

Erfðabreytileiki íslenska fjárhundsins



Lokaskýrsla - nóvember 2006

Guðbjörg Ásta Ólafsdóttir

Verkefni styrkt af Erfðanefnd Landbúnaðarins 2005

Verkefnisstjóri: Guðbjörg Ásta Ólafsdóttir

Líffræðistofnun Háskóla Íslands

ÁGRIP	2
INNGANGUR	4
NIDURSTÖÐUR	11
UMRÆÐA	16
HEIMILDIR	20
KOSTNAÐARYFIRLIT	23
KYNNING Á VERKEFNINU	24
ÞAKKIR	25

ÁGRIP

Verkefnið fjallar um erfðabreytileika í stofni íslenska fjárhundsins og möguleg tengsl erfðabreytileika á heilsu og viðkomu stofnsins. Markmið verkefnisins samkvæmt umsókn voru eftirfarandi.

Að fá grundvallarþekkingu á erfðabreytileika íslenska fjárhundsins á sameindastigi. Sértek markmið voru;

- A) Að fá mat á erfðabreytileika íslenska fjárhundsins með sameindafræðilegum aðferðum og bera saman við önnur hundakyn.
- B) Reikna stuðul skyldleikaræktunar út frá erfða og ættfræðigögnum og bera saman þau gildi.

Til að ná þessum markmiðum var áætlað að fá stærðardreifingu genasamsæta á u.þ.b. 20 stuttröðum hjá 100 íslenskum fjárhundum. Viðunandi erfðaupplýsingar fengust fyrir 127 einstaklinga á 15 stuttröðum. Vel hefur gengið að nota þessi gögn til að ná upphaflegum markmiðum rannsóknarinnar.

Niðurstöður á sameindaerfðafræðilegum breytileika íslenska fjárhundsins sýna að breytileiki hans er síst minni en hjá öðrum hundakynum þar sem slíkt er þekkt. Samanburður á stuðli skyldleikaræktunar út frá ættfræðiupplýsingum annarsvegar og sameindaerfða upplýsingum sýnir veikt en marktækt samband.

Auk þess að svara upphaflegum spurningum voru mögulegar breytingar á skyldleikaræktun bæði samkvæmt ætternisupplýsingum og með sameindaerfðafræðilegum aðferðum með tíma kannaðar, niðurstöðurnar sýna að stofn íslenska fjárhundsins viðheldur jöfnum skyldleikaræktunarstuðli milli kynslóða og sameindaerfðafræðilegur breytileiki hefur ekki minnkað á þeim árum sem sýnataka nær til.

Samband tveggja svipfarseiginleika sem mögulega geta tengst skyldleikaræktun (gotstærð og mjaðmalos) og skyldleikastuðlametla bæði ættfræðilega og sameindaerfðafræðilegra var kannað. Sterkt marktækt samband var á milli mjaðmaloss og skyldleikaræktunarstuðuls út frá ættartré en veikt samband mjaðmalos og sameindaerfðafræðilegra metla. Þessar niðurstöður gefa mikilvægar vísbendingar um ástand stofns íslenska fjárhundsins í dag en einnig um gagnsemi sameindaerfðafræðilegra aðferða almennt til að meta ástand bæði ræktaðra og villtra stofna.

INNGANGUR

Verndun erfðaauðlinda er tiltölulega nýtt fag. Ástæður fyrir verndun ræktaðra og búdýra annars vegar og villtra stofna hinsvegar eru að mörgu leiti þær sömu. Erfðabreidd dýrastofna er hluti af sameiginlegum auðlindum sem ber að varðveita á milli kynslóða. Mjög lítill breytileiki getur jafnvel valdið aldaða tegunda sem hefur ekki þá erfðabreidd sem þarf til að bregðast við breyttum aðstæðum. Fjölmargar ástæður eru fyrir verndun þeirra erfðaauðlinda sem felast í sjaldgæfum tegundum. Þar má telja hagfræðileg rök, en oft er erfitt að spá fyrir um þarfir markaðarins í framtíðinni og mikilvægi fyrir fræðilegar og hagnýtar rannsóknir í lífvísindum. Ekki má heldur gleyma að margar sjaldgæfar tegundir gegna mikilvægu menningarlegu hlutverki. Íslenski fjárhundurinn hefur t.d. tengst sögu þjóðarinnar allt frá landnámi.

Hver stofn dýra deilir ákveðnum erfðabreytileika. Þegar stofnstærð minnkar hefur það tvennskonar áhrif á þennan breytileika. 1. Einstök gen berast ekki á milli kynslóða. Minni stofnstærð leiðir til þess að færri gen af heildarpottinum berast áfram. 2. Skyldleikaræktun eykst. Þar sem færri einstaklingar eru í stofninum aukast líkur á því að foreldrar hvers einstaklings séu skyldir og þar með á því að einstaklingurinn fái sama genið (sami uppruni) frá báðum foreldrum. Þannig minnkar erfðabreytileiki innan einstaklings. Þetta er helsta hættan við að stofn minnki um of, en það er vel þekkt að minni erfðabreytileiki innan einstaklings tengist skertri hæfni t.d. minni líkamsstærð, afkvæma dauða eða minnkaðri gotstærð. Minnki stofnstærð mikið veldur það lækkun í arfblendni (heterozygosity) einstaklinga. Þetta er mælt sem stuðull skyldleikaræktunar. Í frjálst æxlandi stofni N einstaklinga, með jafn mörgum kven og karldýrum, þar sem kynslóðir skarast ekki, eykst skyldleikarækt eftir falli af stofnstærð samkvæmt jöfnunni $1/(2N+1)$. Hafa verður í huga að ræktuð dýr, þar með talda tegundir hunda, æxlast ekki frjálst, það er algengt að virk karldýr séu færri en kvendýr. Þannig er virk stofnstærð (N_e) enn lægri en heildarfjöldi einstaklinga

erfðabreidd hafi verið hjá upprunalegum stofni og hafi að einhverju leiti viðhaldist þrátt fyrir að stofninn hafi farið í gegnum mikla niðursveiflu í stofnstærð fyrir um 100 árum. Þetta er þvert á niðurstöður fengnar með útreikningum á ættfræðigögnum, þar sem hár og vaxandi skyldleikaræktunarstuðull mælist (Lupke & Distl 2004). Hár erfðabreytileiki (mældur sem heterozygoty) hjá smáum hunda stofnum er þó ekki einsdæmi. Irion et al. (2003) báru saman erfðabreytileika “miniature bull terriers” og “bull terriers” í Norður Ameríku og fundu meiri breytileika hjá smærri stofninum. Þeir skýrðu þennan mun með útræktun (outcrossings) í miniature bull terriers og/eða erfðafraðilegum flöskuháls (genetic bottleneck) í “bull terriers”.

Nýlegar rannsóknir hafa sýnt fram á að ekki eru endilega bein tengsl á milli skyldleikaræktunarstuðuls og erfðabreytileika mælds á sameindastigi (Pemberton 2004). Margar sameindafræðilegar rannsóknir á erfðabreytileika hundakynja hafa ekki nýtt sér aðgang að ættfræðiupplýsingum. Þannig er ekki hægt að gera samanburð á mælingum á erfðabreidd með sameindafræðilegum aðferðum annarsvegar og hefðbundnum aðferðum byggðum á ættarskrám hinsvegar. Það er einnig nauðsynlegt að það sýni sem tekið er til sameindafræðilegra rannsókna endurspegli skyldleikagildi sem finnast innan heildarstofnsins.

Íslenski fjárhundurinn hefur fylgt þjóðinni frá landnámi. Frá landnámsöld og allt til loka 19. aldar var hér stór stofn fjárhunda, árið 1869 er talið að hér hafi fundist a.m.k. 24.000 hundar. Á þessum tíma má gera ráð fyrir því að lítið hafi verið um blöndun við önnur hundakyn. Fyrstu lög varðandi hundahald voru sett 1869 og 1871 var settur hár skattur á alla hunda nema ákveðinn fjöldi fjárhunda á sveitabæjum. Árið 1900 hefur hundum fækkað mjög og blandast öðrum kynum vegna aukins innflutnings. Um miðja 20. öld finnast einugis fáir einstaklingar á landinu sem taldir voru vera af íslensku kyni. Upp úr því hefst starf til að bjarga stofni íslenska fjárhundsins. Upphafsmáður þessa starfs var Englendingurinn Mark Watson í samstarfi við Páll A. Pálsson, yfirdýralæknir. Sigríður Pétursdóttir á Ólafsvöllum í Skeiðahreppi hóf í framhaldi ræktunarstarf í samstarfi við Pál A. Pálsson. Á síðustu árum

hefur mikið starf verið unnið við að byggja upp stofn íslenska fjárhundsins. Nú samstendur stofninn af meira en 3000 einstaklingum, en þar af er mikill meirihluti erlendis (Heimasíða DÍF; <http://frontpage.simnet.is/dif/>). Þekking á erfðafræði og erfðabreytileika íslenska fjárhundsins er mikilvæg fyrir áframhaldandi ræktunarstarf bæði innanlands og utan. Nýlega var gerð rannsókn á skyldleikaræktun og virkri stofnstærð íslenska fjárhundsins (Oliehoek 1999). Þar kemur í ljós að stuðull skyldleikaræktunar hefur hækkað stöðugt frá því að gagnasöfnun hófst 1971. Það kom fram sterk marktæk fylgni á milli aukins skyldleika og minnkaðrar gotstærðar, hinsvegar fundust ekki neikvæð áhrif aukins skyldleika á mjaðmalos (Oliehoek 1999). Af þessu er því ljóst að það er mikilvægt að vera vakandi fyrir áhrifum skyldleikaræktar á framtíð íslenska fjárhundsins.

Þessi rannsókn kannar áhrif og samband breytileiki í dreifingu genasamsæta á stuttröðum, skyldleikaræktunarstuðull samkvæmt ættartré og svipfarseiginleika hjá stofni íslenska fjárhundsins á Íslandi. Markmið rannsóknarinnar eru fjórþætt; a) fá yfirlit yfir hlutlausan erfðabreytileika á sameindastigi og bera saman við birt gögn í öðrum hundakynum, b) kanna hvort innræktun hefur aukist og/eða erfðabreytileiki minnkað á síðustu árum í stofninum, c) kanna samband sameindaerfðafæðilegra metla og skyldleikaræktunarstuðuls og d) kanna hvort neikvæð áhrif skyldleikaræktunar hafi komið fram í stofninum með því að athuga tengsl skyldleikaræktunarstuðuls/sameindaerfðafæðilegra metla og svipfarseiginleika sem áður hafa verið tengdir skyldleikarækt í hundakynjum i) mjaðmalos og ii) gotstærð.

AÐFERDIR

Sýnataka

Þessi rannsókn var gerð í samráði við deild íslenska fjárhundsins hjá Hundaræktarfélagi Íslands, sem veitti aðgang að öllum ættfræði og heilsufarsupplýsingum. Bréf voru send eigendum íslenskra fjárhunda og þeim boðin þátttaka en einnig var auglýst eftir þátttakendum á heimasíðu deildarinnar. Þeim hundaeigendum sem samþykktu þátttöku var sendur sýnatökupinni en eigendur hundanna tóku sjálfir DNA sýni með stroku úr munni. Þegar sýnin bárust voru þau geymd í 96% ethanóli þar til DNA einangrun fór fram. Samtals bárust DNA sýni úr 133 einstaklingum.

DNA einangrun

DNA var einangrað úr sýnunum með þar til gerðu DNA einangrunar setti (AGOWA[®] mag DNA Isolation Kits). Sýnatökupinnar voru hafðir í próteínasaK á 55°C yfir nótt á vægum hristing. Því næst voru DNA sameindir hreinsaðar, þar sem þær bindast segulkúlum, með þar til gerðum jafnalausnum sem fylgja einangrunarsettinu.

Stærðarákvörðun genasamsæta stuttraða

Samtals voru prófaðar 24 stuttraðir. Vísar voru keyptir frá Applied Biosystems þar sem annar vísir stuttraðanna var merktur með flúorljómandi merki; NED, 6-fam, VIC og PET. Af 28 mögulegum stuttröðum náðist viðunandi mögnun með stöðluðum aðferðum á 15 erfðamörkum (tafla 1). Fjölmögnunarhvorf (PCR) voru gerð með eftirfarandi efnastyrk Vísar frá 0.1 til 0.25 μ M, 10xPCRBuffer (með 50mM MgCl), 200 μ M dNTPs, teq polymerase 1 unit per hvarf. Blöndurnar voru láttnar hvarfast við eftirfarandi tíma og hitastig; 4 mínútur við 95°C, 29 hringir (94°C í eina mínútu, 50°C í eina mínútu og 72°C í 1 ½ mínútu), 72°C í 7

mínútur. PCR afurðir voru keyrðar á raðgreini, ABI 3730 til stærðarákvörðunnar. Öll verkleg vinna fór fram á rannsóknarstofu Prokaria ehf. Stærðarákvörðun var gerð handvirkt með forritinu GeneMarker 1.51.

Tafla 1 Yfirlit yfir erfðamörk notuð í rannsókninni. Vísar, gerð erfðamarka, og staðsetning á erfðamengi.

Erfðamark		Vísar (primers)		Litningur #
FH3414	tetra	AGAGTTGAAAGGTTGAAAATGG	TGTGGTCACAAGACTTTAGCC	CFA1
FH2309	tetra	GACTGAGTTCTTTCAGCACAGTG	GGCAGCCTTATTATTCATGGA	CFA1
C02.342	di	TCT TTG AAA TGA AAT GGG CC	GTT TCT TTG CTC ATC CCT GTG AAA GC	CFA02
C05.771	di	GAG GAA GCC TAT GGT AGC CA	GTT TCT TTC AAG ACC TGA ATT CCT TGT TCC	CFA05
FH2140	tetra	GGG GAA GCC ATT TTT AAA GC	GTT TCT TTT GAC CCT CTG GCA TCT AGG A	CFA05
FH2263	tetra	CAT GTA GAG TGA TTA GTT GGT CTT T	GTT TCT TTC TGA ATA TCC TCT GCC CTT C	CFA09
FH2293	tetra	GAA TGC CCT TCA CCT TGA AA	GTT TCT TTA GGA AAA GGA GAG ATG ATG CC	CFA10
AHT137	di	TAC AGA GCT CTT AAC TGG GTC C	GTT TCT TTC CTT GCA AAG TGT CAT TGC T	CFA11
AHT130	di	CCT CTC CTG GTA AGT GCT GC	GTT TCT TTG GAA CAC TGG TCC CCA G	CFA18
REN54P11	di	GGG GGA ATT AAC AAA GCC TGA G	GTT TCT TTT GCA AAT TCT GAG CCC CAC TG	CFA18
AHT125	di	CCA CCA GTG TGC CCA TCT C	GTT TCT TTA TCA AAG TCA TGA AAT TCC GTG	CFA24
FH3750	tetra	GAG CTA CCA AGG AAT CAA AAG G	GTT TCT TTC TCC TCA CTT TGA CCT ACT TCC	CFA24
REN67C18	di	TCT GTG CGT TTC CGT TTA TG	GTT TCT TTT TAG TAC CTG TTT GTT ATC C	CFA37
REN164E17	di	GGTCTTCACCCATCACCATT	TTAGATGGAAAATGTGGCCC	CFA38

Vinnsla úr ættfræði og heilsufarsupplýsingum

Skyldleikaræktunarstuðlar voru reiknaðir með forritinu PEDIGREE VIEWER (version 5.1, <http://metz.une.edu.au/~bkinghor>) en við tölfræðigreiningar voru eingöngu notaðir þeir einstaklingar sem höfðu 3 eða fleiri þekkta forfeður í báða ættliði. Nýskráning hunda í ættbók er töluverð og í þeim tilfellum gefur skyldleikaræktunarstuðull samkvæmt ættartré ekki rétta mynd. Upplýsingar um gotstærð voru fengnar úr ættarskrá íslenskra fjárhunda, fjöldi skráðra einstaklinga í goti var notaður sem metill á gotstærð. Haldin hefur verið skrá yfir niðurstöður mælinga á mjaðmalosi hjá deild íslenska fjárhundsins, samtals eru til gögn um 369 hunda, þar af 85 sem tóku þátt í arfgerðarannsókninni. Mjaðmalosi hjá hverjum einstakling er gefin einkunn frá A- E, þar sem A táknar engin merki um mjaðmalos en E táknar alvarlegt mjaðmalos, þessi greining er gerð með röntgenmyndum hjá sérmenntuðum dýralækni. Allar mælingar hér á landi eru gerðar af sama dýralæknum. Við tölfræði úrvinnslu var $HD = A = 0$, $HD = B = 1$, þar sem hæsta einkunn var $HD = E = 4$. Kvarðinn er þó í raun ekki línulegur

þar sem meiri munur er á alvarleika mjaðmalos hjá hundum með einkunn 3 og 4 en t.d. á milli 0 og 1, en þar eru í báðum tilfellum engin eða varla sjáanleg merki um mjaðmalos.

Sameindaerfðafræðilegir metlar um skyldleikaræktun

Eftirfarandi tveir metlar voru reiknaðir til að meta skyldleikaræktun einstaklinga útfrá dreifingu genasamsæta stuttraða. Báðir metlarnir voru reiknaðir með forritinu IR (Amos et al 2001).

Stöðluð arfblendni yfir genasæti (standardised multilocus heterozygosity, sMLH). Hér er notuð meðal arfblendni yfir fjölda genasæta en leiðrétt fyrir ólíkri væntanlegri arfblendni yfir genasæti.

Innri skyldleiki (IR). Innri skyldleiki (eða áætlaður skyldleiki foreldra) byggir á því að arfhreinar arfgerðir geti mögulega búið yfir meiri upplýsingum en arfhreinar með því að nota upplýsingar um tíðni genasamsæta sem eru arfhrein (Amos et al 2001).

Tölfræðiúrvinnsla

Lýsitölur fyrir erfðabreytileika, arfblendni (H_E), fjöldi genasamsæta á genasæti, tíðni algengustu genasamsætu og dreifing genasamsæta, voru reiknaðar með forritinu Genetix (Belkhir 2000). Tengsl skyldleikaræktunarmetla og svipfarseiginleika voru metin með línulegu aðhvarfi og innbyrðis tengsl skyldleikaræktunarmetla með fylgniþrófi. Öll almenn tölfræðiúrvinnsla var gerð í forritinu Systat 9.

NIDURSTÖÐUR

Erfðabreytileiki

Fjöldi genasamsæta á hverju erfðamarki var 5-20 og er það sambærilegt við birtar tölur.

Stærðardreifing genasamsæta er einnig sambærileg við aðrar hundategundir (tafla 2).

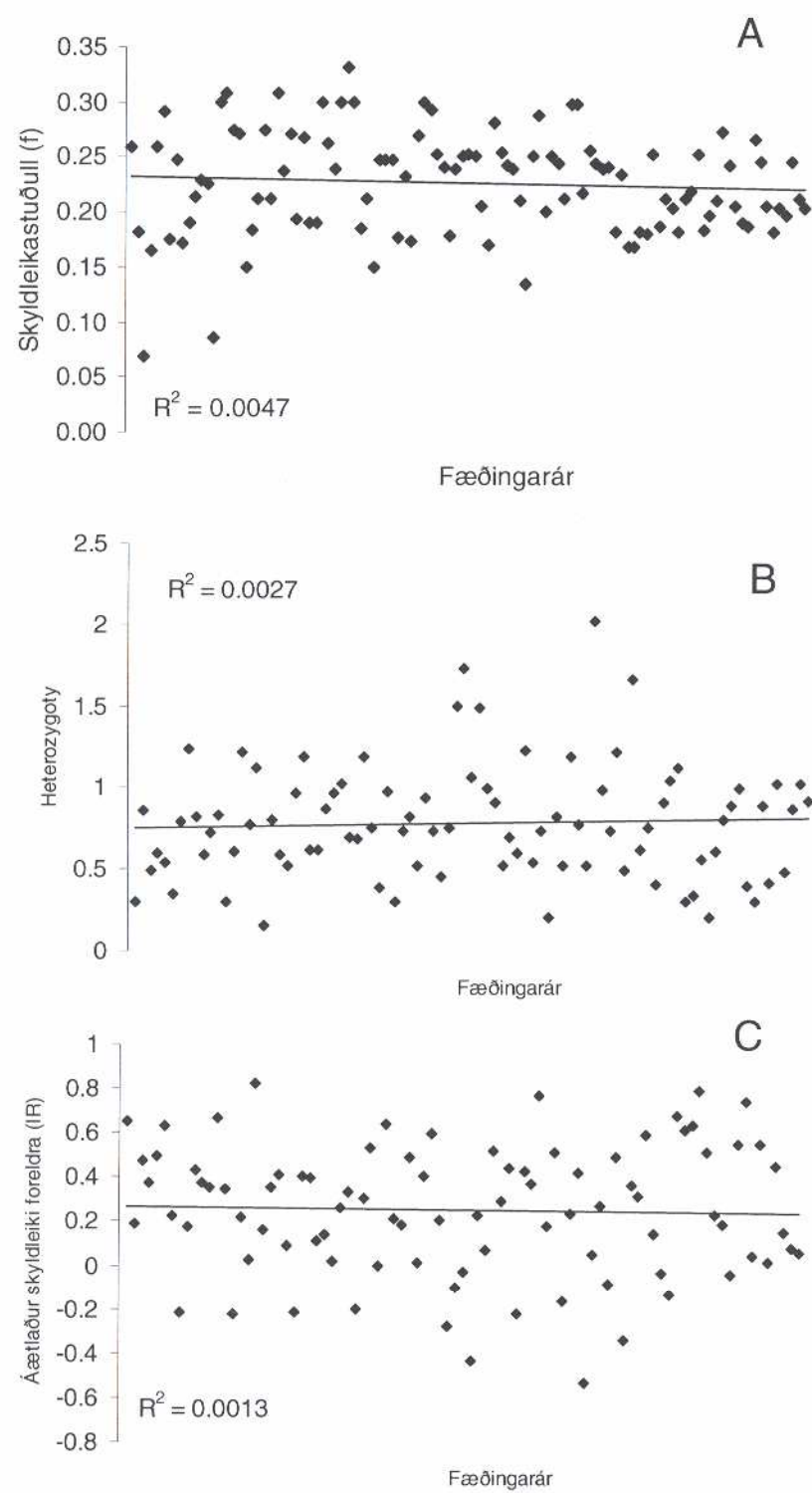
Arfblendni (heterozygosity) mældist frá 0.60 – 0.84 yfir genasæti og er í öllum tilfellum sambærilegur við birtar tölur frá öðrum hundakynjum þar sem þær eru til staðar (tafla 2).

Þetta sýnir að hlutlaus erfðabreytileiki hjá íslenska fjárhundinum er ekki minni en gengur og gerist hjá hundakynjum. Skyldleikaræktunarstuðull var hár, meðalgildi fyrir þá 127 hunda sem tóku þátt í sameindaerfðafræðirannsókninni var 0.2239 sem er svipað og fyrir íslenska stofninn í heild ef miðað er við einstaklinga með 3 eða fleiri þekkta forfeður.

Tafla 2 Lýsitölur með erfðamörkum. Miðað við 127 lesin sýni af stofni íslenska fjárhundsins. * sýnir þau erfðamörk þar sem arfhreinir (homozygotic) einstaklingar eru fleiri en vænta má.

	Fjöldi genasamsæta	Tíðni algengustu genasamsætu	H_E	Birt H_E	Stærðardreifing genasamsæta	
					Birt dreifing	Íslenskur fjárhundur
AHT125	16	0.31	0.81	0.62	89-105	84-118
FH2140	5	0.51	0.61*	0.77	127-157	138-148
C02.342	5	0.55	0.6	0.77	182-192	190-200
FH2293	8	0.23	0.82*	0.87	229-291	228-256
FH3750	8	0.52	0.64	0.79	168-198	170-200
REN54P11	9	0.49	0.69*	0.66	223-239	232-250
C05.771	13	0.29	0.78*	0.77	98-114	82-122
AHT137	12	0.55	0.63	0.7	129-151	132-160
FH2263	20	0.29	0.84	0.83	202-254	209-255
AHT130	12	0.34	0.8	0.77	105-115	103-127
REN67C18	9	0.4	0.71*	0.83	127-137	132-154
REN164E17	12	0.23	0.69	0.66	145-169	137-155
FH3414	17	0.18	0.82	0.72	351-399	351-407
FH2309	18	0.12	0.69	0.88	357-417	361-413

Skyldleikastuðull (f) samkvæmt ættartré og skyldleiki foreldra (IR) samkvæmt stuttraða greiningu helst stöðugur á milli ára eða minnkar heldur (mynd 1). Á sama hátt viðhelst arfblendni mæld útfrá stuttröðum (sMLH) á milli ára á því tímabili sem sýnin ná yfir, en elstu hundarnir sem tóku þátt í rannsókninni eru fæddir 1996.



Mynd 1 Samband skyldleikastuðuls (f) og fæðingarárs (A), Arfblendni (sMLH) og fæðingarárs (B) og áætluðum skyldleika foreldra samkvæmt stuttröðum (IR) og fæðingarárs (C). Skyldleikastuðull (f) jafnt og sameindaerfðafræðilegir metlar (sMLH og IR) hafa haldist jafnir á milli ára.

Samband skyldleikaupplýsinga frá ættartré og upplýsinga frá örtunglum

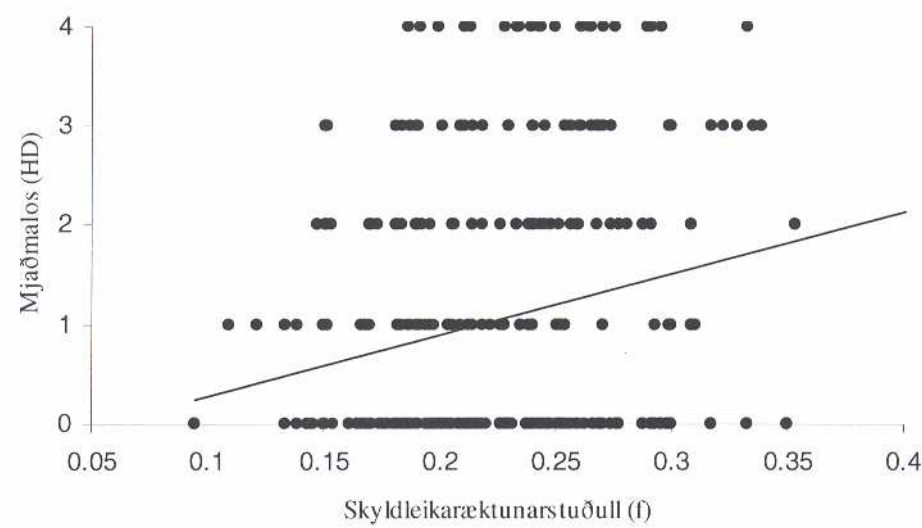
Tengsl innræktunar/skyldleika metla reiknaðra útfrá örtunglum og skyldleikastuðuls samkvæmt ættartré voru veik (tafla 3) en þó marktæk, bæði samband skyldleikastuðuls og áætlaðs skyldleika foreldra (IR) og skyldleikastuðuls og arfblendni ($F= 5.12$ $p= 0.025$; $F= 4.17$, $p= 0.043$)

Tafla 3 Tengsl innræktunar/skyldleika metla reiknaðra útfrá örtunglum og skyldleikastuðuls samkvæmt ættartré.

	Skyldleikastuðull (f)	Arfblendni (sMLH)	Skyldleiki foreldra (IR)
Skyldleikastuðull (f)	1		
Arfblendni (sMLH)	-0.163	1	
Skyldleiki foreldra (IR)	0.181	-0.945	1

Áhrif skyldleikaræktunar

Það eru tengsl milli skyldleikastuðuls og mjaðmaloss hjá hundunum en ekki á milli skyldleika og gotstærðar (tafla 4). Marktæk eða nær marktæk áhrif koma einnig fram með sameindaerfðafræðilegum metlum þrátt fyrir að hér séu tengslin mjög veik bæði með arfblendni (sMLH) og áætluðum skyldleika foreldra (IR), sjá töflu 4.



Mynd 2 Samband mjaðmaloss (HD) og skyldleikaræktunarstuðuls (f)

Tafla 4 Tengsl mjaðmalos og innræktunarstuðuls (f), arfblendni (sMLH) og áætlaðs skyldleika foreldra (IR) mælt yfir 15 stuttraðir hjá íslenska fjárhundinum. Leiðrétt er fyrir mögulegum áhrifum aldurs hundanna og kyns.

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Skyldleikastuðull (f)	1	11.939	11.939	6.909	0.009
Aldur	1	0.235	0.235	0.136	0.712
Kyn	1	0.012	0.012	0.007	0.934
Error	365				
Skyldleiki foreldra (IR)	1	13.443	13.443	4.121	0.045
Aldur	1	0.006	0.006	0.002	0.957
Kyn	1	0.010	0.010	0.003	0.957
Error	81				
Arfblendni (sMLH)	1	12.528	12.528	3.828	0.054
Aldur	1	0.025	0.025	0.007	0.963
Kyn	1	0.007	0.007	0.002	0.931
Error	81				

UMRÆÐA

Niðurstöðurnar sýna að skyldleikaræktun er umtalsverð í stofni íslenska fjárhundsins hér á landi eins og hár skyldleikaræktunarstuðull gefur til kynna. Sameindaerfðafræðilegur breytileiki innan stofnsins er þó ekki minni en gengur og gerist hjá ræktuðum hundakynjum. Það er hinsvegar mikilvægari vísbending um ræktun og núverandi ástand að skyldleikaræktun og sameindaerfðafræðilegur breytileiki hefur ekki minnkað á síðustu árum. Samband er á milli mjaðmalos og bæði skyldleikaræktunarstuðuls og sameindaerfðafræðilegra metla. Þetta gefur til kynna að neikvæð áhrif mikils skyldleika innan stofnsins eru til staðar en það ætti þó að vera hægt að sporna gegn þeim a.m.k. þegar kemur að mjaðmalosi með því að byggja ræktun á þekkingu á erfðum mjaðmaloss.

Erfðabreytileiki og ástand stofns íslenska fjárhundsins hér á landi

Stofn íslenska fjárhundsins fór í gegnum miklar þrengingar á fyrri hluta síðustu aldar og núverandi stofn er að líkindum komin af einungis örfáum einstaklingum. Það er því viðbúið að erfðabreytileiki innan stofnsins hafi minnkað mikið á þessum tíma. Þessi rannsókn sýnir að hlutlaus erfðabreytileiki á stuttröðum er ekki minni hjá íslenska fjárhundinum en hjá öðrum hundakynjum þar sem þessar upplýsingar eru til. Það er kannski frekar til marks um hve lítill breytileiki finnst almennt hjá hundakynnum, þar sem saga íslenska fjárhundsins er vel þekkt og gera má ráð fyrir að hlutlaus erfðabreytileiki innan stofnsins hafi minnkað við þá verulegu minnkun á stofnstærð sem að verður á síðustu öld.

Tölur um arfblandni íslenska fjárhundsstofnsins eru þó yfirleitt háar. Það má því draga þá almennu ályktun að mikil minnkun á stofnstærð mun ekki endilega skerða arfblandni verulega yfir öll erfðamörk eða að arfblandi mun ná sér fljótlega á strik aftur. Minnkun á stofnstærð verður fyrst og fremst til þess að sjaldgæf genasamsæti hverfa úr stofninum þannig að heildafjöldi genasamsæta frekar en arfblandni skerðist (Cornuet & Luikart 1996). Hjá

Íslenska fjárhundinum kemur þó fram að arfblendni á nokkrum genasætum er minni en búast má við miðað við fjölda genasamsæta. Þetta getur verið til marks um innræktun að einhverju marki.

Það kemur einnig í ljós að skyldleikaræktun hjá stofninum hefur ekki aukist á síðustu árum, þetta er í andstöðu við niðurstöður úr nýlegri rannsókn þar sem unnið er með íslenska fjárhunda víða að úr Evrópu (Oliehoek 1999). Einnig kemur fram að erfðabreytileiki á sameindalegu stigi hefur ekki minnkað á síðasta áratug, en elsti hundurinn sem tók þátt í rannsókninni er fæddur 1996. Það má því álykta að ræktun íslenska fjárhundsins hér á landi hafi verið ábyrg og miðað að því að viðhalda erfðabreytileika og lágmarka skyldleikaræktun.

Í þessari rannsókn voru ekki marktæk tengsl gotstærðar og skyldleikaræktunarstuðuls, þrátt fyrir að gotstærð hafi áður verið tengd skyldleikaræktun hjá hundum (Oliehoek 1999). Hinsvegar koma fram sterk tengsl aukins skyldleika foreldra við mjaðmalos hjá stofni íslenskra fjárhundsins. Áður hafa fundist tengsl mjaðmalos og skyldleikaræktunarstuðuls hjá stofnum labrador retriever og þýska fjárhundsins í Finnlandi (Mäki et al 2001) en áhrif skyldleikaræktunar á mjaðmalos hjá hundum hafa ekki mikið verið könnuð. Mjaðmalos er mjög arfgengt þó að líklega eigi umhverfi stóran þátt í hvernig sjúkdómurinn þróast hjá einstaklingum, arfgengi hefur verið metið á bilinu 0.1 – 0.6 (Mäki et al 2000). Þrátt fyrir að almennt sé talið að tilhneigingu til mjaðmalos sé stýrt af fjölda gena þá benda nýlegar rannsóknir til að einstök gen geti haft stór áhrif á þróun sjúkdómsins (Todhunter et al 1999; Mäki et al 2004). Ef einstök gen hafa mikil áhrif ætti því að vera hægt að velja mjög skarpt gegn mjaðmalosi hjá íslenska fjárhundinum með því að vanda valið á undaneldisdýrum.

Gagnsemi sameindaerfðafræðilegra metla við að meta skyldleikaræktun og áhrif hennar

Eftir að sameindaerfðafræðilegar aðferðir urðu aðgengilegar til að lesa arfgerð margra einstaklinga á tiltölulega fljótlegan og ódýran hátt komu fram fjölmargar rannsóknir þar sem

lýst var sambandi arfblendni á sameindastigi og neikvæðra áhrifa á heilsu eða frjósemi dýra. Þessi áhrif voru talin til marks um neikvæð áhrif skyldleikaræktunar. Á seinni árum hefur gagnsemi þessara aðferða verið dregin mjög í efa, komið hafa fram efasemdir um að þau áhrif sem lýst er séu tilkomin vegna skyldleikaræktunar, fremur sé óbeint verið að mæla aðra þætti sem geti stuðlað að óæskilegum áhrifum á heilsu eða lifun t.d. bein áhrif af arfhreinni arfgerð á svæðum sterkt tengdum einhverjum þeim erfðamörkum er notuð eru við mælingar (Slate et al 2004).

Fáar rannsóknir hafa hinsvegar borið saman raunveruleg tengsl skyldleikaræktunarstuðuls og erfðabreytileika á sameindaerfðafræðilegu stigi. Þær rannsóknir sem hafa verið gerðar hafa fundið engin eða mjög væg tengsl þrátt fyrir í sumum tilfellum mikla sýnastærð og mikinn fjölda erfðamarka (Slate et al 2004). Þessar niðurstöður hafa þótt styðja þá túlkun að þær rannsóknir þar sem sterk tengsl minnkaðrar arfblendni og lífvænleika koma fram þrátt fyrir lága sýnastærð og óverulegan fjölda erfðamarka geti ekki verið til marks um raunveruleg tengsl. Yfirlit yfir rannsóknir þar sem bæði ætternis og sameindaerfðafræðileg gögn liggja fyrir sína að það er þó líklegast að fá sterk marktækt samband á milli sameindaerfðafræði metla og skyldleikaræktunarstuðuls hjá stofnum þar sem skyldleikaræktunarstuðull er hár (Slate et al 2004). Þannig kemur fram hámarktækt samband á milli arfblendni á stuttraða genasætum og skyldleikaræktunarstuðuls hjá ræktuðum stofni úlfa þar sem meðal skyldleikaræktunarstuðull er 0.103 (Hedrick et al 2001), það er þó umtalsvert minni skyldleiki en hjá íslenska fjárhundinum.

Í samræmi við áður birtar rannsóknir koma hér fram veik en þó marktæk tengsl skyldleikaræktunarstuðuls og erfðabreytileika á sameindastigi. Þrátt fyrir tiltölulega lága sýnastærð bæði einstaklinga og erfðamarka í þessari rannsókn, skýrir minnkaður erfðabreytileiki á sameindastigi mjaðmalos hjá hundunum, þessi tengsl eru þó á mörkum þess að vera marktæk. Niðurstöður úr þessari rannsókn gefa því til kynna að í litlum stofnum með

skertan erfðabreytileika eins og t.d. hjá stofnum ræktaðara dýra, geti sameindaerfðafræðilegar aðferðir gefið vísbendingu um áhrif skyldleikaræktunar, jafnvel þar sem einungis tiltölulega fá erfðamörk hafa verið greind. Gagnsemi sameindaerfðafræðilegra aðferða er því eftilvill meiri hjá ræktuðum dýrum en villtum, þar sem þó mest þörf er á að geta beitt sameindaerfðafræðilegum aðferðum til að meta ástand stofna enda ætternisupplýsingar í flestum tilfellum óþekktar. Í tilfelli íslenska fjárhundsins gáfu sameindaerfðafræðilegu aðferðirnar vissulega vísbendingu um samband erfðabreytileika og heilsufars en þetta samband var þó skýrara þegar upplýsingar úr ættarskrá voru notaðar.

HEIMILDIR

Amos, W., Worthington Wilmer, J., Fullard, K., Burg, T.M., Croxall, J.P., Bloch, D., Coulson, T. 2001. The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* **268**: 2021-2027

Belkhir, K. 2000. GENETIX 4.0. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UPR 9060, Montpellier, France.

Cornuet, J.M., & Luikart, G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics.* **144**: 2001-2014.

Hartl, D.L. & Clark, A.G. 1989. Principles of Populations Genetics. Sinauer. Massachusetts. USA.

Irion, D.N., Schaffer, A.L., Famula, T.R., et al. 2003. Analysis of genetic variation in 28 dog breed populations with 100 microsatellite markers. *Journal of Heredity.* **94** (1): 81-87

Koskinen, M.T. & Bredbacka, P. 2000. Assessment of the population structure of five Finnish dog breeds with microsatellites. *Animal Genetics.* **31** (5): 310-317

Lacy, R.C., Hughes, K.A., & Miller, P.S. 1995. *VORTEX: a stochastic simulation of the extinction process.* Version 7 User's Manual. Apple Valley, MN: IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group

Luikart, G., Allendorf, F.W., Cornuet, J.M. & Sherwin, W.B. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test of recent population bottlenecks. *J.Hered.* **89**: 238-247.

Lupke, L. & Distl, O. 2005. Microsatellite marker analysis of the genetic variability in Hanoverian Hounds. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* **122** (2): 131-139.

Lupke, L. & Distl, O. 2004. Analysis of the current population of the Hanoverian Scenthound bred in the kennel club Hirschmann eV. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* **111** (2): 70-75.

Lynch, M. & Walsh, B. 1998. Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sinauer, Massachusetts. USA.

Mäki et al 2000 Mäki, K., Liinamo, A.-E. and Ojala, M. 2000. Estimates of genetic parameters for hip and elbow dysplasia in Finnish Rottweilers. *Journal of Animal Science* **78**: 1141-1148.

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

Mäki, K., Janss, L.L.G., Groen, A.F., Liinamo, A.-E. and Ojala M. 2004. An indication of major genes affecting hip and elbow dysplasia in four Finnish dog populations. *Heredity* **92**: 402-408.

Oliehoek, P. 1999. Inbreeding, Effective Population Size, Mean Kinship and Cluster Analysis in the Icelandic Sheepdog as a Small Population. MS ritgerð. 51 bls. Wageningen University, Hollandi.

Parker, H.G., Kim, L.V., Sutter, N.B. et al. 2004. Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science*. **304** (5674): 1160-1164

Pemberton J. 2004. Measuring inbreeding depression in the wild: the old ways are the best. *Trends Ecol. Evol.* **19** (12): 613-615

Schneider, S., Roessli, D., and Excofier, L. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva

Todhunter, R.J., Acland, G.M., Olivier, M., et al: 1999. An outcrossed canine pedigree for linkage analysis of hip dysplasia. *J Heredity*. **90**(1):83-92

Ubbink G.J., J. van de Broek, H.A.W. Hazewinkel & J. Rothuizen. 1998. Cluster analysis of the genetic heterogeneity and disease distributions in purebred dog populations. *Veterinary record*. **142** (9): 209-213

KOSTNAÐARYFIRLIT

	Kostnaður/einingu	Fjöldi eininga	Samtals
Launakostnaður			
Sérfræðingur	450.000	5	2.250.000
DNA sýnataka			101.400
Vinna á rannsóknastofu			
Primerar	14.800	24	355.200
Önnur efni og stærðargreining	10.000	14	140.000
DNA einangrun	220	181	39.820
Kostnaður samtals			2.886.420

Skýringar á kostnaði

Launakostnaður, Guðbjörg Ásta Ólafsdóttir, 5 mánuðir við stjórnun, sýnatöku, vinnu á rannsóknarstofu og úrvinnslu gagna.

Sýnataka, kostnaður við sýnatökupinna (27.000), sendingakostnaður á annarvegar bréfum til eigenda og hinsvegar á sýnum (66.000). Ferðir vegna sýnatöku, akstur 124km (8.400).

Vinna á rannsóknarstofu, keypt 24 primerapör, gerð 14 PCR hvörf í 96 holu bakka og þau keyrð á raðgreini. DNA einangrun úr 133 sýnum sýnum, þar af þurfti að endurtaka einangrun fyrir 48 sýni.

Breyting frá upphaflegri áætlun

Kostnaður vegna verkefnisins reyndist hærri en upphaflega var gert ráð fyrir. Þar kemur fyrst og fremst til aukinn launakostnaður þar sem verkefnið varð umfangmeira en gert var ráð fyrir í fyrstu. Auk þess sem sýnastærð var aukin frá upphaflegri áætlun kemur þetta einkum til vegna þess að í tengslum við verkefnið var unnið að tækniþróun á vegum líftæknifyrirtækisins Prokaria ehf. Fyrirtækið greiddi því fyrir stóran hluta efniskostnaðar vegna vinnu á rannsóknarstofu.

KYNNING Á VERKEFNINU

Handrit í vinnslu: Ólafsdóttir G.Á. The relationship of inbreeding and multilocus heterozygosity and their effects on hip dysplasia in a recently bottlenecked population of domestic dogs. Verður sent til *Conservation Genetics* eða í sambærilegt rit.

Einnig er gert ráð fyrir að birta kynningu á helstu niðurstöðum á aðgengilegu formi í Sámi, tímariti Hundaræktarfélag Íslands

Kynning á verkefninu hefur verið haldin á fulltrúaráðsfundi Hundaræktarfélag Íslands þann 11. janúar 2006.

Fjallað var um verkefnið í kvöldfréttatíma RÚV þann 11.12.2005

ÞAKKIR

Ég vil þakka erfðanefnd landbúnaðarins fyrir að styrkja verkefnið. Þá vil ég þakka eigendum hundanna sem tóku þátt í rannsókninni og deild íslenska fjárhundsins fyrir gott samstarf og hjálp við skipulagningu og sýnatöku. Prókaría ehf þakka ég fyrir að leggja til aðstöðu og starfsfólki þar fyrir aðstoð við vinnu á rannsóknarstofu.