko aineiston laskettuna ovat liitteessä 1. Yli kaikkien rotujen ja lokusten tarkasteltuna F_{IS}-arvo oli koko aineistossa 0,05 keskivirheen ollessa 0,009. Arvo eroaa nollasta (99%:n luottamusväli on 0,032-0,076). Tämä tulos viittaa aineiston osapopulaatiorakenteeseen ja siihen että roduilla esiintyy sukusiitosta.

Leroyn ym. (2009a) tutkimuksessa havaittiin F_{IS}-arvoiksi yli kaikkien lokusten tarkasteltuna cavalier kingcharlesinspanielin 0,04 (tässä tutkimuksessa 0,08), coton de tulearin F_{IS}-arvoksi 0,04 (0,04), saksanpaimenkoiran F_{IS}-arvoksi 0,05 (0,06), parson- ja jackrussellinterrierin yhteiseksi F_{IS}-arvoksi 0,03 (jackrussellinterrieri 0,04) ja siperianhusky 0,06 (0,09). Muiden rotujen arvot eroavat suuresti tässä tutkimuksessa saaduista tuloksista mutta coton de tulearin arvot ovat hyvin samansuuntaiset. Koskisen ja Bredbackan (2000) tutkimuksessa saksanpaimenkoiran F_{IS}-arvo yli kaikkien lokusten tarkasteltuna oli 0,04, mikä on matalampi kuin tässä tutkimuksessa saatu arvo. Saksalaisperäisen saksanpaimenkoirapopulaation F_{IS}-arvoksi havaittiin 0,05 ja eteläafrikkalaisen saksanpaimenkoirapopulaation F_{IS}-arvoksi sama 0,05 (Coutts ja Harley 2009), mitkä ovat jo hieman lähempänä tässä tutkimuksessa saatua F_{IS}-arvoa.

Taulukko 7. F_{IS}-arvot kymmenen koirarodun 18 mikrosatelliittilokuksessa. Tilastollisesti merkitsevät arvot lihavoitu.

	CAV	CHI	COL	COT	JAC	SAK	SCH	SIP	SUO	TSP
AHT121	0,18	-0,06	-0,08	0,01	0,00	0,06	0,03	0,06	-0,03	-0,05
AHT137	-0,08	0,15	-0,01	0,00	-0,04	0,01	-0,05	0,32	0,07	0,02
AHTh171	0,02	0,15	-0,05	0,02	0,07	0,06	0,19	0,09	-0,10	-0,19
AHTh260	0,10	0,11	-0,11	-0,02	0,06	0,07	0,12	0,15	0,06	0,16
AHTk211	-0,04	-0,06	0,00	0,07	0,11	-0,06	0,23	0,08	-0,06	0,13
AHTk253	0,12	-0,09	-0,02	-0,06	-0,11	0,09	0,12	0,08	-0,13	0,24
CXX279	0,13	-0,13	-0,27	0,05	-0,07	0,22	-0,01	0,05	0,08	0,17
FH2054	0,20	-0,04	0,32	-0,02	0,22	-0,01	0,23	0,11	-0,02	-0,03
FH2848	0,11	0,20	0,07	0,14	0,07	0,16	0,15	0,35	-0,17	0,57
INRA21	0,14	0,08	0,08	-0,07	0,09	-0,01	0,29	-0,17	0,06	0,09
INU005	0,26	-0,02	0,13	0,00	0,03	0,05	0,16	-0,03	0,12	-0,02
INU030	0,21	-0,17	0,09	0,04	0,04	-0,21	**0,39**	0,15	-0,08	-0,08
INU055	-0,18	0,26	0,36	0,10	0,23	0,10	-0,09	0,17	0,06	0,08
REN162C04	0,07	0,01	0,08	0,08	-0,09	0,06	0,24	0,09	-0,07	-0,01
REN169D01	0,22	0,06	0,16	0,09	-0,01	0,04	0,14	-0,06	-0,07	0,05
REN169O18	-0,15	-0,08	0,06	0,10	0,17	0,14	-0,22	0,13	-0,10	0,04
REN247M23	-0,05	0,14	-0,08	0,02	0,02	0,15	0,09	-0,06	0,07	0,00
REN54P11	0,18	-0,01	0,20	0,11	-0,14	0,15	-0,15	0,06	-0,08	0,09
Keskiarvo	0,08	0,03	0,04	0,04	0,04	0,06	**0,11**	0,09	-0,02	0,07

CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

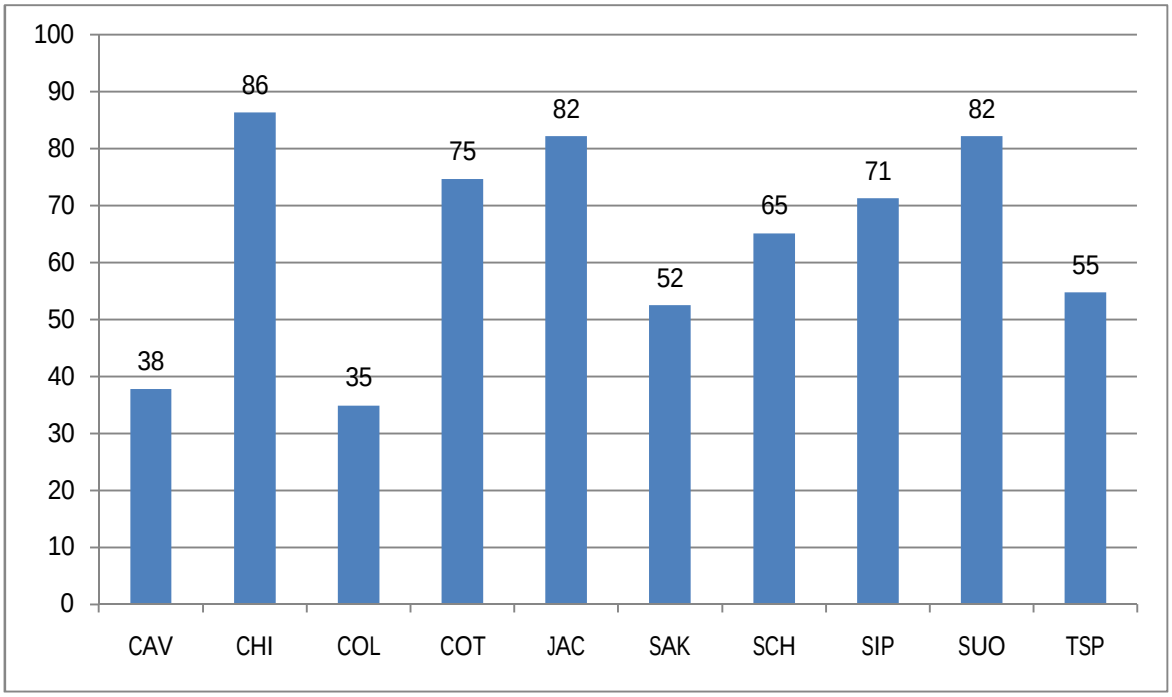
5.1.4 Tehollinen populaatiokoko

Tehollinen populaatiokoko vaihteli kymmenen tutkitun koirarodun välillä 35:stä 86:een, ollen pienin pitkäkarvaisella colliella ja suurin chihuahualla (kuva 1). Tehollisia populaatiokokoja verrattiin KoiraNet Jalostustietojärjestelmästä (Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry 2010b) saatuihin tehollisiin populaatiokokoihin. Vertailuun otettiin keskiarvo vuosikohtaisista tehollisista populaatiokoista niiltä vuosilta, joilta oli koiria tässä tutkimuksessa kussakin rodussa. KoiraNet Jalostustietojärjestelmästä (Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry 2010b) saadut tehollisen populaatiokoon

arviot ovat huomattavasti suurempia kuin tässä tutkimuksessa saadut arvot vaihdellen 30:stä (schipperke) 355:een (saksanpaimenkoira). Tämä johtuu siitä, että jalostustietokannassa tehollinen populaatiokoko lasketaan kaavalla $N_e = 4N_mN_f / (N_m + N_f)$, missä N_m on urosten ja N_f naaraiden määrä populaatiossa (Wright 1931). Kaava antaa todellisuutta suuremman arvon teholliselle populaatiokoolle (katso kappale 2.3.5 Tehollinen populaatiokoko).

Tässä tutkimuksessa saadut tehollisen populaatiokoon arviot ovat huomattavan pieniä. Elinvoimaisen populaation tehollisen populaatiokoon on oltava vähintään 50 yksilöä (Franklin 1980, Soulé 1980). Jotta populaatio säilyttäisi evolutiivisen potentiaalinsa, on tehollisen populaatiokoon oltava jopa 5 000 yksilöä (Lande 1995). Tässä tutkimuksessa cavalier kingcharlesinspanielin ja pitkäkarvaisen collien tehollinen populaatiokoko on viittäkymmentä pienempi. Kahdeksan muunkin rodun teholliset populaatiokoot jäävät alle sadan. Siperianhuskyn melko suuri tehollinen populaatiokoko (71) on hieman yllättävä muiden tässä tutkimuksessa saatujen tulosten rinnalla. Tehollinen populaatiokoko on suurehko, vaikka muiden populaatiogeneettisten mittareiden perusteella siperianhusky ei ole perinnöllisesti kovin monimuotoinen rotu. Myös schipperken tehollinen populaatiokoko on melko suuri (65) muita schipperken tässä tutkimuksessa saatuja tuloksia ajatellen, joiden perusteella schipperkessä perinnöllinen monimuotoisuus on vähäistä.

Nein (1987) tehollisen populaatiokoon laskentakaavaa käytettäessä oletetaan, että ideaalipopulaatioon pätee neutraali mutaatioteoria. Neutraali mutaatioteoria olettaa mutaatioita tapahtuvan vakionopeudella riippumatta populaation koosta. Evoluutiotekijät eivät vaikuta ideaalipopulaatiossa, mutta koirarotuihin on kuitenkin vaikuttanut usea evoluutiotekijä (perustajavaikutus, geneettiset pullonkaulat, isolaatio), jotka ovat oletettavasti lisänneet populaatioissa säilyneiden mutaatioiden määrää. Tehollisen populaatiokoon laskentakaava ei siis ole tältä osin täysin pätevä tässä aineistossa.



Kuva 1. Kymmenen tutkitun koirarodun teholliset populaatiokoot. CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

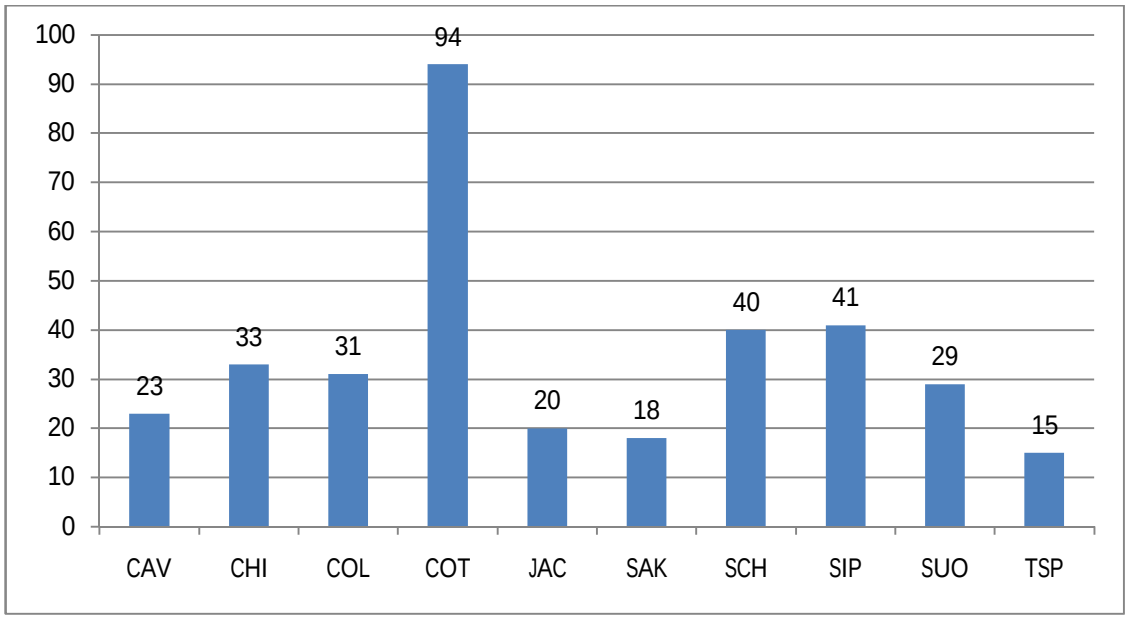
Leroy ym. (2009a) ja Calboli ym. (2008) laskivat useiden koirarotujen tehollisia populaatiokokoja sukupuuaineistoista. Saksanpaimenkoiran tehollisiksi populaatiokooksi saatiin 375 (Leroy ym. 2009a) ja 76 (Calboli ym. 2008). Leroy ym. (2009a) laskivat cavalier kingcharlesinspanielin tehollisiksi populaatiokooksi 150, coton de tulearin tehollisiksi populaatiokooksi 56 ja siperianhuskyn tehollisiksi populaatiokooksi 90. Erot tutkimusten välillä voivat johtua siitä, että eri rotujen suosio vaihtelee maittain ja siten myös niiden populaatio- ja sitä kautta myös tehollinen populaatiokoko vaihtelee.

5.1.5 Mikrosatelliittilokusten kytkentäepätasapaino eri roduissa

Kytkentäepätasapainossa keskenään olevien alleeliparien määrät roduittain vaihtelivat välillä 15 – 94 (kuva 2). Selvästi eniten kytkentäepätasapainossa keskenään olevia alleelipareja oli coton de tulearilla (94 kappaletta) ja seuraavaksi eniten siperianhuskylla (41 kappaletta) ja schipperkellä (40 kappaletta). Vähiten kytkentäepätasapainossa keskenään olevia alleelipareja oli tiibetinspanielilla (15 kappaletta) ja seuraavaksi vähiten saksanpaimenkoiralla (18 kappaletta) sekä jackrussellinterrierillä (20 kappaletta). Kokooma-

taulukot merkitsevistä kytkentäepätasapainoista alleeliparien välillä roduittain ovat liitteessä 2.

Tuloksista voidaan päätellä, että coton de tulearin, siperianhuskyn ja schipperken populaatioissa on esiintynyt muita tutkittuja rotuja enemmän kytkentäepätasapainoa aiheuttavia evolutiivisia tekijöitä (muun muassa geneettiset pullonkaulat, valinta ja sattuma). Tästä voidaan edelleen päätellä, että ko. roduissa sukusiitosaste on noussut ja sitä kautta perinnöllinen monimuotoisuus vähentynyt verrattuna muihin tutkimuksessa mukana oleviin rotuihin. Siperianhuskyn ja schipperken osalta nämä tulokset ovat perinnöllisen monimuotoisuuden suhteen samansuuntaisia kuin tässä tutkimuksessa saadut tulokset heterotsygotiasta ja F_{IS}-arvoista näillä roduilla. Schipperkellä on myös tutkituista roduista eniten lokuksia, joissa heterotsygotia-aste poikkeaa Hardy-Weinbergin tasapainotilasta. Toisaalta coton de tulearilla on eniten lokuspareja kykentäepätasapainossa mutta kaikki lokukset ovat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa. Tiibetinspanielin, saksanpaimenkoiran ja jackrussellinterrierin voidaan vastaavasti ajatella säästyneen aiemmin mainituilta evolutiivisilta tekijöiltä ja siten sukusiitosasteen nousulta. Jackrussellinterrierin kaikki mikrosatelliittilokukset ovat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa.



Kuva 2. Kytkentäepätasapainossa keskenään olevien alleeliparien määrät roduittain. CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

Koko aineiston yli pareittain tarkasteltuna kytkentäepätasapainossa oli kolme lokusparia: AHT137 x INU005, AHT137 x REN247M23 ja INU005 x REN169D01. Näiden parien kohdalla p-arvo oli alle 0,000327, mikä vastaa viiden prosentin riskitasoa kun otetaan huomioon moninkertainen testaaminen.

5.2 Rotujen geneettinen erilaistuminen

F_{ST}-arvot laskettiin kaikkien kymmenen rodun välillä (taulukko 8). Suurin ero oli cavalier kingcharlesinspanielin ja pitkäkarvaisen collien välillä (0,34) ja toiseksi suurin ero pitkäkarvaisen collien ja tiibetinspanielin välillä (0,33). Pienin ero oli chihuahuan ja coton de tulearin välillä (0,07) ja toiseksi pienin chihuahuan ja suomenlapinkoiran välillä (0,08). Eniten korkeimpia F_{ST}-arvoja yksittäisen ja muiden rotujen välillä oli pitkäkarvaisella colliella (7 rotua) ja eniten matalimpia chihuahualla (6 rotua). F_{ST}-arvot lokuksittain kaikille alleeleille yli koko aineiston laskettuna ovat liitteessä 1. F_{ST}-arvo oli kaikkien lokusten yli tarkasteltuna koko populaatiossa 0,177 keskivirheen ollessa 0,009. Tästä voidaan päätellä, että suurin osa kokonaismuuntelusta esiintyy yksilöiden välillä ja vain pieni osa (17,7 %) populaatioiden välillä.

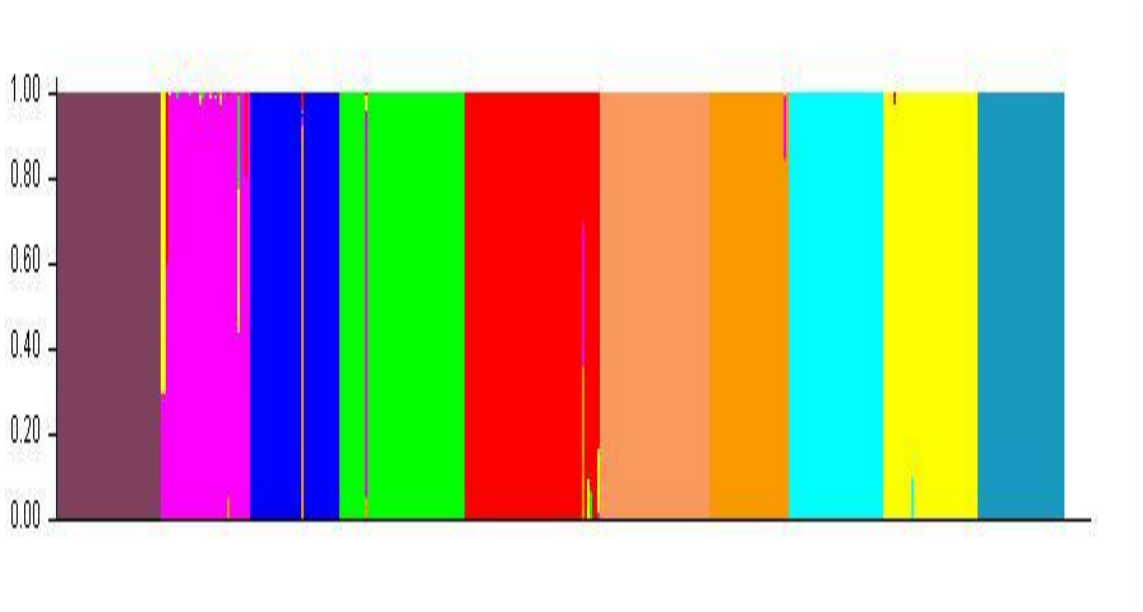
Taulukko 8. Tutkittujen koirarotujen väliset geneettiset erot F_{ST}-arvon perusteella.

	CAV	CHI	COL	COT	JAC	SAK	SCH	SIP	SUO	TSP
CAV	0,00	0,17	0,34	0,21	0,20	0,26	0,20	0,23	0,23	0,27
CHI		0,00	0,24	0,07	0,09	0,12	0,10	0,11	0,08	0,18
COL			0,00	0,24	0,22	0,27	0,25	0,24	0,22	0,33
COT				0,00	0,10	0,16	0,14	0,10	0,11	0,18
JAC					0,00	0,17	0,12	0,11	0,10	0,14
SAK						0,00	0,20	0,17	0,19	0,25
SCH							0,00	0,14	0,14	0,21
SIP								0,00	0,11	0,20
SUO									0,00	0,18
TSP										0,00

CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

Koskinen ja Bredbacka (2000) tutkivat viiden koirarodun suomalaispopulaatioiden erilaistumista ja he saivat F_{ST}-arvoja välillä 0,18 – 0,29. Nämä arvot mahtuvat tässä tutkimuksessa saatujen arvojen sisään. Yli kaikkien rotujen ja lokusten laskettu F_{ST}-arvo oli 0,23, mikä on jonkin verran suurempi kuin tässä tutkimuksessa saatu arvo. Itäaasialaisten koirarotujen F_{ST}-arvot vaihtelivat 0,02:sta 0,37:ään yli kaikkien rotujen ja lokusten lasketun F_{ST}-arvon ollessa 0,15 (Kim ym. 2001). Tulokset olivat melko samansuuntaisia tässä tutkimuksessa saatujen arvojen kanssa.

Roduilla on uniikki genotyyppiyhdistelmä, jonka perusteella yksittäiset koirat voidaan assosioida oikeaan rotuun. Suurin osa koirista assosioitui siihen rotuun, jota niiden oletettiinkin edustavan (kuva 3). Kuusi koiraa kuitenkin assosioitui toiseen rotuun, kuin minkä edustajina ne aineistossa esiintyivät. Chihuahuassa tällaisia koiria oli kolme. Yksi näistä oli ulkomainen koira, jolle ei löytynyt polveutumistietoja. Toinen oli puolestaan englantilaista ja yhdysvaltalaista alkuperää ja kolmas oli tuontikoira Venäjältä. Poikkeava oli myös pitkäkarvainen collie, jonka isä oli tuontikoira Saksasta. Jackrusselinterriereiden joukossa oli kaksi poikkeavaa koiraa. Ne olivat molemmat rotuunotettuja eikä niillä ollut polveutumistietoja. Ulkomainen alkuperä ja / tai polveutumistietojen puuttuminen voivat selittää näiden koirien poikkeavuutta rodustaan, mutta toisaalta aineistossa oli mukana monia muitakin tuonti-, ulkomaisia ja rotuunotettuja koiria, jotka eivät kuitenkaan nousseet esiin tutkittaessa rotuun assosioitumista.



Kuva 3. Rotuihin assosioituminen Structure-analyysin perusteella. Y-akselilla on osuus prosentteina, x-akselilla yksilöt (väri vastaa yhtä rotua).

Leroy ym. (2009b) tutkivat 61 koirarotua, joista kuusi oli samoja kuin tässä tutkimuksessa mukana olleet rodut. Näistä roduista cavalier kingcharlesinspanieli, pitkäkarvainen collie, saksanpaimenkoira sekä siperianhusky assosioituivat täysin omaan rotuunsa Leroyn ym. (2009b) tutkimuksessa mutta coton de tulear ja jackrussellinterrieri (yhdessä parsonrussellinterrierin kanssa) eivät. Tulokset ovat samanlaiset kuin tässä tutkimuksessa muiden rotujen paitsi pitkäkarvaisen collien ja coton de tulearin kohdalla. Tässä tutkimuksessa coton de tulear assosioitui täysin omaan rotuunsa mutta pitkäkarvaisessa colliessa oli mukana yksi poikkeava koira. Leroyn ym. (2009b) tutkimuksessa tutkittiin rotujen ranskalaisia populaatioita ja tässä tutkimuksessa rotujen suomalaisia populaatioita, mikä voi vaikuttaa tuloksiin.

5.3 Tulosten tarkastelu aineiston rakenteen ja rotujen jalostushistorioiden suhteen

Tämän tutkimuksen aineistossa tuonti- ja ulkomaisten koirien osuus on huomattavasti suurempi kuin yleensä suomalaisissa rotukoirapopulaatioissa. Tämä johtuu luultavasti siitä, että tuontikoirille halutaan tavallista useammin DNA-tunniste ja tuontikoiria myös käytetään suhteessa enemmän jalostukseen kuin Suomessa syntyneitä koiria, jolloin niiden jälkeläisistä tehdään myös enemmän polveutumismäärityksiä, joissa tarvitaan myös vanhempien DNA-näyte. Tuonti- ja ulkomaisten koirien suuri osuus voi lisätä rotujen perinnöllistä monimuotoisuutta suhteessa rotujen koko populaatioon Suomessa. Schipperke-rodussa oli mukana eniten ulkomaisia ja tuontikoiria (42 %). Ulkomaisten ja tuontikoirien suuren osuuden tuoma mahdollinen perinnöllinen monimuotoisuus ei kuitenkaan näy muissa tämän rodun populaatiogeneettisissä tunnusluvuissa.

Urosten suurta osuutta valituissa koirissa voi selittää se, että jotkut kasvattajat rekisteröivät pentueen urokset ensin, riippumatta pentuen oikeasta syntymisjärjestyksestä, jolloin valituksi on tullut samasta pentueesta aina uroskoira. Tuontikoirat ovat useimmiten uroksia. Myös tämä voi selittää urosten suurta osuutta valituissa koirissa, koska tässä aineistossa oli suhteessa enemmän tuontikoiria kuin eri rotujen suomalaispopulaatioissa keskimäärin.

Tutkituissa jackrussellinterriereissä ja suomenlapinkoirissa oli mukana rotuunotettuja koiria. Näiden koirien polveutumisesta ei ole tietoa, joten ne voivat olla keskenään läheisempää sukua kuin muut tässä tutkimuksessa olevat koirat. Nämä koirat voivat myös olla sukua muille saman rodun koirille, jotka ovat mukana tässä tutkimuksessa. Jos su-

kulaisuudet ovat isovanhempaispolvea läheisempiä, voisi se vaikuttaa perinnöllistä monimuotoisuutta vähentävästi. Molemmat rodut ovat kuitenkin tämän tutkimuksen perusteella hyvin monimuotoisia muihin tässä tutkimuksessa mukana oleviin rotuihin verrattuna.

Tutkituista kymmenestä koirarodusta nousivat useiden populaatiogeneettisten tunnuslukujen perusteella esiin cavalier kingcharlesinspanieli, pitkäkarvainen collie ja schipperke geneettisen muuntelun vähäisyyden perusteella ja toisaalta chihuahua, jackrussellinterrieri ja suomenlapinkoira keskimääräistä suuremman geneettisen muuntelun perusteella. Selityksiä perinnöllisen monimuotoisuuden erilaisuuteen löytyy rotujen historiasta.

Cavalier kingcharlesinspanielin alleelirikkaus sekä havaittu heterotsygotia-aste olivat kaikista kymmenestä rodusta alhaisimmat. Tehollinen populaatiokoko oli hyvin alhainen (38) mutta kytkentäepätasapainossa keskenään olevia alleelipareja oli 23 kappaletta (neljänneksi vähiten). Näiden tulosten perusteella perinnöllinen monimuotoisuus on rodussa alhaista. Cavalier kingcharlesinspanieli oli yleinen lemmikki Euroopan hoveissa satojen vuosien ajan (Suomen Cavalier Kingcharlesinspanieliyhdistys ry 2010). 1800-luvulla rotu hävisi lähes kokonaan. Nykyinen rotu on lähtöisin kuudesta uroksesta, jotka elivät 1900-luvun alkupuolella. Rotuun on siis vaikuttanut merkittävä perustajavaikutus, joka on vähentänyt perinnöllistä monimuotoisuutta.

Pitkäkarvaisen collien alleelirikkaus sekä havaittu heterotsygotia-aste olivat toiseksi alhaisimmat muihin tutkimuksessa mukana oleviin rotuihin verrattuna. Tehollinen populaatiokoko oli kaikkein alhaisin (31). Myös pitkäkarvaisen collien perinnöllinen monimuotoisuus on tämän tutkimuksen perusteella alhaista. Rotuun on aikojen saatossa risteytetty useaa rotua mutta kaikki nykyiset pitkäkarvaiset colliet ovat lähtöisin kahdesta uroksesta, jotka elivät 1800-luvulla (Suomen collieyhdistys 2010). Rotuun on vaikuttanut siis voimakas perustajavaikutus. Lähtöpopulaation pienuuden takia rodun perinnöllinen monimuotoisuus ei ole koskaan ollut suurta.

Schipperkellä oli eniten lokuksia (4), jotka eivät olleet Hardy-Weinbergin tasapainossa. Näissä lokuksissa havaittu heterotsygotia-aste oli odotettua alhaisempi. Schipperke oli tutkituista roduista ainoa, jolla F_{IS}-arvojen keskiarvo oli merkitsevä. Koska arvo oli po-

sitiivinen, on rodussa tapahtunut sukusiitosta. Tehollinen populaatikoko oli 65, joka, toisin kuin muilla roduilla, oli suurempi kuin Kennelliiton Jalostustietokannasta saatu tehollinen populaatiokoko (30). Käytännössä kaikkien tämän päivän amerikkalaisten schipperkejen sukutauluista löytyy yhden 1900-luvun alkupuolella toimineen kennelin koiria (Suomen Schipperkekerho ry 2010). Rodun alkuperämaassa Belgiassa rodun populaatio on ollut ajoittain hyvin pieni ja maailmansodat vähensivät koirien määrää. Rodussa on siis esiintynyt pullonkauloja ja perustajavaikutusta.

Chihuahuan alleelirikkaus oli toiseksi suurinta ja rodussa oli myös suurin yksittäinen alleelirikkauden arvo yhdessä mikrosatelliittilokuksessa. Chihuahualla oli myös ainoa mikrosatelliittilokus, jossa havaittu heterotsygotia-aste oli merkitsevästi odotettua korkeampi. Kaikkien lokusten yli tarkasteltuna chihuahualla oli toiseksi korkein heterotsygotia-aste. Tehollinen populaatiokoko oli tutkimuksen korkein (86). Näiden tulosten perusteella chihuahua on perinnöllisesti varsin monimuotoinen rotu. Chihuahuan alkuperästä on useita teorioita atsteekkien rituaalikoirasta maltalaiseen lemmikkiin (Chihuahua ry 2010). Nykyinen rotu kehitettiin kuitenkin Yhdysvalloissa 1800- ja 1900-lukujen vaihteessa. Rodusta on olemassa useita eri sukulinjoja, joiden edustajia on pyritty tuomaan mahdollisimman paljon Suomeen. Eri linjojen risteyttäminen on palauttanut perinnöllistä monimuotoisuutta rodun suomalaisessa populaatiossa.

Jackrussellinterrierin alleelirikkauden keskiarvo oli kaikkein korkein tutkituista roduista. Tehollinen populaatiokoko oli toiseksi korkein yhdessä suomenlapinkoiran kanssa (82). Rotu on ollut pitkään rekisteröimätön eikä suunnitelmallista jalostustyötä juuri ole tehty. Jackrussellinterrieri on hyväksytty viralliseksi FCI-roduksi vuonna 2001 (Suomen Jackrussellinterrierit ry 2010a). Rodun rekisteri on avoin, joten rotuun voidaan edelleen ottaa uusia koiria (Suomen Jackrussellinterrierit ry 2010b). Uusien koirien ottaminen rotuun lisää perinnöllistä monimuotoisuutta rodun sisällä.

Suomenlapinkoiran heterotsygotia-aste oli tutkituista roduista korkein ja kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa. Tehollinen populaatiokoko oli 82 eli toiseksi korkein yhdessä jackrussellinterrierin kanssa. Suomenlapinkoira on siis perinnöllisesti varsin monimuotoinen rotu. Eri puolilla Lappia on ollut paikallisia kantoja, joiden risteyttäminen on voinut lisätä suomenlapinkoiran heterotsygotia-astetta (Lappalaiskoirat ry 2010). Rotuun on myös otettu luonnonkantaisia koiria esimerkiksi

1970-luvulla ja 1990-luvun alussa ja rotuun voidaan edelleen ottaa rekisteröimättömiä koiria. Rotuun on siis tullut uutta geneettistä ainesta.

Myös loppujen neljän rodun historioista ilmenee, että roduissa on esiintynyt geneettisiä pullonkauloja ja perustajavaikutusta. Näissä roduissa perinnöllinen monimuotoisuus ei kuitenkaan ole vähentynyt tämän tutkimuksen perusteella yhtä paljon kuin cavalier kingcharlesinspanielilla, pitkäkarvaisella colliella ja schipperkellä.

Coton de tulearin heterotsygotia-aste oli kolmanneksi korkein ja kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa. Tehollinen populaatiokokokin oli varsin korkea suhteessä muihin tutkittuihin rotuihin (75). Coton de tulear on näiden tulosten perusteella perinnöllisesti melko monimuotoinen rotu. Rodun historiasta voisi kuitenkin päätellä, että näin ei olisi. Coton de tulear on peräisin Espanjasta Kanarian saarille ja sieltä edelleen Madagaskarille ja Reunionin saarelle 1600-luvulla viedyistä koirista (Suomen Coton de Tulear ry 2010). Rotua tuotiin ranskalaisten uudisasukkaiden mukana takaisin Eurooppaan 1900-luvulla. Kanta eri Euroopan maissa perustuu muutamaan urokseen. USA:ssa on oma, suoraan Madagaskarilta tuotuihin koiriin perustuva linjansa. Suomeen on tuotu koiria useista maista, myös USA:sta ja Madagaskarilta, joten Suomen kannan voidaan olettaa olevan perimältään varsin monimuotoinen, vaikka rodun kantakoirien määrä onkin pieni. Toisaalta tässä tutkimuksessa kytkentäepätasapaino oli selvästi suurinta juuri coton de tulearilla, mikä voi johtua rodun historiassa tapahtuneista pullonkauloista ja isolaatiosta.

Saksanpaimenkoiran kohdalla tulokset olivat jossain määrin ristiriitaisia. Kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainotilassa ja kytkentäepätasapainoa mikrosatelliittilokusten välillä esiintyi toiseksi vähiten. Tehollinen populaatiokoko oli kuitenkin vain 52. Saksanpaimenkoiralla ero tässä tutkimuksessa saadun tehollisen populaatiokoon ja Kennelliiton Jalostustietokannan antaman tehollisen populaatiokoon (355) välillä oli kaikkein suurin. Saksanpaimenkoira on yksi Suomen ja koko maailman suosituimmista koiraroduista. Silti kaikki rodun pääsiitoslinjat polveutuvat yhdestä uroksesta, joka oli voitokas näyttelyissä 1900-luvun alkupuolella (Saksanpaimenkoiraliitto ry 2010). 1970-luvulta lähtien rotu on jakautunut käyttö- ja näyttelylinjaan. Näiden seikkojen perusteella rodun voidaan olettaa olevan geneettisesti melko vähän muunteleva.

Siperianhuskyn mikrosatelliittilokuksista kaikki paitsi yksi olivat Hardy-Weinbergin tasapainossa. Kytkentäepätasapainossa olevia mikrosatelliittilokuksia oli toiseksi eniten. F_{IS}-arvo kaikkien lokusten yli tarkasteltuna oli lähellä merkitsevyyden rajaa, mikä viittaa sukusiitokseen populaatiossa. Tehollinen populaatiokoko oli tämän tutkimuksen tuloksiin nähden melko korkea (71). Siperianhuskyn nykyinen populaatio on peräisin lähes kokonaan kahdestatoista kantakoirasta, jotka tuotiin Alaskaan Siperiasta 1900-luvun alussa (Suomalainen Siperianhusky seura - Finska Siberian Husky -sällskapet ry 2010). Lisäksi rodussa on näyttelylinjan lisäksi peräti neljä käyttölinjaa, mikä aiheuttaa populaation entistä suuremman pirstaloitumisen. Rodun suosio nousi räjähdysmäisesti 1960-luvulla, joten populaatio ei ole luultavasti ehtinyt sopeutua populaatiokoon nopeaan kasvuun. Suomalaisista siperianhuskyista vuosien 1996 – 2005 pentuerekisteröintien perusteella 88,6 % edustaa käyttölinjoja, 3,3 % sekalinjaa ja 8,2 % näyttelylinjaa. 1960-luvulta lähtien käyttölinjojen osuus on kasvanut ja näyttelylinjojan pienentynyt. Tämän tutkimuksen aineistosta ei pystytä sanomaan, mitä linjaa valitut koirat edustavat.

Tiibetinspanielin kaikki paitsi yksi mikrosatelliittilokuksista olivat Hardy-Weinbergin tasapainossa. Tässä yhdessä mikrosatelliittilokuksessa havaittu heterotsygotia-aste oli odotettua alhaisempi. Kytkentäepätasapainossa olevien mikrosatelliittilokusten määrä oli tutkituista roduista kaikkein alhaisin. Tehollinen populaatiokoko oli melko alhainen (55). Tiibetinspanielin tyyppisiä koiria on ollut Tiibetissä luultavasti jo yli kahden tuhannen vuoden ajan (Tiibetinspanielit ry 2010). 1900-luvun alussa tuotiin useita koiria Iso-Britanniaan mutta toisen maailmansodan jälkeen koiria oli jäljellä enää hyvin vähän ja koko nykyinen populaatio perustuu muutamaan, toisilleen sukua olevaan koiraan. Nykyrodussa perinnöllinen monimuotoisuus on siis vähäistä.

Tässä tutkimuksessa saadut teholliset populaatiokoot ovat pääsääntöisesti huomattavasti alhaisempia kuin Kennelliiton Jalostustietokannasta saadut teholliset populaatiokoot. Eroihin on selvät syyt (kts. kappele 5.1.4 Tehollinen populaatiokoko) mutta käytännön koirankasvatustyön kannalta, olisi tärkeää, että kasvattajat saisivat Kennelliitolta mahdollisimman paikkaansapitävää tietoa, jolle jalostussuunnitelmansa pohjaavat. Ainakin pitäisi tuoda selvästi esiin, että Jalostustietokanta antaa yliarvioita tehollisesta populaatiokoosta. Tämä seikka kyllä mainitaan ainakin tässä tutkimuksessa mukana olevien rotujen jalostuksen tavoiteohjelmissa, joten rotujärjestöissä asiaan on jo kiinnitetty huomiota.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä maisterin tutkielmassa tutkittiin koirarotujen perinnöllistä monimuotoisuutta mikrosatelliittiaineiston perusteella.

Alleelirikkaus vaihteli suuresti lokuksittain. Jackrussellinterreirin alleelirikkaus oli yli kaikkien lokusten tarkasteltuna suurinta ja cavalier kingcharlesinspanielin pienintä. Alleelirikkaudet olivat tässä tutkimuksessa joko samansuuruisia tai korkeampia kuin muissa tutkimuksessa saadut alleerikkaudet.

Schipperkellä oli eniten Hardy-Weinbergin tasapainosta poikkeavia mikrosatelliittilokuksia. Coton de tulearin, saksanpaimenkoiran ja suomenlapinkoiran kaikki mikrosatelliittilokukset olivat Hardy-Weinbergin tasapainossa. Cavalier kingcharlesinspanielin havaittu heterotsygotia-aste oli kaikkien lokusten yli tarkasteltuna alhaisin (0,50). Suomenlapinkoiran havaittu heterotsygotia-aste oli puolestaan korkein (0,73). Tässä tutkimuksessa saadut havaitut heterotsygotia-asteet ovat samansuuntaisia kuin muissa tutkimuksissa saadut eri koirarotujen ja myös eri eläinlajien (mm. rotukissat, susi) havaitut heterotsygotia-asteet.

Ainoat merkitsevät F_{IS}-arvot olivat schipperken mikrosatelliittilokuksessa INU030 ja kaikkien mikosatelliittilokusten yli tarkasteltuna. Myös siperianhuskyn mikrosatelliittilokuksen AHT137 ja kaikkien mikrosatelliittilokusten yli tarkasteltu F_{IS}-arvojen p-arvot olivat lähellä merkitsevyyden rajaa. Nämä tulokset viittaavat siihen, että näissä roduissa on sattumaa vähemmän heterotsygoottisia yksilöitä, mikä puolestaan viittaa sukusiitokseen populaatioissa.

Eniten populaatioiden välisiin eroihin perustuvaa muuntelua oli cavalier kingcharlesinspanielin ja pitkäkarvaisen collien välillä ja vähiten chihuahuan ja coton de tulearin välillä. Noin 17,7 prosenttia populaatioiden välisestä perinnöllisestä muuntelusta koko aineistossa yli kaikkien lokusten johtui populaatioiden välisistä eroista. Rodut ovat tulosten perusteella selvästi erillisiä populaatioita.

Koko aineiston yli pareittain tarkasteltuna kytkentäepätasapainossa oli kolme eri lokusparia. Eniten kytkentäepätasapainossa keskenään olevia alleelipareja oli coton de tu-

learilla ja seuraavaksi eniten siperianhuskylla ja schipperkellä. Vähiten kytkentäepätasapainossa keskenään olevia alleelipareja oli tiibetinspanielilla ja seuraavaksi vähiten saksanpaimenkoiralla sekä jackrussellinterrierillä. Tulosten perusteella coton de tulearin, siperianhuskyn ja schipperken populaatioissa on esiintynyt muita tutkittuja rotuja enemmän kytkentäepätasapainoa aiheuttavia evolutiivisia tekijöitä (muun muassa geneettiset pullonkaulat, valinta ja sattuma). Näissä roduissa sukusiitosaste on siis noussut ja sitä kautta perinnöllinen monimuotoisuus vähentynyt. Tiibetinspanieli, saksanpaimenkoira ja jackrussellinterrieri näyttävät vastaavasti säästyneen aiemmin mainituilta evolutiivisilta tekijöiltä ja populaatioiden säästyneen sukusiitosasteen nousulta.

Kymmenen koirarodun tehollisen populaatiokoon arviot vaihtelivat välillä 35 – 86. Pitkäkarvaisen collien tehollisen populaatiokoon arvio oli pienin ja chihuahuan suurin. KoiraNet Jalostustietojärjestelmästä saadut tehollisen populaatiokoon arviot ovat huomattavasti suurempia kuin tässä tutkimuksessa saadut arvot. Tämä johtuu KoiraNet Jalostustietojärjestelmässä käytettävästä laskentatavasta, joka antaa todellisuutta suurempia tehollisen populaatiokoon arvioita. Tässä tutkimuksessa saadut tehollisen populaatiokoon arviot ovat huomattavan pieniä. Tehollisen populaatiokoon olisi oltava vähintään 50, että populaatio säilyisi elinvoimaisena ja vältyttäisiin lyhyen aikavälin sukusiitostaantumalta. Tehollinen populaatiokoko oli tässä tutkimuksessa alle 50 cavalier kingcharlesinspanielilla ja pitkäkarvaisella colliella mutta muidenkaan rotujen tehollisset populaatiokoot eivät olleet kovin suuria.

Koirarotujen perinnöllinen monimuotoisuus ja sitä kautta koirien rakenne, hyvinvointi ja terveys ovat ajankohtaisia seikkoja. Tutkimusta aiheesta tarvitaan varmasti lisää. Käytännössä kaikki koirankasvatus on Suomessa pienimuotoista, harrastukseen verrattavaa toimintaa. Kennelnimen myöntämisen ehdoissa on kasvattajan Suomen Kennelliiton järjestämän peruskurssin suorittaminen. Pennut voidaan kuitenkin rekisteröidä, vaikkei kasvattajalla olisikaan kennelnimeä. Useilla rotujärjestöillä on erilaisia terveysvaatimuksia jalostukseen käytettäville koirille. Ilman näiden ehtojen täyttymistä pentuja ei voida rekisteröidä. Tämä ehkäisee perinnöllisten sairauksien ja vikojen leviämistä populaatiossa. Useiden rotujen pienen populaatiokoon huomioon ottaen olisi jalostukseen käytettävä kaikkia rodun terveitä koiria, ettei tehollinen populaatiokoko edelleen pienenisi. Varsinaista jalostusta ei populaatiokooltaan pienissä roduissa voida harjoittaa ilman perinnöllisen monimuotoisuuden menettämistä ja sukusiitosasteen merkittävää

nousua. Lähirotujen risteyttäminen on yksi keino lisätä koirarotujen perinnöllistä monimuotoisuutta. Toisaalta useiden rotujen populaatiokoot ovat suuria ja niiden populaatiogeneettinen tilanne on hyvä. Erityisesti rotujärjestöjen ja kasvattajien tietoisuutta rotujen geneettisestä tilanteesta pitäisi lisätä, jotta se voitaisiin ottaa huomioon jalostusvalinnoissa.

Koirapopulaatio on pirstoutunut satoihin eri rotuihin ja alarotuihin sekä myös saman rodun paikallisiin ja käyttötavaltaan eroaviin populaatioihin. Monien rotujen populaatiokoot ovat hyvin pieniä. Voidaan kysyä, tarvitaanko näin monia eri rotuja. Ovatko kaikki koirarodut säilyttämisen arvoisia samalla tavalla kuin eri eläinlajien luonnonpopulaatiot? Koirarotujen populaatiogeneettinen tilanne on otettava entistä paremmin huomioon, jos kaikki nykyiset koirarodut halutaan säilyttää elinkelpoisina populaatioina.

7 KIITOKSET

Kiitos Production Manager Heikki Ryynäselle Finnzymes Oy:stä yhteistyöstä ja avusta aineistoihin liittyen sekä yliopistonlehtori Kari Elolle ja yliopistonlehtori Marjatta Säisälle työni ohjauksesta. Haluan myös kiittää perhettä ja ystäviä tuesta ja kannustuksesta.

8 LÄHTEET

Beckmann, J.S. & Weber, J.L. 1992. Survey of human and rat microsatellites. Genomics 12: 627-631.

Björnerfeldt, S., Hailer, F., Nord, M. & Vila, C. 2008,. Assortative mating and fragmentation within dog breeds. BMC Evolutionary Biology 8. http://www.biomedcentral.com/1471-2148/8/28. Julkaistu 28.1.2008. Tulostettu 12.7.2010.

Breen, M., Jouquand, S., Renier, C., Mellersh, C.S., Hitte, C., Holmes, N.G., Cheron, A., Suter, N., Vignaux, F., Bristow, A.E., Priat, C., McCann, E., Andre, C., Boundy, S., Gitsham, P., Thomas, R., Bridge, W.L., Spriggs, H.F., Ryder, E.J., Curson, A., Sampson, J., Ostrander, E.A., Binns, M.M. & Galibert, F. 2001. Chromosome-specific single-locus FISH probes allow anchorage of an 1800-marker integrated radiation-hybrid/linkage map of the domestic dog genome to all chromosomes. Genome Research 11: 1784-1795.

Brinkmann, B., Klintschar, M., Neuhuber, F., Huhne, J. & Rolf, B. 1998. Mutation rate in human microsatellites: Influence of the structure and length of the tandem repeat. American Journal of Human Genetics 62: 1408-1415.

Brown, T.A. 1999. Genomes. 1. painos. BIOS Scientific Publisher Ltd., Oxford, UK. s.472.

Calboli, F.C.F., Sampson, J., Fretwell, N. & Balding, D.J. 2008. Population structure and inbreeding from pedigree analysis of purebred dogs. Genetics 179: 593-601.

Callen, D.F., Thompson, A.D., Shen, Y., Phillips, H.A., Richards, R.I., Mulley, J.C. & Sutherland, G.R. 1993. Incidence and origin of null alleles in the (AC)n microsatellite markers. American Journal of Human Genetics 52: 922-927.

Cassady, J.P., Young, L.D. & Leymaster, K.A. 2002. Heterosis and recombination effects on pig reproductive traits. Journal of Animal Science 80: 2303-2315.

Chihuahua ry. 2010. Jalostuksen tavoiteohjelma. www.chihuahua.fi/chihuahuaJTO.doc. Viitattu 10.11.2010.

Coutts, N.J. & Harley, E.H. 2009. Comparative population genetics of the German shepherd dog in South Africa. South African Journal of Science 105: 132-135.

Dallas, J.F. 1992. Estimation of microsatellite mutation-rates in recombinant inbred strains of mouse. Mammalian Genome 3: 452-456.

Ellegren, H. 1995. Mutation-rates at porcine microsatellite loci. Mammalian Genome 6: 376-377.

Ellegren, H. 2004. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. Nature Reviews Genetics 5: 435-445.

El Mousadik, A. & Petit, R.J. 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (Argania spinosa (L) Skeels) endemic to Morocco. Theoretical and Applied Genetics 92: 832-839.

Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10: 564-567.

Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4. painos. Longman Group Ltd, UK. s.464.

Fédération Cynologique Internationale 2010. FCI - Breeds nomenclature. http://www.fci.be/default.aspx. Viitattu 1.6.2010.

Finnzymes Diagnostics 2007. Instruction Manual Canine Genotypes™ Panel 1.1, F-860S/L version 1.1. s.26.

Francisco, L.V., Langston, A.A., Mellersh, C.S., Neal, C.L. & Ostrander, E.A. 1996. A class of highly polymorphic tetranucleotide repeats for canine genetic mapping. Mammalian Genome 7: 359-362.

Frankham, R. 1995. Effective population-size adult-population size ratios in wildlife - a review. GeneticalRresearch 66: 95-107.

Frankham, R., Ballou, J.D. & Briscoe, D.A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK. s.617.

Franklin, I.R. 1980. Evolutionary change in small populations. Teoksessa *Conservation Biology: An Evolutionary-Ecological Perspective*. Toim.: M.E.W. Soule B.A. Sinauer. Sunderland, MA, USA. s.135-150.

Galibert, F., Andre, C. & Hitte, C. 2004. Dog as a mammalian genetic model. M S-Medicine Sciences 20: 761-766.

Germonpre, M., Sablin, M.V., Stevens, R.E., Hedges, R.E.M., Hofreiter, M., Stiller, M. & Despres, V.R. 2009. Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes. Journal of Archaeological Science 36: 473-490.

Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. Journal of Heredity 86: 485-486.

Guo, S.W. & Thompson, E.A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. Biometrics 48: 361-372.

Hamann, H. & Distl, O. 2008. Genetic variability in Hanoverian warmblood horses using pedigree analysis. Journal of Animal Science 86: 1503-1513.

Hancock, J.M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanism. Teoksessa: Goldstein, D.B. & Schlötterer, C. (toim.). Microsatellites Evolution and Applications. 1. painos. Oxford University Press, New York, USA. s. 352.

Hardy, G.H. 1908. Mendelian proportions in a mixed population. Science 28: 49-50.

Hartl, D.L. & Clark, A.G. 2007. Principles of Population Genetics. 4. painos. Sinauer Assosiates, Inc., Sunderland, MA, USA. s. 652.

Hill, W.G. 1974. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. Heredity 33: 229-239.

Holmes, N.G., Dickens, H.F., Parker, H.L., Binns, M.M., Mellersh, C.S. & Sampson, J. 1995. 18 Canine Microsatellites. Animal Genetics 26: 132-133.

Hurlbert, S.H. 1971. Nonconcept of species diversity - critique and alternative parameters. Ecology 52: 577-586.

ISAG. 2005. 2005 ISAG Canine Panel for parentage verification. http://www.isag.us/Docs/2005ISAGPanelDOG.pdf. Viitattu 21.12.2010.

Irion, D.N., Schaffer, A.L., Famula, T.R., Eggleston, M.L., Hughes, S.S. & Pedersen, N.C. 2003. Analysis of genetic variation in 28 dog breed populations with 100 microsatellite markers. Journal of Heredity 94: 81-87.

Irion, D.N., Schaffer, A.L., Grant, S., Wilton, A.N. & Pedersen, N.C. 2005. Genetic variation analysis of the Bali street dog using microsatellites. BMC Genetics 6: 6.

Jarne, P. & Lagoda, P.J.L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. Trends in Ecology & Evolution 11: 424-429.

Kang, B.T., Kim, K.S., Min, M.S., Chae, Y.J., Kang, J.W., Yoon, J., Choi, J., Seong, J.K., Park, H.C., An, J., Lee, M.H., Park, H.M. & Lee, H. 2009. Microsatellite loci analysis for the genetic variability and the parentage test of five dog breeds in South Korea. Genes & Genetic Systems 84: 245-251.

Karjalainen, L. & Ojala, M. 1997. Generation intervals and inbreeding coefficients in the Finnish Hound and the Finnish Spitz. Journal of Animal Breeding and Genetics-Zeitschrift Fur Tierzuchtung Und Zuchtungsbiologie 114: 33-41.

Kim, K.S., Tanabe, Y., Park, C.K. & Ha, J.H. 2001. Genetic variability in east Asian dogs using microsatellite loci analysis. Journal of Heredity 92: 398-403.

Klütsch, C.F.C., Seppälä, E.H., Fall, T., Uhlén, M., Hedhammar, Å., Lohi, H. & Savolainen, P. 2010. Regional occurrence, high frequency but low diversity of mitochondrial DNA haplogroup d1 suggests a recent dog-wolf hybridization in Scandinavia. Animal Genetics 42: 100–103. Julkaistu verkossa 18.5.2010. Viitattu 15.6.2010.

Koskinen, M.T. & Bredbacka, P. 2000. Assessment of the population structure of five Finnish dog breeds with microsatellites. Animal Genetics 31: 310-317.

Lande, R. 1995. Mutation and Conservation. Conservation Biology 9: 782-791.

Lappalaiskoirat ry. 2010. Suomenlapinkoira jalostuksen tavoiteohjelma. http://www.lappalaiskoirat.fi/jalostus/tavoiteohjelma/slk.pdf. Viitattu 8.10.2010.

Leroy, G., Verrier, E., Meriaux, J.C. & Rognon, X. 2009a. Genetic diversity of dog breeds: within-breed diversity comparing genealogical and molecular data. Animal Genetics 40: 323-332.

Leroy, G., Verrier, E., Meriaux, J.C. & Rognon, X. 2009b. Genetic diversity of dog breeds: between-breed diversity, breed assignation and conservation approaches. Animal Genetics 40: 333-343.

Lesk, A.M. 2007. Introduction to Genomics. 1. painos. Oxford University Press, cop., Oxford, New York, NY, USA. s.419.

Lipinski, M.J., Froenicke, L., Baysac, K.C., Billings, N.C., Leutenegger, C.M., Levy, A.M., Longeri, M., Niini, T., Ozpinar, H., Slater, M.R., Pedersen, N.C. & Lyons, L.A. 2008. The ascent of cat breeds: Genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations. Genomics 91: 12-21.

Litt, M. & Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. American Journal of Human Genetics 44: 397-401.

Mariat, D., Kessler, J.L., Vaiman, D. & Panthier, J.J. 1996. Polymorphism characterization of five canine microsatellites. Animal Genetics 27: 434-435.

McParland, S., Kearney, J.F., Rath, M. & Berry, D.P. 2007. Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. Journal of Animal Science 85: 322-331.

Mellersh, C.S., Hitte, C., Richman, M., Vignaux, F., Priat, C., Jouquand, S., Werner, P., André, C., DeRose, S., Patterson, D.F., Ostrander, E.A., Galibert, F. 2000. An integrated linkage-radiation hybrid map of the canine genome. Mammalian Genome 11: 120-130.

Miglior, F., Szkotnicki, B. & Burnside, E.B. 1992. Analysis of levels of inbreeding and inbreeding depression in Jersey cattle. Journal of Dairy Science 75: 1112-1118.

Morin, P.A., Luikart, G., Wayne, R.K. & SNP Workshop Grp 2004. SNPs in ecology, evolution and conservation. Trends in Ecology & Evolution 19: 208-216.

MTT. 2010. Suomalaiset koirarodut. https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/www/Tietopaketit/Monimuotoisuus/Maatalousymp%E4rist%F6%20ja%20el%E4imet/Maatiaiset/Alkuper%E4isrodut/Suomalaiset%20koirarodut. Viitattu 28.9.2010.

Mäki, K., Groen, A.F., Liinamo, A.E. & Ojala, M. 2001. Population structure, inbreeding trend and their association with hip and elbow dysplasia in dogs. Animal Science 73: 217-228.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.

Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. 1. painos. Columbia University Press, New York, USA. s.512.

Nielen, A.L.J., van der Beek, S., Ubbink, G.J. & Knol, B.W. 2001. Population parameters to compare dog breeds: Differences between five Dutch purebred populations. Veterinary Quarterly 23: 43-49.

Ostrander, E.A., Sprague, G.F. & Rine, J. 1993. Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)n markers for genetic-mapping in dog. Genomics 16: 207-213.

Pang, J.F., Kluetsch, C., Zou, X.J., Zhang, A.B., Luo, L.Y., Angleby, H., Ardalan, A., Ekstrom, C., Skollermo, A., Lundeberg, J., Matsumura, S., Leitner, T., Zhang, Y.P. & Savolainen, P. 2009. mtDNA data indicate a single origin for dogs south of yangtze river, less than 16,300 years ago, from numerous wolves. Molecular biology and evolution 26: 2849-2864.

Park, S. D. E., 2001. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection (Ph.D. thesis). University of Dublin.

Parra, D., Mendez, S., Canon, J. & Dunner, S. 2008. Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence. Animal Genetics 39: 1-7.

Parra. D., García, D., Mendez, S., Cañon, J., Dunner, S. 2009. High mutation rates in canine tetranucleotide microsatellites: Too much risk for genetic compatibility purposes? The Open Forensic Science Journal 2009: 2. http://www.ucm.es/info/genetvet/microstellite_canine_mutation_rate.pdf. Viitattu: 25.10.2010.

Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.

Räikkönen, J., Bignert, A., Mortensen, P. & Fernholm, B. 2006. Congenital defects in a highly inbred wild wolf population (*Canis lupus*). Mammalian Biology 71: 65-73.

Randall, D.A., Pollinger, J.P., Argaw, K., Macdonald, D.W. & Wayne, R.K. 2010. Fine-scale genetic structure in Ethiopian wolves imposed by sociality, migration, and population bottlenecks. Conservation Genetics 11: 89-101.

Rooney, N.J. & Sargan, D.R. 2010. Welfare concerns associated with pedigree dog breeding in the UK. Animal Welfare 19: 33-140.

Roy, M.S., Geffen, E., Smith, D., Ostrander, E.A. & Wayne, R.K. 1994. Patterns of differentiation and hybridization in North-American wolflike Canids, revealed by analysis of microsatellite loci. Molecular biology and evolution 11: 553-570.

Saksanpaimenkoiraliitto ry. 2010. Saksanpaimenkoiran jalostuksen tavoiteohjelma 2009-2013. http://www.spl.fi/jalostus/JTO_2010.pdf. Viitattu 21.12.2010.

Savolainen, P., Zhang, Y.P., Luo, J., Lundeberg, J. & Leitner, T. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. Science 298: 1610-1613.

Schlötterer, C. 1998. Genome evolution: Are microsatellites really simple sequences? Current Biology 8: R132-R134.

Sidak, Z. 1967. Rectangular confidence regions for the means of multivariate normal distributions. Journal of the American Statistical Association 62: 626-633.

Slatkin, M. & Excoffier, L. 1996. Testing for linkage disequilibrium in genotypic data using the EM algorithm. Heredity 76: 377-383.

Soule, M.E. 1980. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential. Teoksessa: Soule M.E. & Wilcox B.A. (toim.). Conservation biology: An evolutionary-ecological perspective. Sinauer, Sunderland, MA, USA. s.395.

Steckler, D. 2010. Verifying parentage and gender of domestic dog conceptutes using microsatellites. Eläinlääketieteen maisterintutkielma. http://upetd.up.ac.za/thesis/available/etd-12212010-140427/unrestricted/dissertation.pdf. Viitattu 9.3.2011.

Suomalainen Siperianhusky -seura - Finska Siberian Husky -sällskapet ry. 2010. Siperianhuskyn jalostuksen tavoiteohjelma. http://www.siperianhusky.fi/jalostus/JTO_2007-2011.pdf. Viitattu 8.10.2010.

Suomen collieyhdistys. 2010. Pitkäkarvaisen collien jalostuksentavoiteohjelma. http://www.collieyhdistys.fi/jto_pkcollie.pdf. Viitattu 10.11.2010.

Suomen Cavalier kingcharlesinspanieliyhdistys ry. 2010. Jalostuksen tavoiteohjelma 2009-2013. http://cavalier.zoner-asiakas.fi/files/jto030509.pdf. Viitattu 10.11.2010.

Suomen Coton de Tulear ry. 2010. Jalostuksen Tavoiteohjelma: Coton de tuléar. http://www.toydogs.net/coton/jalostus/JTO.pdf. Viitattu 21.12.2010.

Suomen Jackrussellinterrierit ry. 2010a. Jackrussellinterrierin rotumääritelmä. http://www.jackrussellinterrieri.fi/rotu.shtml. Viitattu 14.10.2010.

Suomen Jackrussellinterrierit ry. 2010b. Jackrussellinterrieri Jalostuksen tavoiteohjelma. http://www.jackrussellinterrieri.fi/JTO.pdf. Viitattu 10.11.2010.

Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry. 2010a. KoiraNet – jalostustietojärjestelmä. http://jalostus.kennelliitto.fi/frmEtusivu.aspx. Viitattu 3.6.2010.

Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry. 2010b. Koira. http://www.kennelliitto.fi/FI/koira/Etusivu.htm. Viitattu 9.6.2010.

Suomen Schipperkekerho ry. 2010. Schipperken rotuesittely ja historiaa. http://www.schipperkeclub.fi/11. Viitattu 8.10.2010.

Suomen Tanskandoggi ry. 2010. Tanskandoggi Jalostuksen tavoiteohjelma. http://www.greatdane.fi/JTO_19.10.06_Tanskandoggi1.pdf. Viitattu 27.5.2010.

Switonski, M., Szczerbal, I., Nowacka, J. 2004. The dog genome map and its use in mammalian comparative genomics. Journal of Applied Genetics 45: 195-196-214.

Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic acids research 17: 6463-6471.

Tiibetinspanielit ry. 2010. Jalostuksen tavoiteohjelma v. 2006-2010. http://www.tiibetinspanielit.fi/cms/images/pdf/tavoiteohjelma.pdf. Viitattu 14.10.2010.

Urfer, S.R. 2009. Inbreeding and fertility in Irish Wolfhounds in Sweden: 1976 to 2007. Acta Veterinaria Scandinavica 51. http://www.actavetscand.com/content/51/1/21. Viitattu 10.6.2010.

Vaiman, D., Mercier, D., Moazamigoudarzi, K., Eggen, A., Ciampolini, R., Lepingle, A., Velmala, R., Kaukinen, J., Varvio, S.L., Martin, P., Leveziel, H. & Guerin, G. 1994. A set of 99 cattle microsatellites - Characterization, synteny mapping, and polymorphism. Mammalian Genome 5: 288-297.

Vila, C., Savolainen, P., Maldonado, J.E., Amorim, I.R., Rice, J.E., Honeycutt, R.L., Crandall, K.A., Lundeberg, J. & Wayne, R.K. 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. Science 276: 1687-1689.

Vila, C., Seddon, J. & Ellegren, H. 2005. Genes of domestic mammals augmented by backcrossing with wild ancestors. Trends in Genetics 21: 214-218.

vonHoldt, B.M., Pollinger, J.P., Lohmueller, K.E., Han, E.J., Parker, H.G., Quignon, P., Degenhardt, J.D., Boyko, A.R., Earl, D.A., Auton, A., Reynolds, A., Bryc, K., Brisbin, A., Knowles, J.C., Mosher, D.S., Spady, T.C., Elkahloun, A., Geffen, E., Pilot, M., Jedrzejewski, W., Greco, C., Randi, E., Bannasch, D., Wilton, A., Shearman, J., Musiani, M., Cargill, M., Jones, P.G., Qian, Z.W., Huang, W., Ding, Z.L., Zhang, Y.P., Bustamante, C.D., Ostrander, E.A., Novembre, J. & Wayne, R.K. 2010. Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. Nature 464: 898-U109.

Weber, J.L. 1990. Informativeness of human (Dc-Da)n.(Dg-Dt)n polymorphisms. Genomics 7: 524-530.

Weber, J.L. & Wong, C. 1993. Mutation of human short tandem repeats. Human molecular genetics 2: 1123-1128.

Weinberg, W. 1908. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. Verein Vaterländ Naturk, Wurtemberg Jahresh 64: 357-365.

Weir, B.S. & Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of population-structure. Evolution 38: 1358-1370.

Whittaker, J.C., Harbord, R.M., Boxall, N., Mackay, I., Dawson, G. & Sibly, R.M. 2003. Likelihood-based estimation of microsatellite mutation rates. Genetics 164: 781-787.

Wierdl, M., Dominska, M. & Petes, T.D. 1997. Microsatellite instability in yeast: Dependence on the length of the microsatellite. Genetics 146: 769-779.

Wildt, D.E., Baas, E.J., Chakraborty, P.K., Wolfle, T.L. & Stewart, A.P. 1982. Influence of inbreeding on reproductive-performance, ejaculate quality and testicular volume in the dog. Theriogenology 17: 445-452.

Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97-159.

Wright, S. 1965. The interpretation of population-structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19: 395-420.

Young, A.E., Biller, D.S., Herrgesell, E.J., Roberts, H.R. & Lyons, L.A. 2005. Feline polycystic kidney disease is linked to the PKD1 region. Mammalian Genome 16: 59-65.

Zajc, I., Mellersh, C.S. & Sampson, J. 1997. Variability of canine microsatellites within and between different dog breeds. Mammalian Genome 8: 182-185.

Zajc, I. & Sampson, J. 1999. Utility of canine microsatellites in revealing the relationships of pure bred dogs. Journal of Heredity 90: 104-107.

Zeder, M.A., Emshwiller, E., Smith, B.D. & Bradley, D.G. 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. Trends in Genetics 22: 139-155.

LIITE 1: F_{ST}- ja F_{IS}-arvot lokuksittain kaikille alleeleille yli koko aineiston laskettuna.

Lokus			**Lokus**		
Alleeli	F_{ST}	F_{IS}	Alleeli	F_{ST}	F_{IS}
AHT121			**AHT137**		
80	0,01	-0,01	131	0,13	0,02
90	0,11	0,13	133	0,15	-0,03
92	0,10	-0,01	135	-0,01	0,00
94	0,10	-0,02	137	0,32	-0,02
96	0,08	0,01	139	0,26	-0,07
98	0,59	0,06	141	0,10	-0,05
100	0,28	0,04	143	0,17	0,00
102	0,25	-0,10	145	0,09	0,01
104	0,15	0,04	147	0,17	0,07
106	0,04	-0,02	149	0,07	0,08
108	0,15	0,04	151	0,08	0,15
110	0,01	-0,01	153	0,24	0,11
112	0,02	-0,03	155	0,02	-0,02
114	0,00	0,00			
Kaikki	0,25	0,00	Kaikki	0,17	0,04
Keskivirhe	0,07	0,02	Keskivirhe	0,04	0,04
AHTh171			**AHTh260**		
137	-0,01	1,00	137	-0,01	1,00
219	0,11	0,04	225	0,00	1,00
221	0,13	0,09	234	0,01	-0,01
223	0,27	-0,01	236	0,16	0,19
225	0,21	0,08	237	0,01	1,00
227	0,00	-0,01	238	0,18	0,14
229	0,19	-0,04	240	0,13	-0,02

231	0,08	0,35	242	0,10	0,04
233	0,24	-0,05	244	0,26	0,07
235	0,15	-0,01	246	0,15	0,07
237	0,24	0,11	248	0,03	0,11
			250	0,08	-0,04
			252	0,14	-0,01
			254	0,00	0,00
			256	0,01	-0,01
Kaikki	0,19	0,04	Kaikki	0,15	0,07
Keskivirhe	0,03	0,03	Keskivirhe	0,04	0,02

AHTk211			**AHTk253**		
87	0,16	0,07	89	0,00	1,00
89	0,14	-0,04	91	0,00	1,00
91	0,28	0,12	137	-0,01	1,00
93	0,06	-0,07	284	0,07	-0,02
95	0,38	0,11	286	0,07	-0,04
97	0,10	-0,07	288	0,11	0,01
99	0,04	-0,04	290	0,24	-0,06
137	-0,01	1,00	292	0,13	0,01
248	0,00	1,00	294	0,10	-0,11
252	0,01	1,00	296	0,03	-0,04
Kaikki	0,21	0,05	Kaikki	0,13	0,00
Keskivirhe	0,06	0,04	Keskivirhe	0,03	0,04

CXX279			**FH2054**		
114	0,15	0,25	118	0,02	0,85
116	0,10	0,08	120	0,00	1,00
118	0,05	0,04	124	0,00	1,00

120	0,08	-0,06	126	0,01	1,00
122	0,12	-0,04	130	0,00	1,00
124	0,18	-0,05	148	0,06	0,19
126	0,26	0,06	152	0,27	-0,01
128	0,01	-0,01	156	0,07	0,13
130	0,06	-0,02	160	0,08	0,10
			164	0,07	0,09
			168	0,12	-0,11
			172	0,18	-0,02
			176	0,48	0,18
Kaikki	0,14	0,03	Kaikki	0,18	0,09
Keskivirhe	0,04	0,04	Keskivirhe	0,07	0,04

FH2848			**INRA21**		
118	0,00	1,00	91	0,07	0,13
126	-0,01	1,00	95	0,11	0,13
168	0,04	1,00	97	0,28	0,00
172	0,07	1,00	99	0,22	0,08
230	0,05	0,25	101	0,22	0,00
232	0,17	0,06	103	0,38	0,05
234	0,10	0,06	105	0,08	-0,09
236	0,15	0,19			
238	0,13	0,13			
240	0,17	0,18			
242	0,24	0,03			
244	0,13	0,04			
246	0,01	-0,01			
Kaikki	0,15	0,15	Kaikki	0,21	0,06
Keskivirhe	0,03	0,06	Keskivirhe	0,05	0,04

INU005			**INU030**		
99	0,01	1,00	101	-0,01	1,00
101	0,00	1,00	144	0,27	0,03
104	0,18	-0,03	146	0,49	-0,11
110	0,31	0,07	148	0,10	-0,07
120	0,14	-0,03	150	0,18	-0,01
122	0,10	-0,03	152	0,15	0,18
124	0,17	0,05	154	0,03	0,12
126	0,11	0,06	156	0,27	0,09
128	0,06	0,31			
130	0,01	-0,01			
132	0,06	-0,01			
134	0,09	0,22			
Kaikki	0,16	0,06	Kaikki	0,25	0,03
Keskivirhe	0,05	0,03	Keskivirhe	0,07	0,05

INU055			**REN162C04**		
101	-0,01	1,00	101	-0,01	1,00
150	0,02	1,00	200	0,12	-0,02
152	0,00	1,00	202	0,11	-0,02
208	0,17	0,02	204	0,15	0,08
210	0,16	0,14	206	0,18	0,05
212	0,10	-0,02	208	0,06	0,01
214	0,17	0,12	210	0,05	0,12
216	0,09	0,06	212	0,27	0,09
218	0,11	0,04	214	0,01	-0,01
220	0,11	0,09	218	-0,01	1,00
222	0,03	0,56			
Kaikki	0,14	0,13	Kaikki	0,14	0,04

Keskivirhe	0,02	0,04	Keskivirhe	0,04	0,03
REN169D01			**REN169O18**		
101	-0,01	1,00	101	-0,01	1,00
202	0,08	0,09	158	0,19	0,02
208	0,20	-0,09	160	0,07	-0,09
210	0,10	0,13	162	0,24	-0,06
212	0,10	0,01	164	0,06	0,00
214	0,07	-0,09	166	0,07	0,06
216	0,22	0,08	168	0,10	0,13
218	0,21	0,11	170	0,25	0,04
220	0,16	-0,09	172	0,02	0,18
222	0,17	-0,03	174	0,00	0,00
224	0,02	-0,02			
Kaikki	0,15	0,05	Kaikki	0,16	0,03
Keskivirhe	0,02	0,03	Keskivirhe	0,04	0,04
REN247M23		**REN54P11**			
101	-0,01	1,00	101	-0,01	1,00
166	0,00	1,00	222	0,44	0,23
168	0,01	1,00	224	0,11	0,16
170	-0,01	1,00	226	0,10	0,03
266	0,26	-0,03	228	0,09	0,04
268	0,14	0,04	230	0,00	0,00
270	0,33	0,08	232	0,33	-0,08
272	0,12	-0,01	234	0,18	0,17
274	0,28	-0,05	236	0,23	-0,09
276	0,09	0,00	238	0,07	-0,09
278	0,10	0,02	240	0,04	0,48

			270	0,00	1,00
Kaikki	0,18	0,04	Kaikki	0,23	0,04
Keskivirhe	0,06	0,03	Keskivirhe	0,07	0,04

Yli kaikkien lokusten	0,18	0,05
Keskivirhe	0,01	0,01
95% luotta-musväli	0,16 - 0,19	0,04 - 0,07
99% luotta-musväli	0,16 - 0,20	0,03 - 0,08

LIITE 2: Kytkentäepätasapainossa olevat mikrosatelliittimerkkiparit kymmenellä tutkitulla koirarodulla.

1 = AHT121, 2 = AHT137, 3 =AHTh171, 4 = AHTh260, 5 = AHTk211, 6 = AHTk253, 7 = Amelogenin, 8 = CXX279, 9 = FH2054, 10 = FH2848, 11 = INRA21, 12 = INU005, 13 = INU030 , 14 = INU055, 15 = REN162C04, 16 = REN169D01, 17 = REN169O18, 18 = REN247M23, 19 = REN54P11, CAV = cavalier kingcharlesinspanieli, CHI = chihuahua, COL = pitkäkarvainen collie, COT = coton de tulear, JAC = jackrussellinterrieri, SAK = saksanpaimenkoira, SCH = schipperke, SIP = siperianhusky, SUO = suomenlapinkoira, TSP = tiibetinspanieli.

CAV	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2	-	*	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
3	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
4	-	-	-	*	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
5	-	+	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6	-	-	-	-	-	*	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	+	-	-	*	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	+	-	-	-	+	-	-	-
11	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	*	-	-	-	+	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-	+	-	-	+
14	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	*	+	-	-	-
16	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	*	+	-	-
17	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	*	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	*

CHI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
2	+	*	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
3	+	-	*	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
4	-	+	-	*	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	-	*	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
7	-	-	-	+	-	+	*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	+	-	-	-	-	-	*	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
10	-	+	+	-	-	-	-	-	-	*	-	-	+	+	-	-	-	+	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	*	-	-	-	-	-	-
14	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	*	-	+	-	+	-
15	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	-	+	-
16	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	*	-	-	-
17	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	+
18	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	*	-
19	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	*

COL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
2	-	*	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4	-	-	-	*	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	*	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
9	-	-	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
10	+	-	-	+	+	-	-	-	-	*	-	+	-	-	-	-	+	+	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	+	-	+	+	-	-	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	*	-	-	-	-	-	-	+
13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	*	+	-	-	+	+	-
14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	*	-	+	+	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	*	-	-	+	-
16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	*	-	-	-
17	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	*	+	+
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	*	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	*

COT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
2	-	*	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	*	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	*	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
5	-	+	+	+	*	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
6	-	-	+	+	+	*	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	+	+	+	-	-	*	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
9	-	+	-	-	+	-	-	+	*	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
10	-	-	+	+	+	+	-	+	-	*	-	+	+	+	+	-	+	+	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	*	+	+	+	+	+	+	+
13	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*	+	+	+	-	+	+
14	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	*	+	+	+	+	+
15	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	*	+	+	+	-
16	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	*	+	+	+
17	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	*	+	+
18	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	*	+
19	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	*

JAC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
2	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
3	+	-	*	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
4	-	-	+	*	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
5	-	-	-	+	*	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	+	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-
12	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	+	-	-	-	-
13	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
14	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
15	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*	-	-	-	-
16	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-
17	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
18	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	*	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

SAK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
2	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
3	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	-	*	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
5	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	+	-	+	-	-
11	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	+	-	+	+
15	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	*	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	*	-	-
18	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	*	+
19	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	*

SCH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	*	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-
3	-	-	*	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
4	-	-	-	*	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
5	-	+	+	-	*	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
6	-	+	+	+	+	*	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	+	-	+	-	-	-	*	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
9	-	-	+	-	+	-	-	-	*	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	-	-	-	+	-
11	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*	+	-	-	+	-	-	+	-
12	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	*	-	-	+	-	+	+	-
13	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	*	-	-	+	-	-	-
14	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
15	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	*	-	+	-	-
16	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	*	-	-	+
17	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	*	-	-
18	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	*	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*

SIP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2	-	*	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
3	-	+	*	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
4	+	+	-	*	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
5	-	-	+	-	*	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	+	*	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	+	-	+	-	+	-	-	*	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	*	-	-	-	+	-	-	-	+	-
11	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-
12	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	*	-	-	+	+	-	+	-
13	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
14	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	*	-	-	-	+	-
15	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	*	+	+	+	-
16	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	*	-	-	+
17	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	*	-	+
18	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	*	+
19	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	*

SUO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
2	-	*	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3	-	+	*	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	*	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
5	-	-	-	-	*	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
6	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
8	-	-	+	-	+	-	-	*	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	+	-	-	-	-	*	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
10	-	-	-	+	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	-	+	-	-	-
11	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	*	+	-	+	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	*	-	-	-	+	-	-	-
13	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	+	-	-
14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	*	+	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	*	-	-	-	+
16	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	*	+	-	+
17	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	*	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
19	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	*

TSP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
3	-	-	*	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	*	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
5	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	+	-	-	*	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	+	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-	-	+	-	-	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	+	+	-	-	-	-
12	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	+	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-	-	-
16	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	*	-	-	+
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
19	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	*