

BS – ritgerð

Maí 2011

# Erfðafjölbreytileiki innan íslenska hæsnastofnsins metinn með greiningu örtungla

Ólöf Ósk Guðmundsdóttir



**Landbúnaðarháskóli Íslands**  
Agricultural University of Iceland

Auðlindadeild

BS – ritgerð

Maí 2011

# Erfðafjölbreytileiki innan íslenska hænsnastofnsins metinn með greiningu örtungla

Ólöf Ósk Guðmundsdóttir

Leiðbeinandi: Jón Hallsteinn Hallsson

Landbúnaðarháskóli Íslands  
Auðlindadeild



## Yfirlýsing höfundar

*Hér með lýsi ég því yfir að verkefni þetta er byggt á mínum eigin athugunum, er samið af mér og að það hefur hvorki að hluta né í heild verið lagt fram áður til hærri prófgráðu.*

---

## Ágrip

Erfðafjölbreytileiki stofns er nauðsynlegur svo hann geti tekist á við mögulegar breytingar framtíðarinnar. Framleiðslustofnar í hæsnarækt, bæði alifugla og varphæna, eru stórir og einsleitir og áhyggjur hafa komið fram um framtíð þeirra vegna skorts á erfðafjölbreytileika. Framtíð framleiðslustofna er mikilvæg fyrir matvælaframleiðslu komandi ára og því þarf að huga að þessu. Tvínýtja staðbundnir stofnar eins og íslenska landnámsþænan geta verið mikilvægar auðlindir vegna þeirra ólíku erfðaeiginleika sem þeir geyma og gætu mögulega nýst í framtíðinni. Hér er greint frá rannsókn á stofni íslensku landnámsþæunnar með örtunglagreiningu 170 einstaklinga og samanburði við erlenda stofna sem finnast á Íslandi. Markmið greiningar á erfðafjölbreytileika landnámsþæunnar var að leiða í ljós stöðu stofnsins í samanburði við erlenda stofna, hvort nota mætti örtungl til að bera kennsl á blendinga og jafnframt hvort mögulega séu til staðar staðbundnir undirstofnar sem ber að varðveita sérstaklega til að halda í erfðafjölbreytileika stofnsins. Í ljós kom að nokkur erfðafjölbreytileiki er til staðar í stofninum og að í honum finnst að minnsta kosti einn mögulegur undirstofn sem ber að huga að við varðveisluaðgerðir.

Lykilorð: Landnámsþæna, erfðamörk, örtungl, erfðafjölbreytileiki, undirstofnar.

## **Þakkir og tileinkun**

Ég vil þakka þeim bændum sem veittu verkefninu lið með því að senda inn sýni. Sérstakar þakkir fá Jóhanna Harðardóttir formaður Eigenda- og ræktendafélags landnámsfélagsna og Valgerður Auðunsdóttir á Húsatóftum gjaldkeri fyrir mikla aðstoð við sýnasöfnun.

Þakkir fá Erfðanefnd landbúnaðarins fyrir fjármögnun verkefnisins og Matís fyrir góða þjónustu.

Einnig vil ég þakka leiðbeinanda mínum, Jóni Hallsteinn Hallssyni fyrir mikla þolinmæði og góðar útskýringar á meðan verkefnavinnunni stóð.

Heiða Aðalsteinsdóttir, Kolbrún Þóra Eiríksdóttir og pabbi, Guðmundur Davíðsson, fá kærar þakkir fyrir yfirlestur verkefnisins og góðar athugasemdir.

# Efnisyfirlit

Yfirlýsing höfundar .....	i
Ágrip.....	ii
Þakkir og tileinkun .....	iii
Efnisyfirlit .....	iv
1. Inngangur .....	1
1.1. Íslenska landnámshænan .....	1
1.2. Erfðafjölbreytileiki .....	2
1.3. Skyldleikarækt .....	4
1.4. Virk stofnstærð .....	5
1.5. Erfðamörk.....	5
1.6. Hvatbera DNA.....	6
1.7. Fyrri rannsóknir .....	7
1.8. Markmið .....	8
2. Efni og aðferðir .....	9
2.1. Sýnasöfnun .....	9
2.2. Aðferðir.....	9
2.2.1 Einangrun og greining erfðaefnis.....	9
2.2.2 Úrvinnsla örtunglagreininga .....	9
2.2.3 Mögnun og raðgreining D-lykkju .....	10
3. Niðurstöður.....	12
3.1. Breytileiki samsæta.....	12
3.2. Bygging stofnsins .....	13
3.3. Mögnun hvatbera DNA .....	16
4. Umræða.....	17
4.1. Erfðafjölbreytileiki í stofni íslensku landnámshæunnar .....	17
4.2. Undirstofnar til staðar .....	18
4.3. Hreinræktaðir einstaklingar og blendingar .....	18
4.4. Virk stofnstærð og framhaldslíf stofns .....	19
4.5. Mögulegt framhald .....	20
5. Ályktanir.....	21
6. Heimildaskrá .....	22
7. Töfluskrá .....	25
8. Myndaskrá.....	25
9. Viðaukar .....	26

# 1. Inngangur

Talið er að stofn íslensku hænunnar, svokallaðar landnámshænur, séu afkomendur hænsnastofns sem barst hingað með landnámsmönnum fyrir um ellefuhundruð árum (Erfðanefnd landbúnaðarins, 2009). Stofninn er einn af fjölmörgum staðbundnum stofnum og landkynjum sem hafa viðhaldist öldum saman um heim allan en hafa á síðustu áratugum verið mjög á undanhaldi (Spalona et al., 2007). Ástæða þess er meðal annars breyttar áherslur í framleiðslu og eftirspurn eftir afurðahærrí stofnum. Undanfarin 50 ár hefur heimsframleiðsla alifugla og varphæna breyst og vaxið mikið. Hænsnabúum hefur fækkað, þau stækkað og til hafa orðið svokölluð verksmiðjubú. Heildarframleiðsla alifuglakjöts hefur til að mynda nífaldast á innan við fimmtíu árum, úr 10 milljónum tonna árið 1961 í 90 milljónir tonna árið 2009 (Food and agriculture organization of the United Nations, á. á.). Samhliða þessari auknu framleiðslu hafa orðið miklar kynbætur og staðlanir innan framleiðslufyrirtækja sem selja mikið magn afurðamikilla gripa í minni framleiðslufyrirtæki um allan heim (Muir et al., 2008). Þessi iðnvæðing í hænsnarækt hefur minnkað staðbundna stofna um allan heim sem víkja fyrir afurðahærrí stofnum (Hillel et al., 2003; Spalona et al., 2007).

Undanfarið hafa vaknað upp áhyggjur af afleiðingum þess að þeir þaulræktuðu stofnar sem notaðir eru í matvælaframleiðslu hafi tapað erfðafjölbreytileika við það stífa val sem þeir undirgangast við ræktunina (Meuwissen, 2009). Ef einsleitir stofnar lenda í vandræðum vegna skyldleikaræktar, erfðafylgni óhagstæðra eiginleika eða umhverfisbreytinga er nauðsynlegt að ræktendur geti brugðist við þeim því ljóst er að þrýstingur á matvælaframleiðslu heimsins fer stöðugt vaxandi (Meuwissen, 2009). Það er því mikilvægt að afla þekkingar um erfðalindir stofna sem óskyldir eru framleiðslustofnum til þess að kortleggja og vernda breytileika sem grípa má til þegar á þarf að halda. Þetta á ekki síst við í hænsnarækt þar sem fáir stofnar hænsna lögðu grunninn að þeim framleiðslukynjum sem notuð eru í dag og lítill erfðafjölbreytileiki í stofnunum er áhyggjuefni (Muir et al., 2008; Spalona et al., 2007). Tvínytja stofnar, eins og stofn íslensku landnámshæunnar, geta því verið mikilvæg auðlind vegna þeirra erfðaeiginleika sem þeir geyma og gætu mögulega nýst í framtíðinni (Hillel et al., 2003; Spalona et al., 2007).

## 1.1. Íslenska landnámshænan

Tiltölulega fáar heimildir eru til um uppruna landnámshæsnanna. Stefán Aðalsteinsson segir í grein sem birt var í Frey árið 2004 að í Hænsna-Þóris sögu og Flóamannasögu hafi hænsna



verið getið (Stefán Aðalsteinsson, 2004), svo talið er að hænsn hafi borist hingað strax með landnámsmönnum. Eftir að farið var að nota erlend hæsnakyn hér til eggjaframleiðslu minnkaði íslenski stofninn mikið og var talinn í útrýmingarhættu á miðjum áttunda áratugi síðustu aldar (Rannsóknastofnun landbúnaðarins, 1998). Stofn íslensku landnáms hæunnar er því trúlega kominn af tiltölulega fáum fuglum sem safnað var saman víða á landinu árin 1974-1975 af Stefáni Aðalsteinssyni (Erfðanefnd landbúnaðarins, 2009). Stefán sérvaldi einstaklinga sem hann taldi komna af upprunalegum stofni íslenskra hænsna með það fyrir augum að bjarga stofninum. Afkomendum þessara fugla var haldið við með aðstoð Bændaskólans á Hvanneyri og síðar á tveimur bæjum í Borgarfirði og dreifðust fuglarnir þaðan um allt land (Rannsóknastofnun landbúnaðarins, 1998). Árið 1996 var gerð könnun á stofninum á vegum Rannsóknastofnun landbúnaðarins þar sem fram kom að hann samanstæði af 2000-3000 fuglum og að meiri en helmingur þeirra hænsna væru komnir frá hópnum sem Stefán safnaði saman (Rannsóknastofnun landbúnaðarins, 1998).

Ekki er haldið skýrsluhald yfir íslenskar hænur en talið er að stofninn telji í dag um það bil 2500-3000 dýr (Erfðanefnd landbúnaðarins, á. á.). Síðustu ár hefur áhugi á landnáms hænum vaxið mikið og árið 2003 var stofnað Eigenda- og ræktendafélag landnáms hænsna sem hefur það að markmiði að halda landnáms hæsnastofninum hreinum, heilbrigðum og litfögnum (Eigenda- og ræktendafélag landnáms hænsna, á. á.). Erfðanefnd landbúnaðarins stuðlar einnig að verndun stofnsins en hluti landsáætlunar hennar um verndun erfðaauðlinda í íslenskri náttúru og landbúnaði er meðal annars að styrkja verkefni sem stefna að því að viðhalda stofni landnáms hænsna (Erfðanefnd landbúnaðarins, 2009). Ljóst er að án þekkingar um ættir og skyldleika gripa þarf að grípa til annarra aðferða eins og greininga á erfðaefni til þess að afla upplýsinga um erfðafræði stofnsins, stöðu hans og þróun (Frankham, Ballou, & Briscoe, 2002; Hillel et al., 2003).

## **1.2. Erfðafjölbreytileiki**

Erfðafjölbreytileiki er mikilvægur eiginleiki fyrir afkomu stofna til lengri tíma litið. Hann birtist í mismunandi svipgerð eða eiginleikum einstaklinga og kemur til vegna undirliggjandi breytileika í erfðaefni. Innan stofna er erfðafjölbreytileiki nauðsynlegur svo stofninn hafi möguleika á að aðlagast breytingum í framleiðslu og efnahagslegu umhverfi og einnig til að forðast skyldleikarækt (Meuwissen, 2009). Erfðafjölbreytileiki milli stofna er hins vegar nauðsynlegur svo hægt sé að flytja erfðaefni milli stofna komi upp vandamál tengd genaflæði eða þegar ákveðna eiginleika vantar í stofn (Meuwissen, 2009). Erfðafjölbreytileika einstakra

genasæta má til dæmis meta með því að bera saman séða og væntanlega arfblandni og með samanburði á meðalfjölda samsæta (*e. allelic diversity*) milli genasæta (Frankham et al., 2002). Séð arfblandni er raunverulegt hlutfall arfblandinna einstaklinga í stofni en væntanleg arfblandni er það hlutfall arfblandinna einstaklinga í stofni sem vænta má, sé stofninn í Hardy-Weinberg jafnvægi. Ef stofn er í Hardy-Weinberg jafnvægi helst tíðni samsæta í honum stöðugur á milli kynslóða en frávik frá Hardy-Weinberg jafnvægi bendir til þess að val, skyldleikarækt eða genaflökt hafi áhrif á tíðni samsæta í stofninum (Frankham et al., 2002). Meðalfjöldi samsæta er meðaltal samsæta í hverju genasæti (Frankham et al., 2002). Stofnar sem líkir eru villtum forfeðrum sínum hafa alla jafnan mikinn erfðafjölbreytileika og koma næst á eftir villtu forfeðrunum sjálfum í breytileika (Taberlet et al., 2008). Þeir stofnar eiga það sameiginlegt að þeir eru yfirleitt lítið ræktaðir.

Margir stofnar dýra sem mikilvægir eru í matvælaframleiðslu eiga það sameiginlegt að erfðafjölbreytileiki þeirra er lítill. Ræktun með stífu vali fyrir framleiðslueiginleikum hefur minnkað breytileika og aukið skyldleika innan stofna. Þeir stofnar sem hafa náð mestum framförum eru svo notaðir í framleiðslu en þeir eru fáir (Taberlet et al., 2008). Þetta á ekki hvað síst við í hæsnarækt þar sem fá fyrirtæki rækta upp afurðaháa stofna sem notaðir eru um allan heim. Litlir staðbundnir stofnar hafa minnkað hratt og margir tapast vegna lítills eða óskilgreinds efnahagslegs gildis. Innblöndun framleiðslustofna við þá er algeng og getur hún útrýmt þeim sérstöku einkennum sem litlu stofnarnir hafa (Taberlet et al., 2008). Sem dæmi um eiginleika staðbundinna stofna í Evrópu eru frekar lítið afurðamagn en mikil frjósemi og útungunargeta, mikil mótstaða gegn sjúkdómum og þol við erfiðar aðstæður (Spalona et al., 2007). Til lengri tíma lítið eru gildi þessara litlu stofna sem framtíðar erfðalindir því vanmetin. Nauðsynlegt er að eiga erfðafjölbreytileika innan tegundarinnar sem grípa má til ef þörf verður á í framtíðar matvælaframleiðslu (Taberlet et al., 2008).

Annað sem minnkar breytileika stóru hæsnastofnanna er stíft val fugla innan lína. Aðeins fáir fuglar eru notaðir vegna yfirburða eiginleika þeirra en of dýrt og tímafrekt er að safna ákjósanlegum svipgerðum úr mörgum einstaklingum. Þannig fæst mest erfðaframför á stystum tíma með því að nota aðeins bestu einstaklingana (Muir et al., 2008). Vandamálið kemur fram þegar þessir fáu einstaklingar eignast öll sín >200 afkvæmi sem halda áfram í ræktun. Með þessari aðferð geta erfðayfirburðir eins fugls dreifst milljónfalt á leið sinni í framleiðsluafurðina (Muir et al., 2008) og stofninn verður mjög einsleitur.

### 1.3. Skyldleikarækt

Skyldleikarækt er náskyld skorti á erfðafjölbreytileika. Þegar foreldrar einstaklings eiga einn eða fleiri sameiginlega forfeður er sagt að einstaklingurinn sé skyldleikaræktaður. Afkvæmið á þá von á að fá samsætur frá báðum foreldrum sem eru af sama uppruna (*e. identical by descent*) (Frankham et al., 2002). Skyldleikarækt einstaklings er þó háð stöðu stofnsins sem hann tilheyrir. Þannig er sagt að einstaklingur sé skyldleikaræktaður ef skyldleiki milli foreldra hans er meiri en meðaltal skyldleika innan stofnsins (Frankel & Soulé, 1981). Skyldleikarækt er því teygjanlegt hugtak og mismunandi milli stofna. Mælikvarði á skyldleikarækt er svokallaður skyldleikaræktarstuðull,  $F$ . Hann er mat á líkum þess að báðar samsætur í genasæti séu af sama uppruna.  $F$  getur verið á bilinu 0-1 þar sem einstaklingur með  $F = 0$  er ekkert skyldleikaræktaður (afkvæmi óskyldra einstaklinga) og einstaklingur með  $F = 1$  er algjörlega skyldleikaræktaður (Frankham et al., 2002).

Stofnstærð hefur mikið að segja um skyldleikarækt en í litlum lokuðum stofnum þar sem æxlun er tilviljunarkennd eykst skyldleikarækt við hverja kynslóð (Frankham et al., 2002; Meuwissen, 2009). Hver einstaklingur á fleiri og fleiri forfeður því lengur sem hann rekur sig aftur í ættir. Einstaklingur á 1024 forfeður tíu kynslóðir aftur í tímann svo til þess að vera ekkert skyldleikaræktaður þarf stofnstærðin fyrir 10 kynslóðum síðan því að hafa verið meiri en 1024 einstaklingar (Frankham et al., 2002).

Ástæða þess að fylgst er með skyldleikarækt er sú að hún eykur líkur á því að einstaklingur sé arfhreinn í genasæti. Aukin tíðni arfhreinna sæta tákna minni erfðafjölbreytileika. Í stofnum þar sem æxlun er tilviljanakennd eru til staðar meingen og banagen sem oftast eru víkjandi með lága tíðni (Frankham et al., 2002; Meuwissen, 2009). Þegar meira er um arfhrein sæti eru meiri líkur á að tvö svoleiðis gen lendi saman og einstaklingi verði meint af. Við aukna skyldleikarækt kemur fram svokölluð skyldleikaræktarhnignun sem lýsir sér sem minni hæfni til tímgunar (*e. reproduction fitness*) (Frankham et al., 2002; Maki-Tanila, 2007). Aukning skyldleikaræktar um 10% hefur til dæmis sýnt 7,7% minni frjósemi í músum, en almennt minnkar hæfni ýmissa eiginleika um 5-10% við 10% skyldleikaræktaraukningu (Frankel & Soulé, 1981). Skyldleikaræktarhnignun hefur verið þekkt hjá lífverum allt frá árinu 1876 þegar Darwin lýsti henni í plöntum þar sem skyldleikaræktaðar plöntur voru styttri, léttari, blómguðust seinna og framleiddu færri fræ (Frankham et al., 2002). Hæfni til tímgunar felst meðal annars í fjölda afkvæma, afkomu afkvæma, langlífi, tímabili á milli afkvæmahópa, æxlunarhæfni, sæðismagni og gæðum, móðureiginleika, samkeppnishæfni og þroskunartíma

einstaklinga (Frankham et al., 2002). Skyldleikaræktarhnignun getur haft áhrif á einhvern eða nokkra þessara þátta og eykur því um leið líkur á því að stofn deyi út. Ræktunaraðferðir sem miða að viðhaldi lítilla stofna felast enda margar í því að lágmarka skyldleika foreldra og skyldleikarækt stofnsins, til dæmis með valpörumum (Meuwissen, 2009).

Erfitt getur verið að mæla nákvæma skyldleikarækt í stofnum þar sem ekki eru til ætternisskráningar langt aftur í ættir. Til eru óbeinar leiðir til að meta skyldleikarækt út frá arfgerðargreiningum sem nota má í stað beinna mælinga. Skortur á arfblendni miðað við væntanlega arfblendni samkvæmt Hardy-Weinberg má meðal annars nota til að reikna skyldleikaræktarstuðul (Frankham et al., 2002).

#### **1.4. Virk stofnstærð**

Virk stofnstærð er stöðluð stofnstærð sem lýsir stofni sem myndi tapa erfðafjölbreytileika á sama hraða og raunverulegur stofn. Afdrif stofns eru því háð virkri stærð stofnsins frekar en raunverulegri tölu einstaklinga í stofninum (Frankham et al., 2002). Svo stofn sé lífvænlegur er talið ákjósanlegt að virk stofnstærð hans sé á bilinu 50-100 dýr (Meuwissen, 2009; Taberlet et al., 2008) og ef viðhalda á stofni til langs tíma er virk stofnstærð talin þurfa vera yfir 500 dýr (Taberlet et al., 2008). Varðveisluaðgerðir sem miða að viðhaldi lítilla stofna leitast því við að hámarka virka stofnstærð (Spalona et al., 2007).

#### **1.5. Erfðamörk**

Til þess að rannsaka breytileika erfðamengis í lífverum er hægt að skoða breytileika í próteínum, grænkorna DNA, hvatbera DNA og genasæta kjarna DNA (Frankham et al., 2002). Kjarna DNA má til dæmis skoða með því að greina einkirnabreytileika (SNP) erfðamengis (Muir et al., 2008; Wong et al., 2004) eða með því að skoða örtungl (Brown et al., 2007; Hillel et al., 2003). Örtungl eru endurteknar stuttraðir basapara og eru mikið notuð sem erfðamörk í stofnerfðarannsóknum (Frankham et al., 2002). Þær aðferðir sem sýna meiri breytileika á milli einstaklinga en aðrar veita nákvæmari upplýsingar um erfðafræði þeirra stofna sem verið er að rannsaka. Mestan breytileika í kjarna DNA er oftast að finna í kirnum sem hafa enga virkni, skrá annað hvort ekki fyrir virkum afurðum eða eru ónæg fyrir breytingum. Á samsetningu þessara seta eru sjaldan höfð áhrif með valpörumum þar sem þau hafa engin áhrif sjálf (Frankham et al., 2002).

Breytileiki í örtunglum er fundinn með mögnun erfðaeftnis með PCR aðferð. Vísar sem passa sitt hvoru megin við örtunglið eru hannaðir þannig að þeir afmarki röðina sem á að magna.

Eftir mögnun eru PCR afurðirnar rafdrengar og breytileiki skráður eftir mismunandi lengd þeirra (Frankham et al., 2002). Örtungl hafa verið notuð til að greina erfðafjölbreytileika í mörgum tegundunum lífvera. Þau sýna yfirleitt háa tíðni fjölbreytni samsæta í genasæti og hafa verið talin hagnýtust og veita mestar upplýsingar af þeim sameindatækniaðferðum sem til eru til að greina erfðafjölbreytileika stofna (Frankham et al., 2002).

Árið 2006 prófaði fyrirtækið Prokaria erfðagreiningartækni til að greina breytileika innan stofns íslensku landnámshæunnar. Tekin voru sýni úr um það bil 30 fuglum í samvinnu við Eigenda- og ræktendafélag landnámshænsna sem áttu að vera eins lítið skyldir og hægt var. Einangrað var DNA úr vef í enda fjaðra fuglanna. Notuð voru þekkt erfðamörk sem notuð höfðu verið í rannsókn á öðrum hænsnakynjum en í heildina voru skoðuð 13 örtungl. Alls reyndust 9 af 13 örtunglum nothæf og hægt var að magna þau í tveimur PCR keyrslum. Örtunglin 9 sem reyndust nothæf eru GUJ0044, LEI94, MCW295, MCW34, MCW183, GUJ0070, LEI192, GUJ0097 og LEI234. Þau sýndu öll breytileika í samsætum, frá 4 og upp í 9 samsætur og var því ályktað að þessi örtungl teldust vel nothæf til greiningar á stofni íslensku landnámshæunnar (Erfðanefnd landbúnaðarins, á. á.).

## **1.6. Hvatbera DNA**

Hvatbera DNA er hringlaga DNA sameind innan hvatbera sem erfist í móðurlegg í flestum lífverum. Hvatbera DNA er mjög breytilegt og með hærri tíðni stökkbreytinga en kjarna DNA. Ástæða þess er sú að byggingu hvatbera DNA er ekki viðhaldið með histón próteinum eins og í kjarna DNA svo bygging þess er ekki jafn sterk. Auk þess er hvatbera DNA með veikt viðgerðarkerfi, sem sér um að hvert kirni sé sett á réttan stað, svo villur í afritun eru algengari (Peng et al., 2011).

Stjórnsvæði hvatberaerfðafnissins er kallað D-lykkja. D-lykkjur eru breytilegri en aðrir hlutar hvatbera DNA sem gerir það að verkum að þær eru hentugastar til að rannsaka uppruna (Jia et al., 2007; Liu, Yang, & Lei, 2006), erfðafjölbreytileika og mismun milli skyldra tegunda og einstaklinga innan tegundar (Liu et al., 2006). Haplótýpu breytileiki og núkleótíða breytileiki hvatbera DNA eru mikilvægar mælieiningar fyrir erfðafjölbreytileika stofns (Liu et al., 2006).

Erfðafjölbreytileika hvatbera DNA má greina með nokkrum aðferðum en raðgreining er sú aðferð sem mest er notuð. Með raðgreiningu er röð basa í erfðafninu greind. Þetta er yfirleitt gert með notkun DNA raðgreiningatækja eftir mögnun með PCR aðferð (Frankham et al.,

2002). Til þess að ná að magna upp bútaröð þarf að hanna rétta vísa sem magna upp þá staði erfðefnisins sem á að skoða (Sawai et al., 2010).

Raðgreining hvatbera DNA er hentug til að skoða erfðafjölbreytileika vegna þess mikla breytileika sem er að finna í því, ásamt því að hægt er að nota niðurstöðurnar til að leysa flokkunarfræðivandamál og til að skilja betur mikilvæg sjónarmið tegundalíffræði (Frankham et al., 2002).

Rannsóknir á hvatbera DNA geta leitt í ljós mikilvægar upplýsingar um stofna. Ef hvatbera DNA sýnir marktækan mun milli stofna, að hver stofn sé einstofna, og kjarna DNA sýnir marktækan mun á tíðni samsæta, þá eiga stofnarnir að vera aðgreindir sem sérstakar ESU (*e. evolutionarily significant units* = þróunarlega mikilvægar einingar) og þeim stjórnað hverjum fyrir sig. Þetta getur þýtt að vel skilgreindar undirtegundir séu einingar sem ber að passa sérstaklega, en það er ekki alltaf staðreyndin í lítið rannsókuðum hópum (Frankham et al., 2002).

## 1.7. Fyrri rannsóknir

Fjöldamargar rannsóknir hafa verið gerðar á erfðafjölbreytileika hinna ýmsu hæsnastofna um heiminn. Á árunum 1998-2000 var verkefnið AvianDiv unnið á vegum FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), en í því var safnað saman sýnum úr 52 hæsnakynjum og erfðafjölbreytileiki metinn með örtunglagreiningu (Hillel et al., 2003). Tekin voru sýni úr íslensku hænunni í þeirri rannsókn en íslenska hænann hefur einnig verið hluti rannsóknar frá 2001 sem mat stofngerð 20 hæsnakynja (Rosenberg et al., 2001). Sú fyrri bar saman erfðafjölbreytileika stofnanna sem hún átti við með greiningu örtungla. Þar var íslenska hænann flokkuð með húsdýrastofnum (*e. domesticated*) sem eru óræktaðir. Þeir voru taldir hafa meiri breytileika en stórir framleiðslustofnar. Íslenska hænann var hins vegar með minnstan erfðafjölbreytileika þeirra stofna sem hún var flokkuð með (Hillel et al., 2003). Í seinni rannsókninni kom í ljós að íslenski stofninn flokkaðist með austurlensku hæsnakyni sem þótti heldur undarlegt vegna landfræðilegrar fjarlægðar. Talið var að líkindin mætti draga frá því að báðir væru óræktaðir stofnar og að íslenska hænann gæti upphaflega hafa komið af austurlensku kyni (Rosenberg et al., 2001). Rannsóknin sem verkefni þetta fjallar um er sú fyrsta sem gerð er með áherslu á íslensku landnáms hænuna og tekur til skoðunar svo mörg sýni víðs vegar af landinu.

## 1.8. Markmið

Markmið verkefnisins var að greina erfðafjölbreytileika stofns íslensku landnámshæunnar, meta skyldleikarækt og virka stofnstærð og leggja með því grunn að þeirri þekkingu sem þarf til að viðhalda erfðafjölbreytileika stofnsins og hreinleika. Bygging stofnsins var skoðuð og athugað hvort hægt sé að nota upplýsingar um erfðafjölbreytileika til þess að greina hreinræktaða íslenska fugla og blendinga. Þær niðurstöður mætti mögulega nota til að bera einstaka fugla við í framtíðinni en það gæti nýst ræktendum vel til að velja dýr til undaneldis og viðhalda þannig kynhreinum stofni. Einnig var skoðuð stofngerð landnámshæunnar með það í huga hvort mögulega væru til staðar staðbundnir undirstofnar sem bæri að varðveita sérstaklega til að halda í erfðafjölbreytileika stofnsins.

## 2. Efni og aðferðir

### 2.1. Sýnasöfnun

Sýnum var safnað úr 141 einstaklingi sem talist gátu til íslenska landnámsstofnsins en auk þess var notast við 32 gömul sýni sem safnað var árið 2006. Í heildina voru því greind 173 sýni úr íslenskum hænum. Val á fuglum og sýnataka fór fram í samvinnu við Eigenda- og ræktendafélag landnámsshænsna sumar og haust 2010. Tekin voru sýni af fuglum frá 22 bæjum á landinu, níu bæjum á Suðvesturlandi, átta á Norðurlandi, auk þriggja á Norðvesturlandi og tveggja bæja af Austurlandi (5. mynd í viðauka). Auk sýna úr íslensku fuglunum voru tekin sýni úr fimm brúnum hænum frá Brúneggi ehf, fimm silkihænum, þremur ítölskum, fimm dverghænum og átta svörtum þýskum hænum, samtals 26 sýnum úr hænum af erlendum stofnum. Heildarfjöldi sýna sem greind voru var því 199. Safnað var a.m.k. fimm fjöðrum úr hverjum einstaklingi, teknar af baki þeirra. Fjaðrir af hverjum einstaklingi voru geymdar í aðskildum pokum merktum söfnunarstað.

### 2.2. Aðferðir

#### 2.2.1 Einangrun og greining erfðaefnis

Einangrun erfðaefnisins úr fjöðrum og greining örtungla var framkvæmd af MATÍS ([www.matis.is](http://www.matis.is)). Greind voru samtals níu örtungl sem áður höfðu verið skilgreind nothæf fyrir landnámsshænur, þetta eru erfðamörkin GUJ0044, LEI94, MCW295, MCW34, MCW183, GUJ0070, LEI192, GUJ0097 og LEI234.

Útbúnar voru arfgerðartöflur af Matís fyrir alla einstaklinga í Microsoft Office Excel þar sem fram kemur lengd samsætu hvers erfðamarks.

#### 2.2.2 Úrvinnsla örtunglagreininga

Mælieiningar erfðafjölbreytileika voru reiknaðar út í forritinu PowerMarker V3.25 (Liu & Muse, 2005) út frá gögnum um samsætur. Forritið reiknar tíðni samsæta, fjölda samsæta í hverju erfðamarki, væntanlega arfblendni, séða arfblendni, breytileikagildi erfðamarka (*e. PIC; Polymorphism information content*) og skyldleikaræktarstuðul. PIC gildi erfðamarks segir til um hversu breytilegt það er og hversu miklar upplýsingar sætið gefur. Þess hærra sem gildið er því meiri upplýsingar gefur sætið. Sæti með PIC gildi yfir 0,5 gefur miklar



upplýsingar en sæti með PIC lægra en 0,25 gefur litlar upplýsingar (Botstein, White, Skolnick & Davis, 1980).

Einnig var í PowerMarker V3.25 reiknuð tíðniháð erfðafjarlægð  $D_A$  milli einstaklinga (Nei, Tajima & Tatenno, 1983). Sýnt hefur verið að tíðniháða erfðafjarlægðin  $D_A$  er ein af betri aðferðum við mat erfðafjarlægðar byggt á örtunglum og tré byggt á þeim gögnum er talið gott til ýmissar notkunar (Takezaki & Nei, 1996).

PowerMarker V3.25 var notað til að búa til skyldleikatré, með NJ (*e. neighbour-joining*) aðferð út frá erfðafjarlægðargögnum. NJ tré má nota á margvísleg gögn ólíkt öðrum trjám sem eru háð til dæmis jöfnum þróunarhraða milli stofna. NJ tré er án rótar og sýnir því aðeins skyldleika milli einstaklinga og stofna en ekki elsta punkt trésins (Baldauf, 2003; Takezaki & Nei, 1996). Forritið MEGA 5 (Tamura et al., 2011) var notað til að teikna tréð upp.

Athugað var hvort stofn landnámsþænnar sé í Hardy-Weinberg jafnvægi með því að framkvæma próf í PowerMarker V3.25 sem athugar hvort stofninn er marktækt frábrugðinn jafnvægi eða ekki í hverju genasæti fyrir sig (Liu & Muse, 2005).

Erfðafjarlægð á milli allra einstaklinga var reiknuð með hjálp forritsins GenAlEx 6.41 (Peakall & Smouse, 2006) og þær upplýsingar notaðar til að láta GenAlEx 6.41 framkvæma svo kallaða „*principal components*” (PCA) greiningu á breytileika milli stofna og á milli einstaklinga. Forritið teiknar upp mynd þar sem fjarlægð á milli punkta skýrir mismikið hlutfall breytileika (Peakall & Smouse, 2006).

Skoðuð var dreifni samsæta milli einstaklinga með AMOVA greiningu í GenAlEx 6.41 (Peakall & Smouse, 2006) út frá reiknaðri erfðafjarlægð milli einstaklinganna til þess að hægt væri að átta sig betur á stofngerðunum.

Virk stofnstærð íslensku landnámsþænnar var reiknuð með forritinu LDNE. Forritið notar aðferð Burrows til að meta tengslaójafnvægi samsæta (Waples & Do, 2008).

### 2.2.3 Mögnun og raðgreining D-lykkju

Hluti D-lykkju hvatberaerfðafnis var magnaður með PCR aðferð. Valin voru tíu DNA sýni til mögnunar, Gg001, Gg008, Gg019, Gg107, Gg108, Gg161, Gg204, Gg205, Gg277 og Gg292. Notast var við 6 vísa (2 *forward* og 4 *reverse*) sem pantaðir voru frá Eurofins MWG Synthesis GmbH ([www.erufinsdna.com](http://www.erufinsdna.com)). Byrjað var á að leysa vísana upp í 1 × TE-buffer

lausn til að fá styrkinn 100 pmol/μl. Búin voru til 7 mismunandi pör vísa (*forward og reverse*) og notuð 2 pör sitt á hvað á hvern einstakling. Í 500 μL sýnaglas var blandað 0,5 μl *forward* vísi, 0,5 μl *reverse* vísi, 2,5 μl af PCR buffer lausn, 0,2 μl af erfðaeftni, 1 μl af nýkleótíðum, 0,3 μl af pólýmerasa og 20 μl af vatni. Í hverju glasi var því 25 μl sýnilausn og þannig voru þau sett í PCR tæki. Notast var við aðferð B25 sem er þannig: lausnirnar eru hitaðar upp í 95°C í 6 mínútur, þá fer í gang hringur þar sem lausnirnar eru við 94° í 30 sekúndur, 54° í 30 sekúndur og svo í 72° í 1 sekúndu. Hringurinn er endurtekinn 40 sinnum. Eftir það er hitanum haldið við 72° í 10 mínútur, svo lækkaður í 4° og haldið þannig þar til sýnin eru tekin úr tækinu.

Eftir mögnunina var sett 5 μl af litareftni út í sýnaglösina. Steypt var 1% agarósa gel úr 1 g af *agarose electrophoresis grade* og 100 ml af 1 × TAE buffer við pH 8,5. Út í þá lausn var bætt SYBR safe DNA lit áður en gelið var steypt með 22 brunna greiðu. Gelið var þá sett í rafdráttarbakka og buffer hellt yfir þar til flaut yfir gelið. Sýnunum var hlaðið í brunnana og DNA stigar settir í endabrunnana til samanburðar. Rafskautin voru sett á og sýnin dregin við 100V 30 mínútur. Þá var tekin mynd af gelinu.

Gera þurfti aðra tilraun til greiningar hvatbera erfðaeftnis með smávægilegum breytingum. Unnið var með færri sýni og vísapör og notast við mismunandi styrkleika MgCl<sub>2</sub> til að greiða fyrir mögnuninni. Í þetta skipti voru notuð sýnin GgMA03, GgMA04 og GgMA05 og vísapörin F1-R1 og F3-R3. Hvort vísapar um sig var notað á öll sýnin. Í hvert sýnaglas var sett 0,4 μl af DNA sýni, 1 μl af hvorum vísi, 12,5 μl af *Taq 2x* (blanda af buffer, nýkleótíðum og pólýmerasa) og svo mismikið magn MgCl<sub>2</sub> og vatns, alls 25 μl. Við hvert sýni með vísapari var notaður mismunandi styrkleiki MgCl<sub>2</sub>, 0 μl; 0,5 μl; 1 μl og 1,5 μl. Notast var við sömu PCR aðferð, samskonar gel og rafdrægnitæki.

Þriðja tilraunin var tvískipt. Í öðrum hluta hennar var unnið með sömu sýni og í tilraun tvö, notuð voru vísapörin F1-R4 og F3-R4 en að öðru leiti var framkvæmdin eins og í tilraun tvö. Í hinum hluta tilraunarinnar var unnið með sýnin Gg040 og Gg041 og vísapörin F1-R4 og F3-R4. Einnig var unnið með annan pólýmerasa. Að öðru leiti var framkvæmdin eins og í tilraun tvö.

### 3. Niðurstöður

Niðurstöður fengust úr arfgerðargreiningu allra 199 sýnanna. Hins vegar fengust ekki niðurstöður fyrir öll erfðamörk í öllum einstaklingum. Af íslensku hænunum vantaði eitt erfðamark í 29 sýnum, tvö erfðamörk í fimm sýnum, þrjú erfðamörk í einu sýni og fimm erfðamörk í einu sýni. Í einni brúnni hænu vantaði 7 erfðamörk, í einni silkihænu og einni svartri þýskri vantaði eitt erfðamark og í einni ítalskri vantaði tvö. Sýnum þeirra einstaklinga sem vantaði fimm eða fleiri erfðamörk, af þeim níu sem greind voru, var eytt úr gagnasafninu. Það voru ein íslensk hæna (sýni Gg226) og ein brún (sýni Gg263). Unnið var því með samtals 197 sýni. Hlutfall sýna sem skiluðu erfðamörkum er 0,97 að meðaltali fyrir öll sætin.

#### 3.1. Breytileiki samsæta

Tíðnidreifing allra samsæta genasætanna í öllum sýnunum (öllum stofnum) er sýnd í 1. töflu. Heildarfjöldi samsæta í öllum genasætunum er 73. Meðaltal fjölda samsæta allra genasæta er 8,11 en dreifnin er töluverð með minnst tvær samsætur í einu genasæti (GUJ0044) og mest 16 samsætur í einu sæti (LEI234).

Breytileiki samsæta er mismikill milli sæta. Minnstur breytileiki er í sæti GUJ0044 þar sem tíðni algengustu samsætu er 0,96. Hins vegar er hæsta tíðni algengustu samsætu í sæti LEI234 ekki nema 0,23. Breytileiki þessara sæta gefa okkur þar af leiðandi mismiklar upplýsingar, en PIC gildin sýna það. Þar sem breytileikinn er minnstur fást minnstar upplýsingar úr genasætinu (erfðamarkinu). Genasætið GUJ0044 er með lægst PIC gildi (0,067) og GUJ0070 er með PIC rétt neðan við 0,5 (0,422). Öll hin sætin hafa PIC gildi hærra en 0,5. Séð arfblandni (Ho) var alla jafna lægri en væntanleg arfblandni (He).

1. tafla. Samantekt fjölbreytni samsæta allra greindra sýna.

Erfðamark	h. tíðni sams.	fj. arfgerða	fj. sýna	fj.sams.	He	Ho	PIC	f
GUJ0044	0,96	3	197	2	0,069	0,041	0,067	0,410
GUJ0070	0,51	7	197	4	0,531	0,466	0,422	0,124
GUJ0097	0,55	7	197	4	0,577	0,466	0,501	0,194
LEI192	0,63	24	197	10	0,576	0,513	0,553	0,112
LEI234	0,23	55	197	16	0,869	0,787	0,856	0,097
LEI94	0,51	29	197	12	0,662	0,563	0,620	0,151
MCW183	0,36	19	197	6	0,754	0,594	0,716	0,215
MCW295	0,42	21	197	7	0,748	0,628	0,718	0,163
MCW34	0,33	28	197	12	0,781	0,651	0,752	0,170
meðaltal	0,50	21,4	197	8,11	0,62	0,52	0,58	0,16

Við skoðun á íslenska stofninum eingöngu sést að meðaltal hæstu tíðni samsæta er 0,51 með dreifni frá 0,25 til 0,99. Heildarfjöldi samsæta er 65 og meðalfjöldi samsæta í genasæti er 7,22. PIC stuðullinn er svipaður og þegar allir stofnarnir voru greindir nema gildin fyrir GUJ0097 og LEI192 eru einnig rétt fyrir neðan 0,5. Séð arfblendni er alltaf lægri en væntanleg, nema fyrir GUJ0040. Meðalskyldleikaræktarstuðull í stofninum er 0,125.

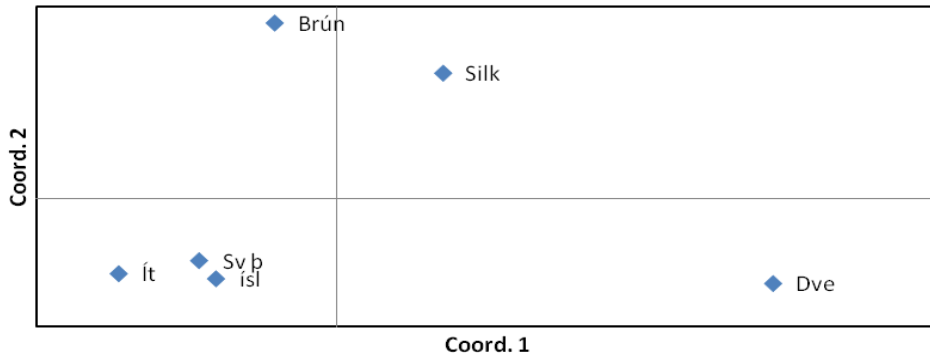
**2. tafla.** Samantekt fjölbreytni samsæta í stofni íslensku hænunnar

Erfðamark	h. tíðni sams.	fj. arfgerða	fj. Sýna	fj.sams.	He	Ho	PIC	f
<b>GUJ0044</b>	0,99	2	171	2	0,029	0,029	0,029	-0,012
<b>GUJ0070</b>	0,49	7	171	4	0,531	0,488	0,422	0,084
<b>GUJ0097</b>	0,57	7	171	4	0,566	0,494	0,491	0,130
<b>LEI192</b>	0,67	16	171	7	0,517	0,491	0,489	0,054
<b>LEI234</b>	0,25	46	171	14	0,856	0,784	0,841	0,087
<b>LEI94</b>	0,54	23	171	11	0,622	0,550	0,571	0,119
<b>MCW183</b>	0,39	18	171	6	0,741	0,620	0,701	0,166
<b>MCW295</b>	0,38	20	171	7	0,766	0,655	0,735	0,148
<b>MCW34</b>	0,33	23	171	10	0,771	0,631	0,739	0,185
<b>meðaltal</b>	0,51	18	171	7,22	0,60	0,53	0,56	0,125

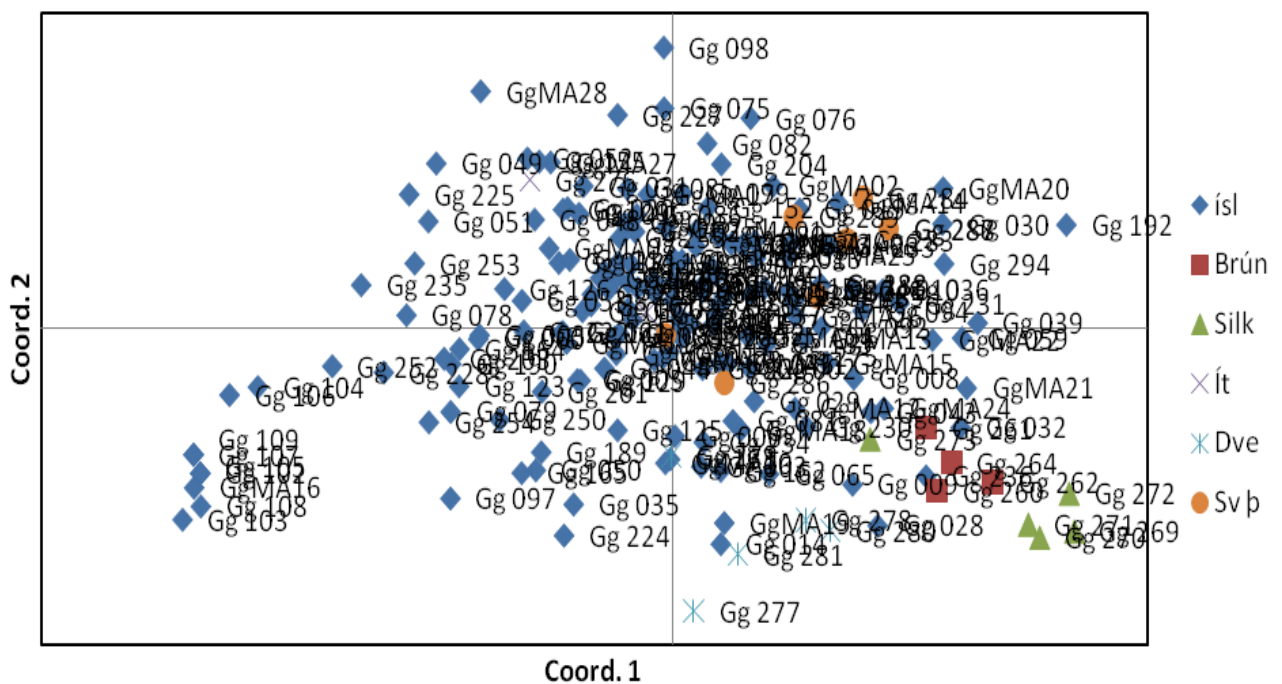
### 3.2. Bygging stofnsins

Hardy Weinberg próf fyrir íslenska stofninn leiðir í ljós að öll erfðamörk sýna marktæk frávik frá jafnvæginu ( $p < 0,005$ ).

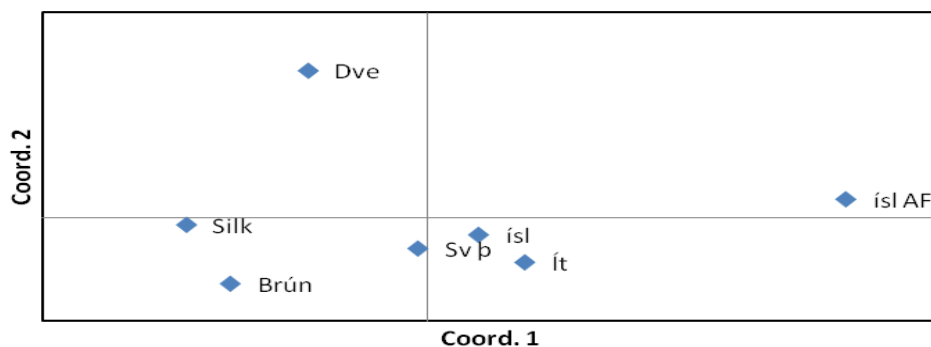
PCA greining á erfðafjarlægð stofnanna sýnir að íslenski stofninn hópast saman með svörtu þýsku hænunum og þeim ítölsku. Dverghæurnar, silkihæurnar og þær brúnu eru fjær (1. mynd). Ef hins vegar gerð er samskonar greining á erfðafjarlægð allra einstaklinga allra stofnanna sést ekki jafn greinilegur munur. Silkihæurnar og brúnu hænurnar halda sig saman og dverghæurnar eru flestar þar nálægt. Hins vegar eru þær íslensku í nánd við lang flesta einstaklinga hinna stofnanna (sjá 2. mynd). Nokkrir einstaklingar skera sig úr hópi þeirra íslensku. Það eru Gg102, Gg103, Gg105, Gg107, Gg108, Gg109 og GgMA16. Þegar þessir einstaklingar eru skoðaðir kemur í ljós að allir nema GgMA16 koma frá Andrésí Þór Fillipussyni á Seyðisfirði. Því var prófað að taka þessa einstaklinga og merkja sem sér stofn, hann verður hér eftir kallaður íslenskar AF. PCA greining á erfðafjarlægð stofnanna sýnir að þeir einstaklingar eru töluvert langt frá hinum íslensku og í raun fjær þeim en hinir stofnarnir (sjá 3. mynd).



1. mynd. PCA greining á erfðafjarlægð milli stofnanna. Fjarlægð á x-ás (Coord.1) skýrir 39,6% breytileika og y-ás (Coord. 2) 34,1%, samtals 73,7%.

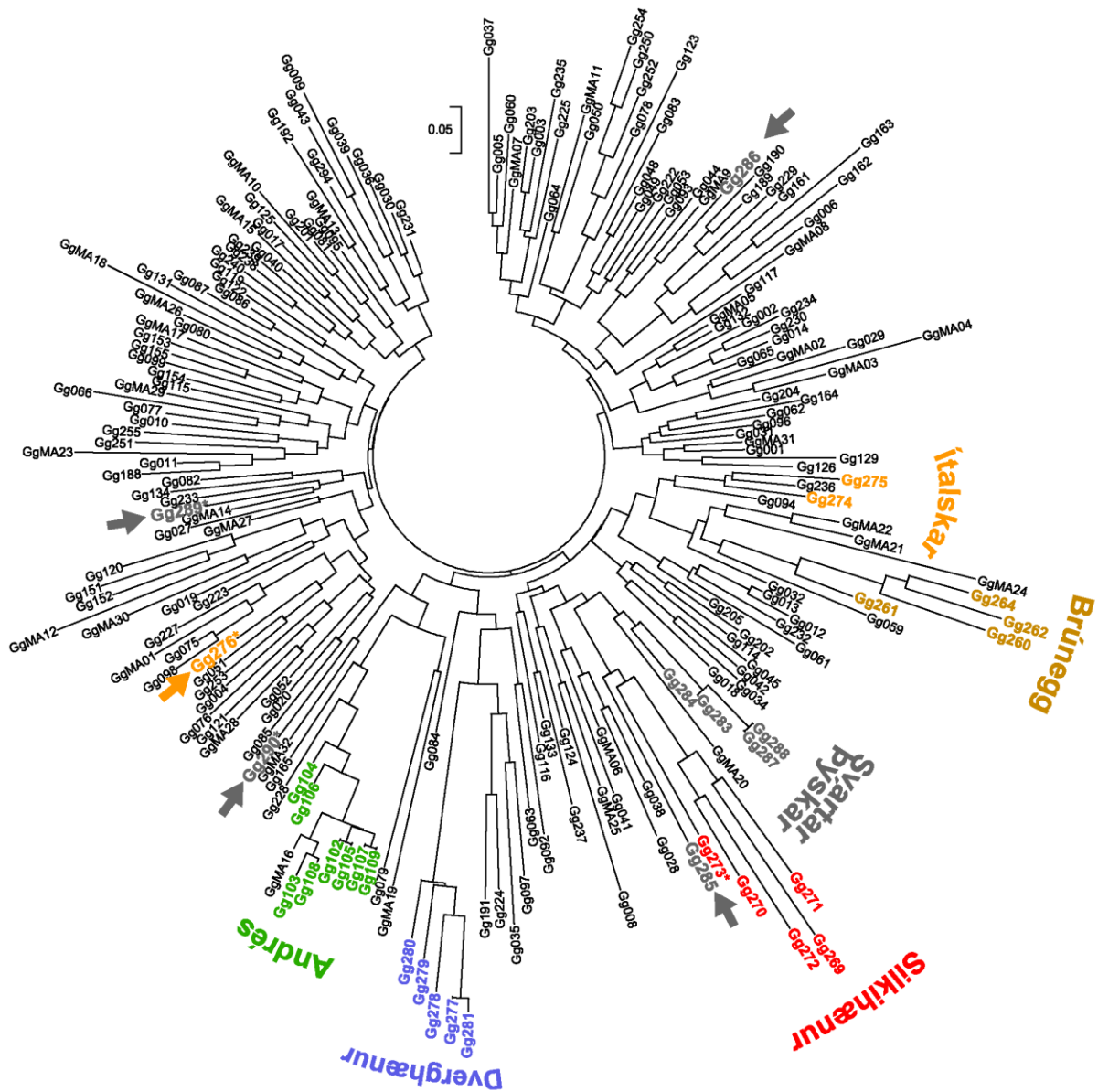


2. mynd. PCA greining á erfðafjarlægð einstaklinga. Stofnar eru aðgreindir með lit. Fjarlægð á x-ás skýrir hér 24,5% breytileika og y-ás 19,4%, samtals 43,9%.



3. mynd. PCA greining á erfðafjarlægð milli stofna þegar hænsn Andrésar Filippussonar hafa verið aðgreind sem stofn ísl AF. Fjarlægð á x-ás skýrir 41,6% breytileika og y-ás 25,8%, samtals 67,4%.

Teikning af skyldleikatré einstaklinga út frá tíðni samsæta styrkir þá ályktun að hænur Andrésar séu undirstofn en þær eru aðgreindar frá hinum íslensku hænunum. Á sömu teikningu sést að dverghænur, silkihænur og brúnegg-hænur eru óskyldar þeim íslensku en greinarnar sem þær sitja á eru langar sem þýðir að þær eru þróunarlega óskyldar öðrum einstaklingum trésins (Baldauf, 2003).



4. mynd. Skyldleikatré (NJ) reiknað út frá aðferð Nei1983.

AMOVA próf leiddi í ljós að 72% breytileikans er innan stofna en 28% á milli stofna.

Virk stofnstærð er metin sem 36,2 einstaklingar (öryggisbil  $\pm 28,6$  einstaklingar) miðað við að lægsta tíðni samsætu sé 0,05.

### **3.3. Mögnun hvatbera DNA**

Úr mögnun D-lykkju og rafdrægni á þeim 10 sýnum sem skoðuð voru fengust engar niðurstöður í fyrstu tilrauninni. Í annari tilraun var unnið með þrjú sýni en aftur fengust engar niðurstöður. PCR mögnunin hefur mistekist því engin bönd voru sjáanlega á gelinu eftir að sýnin voru rafdremin. Í þriðju tilraun fengust engar niðurstöður úr öðrum hluta mögnunarinnar (sýni GMA03-05) en mynd af gelinu má sjá í viðauka (6. mynd). Dauf bönd sáust hins vegar úr mögnun sýnis Gg040 með vísapari F3-R4. Mynd af gelinu má sjá í viðauka (7. mynd).

## 4. Umræða

### 4.1. Erfðafjölbreytileiki í stofni íslensku landnámshæunnar

Niðurstöður þessarar rannsóknar benda til þess að töluverður erfðafjölbreytileiki sé til staðar í stofni íslensku landnámshæunnar. Væntanleg arfblendni upp á 0,6 að meðaltali er hærri en fékkst fyrir stofninn í samanburðarrannsókn frá árinu 2003 ( $H=0,48$ ) (Hillel et al., 2003). Í þeirri rannsókn var meðalfjöldi samsæta í genasæti 3,7 en hér eru þær heldur fleiri eða 7,2. Þessi rannsókn, sem er frá árinu 2003, skoðaði alls 52 stofna og bar þá saman. Mest fjölbreytni var í stofninum *Gallus gallus spadiceus* sem er villtur undirstofn rauðra frumskógarhænsna (*e. red jungle fowl*). Hann var með arfblendni 0,64, sem er ekki mikið herra en fæst hér fyrir landnámshæunna, og meðalfjöldi samsæta 5,2 (Hillel et al., 2003) sem er lægra en landnámshænan fær hér.

Samanburður á íslenska stofninum og þeim erlendu sem tekin voru sýni úr sýnir að íslenski stofninn hefur mestan erfðafjölbreytileika. Hann hefur mestan fjölda samsæta, hæsta arfblendni og lágan skyldleikaræktarstuðul (aðeins dverghæurnar höfðu lægri stuðul). Þó ber að hafa í huga að úrtak fyrir erlendu stofnana var lítið í öllum tilvikum og niðurstöðurnar því trúlega ekki lýsandi fyrir þá stofna.

Meðalskyldleikaræktarstuðull íslenska stofnsins út frá væntanlegri og séðri arfblendni er 0,125 fyrir öll erfðamörkin. Það er töluvert lægra en sést í mörgum framleiðslustofnum. Í alþjóðlegri rannsókn á erfðafjölbreytileika hænsnastofna fékkst skyldleikaræktarstuðull á bilinu 0,2-1,0 fyrir framleiðslustofna (Muir et al., 2008). Í sömu rannsókn var reiknað út möguleg skyldleikarækt ef öllum línun innan framleiðslufyrirtækja yrði blandað saman og fékkst hún þá niður í ca. 0,15. Ef öllum línun allra fyrirtækjanna yrði blandað saman gæti skyldleikaræktarstuðullinn lækkað niður í 0,1 (Muir et al., 2008). Samkvæmt þessu stendur íslenski stofninn töluvert betur en margir framleiðslustofnar hvað varðar skyldleikarækt.

Frávik stofns frá Hardy-Weinberg jafnvægi bendir til þess að eitthvað hafi áhrif á tíðni samsæta á milli kynslóða, t.d. val, innflutningur, stökkbreytingar, genaflæði eða ótilviljanakennd æxlun (Frankham et al., 2002; Margrét Guðrún Ásbjarnardóttir, 2008). Ef æxlun á milli skyldra einstaklinga verður af meiri hraða eða tíðni en við tilviljanakennda æxlun þá lækkar tíðni arfblendinna einstaklinga meira en vænst er samkvæmt Hardy-Weinberg jafnvægi. Óvenjuhá tíðni arfhreinna sæta getur þannig verið ástæða fyrir að stofn sýni frávik frá Hardy-Weinberg (Frankham et al., 2002). Önnur ástæða þess að stofn sýni



frávik frá jafnvæginu er ef líkum einstaklingum er æxlað saman en þá eykst tíðni arfhreinna einstaklinga einnig. Ef stofn er skiptur niður í undirstofna getur verið að stofninn allur sýni frávik vegna hefts genaflæðis milli undirstofna, þrátt fyrir að hver undirstofn sé í jafnvægi (Frankham et al., 2002). Möguleg ástæða þess að íslenski stofninn sýni frávik frá Hardy-Weinberg jafnvægi getur verið skyldleikarækt þar sem skyldleikaræktarstuðullinn er 0,125 og skyldleikarækt því til staðar eða ótilviljanakennd æxlun vegna hefts genaflæðis á milli landshluta.

## 4.2. Undirstofnar til staðar

Augljós munur íslensku AF hæsnanna og annara íslenskra hæсна er áhugaverður. Hann sýnir að innan stofnsins eru mögulega til undirstofnar sem eru ólíkir stofninum í heild. Þennan undirstofn ber að varðveita sérstaklega ef halda á erfðafjölbreytileika alls stofnsins við. Stofn íslenskra AF er samkvæmt Andrési kominn af hænunni Toppu frá Seyðisfirði og hana frá Vopnafirði sem talin voru hreinræktuð íslensk. Hann ræktaði stofninn upp af þessum einstaklingum upp úr árinu 1970 og átti því töluverðan stofn þegar Stefán Aðalsteinsson byrjaði að safna saman íslenskum hænum. Andrés sendi honum egg og nýklakta unga sem fóru í uppeldið á vegum Rannsóknarstofnun landbúnaðarins (Andrés Þ. Filippusson, á. á.). Stofninn ætti því að vera mjög tengdur íslenska stofninum. Sú skýring er möguleg á aðgreiningunni að stofn Andrésar sé lokaður og einsleitari en íslenski stofninn í heild sem hugsanlega er kominn af fleiri einstaklingum og jafnframt mögulega blandaður öðrum kynjum fyrir margt löngu.

Samkvæmt Rosenberg og félögum (2001) er greining á erfðafni eingöngu án allra utanaðkomandi upplýsinga sú leið sem gefur áreiðanlegust svör um byggingu stofns. Landfræðileg skörun og lík svipgerð getur dulið undirliggjandi erfðafjölbreytileika en það gerist ekki þegar eingöngu erfðafni er skoðað. Aðeins ef þekkt eru tengsl milli erfðafræðilegar og landfræðilegar eða svipgerðar flokkunar er hægt að nota þær upplýsingar í bland við arfgerðargreiningar.

## 4.3. Hreinræktaðir einstaklingar og blendingar

Á skyldleikatrénu sjást dverghæsnastofninn, silkihæsnastofninn og brúnhæsnastofninn aðskilja sig greinilega frá þeim íslenska. Þær ítölsku og svörtu þýsku eru hins vegar flestar inni á milli þeirra íslensku og aðeins nokkrar svartar þýskar skilja sig frá. Ástæða þessa er líklega sú að ítalski stofninn er í raun aðeins þrjár einstaklingar og þar af einn sem vitað er að

er blendingur (ítölsk íslensk). Hinir tveir einstaklingarnir eru líklega einnig blandaðir þar sem þeir tynast innan um íslenska einstaklinga og brúna. Þær svörtu þýsku voru samkvæmt eiganda þeirra blandaðar íslenska stofninum en voru síðan valdar eftir svipgerð til að hreinrækta aftur svartar þýskar. Þeir einstaklingar sem taldir eru svartir þýskir núna eru því blandaðir íslenska stofninum, enda sést það á myndinni þar sem þeir flækjast flestir innan um þær íslensku.

Hafa ber í huga að erfitt er að vita hvort íslenski hæsnastofninn sé í raun kominn af hæsnnum sem búrast hingað með landnámsmönnum. Ekki er auðvelt að vita hvort fluttir hafi verið inn fleiri stofnar hæсна en þeir sem þekkt er að til eru hérlendis í dag. Mögulega gætu fleiri stofnar hafa blandast við íslensku hænuna fyrir söfnunina 1974-75 eða eftir. Erlendu stofnarnir sem bornir eru saman við þann íslenska í þessari rannsókn skera sig þó úr svo hvort sem íslenska landnámsþænan er hreinræktaður stofn upprunalegra hæсна eða ekki, þá er hún núna sérstakur íslenskur stofn sem ber að varðveita. Mögulegt væri að skoða form og gerð hæsnabeina íslenska stofnsins með samanburð af erlendum stofnum (Vandenberge & Storer, 1995) og mögulega skoða eldri bein af þeim hænnum sem voru hér við landnám til þess að komast að uppruna stofnsins en forn-DNA úr hæsnabeinum hefur verið notað til að tímasetja mögulega komu hæсна til Ameríku og hvaðan þau komu (Storey et al., 2007).

#### **4.4. Virk stofnstærð og framhaldslíf stofns**

Virk stofnstærð ( $N_e$ ) íslenska stofnsins er lítil, eða 36,2, en til samanburðar er hún á bilinu 70-3000 fyrir ýmsa aðra staðbundna stofna í Evrópu (Spalona et al., 2007). Meðal virk stofnstærð til langs tíma er 1/10 af raunverulegri stofnstærð. Tegundir í útrýmingarhættu sem hafa litla stofnstærð og  $N_e$  aðeins 10% af henni tapa helming núverandi arfblendni sinni á 34 kynslóðum (Frankham et al., 2002). Það sem hefur mest áhrif á hlutfall  $N_e$  af raunverulegri stofnstærð er óstöðugleiki í stofnstærð og dreifni fjölskyldustærða. Ójafnt kynjahlutfall minnkar  $N_e$  og fylgir fjölda þess kyns sem hefur færri einstaklinga sem æxlast (Frankham et al., 2002). Eins og fram hefur komið er talið að virk stofnstærð þurfi að vera á bilinu 50-100 dýr svo stofn sé lífvænlegur. Hins vegar eru til undantekningar þar sem mun minni stofnar haldast við. Dæmi er kúakynið Chillingham sem lifir í einangrun í Norður Englandi en virk stærð stofnsins er aðeins 8 einstaklingar. Í rannsókn sem gerð var á stofninum árið 2001 kom í ljós að stofninn var arfhreinn í 24 af 25 genasætum sem skoðuð voru. Talið er að ástæða þess að stofninn lifir áfram sé sú að banagen hafi eyðst úr stofninum (Visscher, Smith, Hall, & Williams, 2001). Einstaka stofnar með litla virka stofnstærð geta því lifað en engu að síður er

talið betra að stuðla að stærri virkri stofnstærð til að viðhalda stofnum til langs tíma (Birna Kristín Baldursdóttir, 2010).

Ljóst er því að fylgjast þarf með stofnstærð íslensku hænunnar og reyna að stuðla að því að hún fari ekki minnkandi. Eins þarf að huga að skyldleikarækt innan stofnsins og hvetja eigendur til að lágmarka paranir skyldra einstaklinga svo virk stofnstærð minnki ekki frekar.

#### **4.5. Mögulegt framhald**

Þessi rannsókn er að nokkru leiti ólík fyrri rannsóknum á íslenska hæsnastofninum. Í rannsókn Hillel og féлага (2003) voru aðeins tekin sýni úr 50 einstaklingum stofnsins og í rannsókn Rosenbergs (2001) úr 30 einstaklingum. Þær rannsóknir miðuðu enda að samanburði við aðra stofna. Hér voru hins vegar skoðaðir mun fleiri einstaklingar af íslenska stofninum svo betri mynd fæst af stofninum í heild. Hinar rannsóknirnar hafa takmarkað gildi fyrir stofninn því niðurstöðurnar takmarkast af því af hvaða einstaklingum sýni voru tekin. Ekki er öruggt að sýni hafi verið tekin alls staðar af landinu og miðað við breytileikann sem hefur fundist í þessari rannsókn er ekki víst að þær niðurstöður hafi verið lýsandi fyrir stofninn. Niðurstöður þessarar rannsóknar ættu því að nýtast betur til að viðhalda stofninum og geta ræktendur notað þær til þess að bera einstaklinga við og velja til ræktunar þá sem eru óskyldir erlendu stofnunum.

Helstu gallarnir við þessa rannsókn eru hversu fáir einstaklingar eru í erlendu samanburðarhópunum. Þeir eru ekki lýsandi fyrir þá stofna og geta auðveldlega verið blandaðir íslensku hæsnunum. Ítölsku og svörtu þýsku hæsnin eru til dæmis mjög nálægt þeim íslensku og flækjast inn á milli þeirra í skyldleikatrénu. Næsta skref í rannsóknum á stofninum væri því að safna fleiri sýnum úr erlendu stofnunum til þess að fá betri samanburð.

Annað sem hægt væri að gera er að halda áfram rannsókn á D-lykkju til þess að komast að líkindum og skyldleika við erlenda stofna. Í þessari rannsókn fengust dauf bönd úr einu sýni við notkun eins vísapars. Næstu skref eru að halda áfram vinnu við mögnun D-lykkju til þess að fá skýrari bönd eftir rafdrægni. Þá er hægt að raðgreina erfðaefnið og bera það saman við gögn erlendra stofna.

## 5. Ályktanir

Stofn íslensku landnámsæðunnar virðist standa þökkalega hvað erfðafjölbreytileika varðar. Eldri alþjóðleg rannsókn þar sem íslenski stofninn var borinn saman við 52 aðra stofna (Hillel et al., 2003) sýndi lakari niðurstöður þar sem íslenski stofninn var lítið breytilegur miðað við aðra. Líklegt er að rannsóknin sem hér er fjallað um sé meira lýsandi fyrir íslenska stofninn þar sem hún tekur til fleiri einstaklinga svo stofninn stendur betur en fram kom hjá Hillel. Virk stærð stofnsins er lítil og huga þarf að því að hún minnki ekki ef stofninn á að viðhalda í lengri tíma.

Við samanburð stofnanna sást að svörtu þýsku hænsnin og ítölsku hænsnin eru að öllum líkindum blönduð við íslenska stofninn. Hinir stofarnir eru ólíkari þeim íslenska og hægt er að aðgreina þá. Eins virðast vera til staðar undirstofnar í stofni íslensku landnámsæðunnar líkt og sást í tilfelli hænsna Andrésar. Til þess að greina alla undirstofna sem til eru gæti hins vegar þurft að safna enn fleiri sýnum frá þeim bæjum landsins sem halda íslenskar hænur.

Skoða þarf betur samanburð íslenska stofnsins við erlenda framleiðslustofna en niðurstöður þessarar rannsóknar styrkja ályktanir um sérstöðu stofnsins miðað við þá. Frekari samanburður gæti rennt enn sterkari stöðum undir nauðsyn þess að viðhalda stofninum sem mikilvægri erfðalind hæsnastofna.

## 6. Heimildaskrá

- Andrés Þ. Filippusson (á. á.). Gamla íslenska hænsnakynið. Skoðað 28. mars, 2011, á <http://www.simnet.is/andres/haenur.htm>
- Baldauf, S. L. (2003). Phylogeny for the faint of heart: a tutorial. *Trends in Genetics: TIG*, 19(6), 345-351.
- Birna Kristín Baldursdóttir (2010). *Genetic variation within the Icelandic goat breed: assessment using population data and DNA analysis*. MS ritgerð, Landbúnaðarháskóli Íslands.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnik, M. & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics*, 32, 314-331.
- Brown, D., Brenneman, R., Koepfli, K.-P., Pollinger, J., Mila, B., Georgiadis, N., Louis, E., et al. (2007). Extensive population genetic structure in the giraffe. *BMC Biology*, 5(1), 57.
- Eigenda- og ræktendafélag landnámshænsna (á. á.). Skoðað 26. mars 2011 á [www.haena.is](http://www.haena.is)
- Erfðanefnd landbúnaðarins (2009). *Íslenskar erfðaaauðlindir. Landsáætlun um verndun erfðaaauðlinda í íslenskri náttúru og landbúnaði 2009-2013*. Erfðanefnd landbúnaðarins.
- Erfðanefnd landbúnaðarins (á. á.). *Greining á erfðabreytileika íslensku landnámshænnar, Lokaskýrsla*. Skoðað 14. mars 2011 á <http://yndisgrodur.lbhi.is/lisalib/getfile.aspx?itemid=1995>
- Food and agriculture organization of the United Nations (á. á.). Skoðað 30. mars 2011 á <http://www.fao.org/>
- Frankel, O. H. & Soulé, M. E. (1981). *Conservation and evolution*. CUP Archive.
- Frankham, R., Ballou, J. D. & Briscoe, D. A. (2002). *Introduction to Conservation Genetics* (1st ed.). Cambridge University Press.
- Hillel, J., Groenen, M. A. M., Tixier-Boichard, M., Korol, A. B., David, L., Kirzhner, V. M., Burke, T., et al. (2003). Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics, Selection, Evolution: GSE*, 35(5), 533-557.

- Jia, S., Chen, H., Zhang, G., Wang, Z., Lei, C., Yao, R., & Han, X. (2007). Genetic variation of mitochondrial D-loop region and evolution analysis in some chinese cattle breeds. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(6), 510-518.
- Liu, K., & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9), 2128 -2129.
- Liu, R.-Y., Yang, G.-S., & Lei, C.-Z. (2006). The genetic diversity of mtDNA D-loop and the origin of chinese goats. *Acta Genetica Sinica*, 33(5), 420-428.
- Maki-Tanila, A. (2007). An overview on quantitative and genomic tools for utilising dominance genetic variation in improving animal production. *Agricultural And Food Science*, 16(2), 188-198.
- Margrét Guðrún Ásbjarnardóttir (2008). *Genetic variation within the Icelandic cattle breed*. MS ritgerð, Landbúnaðarháskóli Íslands.
- Meuwissen, T. (2009). Genetic management of small populations: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 59(2), 71.
- Muir, W. M., Wong, G. K.-S., Zhang, Y., Wang, J., Groenen, M. A. M., Crooijmans, R. P. M. A., Megens, H.-J., et al. (2008). Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(45), 17312 -17317.
- Nei, M., Tajima, F., & Tateno, Y. (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*. 19(2), 153-170.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295.
- Peng, Z., Xie, C., Wan, Q., Zhang, L., Li, W., & Wu, S. (2011). Sequence variations of mitochondrial DNA D-loop region are associated with familial nasopharyngeal carcinoma. *Mitochondrion*, 11(2), 327-333.
- Rannsóknastofnun landbúnaðarins (1998). *Fjölrit RALA nr. 194 Rannsóknastofnun landbúnaðarsins 1996 - 1997*. Rannsóknastofnun landbúnaðarins.
- Rosenberg, N. A., Burke, T., Elo, K., Feldman, M. W., Freidlin, P. J., Groenen, M. A. M., Hillel, J., et al. (2001). Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics*, 159(2), 699-713.

- Sawai, H., Kim, H. L., Kuno, K., Suzuki, S., Gotoh, H., Takada, M., Takahata, N., et al. (2010). The origin and genetic variation of domestic chickens with special reference to junglefowls *Gallus g. gallus* and *G. varius*. *PLoS One*, 5(5), e10639.
- Spalona, A., Ranvig, H., Cywa-Benko, K., Zanon, A., Sabbioni, A., Szalay, I., Benkova, J., et al. (2007). Population size in conservation of local chicken breeds in chosen European countries. *Archiv Fur Geflugelkunde*, 71(2), 49-55.
- Stefán Aðalsteinsson (2004). Sérstaða íslenskra húsdýra. *Freyr* 100(5). 15-28.
- Storey, A. A., Ramírez, J. M., Quiroz, D., Burley, D. V., Addison, D. J., Walter, R., Anderson, A. J., et al. (2007). Radiocarbon and DNA evidence for a pre-Columbian introduction of Polynesian chickens to Chile. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(25), 10335-10339.
- Taberlet, P., Valentini, A., Rezaei, H. R., Naderi, S., Pompanon, F., Negrini, R., & Ajmone-Marsan, P. (2008). Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology*, 17(1), 275-284.
- Takezaki, N., & Nei, M. (1996). Genetic Distances and Reconstruction of Phylogenetic Trees From Microsatellite DNA. *Genetics*, 144(1), 389-399.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (In press).
- Vandenberge, J. C., & Storer, R. W. (1995). Intratendinous ossification in birds - a review. *Journal of morphology*, 226(1), 47-77.
- Visscher, P. M., Smith, D., Hall, S. J., & Williams, J. L. (2001). A viable herd of genetically uniform cattle. *Nature*, 409(6818), 303.
- Waples, R. S., & Do, C. (2008). Ldne: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, 8(4), 753-756.
- Wong, G. K.-S., Liu, B., Wang, J., Zhang, Y., Yang, X., Zhang, Z., Meng, Q., et al. (2004). A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms. *Nature*, 432(7018), 717-722.

## 7. Töfluskrá

1. tafla. Bls. 12. *Samantekt fjölbreytni samsæta allra greindra sýna.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

2. tafla. Bls. 13. *Samantekt fjölbreytni samsæta í stofni íslensku hænunnar.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

## 8. Myndaskrá

1. mynd. Bls. 14. *PCA greining á erfðafjarlægð milli stofnanna. Fjarlægð á x-ás (Coord.1) skýrir 39,6% breytileika og y-ás (Coord. 2) 34,1%, samtals 73,7%.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

2. mynd. Bls. 14. *PCA greining á erfðafjarlægð einstaklinga. Stofnar eru aðgreindir með lit. Fjarlægð á x-ás skýrir hér 24,5% breytileika og y-ás 19,4%, samtals 43,9%.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

3. mynd Bls. 14. *PCA greining á erfðafjarlægð milli stofna þegar hænsn Andrésar Filippussonar hafa verið aðgreind sem stofn ísl AF. Fjarlægð á x-ás skýrir 41,6% breytileika og y-ás 25,8%, samtals 67,4%.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

4. mynd. Bls. 15. *Skuldleikatré (NJ) reiknað út frá aðferð Nei1983.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.

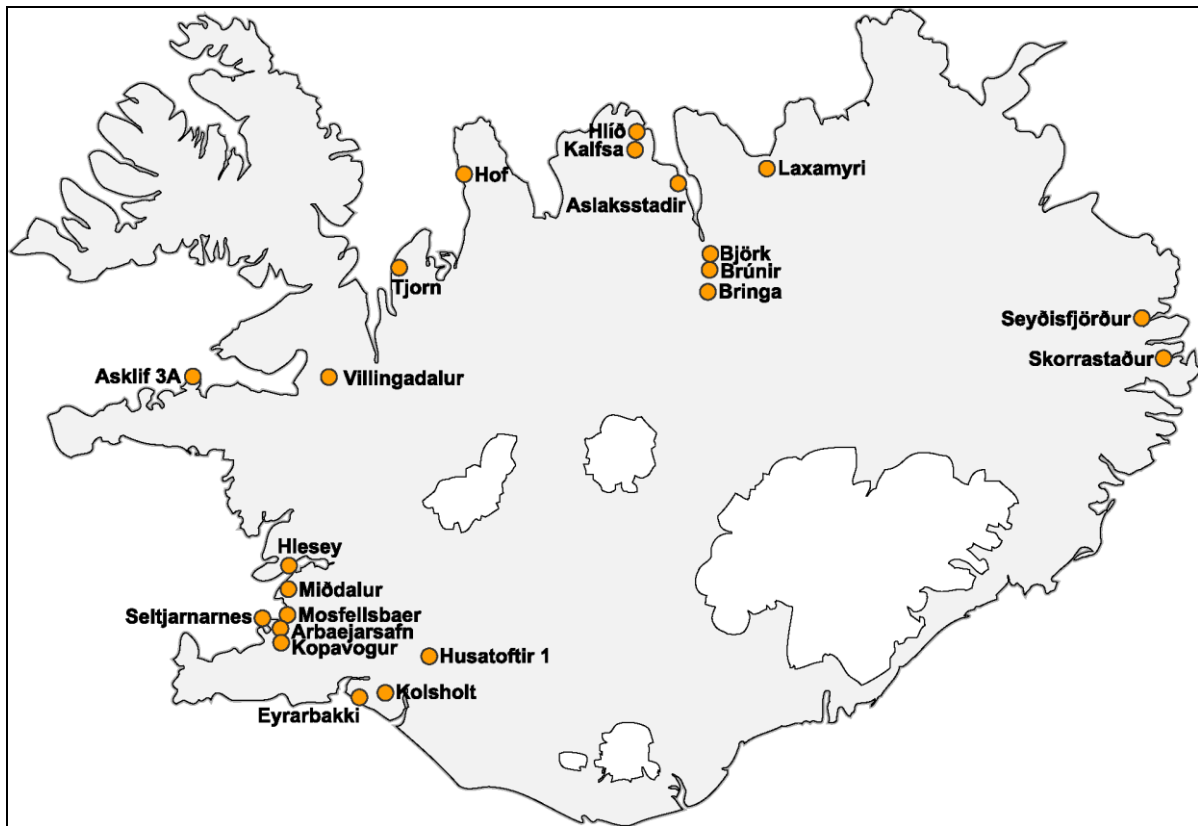
5. mynd. Bls. 26. *Sýnatökustaðir.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir

5. mynd. *Sýni GMA03, GMA04 og GMA05 rafdreigin á geli eftir PCR mögnun. Engin bönd sjást.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir

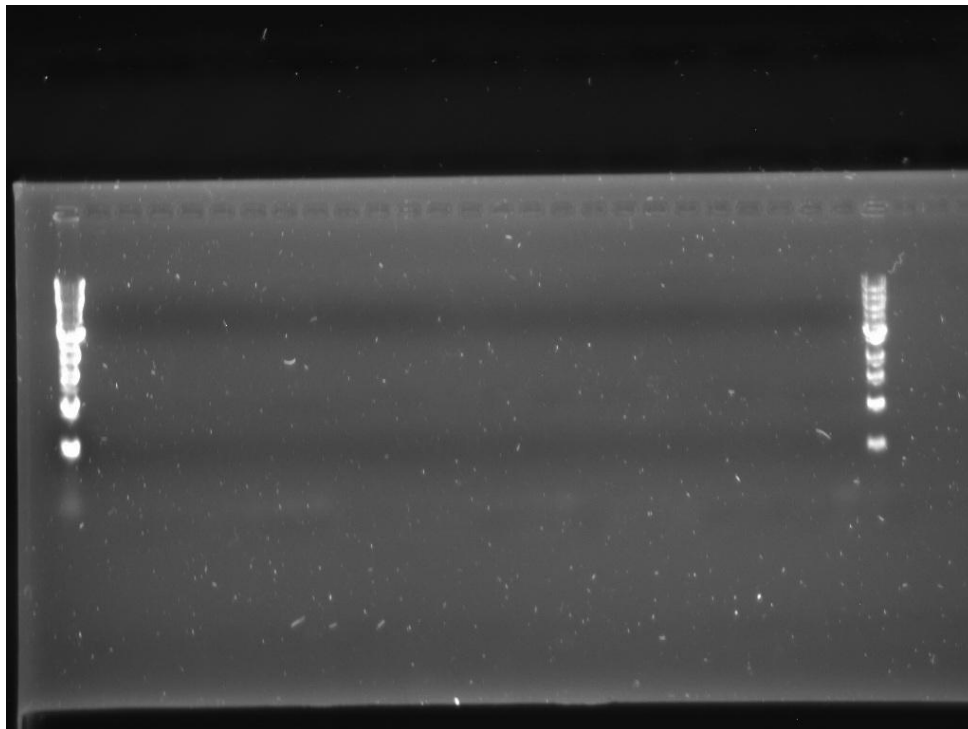
7. mynd. *Sýni GMA03, GMA04 og GMA05 rafdreigin á geli eftir PCR mögnun. Hér sjást bönd á PCR afurð sýnis GMA03 magnað með vísapari F3-R4.* Ólöf Ósk Guðmundsdóttir.



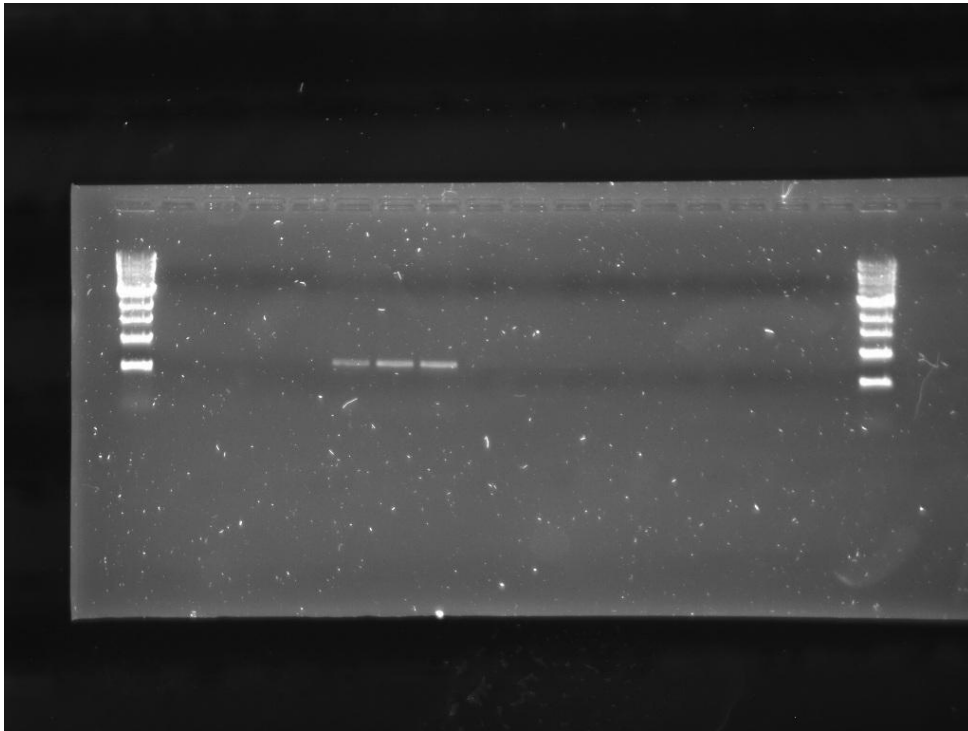
## 9. Viðaukar



6. mynd. Sýnatökustaðir



7. mynd. Sýni GMA03, GMA04 og GMA05 rafdregin á geli eftir PCR mögnun. Engin bönd sjást.



**8. mynd.** Sýni Gg040 og Gg041 rafdrengin á geli eftir PCR mögnun. Hér sjást bönd á PCR afurð sýnis Gg040 magnað með vísapari F3-R4.