

**TARTU ÜLIKOOL**  
**ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT**  
**ZOOLOOGIA OSAKOND**  
**TERIOLOOGIA ÕPPETOOL**

Sandra Poks

**Y-KROMOSOOM KUI GENEETILINE MARKER JA ISALIINI  
ROLL EVOLUTSIOONIPROTSSESSIDES**

Bakalaureusetöö

Juhendajad:

MSc Peeter Anijalg

PhD Urmas Saarma

Tartu 2015

# Sisukord

1. Sissejuhatus.....	3
2. Geneetiline marker.....	5
2.1. Mis on ja milleks kasutatakse? .....	5
2.2. Markerite väljakujunemine ja ajalugu.....	6
2.3. Erinevad geneetilised markerid ja tehnikad nende varieeruvuse mõõtmiseks.....	7
2.3.1. Allosüümid.....	8
2.3.2. Restriktsioonifragmentide pikkuspolümorfism (RFPL).....	8
2.3.3. Juhuslikult amplifitseeritud polümorfne DNA (RAPD).....	9
2.3.4. Amplifitseeritud fragmentide pikkuspolümorfism (AFLP).....	9
2.3.5. Mikrosatelliidid (SSR, STR).....	9
2.3.6. Ühenukleotiidne polümorfism (SNP).....	10
2.3.7. Kogu genoomi analüüs.....	10
2.3.8. Mitokondriaalne DNA (mtDNA).....	11
3. Y-kromosoom.....	12
3.1. Üldtutvustus.....	12
3.2. Põhjused, miks Y-kromosoomi tulemused erinevad teiste markerite omadest .....	13
3.2.1. Mutatsiooni kiirus.....	13
3.2.2. Valiku mehhanismid.....	13
3.2.3. Efektiivne populatsiooni suurus.....	14
3.2.4. Migratsioon.....	14
3.3. Näiteid Y-kromosoomi uuringutest .....	14
3.3.1. Koduhiir ( <i>Mus musculus</i> ).....	14
3.3.2. Perekond mägikits ( <i>Rupicapra</i> ).....	15
3.3.3. Gibonid- perekond <i>Hylobates</i> .....	15
3.3.4. Perekond <i>Capra</i> .....	16
3.3.5. Kodustatud lamba erinevad liigid.....	16
3.3.6. Pruunkaru ( <i>Ursus arctos</i> ) ja jääkaru ( <i>Ursus maritimus</i> ).....	17
3.3.7. Inimene ( <i>Homo sapiens</i> ).....	17
3.4. Hajumine ja selle mõju Y-kromosoomi mitmekesisusele.....	18
3.5. Y-kromosoomi markerite väljatöötamine.....	20
3.6. Milleks uurida ema- ja isaliini eraldi?.....	21
4. Arutelu.....	23
Kokkuvõte.....	26
Summary.....	27
Tänuavaldused.....	28
Kasutatud kirjandus.....	29

# 1. Sissejuhatus

Molekulaarses ökoloogias ja süstemaatikas on fülogeograafia-alastel uuringutel suur tähtsus, kuna fülogeograafia kirjeldab fülogeneetiliselt seotud taksonite geograafilist paiknemist ja levimist (Jobling & Tyler-Smith 2003). Fülogeograafia üks põhilisi eesmärke on kindlaks teha, kas konkreetne liik koosneb ühest või mitmest geograafiliselt eraldatud ja iseseisvalt evolutsioneeruvast alamliigist ning kuidas need on omavahel fülogeneetiliselt seotud (Zink & Barrowclough 2008). Geenijärjestuste ruumilise leviku analüüsimiseks ja tõlgendamiseks on üldiselt vajalikud laialdased molekulaargeneetilised uuringud, seega on fülogeograafia piirteadus, mis hõlmab nii mikro- kui ka makroevolutsioonilisi aspekte (Avice 2000). Kõikides teaduslikes uuringutes on väga oluline meetoodika valik - milliseid tegureid analüüsida ja kuidas andmeid sünteesida. Nii on ka fülogeograafias määrava tähtsusega, milliseid geneetilisi markereid kasutada, kui uurida geenijärjestuste evolutsioonilisi seoseid ja päritolu. Igal markeril on iseloomulikud omadused ning erinevad markerid annavad informatsiooni genoomi eri osade kohta. Õppides tundma erinevate markerite spetsiifilisi tunnuseid ja omapärasid, on võimalik iga uuringu jaoks valida kõige sobivam ja informatiivsem meetoodika.

Koos tehnoloogia kiire arenguga täiustuvad ka geneetiliste analüüside läbiviimise võimalused. Selle asemel, et populatsioonigeneetilistel uurimustel keskenduda vaid ühele markeritüübile, on hakatud mõistma, et markerite, mis peegeldavad nii ema- kui ka isaliini evolutsiooni, kombineerimine annab rohkem ja laialdasemat informatsiooni (Bidon *et al.* 2014). Uurides korraka mtDNA-d, Y-kromosoomi ja autosomaalseid markereid, saab mitmekülgset infot populatsiooni või isendi kohta ning seetõttu on võimalik saada terviklikum pilt antud taksoni evolutsioonist (MacDonald 2008).

Fülogeograafilistes uuringutes on kõige domineerivamaks geneetiliseks markeriks olnud mtDNA, mille põhjal on tehtud palju järeldusi erinevate liikide fülogeneesi ja emaliini evolutsiooni kohta (Sundqvist *et al.* 2001). MtDNA laialdane kasutamine on igati mõisteta, sest markerina on sellel mitmeid häid külgi: mtDNA esineb rakus väga paljude kordustena, muteerub kiiresti, rekombinatsioon on harv ning mtDNA on haploidne. Kuid kuna emaliini pidi päranduv mtDNA ei võimalda teha järeldusi isaliinis toimunud fülogeograafiliste protsesside kohta, siis selle jaoks tuleks eraldi analüüsida Y-kromosoomi markereid (Bidon *et al.* 2014). Erinevate tehniliste nüansside tõttu ei ole Y-kromosoomi uurimine veel väga populaarseks muutunud, kuid viimastel aastatel on sellele hakatud järjest suuremat tähelepanu pöörama. Probleemseks kohaks on näiteks see, et Y-kromosoomile spetsiifilisi markereid on välja töötatud enamasti vaid mudelorganismidele ning muudel liikidel väga vähesel määral.

Markerite väljatöötamine on aga tehniliselt keeruline (Greminger *et al.* 2010). Probleem võib seisneda ka selles, et Y-kromosoom on erinevatel põhjustel väga palju madalama mitmekesisusega kui mitmed teised genoomi osad ning analüüside tulemused pole tihti järelduste tegemiseks piisavalt varieeruvad (Meadows, Hawken & Kijas 2004; Pérez *et al.* 2011). Tehnoloogia arenedes muutub ka Y-kromosoomide markerite väljatöötamine lihtsamaks ning kättesaadavamaks, mis omakorda hõlbustab isaliinide uurimist paljudel erinevatel taksonitel, kellel seda siiani pole nii laiaulatuslikult läbi viidud.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on anda ülevaade Y-kromosoomi kui isaliini markeri kasutusalaadest ja -võimalustest populatsioonigeneetikas ning fülogeograafias. Käsitlen Y-kromosoomi kasutamise puuduseid ja eeliseid võrreldes teiste markeritega ning toon välja põhjused, miks Y-kromosoomi uuringute tulemused võivad erineda mtDNA ja autosomaalsete markerite tulemustest.

## 2. Geneetiline marker

### 2.1. Mis on ja milleks kasutatakse?

Molekulaarsed markerid võimaldavad tuvastada elusolendite vahelisi erinevusi molekulaarsel tasandil ning on oma kõrge varieeruvuse tõttu saanud väga laialt kasutatavateks evolutsioonilistes, sh. fülogeograafia - alastes uuringutes. Kuna markereid ja nende kasutusmeetodeid on väga palju erinevaid, siis tuleb teha valik, põhinedes sellele, mida on konkreetses uurimuses vaja teada saada (Vignal *et al.* 2002). DNA järjestuses võib esineda mitmesuguseid geneetilisi variatsioone: näiteks on DNA järjestuses mõni nukleotiid vahetunud (transitsioon või transversioon), juurde tulnud (insertsioon) või kadunud (deletsioon); uuritava lookuse piires on DNA fragment muutnud asukohta, jne. Sellised erisused moodustavad geneetilise varieeruvuse ning geneetiliste markerite analüüsi abil on võimalik seda varieeruvust mõõta (Liu & Cordes 2004).

Molekulaarse ökoloogia ja süstemaatika alastes uuringutes on esmalt vaja leida analüüsiks sobivad tunnused. Tunnused võivad olla mitmesugused, näiteks morfoloogilised, mis pole sageli uuringute läbiviimiseks piisavalt varieeruvad. Samuti võib esineda homoplaasiat, st. tunnus ei peegelda mitte taksonite ühist ajalugu, vaid on tekkinud parallelismi või konvergenti tõttu. Kui tunnuseid on vähe ja esineb homoplaasiat, siis on oht, et saadakse vale tulemus. Seetõttu on leitud, et märksa sobilikumad on geneetilised tunnused, kuna neid võib genoomist leida suurel hulgal ja kui mõne puhul esinebki homoplaasiat, siis ei mõjuta see suure tunnuste arvu korral lõpptulemust. Reeglina vajame uuringutes neutraalseid tunnuseid, millele ei toimi valikusurve. Selleks oleks vaja analüüsida mingit valimit geneetilisi markereid.

Geneetiline marker on reeglina kindel lookus genoomis, mille järjestus uuritavate taksonite piires varieerub ja millest valitakse analüüsiks sobilikud tunnused. Geneetiliseks markeriks võib olla kogu genoom (nt. mitokondri genoom), kindel kromosoom (nt. Y-kromosoom), mingi konkreetne geen (nt. mtDNA cyt b geen), mittekodeeriv järjestus (nt. mtDNA kontrollregioon) või ka üksik nukleotiid (SNP). Analoogiliselt geneetiliste markeritega kasutatakse molekulaarses ökoloogias ja süstemaatikas ka teiste molekulide variatsioonil põhinevat analüüsi, nt. RNA-markereid, valgumarkereid, kutikulaarseid süsivesinikke, jne.

Geneetilistel markeritel on mitmeid erinevaid rakenduslikke kasutusalasid. Näiteks nende abil saab uurida erinevate taksonite vahelist hübriidiseerumist, mis võib looduses olla, sõltuvalt uuritavast rühmast, võrdlemisi sage sündmus (Mallet 2005). Kasutades

kombinatsiooni erinevatest markeritest, on uuritud koera ja hundi hübriidiseerumise üksikasju (Hindrikson *et al.* 2012) ning pruun- ja jääkarude hübriidiseerumist ja selle mõju mõlemale liigile (Edwards *et al.* 2011). Kriministikas kasutatakse geneetilisi markereid peamiselt kahel eesmärgil: konkreetse isiku tuvastamiseks, mille jaoks on vajalik võrdlusmaterjal, ja sugulusastme kindlakstegemiseks seoses näiteks immigratsiooni, vanemate välja selgitamise või kadunud isikute juhtumitega (Diegoli 2015). Samuti on molekulaarsete markerite abil võimalik uurida populatsioonide väljakujunemise ajalugu kui kombineerida vajalike andmete saamiseks vastavalt sobivaid markereid. Näiteks on mikrosatelliidid populatsioonis toimuvate geneetiliste muutuste jälgimiseks väga head, kuid ürgsemate protsesside uurimiseks (näiteks liigiteke) on nende mutatsioonikiirus enamasti liiga suur. Seetõttu kasutati näiteks punarebase (*Vulpes vulpes*) hilises Pleistotseenis toimunud fülogeograafiliste protsesside uurimiseks lisaks autosomaalsete mikrosatelliitide kõrval ka Y-kromosoomi ja mtDNA-d. Selline lähenemine näitas, milline on olnud erinevate vanemliinide roll rebase fülogeograafias ning ühtlasi tuvastati, et lähiajaloo jooksul pole punarebase eri kontinentidel paiknevate populatsioonide vahel toimunud geenivoolu, mille põhjuseks on ilmselt geograafiline isoleeritus pärast Beringi maasilla kadumist (Statham *et al.* 2014).

## 2.2. Markerite väljakujunemine ja ajalugu

Molekulaarne fülogeneetika sai alguse juba mitukümmend aastat enne DNA sekveneerimise kasutusele võtmist. XX sajandi alguses kasutas Nuttall (1904) immunoloogilisi analüüse, et määrata, kuidas on erinevad taksonid omavahel seotud (Nuttall, Graham-Smith & Strangeways 1904). Nuttall'i töö tõestas, et fülogeneetikas saab kasutada molekulaarseid analüüse, kuid vaatamata sellele ei võetud neid meetodeid sel hetkel laiemalt kasutusele. Enne kui DNA sekveneerimine muutus kõige tavalisemaks molekulaarsete analüüside läbiviimise meetodiks, tuli kasutada kaudsemaid meetodeid valkude või DNA varieeruvuse uurimiseks. Sellisteks võimalusteks olid näiteks immunoloogilised testid, allosüümide elektroforees ja DNA-DNA hübriidisatsiooni meetod. 1980-ndatel muutusid DNA põhised analüüsid laialt kasutatavaks fülogeneetika meetodiks ning DNA on tänapäevani kõige tihedamini kasutatav molekul evolutsioonilistes molekulaarbioloogilistes uuringutes. Kuid valgujärjestuste kasutamine pole jäänud täiesti tahaplaanile. Neid rakendatakse ka tänapäeva teaduses, kuid võrreldes DNA-ga annavad valgud fülogeneesi kohta vähem informatsiooni ning seetõttu ei kasutata neid nii tihti (Brown 2002).

Tänu tehnoloogia ja meetodika täiustumisele on võimalik ka muuseumieksemplaridelt ja paleontoloogilistelt leidudelt eraldada ja sekveneerida DNA-d. See andis võimaluse analüüsida juba väljasurnud liikide genome ning luua evolutsioonilisi seoseid tänapäevaste taksonitega. Selle meetodi rakendamine tõi omakorda esile mitmeid ebakõlasid morfoloogia ja molekulaarsete analüüside põhjal koostatud fülogeneesi uuringute vahel (Kefena *et al.* 2012). Näiteks selgus, et perekonnas hobune (*Equus*), kus on põhjalikult uuritud ka Pleistotseenis ja hiljem väljasurnud liike, esinevad vastuolud morfoloogiliste tunnuste ja molekulaarse info põhjal koostatud taksonoomiates. Morfoloogiliste tunnuste alusel oli perekond *Equus* jagatud viiekümneks Pleistotseeni liigiks, kuid molekulaarsete meetodite põhjal koostatud taksonoomias esines vaid 4 liiki. Põhjuseks, miks morfoloogia järgi arvati olevat nii palju rohkem eristuvaid liike, pakuti välja, et Pleistotseeni hobuslased kohastusid vastavalt elupaigale väga erinevalt ning seetõttu arenesid ka mitmesugused morfoloogilised iseärasused, mille järgi süstematiseeriti hobuslased paljudesse erinevatesse liikidesse (Orlando *et al.* 2008). Molekulaarsed meetodid on osutunud kasulikuks ka uute liikide avastamisel. Perekonnas tapiir (*Tapirus*) viidi läbi põhjalik mtDNA uuring ning selle käigus avastati uus liik *Tapirus kabomani*, mis eristub teistest perekonnakaaslastest nii molekulaarsete kui ka morfoloogiliste tunnuste poolest (Cozzuol *et al.* 2013). Kaasaegses teaduses on molekulaarsed uuringud muutunud peaaegu asendamatuks. Ei ole ühtegi teist meetodit, mis annaks populatsiooni, isendi või kogu liigi kohta korraga nii palju infot, kui seda on võimalik koguda geneetiliste uuringute käigus.

### **2.3. Erinevad geneetilised markerid ja tehnikad nende varieeruvuse mõõtmiseks**

Geneetilisi markereid saab jagada kolme gruppi vastavalt sellele, millist infot need avaldavad ühe lookuse kohta: bi-alleelsed dominantseid (RAPD, AFLP), bi-alleelsed kodominantsed (RFLP) ja mitmealleelsed kodominantsed (mikrosatelliidid) (Vignal *et al.* 2002). Kodominantse markeri puhul on võimalik eristada homoloogseid allelele. See tähendab seda, et saab uurida, kas vaadeldav isend on konkreetse alleeli suhtes homo- või heterosügoot. Dominantse markeri puhul aga saab vaid infot, kas marker on uuritavas kohas olemas või mitte. Lisaks sellele on ka markerite pärandumisviisid erinevad. Mitokondriaalne DNA pärandub vaid emaliini pidi ja Y-kromosoomi DNA isaliini pidi, mistõttu nimetatakse neid uniparentaalseteks markeriteks. Autosoomid aga päranduvad edasi mõlema sugupoole kaudu ning neid nimetatakse biparentaalseteks markeriteks (näiteks mikrosatelliidid ja SNP-d) (Liu & Cordes 2004).

### 2.3.1. Allosüümid

Ühed esimesed molekulaarsed markerid, mis kasutusele võeti, olid allosüümid, mis on sama geeni eri alleelidelt kodeeritud ensüümivariandid. Allosüümide uurimise põhimõtteks on see, et geel-elektroforeesil eristuvad eri alleelidelt kodeeritud valgud aminohappelise järjestuse poolest, mistõttu on neil reeglina erinev kogulaeng ja/või konformatsioon ning nad liiguvad elektriväljas eri kiirusega. 1966. aastal avaldatud artiklid, mis käsitlevad inimese ja puuviljakärbse *Drosophila pseudoobscura* allosüümide uuringuid, näitavad, et looduslikes populatsioonides on geneetiline mitmekesisus palju suurem kui seda teadlased selle ajani oleks osanud arvata (Harris 1966; Lewontin & Hubby 1966). See avastus viis järeldusele, et enamik mutatsioonidest, mis populatsioonides aset leiavad, on ilmselt neutraalsed (King & Jukes 1969). Valkude uurimisel jäävad aga osad mutatsioonid märkamata, sest kui mutatsioon toimub nukleotiidi tasemel nii, et sünteesitav aminohape jääb samaks ehk tegu on sünonüümse asendusega, siis allosüümide uurimise meetodi kasutamisel pole seda mutatsiooni näha ning seetõttu jääb antud variatsioon detekteerimata (Liu & Cordes 2004). Samuti võib jääda tuvastamata mutatsioon, mille tõttu küll aminohape vahetub, aga valgu kogulaeng ega konformatsioon ei muutu. Edasi liiguti ensüümi-põhistelt markeritelt DNA-põhistele ning hakati uurima otseselt DNA järjestuste varieeruvust. Laialdaselt võeti kasutusele polümeraasi ahelreaktsiooni meetod (PCR), mille avastamine aitas väga palju kaasa edasisele molekulaarse ökoloogia arengule.

### 2.3.2. Restriksioonifragmentide pikkuspolümorfism (RFPL)

Restriksioonifragmentide pikkuspolümorfism (RFPL- *Restriction fragment length polymorphism*) on meetod, mis võimaldab identifitseerida polümorfismid nendes DNA järjestustes, mida tunneb ära mõni kindel restriksiooni ensüüm. Kuna restriksiooniensüümid on järjestusespetsiifilised, siis need seonduvad DNA ahelal kindlale kohale, lõigates selle sealt katki. Juhul kui selles kindlas kohas esineb mutatsioon, siis ensüüm ei saa kinnituda ja ahel ei katke. Nii tekivad erineva pikkusega fragmendid, mida on võimalik geel-elektroforeesil tuvastada. Allosüümid ja RFLP-meetod võimaldavad enamasti analüüsida populatsioonidevahelisi interaktsioone, kuid need markerid pole reeglina piisavalt polümorfised, et eristada üksikuid isendeid (Beebe & Rowe 2004). Suur eelis on aga see, et RFLP markerid on kodominantsed ehk analüüsi käigus on võimalik eristada homoloogseid allelele (Liu & Cordes 2004). RFLP-meetod osutus väga viljakaks inimese



kromosoomikaardistamisel, kuna juba 1992. aastal koostati 2000 RFPL põhjal inimese 24 kromosoomi (22 + X- ja Y-kromosoom) kaardid (Heinaru 2012).

### **2.3.3. Juhuslikult amplifitseeritud polümorfne DNA (RAPD)**

RAPD (*randomly amplified polymorphic DNA*) on meetod, mille puhul kasutatakse PCR-il juhuslike järjestustega primereid, mis on tavaliselt lühikesed, 8-12 aluspaari pikkused. PCRil tekivad fragmendid vaid neis genoomi osades, kus primerite seostumissaidid on üksteisele piisavalt lähedal. Selliste fragmentide polümorfismi saab analüüsida geel-elektroforeesil. RAPD meetodit on laialdaselt kasutatud taimede uurimisel, kuid vähemal määral ka loomadel (Frankham, Ballou & Briscoe 2010). RAPD markerid on dominantsed ehk registreeritakse vaid nende olemasolu või puudumine. Seega selle meetodi puhul ei ole võimalik eristada homo- ja heterosügoote. RAPD meetod on hea seetõttu, et primerid on hästi kättesaadavad ning eelteadmised uuritava DNA järjestuse kohta ei ole vajalikud (Liu & Cordes 2004).

### **2.3.4. Amplifitseeritud fragmentide pikkuspolümorfism (AFLP)**

AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) on PCR-il põhinev multilookuseline meetod, mis on kombinatsioon RFLP ja RAPD meetodite headest külgedest. DNA järjestus lõhutakse kahe restriksiooniensüümiga erinevate pikkustega lõikudeks. Kuna tekkinud fragmentide järjestus pole teada, siis otstesse kleebitakse teada oleva järjestusega adapterid. See teeb võimalikuks primerite seondumise adapterjärjestustega ja võimaldab soovitud fragmentidid amplifitseerida. Vajalikud pole eelnevad molekulaarsed uuringud, mistõttu saab seda meetodit kasutada paljude erinevate liikide puhul, kaasa arvatud ka liigid, mida pole varem põhjalikult uuritud. Nagu RAPD on ka AFLP markerid dominantsed, mistõttu ei ole võimalik eristada alleelide seisundeid (Liu & Cordes 2004).

### **2.3.5. Mikrosatelliidid (SSR, STR)**

Mikrosatelliidid, mida nimetatakse ka lühenditega SSR (*simple sequence repeats*) ja STR (*short tandem repeats*), on DNA järjestused, mis koosnevad lühikestest, enamasti 1-6 aluspaarilistest tandemkordustest, mis moodustavad blokke pikkusega kuni 100 aluspaari. Mikrosatelliidid on biparentaalsed markerid, mis reeglina päranduvad mõlemat vanemliinipidi (kui tegu pole uniparentaalsetes markerites leiduvate mikrosatelliitidega). Mikrosatelliite võib leida üle kogu genoomi. Need asuvad nii kodeerivates kui ka mittekodeerivates piirkondades

(Jurka 2000). Mikrosatelliidid on küllaltki polümorfseid ja neid on genoomis palju, mistõttu on need populatsioonigeneetikas leidnud laialdast kasutust (Goldstein & Schlötterer 1999). Et mikrosatelliidi lookustest leitud alleelide arv on suur, siis saab neid kasutada ka lähedalt suguluses olevate isendite uurimiseks ning need tulemused annavad vihjeid selliste populatsioonigeneetiliste protsesside kohta, mida varem polnud võimalik nii täpselt uurida. Näiteks sugukromosoomide mikrosatelliitide uurides saab infot soo-spetsiifilise geenivoolu kohta uuritavate populatsioonide vahel (MacDonald 2008). Mikrosatelliidid on biparentaalsed markerid, mis päranduvad mõlemat vanemliinipidi. Lisaks teistele mikrosatelliitide headele külgedele (genoomis ühtlaselt jaotunud, väga polümorfseid ja arvukad, väike lookuse suurus) on mikrosatelliidid kodominantsed markerid ja nende puhul on võimalik eristada alleelide seisundeid (Liu & Cordes 2004).

### **2.3.6. Ühenukleotiidne polümorfism (SNP)**

Üksiknukleotiidi polümorfismid ehk SNP-d on kõige mitmekesisem genoomi variatsiooni vorm. SNP-d on kindlas genoomi punktis oleva üksiku aluspaari vahetusvarieeruvus populatsioonis. Põhimõtteliselt võiks olla uuritavas järjestuses konkreetsetes kohas neli erinevat alleeli, ehk SNP-d on teoreetiliselt bi-, tri- või tetra-alleelsed polümorfismid. Inimesel on siiski tri- ja tetra-alleelsed SNP-d väga haruldased, seega enamik SNP-sid on bi-alleelsed (Brookes 1999). SNP-de mutatsioonikiirus on võrreldes mikrosatelliitidega madalam ning reeglina bialleellne, mistõttu on ka nende põlvnemine stabiilsem ning paremini jälgitav. Lisaks sellele paiknevad SNP-d genoomis teiste markeritega võrreldes tunduvalt tihedamalt (Brumfield *et al.* 2003).

### **2.3.7. Kogu genoomi analüüs**

Kõige otsesem viis geneetilise mitmekesisuse mõõtmiseks on kogu genoomi sekveneerimine, mis annab ülevaate genoomi bioloogiast ning geneetilise materjali paiknemisest. Pikka aega oli see tehnoloogia ajamahukas ja väga kallis, kuid see muutub üha enam kättesaadavamaks ning tehniliselt lihtsamaks (Frankham, Ballou & Briscoe 2010).

Kogu genoomi analüüsimine on muutunud kättesaadavamaks, sest Sangeri sekveneerimise meetodilt on üle mindud uue generatsiooni sekveneerimisele (*Next Generation Sequencing ehk NGS*). Sangeri sekveneerimine oli ligi 25 aastat põhiline meetod DNA järjestuse määramiseks, kuid oma kalli hinna ja väikese tootlikkuse tõttu (ühe

nukleotiidi kohta) oli selle kasutamine kogu genoomi sekveneerimiseks enamikele teadlastele kättesaamatu. Sellele vaatamata rakendati just Sangeri tehnoloogiat, et 2003. aastal Inimese Genoomi Projekti raames (*Human Genome Project*) täielikult sekveneerida inimese genoom. Uuenduslikum NGS meetod võimaldab sekveneerida kuni miljardeid aluspaare päevas, mistõttu nimetatakse seda metoodikat ka massiliseks paralleelsekveneerimiseks (*massively parallel sequencing*) (Amor 2014).

2015. aasta aprilli seisuga oli ametlikult sekveneeritud 2220 eukarüoodi genoom, kellest 518 kuuluvad loomariiki (internet1). Esimesed liigid, kellel sekveneeriti kogu genoom olid mudelorganismid nagu näiteks harilik äädikakärbes (*Drosophila melanogaster*) ja koduhiir. Kuid üha rohkem keskendutakse ka mitte-mudelorganismidele, kelle seas siiani on imetajad kõige paremini uuritud (Ellegren 2014).

### **2.3.8. Mitokondriaalne DNA (mtDNA)**

Kõige suurem osa DNA-st asub raku tuumas, kuid väike osa pärilikkusmaterjalist on ka mitokondris. Mitokondri on organell, mis leidub enamikes eukarüootide rakkudes (välja arvatud punastes verelibledes ja mõnedes protistides) ning vastutab raku energiatootmise eest. MtDNA on reeglina rõngasmolekul, imetajatel 16 500 – 17 000 aluspaari pikkune ja kodeerib üldjuhul 37 geeni: 22 tRNAd, 13 valku ja 2 rRNAd. MtDNA koosneb kahest asümmeetrilisest ahelast: G-rikas H-ahel (*heavy strand*) ja C-rikas L-ahel (*light strand*). Imetajatel pärandub mitokondri genoom reeglina vaid emaliini pidi, mis tähendab, et mtDNA peegeldab vaid emaliini evolutsiooni (Cummins 1998; Witas 2004).

Mitokondriaalse DNA uurimisel on mitmeid erinevusi võrreldes tuumagenoomiga: erinevalt tuumas leiduvast DNAST esineb mtDNA igas rakus väga mitmete kordustena, sest mitokondreid on rakus kordi rohkem kui üks. Mitokondrite arv varieerub erinevatel liikidel ja eri rakkudes. Koopiate arvukus võimaldab saada soovitud andmete hulk kätte, analüüsides väga väikeseid proovide koguseid. Eriti oluline on see aga keskkonnaproovide ja subfossiilsete eksemplaride puhul, kus DNA on sageli lagunenu ja analüüsiks sobivaid molekule on järel väga väikeses koguses (Giles *et al.* 1980; Cummins 2000). Lisaks sellele on mtDNA mutatsioonikiirus suurem kui enamikes tuumalookustes. See tähendab, et igas järjestuses võib leida rohkem variatsioone (Zink & Barrowclough 2008). Kokkuvõttes on mtDNA eelised selle uurimisel järgmised: suhteliselt suur mutatsioonikiirus, väljatöötatud praimerite olemasolu, suur koopiate arv rakus ja reeglina rekombinatsiooni puudumine. Kuna need on olulised omadused, mis teevad proovide analüüsimise lihtsamaks ja odavamaks, siis need on ühed põhjustest, miks on siiani väga suurt rõhku pandud just mtDNA uurimisele.

## 3. Y-kromosoom

### 3.1. Üldtutvustus

Molekulaarses ökoloogias ja süstemaatikas kasutatakse tänapäeval laialdaselt mtDNA analüüsimisel saadud andmeid (Kundu & Ghosh 2015). Selle informatsiooni põhjal on tehtud palju järeldusi nii inimeste kui ka paljude teiste imetajate põlvnemise kohta. Kuid uurides vaid mtDNA-d saadakse informatsiooni ainult emaliinide evolutsiooni kohta. Y-kromosoomis leiduva DNA uurimine annab aga ülevaate isaliini evolutsioonist (Chan *et al.* 2012). Kuna Y-kromosoomis võib toimuda geenikonversioon, siis on selle uurimine tehniliselt keerukam ning see on üks põhjustest, miks seda on võrreldes mtDNA-ga küllaltki vähe analüüsitud. Kuid peamine Y-kromosoomi vähese uurituse põhjus on see, et Y-kromosoomi spetsiifilisi markereid pole piisavalt välja töötatud. Aga kuna fülogeograafias on ka isasliinil väga suur roll, siis on kindlasti vajalikud Y-kromosoomi põhised uurimused (Skaletsky *et al.* 2003; Bidon *et al.* 2014).

Y-kromosoom on sugukromosoom, mis on imetajatel iseloomulik vaid isastele. Imetajate emasloomadel on kromosoomipaar XX ning isastel XY (Hellborg & Ellegren 2004). Ainupilulistel on ühel loomal kümme sugukromosoomi- isastel on viis Y-kromosoomi ja viis X-kromosoomi ning emastel vastavalt kaks viiest X-kromosoomist koosnevat komplekti. Kuid huvitav on see, et vaatamata sellele, et ainupiluliste sugukromosoomide tähistatakse samamoodi kui imetajate kromosoomide, pole need evolutsiooniliselt ega ehituslikult samasugused kui imetajatel esinevad kromosoomid. Üllatuslikult näitavad uuringud, et ainupiluliste sugukromosoomid on sarnasemad lindude sugukromosoomidele kui imetajate omadele (Veyrunes *et al.* 2008).

Y-kromosoom erineb teistest kromosoomidest mitmete omaduste poolest. Y-kromosoom koosneb kahest osast: pseudoautosomaalne piirkond, mis rekombineerub X-kromosoomiga ning ülejäänud osast, mis hõlmab umbes 90% Y-kromosoomist. See piirkond Y-kromosoomist ei rekombineeru ning selle jaoks kasutatakse lühendeid MSY (*male-specific region of the Y-chromosome*), NRY (*non-recombining Y*) või NRPY (*non-recombining portion Y*). Meiosis rekombineerumise puudumine võimaldab Y-kromosoomi haplotüüpidel vähem muutuda ning koos edasi päranduda, sest ainsaks muutvaks mehhanismiks on mutatsioon. Seega Y-kromosoom pärineb isalt pojale edasi väiksemate muutustega ning seetõttu on

võimalik ilma suuremate analüütiliste probleemideta kindlaks teha haplotüüpe ning uurida nende evolutsioneerumise ajalugu (Jobling & Tyler-Smith 2003; Bidon *et al.* 2014). MSY piirkond koosneb mitmetest heterokromatiinsete järjestuste blokkidest ja väiksemast eukromatiinsest osast. Heterokromatiin koosneb tihedalt pakitud mitte traskribeeritavatest korduvatest satelliitjärjestustest. Eukromatiin aga muutub interfaasi käigus struktuurilt hõredamaks ning sisaldab teiste komponentide hulgas ka traskribeeritavaid geene (Skaletsky *et al.* 2003).

### **3.2. Põhjused, miks Y-kromosoomi tulemused erinevad teiste markerite omadest**

Y-kromosoomi põhiste uuringute tulemused on tihti väga erinevad võrreldes mtDNA või tuumagenoomi omadega. Erinevused esinevad järjestuste mitmekesisuses, isendite levikus ja isendite migratsiooni geograafilistes barjäärides (Meadows, Hawken & Kijas 2004). Helleborgi ja Ellegreni (2004) poolt läbi viidud uuringus, milles nad võrdlesid viie erineva liigi Y-kromosoomi mitmekesisust teiste genoomi osadega, leiti, et Y-kromosoomi varieeruvus oli madalam kõigi viie liigi puhul. See viitab asjaolule, et Y-kromosoomi madal mitmekesisus võib olla imetajatele omane tunnus. Y-kromosoomi madalam polümorfsus võib tuleneda isaste heterogameetsusest, kuid lisaks sellele võivad mitmekesisust mõjutada ka mitmed teised tegurid nagu näiteks mutatsioonikiirus, valiku mehhanismid, efektiivse populatsioonisuuruse erinevused ja isendite migratsioonimustrid. Kõik need tegurid mõjutavad nukleotiidide mitmekesisust genoomi eri osades erinevalt (Hellborg & Ellegren 2004; Meadows, Hawken & Kijas 2004).

#### **3.2.1. Mutatsiooni kiirus**

Kui mutatsioonid tulenevad replikatsioonil tekkivatest vigadest ja isaste sugurakud läbivad mitmeid kordi rohkem mitootilisi jagunemisi kui emaste sugurakud, siis peaks olema isassugurakkude mutatsioonikiirus suurem (Montell, Fridolfsson & Ellegren 2001). Suurem mutatsioonikiirus peaks viitama ka suuremale mitmekesisusele, kuid uuringud näitavad, et Y-kromosoomis see nii ei ole (Hurst & Ellegren 1998; Hellborg & Ellegren 2004).

#### **3.2.2. Valiku mehhanismid**

Suurem osa Y-kromosoomist pole rekombineeruv ning seetõttu on erinevatele valiku mehhanismidele väga vastuvõtlik (Berlin & Ellegren 2004). Kuna rekombinatsioon enamasti

puudub, siis valik mõjutab kogu kromosoomi ning järjestuse sagedus tõuseb äkilisemalt kui geenitriivi puhul (Jobling & Tyler-Smith 2003).

### **3.2.3. Efektiivne populatsiooni suurus**

Populatsioonis, kus sugude suhe on 1:1, on nii mtDNA kui ka Y-kromosoomi efektiivne populatsioonisuurus üks neljandik autosoomide omast, sest need on haploidsed ja antakse edasi vaid ühe soo kaudu. Lisaks vähendab Y-kromosoomi efektiivset populatsioonisuurust ka erinevus järglaste arvus, mis on isastel reeglina suurem ning seda eriti polügüünsetel liikidel. Seetõttu on Y-kromosoom kergemini mõjutatav geenitriivi mehhanismist (Hurles & Jobling 2001; Pérez *et al.* 2011). Y-kromosoomi efektiivse populatsiooni suurus on kolm korda väiksem kui X-kromosoomi oma, kuid see kehtib ainult olukorras kui isendite vahel eksisteerib vaba ristumine ja sugude vahekord on võrdne. Kui isaste reproduktiivne edukus on kallutatud, siis sel juhul võib Y-kromosoomi efektiivne populatsiooni suurus olla veelgi väiksem võrreldes X-kromosoomi omaga (Hellborg & Ellegren 2004).

### **3.2.4. Migratsioon**

MtDNA ja Y-kromosoomi uuringute tulemuste erinevusi võib põhjustada ka isendite migratsioon. Migratsioon põhjustab geenivoolu, mis on liigisisene geenide liikumine ühest alampopulatsioonist teise ning see omakorda põhjustab geneetilise ühtlustumise nendes populatsioonides, mille vahel toimub geenivool (Kundu & Ghosh 2015). Isaste ja emaste migratsioonimustrid on liigiti väga erinevad ning sellest tulenevad ka varieeruvad uurimuste tulemused olenevalt sellest, millist geneetilist markerit kasutati (Pérez *et al.* 2011).

## **3.3. Näiteid Y-kromosoomi uuringutest**

Y-kromosoomis leiduvate geneetiliste tunnuste variatsiooni on kõige enam uuringutes kasutatud inimese puhul, kuid loomadel väga harva. Toon siinkohal mõned näited.

### **3.3.1 Koduhiir (*Mus musculus*)**

Uuriti koduhiire erinevate alamliikide mtDNAd ja Y-kromosoomi. Eesmärgiks oli uurida geograafilise variatsiooni mustreid ning molekulaarset divergentsi. Uurides mtDNAd

ja Y-kromosoomi, ilmnes tulemustes selge lahknevus. Mõned koduhiire alamliigid pärinevad mtDNA järgi ühest haplogrupist, Y-kromosoomi järgi aga erinevatest. Esines mitu alamliiki, mis on Y-kromosoomi põhjal ühesugust päritolu, kuid mtDNA haplotüüp on neil erinev. Selliste erisuste selgitamiseks võib olla mitmeid põhjuseid. Näiteks üheks võimaluseks võib olla see, et koduhiire Y-kromosoomi kaks erinevat haplotüüpi tekkisid juba ürgses koduhiire populatsioonis ning erinevad kombinatsioonid mtDNA-ga tekkisid peale liigi laialdast geograafilist levimist. Teine idee aga viitab sellele, et Y-kromosoomi haplotüübid eristusid peale alampopulatsioonide teket ja palju hiljem kui mtDNA haplotüübid. Seda varianti toetab ka asjaolu, et Y-kromosoomi mitmekesisus oli palju madalam kui mtDNA ja tuumaDNA oma. MtDNA ja Y-kromosoomi uuringud koduhiirel on olulised, et välja selgitada, kuidas on seotud Y-kromosoomi erinevad haplotüübid ning reproduktiivne isolatsioon alamliikide vahel (Boissinot 1997).

### **3.3.2. Perekond mägikits (*Rupicapra*)**

Y-kromosoomi uuringud paljastasid variatsioonimustri, mis erines nii mtDNA omast kui ka biparentaalselt päritavast autosomaalsest DNAST. Erinevused olid nii mitmekesisuses kui ka geograafilises levikus. Huvitav on asjaolu, et autosomaalsete mikrosatelliitide ja mtDNA uuringute kohaselt on moodustunud kolm taksonoomilist gruppi aga Y-kromosoomi järgi on neid kaks, sarnaselt praegu kehtiva taksonoomiaga, mis on paika pandud morfoloogia põhjal. Lisaks selgus, et Y-kromosoomi mitmekesisus on väga madal. Y-kromosoomi, mtDNA ja autosomaalsete mikrosatelliitide variatsioonimustrid on tõenäoliselt erinevad markerite evolutsiooniliste iseärasuste, sugupoolele iseloomuliku hajumise ja liikide fülogeograafia tõttu. Lisaks nendele põhjustele võib tulemuste erinevus seisneda ka selles, et osa isaliinist ühel hetkel tugevalt diferentseerus eellaspopulatsioonist, mis on praegu Euroopas levinud. Eraldi suunas diferentseerunud isaliini haplogrupp võis hübriidiseeruda ning liikuda läänesuunas, kus ta arenes hoopis teistsuguseks haplogrupiks (Pérez *et al.* 2011). Mägikitse Y-kromosoomi uuringud tõid seega välja mitmeid küsimusi, millele varem ei osatud tähelepanu pöörata, sest emaliinis selliseid iseärasusi ei esinenud. Mägikitse perekonna ajalooline kujunemine pole veel täielikult selge, kuid erinevate geneetiliste markerite põhjalik uurimine annab palju mitmekesisist infot, mille põhjal on võimalik teha järeldusi mägikitse fülogeograafia kohta.

### 3.3.3. Gibonid- perekond *Hylobates*

*Hylobates* perekonda on varasemalt uuritud toetudes peamiselt ainult emaliinile. Antud uurimuses võeti analüüsid kuuelt giboniliigilt perekonnast *Hylobates*, et välja selgitada Y-kromosoomi fülogenees. Tulemused näitasid, et Y-kromosoomi mitmekesisus on üle viie korra madalam kui mtDNA oma (Chan *et al.* 2012). Selline tulemus pole ootamatu, sest mitu korda madalamat Y-kromosoomi varieeruvust on dokumenteeritud ka teistel imetajatel (Hellborg & Ellegren 2004). Kuigi Y-kromosoomi analüüsimine annab palju olulist infot isasliini fülogeneesi kohta, siis antud uuringus polnud lookuse järjestuse variatsioon piisav, et saada selgust gibonite keerulises fülogeneetikas (Chan *et al.* 2012).

### 3.3.4. Perekond *Capra*

Perekond *Capra*, kuhu kuulub kodustatud liik pulstikkits (*Capra hircus*) koos paljude metsikute kitseliikidega, on takson, mille evolutsiooniline ajalugu pole tänapäevani täiesti selge. Y-kromosoomi andmete järgi eristuvad selgelt kaks klaadi. Esimesse kuuluvad kodustatud pulstikkits (*C. hircus*) ja metsikud liigid *C. aegagrus* ja *C. falconeri*. See viitab asjaolule, et pulstikkits võib olla pärinenud ühest või mõlemast nendest metsikutest liikidest. Teise klaadi kuuluvad kõik ülejäänud metsikud kitseliigid. Üldiselt on sarvede morfoloogia põhjal koostatud taksonoomia vastavuses Y-kromosoomi andmetega. MtDNA andmete põhjal eristusid samuti kaks klaadi, kuid need on täiesti erinevad Y-kromosoomi andmetest (Pidancier *et al.* 2006). Kuna Y-kromosoomi põhjal koostatud taksonoomia on vastavuses sarvede morfoloogiaga, siis ühe võimalusena võib käsitleda varianti, et Y-kromosoomi varieeruvus on seotud dimorfsete sekundaarsete sootunnusega nagu näiteks sarvede suurus ja kuju (Roldan & Gomendio 1999). Seega kui selline seos eksisteerib, siis Y-kromosoomi mitmekesisus allub seksuaalsele valikule (Pidancier *et al.* 2006).

### 3.3.5. Kodustatud lamba erinevad liigid

Uuriti lamba Y-kromosoomi MSY piirkonna SNPsid. Proovid võeti 14 isaselt seitsmest erinevast liigist. Uuringu esimeseks eesmärgiks oli identifitseerida uudne komplekt SNPsid, mis asuksid MSY piirkonnas. Teiseks sooviti mõõta lamba Y-kromosoomi mitmekesisust ning võrrelda seda autosomaalsete geenidega ja teiste imetajaliikidega. Välja töötati 23 praimerite komplekti seitsmest geenist, mis paiknesid MSY piirkonnas.

Leiti, et lamba Y-kromosoomi mitmekesisus on madalam kui inimese oma. Võrreldes



teiste imetajatega on lamba Y-kromosoomi mitmekesisus samuti üks madalamaid. Et võrrelda Y-kromosoomi mitmekesisust ülejäänud genoomiga, võeti arvesse kaks olulist faktorit: efektiivne populatsioonisuurus, mis on veerand autosoomide omast ning Y-kromosoomi kiirem mutatsioonikiirus. Vaatamata sellele, et võeti arvesse neid olulisi tegureid, oli mitmekesisus siiski vaid 10% oodatud väärtusest. Ühe põhjusena, miks just kodustatud liikidel on Y-kromosoomi mitmekesisus väga madal, toob autor välja inimese aretustöö. Kui inimene valib välja üksikud isased, keda paaritada, siis kaob ära looduslik valik ning kahaneb Y-kromosoomi efektiivne populatsioonisuurus (Meadows, Hawken & Kijas 2004).

### **3.3.6. Pruunkaru (*Ursus arctos*) ja jääkaru (*Ursus maritimus*)**

Pruunkaru on põhjalikult uuritud liik aga enamik töid on läbi viidud kas mtDNA (nt. Saarma et al. 2007; Korsten et al. 2009; Keis et al. 2013) või mikrosatelliitide (nt. Waits et al. 2000; Tammeleht et al. 2010) põhisel. Bidoni ja kolleegide (2014) läbi viidud töö eesmärk oli võrrelda Y-kromosoomi põhjal saadud andmeid mtDNA ja autosoomide omadega. Leiti, et erinevalt mtDNA andmetest ei näidanud Y-kromosoom nii tugevat populatsiooni geograafilist struktureeritust. Kuna karudel on tavaline, et isasloomad on need, kes sünnikohast migreeruvad (Zedrosser et al. 2007), siis on väga oluline uurida lähemalt ka Y-kromosoomi, mis annab infot isasloomade fülogeograafia kohta. Antud uurimuses analüüsiti Y-kromosoomi ning leiti mitmeid erisusi mtDNA põhjal koostatud fülogeneesist (Bidon et al. 2014). Näiteks varasemad mtDNA uuringud on näidanud, et jää- ja pruunkaru on parafüleetilised liigid ning nende vahel on läbi ajaloo toimunud mitmeid kordi hübriidiseerumine (Edwards et al. 2011). Seevastu aga Y-kromosoomi põhjal on pruun- ja jääkarud monofüleetilised liigid, kus pole isaliinis introgressiooni toimunud. Ka selles uuringus dokumenteeriti Y-kromosoomi madalat mitmekesisust. Peale Y-kromosoomi väiksema populatsioonisuuruse arvesse võtmist oli mitmekesisus vaid 10% autosoomide omast (Bidon et al. 2014).

### **3.3.7. Inimene (*Homo sapiens*)**

Läbi aegade on imetajatest kõige põhjalikumalt uuritud inimest. Koos tehnoloogia arenguga täiustuvad ka andmed inimese genoomi kohta ning aina üksikasjalikumalt mõistetakse selles toimuvaid protsesse ja geenide paiknemist. Kogu genoomi sekveneerimise kättesaadavamaks muutumine on aidanud täiustada Y-kromosoomi uurimise võimalusi ning arusaamu isaliini fülogeneesi kohta. Rootsi ja teiste (2013) töös uuriti kogu Y-kromosoomi, et selgust saada Aškenazi leviitide päritolu kohta. Leiti, et haplogrupp, mis varem arvati olevat

pärinenud Ida-Euroopast, on saanud alguse hoopis Iraani kurdi aladelt. See uurimus näitab, et koos tehnoloogia arenguga muutuvad ka teadlaste arusaamad, sest sünteesitavat infot tekib aina juurde ning on lihtsam jälgida erinevate haplotüüpide geenivoolu ja ruumilist struktuuri (Rootsi *et al.* 2013).

### 3.4. Hajumine ja selle mõju Y-kromosoomi mitmekesisusele

Hajumine on looma liikumine tema sünnipaigast kohta, kus ta sigib või potentsiaalselt sigiks kui ta elaks piisavalt kaua, et leida partner. Seda võib täpsustavalt nimetada ka noorloomade sünnipaigast hajumiseks (*natal dispersal*). Sellest erineb reproduktiivne hajumine, mille puhul täiskasvanud loomad liiguvad erinevate paaritumispaikade vahel (*breeding dispersal*) (Greenwood 1980). Käitumismustrina on hajumine väga riskantne tegevus. Esiteks on migratsioon ohtlik ning võib tihti lõppeda hukkamisega. Teiseks ei pruugi lahkumine väärtuslikust sünnikohast olla kasulik, sest uude elupaika jõudes on raske konkureerida seal juba varem elanud ja vastavate keskkonnatingimustega kohastunud loomadega. Kuid kui sigimine uues elupaigas on edukas, siis antud mehhanism võimaldab vältida sugulussigimist ehk inbriidingut, sugulastega ressursside pärast konkureerimist ja toimub geenivool, mille tulemusena populatsioon diferentseerub (Dobson *et al.* 1997; Lawson Handley & Perrin 2007).

Kuna need faktorid mõjuvad emastele ja isastele erinevalt, võib olla ka sugupoolte hajumine liigiti väga erinev. Sellest võiks eeldada, et sugupoolte erinev hajumine sõltub populatsiooni struktuurist ja paaritumismustritest. Monogaamsetel lindudel hajuvad üldiselt pigem emased, sest isased kasutavad kaaslaste ligi meelitamiseks territoriaalseid ressursse ning seetõttu on neile kasulik jääda paikseks. Polügüünsetest imetajatest isased aga võitlevad otseselt emaste pärast ja kaitsevad emasloomade grupe. Seetõttu on tavaline, et isased hajuvad ning otsivad selliseid emaste grupe, mida endale võidelda. Seega lindude ja imetajate sugupoolte hajumise erinevus võib tuleneda sellest, kuidas konkreetne liik leiab sigimispartnereid - paljud linnud meelitavad enda juurde sageli väärtusliku elupaigaga ja imetajad võitlevad otseselt partnerite pärast (Greenwood 1980; Lawson Handley & Perrin 2007).

Clarke jt. (1997) käsitlesid oma uuringus 102 linnuliiki ja nende hajumise seaduspärasusi. Sooviti välja selgitada, kas lindudel esineb hajumine, mis on ebaproportsionaalne ühe sugupoolte suhtes, nagu selle oli Greenwood (1980) välja toonud. 40% uuritud liikide puhul ei esinenud erinevusi sugupoolte hajumisel, kuid liikidest, kellel

emased ja isased hajusid erineval määral, hajusid 70% liikidel just emaslinnud. Kuigi uuritavates taksonites oli emaste hajumine levinum, siis oli ka mitmeid liike, kus isased hajusid suuremal määral ja kaugemale. Üheks selliseks sugukonnaks on partlased (*Anatidae*), kelle emaste filopatrilisust võib selgitada sellega, et nad valivad paarilise välja juba enne sigimispäika jõudmist, ehk isastel pole vaja territooriumi kaitsta. Lisaks partlastele esines isaste hajumine veel 15 liigil, kelle sigimismustrid olid väga erinevad. Seega ei saa nende liikide põhjal teha järeldusi, et hajuva sugupoole määrab see, kas kaitstakse territooriumi või partnereid (Clarke, Sæther & Røskaft 1997).

Y-kromosoom annab väärtuslikku infot isaliinide evolutsiooni kohta, mis on eriti oluline liikide puhul, kus emaste ja isaste hajumine sünnikohast on erinev. Šimpansite (*Pan troglodytes*) ja bonobode (*Pan paniscus*) populatsioonistruktuur on veidi erineva ülesehitusega imetajate üldisest seaduspärasest. Neile on iseloomulik isaste filopatrilisus ning emased on need, kes hajuvad. Uuringus, milles analüüsiti mtDNA ja Y-kromosoomi mitmekesisust, selgus, et šimpansitel on Y-kromosoom palju varieeruvam kui liikidel, millel on levinud matrilokaalsus (Stone *et al.* 2002; Eriksson *et al.* 2006). Seega võiks järeldada, et üks teguritest, mis potentsiaalselt põhjustab Y-kromosoomi madalat varieeruvust, võib olla sugupoolte erinev hajumismuster. Langergraber ja teised (2014) uurisid šimpansite Y-kromosoomi ning selgitasid välja, et kaheksa erineva grupi kõige hiljutisem ühine isane eellane eksisteeris mitusada kuni kaks tuhat aastat tagasi. Selliste tulemuste põhjal võib eeldada, et tänu šimpansite isasloomade filopatrilisusele püsivad nende populatsioonid stabiilsemana võrreldes selliste primaadiliikidega, milles on valdav emaste filopatrilisus (Langergraber *et al.* 2014). Emaste filopatrilisus on omane ka pruunkarudele, sest erinevalt šimpansitest on isased karud need, kes sünnipaigast kaugemale hajuvad (Zedrosser *et al.* 2007). Y-kromosoomi uurimine lisas huvitavat informatsiooni karude fülogeograafia kohta, mis senimaani oli vaid mtDNA ja autosomaalsete markerite põhine (Bidon *et al.* 2014).

Hajumise ja sugukromosoomide mitmekesisuse vahelist seost saab uurida, õppides tundma organisme, kus emased on heterogameetsed. Üheks selliseks näiteks on linnud, kus emased on ZW ja isased ZZ kromosoomipaariga. Sarnaselt Y-kromosoomile on lindude emassugukromosoomi W ja autosoomide efektiivse populatsioonisuuruse suhe 1:4. Seega saab W-kromosoomi mitmekesisuse kohta teha Y-kromosoomiga sarnaseid järeldusi. Kuid erinevalt Y-kromosoomist ei mõjuta W-kromosoomi mitmekesisust isaste madalam efektiivne populatsioonisuurus (Berlin & Ellegren 2004). Isaste suuremast mutatsioonikiirusest saaks järeldada, et need on ka varieeruvamad. Kuid tegelikkuses pole Y- ja Z-kromosoomid suurema varieeruvusega kui teised kromosoomid, sest mitmekesisust mõjutavad ka mitmeid teistsugused tegurid. Mitmetest uuringutest leiti, et Z-kromosoom oli mitmeid kordi

mitmekesisem kui W-kromosoom isegi peale efektiivse populatsioonisuuruse erinevuse arvestamist (Montell, Fridolfsson & Ellegren 2001; Berlin & Ellegren 2004). Y-kromosoomi madala mitmekesisuse üheks suurimaks põhjuseks arvatakse olevat seksuaalne valik, mida põhjustab isaste konkureerimine. Kuid emaste W-kromosoomi madala varieeruvuse põhjuseks seda tuua ei saa, sest emaslinnud sellisel viisil isaste pärast ei konkureeri, seega peab olema mitmekesisust mõjutavaid tegureid teisigi (Roldan & Gomendio 1999).

### 3.5. Y-kromosoomi markerite väljatöötamine

Aina selgemaks saab asjaolu, et isa- ja emaliini eraldi uurimine on vajalik, sest populatsioonistruktuur, sugupoolte hajumine ja paljud teised faktorid on sugupooltel sageli väga erinevad. Kuid vaatamata sellele on jätkuvalt võrdlemisi vähe uuringuid, mis kõrvutaks üheaegselt Y-kromosoomi ja mtDNA tulemusi. Põhjuseks võib olla see, et Y-kromosoomi piisavalt polümorfsete markerite väljatöötamine on keerukas. Et Y-kromosoomi markerid oleksid informatiivsed peavad need olema heterogameetsele soole spetsiifilised ning piisaval määral polümorfset (Greminger et al. 2010).

Y-kromosoomile on omane suur korduste arv, mistõttu on kasulike Y-spetsiifiliste markerite väljatöötamine keeruline (Luo *et al.* 2007). Sugukromosoomide mikrosatelliitide on keerulisem analüüsida kui autosomaalseid mikrosatelliite, sest sugukromosoomid esindavad kogu genoomist väga väikest osa. Eriti raske on see Y-kromosoomi puhul, mis on imetajate genoomi kõige väiksem kromosoom (MacDonald 2008). Mitte-mudelorganismide Y-kromosoomi uurimiseks on siiani olnud üheks tõhusamaks viisiks kasutada lähedaste liikide geenijärjestuse informatsiooni, mille kohta on andmed olemas (Greminger *et al.* 2010). Näiteks on uuritud huntide populatsioonistruktuuri ja päritolu põhinedes koerte Y-kromosoomi mikrosatelliitide informatsioonile (Sundqvist *et al.* 2001). Kuid see pole alati lahenduseks, sest mida evolutsiooniliselt kaugemal on liigid üksteisest, seda vähemtõhus on mikrosatelliitide analüüs. Teine viis Y-kromosoomi uute markerite väljatöötamiseks on füüsiliselt eraldada kogu Y-kromosoom või selle osad, kasutades tsütogeneetilisi meetodeid. Ka selline meetod pole olnud väga tulemuslik. Selle põhjuseks on Y-kromosoomi eraldusprotsessi tehniline keerukus. Tsütogeneetilised markerite välja arendamise viisid vajavad väga spetsiifilisi oskusi ja on aeganõudvad. Alternatiiv Y-kromosoomi füüsilisele

eraldamisele on välja töötada isastele spetsiifilisi markereid kogu genoomi DNA-st. Uue põlvkonna sekveneerimismeetoodika laialdane kasutusele võtmine on palju kaasa aidanud uute markerite avastamisele, sest uudse tehnoloogiaga on analüüsivat infot tekkinud kordades rohkem ja kiiremini kui varem (Greminger *et al.* 2010). Samas on imetajaliikide puhul, kelle genoomi on sekveneeritud, kogu genoomist jäänud lisaks rohkelt kordusjärjestusi sisaldavatele piirkondadele ka kokku panemata Y-kromosoom. Aga lähitulevik toob siin kindlasti muutusi.

Kokkuvõttes pole Y-kromosoomi spetsiifiliste markerite välja töötamiseks ühte tõhusat meetoodikat. Y-kromosoomile on iseloomulikud erilised tunnused, mis teevad markerite väljatöötamise keerukamaks: arvukate järjestuste homoloogsus X-kromosoomiga, palindroomiline struktuur ja madal geneetiline varieeruvus. Tehnoloogia arenguga tekib juurde uusi ja paremaid võimalusi uute markerite avastamiseks ning seetõttu muutub isaliini põhjalik uurimine molekulaarses ökoloogias ja süstemaatikas tulevikus kindlasti aina levinumaks ja tavalisemaks.

### **3.6. Milleks uurida ema- ja isaliini eraldi?**

Sugukromosoomide põhiste markerite ning nende kasutamine annab võimaluse uute evolutsiooniliste perspektiivide tekkimiseks, mis aitavad uurida populatsiooni ajalugu ja populatsioonisisest geenivoolu hoopis teise külje pealt kui seda on seni tehtud (MacDonald 2008).

Üheks selliseks rakenduseks on hübriidide tuvastamine. Kui autosomaalsete mikrosatelliitide abil saab kindlaks määrata, kas uuritav isend on hübriid või mitte, siis Y-kromosoom annab informatsiooni isa päritolu kohta ja mtDNA infot emaliinide kohta. Näiteks Hindrikson ja teised (2012) uurisid Eesti ja Läti huntide (*Canis lupus*) ning koerte (*Canis lupus familiaris*) vahelisi hübriide. Kombineerides nii uniparentaalseid kui ka biparentaalseid markereid leiti, et tegemist oli hübriididega ning selgitati välja ka hübriidide vanemate liigiline kuuluvus. Analüüsides Y-kromosoomi tehti kindlaks, millist päritolu on hübriidi isa. Leiti, et kahe Lätist leitud hübriidi isa on hunt, mis on väga haruldane juhtum, sest tavaliselt on koera ja hundi ristumisel emaks hunt ja isaks koer (Hindrikson *et al.* 2012).

Selle asemel, et kasutada spetsiifilisi markereid eraldi, tuleks kombineerida korraga nii ema- ja isaliini kui ka biparentaalsete markerite andmeid, mille tulemuseks on informatsioon, mis annab palju laialdasema pildi looduslikes populatsioonides esinevast geneetilisest mitmekesisusest (MacDonald 2008). Näiteks Skandinaavia hundipopulatsiooni uurimiseks võeti lisaks mtDNA-le kasutusele ka Y-kromosoomi mikrosatelliidid. 1980ndatel elas

Skandinaavia hundipopulatsioon üle tõsise pudelikaela efekti. Y-kromosoomi mikrosatelliitide analüüsimisel sooviti välja selgitada mitu isast hunti olid uue populatsiooni rajajad ning kust need isased pärit olid. Tänu Y-kromosoomi mikrosatelliitide uuringutele selgus, et peale 1980ndatel toimunud pudelikaela efekti olid populatsiooni rajajateks minimaalselt kaks isashunti. Kuna nende isendite haplotüübid ei sarnanenud ei naaberpopulatsioonide huntidega (73 proovi Põhja-Euroopa populatsioonidest) ega ka Skandinaavia loomaaia huntidega, siis sellest võis järeldada, et rajajaisendid polnud põgenenud loomaaiaist ega migreerunud sinna naaberpopulatsioonidest, vaid olid osa põlisest drastilise pudelikaela läbinud populatsioonist (Sundqvist *et al.* 2001). Lisaks näitasid Vilà ja kolleegid (2003), et seesama populatsioon, kannatades pudelikaela efektist tingitud negatiivse mõju all, sai olulist geneetilist täiendust ühe naaberpopulatsioonist pärit üksiku isahundi näol. Sellele järgnes eksponentsiaalne arvukuse kasv, suurenes heterosügootsuse tase ning populatsioonis hakkasid levima uued alleelid (Vilà *et al.* 2003). Antud huntide populatsiooniuringud on headeks näideteks, miks tuleks uurida korraga nii ema- kui ka isaliine. Kuna sugupoolte migratsioonimustrid võivad olla väga erinevad (Greenwood 1980), siis tuleb uurida mõlema sugupoolle geenivoolu eraldi, et saada põhjalikku ülevaadet populatsiooni fülogeograafiast.

Lisaks on informatsioon Y-kromosoomi kohta eriti oluline sellistel kodustatud liikidel, mille aretuse käigus on inimene kasutanud väheseid välja valitud isaseid, mistõttu on mõne isendi geenide hulk populatsioonis ebaproportsionaalselt suur ja efektiivse populatsioonisuurus on vähenenud. On tõenäoline, et sellise kallutatud aretustöö tulemusena on langenud ka kodustatud liikide Y-kromosoomi mitmekesisus (Meadows, Hawken & Kijas 2004). Näiteks Meadows, Hawken & Kijas'e (2004) uuringud näitavad, et lamba Y-kromosoomi mitmekesisus on kõigest 10% oodatud väärtusest. Samuti on leitud ka Põhja-Etioopia veisepopulatsioonidel märkimisväärselt madal Y-kromosoomi mitmekesisus, mille põhjuseks lisaks väheste isaste kasutamisele aretustöös võib olla ka mitmeid kordi toimunud pudelikaela efekt (Li *et al.* 2007). Kuid vastupidiselt selgus autosomaalsete mikrosatelliitide, mtDNA ja Y-kromosoomi põhjal läbi viidud uuringus, et kodusigade ja metssigade geneetilise varieeruvuse tase on väga sarnane ning ei esine kodustatud liikidele omane madal Y-kromosoomi mitmekesisus. Sellised tulemused aga võivad tuleneda sellest, et sigade kodustamine toimus ajaloo jooksul mitmeid kordi erinevate geneetiliste tagapõhjaga loomadel ning kodusigade ja metssigade ristumine on väga tavaline nähtus. Nende asjaolude tõttu on püsinud mets- ja kodusiga geneetiliselt küllaltki sarnastena ning ei ole täheldatud erilist kodustamisele omast Y-kromosoomi varieeruvuse langust (Ramírez *et al.* 2009).

## 4. Arutelu

Geneetilise varieeruvuse mõõtmiseks on välja töötatud palju erinevaid meetodeid. Igal meetodil on omad plussid ja miinused, millega tuleb teadustööd tehes arvestada. Uuringu tulemusi mõjutab oluliselt juba see, kas marker on dominantne või kodominantne. Dominantse markeri puhul saab vaid infot, kas marker on uuritavas kohas olemas või mitte, kuid kodominantse markeri puhul on võimalik tuvastada ka alleelide seisundeid (kas isend on antud lookuse suhtes homo- või heterosügootne). Lisaks nendele omadustele on ka markerite pärandumisviisid erinevad. Vastavalt uuringu eesmärkidele tuleb valida, kas kasutada uniparentaalseid või biparentaalseid markereid. Ülevaatlikuima tulemuse saamiseks oleks parim aga kombineerida erinevate omaduste ja pärandumisviisidega markereid. Seetõttu ongi vajalik iga markeri kohta teada saada võimalikult palju informatsiooni, et valida konkreetse uuringu jaoks kõige sobivam marker.

Koostasin võrdleva tabeli erinevate markerite omadustest, et saada ülevaatlikum pilt antud markerite plussidest ja miinustest (Tabel 1). Kogu genoomi uurimine muutub aina lihtsamaks ja kättesaadavamaks ning seetõttu võib tunduda, et üksikute genoomiosade eraldi uurimisel pole varsti enam mõtet. Minu arvates pole aga vajalik iga uuringu jaoks kogu genoomi analüüsida, vaid mõnes olukorras piisab ka väiksemamahulistest analüüsides kui seda on kogu genoomi sekveneerimine. Näiteks SNP-d on väga perspektiivikad markerid, mille kasutamine muutub aina laiemalt levinumaks ning uusi SNP-sid avastatakse kiirelt juurde. SNP-d paiknevad tihedalt üle kogu genoomi ning on piisavalt polümorfseid, et anda informatsiooni nii populatsioonide kui ka isendite kohta.

Tabel 1. Erinevate markerite võrdlus

Marker/tunnus	Vajalik varasem molekulaarne info	Päritavusviis	Polümorfism	Muu informatsioon
Allosüümid	Jah	Biparentaalne, kodominantne	Madal	Kogu polümorfism pole detekteeritav
RFLP	Jah	Biparentaalne, kodominantne	Madal	Kiire ja odav, väljaspool restriktioonisaita olevad muutused jäävad detekteerimata
RAPD	Ei	Biparentaalne, Dominantne	Keskmine	Praimerid hästi kättesaadavad. Pole võimalik eristada homo- ja heterosügoote
AFLP	Ei	Biparentaalne, Dominantne	Kõrge	Pole võimalik eristada homo- ja heterosügoote
Mikrosatelliidid	Jah	Biparentaalne, kodominantne	Kõrge	Suur mutatsioonikiirus, genoomis tihtlaselt jaotunud, väga polümorfsed ja arvukad
SNP	Ei	Biparentaalne, kodominantne	Kõrge	Väike mutatsioonikiirus, paiknevad genoomis tihedalt
mtDNA	Jah*	Uniparentaalne (emaliini pidi)	Kõrge	Esineb rakus paljude kordustena, suur mutatsioonikiirus, rekombinatsioon puudub
Y-kromosoom	Jah*	Uniparentaalne (isaliini pidi)	Madal	Rekombinatsioon puudub, vähe markereid välja töötatud

\*Uue põlvkonna sekveneerimismeetodit kasutades pole vajalik varasem molekulaarne informatsioon.

Y-kromosoomi markerite välja töötamine ja uurimine kätkeb endas mitmeid probleeme ja seetõttu pole nende kasutamine veel väga laialt levinud. Üks takistus, mis teeb Y-kromosoomi uurimise tehniliselt keerukamaks on see, et esineb sellele sugukromosoomile iseloomulik geenikonversioon. Lisaks sellele on Y-kromosoom väga palju madalama varieeruvusega, kui teised kasutusel olevad markerid. Kuid kui olla teadlik Y-kromosoomi nõrkadest külgedest ning tehnilistest kitsaskohtadest, siis on võimalik need probleemid lihtsamini lahendada ja keskenduda nendele külgedele, mis on uurimise seisukohalt kasulikud ja vajalikud. Erinevate genoomiosade uurimise kõrval on aina tähtsamaks muutunud kogu genoomi sekveneerimine. Hoolimata sellest, et uue põlvkonna sekveneerimismetoodika on läinud oluliselt odavamaks on see endiselt paljudele uurimisgruppidele ülejõu käiv. Samas on ka saadav informatsioonihulk kordades suurem, mille poolest pole see ühegi teise meetodiga võrreldav.

Käesolevas töös tõin näidetena välja vaid mõned taksonid, millel on Y-kromosoomi uuritud. Et saada terviklikumat ülevaadet ja rohkem teada isaliinide rollist imetajate evolutsioonis, siis aina enam üritatakse lisaks autosomaalsetele ja mtDNA markeritele uurida ka Y-kromosoomi. Vaatamata asjaolule, et peaaegu kõigis näidetena välja toodud töodes leiti, et Y-kromosoom on oodatust väga palju madalama mitmekesisusega (Meadows, Hawken & Kijas 2004; Pérez *et al.* 2011; Chan *et al.* 2012; Bidon *et al.* 2014), on isaliinil siiski suur osa fülogeneetilistes ja fülogeograafilistes protsessides ning selle uurimise tähtsust ei tohiks



alahinnata. Koduhiire, mägikitse, gibbonite ja karude taksonite uuringud tõid välja, et isaliini põhjal saadud tulemused erinevad emaliini omadest. Need näited viitavad sellele, et fülogeneesi uuringud, mis kajastavad vaid mtDNA tulemusi, võivad olla puudulikud ning peale Y-kromosoomi andmete analüüsimist võivad arusaamad mitmete taksonite fülogeneesi kohta muutuda. Ainult emaliini põhise mtDNA uurimisest jääb väheks ning Y-kromosoomi analüüsimine toob esile uusi ja huvitavad aspekte, mida tuleks tulevikus lähemalt tundma õppida.

Perekond *Capra* ja mägikitse uurimisel selgus, et erinevalt mtDNA-st oli Y-kromosoomi järgi koostatud taksonoomia mõlemal juhul suurel määral vastavuses kehtiva süstemaatikaga, mis on loodud morfoloogiliste tunnuste alusel. Kuna Y-kromosoomis paiknevad geenid mõjutavad sekundaarsete sootunnuste arengut (sarvede ja hammaste kasv, keha suurus), siis võiks selle põhjal eeldada, et Y-kromosoomi geneetiline varieeruvus allub sugulisele valikule ning mõjutab tunnuseid, mille põhjal on taksonoomiat koostatud (Roldan & Gomendio 1999).

Hajumine on laialt levinud mehhanism, mis mõjutab oluliselt populatsioonistruktuuri ja geneetilist mitmekesisust. See esineb väga paljudel taksonitel, kuid hajumise kaugus ja asjaolud on eri liikidel väga varieeruvad. Igale liigile on omane spetsiifiline populatsioonistruktuur, mis hõlmab ka sugupoolte erinevaid migratsioonimustreid. Seetõttu on väga oluline uurida nii ema- kui ka isaliini kirjeldavaid markereid eraldi, sest tihti on kahe sugupoole hajumine ja sellest tulenev fülogeograafiline ajalugu, väga erinev. Enamikele imetajatele on omane emaste filopatrilisus, mis tähendab seda, et emased jäävad pigem sünnipaiga lähedusse ja isased on need, kes lähevad uut elupaika kaugemalt otsima (Greenwood 1980). Kuna mitmetel imetajatel on dokumenteeritud Y-kromosoomi madalam mitmekesisus (Hellborg & Ellegren 2004), siis võiks sellest teha järelduse, et võib-olla on hajumine ning Y-kromosoomi mitmekesisus omavahel seotud sel viisil, et matrilokaalsuse puhul on Y-kromosoom madalama varieeruvusega kui patrilokaalsetel liikidel. See tähendab seda, et lokaalsele sugupoolele on iseloomulik kõrgem geneetiline struktureeritus (vastavalt kas Y-kromosoom või mtDNA). Seda oletust toetab asjaolu, et šimpansitel, kellele on iseloomulik patrilokaalsus, on Y-kromosoom mitmekesisem kui teistel liikidel, kellele on omane isaste sünnipaigast hajumine. Sarnaseid näiteid saab tuua lindude klassist. Kui selline seaduspära kehtib ka lindudel, et hajuv sugupool on teatud genoomipiirkondades madalama mitmekesisusega, siis peaks patrilokaalsete lindude emassugukromosoom W olema võrreldes Z-kromosoomiga vähema varieeruvam. Greenwood'i (1980) uuringute kohaselt on lindudel laialdasemalt levinud patrilokaalsus ning mitmed uuringud on näidanud, et sellistel

linnuliikidel on Z-kromosoom mitmeid kordi mitmekesisem kui ainult emastele lindudele iseloomulik W-kromosoom (Montell, Fridolfsson & Ellegren 2001; Berlin & Ellegren 2004). Seega kokkuvõttes võib väita, et hajumisel ja populatsioonistruktuuril on Y-kromosoomi mitmekesisuses väga suur roll ning see on kindlasti teema, mida peaks tulevikus põhjalikumalt uurima, et teha edasisi järeldusi.

## Kokkuvõte

Nagu kõikides teistes teadusharudes, nii on ka molekulaarses ökoloogias ja süstemaatikas väga oluline meetodika valik. Geneetilise varieeruvuse mõõtmiseks on mitmeid erinevaid markereid. Igal markeril on omad plussid ja miinused, mistõttu tuleb markereid valida vastavalt sellele, mida täpsemalt uuritakse ja teada tahetakse saada. Et valida sobivaim meetodika, on vajalik teada iga markeri iseloomulikke tunnuseid ning kasutusalasid.

Y-kromosoom on isastele imetajatele omane sugukromosoom ehk isaliini spetsiifiline marker ning selle uurimisel peab arvestama mitmete omapäradega, millele ma käesolevas töös ka pikemalt keskendusin. Kuid vaatamata sellele, et Y-kromosoomi uurimine on tehniliselt keerukam ja tulemused pole tihti piisavalt varieeruvad, siis on selle uurimine siiski fülogeograafias väga oluline. Y-kromosoomi markerid on asendamatud mitmetel kasutusaladel. Lisaks laialdasele rakendamisele fülogeograafias annavad need olulist informatsiooni ka näiteks liikide hübriidiseerumise uurimisel, kriminalistikas ja populatsioonide väljakujunemise ajaloos.

Enamikes uuringutes on selgunud, et Y-kromosoomi analüüsi tulemused erinevad oluliselt nii mtDNA kui ka autosomaalsete markerite omadest. Sellel võib potentsiaalselt olla väga mitmeid põhjuseid. Üheks peamiseks põhjuseks on see, et isaliin evolutsioneerub erinevalt võrreldes emaliiniga. Kuna Y-kromosoom kandub edasi vaid ühte vanemliini pidi, siis efektiivse populatsiooni suurus on kolm korda väiksem kui X-kromosoomi oma. Ka migratsioon ja sugupoolte erinev hajumine on tegurid, mis põhjustavad Y-kromosoomi teistsuguseid analüüsitulemusi.

Kuna Y-kromosoom annab väärtuslikku infot isaliinide evolutsiooni kohta, siis on selle uurimine eriti oluline liikide puhul, kus emaste ja isaste hajumine sünnikohast on erinev. Siiani on suuremas osas uurimustes toetunud vaid mtDNA-le, mis annab küll hea ülevaate emaliini evolutsioonist, kuid teadmised populatsiooni fülogeneesist jäävad sel viisil ühekülgses. Seetõttu tuleks paralleelselt uurida ka isaliini ning neid kahte võrreldes koostada ühine fülogenees, mis peegeldab kahe sugupoole ühist evolutsiooni. Selle asemel, et kasutada spetsiifilisi markereid eraldi, tuleks kombineerida korraga nii ema- ja isaliini kui ka biparentaalsete markerite andmeid, mille tulemuseks on informatsioon, mis annab palju laialdasema pildi looduslikes populatsioonides esinevast geneetilisest mitmekesisusest ja seal toimuvatest protsessidest.

## Summary

### **Y-chromosome as a genetic marker and the role of paternal lineage in evolutionary processes**

As in all fields of science, including molecular ecology and systematics, it is very important to choose the most adequate methods. There are several different molecular markers to determine genetic variation. Every marker has its own pros and cons and this is why a marker should be chosen according to the research topic. To be able to choose the best method and markers for a specific research, it is important to study thoroughly the characteristics of every marker and be aware of its limitations.

Y-chromosome is a sex-chromosome characteristic in male mammals and has several traits that make it different from other markers. Thus it is crucially important to understand the differences and limitations of this marker when used in research. Although examining Y-chromosome is technically complicated and the genetic variation is often not high enough, Y-chromosome data is very important in phylogeography as it represents the male-driven processes. Y-chromosome analysis is necessary in several fields. In addition to phylogeography it is used in detecting hybridization between different species, criminology and investigating ancient evolution of populations and species.

Research has shown that Y-chromosome data differs significantly from mtDNA and autosomal markers' data. It could potentially have many reasons, and the main one is that the evolution of male lineage is different from the maternal one. Besides that, Y-chromosome is passed on by only one sex and because of that its effective population size is three times lower than for X-chromosome. In addition to these, also migration and dispersal are very important and may cause different outcomes when analysing Y-chromosome.

As Y-chromosome gives valuable information about male lineage, it is especially important to study Y-chromosome in such species where males and females disperse unequally. Until now most of the studies carried out have based on mtDNA data, which gives good information about the evolution of maternal lineage, but no information about the paternal one. Using only mtDNA can yield biased view because it shows only the evolution of the maternal lineage. This is the reason why analysis of both Y-chromosome and mtDNA is preferred as it gives the most comprehensive overview of the phylogeography of different populations.

## **Tänuavaldused**

Eelkõige soovin tänada oma suurepäraseid juhendajaid Peeter Anijalga ja Urmas Saarmat, tänu kelle kannatlikkusele ja põhjalikele nõuannetele see töö valmis. Töö valmimisel olid erakordselt toetavad head sõbrad ja usin Ringi juhatus, tänu kellele sain keskenduda koolitööle. Suur aitäh teile kõigile!

## Kasutatud kirjandus

- Amor, D.J. (2014) Future of whole genome sequencing. *Journal of Paediatrics and Child Health*, **51**, 251–254.
- Avise, J.C. (2000) *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Cambridge (MA): Harvard University Press.
- Beebee, T. & Rowe, G. (2004) *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford University Press.
- Berlin, S. & Ellegren, H. (2004) Chicken W: a genetically uniform chromosome in a highly variable genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 15967–15969.
- Bidon, T., Janke, A., Fain, S.R., Eiken, H.G., Hagen, S.B., Saarma, U., Hallström, B.M., Lecomte, N. & Hailer, F. (2014) Brown and polar bear y chromosomes reveal extensive male-biased gene flow within brother lineages. *Molecular Biology and Evolution*, **31**, 1353–1363.
- Boissinot, S. (1997) Discordant Phylogeographic Patterns Between the Y Chromosome and Mitochondrial DNA in the House Mouse: Selection on the Y Chromosome? *Genetics*.
- Brookes, A.J. (1999) The essence of SNPs. *Gene*, **234**, 177–186.
- Brown, T.A. (2002) *Genomes, 2nd Edition*. Oxford: Wiley-Liss, Manchester.
- Brumfield, R.T., Beerli, P., Nickerson, D. a. & Edwards, S. V. (2003) The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 249–256.
- Chan, Y.-C., Roos, C., Inoue-Murayama, M., Inoue, E., Shih, C.-C. & Vigilant, L. (2012) A comparative analysis of Y chromosome and mtDNA phylogenies of the Hylobates gibbons. *BMC Evolutionary Biology*, **12**, 150.
- Clarke, A.L., Sæther, B.-E. & Røskft, E. (1997) Sex Biases in Avian Dispersal: A Reappraisal. *Oikos*, **79**, 429–438.
- Cozzuol, M. a., Clozato, C.L., Holanda, E.C., Rodrigues, F.H.G., Nienow, S., de Thoisy, B., Redondo, R. a. F. & Santos, F.R. (2013) A new species of tapir from the Amazon. *Journal of Mammalogy*, **94**, 1331–1345.
- Cummins, J. (1998) Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. *Reviews of Reproduction*, **3**, 172–182.
- Cummins, J.M. (2000) Fertilization and elimination of the paternal mitochondrial genome. *Human Reproduction*, **15**, 92–101.
- Diegoli, T.M. (2015) Forensic typing of short tandem repeat markers on the X and Y chromosomes. *Forensic Science International: Genetics*.
- Dobson, F.S., Chesser, R.K., Hoogland, J.L., Sugg, D.W., Foltz, D.W. & Jun, N. (1997) Do Black-Tailed Prairie Dogs Minimize Inbreeding? *Evolution*, **51**, 970–978.
- Edwards, C.J., Suchard, M. a., Lemey, P., Welch, J.J., Barnes, I., Fulton, T.L., Barnett, R., O'Connell, T.C., Coxon, P., Monaghan, N., Valdiosera, C.E., Lorenzen, E.D., Willerslev, E., Baryshnikov, G.F., Rambaut, A., Thomas, M.G., Bradley, D.G. & Shapiro, B. (2011) Ancient hybridization and an irish origin for the modern polar bear matriline. *Current Biology*, **21**, 1251–1258.

- Ellegren, H. (2014) Genome sequencing and population genomics in non-model organisms. *Trends in Ecology and Evolution*, **29**, 51–63.
- Eriksson, J., Siedel, H., Lukas, D., Kayser, M., Erler, A., Hashimoto, C., Hohmann, G., Boesch, C. & Vigilant, L. (2006) Y-chromosome analysis confirms highly sex-biased dispersal and suggests a low male effective population size in bonobos (*Pan paniscus*). *Molecular Ecology*, **15**, 939–49.
- Frankham, R., Ballou, J. & Briscoe, D. (2010) *Introduction to Conservation Genetics*, Second ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Giles, R.E., Blanc, H., Cann, H.M. & Wallace, D.C. (1980) Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **77**, 6715–6719.
- Goldstein, D.B. & Schlötterer, C. (1999) *Mikrosatellites: Evolution and Application*. Oxford University Press.
- Greenwood, P.J. (1980) Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*.
- Greminger, M.P., Krützen, M., Schelling, C., Pienkowska-Schelling, A. & Wandeler, P. (2010) The quest for Y-chromosomal markers - methodological strategies for mammalian non-model organisms. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 409–420.
- Harris, H. (1966) Enzyme polymorphisms in man. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character. Royal Society (Great Britain)*, **164**, 298–310.
- Heinaru, A. (2012) *Geneetika*. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.
- Hellborg, L. & Ellegren, H. (2004) Low Levels of Nucleotide Diversity in Mammalian Y Chromosomes. *Molecular Biology and Evolution*, **21**, 158–163.
- Hindrikson, M., Männil, P., Ozolins, J., Krzywinski, A. & Saarma, U. (2012) Bucking the Trend in Wolf-Dog Hybridization: First Evidence from Europe of Hybridization between Female Dogs and Male Wolves. *PLoS ONE*, **7**, 1–12.
- Hurles, M.E. & Jobling, M. a. (2001) Haploid chromosomes in molecular ecology: Lessons from the human Y. *Molecular Ecology*, **10**, 1599–1613.
- Hurst, L.D. & Ellegren, H. (1998) Sex biases in the mutation rate. *Trends in Genetics*, **14**, 446–452.
- Jobling, M. a & Tyler-Smith, C. (2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age, *Nature Reviews Genetics*, **4**, 598-612.
- Jurka, J. (2000) Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. *Genome Research*, **10**, 967–981.
- Kefena, E., Mekasha, Y., Han, J.L., Rosenbom, S., Haile, a., Dessie, T. & Beja-Pereira, a. (2012) Discordances between morphological systematics and molecular taxonomy in the stem line of equids: A review of the case of taxonomy of genus *Equus*. *Livestock Science*, **143**, 105–115.
- Keis, M., Remm, J., Ho, S.Y.W., Davison, J., Tammeleht, E., Tumanov, I.L., Saveljev, A.P., Männil, P., Kojola, I., Abramov, A. V., Margus, T. & Saarma, U. (2013) Complete mitochondrial genomes and a novel spatial genetic method reveal cryptic phylogeographical structure and migration patterns among brown bears in north-western Eurasia. *Journal of Biogeography*, **40**, 915–927.

- King, J.L. & Jukes, T.H. (1969) Non-Darwinian Evolution. *Nature*, **164**, 788–789.
- Korsten, M., Ho, S.Y.W., Davison, J., PÄhn, B., Vulla, E., Roht, M., Tumanov, I.L., Kojola, I., Andersone-Lilley, Z., Ozolins, J., Pilot, M., Mertzanis, Y., Giannakopoulos, A., Vorobiev, A. a., Markov, N.I., Saveljev, A.P., Lyapunova, E. a., Abramov, A. V., MÄnnil, P., Valdmann, H., Pazetnov, S. V., Pazetnov, V.S., RÖkov, A.M. & Saarma, U. (2009) Sudden expansion of a single brown bear maternal lineage across northern continental Eurasia after the last ice age: A general demographic model for mammals? *Molecular Ecology*, **18**, 1963–1979.
- Kundu, S. & Ghosh, S.K. (2015) Trend of different molecular markers in the last decades for studying human migrations. *Gene*, **556**, 81–90.
- Langergraber, K.E., Rowney, C., Schubert, G., Crockford, C., Hobaiter, C., Wittig, R., Wrangham, R.W., Zuberbühler, K. & Vigilant, L. (2014) How old are chimpanzee communities? Time to the most recent common ancestor of the Y-chromosome in highly patrilocal societies. *Journal of Human Evolution*, **69**, 1–7.
- Lawson Handley, L.J. & Perrin, N. (2007) Advances in our understanding of mammalian sex-biased dispersal. *Molecular Ecology*, **16**, 1559–78.
- Lewontin, R.C. & Hubby, J.L. (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophzla Pseudoobscurai*. *Genetics*, **54**, 595–609.
- Li, M.H., Zerabruk, M., Vangen, O., Olsaker, I. & Kantanen, J. (2007) Reduced genetic structure of north Ethiopian cattle revealed by Y-chromosome analysis. *Heredity*, **98**, 214–221.
- Liu, Z.J. & Cordes, J.F. (2004) DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, **238**, 1–37.
- Luo, S.J., Johnson, W.E., David, V. a., Menotti-Raymond, M., Stanyon, R., Cai, Q.X., Beck, T., Yuhki, N., Pecon-Slattey, J., Smith, J.L.D. & O'Brien, S.J. (2007) Development of Y chromosome intraspecific polymorphic markers in the Felidae. *Journal of Heredity*, **98**, 400–413.
- MacDonald, A.J. (2008) Sex Chromosome Microsatellite Markers from an Australian Marsupial: Development. PhD Thesis. University of Canberra. Canberra.
- Mallet, J. (2005) Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*, **20**, 229–237.
- Meadows, J.R.S., Hawken, R.J. & Kijas, J.W. (2004) Nucleotide diversity on the ovine Y chromosome. *Animal Genetics*, **35**, 379–85.
- Montell, H., Fridolfsson, A.K. & Ellegren, H. (2001) Contrasting levels of nucleotide diversity on the avian Z and W sex chromosomes. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 2010–2016.
- Nuttall, G.H.F., Graham-Smith, G.S. & Strangeways, T.S.P. (1904) *Blood Immunity and Blood Relationship; a Demonstration of Certain Blood-Relationships amongst Animals by Means of the Precipitin Test for Blood*. Cambridge, University press.
- Orlando, L., Male, D., Alberdi, M.T., Prado, J.L., Prieto, A., Cooper, A. & Hänni, C. (2008) Ancient DNA clarifies the evolutionary history of American late Pleistocene equids. *Journal of Molecular Evolution*, **66**, 533–538.



- Pérez, T., Hammer, S.E., Albornoz, J. & Domínguez, A. (2011) Y-chromosome phylogeny in the evolutionary net of chamois (genus *Rupicapra*). *BMC Evolutionary Biology*, **11**, 272.
- Pidancier, N., Jordan, S., Luikart, G. & Taberlet, P. (2006) Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **40**, 739–49.
- Ramírez, O., Ojeda, A., Tomàs, A., Gallardo, D., Huang, L.S., Folch, J.M., Clop, A., Sánchez, A., Badaoui, B., Hanotte, O., Galman-Omitogun, O., Makuza, S.M., Soto, H., Cadillo, J., Kelly, L., Cho, I.C., Yeghoyan, S., Pérez-Enciso, M. & Amills, M. (2009) Integrating Y-chromosome, mitochondrial, and autosomal data to analyze the origin of pig breeds. *Molecular Biology and Evolution*, **26**, 2061–2072.
- Roldan, E.R.S. & Gomendio, M. (1999) The Y chromosome as a battle ground for sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **14**, 58–62.
- Rootsi, S., Behar, D.M., Järve, M., Lin, A. a, Myres, N.M., Passarelli, B., Poznik, G.D., Tzur, S., Sahakyan, H., Pathak, A.K., Rosset, S., Metspalu, M., Grugni, V., Semino, O., Metspalu, E., Bustamante, C.D., Skorecki, K., Villems, R., Kivisild, T. & Underhill, P. a. (2013) Phylogenetic applications of whole Y-chromosome sequences and the Near Eastern origin of Ashkenazi Levites. *Nature communications*, **4**, 2928.
- Saarma, U., Ho, S.Y.W., Pybus, O.G., Kaljuste, M., Tumanov, I.L., Kojola, I., Vorobiev, A. a., Markov, N.I., Saveljev, A.P., Valdmann, H., Lyapunova, E. a., Abramov, A. V., Männil, P., Korsten, M., Vulla, E., Pazetnov, S. V., Pazetnov, V.S., Putschkovskiy, S. V. & Rõkov, A.M. (2007) Mitogenetic structure of brown bears (*Ursus arctos* L.) in northeastern Europe and a new time frame for the formation of European brown bear lineages. *Molecular Ecology*, **16**, 401–413.
- Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P.J., Cordum, H.S., Hillier, L., Brown, L.G., Repping, S., Pyntikova, T., Ali, J., Bieri, T., Chinwalla, A., Delehaunty, A., Delehaunty, K., Du, H., Fewell, G., Fulton, L., Fulton, R., Graves, T., Hou, S.-F., Latrielle, P., Leonard, S., Mardis, E., Maupin, R., McPherson, J., Miner, T., Nash, W., Nguyen, C., Ozersky, P., Pepin, K., Rock, S., Rohlfling, T., Scott, K., Schultz, B., Strong, C., Tin-Wollam, A., Yang, S.-P., Waterston, R.H., Wilson, R.K., Rozen, S. & Page, D.C. (2003) The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, **423**, 825–837.
- Statham, M.J., Murdoch, J., Janecka, J., Aubry, K.B., Edwards, C.J., Soulsbury, C.D., Berry, O., Wang, Z., Harrison, D., Peach, M., Tomsett, L., Chupasko, J. & Sacks, B.N. (2014) Range-wide multilocus phylogeography of the red fox reveals ancient continental divergence, minimal genomic exchange and distinct demographic histories. *Molecular Ecology*, **23**, 4813–30.
- Stone, A.C., Griffiths, R.C., Zegura, S.L. & Hammer, M.F. (2002) High levels of Y-chromosome nucleotide diversity in the genus *Pan*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 43–48.
- Sundqvist, A.K., Ellegren, H., Olivier, M. & Vilà, C. (2001) Y chromosome haplotyping in Scandinavian wolves (*Canis lupus*) based on microsatellite markers. *Molecular Ecology*, **10**, 1959–1966.
- Zedrosser, A., Støen, O.G., Sæbø, S. & Swenson, J.E. (2007) Should I stay or should I go? Natal dispersal in the brown bear. *Animal Behaviour*, **74**, 369–376.
- Zink, R.M. & Barrowclough, G.F. (2008) Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology*, **17**, 2107–21.
- Tammeleht, E., Remm, J., Korsten, M., Davison, J., Tumanov, I., Saveljev, A., Männil, P.,

- Kojola, I. & Saarma, U. (2010) Genetic structure in large, continuous mammal populations: The example of brown bears in northwestern Eurasia. *Molecular Ecology*, **19**, 5359–5370.
- Waits, L., Taberlet, P., Swenson, J.E., Sandegren, F. & Franzén, R. (2000) Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Molecular ecology*, **9**, 421–431.
- Veyrunes, F., Waters, P.D., Miethke, P., Rens, W., McMillan, D., Alsop, A.E., Grützner, F., Deakin, J.E., Whittington, C.M., Schatzkamer, K., Kremitzki, C.L., Graves, T., Ferguson-Smith, M. a., Warren, W. & Marshall Graves, J. a. (2008) Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Research*, **18**, 965–973.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M. & Eggen, A. (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics, Selection, Evolution: GSE*, **34**, 275–305.
- Vilà, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, Ø., Seddon, J., Björnerfeldt, S., Kojola, I., Casulli, A., Sand, H., Wabakken, P. & Ellegren, H. (2003) Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **270**, 91–97.
- Witas, H.W. (2004) Mitochondrial DNA and human evolution: A review Mitochondrial genome. *Anthropological Review*, **67**, 97–110.

## **Internetiallikad**

Internet 1: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/>

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Sandra Poks,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Y-kromosoom kui geneetiline marker ja isaliini roll evolutsiooniprotsessides“,

mille juhendajad on Peeter Anijalg ja Urmas Saarma,

1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
  3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **21.05.2015**