

ERÄLUVAT.FI

Ihopyyhkäisymenetelmän soveltuvuus nahkalohen eli saimaannieriän DNA-näytteenottoon

Raisa Nikula, Metsähallitus Eräpalvelut
Tuomas Leinonen, Luonnonvarakeskus

Kansalliset kalatutkimuspäivät
10.4.2024 Jyväskylä

 METSÄHALLITUS
FORSTSTYRELSEN
MEAH CIRÁÐÐEHUS

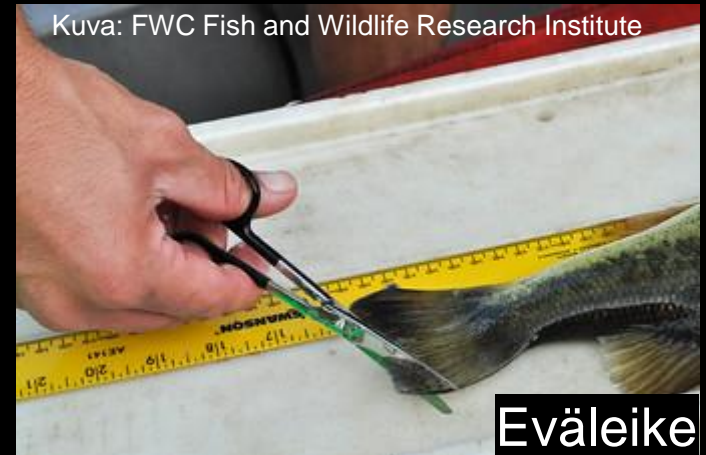
 Luke
LUONNONVARAKESKUS



Perimätutkimuksia varten otetaan usein kudokset elävistä luonnonkaloista.

Mitä uhanalaisempi kalakanta, sitä suurempi tarve perimätutkimuksiin.

**Kuinka ottaa kudospöytä
DNA:n saamiseksi
kalaa mahdollisimman vähän
vahingoittaen?**





Äärimmäisen uhanalainen Vuoksen vesistön nieriä

- Luontainen lisääntyminen elpymässä?
- Säilytysviljelyssä Luken Ohtaojan ja Enonkosken laitoksissa, laitosemokalaston uudistaminen tarpeen
- Kutupyynä järjestetään Pro Saimaannieriä –hankkeen osana 2023-25
- Lypsettävien kalojen perimä on tutkittava, ja tarvetta on ajantasaiselle tiedolle luonnossa lisääntyvien kantojen monimuotoisuuden tasosta laajemminkin

<https://nc3rs.org.uk/skin-swabbing-dna-sampling-zebrafish>



Tilley CA *et al.* (2020). Skin swabbing is a refined technique to collect DNA from model fish species. *Scientific Reports* 10(1): 1-17. doi: 10.1038/s41598-020-

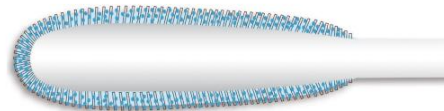


Kuva: Tapio Gustafsson
Kalatalouden Keskusliitto

Seeprakala, kolmipiikki ja... saimaannieriä?

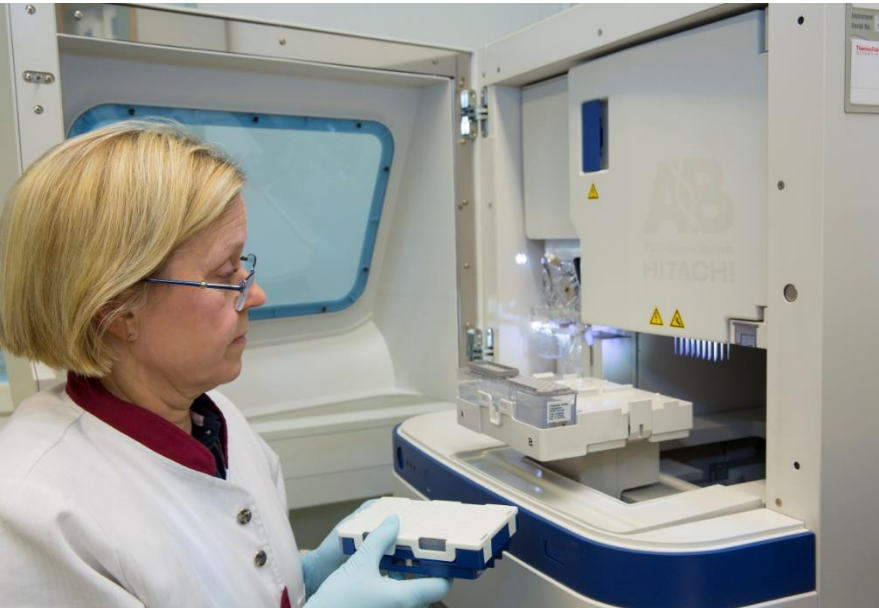
- Ihopyyhkäisymenetelmä on validoitu DNA-näytteenottomenetelmänä seeprakalalla 2020, käytössä myös kolmipiikillä
- Ihopyyhkäisynäytteet talteen Yövedellä ja Luonterilla 23.10.-14.11.2023 lypsetyistä kymmenestä emosta
- Vertailu eväleikkeisiin perimätutkimuksen materiaalina

4N6FLOQSwabs





1. DNA:n eristäminen molemmista näytetyypeistä 10 kalayksilöstä (Dneasy Blood & Tissue Kit)
2. DNA-pitoisuuksien mittaus eristysliuoksista



3. 15 *Salvelinus*-spesifin, muuntelevan mikrosatelliittilokuksen PCR-monistus
4. Genotyyppien luenta



Tulokset

Ihopyyhkäisynäytteistä saatu DNA-pitoisuus oli keskimäärin 40 % eväleike-eristysten pitoisuudesta.

DNA:n saannot eristeliuoksissa

- pyyhkäisyistä 0,3–13,6 ng/ μ l
- eväleikkeistä 10,8-48,0 ng/ μ l
- Nieriäspesifi mikrosatelliitti-PCR toimi ihopyyhkäisynäytteistä, heikointa pitoisuutta lukuun ottamatta. Iholta siis tarttui tikkuun kalan omiakin soluja.



Johtopäätös ja jatkoa

- Ihopyyhkäisymenetelmä toimii hyvin nieriän kudoksenäytteenotossa DNA-tutkimustarkoituksiin
- Voitaisiin ottaa käyttöön näytteiden keräämisessä kalastuksen sivusaaliiksi joutuneista nieriöistä ennen niiden vapauttamista.
- Toimivuutta *taimenella* kokeillaan Metsähallituksen Kostonjoen velvoitetarkkailuohjelman toimeenpanon yhteydessä tulevana kesänä. Säästetään jokipoikasia suomujen raaputtelulta.



Miksi käyttää ihopyyhkäisyä, jos vanhatkin konstit toimivat?

- Lainsäädännön vaatimukset eväleikkeen ottamiselle ja ottajille
- Soveltuu myös kansalaistiedetyyppiseen käyttöön, kalaa ei ole tarpeen nukuttaa
- Parantamisen 3R-periaate koeläintoiminnassa

Kuva: Tapio Gustafsson
Kalatalouden Keskusliitto

EU-direktiivi 2010/63

Laki 497/2013
tieteellisiin tai
opetustarkoituksiin
käytettävien eläinten
suojelusta

VnAs 1165/2023
eläimille tehtävistä
toimenpiteistä ja
keinollisen lisäämisen
menetelmistä

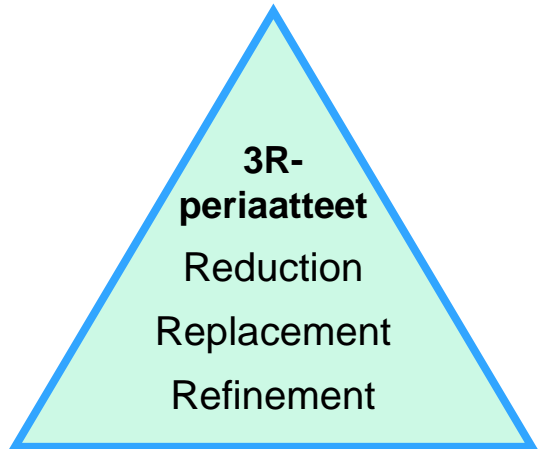


Jos eväleikkauksen pääasiallinen tarkoitus ei ole kalan tunnistusmerkitseminen ja on kyse tutkimuksesta, leikkaaminen edellyttää **hankelupaa**.

Merkintäleikkauksessa irrotetun eväkudospalan saa ottaa talteen ja hyödyntää DNA-tutkimukseen ilman hankelupaa.

Suomunäytteenottoakin saattaa aiheuttaa neulanpistoon verrattavissa olevaa kipua, tuskaa, kärsimystä tai pysyvä haittaa → hankeluvan tarve

Lainsäädäntö edellyttää, että tieteellisiin tai opetustarkoituksiin käytettäville eläimille aiheutetaan mahdollisimman vähän kipua, tuskaa, kärsimystä tai pysyvää haittaa.



Parantaminen Refinement

Eläinten toimenpiteissä käytettävien menetelmien parantaminen siten, että eläimille mahdollisesti aiheutuva kipu, tuska, kärsimys tai pysyvä haitta vältetään tai se saadaan mahdollisimman vähäiseksi.

Pro Saimaannieriä –hanke kiittää mielenkiinnostanne!

Hanketta rahoittavat

Maa- ja metsätalousministeriö, Pohjois-Savon ELY-keskus,
Nestorisäätiö, Varsinais-Suomen ELY-keskus, Metsä Group,
Maailman Luonnonsäätiö WWF, Pro Kuolimo ry

Kutupyynnin vesialueillaan sallivat

Yöveden osakaskunta, Luonterin osakaskunta, Pitkälahden
osakaskunta

Hanketta tukee

Saimaannieriän seurantaryhmä 2023-2027, pj Teemu Hentinen