

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND, TERIOLOOGIA ÕPPETOOL

Teivi Laurimäe

**PÕISTANG-PAELUSSI FÜLOGEOGRAAFIA AASIAS NING
KESK- JA LÕUNA-AMEERIKAS, NING
MITOKONDRIAALSE DNA REKOMBINATSIOON ERI
GENOTÜÜPIDE VAHEL**

Magistritöö

Juhendaja Ph.D. Urmas Saarma

TARTU 2014

Sisukord

Sissejuhatus	4
1. Valdkonna ülevaade	5
1.1. Põistang-paeluss	5
1.1.1. Elutsükkel	6
1.1.2. Genotüübid, fülogeneetiline süstemaatika ja taksonoomia	8
1.2. Mitokondriaalne DNA ja selle rekombinatsioon	12
2. Materjal ja meetodika	13
2.1. Bioloogiline materjal	13
2.2. DNA eraldamine	13
2.3. DNA amplifitseerimine	13
2.5. Sekveneerimine	15
2.6. Andmeanalüüs	16
3. Tulemused	17
3.1. Peremeesorganismid ja genotüübid	17
3.1.1. Kesk- ja Lõuna-Ameerikas esindatud peremeesorganismid ja genotüübid	17
3.2.1. Aasias esindatud peremeesorganismid ja genotüübid	19
3.2. Genotüüpide fülogeneetilised võrgustikud	21
3.2.1. Kesk- ja Lõuna-Ameerika G1 proovide fülogeneetilised võrgustikud	21
3.2.2. Aasia proovide G1 ja G3 fülogeneetilised võrgustikud	24
3.2.4. Kesk- ja Lõuna-Ameerika ning Aasia G1 fülogeneetiline võrgustik	28
3.3. Genotüüp G5 fülogeneetiline võrgustik	30
3.4. Genotüüpide G6 ja G7 fülogeneetilised võrgustikud	33
3.5. Võrgustikud oluliselt lühema NAD1 geeni (343 ap) järjestuste põhjal	35
3.5. G1 ja G5 genotüüpide mitokondriaalne rekombinatsioon	37

4. Arutelu	40
4.1. Fülogeneetilise lahutusvõime paranemine oluliselt pikemate järjestuste kasutamise tõttu.....	40
4.2. Genotüübid G1 ja G3.....	41
4.2.1. Lõuna-Ameerika G1	41
4.2.2. Aasia G1 ning G3	42
4.2.3. Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia regioonide kokkuvõte	43
4.3. Genotüüp G5	44
4.4. Genotüübid G6 ja G7.....	44
4.5. Mitokondriaalne rekombinatsioon.....	45
Kokkuvõte	46
Summary in English	48
Tänuavaldused	49
Kasutatud kirjandus	50
LISA 1 – Kõik Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia proovid.....	58
LISA 2 – Haplotüüpidesse kuulunud proovide nimed	66
LISA 3 - Rekombineerunud ala.....	68

Sissejuhatus

Paelusside (*Taeniidae*) sugukonda kuuluva perekonna ehhinokokk (*Echinococcus*) esindajad põhjustavad zoonoose, mida tuntakse koondnime all ehhinokokoosid. Need on haigused, mis on mitmes maailma piirkonnas mitte ainult tõsiseks terviseprobleemiks inimestele ja kodu- ning metsloomadele, vaid sellega kaasnevad ka suured majanduslikud kahjud (Torgerson & Macpherson, 2011).

Tsüstilise ehhinokokoosi põhjustajaks peetakse põistang-paeluss (*Echinococcus granulosus*) on kosmopoliitse levikuga. Liik ise on geneetiliselt väga varieeruv ja selle piires on mitokondriaalse DNA alusel eristatud 10 genotüüpi ehk tüve: G1 kui lamba genotüüp, G3 kui pühvli, G4 kui hobuse, G5 kui veise, G6 kui kaameli, G7 kui sea ning G8 ja G10 on tuntud kui hirvlaste genotüübid. Kirjeldatud on ka genotüüp G9, kuid hetkeseisuga loetakse seda mittekehtivaks tüveks. Samuti peetakse viimaste uuringute valguses ka genotüüpi G2 ehk Tasmaania lamba genotüüpi pigem G1 või G3 mikrovariandiks (Yanagida *et al.* 2012, Nakao *et al.* 2013).

Kuna osa tüvesid on teisest geneetiliselt kauged ning erisused on ilmnenud ka peremehespetsiifilisuse, jm. osas, siis on välja pakutud, et liik *E. granulosus* on tegelikult kompleks, mis koosneb mitmetest eri liikidest (McManus & Thompson, 2003; Thompson, 2008; Saarma *et al.* 2009).

Genotüüpide eristamine ja leviku eripärade kindlakstegemine on inimtervise seisukohalt oluline eelkõige seetõttu, et põistang-paelussi erinevate tüvede patoloogia, peremehespetsiifilisus, tundlikkus kemoteraapias kasutatavatele ainetele ning elutsükli te mustrid ja arengukiirused võivad olenevalt genotüübist suuresti varieeruda. Samas puudub siiani põhjalik arusaam põistang-paelussi eri genotüüpide levikuteedest ja –mustritest maailma eri paigus. Ka genotüüpide ühene määramine üksikute geenide põhjal on seniajani võrdlemisi keerukaks osutunud.

Käesoleva töö eesmärgiks on senisest suurema arvu geneetiliste tunnuste kaasamisel saavutada oluliselt parem fülogeograafiline lahutus- ja seletusvõime ning seeläbi ühtlasi tuua selgust küsimusse, kas geograafiliselt lähestikku paiknevad isendid on üksteisega ka geneetiliselt sarnasemad ning millised on seosed eri piirkondades esinevate isolaatide vahel.

1. Valdonna ülevaade

Ehhinokokoos on zoonoos, mida põhjustavad paelusside sugukonda (*Taeniidae*) kuuluva perekond ehhinokokk (*Echinococcus*) esindajad. Ehhinokokoos mõjub vaheperemehele sageli rängemini ja on tõsisemate tagajärgedega kui seda on haigus parasiidi lõpp-peremehel (Eckert *et al.* 2001a). Põistang-paelussid põhjustavad vaheperemeestel tsüstilist (cystic echinococcosis, CE) ning alveokokk-paelussid ehk alveokokid (*E. multilocularis*) alveolaarset ehhinokokoosi (alveolar echinococcosis, AE). Eristatakse ka polütsüstilist ehhinokokoosi (polycystic echinococcosis), mille põhjustajateks peetakse liike *E. vogeli* ja *E. oligarthrus* (Jenkins *et al.* 2005).

Mitmed uuringud on näidanud, et ehhinokokoosid kui nakkushaigused on maailmas üha suureneva tähtsusega probleemid inimese ja koduloomade tervisele ning vaatamata mitmete edusammudele kontrollprogrammide loomisel erinevates riikides (nt Argentiina), püsib antud zoonoos paljudes piirkondades veel siiani ühe olulise ohuna (Pierangeli *et al.* 2007; Mandal & Mandal, 2011).

Perekonna *Echinococcus* süstemaatika on samas siiani ebaselge. Laiemalt levinud seisukoha alusel tunnustatakse antud perekonnas viit liiki: põistang-paeluss, alveokokk-paeluss, *E. vogeli*, *E. oligarthrus*, *E. shiquicus* (Moro & Schantz, 2009). Paelussi *E. felidis*, nagu ka mitmete *E. granulosus* kompleksi kuuluvate genotüüpide, liigistaatuse üle veel vaieldakse.

1.1. Põistang-paeluss

Täiskasvanud isend, kes elab kinnitunult lõpp-peremehe peensoole limaskestal, on lülilise kehaga, mis on harva pikem kui 7 mm ning koosneb enamasti kolmest kuni neljast lülist (harvem kuni kuus) (Thompson & McManus, 2001). Päis on varustatud nelja iminapa ja nookudega. Sarnaselt teiste paelussidega, puudub ka paelussil *E. granulosus* seedeelundkond. Toidu vastuvõtmiseks kujuneb keha pinnal keerukas mikrotrihhide süsteem, mis on ühenduses süntsütaalse sukeldunud epidermiga.

Põistang-paelussi teise kasvujärgu vastne esineb vaheperemehe erinevates kudedes või organites unilokulaarse põiena, kuid ajapikku võivad tsüsti suurenemisel ilmnedu seinasissiosipistumised ning seeläbi tekkivad sekundaarsed kojad, mis on ühenduses keskse süvendiga (Eckert *et al.* 2001a; Pawlowski *et al.* 2001). Inimorganismis on põied võimelised

kasvama ebatavaliselt suureks ning seetõttu võivad primaarse tsüsti sees areneda ka tütararakud (Craig *et al.* 2003).

1.1.1. Elutsükkel

Elutsükli läbimiseks on põistang-paelussile oluline kahe imetajast peremehe olemasolu – lõpp-peremehe, kelleks võivad olla erinevad karnivooridest koerlased, ning vaheperemehe, kelleks on enamasti mitmed herbivoorid. Inimene on parasiidile üldjuhul nii-öelda tupikperemeheks (vt. Joonis 1) (Jenkins *et al.* 2005).

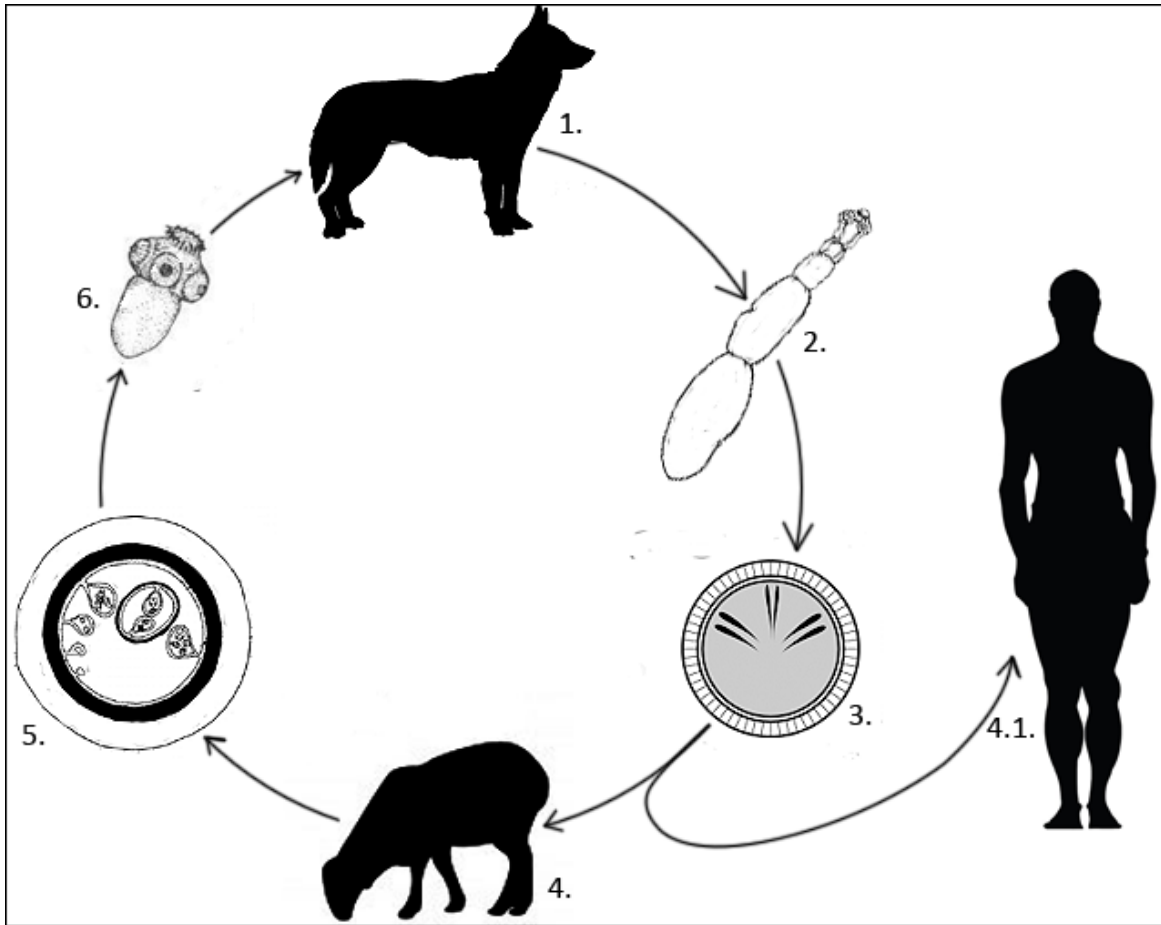
Põistang-paelussil on teada kolme tüüpi elutsükli: 1) koduloomi hõlmav; 2) metsloomi hõlmav ja 3) segatsükkel. Koduloomi hõlmavas tsükliks on vaheperemeesteks erinevad herbivooridest kariloomad (veised, hobused, sead, lambad, alpakad, kitsed, kaamlid, pühvlid, jt.) ning lõpp-peremeesteks koerad. Metsloomi hõlmavas tsükliks on parasiidi vaheperemeesteks erinevad sõralised (põdrad, põhjapõdrad, punahirved, jt.) ja lõpp-peremeesteks metsikud karnivoorid (hundid, šaakalid, jt.). Metslooma-tsükkel esineb domineeriva tsükliks maailmas valdavalt piiratud aladel. Nendeks on eelkõige Põhja-Ameerika ja Euraasia väga hõreda inimasustusega alad (Thompson, 2008). Segatsükkel võib esineda nii mõneski endeemilises piirkonnas, kus kodu- ja metsloomade tsükliks on omavahel põimunud. Näiteks on peamisteks nakkuse edasikandjateks segatsükli esinemisel vabalt ringi jooksvad koerad, kes võivad võimaluse avanedes toituda ka metsloomadest (Mandal & Mandal, 2011).

Hermafrodiitsed täiskasvanud paelussid elavad lõpp-peremehe peensooles, kust nende munad või mune sisaldavad küpsed lülid ehk proglotiidid koos roojaga väliskeskkonda väljutatakse. Mune ümbritseva paksu keratiniseerunud kesta tõttu on parasiidi munad võimelised väliskeskkonna mõjutustele kaua vastu pidama (Eckert *et al.* 2001a).

Elutsükli jätkumiseks peab vaheperemees alla neelama põistang-paelussi munad. Nakatumisjärgselt koorub parasiidi muna vaheperemehe peensooles ning vabastab organismi konksuga vastse ehk onkosfääri. Kuue konksukese abil on onkosfäär võimeline läbima peensoole seina ning infiltreeruma vereringesse, millega ta kandub edasi suurematesse filtreerivatesse organitesse nagu maks ja kopsud. Jõudnud oma sihtkohta, kaotab onkosfäär kinnitumisjärgselt oma konksukesed ja arenema hakkab vedelikuga täidetud ehhinokokkpõis. Põie sees kasvavad ja arenevad protoskooleksid ehk paelussi

nakkusvõimelised päised, millest igauks on võimeline arenema küpseks täiskasvanud isendiks (Eckert *et al.* 2001a; Mandal & Mandal, 2011).

Lõpp-peremehe nakatumine toimub juhul, kui sobilik karnivoor sööb paelussi munadega nakatunud toorest liha või sisikonda. Kaksteistsõrmiksoole ülemises osas protoskooleksid evagineeruvad vastusena pH muutusele, sapile ja temperatuuri erinevustele, ning arenevad keskmiselt nelja kuni kuue nädalaga täiskasvanud isendiks. Küpsemisperiood võib aga erinevate tüvede puhul varieeruda (Eckert *et al.* 2001a).



Joonis 1. Põistang-paelussi (*E. granulosus*) elutsükel: 1. – lõpp-peremehed (koerlased); 2. – täiskasvanud paelussid lõpp-peremehe sooles; 3. – keskkonda väljutatavad munad; 4 – vaheperemehed; 4.1. inimene kui võimalik tupikperemees; 5 – vastsed vaheperemes ehk ehhinokokk-põis; 6 – protoskooleksid.

1.1.2. Genotüübid, fülogeneetiline süstemaatika ja taksonoomia

Põistang-paelussil esineb liigisisesele suur geneetiline varieeruvus. Viimasega on seostatud ka mitmeid erinevusi elutsükli mustrites, peremehespetsiifilisuses, arengukiiruses, leviku ulatuses, tundlikkuses kemoteraapias kasutatavatele ainetele, parasiidi patoloogias ja epidemioloogias (McManus *et al.* 2002).

Mitokondriaalse DNA (mtDNA) alusel on eristatud 10 erinevat genotüüpi (G1-G10), mis on olulised inimtervise vaatepunktist just seetõttu, et piirkondades, kus laiemalt on levinud näiteks G5 ja G6 genotüübid, tuleb koerte ravikuuride intervallide määramisel arvestada asjaoluga, et viimaste tüvede puhul on parasiidi areng täiskasvanud isendiks märksa kiirem (Rosenzvit *et al.* 1999).

Kirjeldatud kümne genotüübi hulgas (vt. Tabel 1) on kaks nn. lambatüve (G1, G2), millest G1 on pea kosmopoliitse levikuga ning see on ka peamine tüvi, mida seostatakse inimnakkustega. Suurim esinemissagedus on sageli just piirkondades, kus leidub hulgaliselt lambakasvatust (Eckert *et al.* 2001b; Thompson & McManus, 2001; Thompson & McManus, 2002; Dinkel *et al.* 2004). G2 ehk Tasmaania lamba tüvi levib samuti peamiselt lammaste kaudu, kuid mõningased geneetilised tunnused eristavad seda G1 tüvest, samuti erinevad genotüüpide elutsüklid. Tasmaania lamba tüve on leitud Austraaliast, Tasmaaniast, Türgist ja Argentiinast (Rosenzvit *et al.* 1999; Eckert *et al.* 2001a; Simsek *et al.* 2011). Viimaste uuringute põhjal peetakse aga Tasmaania lamba tüve samas pigem genotüüpide G1 või G3 mikrovariandiks (Busi *et al.* 2007, Snabel *et al.* 2009, Nakao *et al.* 2013).

Pühvli genotüübi (G3), mis levib enamasti veega, eelistatud vaheperemeesteks on vesipühvlid ning antud genotüübi üheks peamiseks levikupiirkonnas on teadaolevalt Lõuna-Aasia.

G4 tüve ehk hobuse genotüübi vaheperemeesteks on hobuslased. Samas puuduvad andmed inimese nakatumistest antud tüvega, mis võib viidata teatud genotüüpide väiksemale patogeensusele ning suutmatusele nakatada inimesi (Eckert *et al.* 2001a).

Genotüübi (G5) vaheperemeesteks Aasias, Lõuna-Ameerikas, Euroopas ja Aafrikas on peamiselt veised ning teadaolevalt on registreeritud ainult üks inimese nakatumise juhus G5 tüvega, mis viitab ilmselt samuti tüve väiksemale patogeensusele võrreldes G1 genotüübiga (Grosso *et al.* 2012).

G6 ehk kaameli genotüüp levib eelistatult vaheperemeeste kaamelite ja kitsede vahendusel. Inimnakkuse kohta on tulnud teateid näiteks Nepaalist (Zhang *et al.* 2000), Iraanist (Harandi *et al.* 2002), Peruust (Moro *et al.* 2009) ja Argentiinast (Rosenzvit *et al.* 1999).

G7 tüve kannavad suuremas osas edasi sead. Dokumenteeritud on mõned juhtumid, mil G7 tüvega on nakatunud ka inimesed, kuid registreeritud haigusjuhtumid on seniajani olnud märgatavalt vähemtõsiste sümptomitega võrreldes teiste *E. granulosus* tüvede poolt põhjustatuga (Eckert *et al.* 2001a; Grosso *et al.* 2012).

Hirvlaste G8 ja G10 genotüübid ringlevad eelkõige Põhja-Ameerikas ja Euraasias metsloomade tsükliks, kus nakatanud lõpp-peremeesteks on peamiselt hundid (*Canis lupus*) ja koerad ning vaheperemeesteks põdrad (*Alces alces*) ja põhjapõdrad (*Rangifer tarandus*). Inimnakkuseid antud tüvega iseloomustab tsüsti asumine peamiselt kopsudes, selle aeglasem ja healoomulisem kasv ning väiksemad komplikatsioonid (Moro & Schantz, 2009).

Poolast pärit sealt on kirjeldatud küll ka genotüüp (G9) (Scott *et al.* 1997; McManus & Thompson, 2003), kuid viimast loetakse hetkeseisuga mittekehtivaks tüveks (Kedra *et al.* 1999; Saarma *et al.* 2009).

Ehhinokokkide perekonna taksonoomia on vastuoluline teema olnud juba aastakümneid. Hiljutised molekulaar-epidemioloogilised uuringud on teadlaste tähelepanu juhtinud vajadusele vaadata üle ehhinokokkide taksonoomia ning sealhulgas tunnustada varasemate süstemaatikute panust. Seda eelkõige seetõttu, et paljud liigid, mis kirjeldati üle 50. aasta tagasi, kuid tunnistati hilisemalt kehtetuks, on nüüdseks põhjalike molekulaarsete uuringute käigus saadud andmete valguses taas arutluse all kui iseseisvad liigid (Thompson & McManus, 2002; Thompson, 2008; Saarma *et al.* 2009). Vasturääkivused ja ebakindlused antud perekonna taksonoomilises jaotuses on suuresti tulenenud piirangutest, mida seadsid morfoloogilised kirjeldused, ja tõendite puudumisest geograafilise või ökoloogilise segregeerumise kohta. Viimase 40. aasta jooksul nii laboris kui välitöödel läbiviidud uuringute põhjal on ilmnenu ka märkimisväärne fenotüübiline varieeruvus ehhinokokkide perekonnas. Seda eelkõige just eri genotüüpide vahel, mis pärinevad mitmesugustelt vaheperemeestelt erinevatest piirkondadest (Thompson, 2008).

Välja on pakutud, et mõningad klaadid paelussi *E. granulosus* kümne genotüübi hulgast väärksid omaette liigistaatust järgnevalt (vt. Tabel 1): G1-G3 kui *E. granulosus sensu stricto*, G4 kui *E. equinus*, G5 kui *E. ortleppi*, G6/G7 kui *E. intermedius* ning G8/G10 kui *E. canadensis*. Arutletud on ka võimaluse üle lõpetada *E. felidis*'e klasterdamine rühma *E.*

granulosus sensu stricto ja määratleda teda pigem kui eraldi liiki (Thompson, 2008; Saarma *et al.* 2009).

Kuigi fülogeneetilised uuringud on suuresti kaasa aidanud perekonna *Echinococcus* taksonoomia paremale mõistmisele, pole ometi veel täit selgust.

Kaasaegsed fülogeneetilised hüpoteesid põhinevad suuresti andmetel, mis pärinevad mtDNA järjestuste uurimisel ja sedagi vaid üksikute geenide põhjal (Nejad *et al.* 2008, Obwaller *et al.* 2004, Pour *et al.* 2011). Samuti on suurem osa seniajani läbi viidud uurimustest jäänud võrdlemisi lokaalseks ning hõlmanud sageli vaid 1-2 riiki (Haag *et al.* 2004, Nejad *et al.* 2011, Jabbar *et al.* 2011), harvem rohkem (Yanagida *et al.* 2012).

Seejuures on vähem tähelepanu pälvinud ka tuumagenoomi järjestustel põhinevad analüüsid. Kuigi mtDNA-l on mitmeid eeliseid (haploidne, suur koopiaarv, ei rekombineeru), on sellel omad märkimisväärsed piirangud. Esiteks pärineb mitokondriaalne DNA emalt ning kui emaliini evolutsioon peaks erinema ülejäänud liigi omast, ei peegeldaks mtDNA enam liigi kui terviku evolutsioonilist minevikku. Veelgi enam – esineda võivad mtDNA järjestuste lülitumised tuuma genoomi ja *vice versa* (Leister, 2005; Saarma *et al.* 2009).

Rekonstrueerimaks liigi täielikku fülogeneesipuud, oleks kindlasti vaja kasutada ka tuumagenoomi andmeid. Paraku, nii nagu mitokondri genoomil, nii on ka tuumagenoomis esinevate tunnuste kasutamisel teada võimalikke ohte. Eriti oluline on tuumagenoomist pärit DNA järjestuste puhul vältida paraloogete geenide kasutamist, mis võivad viia väärade fülogeneesipuude konstrueerimisele.

Seega vaatamata arvukatele katsetele tuua selgust perekonna *Echinococcus* fülogeneetilistesse suhetesse, pole ühtsele arusaamisele veel jõutud. Viimastel aastatel on publitseeritud kolm olulist artiklit, mis aitavad heita pilku selle perekonna fülogeneesile. Neist üks põhineb mitokondri genoomi täisjärjestuste analüüsil (Nakao *et al.* 2007) ja teised tuumageeni analüüsil (Saarma *et al.* 2009; Knapp *et al.* 2011). Kui Saarma *et al.* (2009) tulemused, mis põhinevad viie tuumageeni järjestusel, näitavad, et kogu *E. granulosus* kompleks moodustab monofüleetilise rühma ning *E. multilocularis* ja *E. shiquicus* on sellele sõsartaksoniteks, siis kaks ülejäänud tööd viitavad, et *E. granulosus* ei moodusta monofüleetilist rühma, vaid on parafüleetiline, sisaldades ka liike *E. multilocularis* ja *E. shiquicus* (Nakao *et al.* 2007; Knapp *et al.* 2011). Veelgi enam, mtDNA geenide põhjal on näidatud, et hirvlaste genotüübid G8 ja G10 ei paikne fülogeneesipuul mitte sõsartaksonitena, vaid G10 genotüübiga on lähedasemas suguluses kaameli- ja sea tüved

G6/G7 ning G8 on sõsartakson G6/G7-G10 genotüüpidele (Moks *et al.* 2008). Tuumageenide põhjal võiks väita, et G8 ja G10 moodustavad ühe klaadi ning sõsartakson antud klaadile oleks *E. intermedius* (G6/G7) (Saarma *et al.* 2009).

Hetkeseisuga pole teada, milline neist fülogeneesipuudest on adekvaatne, kuid erinevalt kahest ülejäänust on Saarma *et al.* (2009) töö tulemused kooskõlas morfoloogiliste erisustega eri taksonite vahel perekonnas *Echinococcus*. Kõigil fülogeneesipuudel on samas ka heas kooskõlas olevaid jooni eri genotüüpide omavaheliste evolutsiooniliste suhete osas, samuti on ühiseid jooni varasemate tulemustega - lähisuguluses on parasiidi *E. granulosus* genotüübid G1-G3 (Bowles *et al.* 1994; Thompson *et al.* 1995; Obwaller *et al.* 2004; Jenkins *et al.* 2005; Romig *et al.* 2006; Nakao *et al.* 2007; Busi *et al.* 2007; Rinaldi *et al.* 2008; Saarma *et al.* 2009; Knapp *et al.* 2011). Samuti on *E. felidis* ja *E. granulosus sensu stricto* sõsartaksonid ning nii *E. equinus* (G4) kui *E. ortleppi* (G5) paigutuvad fülogeneesipuul eraldi nii üksteisest kui teistest taksonitest (Le *et al.* 2002; Nakao *et al.* 2007; Saarma *et al.* 2009).

Tabel 1. Põistang-paelussi (*E. granulosus*) tüved, levik ja nende võimalikud liiginimed (Nakao *et al.* 2007; Thompson, 2008; Saarma *et al.* 2009).

Liik	Genotüüp/tüvi	Levik
<i>E. granulosus sensu stricto</i>	Lamba/G1	Kosmpoliitne
	Tasmaania lamba/G2	Aasia, Lõuna-Ameerika, Aafrika, Euroopa, Tasmaania
	Pühvli/G3	Aasia, Euroopa
<i>E. equinus</i>	Hobuse/G4	Euroopa, Lähis-Ida, Aafrika
<i>E. ortleppi</i>	Veise/G5	Euroopa, Aafrika, Aasia, Lõuna-Ameerika
<i>E. intermedius</i>	Kaameli/G6	Lähis-Ida, Aafrika, Aasia, Lõuna-Ameerika
	Sea/G7	Euroopa, Venemaa, Lõuna-Ameerika, Mehhiko
<i>E. canadensis</i>	Hirvlaste/G8	Põhja-Ameerika põhjaosa, Euraasia
	Fennoskandia hirvlaste/G10	Põhja-Ameerika põhjaosa, Euraasia
<i>E. felidis</i>	Lõvi	Aafrika

1.2. Mitokondriaalne DNA ja selle rekombinatsioon

Paelusside mitokondriaalne genoom on kaheahelaline mitokondrites asuv DNA, mille pikkuseks on ligikaudu 13 000 aluspaari, mis pärandub reeglina terviklikuna emalt järglastele.

Mitokondriaalne DNA on fülogeograafilistes uuringutes osutunud aastate jooksul märkimisväärselt populaarseks geneetiliseks markeriks. Seda eelkõige seetõttu, et mitokondri genoomi koopiaid võib rakust leida suurel arvul. Mitogenoom omab kõrget mutatsioonikiirust (Larsson, 2010). Samuti ei esine loomariiki kuuluvatel taksonitel reeglina mtDNA rekombineerumist. Küll on aga eranditest teada mtDNA rekombineerumist nematoodidelt (*Nematoda*), molluskitelt (*Mollusca*), taimedel ja seentel. Pagaripärmil (*S. cerevisiae*) võib rekombinatsiooni esineda isegi 20-25% ulatuses (Chen, 2013).

2. Materjal ja metoodika

2.1. Bioloogiline materjal

Analüüsiks kasutatud proovid olid aastate jooksul töörühmale saadetud mitmete erinevate koostööpartnerite poolt (vt. LISA 1). Koeproovidena (n=48) saabunud kopsu- ja maksatüstidest eraldati DNA ning säilitati koos genoomse DNA (n=188) kujul saabunud proovidega -80° C juures.

2.2. DNA eraldamine

Koeproovidena saabunud kopsu- ja maksatüstidest kasutati DNA eraldamiseks nii tsüstide siseseina membraani kui protoskoolekseid. DNA eraldati *High Pure PCR Template Preparation Kit*'iga (Roche) vastavalt protokollile.

2.3. DNA amplifitseerimine

DNA amplifitseerimiseks olid Urmas Saarma poolt disainitud uused *E. granulosus* liigispetsiifilised 13 praimerit, mida testiti erinevatel PCR tingimustel. Praimeripaaride tööefektiivsuse katsetamiseks viidi PCR reaktsioonid läbi erinevatel praimerite seondumistemperatuuride vahemikel. Testitud vahemikeks olid 53°C...48°C, 58°C...53°C, 55°C...50 °C. Selle tulemusel selgitati välja nii sobivaim seondumistemperatuuride vahemik (55°C...50°C) kui kaheksa erinevat praimeripaari, millega saadi piisava spetsiifikaga kvaliteetsed PCR produktid kõigi genotüüpidega (vt Tabel 2). Ülejäänud viis praimeripaari jäeti analüüsist kõrvale, kuna ei andnud DNA amplifitseerimisel vajalikku produkti või ilmnes liigne mittespetsiifika. Võttes arvesse ka kehva kvaliteedi tõttu eemaldatud mitokondriaalse DNA piirkonnad, on analüüsiks olevate järjestuste kogupikkus 7188 aluspaari, mis sisaldasid endas täispikkuses 14 geeni kodeerivat ala: CytB (717...1784), ND4L (1798...2058), tRNA-Gln (3282...3343), tRNA-Phe (3343...3405), tRNA-Met (3402...3476), ATP6 (3473...3985), tRNA-Val (4900...4962), tRNA-Ala (4968...5031), tRNA-Asp (5032...5096), ND1 (5100...5993), tRNA-Asn (6010...6075), tRNA-Thr (8358...8422), tRNA-Cys (9400...9462), s-rRNA (9463...10 162), ning lisaks 7 geenifragmenti (tRNA-His, ND4, ND2, tRNA-Pro, COX1, l-rNA ja COX2).

Tabel 2. Analüüsil kasutatud praimerid ja nende poolt amplifitseeritavad DNA järjestuste pikkused aluspaarides.

Praimer	Praimeri järjestus	PCR produkti pikkus
Ef1	TCG TTT TAC ACG CGA TTG AA CT	1271 ap
Er1	ACC TGC TAT GCA GCC CTA TT	
E4f2	GTG ATC CTA TTT TAT TTC AAC	1516 ap
E4r	TGC TAC CTT TGC ACA GTC AA	
E5f	ATG TAT GTG GCT AGA AGG TC	1266 ap
E5r	CAA GAG TGA AAT AAT AGG TGG A	
E6f	TAA GGG TGA TGC AAT TTG AG	1250 ap
E6r	ACA ACC ATC TAC AGC ACG AA	
E10f	GAT TAC TGT TAC TGG TTT TCA	1467 ap
E10r	CAA CTT AAA AAC AAG CAT CAT CA	
E11f	TTT TAT GCT ATT CTT CGG TGT A	1780 ap
E11r	CAA AAA CAC CTC ATT AAA CCA C	
E12f	TTG TGG TGT TTT TAT GAT G	1299 ap
E12r	CAC AGA CGA TAA CCC AGA	
E13f	CGG GTC TTT TAT TTT GAT GTT G	1530 ap
E13r	GAT CCA AAA GCA CAT CGA	

PCR viidi läbi 20 µl-s ning reaktsioonisegu sisaldas 15,4 µl milli-Q puhtusega vett, 2 µl 10x Advantage 2 puhvrit (Clontech), 0,4 µl dNTPde segu (10mM, Fermentas; lõppkontsentratsioon 0,2mM), 1 µl vastava praimerid segu (5 pmol/ml, lõppkontsentratsioon 0,25 µM), 0,2 µl 50x Advantage 2 polümeraasi (Clontech) ning 1 µl eraldatud DNA-d.

PCR reaktsioonid viidi läbi masinatel Eppendorf Mastercycler® Pro S ja Biometra® Tprofessional. PCR reaktsioonide tingimused olid:

Programm „35adv55_50“ (kokku 35 tsükli)

<u>95°C</u>	<u>1 min</u>	
95°C	20 s	
55°C	45 s	-0,5°C iga tsükli kohta, 10 tsükli
<u>68°C</u>	<u>2 min</u>	
95°C	20 s	
50°C	45 s	25 tsükli
<u>68°C</u>	<u>2 min</u>	
68°C	3 min	
5°C	paus	

PCR-i produktide 20 µl-st lahutati 10 µl geelelektroforeesil 1xTAE puhvril. Molekulmassi markerina kasutati O'GeneRuler 1kb Plus (Fermentas). DNA visualiseerimiseks lisati 50 ml geelile 7 µl etiidiumbromiidi (10 mg/ml, lõppkontsentratsioon 1,4 µg/ml). Geel fotografeeriti UV-valguses UVIPro Gold masinaga ning tulemus salvestati UVI Pro tarkvara abil.

Puhastusreaktsioonide läbiviimiseks lisati ühe 10 µl positiivse PCR produkti kohta 1 µl puhastussegu, milleks kasutati 0,05 µl eksonukleas I (EXO I, Thermo Scientific, 20 U/µl; lõppkonts. 1 U/µl) ja 1 µl aluselist fosfataasi (FastAP, Thermo Scientific, 1 U/µl; lõppkonts. 1 U/µl). Puhastusreaktsioonid viidi läbi masinatel Eppendorf Mastercycler® Pro S ja Biometra® Tprofessional. Puhastusreaktsioonide tingimused olid:

Programm „puhastus“

37°C	30 min
<u>80°C</u>	<u>15 min</u>
4°C	paus

2.5. Sekvenerimine

Madalama kvaliteediga proovidele (n=32) viidi kohapeal läbi sekveneerimisreaktsioonid kitiga BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) 10 µl-s reaktsioonisegus, mis sisaldas 4,7 µl milli-Q puhtusega vett, 2 µl 5x BigDye® sekveneerimispuhvril (Applied Biosystems®), 1,6 µl vastavat praimerit (forward ja reverse praimerit jaoks eraldi segud, 1 pmol/µl; lõppkontsentratsioon 0,16 µM), 0,7 µl BigDye® segu ning 1 µl eelnevalt puhastatud PCR produkti.

Sekvenerimisreaktsioonid viidi läbi masinatel Eppendorf Mastercycler® Pro S ja Biometra® Tprofessional. Reaktsioonide tingimused olid:

Programm masinas „ABI 50“

96°C	1 min	
96°C	10 s	
50°C	15 s	25 tsükli
60°C	4 min	
7°C	paus	

DNA sadestamiseks lisati sekvenerimisreaktsiooni produktile 2 µl dekstraanilahust (1,5 M NaOAc/ 250 mM EDTA/dekstraan), 33 µl etanooli (96%) ning hoiti -20°C juures 30 minutit. Tsentrifugimiseks asetati proovid stripirootorisse 25 minutiks 15°C juurde, pööratel 11 800 rpm. Seejärel eemaldati supernatant ja lisati pesemiseks 170 µl etanooli (70%) ning tsentrifugiti 5 minutit 15°C juures (11 800 rpm). Supernatant eemaldati ja sademel lasti kuivada toatemperatuuril 10 minutit ning seejärel lisati sademele 10 µl STOP lahust.

Positiivsed kvaliteetsed PCR produktid saadeti sekvenerimisse Eesti Biokeskuse tuumiklaborisse (n=96) ja firmasse Macrogen (n=96).

2.6. Andmeanalüüs

Järjestused assambleeriti programmiga *Codon Code Aligner v5.0.1* ning joondati ja kontrolliti programmi *Bio Edit v7.2.5* abil. G1 ja G3 proovidel kasutati joendamisel referentsiks GenBank andmebaasist täismitokondriaalset referentsjärjestust NC008075 (Yang *et al.* 2005), G5 puhul NC011122 (Nakao *et al.* 2007), ning G6-G7 korral NC011121 (Nakao *et al.* 2007).

Võrgustikud koostati programmiga *Network v4.6* (Fluxus Technology).

Samuti koostati võrgustikud käesolevate andmete põhjal ka seniajani mitmetes põistang-paelussi fülogeograafiat käsitlevates ning genotüüpe määravates töodes laiemat kasutust leidnud NAD1 geenifragmendi (343 ap) põhjal (GenBank ID: KC579443, Andresiuk *et al.* 2013).

3. Tulemused

3.1. Peremeesorganismid ja genotüübid

Antud töös analüüsitud valimis esinesid genotüübid G1, G3, G5, G6 ja G7. Aasiast ning Kesk- ja Lõuna-Ameerikast oli pärit kokku 236 proovi, millest kõigi valitud praimeritega ei töötanud 94 (vt. Lisa 1). Positiivseid, analüüsi kaasatud proove oli seega kokku 142, mis kõik pärinesid vaheperemeestest seitsmelt erinevalt koduloomalt (lammas, veis, kits, siga, kaamel, pühvel). Tupikperemehena oli Aasiast esindatud ka inimene.

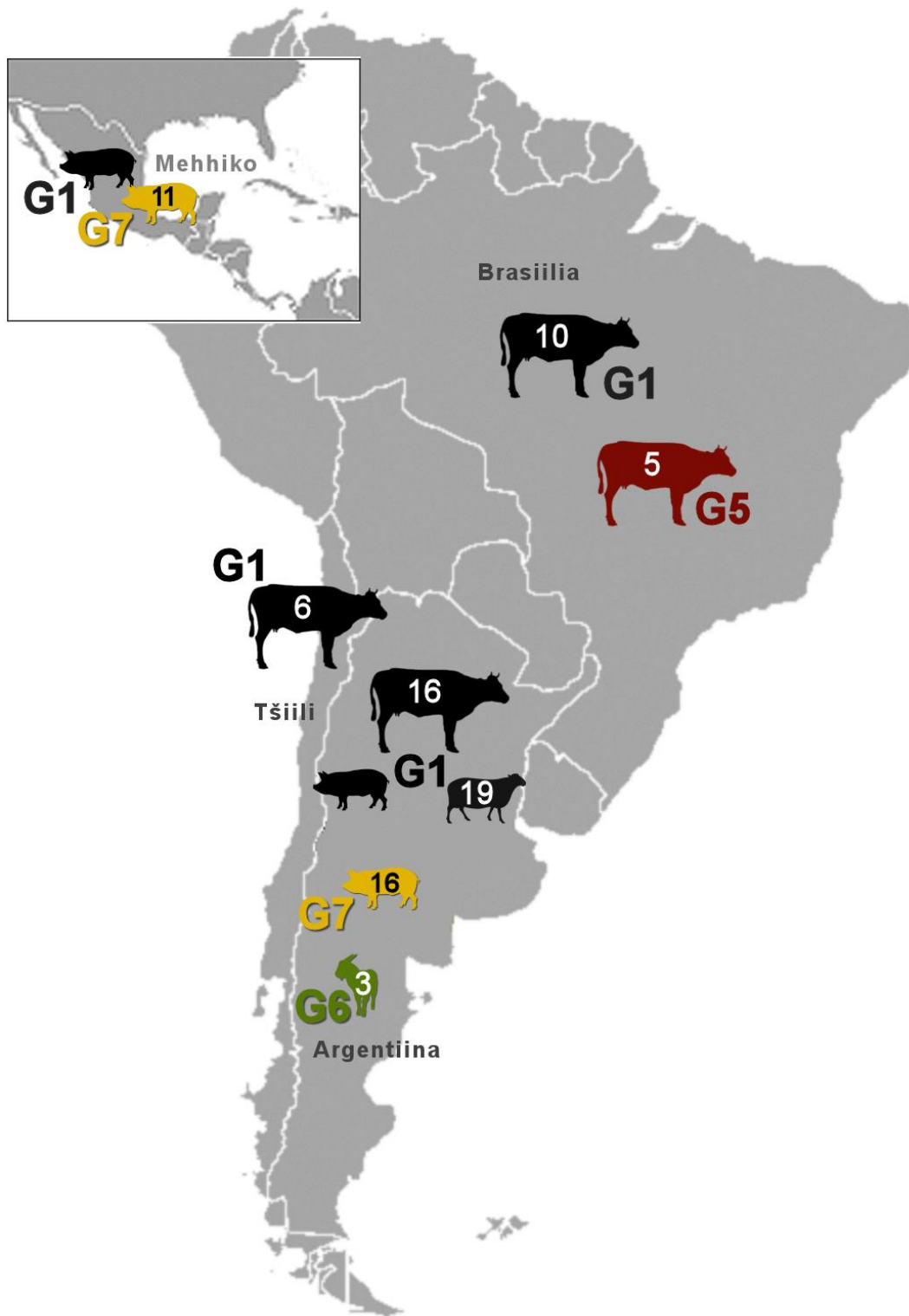
Kõige laiemal peremeesteringiga oli ootuspäraselt G1, mis esines kahe kontinendi peale kogu kõigil valimis esindatud seitsmel erineval vaheperemehel, sealhulgas lisaks ka inimesel. Teiste genotüüpide puhul esinesid kitsamad ning vähem erinevaid peremehi hõlmavad tsüklid - G5 puhul veised Lõuna-Ameerikas ja pühvlid Aasias; genotüübil G6 olid vaheperemeestest esindatud kitsed Lõuna-Ameerikas ja kaamelid Aasias; G7 ehk sea genotüüpi esines ainult sigadel.

3.1.1. Kesk-ja Lõuna-Ameerikas esindatud peremeesorganismid ja genotüübid

Kesk-ja Lõuna-Ameerikast analüüsi kaasatud kõikide proovide arv oli kokku 88 (vt. Lisa 1). Esinenud peremehed ja vastav proovide arv ning tuvastatud genotüüp kanti kaardile (vt. Joonis 3). Esindatud Kesk-ja Lõuna-Ameerika riikideks olid Mehhiko, Brasiilia, Argentiina ja Tšiili.

G1 genotüübi alla kuulusid analüüsitud 88-st proovist 53, millest 36 olid pärit Argentiinast Buenos Airese provintsi. Argentiina G1 proovidest pärines üks kodusealt, 16 veistelt ning 19 lammastelt. Mehhikost esines üks G1 proov kodusealt, Brasiiliast oli 9 G1 proovi veistelt ning Tšiilist kuus G1 proovi samuti veistelt. Ühe Brasiilia veiselt pärit G1 hulka kuuluva proovi puhul esines aga ka mitokondriaalne rekombineerumine genotüübiga G5.

G5 genotüüpi esines antud valimis viiel korral ühel vaheperemehe liigil Brasiiliast, kelleks olid veised. G6 ehk kaameli tüve leiti kolmelt Argentiinast pärit kitselt. Kõik G7 proovid (n=27) olid ainuomased ainult sigadele nii Mehhikos (n=11) kui Argentiinas (n=16).



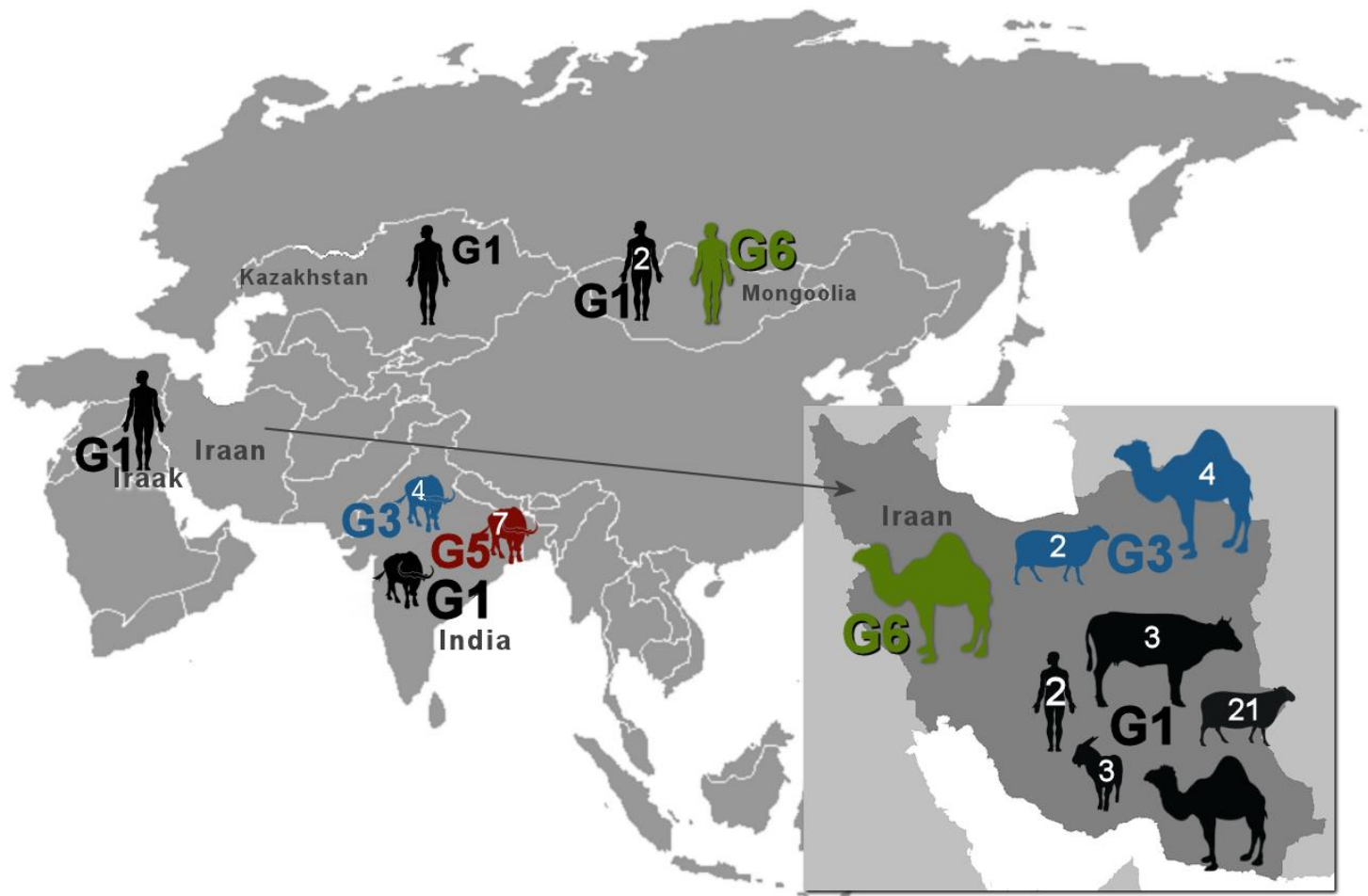
Joonis 3. *E. granulosus* genotüübid ja peremehed Kesk- ja Lõuna-Ameerikas. Peremeesorganismid G1 genotüübiga on kujutatud musta värviga, G5 punasega, G6 rohelisega ja G7 kollasega. Number peremeesorganismi sees tähistab proovide arvu. Numbrita peremeesorganismi kujutised tähistavad üksikuid proove. Peremeesorganismide kujutiste asukohad ei peegelda proovide täpseid leiukohti.

3.2.1. Aasias esindatud peremeesorganismid ja genotüübid

Aasiast sekveneeriti kokku 54 proovi. Esinenud peremehed ja vastav proovide arv ning tuvastatud genotüüp kanti kaardile (vt. Joonis 4). Seejuures kuulusid G1 genotüübi alla kokku 54-st proovist 35 (vt. Lisa 1), millest üks pärines Iraagist (inimene), 30 Iraanist (kaamel, n=1; inimene, n=2; kits, n=3; veis, n=3; lammas, n=21), kaks Mongooliast (inimene) ja üks Kazakhstanist (inimene). G3 ehk pühvli genotüübi hulka kuulusid Aasiast kokku kaheksa proovi, millest kaks olid pärit Indiast (pühvel) ja kuus Iraanist (lammas, n=2; kaamel, n=4).

Indias oli veel esindatud ka G5 genotüüp (7 pühvlit). G6 genotüüpi määrati antud juhul Aasiast kahel korral – ühel korral Iraanist (kaamel) ja ühel korral Mongooliast (inimene).

Lisaks esines Indiast ka kolm pühvlitelt pärit mitokondriaalse DNA rekombineerumise tunnustega proovi, millest üks kuulus G1 alla, kuid oli osaliselt rekombineerunud G5 genotüübiga. Ülejäänud kaks pühvlitelt pärit proovi klasterdusid G3 genotüübi hulka ning olid sarnaselt eelneva G1 prooviga osaliselt rekombineerunud G5 genotüübiga.



Joonis 4. *E. granulosus* genotüübid ja peremehed Aasias. Peremeesorganismid G1 genotüübiga on kujutatud musta värviga, G3 sinisega, G5 punasega ja G6 rohelisega. Number peremeesorganismi sees tähistab proovide arvu. Numbrita peremeesorganismi kujutised tähistavad üksikuid proove. Peremeesorganismide kujutiste asukohad ei peegelda proovide täpseid leiukohti.

3.2. Genotüüpide fülogeneetilised võrgustikud

Geneetilisteks analüüsideks koostati sekveneeritud 7188 nukleotiidi pikkuste mitokondriaalse DNA järjestuste põhjal kolm eraldi fülogeneetilist võrgustikku vastavalt esinenud genotüüpidele: 1) G1 ning G3; 2) G5 ning 3) G6 ja G7. Samuti koostati analüüsis kasutatud järjestustega põhjal ka võrdlevad võrgustikud ainult NAD1 (343 ap) geenifragmendi põhjal: 1) G1 ning G3; 2) G5 ning 3) G6 ja G7, et teada saada, kui suurel määral mõjutab fülogeneetilist „lahutusvõimet“ oluliselt pikemate järjestuste kasutamine võrreldes seni praktiseeritud võrdlemisi lühikeste järjestustega.

3.2.1. Kesk-ja Lõuna-Ameerika G1 proovide fülogeneetilised võrgustikud

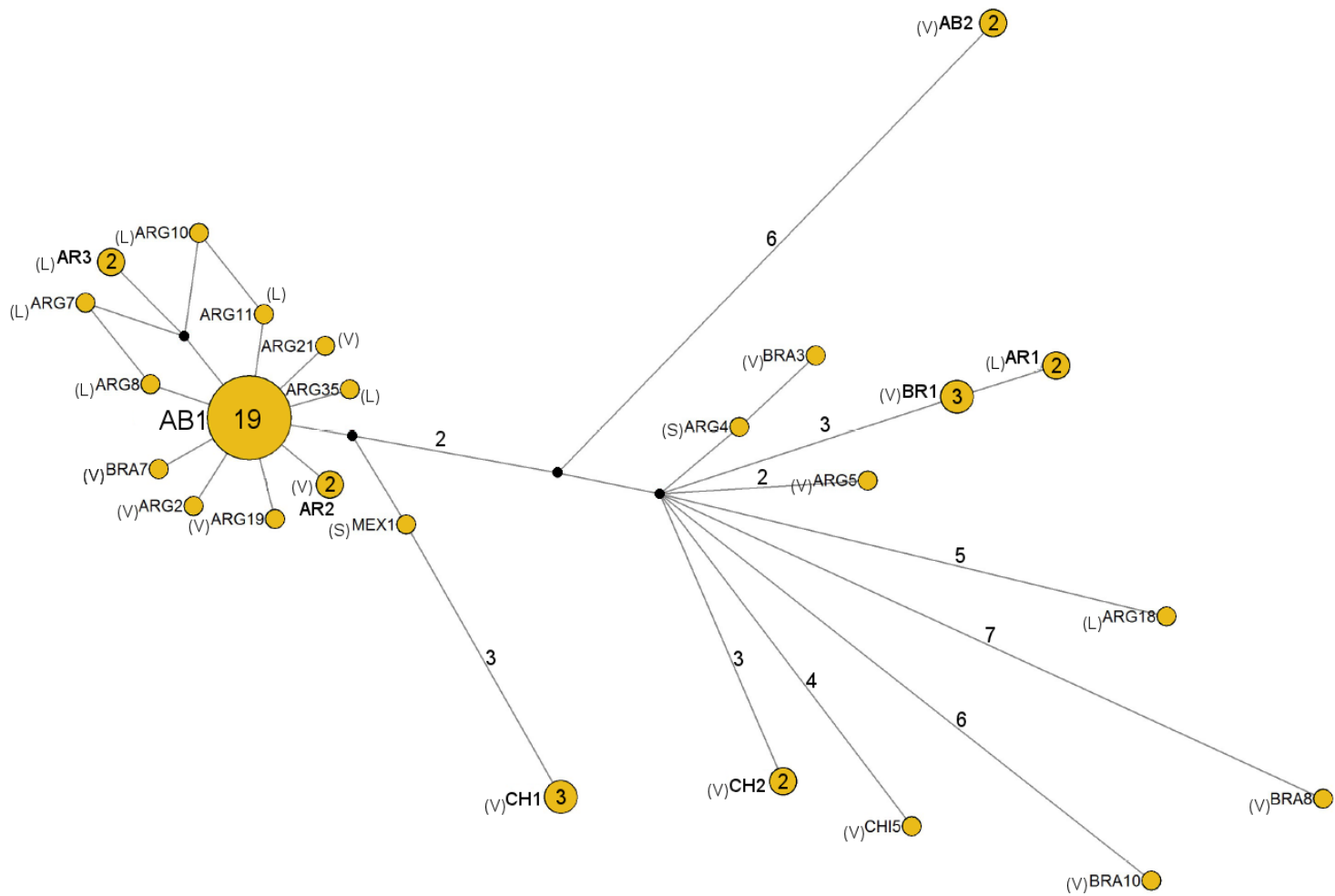
Koostatud fülogeneetiliste võrgustike põhjal jaotusid Kesk-ja Lõuna-Ameerikast pärit G1 genotüübiks määratud 53 proovi kokku 25 haplotüübi vahel (vt Joonis 5). Genotüüpi G3 Kesk-ja Lõuna-Ameerikast pärit valimis ei esinenud.

Veistel esines analüüsi kaasatud 26 proovi põhjal 14 erinevat haplotüüpi, lammaste 19 proovi jaotusid 8 haplotüübi ning kodusigade kaks proovi kahe erineva haplotüübi vahel. Veistel ja lammastel esines ka üks ühine suurem haplotüüp nimega AB1, mis jäi ühtekokku ühendama 19 erinevat proovi. Haplotüübi AB1 hulka kuulunud proovid (täpsemaid andmeid proovide kohta on vt. LISA 2) olid pärit nii Argentiinast Buenos Airese kui Lõuna-Brasiilia Rio Grande de Suli provintsist (täpsemad asukohad vt. Joonis 6).

Lisaks AB1 haplotüübile esines veel 5 väiksemat haplotüüpi (AB2, AR1, AR2, AR3, CH2), millesse igähte kuulus 2 proovi, ning 2 haplotüüpi, mis kumbki jäid ühendama 3 proovi (täpsemad haplotüüpidesse kuuluvad proovide nimed vt. LISA 2). Ülejäänud proovid paiknesid üksikult omaette harude otsas.

Võrgustikelt selgub, et üksteisele geograafiliselt lähemal paiknevad proovid olid reeglina ka üksteisega geneetiliselt sarnasemad (haplotüübid AB1, AB2, AR1-AR3, CH2; proovid BRA3 ja ARG4, AR1 ja BR1).

Pikemate üksikute harude otsa ja teistest samast piirkonnast pärit proovidest geneetiliselt märgatavalt kaugemale jäid aga haplotüüp AB2, proovid BRA8 ja BRA10, haplotüüp CH2 ja proov CHI5. Samas olid aga üksteisega geneetiliselt sarnasemad Tšiili haplotüüp CH3 ning Mehhiko MEX1.



Joonis 5. Kesk-ja Lõuna-Ameerikast pärit genotüüp G1 haplotüüpide võrgustik. Kahte ja enamat proove ühendavad haplotüübid on tähistatud kahe tähega. Täpsemad haplotüüpidesse kuuluvate proovide täpsed asukohad vt. Joonis 6 ning nimed vt LISA 2.



Joonis 6. Kesk-ja Lõuna-Ameerikast pärit G1 genotüübi hulka kuulunud proovide asukohad. Arvud andmepunktide sees kujutavad proovide arvu antud piirkonnas. Numbrita andmepunktid tähistavad üksikuid proove.

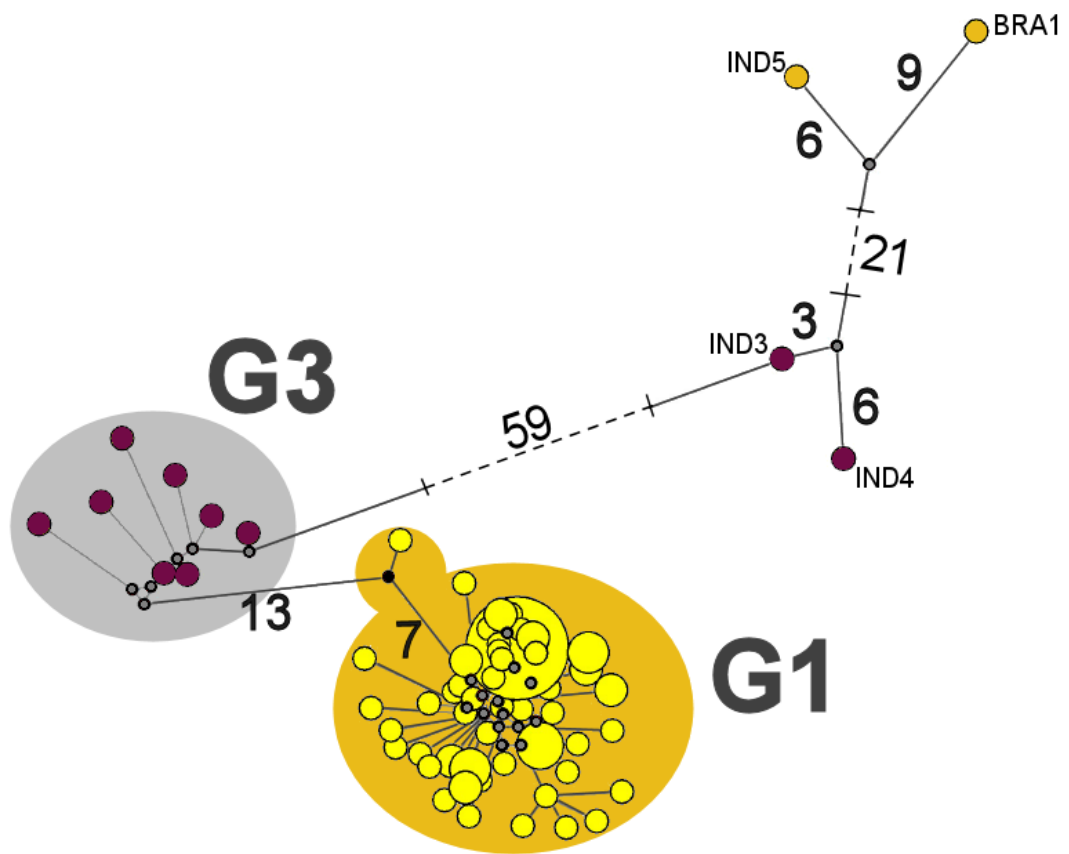
3.2.2. Aasia proovide G1 ja G3 fülogeneetilised võrgustikud

Koostatud fülogeneetiliste võrgustike põhjal jaotusid Aasiast pärit 42 *E. granulosus sensu stricto* kompleksi kuuluvad (G1-G3) proovi 2 suurema selgelt eristuva haplogrupi vahel (vt. Joonis 7). Seejuures kuulusid genotüübi G1 alla 34 proovi ning genotüübiks G3 määrati 8 proovi. Kolmel proovil (IND3, 4, 5) esines mitokondriaalse genoomi rekombinatsioon G5 genotüübiga, mistõttu neid käsitletakse eraldi alapeatükina.

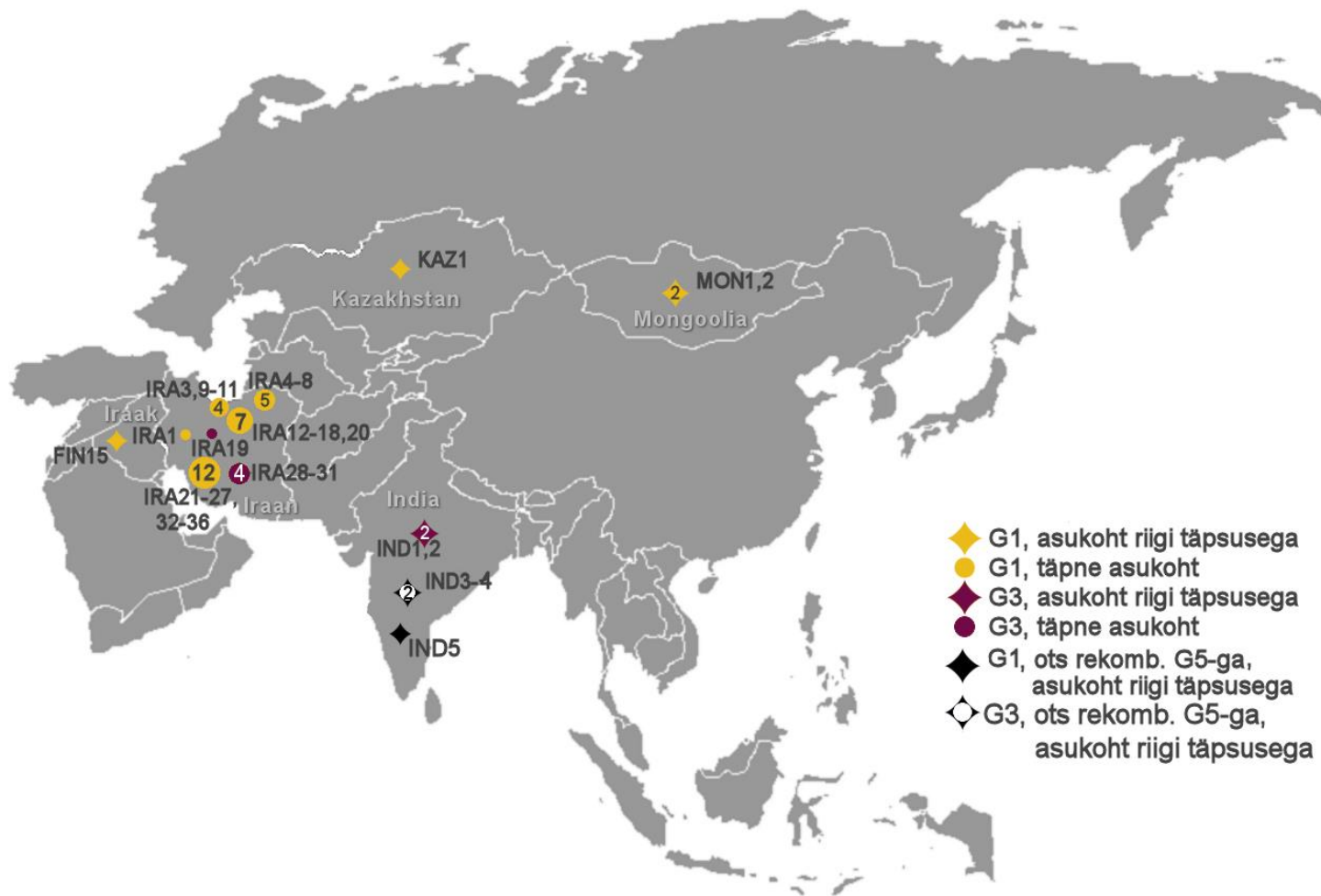
Genotüübi G1 siseselt jaotusid 34 Aasiast pärit proovi 28 erineva haplotüübi vahel (vt. Joonis 8; asukohad vt. Joonis 9). Lammastel (n=21) esines seejuures 17 erinevat haplotüüpi, veistel (n=3) ja kitsedel (n=3) kummalgi kolm erinevat haplotüüpi ning kaamelil (n=1) üks. Inimesel (n=6) esines aga 4 haplotüüpi. Erinevaid, kuid lähipiirkondadesrt pärit proove ühendavatest haplotüüpidest esines kolm väiksemat (MO1, IR2 ja IR3) kahte proovi sisaldavat haplotüüpi ning üks (IR1) haplotüüp, mis ühendas nelja proovi.

Võrgustikelt selgub, et üksteisele geograafiliselt lähemal paiknevad proovid olid reeglina üksteisega küll geneetiliselt sarnasemad, jäädes teineteisest vaid üksikute mutatsioonide kaugusele, kuid suuremaid tsentraalseid haplotüüpe samas ei moodustunud ja valdav osa proovidest paiknesid siiski eraldi harude otsas. Seejuures jäi teistest märgatavalt geneetiliselt kaugemaks üks Iraanist kaamelilt pärit proov (IRA27).

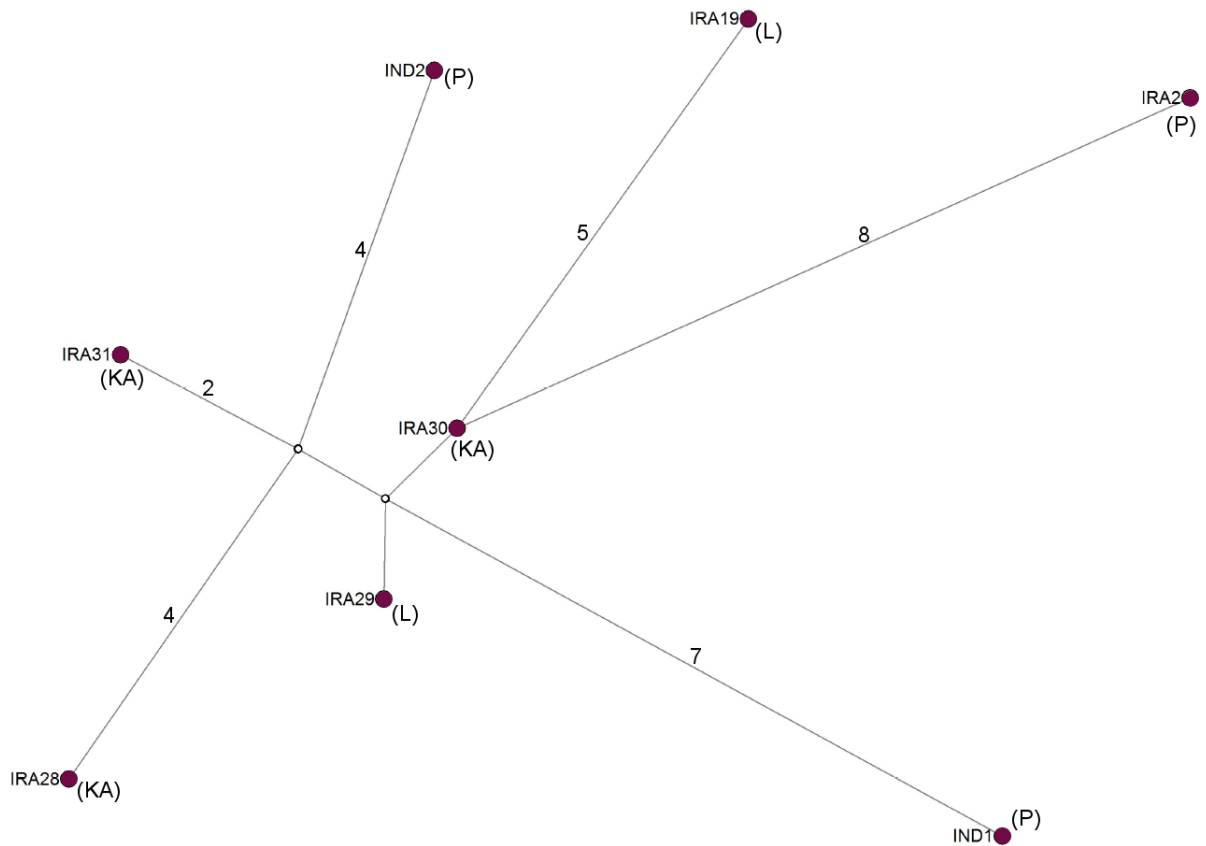
G3 puhul jaotusid kõik proovid eraldi haplotüüpidesse (n=8; asukohad vt. Joonis 9; vt Joonis 10;). Nii kaamelitel (n=3) kui pühvlitel (n=3) esines kummalgi kolm haplotüüpi ning lammastel (n=2) kaks. Sarnaselt G1 genotüübiga, oli ka G3 genotüübi hulka kuulunud proovide puhul märgata olukorda, kus geneetiliselt sarnasemad proovid olid pärit geograafiliselt lähedal asuvatest piirkondadest (kõik Iraanist pärit IRA proovid). Samas oli Indiast pärit IND2 aga geneetiliselt sarnasem hoopis Iraani proovidega kui teise Indiast pärit IND1 prooviga.



Joonis 7. Skemaatiline võrgustik G3 paiknemisest G1 genotüübi suhtes. Kahe suurema grupi vahelisel harul on toodud neid lahutanud mutatsioonide arv. Proovid BRA1 ja IND5 (G1) ning IND3 ja IND4 (G3) paiknevad oluliselt kaugemal rekombinatsiooni tõttu.



Joonis 9. Aasiast pärit G1 ja G3 genotüüpide alla kuulunud proovide asukohad. Arvud andmepunktide sees kujutavad proovide hulka antud piirkonnast. Numbrita andmepunktid tähistavad üksikuid proove.



Joonis 10. Genotüüp G3 proovid (Iraanist, IRA ning Indiast, IND). Mutatsioonide arvud on toodud haplotüüpe ühendavatel joontel.

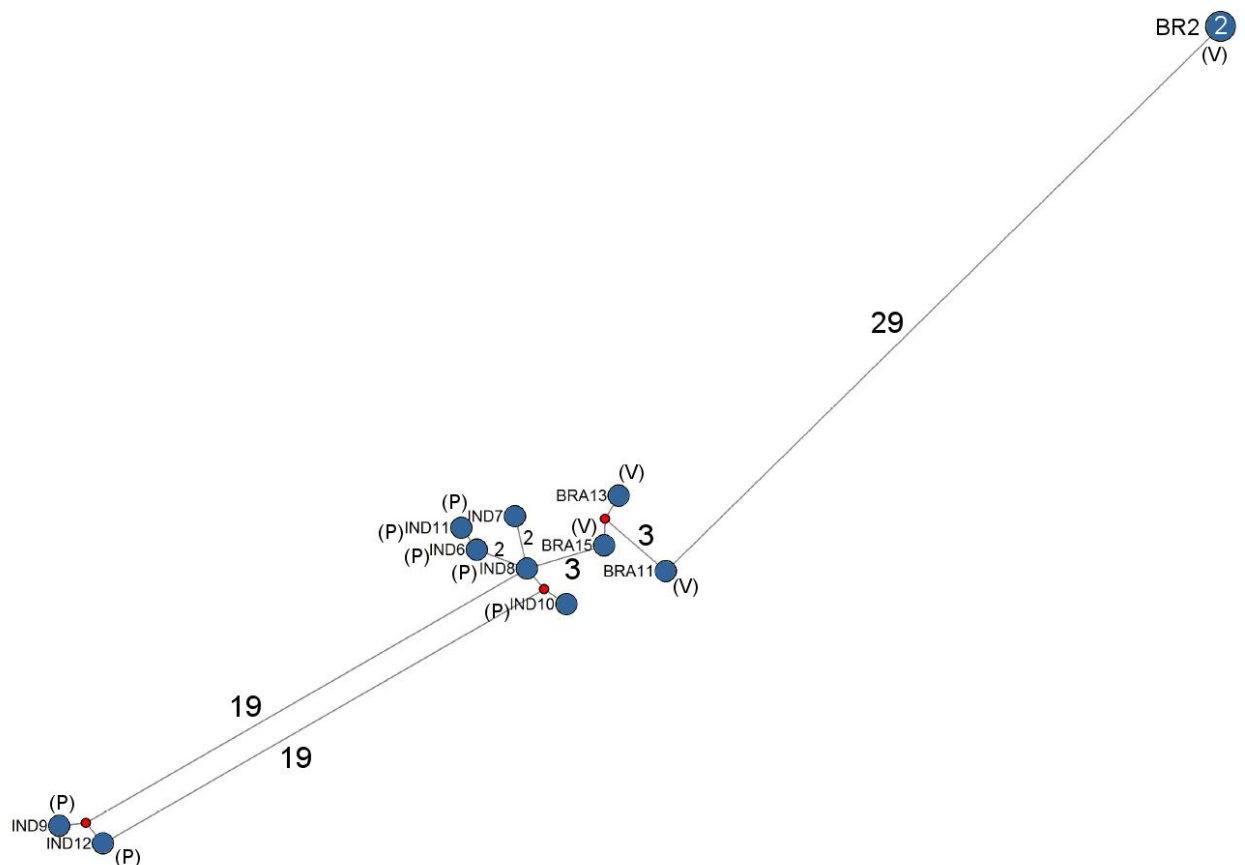
3.2.4. Kesk- ja Lõuna-Ameerika ning Aasia G1 fülogeneetiline võrgustik

Kesk- ja Lõuna-Ameerika proovide ühise G1 fülogeneetilise võrgustiku koostamisel jaotusid kõik 86 proovi kokku 53 haplotüübi vahel (vt. Joonis 11). Ühiseid haplotüüpe ei esinenud ning haplotüüpide mitmekesisus oli võrreldes Lõuna-Ameerikaga suurem eelkõige Aasias.

Võrdleva võrgustiku koostamisel selgus veel, et ühisele harule paigutusid üksikud eri kontinentidelt pärit proovid – IRA18 ja BRA10, IRA3 ja BRA8. Samuti olid geneetiliselt üksteisega arvatust sarnasemad Lõuna-Ameerika haplotüüp AB1 ning Iraani IRA1 ja IRA2 ning Mongoolia MO1 haplotüübid.

3.3. Genotüüp G5 fülogeneetiline võrgustik

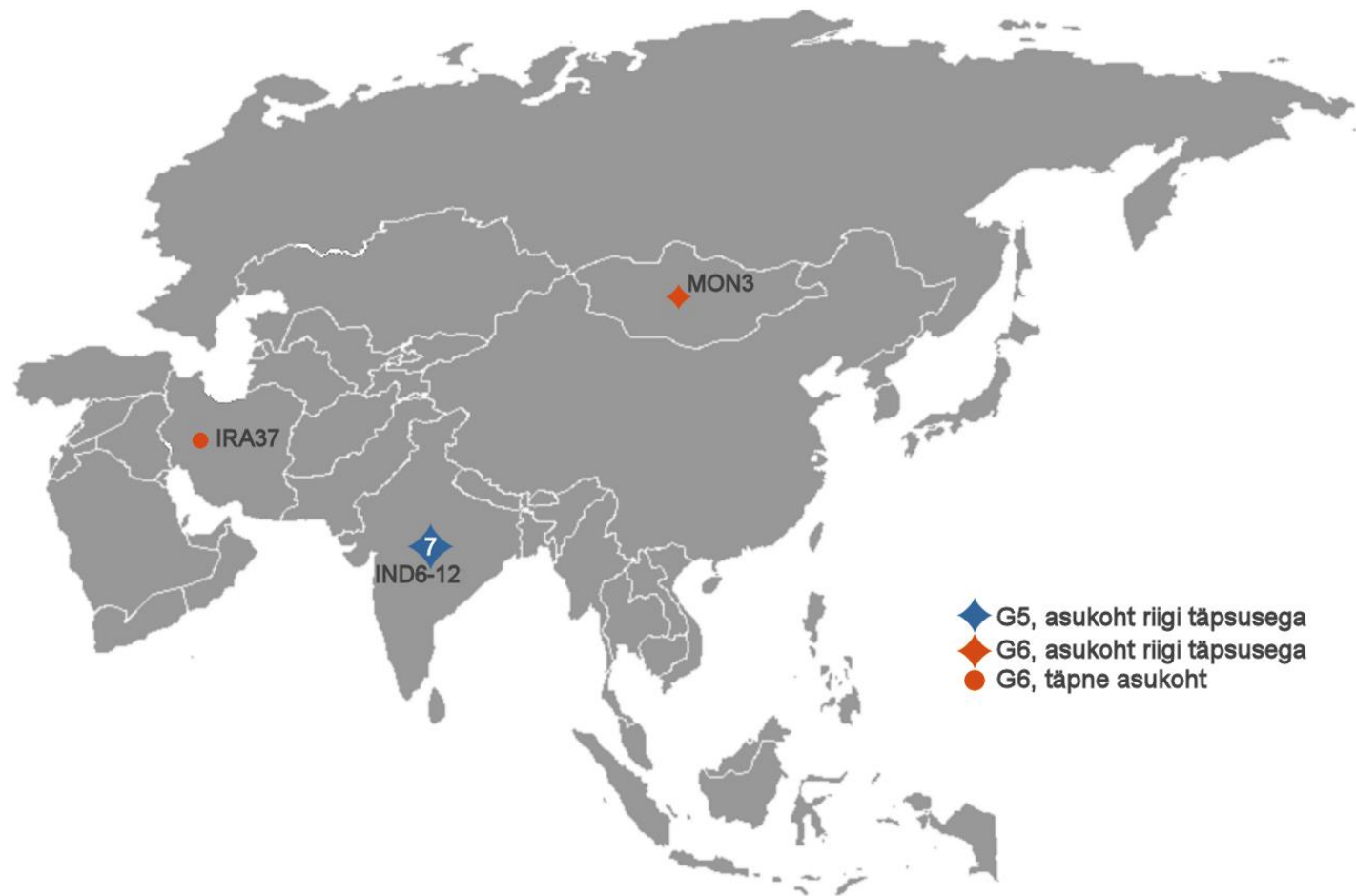
Koostatud fülogeneetilise võrgustike põhjal jaotusid genotüübi G5 hulka määratud veistelt pärit proovid (n=12) kümne haplotüübi vahel (vt. Joonis 12 – Joonis 14). Seejuures moodustus vaid üks, kahte Brasiiliast pärit proovi BRA12 ja BRA14 ühendav haplotüüp BR2. Tulemustest selgub, et haplotüüp BR2 jäi ka teistest G5 haplotüüpidest geneetiliselt kaugemaks. Samuti eristusid teistest samast piirkonnast pärit proovidest kaks India proovi (IND9 ja IND12).



Joonis 12. Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia G5 genotüübi alla kuuluvate proovide võrgustik. Arvud harudel tähistavad mutatsioonide arvu. Haplotüüp BR2 sisaldab proove BRA12 ja BRA14.



Joonis 13. Kesk-ja Lõuna-Ameerikast pärit G5-G7 genotüüpide hulka kuulunud proovide asukohad. Arvud andmepunktide sees kujutavad proovide arvu antud piirkonnas. Numbrita andmepunktid tähistavad üksikuid proove.



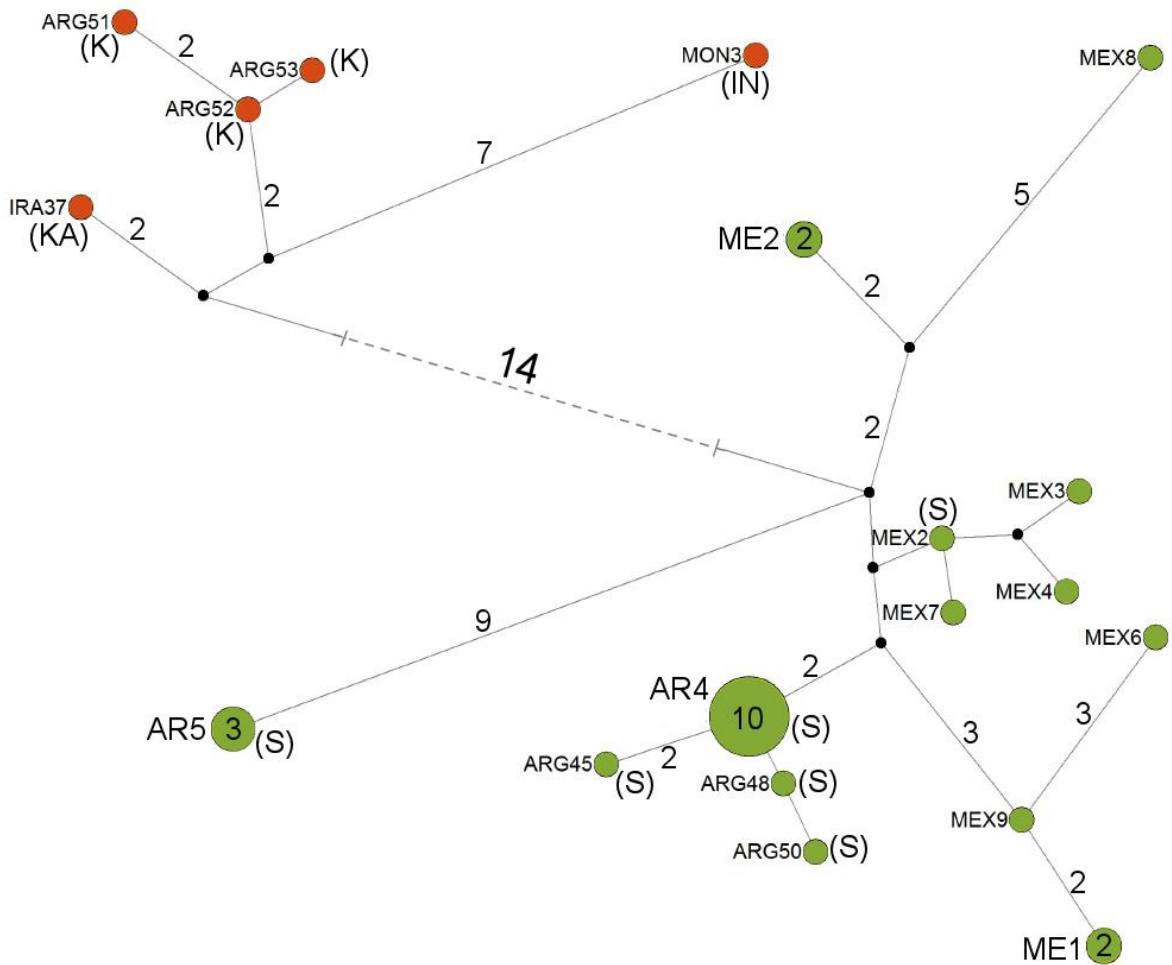
Joonis 14. Kesk- ja Lõuna-Ameerikast pärit G5-G7 genotüüpide hulka kuulunud proovide asukohad. Arvud andmepunktide sees kujutavad proovide arvu antud piirkonnas. Numbrita andmepunktid tähistavad üksikuid proove.

3.4. Genotüüpide G6 ja G7 fülogeneetilised võrgustikud

Tulemustest selgub, et koostatud fülogeneetiliste võrgustike põhjal jaotusid 30 Kesk- ja Lõuna-Ameerikast ning kaks Aasiast pärit proovi selgelt kahe suurema haplogrupi vahel, millest punasega on tähistatud genotüüp G6 ning rohelisega G7 (asukohad vt. Joonis 13 ja 14; vt. Joonis 15).

Genotüübiks G6 määratud (n=5) proovide puhul esines viis erinevat haplotüüpi. Nendest kolm esines Lõuna-Ameerikas kitsedel (n=3), üks Aasias kaamelil (n=1) ja üks samuti Aasias inimesel (n=1). Seejuures olid geneetiliselt üksteisega sarnased ka eri kontinentidelt pärit G6 proovid (nt IRA37 ja ARG51-53).

G7 genotüübi alla kuulunud ülejäänud 27 proovi, mis kõik olid pärit Lõuna-Ameerikast kodusigadelt, jagunesid 14 erineva haplotüübi vahel. Seejuures esines kaks Mehhikost pärit kahte proovi ühendavat haplotüüpi (ME1, ME2), üks kolme Argentiina proovi ühendav (AR5) ja üks suurem 10 erinevat Argentiina proovi ühendav haplotüüp AR4. Võrgustikult selgub veel, et üksteisele geograafiliselt lähemal paiknevad proovid olid reeglina üksteisega geneetiliselt sarnasemad, jäädes teineteisest vaid üksikute mutatsioonide kaugusele. Samas ei moodustunud suuremaid tsentraalseid haplotüüpe. Teistest geneetiliselt kaugemaks jäi aga Argentiina haplotüüp AR5.



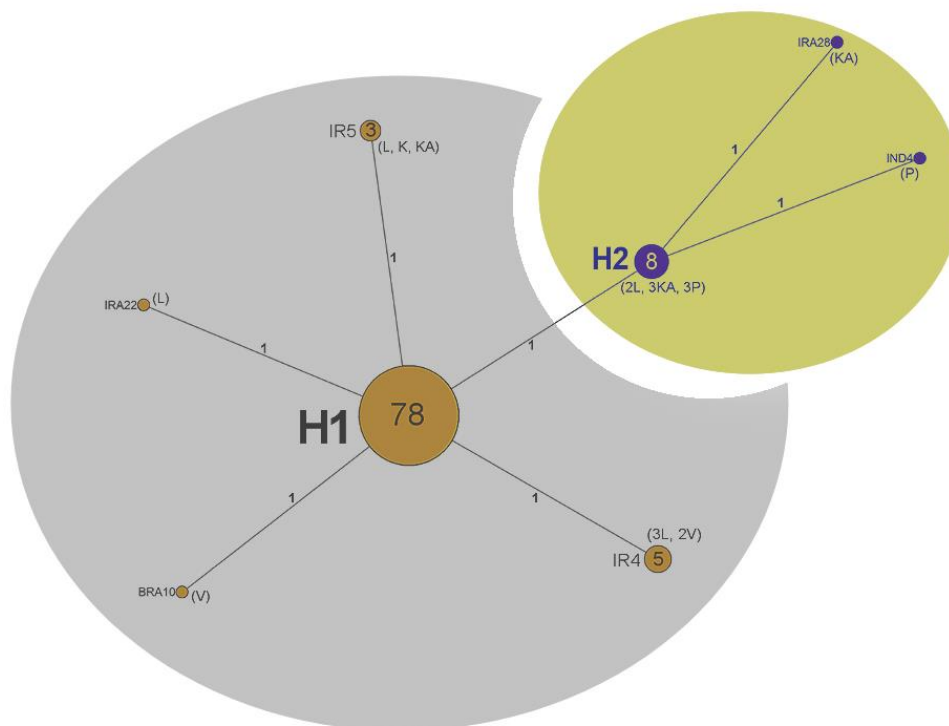
Joonis 14. Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia G6 ning G7 genotüüpide alla kuuluvate proovide võrgustik. Punasega tähistatud haplotüübid tähistavad genotüüpi G6 ning rohelisega on märgitud genotüüp G7. Arvud kahe punkti (sh ka punasega tähistatud mediaanvektorite) vahelisel harul tähistavad mutatsioonide arvu. Täpsemad haplotüüpidesse kuuluvad proovide nimed vt LISA 2.

3.5. Võrgustikud oluliselt lühema NAD1 geeni (343 ap) järjestuste põhjal

Antud töösse kuulunud valimi põhjal koostati ka võrdlevad võrgustikud G1-G3 kompleksi ja G6-G7 ning G5 genotüüpidesse jaotunud järjestustega oluliselt lühema, kuid senini mitmetes töodes genotüüpide määramisel aluseks olnud, NAD1 (343 ap) geeni põhjal.

Tulemustest selgub, et NAD1 geeni abil koostatud võrgustike lahtuvusastmed on oluliselt väiksemad võrreldes töös kasutusel olnud oluliselt pikemate järjestuste (7188 ap, 14 geeni ja 7 geenifragmendi) abil koostatud võrgustikega (vt. Joonis 15 ja Joonis 16). G5 genotüübi korral kuulusid kõik G5 proovid ühte tsentraalsesse haplotüüpi ning seetõttu jäeti antud genotüübile NAD1 võrgustik esitamata.

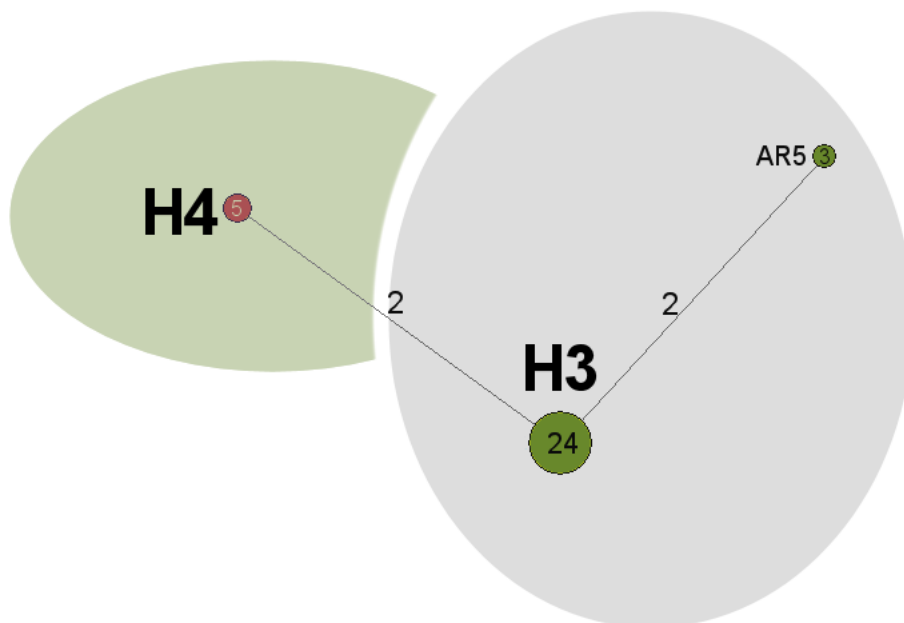
NAD1 geeni abil moodustus *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) kompleksi kuuluvate proovide korral aga tähekujuline võrgustik. Tsentraalseks haplotüübiks on 78 proovi sisaldav H1, millest eristusid vaid 5 erinevat haplotüüpi, millest omakorda ühte (H2) võib pigem pidada ka H1 alamhaplotüübiks (vt. Joonis 15).



Joonis 15. mtDNA geeni NAD1 fragmendi (343 ap) põhjal koostatud Kesk- ja Lõuna-Ameerika ning Aasia genotüüpide G1 ja G3 hulka kuulunud proovide võrgustik. Halli värviga on tähistatud G1 ja rohelisega G3 genotüübid. Täpsemad haplotüüpidesse kuuluvad proovide nimed vt LISA 2.

Ka genotüüpide G6 ja G7 puhul moodustusid NAD1 geeni põhjal koostatud võrgustikel vaid üksikud haplotüübid (n=3; vt. Joonis 16). Niiöelda tsentraalseks haplotüübiks jäi H3, millesse kuulusid kõik eelnevalt pikemate järjestuste alusel G7 genotüübiks määratud proovid. Samaselt pikemate järjestuste korral koostatud võrgustikega paigutus ka NAD1 geeni põhjal moodustatud võrgustikul haplotüüp AR5 eraldi haru otsa, jäädes ühendama 3 Argentiinast kodusigadelt pärit proove.

Eraldi asetus ka haplotüüp H4, mis ühendas kõiki eelnevalt pikemate järjestuste alusel G6 genotüübiks määratud proove. Samas paigutusid haplotüübid H4 ja AR5 võrdsele kaugusele tsentraalsest haplotüübist H3.



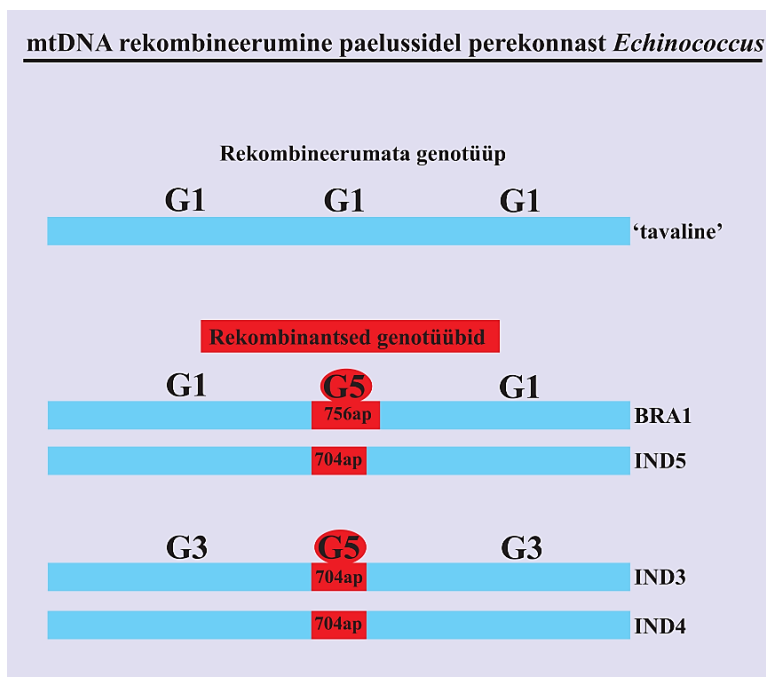
Joonis 16. NAD1 (343 ap) põhjal koostatud Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia genotüüpide G6 ja G7 hulka kuulunud proovide võrgustik. Rohelisega on tähistatud haplotüüp H4, mis esindab ühtlasi genotüüpi G6 kuulunud proove. Halliga on ümbritsetud haplotüübid H3 ja AR5, mis esindavad ühtlasi genotüüp G7 proove. Täpsemad haplotüüpidesse kuuluvad proovide nimed vt LISA 2.

3.5. G1 ja G5 genotüüpide mitokondriaalne rekombinatsioon

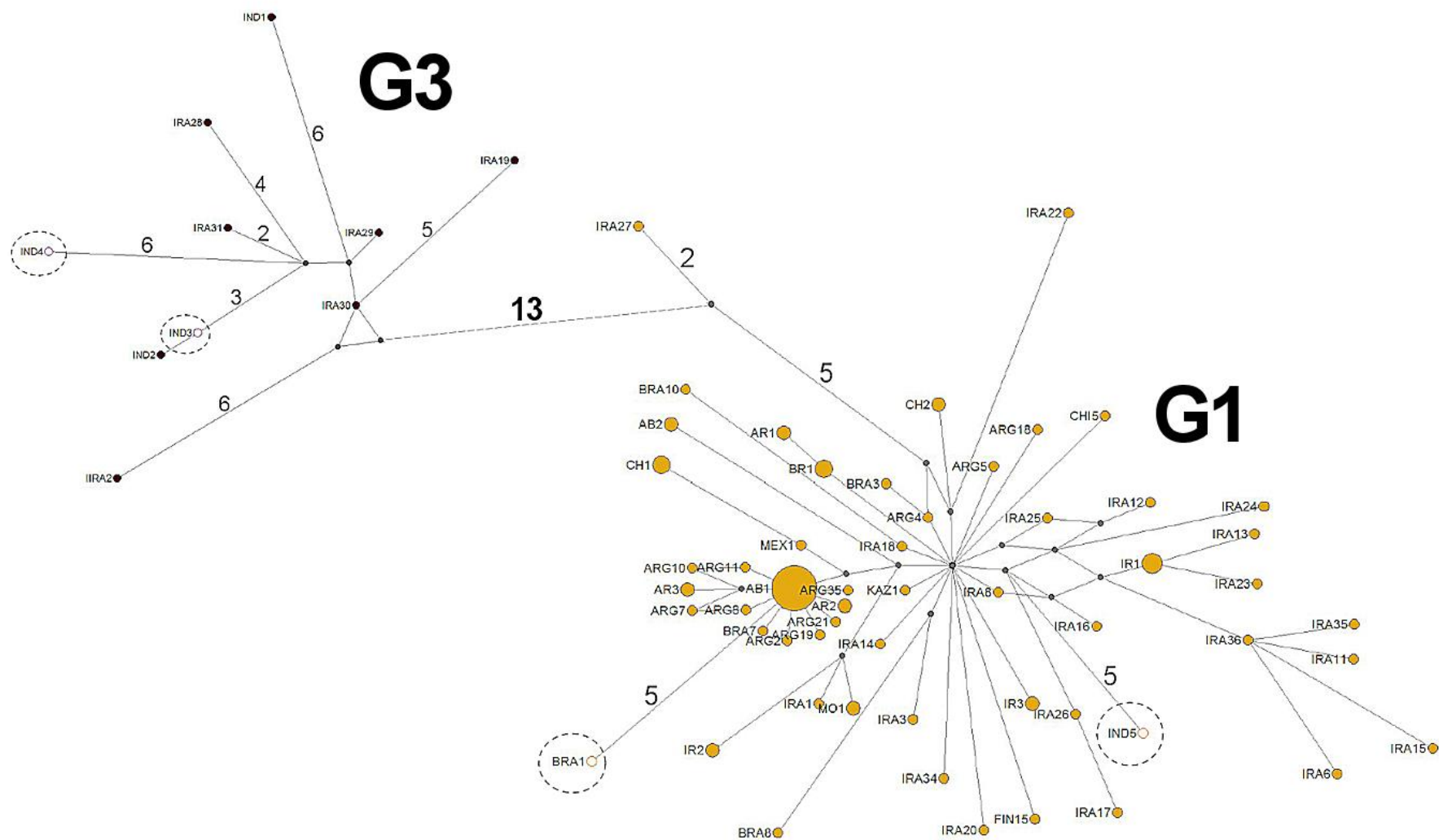
Analüüsitud tulemustest selgus, et 4 proovi puhul (IND 3, 4 ja 5 ning BRA1) esinesid ligikaudu 700 nukleotiidi pikkusel alal ulatuslikud mutatsioonid (vt LISA 3). BRA1 puhul oli tegemist 756 ap, IND3, IND4 ja IND5 korral aga 704 ap pikkuse alaga.

Antud vahemikus sarnanesid järjestused G1 ja G3 genotüüpide asemel hoopis G5 genotüübile omaste DNA tunnustega ning me arvame, et tegemist on mtDNA rekombineerumisega eri genotüüpide vahel (vt. Joonis 17). Seetõttu paigutusid antud neli proovi ka teistest G1 ja G3 proovidest märkimisväärse 59 mutatsiooni kaugusele (vt. Joonis 7).

G5 genotüübiga kattuva ala eemaldamisel ning seejärel G1 ja G3 proove kaasava võrgustiku koostamisel paigutusid IND3 ja IND4 G3 genotüübi hulka, ning vaid üksikute mutatsioonide kaugusele, teistest samast piirkonnast pärit proovidega (vt. Joonis 18). BRA1 ja IND5 paigutusid G1 genotüüpi kuuluvate proovide lähedusse ning samuti vaid üksikute mutatsioonide kaugusele võrreldes teiste samast piirkonnast pärit proovidega. BRA1 oli Argentiina ja Brasiilia proovidega geneetiliselt sarnasem ja IND5 vastavalt siis Aasiast pärit Iraani proovidega.



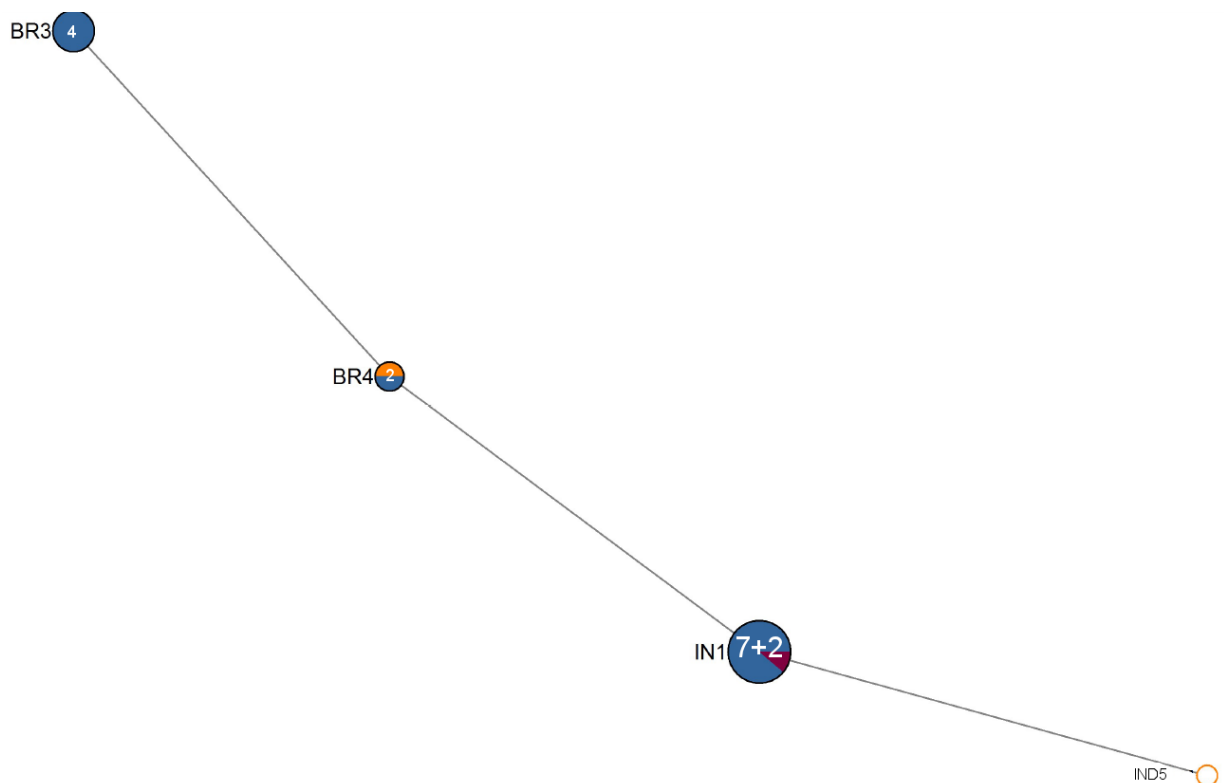
Joonis 17. Skemaatiline joonis tuvastatud mitokondriaalse DNA (mtDNA) rekombineerumisest *Echinococcus* genotüüpide G1 ja G5 (BRA1, IND5) ning G3 ja G5 (IND3, IND4) vahel. Rekombineerunud DNA lõigud on erineva pikkusega: BRA1 (756 aluspaari; ap) ning IND3, IND4 ja IND5 (704ap). Võrdluseks on toodud rekombineerumata genotüüp G1.



Joonis 18. Kesk-ja Lõuna-Ameerikast ning Aasiast pärit G1 ja G3 proovide võrgustikud. Võrgustike koostamiseks on katendliku joonega ümbritsetud proovidel eemaldatud G5 genotüübiga rekombineerunud järjestus.

Eelnevalt eemaldatud G5 genotüübiga sarnaneva ala põhjal koostati ka võrgustikud teiste, tavapärase G5 genotüüpi kuulunud proovide jaoks. Võrgustiku aluseks oli antud 4 proovi põhjal leitud rekombineerunud 756 bp pikkune ala.

Tulemustest selgub, et Brasiiliast veiselt pärit rekombineerunud haplotüüp (BRA1) oli geneetiliselt sarnasem teistele Brasiiliast pärit veiste G5 haplotüüpidele ning rekombineerunud India proovid IND3 ja IND4 klasterdusid kokku teiste Indiast pühvlitelt pärit G5 haplotüüpiga IN1. Neljanda proovi (IND5) puhul ilmnnes, et viimane jäi küll IN1 haplotüübist eraldiseisvaks, kuid samas paigutus ikkagi geneetiliselt lähemale just Indiast pärit proovidele (vt. Joonis 19).



Joonis 19. BRA1, IND3, 4 ja 5 proovide G5 genotüübiga rekombineerunud alaga koostatud võrgustik. Võrdluseks G5 genotüübi proovid. Täpsemad haplotüüpidesse kuuluvad proovide nimed vt LISA 2.

4. Arutelu

4.1. Fülogeneetilise lahutusvõime paranemine oluliselt pikemate järjestuste kasutamise tõttu

Seniajani avaldatud põistang-paelussi geneetilist varieeruvust ja genotüüpe käsitletud tööde põhjal on suurem osa uurimustest andnud tulemusteks võrdlemisi väikese seletus- ja lahutusvõimega fülogeneetilised võrgustikud või -puud. Selgusetuks on jäänud nii genotüüpide G1 ja G3 kui G6 ja G7 omavaheline eristumine. Seda eelkõige seetõttu, et uuringute aluseks on võetud vaid üksikud lookused mitokondriaalsest genoomist. Nii on näiteks mitmed senised uuringud baseerunud NAD1 geeni põhjal (Schneider *et al.* 2010, Andresiuk *et al.* 2013), kuid tulemusteks on samas sageli olnud reeglina madala seletusvõimega tähekujulised võrgustikud. Antud töö raames olid teadaolevalt esmakordselt uurimise all seevastu korraga aga 14 erinevat mitokondriaalset lookust ja 7 geenifragmenti (kokku 7188 ap), mille põhjal koostatud võrgustikel oli võimalik eristada märkimisväärselt suuremal arvul erinevaid haplotüüpe. Selle tulemusel eristusid üksteisest selgelt ka genotüübid G1 ja G3 ning G6 ja G7. Samuti andsid pikemad järjestused selgema ülevaate seni sarnasteks peetud *E. granulosus sensus stricto* kompleksi kuuluvate genotüüpide G1 ja G3 ning *E. intermedius*'e hulka kuuluvate G6 ja G7 vahelisest ning sisesest geneetilisest varieeruvusest.

Veelgi enam, kui varasemad tööd on eelkõige keskendunud regionaalselt vaid ühele-kahele riigile, siis antud töö raames sai valimisse kaasatud proove Aasiast viiest riigist (Iraak, Iraan, India, Kazakhstan, Mongoolia), millest esinduslikumalt sai kaetud Iraan, kust pärines 51 proovi viielt erinevalt peremehelt. Samas senini teadaolevalt Aasias levinud üheksast peremehelt katsid antud töös analüüsitud proovid kuus (kaamel, kits, inimene, lammas, vesipühvel, veis). Nakkusjuhtumeid on registreeritud veel koertelt, sigadelt ja jakkidelt.

Kesk- ja Lõuna-Ameerikast neljast riigist (Mehhiko, Brasiilia, Tšiili ja Argentiina) olid esindatud sead, veised, lambad ja kitsed. Samas on teada veel nakkusjuhtumeid teada veel alpakadelt, koertelt ja inimeselt.

Põhjalikumalt sai analüüsitud Argentiina haiguse üheks endeemiliseks tsentriks peetav Buenos Airese provints. Nii oli 14 geeni ja 7 geenifragmenti alusel koostatud G1 ning G3 võrgustikul võimalik eristada kokku näiteks 65 haplotüüpi (vt. Joonis 10 ja Joonis 11). Seevastu antud järjestuste põhjal, kuid vaid NAD1 geeni aluseks võttes, oli võimalik

võrgustikul eristada vaid 8 erinevat haplotüüpi (vt. Joonis 15). Veelgi enam, sarnaselt *E. granulosus sensu stricto* kompleksi kuuluvate genotüüpide puhul, nii oli ka G6/G7 genotüüpide korral haplotüüpide mitmekesisus NAD1 geeni põhjal märgatavalt väiksem (vt. Joonis 14 ja Joonis 16). Seega andsid oluliselt pikemad (7188 ap) järjestused märkimisväärselt parema fülogeneetilise lahutusvõime.

4.2. Genotüübid G1 ja G3

4.2.1. Lõuna-Ameerika G1

Käesoleva töö tulemused toetavad varasemalt püstitatud hüpoteesi genotüübi G1 siseselt esinevast suurest mitmekesisusest võrreldes teiste põistang-paelussi genotüüpidega (Yanagida *et. al* 2012, Nakao *et al.* 2010, Casulli *et. al* 2012), mis on tõenäoliselt tingitud antud genotüübi väga laiast peremeesteringist ja globaalsest levikupotentsiaalst.

Seejuures viitavad pikemate järjestuste põhjal analüüsitud tulemused aga, et Lõuna-Ameerikas võib esineda vähemalt üks laiemalt levinud haplotüüp (AB1), kuhu kuulusid suurem osa Argentiinast tsüstilise ehhinokokoosi endeemilisest piirkonnast kogutud ning mõned Brasiilia proovid (vt. Joonis 5). See aga viitab omakorda potentsiaalselt olukorrale, kus põistang-paelussi ekspansioon Lõuna-Ameerikasse on olnud võrdlemisi hiljutine ning geneetiline variatsioon võib madalam olla hiljutise asutajaefekti tõttu. Samuti võib suurema arvu sarnaste haplotüüpide potentsiaalne tekkimine ning populatsioonide geneetiliste struktuuride sarnasus olla tingitud tänu geenivoolule, millele on arvatavasti kaasa aidanud loomakaubandus. Nimelt on nii Argentiina kui Brasiilia üheks tõusvaks primaarsemaks eksportartikliks veised. Loomakaubanduse olulisust toetab nii haplotüübi AB1 esinemine kui mitmete teiste eri piirkondadest pärit proovide geneetiline sarnasus (AB2; BRA3 ja ARG4, vt. Joonis 5).

Pikemate järjestuste analüüsimisel on aga märgata ka olukorda, kus Lõuna-Ameerikas on jõudnud tekkima hakata geograafiline segregatsioon, millele viitab mitmete geograafiliselt lähedal asuvate proovide märkimisväärne geneetiline erisus. Nii paigutusid näiteks Brasiiliast Rio Grande de Suli provintsist pärit BRA8 ja BRA10 üksteistest geneetiliselt võrdlemisi lahku (vt. Joonis 5). Samas oluliselt lühemat, kuid seni laialdast kasutust leidnud, NAD1 (343 ap) geeni aluseks võttes pole antud segregerumismustreid võimalik eristada

(vt. Joonis 15), viidates taaskord pikemate järjestuste kasutamise olulisusele fülo-geograafilistes analüüsides.

Ära tasub ka märkimist, et antud töös analüüsitud valimis ei esinenud Lõuna-Ameerikas genotüüpe G2 ja G3, mis on aga tõenäoliselt tingitud eelkõige valimi suhtelisest kallutatusest – suurem osa proove on pärit Argentiina Buenos Airese provintsist, samas kui teised regioonid jäid võrdlemisi alaesindatuks. Varasematest uuringutest on aga teada G3 genotüübi esinemist nii Brasiilias (de la Rue *et al.* 2011; Haag *et al.* 2010) kui Argentiinas (Rosenzvit *et al.* 1999; Rosenzvit *et al.* 2001; Kamenetzky *et al.* 2002; Bartholomei-Santos *et al.* 2003; Haag *et al.* 2004; Guarnera *et al.* 2004). Samuti on Argentiinast tuvastatud veel ka G2 genotüübi esinemist (Rosenzvit *et al.* 1999; Rosenzvit *et al.* 2001; Kamenetzky *et al.* 2002; Bartholomei-Santos *et al.* 2003; Haag *et al.* 2004; Guarnera *et al.* 2004). Sellest tulenevalt oleksid tulevikus täpsemate geograafiliste levikumustrite ja peremeesorganismide trendide tuvastamiseks Lõuna-Ameerikas olulised täiendavad proovide kogumised ning suurema arvu piirkondade kaasamised.

4.2.2. Aasia G1 ning G3

Põistang-paelussi eri genotüüpide eristamine on oluline epidemioloogia ja haiguse kontrollprogrammide loomise vaatepunktist eelkõige seetõttu, et eri genotüüpidelt on teada erinevaid peremeesteringe, arengukiiruseid, fenotüübilist varieeruvust ning patogeensust. Vaatamata aga mitmetele jõupingutustele on genotüüpide ühene eristamine ainuüksi kompleksi *E. granulosus sensus stricto* siseselt senini jäänud võrdlemisi keerukaks ning nii määratakse seniajani proove sageli vaid kuni G1-G3 tasemeni. Veelgi enam – leitud on, et GenBank andmebaasis olevad G1-ks ja G3-ks määratud järjestused on ühe-kahe geeni või geenifragmentide põhjal reaalsuses ikkagi identsed (Yanagida *et al.* 2013).

Antud töös analüüsitud märkimisväärselt pikemad järjestused suudavad potentsiaalselt aga märksa paremini tuvastada erinevaid genotüüpe, paigutades G1 ja G3 proovid üksteisest selgelt lahku ning erinevatesse haplogruppidesse (vt. Joonis 7). Inimesel esinenud haplotüüpidele (MO1, IR3, KAZ1, FIN15) olid geneetiliselt sarnasemad lammastel esinenud haplotüübid (IR2 ja IRA18) ning üks kitsel esinenud haplotüüp IRA1, viidates nii lambakoera kui kitsekoera elutsüklite esinemise olulisusele inimtervise seisukohalt.

Veelgi enam, pikemate järjestuste analüüs kinnitab küll varasemalt teadaolevaid potentsiaalseid levikumustreid, kuid toob samas esile suurema lahtuvuse. Näiteks kui nii

Yanagida *et al.* 2012 poolt üksikute geenifragmentide analüüsimisel leitud tsentraalsed haplotüübid ja antud töös eraldi analüüsitud NAD1 geeni tulemusel eristunud haplotüüp H1 (vt. Joonis 15) viitaksid justkui ühele või mitmele võimalikule laiemalt levinud haplotüübi esinemisele Aasias ja ka mujal maailmas, siis antud valimi analüüsimisel 7188 ap põhjal tsentraalseid haplotüüpe ei eristu ning ka geograafiliselt lähedased proovid jäävad üksteisest geneetiliselt suhteliselt kaugemale ning haplotüüpide mitmekesisus ($n=28$) on võrdlemisi suur (vt. Joonis 8). Viimane kinnitab aga hüpoteesi, mille kohaselt peetakse Lähis-Ida piirkonda, kuhu kuulub ka Iraan, koduloomade kodustamise alaks, millega on ka seletatav suurem geneetiline mitmekesisus selles piirkonnas (kuna divergeerumine on saanud toimuda pikka aega). Seega toetavad ka antud töö tulemused mitmete teiste uuringute hüpoteesi, et radiatsioonid muudesse maailmaosadesse on suuresti saanud alguse just Lähis-Idast (Driscoll *et al.* 2009).

Kuigi antud töö puhul kaasati analüüsi varasemast suuremal arvul regioone, on sarnaselt Lõuna-Ameerikale ka Aasia valimis esindamata G2 genotüüp, ja kuigi see ongi väga harvaesinev genotüüp, on seda siiski registreeritud Indiast (Bhattacharya *et al.* 2006; Pednekar *et al.* 2009). Seetõttu oleksid kindlasti olulised täiendavad proovide kogumised ning veelgi laiemate regionide kaasamised analüüsi.

4.2.3. Kesk- ja Lõuna-Ameerika ning Aasia regionide kokkuvõte

Erinevatelt kontinentidelt pärit G1 proovide geneetilise sarnasuse võrdlemiseks koostati ühine Kesk- ja Lõuna-Ameerika proovide G1 fülogeneetiline võrgustik.

Tulemustest selgub, et Kesk- ja Lõuna-Ameerikast pärit proovid paigutusid võrgustikul üksteisele geneetiliselt lähedamale võrreldes Aasiast pärit proovidega. Samas oli aga üksikute proovide puhul näha ka olukorda, kus eri kontinentidelt pärit proovid olid üksteisega geneetiliselt sarnasemad kui teiste samalt kontinendilt pärit proovidega (näiteks IRA18 ja BRA10, vt Joonis 11).

Kui Kesk- ja Lõuna-Ameerika proovide puhul on näha olukorda, kus suurem osa ühest piirkonnast analüüsi kaasatud proovidest klasterdub kokku ühte haplotüüpi nimega AB1 ning esinevad veel lisaks teised üksikud 2-3 proovi ühendavaid haplotüüpe, siis Aasia puhul võib täheldada, et proovid paigutuvad võrgustikul üksteisest võrreldes Lõuna-Ameerikaga geneetiliselt võrdlemisi kaugemale. Esinevad küll üksikud haplotüübid, mis ühendavad 2-3

proovi, kuid suuremaid, tsentraalseid haplotüüpe ei moodustu ja enamus paiknevad üksikult, teistest mitmete mutatsioonide kaugusel omaette harude otsas.

Antud tulemused viitavad loomakaubanduse järjest suurenevale olulisusele põistang-paelussi geneetilise struktuuri ja fülogeograafiliste mustrite kujunemisel.

4.3. Genotüüp G5

Seni teadaolevalt pole G5 genotüübi korral, mille primaarne elutsüklil hõlmab eelkõige veislasi, leitud suuremat geneetilist varieeruvust võrreldes teiste *E. granulosus* genotüüpidega. Samas on suurem osa uuringutest baseerunud jällegi vaid ühe-kahe lookuse uurimisel (Kamenetzky *et al.* 2002; Haag *et al.* 2004). Pikemate järjestuste analüüsi tulemustest selgub aga, et pikemate järjestuste analüüsimine võimaldab tuvasta ka G5 ehk veise genotüübi siseselt esineb seni arvatust suuremat geneetilist variatsiooni.

Tulemustest selgub samuti, et kuigi geograafiliselt lähedastest piirkondadest pärit proovid olid reeglina üksteisega ka geneetiliselt sarnasemad (vt. Joonis 12) ning Aasiast pärit vesipühvlite proovid olid geneetiliselt lähedasemad pigem just teiste Aasiast pärit vesipühvlite proovidega, siis Lõuna-Ameerikast pärit proovid paigutusid vaid mõne üksiku mutatsiooni kaugusele. Seega esines küll mõningane geograafiline segregeerumine, kuid täpsemate mandrisiseste ja –vaheliste levikumustrite kindlaksegemiseks oleksid vajalikud edasised uuringud ning rohkemal arvul proovide kaasamist riikidest, kust varasemalt on juba teada G5 genotüübi esinemist – näiteks Argentiina (Kamenetzky *et al.* 2002; Haag *et al.* 2004; Guarnera *et al.* 2004), Mehhiko (Maravilla *et al.* 2004) ja Nepaal (Zhang *et al.* 2000).

4.4. Genotüübid G6 ja G7

Sarnaselt *E. granulosus sensu stricto* kompleksi kuuluvate genotüüpidega G1 ja G3 eristusid üksteisest selgelt ka G6 ja G7 genotüübid, mis osutusid varasemalt lühemate järjestuste alusel raskesti eristatavateks (Nakao *et al.* 2013a; vt. Joonis 14).

Seejuures toetavad antud töö tulemused varasemalt püstitatud hüpoteesi, et ka genotüübi G7 siseselt võib esineda suurem geneetiline variatsioon (Turcekova *et al.* 2003). Lisaks selgub veel, et kahe genotüübi vahel eristub selgelt suurem peremehespetsiifilisus – genotüübi G7 esinemine antud valimi põhjal eranditult ainult sigadel ning G6 ringlemine Aasias kaameleid ja Lõuna-Ameerikas kitsi hõlmavates kodulooma tsüklites.

G6 ehk kaameli genotüübi esinemine Lõuna-Ameerikas kitsedel toetab ka varasemalt püstitatud hüpoteesi, et kui antud mandril puuduvad vaheperemeestest kaamelid, siis võivad looduslikuks reservuaarperemeesteks kaameli genotübile olla kitsed (Soriano *et al.* 2010).

4.5. Mitokondriaalne rekombinatsioon

Laiemalt aktsepteeritud paradigma raames eeldatakse, et mitokondriaalne DNA loomariiki kuuluvatel taksonitel ei rekombineeru ning pärandub tervikuna emalt järglastele. Küll aga on rekombinatsiooni tuvastatud näiteks pärmilt (*S. cerevisiae*), kellel võib mitokondriaalse DNA rekombineerumist esineda 20-25% ulatuses (Dujon, Slonimski & Weill 1974; Chen 2013), samuti seentel ja taimedel, ning loomadest peamiselt molluskitel (Chen *et al.* 2013).

Antud töö käigus ilmnis seetõttu teatava üllatusena, et G1, G3 ja G5 genotüüpide vahel võib rekombinatsiooni siiski esineda (vt. Joonis 17), kus G1 ja G3 järjestuste asemel sarnanes teatud osa mitokondri genoomist hoopis G5 genotübile omaste tunnustega (vt. LISA 3), mis viitab võimalikule mtDNA rekombinatsioonile.

Kuigi mitokondriaalset rekombinatsiooni on seni kirjeldatud ka nematoodidelt (*Nematoda*; Hoolahan *et al.* 2012), siis teadaolevalt on see esmakordne mitokondriaalse rekombinatsiooni kirjeldamine lameusside hõimkonnas (*Platyhelminthes*). Tulemuste kinnitamiseks oleksid aga kindlasti vajalikud täiendavad uuringud.

Kokkuvõte

Tsüstilise ehhinokokoosi põhjustajaks peetav põistang-paeluss (*Echinococcus granulosus*) on kosmopoliitse levikuga ehhinokokkide perekonda kuuluv parasiit, kes kujutab endast tõsist ohtu nii inimeste kui koduloomade tervisele ning tema poolt põhjustatava zoonoosiga kaasnevad ka suured majanduslikud kulutused. Liik ise on geneetiliselt väga varieeruv ja selle piires on mitokondriaalse DNA alusel eristatud 9 kehtivat genotüüpi (G1-G8 ja G10; genotüüp G9 on hetkeseisuga kehtetuks tunnistatud).

Teadagi on, et erinevatel genotüüpidel võivad esineda märgatavad erinevused patoloogias, peremehespetsiifilisuses, arengukiiruses ja elutsükli mustrites. Seetõttu oleks genotüüpide ja nende levikumustrite tuvastamine inimtervise seisukohalt äärmiselt oluline. Samas, vaatamata mitmete püüetele tuua selgust antud küsimuses, puudub siiani põhjalik arusaam põistang-paelussi eri genotüüpide levikuteedest ja –mustritest maailma eri paigus. Ka osade genotüüpide (G1-G3, G6-G7) ühene määramine üksikute geenide põhjal on seniajani problemaatiliseks osutunud.

Käesoleva töö raames analüüsiti senisest märgatavalt suuremal arvul tunnuseid arvesse võttes 142 põistang-paelussi proovi üheksast erinevast riigist. Tuvastatud genotüüpideks olid G1, G3, G5, G6 ja G7. Analüüsitud järjestuste kogupikkuseks oli mitokondriaalsest genoomist 7188 aluspaari (14 geeni ja 7 geenifragmenti). Selle tulemusel saavutati senisest oluliselt parem fülogeneetiline lahutusvõime. Üksteisest eristusid selgelt sarnasteks peetud G1 ning G3 ja G6 ning G7 genotüübid. Geograafiliselt üksteisele lähedalasuvad proovid olid reeglina ka geneetiliselt sarnasemad.

Pikemate järjestuste analüüs võimaldas aga tuvastada erinevaid levikumustreid, mis viitasid ka loomakaubanduse olulisusele põistang-paelussi populatsioonide geneetilise struktuuri määrajana.

E. granulosus sensu stricto kompleksi kuulunud proovidel esines suur mitmekesisus nii geneetiliselt kui nakatatud peremeeste osas. Seejuures oli haplotüüpide mitmekesisus märgatavalt suurem loomade kodustamispiirkonnaks peetavas Lähis-Idas. Suur haplotüüpide mitmekesisus esines lisaks G1 ja G3 genotüüpidele ka genotüüpidel G5 ning G7.

Teatava üllatusena ilmnes antud töö käigus aga G1, G3 ja G5 genotüüpide vaheline mitokondriaalne rekombinatsioon, kuna mtDNA rekombinatsiooni on loomariigis üldse väga üksikutel juhtudel tuvastatud ning teadaolevalt pole selle esinemist lameusside hõimkonnas enne käesolevat tööd keegi näidanud.

Summary

Phylogeography of *Echinococcus granulosus* in Asia and Central and South America, and mitochondrial DNA recombination between genotypes

Teivi Laurimäe

Cystic echinococcosis is caused by the taeniid cestode called *Echinococcus granulosus*. This zoonose is not only a major health concern for both humans and livestock, but it is also responsible for huge economic losses each year. The species itself has a broad genetic variability and on the basis of mitochondrial DNA nine distinct genotypes have been identified (G1-G8, G10; G9 is currently considered invalid).

These genotypes have different pathogenic potential, host specificity and life cycle patterns. The maturation time to adult worms in definitive hosts has been known to differ as well between genotypes. However, to date the phylogeographic patterns and differentiation between genotypes remains unclear.

During this study 142 samples of *Echinococcus granulosus* from nine different countries were analysed. The genotypes represented were G1, G3, G5, G6 and G7. The total length of the mtDNA sequences analysed was 7188 base pairs (14 genes and 7 gene fragments). This resulted in a much higher phylogenetic resolution which significantly helped to differentiate between genotypes G1 and G3, G6 and G7. Generally the samples that were situated geographically close to each other were also genetically more similar.

The longer mtDNA sequences also helped to identify high diversity in G1, G3, G6 and G7. However, the haplotype diversity seemed to be much higher in the Middle East where the domestication of wild animals has been thought to have originated from. On the other hand, the data from South America indicated the importance of animal trade in determining the genetic structure and geographical patterns of *E. granulosus*.

A somewhat surprising discovery, however, was the possible recombination of G1, G3 and G5 genotypes. To our knowledge, this is the first record of mitochondrial DNA recombination in flatworms.

Tänuavaldused

Sooviksin tänada oma juhendajat Urmas Saarmat, kelle nõuanded ja kannatlikkus olid asendamatuks abiks töö valmimisel.

Samuti sooviksin tänada erinevaid töörühma koostööpartnereid, kes mitmete aastate vältel töörühma põistang-paelussi proovidega varustanud olid: V. Andresiuk, G. Acosta, H-L. Gonzales, K.L. Haag, M. Irshabdullah, A. Jabbar, A. Lavikainen, H-P. Maravilla, H. Mirhendi, M. Sharbatkori, M.R. Nejad, F. Ponce, V. Snabel ja V. Soriano,

Lisaks avaldaks tänu veel ka Liina Kinkarile, kelle positiivsus ja rõõmsameelsus olid suureks toeks ning motivatsiooniks kogu töö vältel.

Kasutatud kirjandus

- Andresiuk, M. V., Gordo, F. P., Saarma, M., Elissondo, M. C., Taraborelli, A., Casalongue, C., Denegri, G., Saarma, U. (2013) *Echinococcus granulosus* genotype G1 dominated in cattle and sheep during 2003-2006 in Buenos Aires province, an endemic area for cystic echinococcosis in Argentina. *Acta Tropica* 127: 136-142
- Bartholomei-Santos, M.L., Heinzelmann, L.S., Oliveira, R.P., Chemale, G., Gutierrez, A.M., Kamenetzky, L., Haag, K.L., Zaha, A. (2003) Isolation and characterization of microsattellites from the tapeworm *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 126: 599-605
- Bhattacharya, D., Bera, A.K., Bera, B.C., Maity, A., Das, S.K. (2006) Genotypic characterisation of Indian cattle, buffalo and sheep isolates of *Echinococcus granulosus*. *Veterinary Parasitology* doi:10.1016/j.vetpar.2006.09.007
- Bowles, J., Blair, D., McManus, D.P. (1994) Molecular genetic characterization of the cervid strain ('northern form') of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 109: 215-221
- Busi, M., Snabel, V., Varcasia, A., Garippa, G., Perrone, V., De Liberato, C. and Amelio, S. D. (2007) Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Veterinary Parasitology* 150: 75–83
- Casulli, A., Interisano, M., Sreter, T., Chitimia, L., Kirkova, Z., La Rosa, G., Pozio, E. (2012) Genetic variability of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences. *Infection, Genetics and Evolution* 12: 377-383
- Chen, X.J. (2013) Mechanism of homologous recombination and implications for aging-related deletions in mitochondrial DNA. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 77 (3): 476
- Craig, P.S., Rogan, M.T., Campos-Ponce, M. (2003) Echinococcosis: disease, detection and transmission. *Parasitology* 127: S5-S20
- de la Rue, M., Takano, K., Brochado, J.F., Costa, C.V., Soares, A.G., Yamano, K.m Yagi, K., Katoh, Y., Takahashi, K. (2011) Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E.ortleppi* in Southern Brazil. *Veterinary Parasitology* 177: 97-103

- Dinkel, A., Njoroge, E.M., Zimmermann, A., Wälz, M., Zeyhle, E., Elmahdi, I.E., Mackenstedt, U., Romig, T. (2004) A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus-complex*, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *International Journal of Parasitology* 34: 645-653
- Driscoll, C.A., Macdonald, D.W., O'Brien, S.J. (2009) From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *PNAS*. doi: 10.1073/pnas.0901586106
- Dujon, B., Slonimski, P.P., Weill, L. (1974) Mitochondrial genetics IX: a model for recombination and segregation of mitochondrial genomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 78: 415-437
- Eckert, J., Deplazes, P., Craig, P., Gemmell, M.A., Gottstein, B., Heath, D., Jenkins, D.J., Kamiya, M., Lightowers, M. (2001a) Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. pp. 73-100.
- Eckert, J., Schantz, P.M., Gasser, R.B., Torgerson, P.R., Bessonov, A.S., Movsessian, S.O., Thakur, A., Grimm, F., Nikogossian, M.A. (2001b) Geographic distribution and prevalence. In: Eckert, J., Gemmel, M.A., Meslin, F.X., Pawlowski, Z, editors. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. pp. 100-142
- Grosso, G., Gruttadauria, S., Biondi, A., Marventano, S., Mistretta, A. (2012) Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World Journal of Gastroenterology* 18: 1425-1437
- Guarnera, E.A., Parra, A., Kamenetzky, L., Garcia, G., Gutierrez, A. (2004) Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Tropica* 92: 153-159
- Haag, K.L., Ayala, F.J., Kamenetzky, L., Gutierrez, A.M., Rosenzvit, M. (2004) Livestock trade history, geography, and parasite strains: the mitochondrial genetic structure of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Journal of Parasitology* 90: 234-239

- Haag, K.L., Marin, P.B., Graichen, D.A.S., de la Rue, M.L. (2010) Reappraising the theme of breeding systems in *Echinococcus*: is outcrossing a rare phenomenon? *Parasitology* 138: 298-302
- Harandi, M.F. Hobbs, R.P., Adams, P.J., Mobedi, I., Morgan-Ryan, U.M., Thompson, R.C.A. (2002) Molecular and morphological characterization of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran. *Parasitology* 125: 367-373
- Hoolahan, A.H., Blok, V.C., Gibson, T., Downton, M. (2012) Evidence of animal mtDNA recombination between divergent populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Genetica* 140: 19-29
- Jabbar, A., Narankhajid, M., Nolan, M. J., Jex, A.R., Campbell, B.E., Gasser, R.B. (2011) A first insight into the genotypes of *Echinococcus granulosus* from humans in Mongolia. *Molecular and Cellular Probes* 25: 49-54
- Jenkins, D.J., Romig, T., Thompson, R.C.A. (2005) Emergence/re-emergence of *Echinococcus spp.* – a global update. *International Journal for Parasitology* 35: 1205-1219
- Kamenetzky, L., Gutierrez, A.M., Canova, S.G., Haag, K.L., Guarnera, E.A., Parra, A., Garcia, G.E., Rosenzvit, M.C. (2002) Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution* 2: 129-136
- Kamenetzky, L., Gutierrez, A.M., Canova, S.G., Haag, K.L., Guarnera, E.A., Parra, A., Garcia, G.E., Rosenzvit, M.C. (2002) Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution* 2: 129-136
- Kedra, A.H., Swiderski, Z., Tkach, V.V., Dubinsky, P., Pawlowski, Z., Stefaniak, J., Pawlowski, J. (1999) Genetic analysis of *Echinococcus granulosus* from humans and pigs in Poland, Slovakia and Ukraine. A multicenter study. *Acta Parasitologica* 44: 248-254.
- Knapp, J., Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Saarma, U., Lavikainen, A., Ito, A. (2011) Phylogenetic relationships within *Echinococcus* and *Taenia* tapeworms (Cestoda: Taeniidae): An inference from nuclear protein-coding genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 628-638

- Larsson, N.G. (2010) Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. *Annu. Rev. Biochem.* 79: 683-706
- Le, T.H., Pearson, M.S., Blair, D., Dai, N., Zhang, L.H. and McManus, D.P. (2002) Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-dog strains of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 124: 97–112
- Leister, D. (2005) Origin, evolution and genetic effects of nuclear insertions of organelle DNA. *Trends in Genetics* 21: 655–663.
- Mandal, S., Mandal, M.D. (2011) Human cystic echinococcosis: epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 253-260
- Maravilla, P., Thompson, R.C.A., Palacios-Ruiz, J.A., Estcourt, A., Ramires-Solis, E., Mondragon-de-la-Pena, C., Moreno-Moller, M., Cardenas-Mejia, A., Mata-Miranda, P., Aguiere-Alcantara, M-T., Boniilla-Rodriguez, C., Flisser, A. (2004) *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in central Mexico. *Acta Tropica* 92: 231-236
- McManus, D.P., Zhang, L., Castrodale, L.J., Hoa Le, T., Pearson, M., Blair, B. (2002) Short report: Molecular genetic characterisation of an unusually severe case of hydatid disease in Alaska caused by the cervid strain of *Echinococcus granulosus*. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 67: 296-298
- McManus, D.P., Thompson, R.C. (2003) Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology* 127: S37-51
- Moks, E., Jõgisalu, I., Valdmann, H., Saarma, U. (2008) First report of *Echinococcus granulosus* G8 in Eurasia and a reappraisal of the phylogenetic relationships of ‘genotypes’ G5–G10. *Parasitology* 135: 647–654.
- Moro, P.L., Nakao, M., Ito, A., Schantz, P., Cavero, C., Cabrera, L. (2009) Molecular identification of *Echinococcus* isolates from Peru. *Parasitology International* 58: 184-186
- Moro, P.L., Schantz, P.M. (2009) Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*, 13: 125-133

- Nakao, M., Li, T., Han, X., Ma, X., Xiao, N., Qiu, J., Wang, H., Yanagida, T., Mamuti, W., Wen, H., Moro, P.L., Giraudoux, P., Craig, P.S., Ito, A. (2010) Genetic polymorphisms of *Echinococcus* tapeworms in China as determined by mitochondrial and nuclear DNA sequences. *International Journal for Parasitology* 40: 379-385
- Nakao, M., Lavikainen, A., Yanagida, T., Ito, A. (2013a) Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: *Taeniidae*). *International Journal for Parasitology* 43: 1017-1029
- Nakao, M., McManus, D.P., Schantz, P. M., Craig, P.S., Ito, A. (2007) A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 134: 713-722.
- Nakao, M., Yanagida, T., Konyaev, S., Lavikainen, A., Odnokurtsev, V.A., Zaikov, V.A., Ito, A. (2013). Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: *Taeniidae*) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes.
- Nejad, M.R., Mojarad, E.N., Nochi, Z., Harandi, M.F., Cheraghipour, K., Mowlavi, G.R., Zali, M.R. (2008) *Echinococcus granulosus* strain differentiation in Iran based on sequence heterogeneity in the mitochondrial 12S rRNA gene. *Journal of Helminthology* 82: 343–347
- Nejad, R.M., Taghipour, N., Nochi, Z., Mojarad, E.N., Mohebbi, S.R., Harandi, M.F., Zali, M.R. (2011) Molecular identification of animal isolates of *Echinococcus granulosus* from Iran using four mitochondrial genes. *Journal of Helminthology* doi:10.1017/S0022149X1100071X
- Obwaller, A., Schneider, R., Walcohnik, J., Gollackner, B., Deutz, A., Janitschke, K., Aspöck, H., Auer, H. (2004) *Echinococcus granulosus* strain differentiation based on sequence heterogeneity in mitochondrial genes of cytochrome c oxidase-1 and NADH dehydrogenase-1. *Parasitology* 128: 569-575
- Pawlowski, Z.S., Eckert, J., Vuitton, D.A., Ammann, R.W., Kemp, P., Craig, P.S., Dar, K.F., De Rosa, F., Filice, C., Gottstein, B., Grimm, F., Macpherson, C.N.L., Sato, N., Todorov, T., Uchino, J., von Sinner, W., Wen, H. (2001) Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert, J., Gemmell, M.A., Meslin, F.X., Pawlowski, Z.S. (Eds.), *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and*

- Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Office International des Epizooties, Paris, pp. 20–66.
- Pednekar, R.P., Gatne, M.L., Thompson, R.C.A., Traub, R.J. (2009) Molecular and morphological characterisation of *Echinococcus* from food producing animals in India. *Veterinary Parasitology* doi:10.1016/j.vetpar.2009.06.021
- Pierangeli, N.B., Soriano, S.V., Roccia, I., Gimenez, J., Lazzarini, L.E., Grenovero, M.S., Menestrina, C., Basualdo, J.A. (2007) Heterogeneous distribution of human cystic echinococcosis after a long-term control program in Neuquen, Patagonia Argentina. *Parasitology International* 56: 149-155
- Pour, A.A., Hosseini, S.H., Shayan, P. (2011) Comparative genotyping of *Echinococcus granulosus* infecting buffalo in Iran using cox1 gene. *Parasitol Res* 108: 1229–1234
- Rinaldi, L., Maurelli, M. P., Capuano, F., Perugini, A. G., Veneziano, V. and Cringoli, S. (2008) Molecular update on cystic echinococcosis in cattle and water buffaloes of southern Italy. *Zoonoses and Public Health* 55: 119–123
- Romig, T., Dinkel, A. and Mackenstedt, U. (2006). The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitology International* 55: S187–S191
- Rosenzvit, M.C., Canova, S.G., Kamenetzky, L., Guarnera, E.A. (2001) *Echinococcus granulosus*: intraspecific genetic variation assessed by a DNA repetitive element. *Parasitology* 123: 381-388
- Rosenzvit, M.C., Zhang, L.-H., Kamenetzky, L., Canova, S.G., Guarnera, E.A., McManus, D.P. (1999) Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology* 118: 523-530
- Saarma, U., Jõgisalu, I, Moks, E., Varcasia, A., Lavikainen, A., Oksanen, A., Simsek, S., Andresiuk, V., Denegri, G., Gonzalez, L.M., Ferrer, E., Garate, T., Rinaldi, L., Maravilla, P. (2009) A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology* 136: 317-328.
- Sadjjadi, S.M., Mikaeili, F., Karamian, M., Maraghi, S., Sadjjadi, F.S., Shariat-Torbaghan, S., Kia, E.B. (2012) Evidence that the *Echinococcus granulosus* G6 genotype has an affinity for the brain in humans. *International Journal for Parasitology* 43: 875-877

- Schneider, R., Gollackner, B., Schindl, M., Tucek, G., Auer, H. (2010) *Echinococcus canadensis* G7 (pig strain): an underestimated cause of cystic echinococcosis in Austria. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 82: 871-874
- Scott, J.C., Stefaniak, J., Pawlowski, Z.S., McManus, D.P. (1997) Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 114 (Pt 1): 37-43
- Simsek, S., Kaplan, M., Ozercan, I.H. (2011) A comprehensive molecular survey of *Echinococcus granulosus* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues in human isolates in Turkey. *Parasitol Res* 109: 411-416
- Soriano, S.V., Pierangeli, N.B., Pianciola, L., Mazzeo, M., Lazzarini, L.E., Saiz, M.S., Kossman, A.V., Bergagna, H.F.J., Chartier, K., Basualdo, J.A. (2010) Molecular characterization of *Echinococcus* isolates indicates goats as reservoir for *Echinococcus canadensis* G6 genotype in Neuquen, Patagonia Argentina. *Parasitology International* 59: 626-628
- Šnabel, V., Altintas, A., D'Amelio, S.D., Nakao, M., Romig, T., Yolasigmaz, A., Gunes, K., Turk, M., Busi, M., Hüttner, M., Ševcovâ, D., Ito, A., Altintas, N., Dubinsky, P. (2009) Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res* DOI 10.1007/s00436-009-1376-2
- Zhang, L.H., Joshi, D.D., McManus, D.P. (2000) Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 94: 258-260
- Thompson, R.C.A., McManus, D.P. (2002) Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitology* 18: 452-457
- Thompson, R.C.A. (2008) The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Experimental Parasitology* 119: 439-446
- Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. and Constantine, C.C. (1995) Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. *Advances in Parasitology* 35: 145–176
- Thompson, R.C.A., McManus, D.P. (2001) Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert, J., Gemmell, M., Meslin, F-X., Pawlowski, Z., editors. *WHOI/OIE, Paris. Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern.* pp. 1-19

- Torgerson, P.R., Macpherson, C.N.L. (2011) The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Veterinary Parasitology* 182: 79– 95
- Turcekova, L., Snabel, V., D'Amelio, S., Busi, M., Dubinsky, P. (2003) Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. *Acta Tropica* 85: 223-229
- Yanagida, T., Mohammadzadeh, T., Kamhawi, S., Nakao, M., Sadjjadi, S.M., Hjjawi, N., Abdel-Hafez, S.K.A., Sako, Y., Okamoto, M., Ito, A. (2012) Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus sensus stricto* in the Middle East. *Parasitology International* 61: 599-603
- Yang, Y.R., Rosenzvit, M.C., Zhang, L.H., Zhang, J.Z., McManus, D.P. (2005) Molecular study of *Echinococcus* in west-central China. *Parasitology* 131: 547-555

LISA 1 – Kõik Kesk-ja Lõuna-Ameerika ning Aasia proovid

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
G. Acosta	TŠ6	CHI1	Veis	-	Coquimbo, Tšiili	-	G1	18.06.2013	
G. Acosta	TŠ8		Veis	-	Coquimbo, Tšiili	-	-	18.06.2013	
G. Acosta	TŠ13	CHI2	Veis	-	Illapel, Tšiili	-	G1	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ14	CHI3	Veis	-	Illapel, Tšiili	-	G1	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ15	CHI4	Veis	-	Illapel, Tšiili	-	G1	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ17		Veis	-	Illapel B, Tšiili	-	-	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ16	CHI5	Veis	-	Illapel, Tšiili	-	G1	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ18	CHI6	Veis	-	Illapel B, Tšiili	-	G1	20.09.2013	
G. Acosta	TŠ19		Veis	-	Illapel B, Tšiili	-	-	20.09.2013	

V. Andresiuk	A1	ARG1	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A2	ARG2	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A3	ARG3	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A4		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A5		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A6		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A7	ARG44	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6-G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A8	ARG45	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6-G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A9		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6-G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A10	ARG4	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A11		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A12		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A13	ARG5	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A14	ARG6	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A15		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A16		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A17	ARG7	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A18	ARG8	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A19	ARG9	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A20	ARG10	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
V. Andresiuk	A21	ARG11	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A22		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A23	ARG12	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A24		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A25		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A26	ARG37	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A27		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A28		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A29	ARG13	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A30	ARG14	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A31	ARG38	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A32		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A33		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A34		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A35	ARG15	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A36		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A37		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A38		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G5	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A39	ARG16	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A40	ARG17	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A41	ARG18	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A42	ARG19	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A43	ARG20	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A44		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A45		Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A46	ARG21	Veis	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A47	ARG22	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A48		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A49		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	

Kellelt	Labori-kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
V. Andresiuk	A50	ARG23	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A51		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A52	ARG24	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A53	ARG25	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A54	ARG26	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A55	ARG27	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A56		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A57	ARG28	Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A58		Lammas	-	Argentiina, Buenos Aires	G1	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A59		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A60		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A61	ARG39	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A62		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A63	ARG40	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A64	ARG41	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A65		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A66	ARG42	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A67	ARG43	Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	G7	DNA eraldatud kujul	
V. Andresiuk	A68		Siga	-	Argentiina, Buenos Aires	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	

H-L Gonzales	8G	MEX1	Siga	Kops	Mehhiko	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
H-L Gonzales	11G	MEX2	Siga	Maks	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	

K. L.Haag	136	BRA11	Veis	Kops	Brasiilia, Triunfo (RS)	G5	G5	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	172	BRA10	Veis	Maks	Brasiilia, Cachoeira do Sul	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	369		Veis	Kops	Brasiilia, Cacapava do Sul	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	381	BRA1	Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G1	G1+(G5)	DNA eraldatud kujul	Algus G1, lõpp rekomb. G5
K. L.Haag	404		Veis	Kops	Brasiilia, Herval (RS)	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	408	BRA2	Veis	Kops	Brasiilia, Arroio Grande	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	418	BRA12	Veis	Kops	Brasiilia, Dom Pedrito (RS)	G5	G5	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	420		Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G5	-	DNA eraldatud kujul	

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
K. L.Haag	424	BRA3	Veis	Maks	Brasiilia, teadmata	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	425		Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G5	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	426	BRA13	Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G5	G5	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	427		Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G5	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	429	BRA4	Veis	Kops	Brasiilia, teadmata	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	431		Veis	Maks	Brasiilia, teadmata	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	433		Veis	Maks	Brasiilia, Sao Gabriel (RS)	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	434		Veis	Kops	Brasiilia, Sao Gabriel (RS))	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	439		Veis	Kops	Brasiilia, Sao Gabriel (RS)	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	440		Veis	Kops	Brasiilia, Sao Gabriel (RS)	G1	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	442	BRA5	Veis	-	Brasiilia, teadmata	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	531	BRA14	Veis	Maks	Brasiilia, Alegrete (RS)	G5	G5	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	542	BRA15	Veis	Kops	Brasiilia, Dom Pedrito	G5	G5	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	567	BRA6	Veis	Kops	Brasiilia, Alegrete (RS)	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	570		Veis	Kops	Brasiilia, Sao Gabriel (RS)	G5	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	574	BRA7	Veis	Maks	Brasiilia, Bagé (RS)	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	575	BRA8	Veis	Maks	Brasiilia, Livramento (RS)	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	583		Veis	Kops	Brasiilia, Livramento (RS)	G5	-	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	585	BRA9	Veis	Kops	Brasiilia, Alegrete (RS)	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
K. L.Haag	590		Veis	Maks	Brasiilia, Rio Grande (RS)	G1	-	DNA eraldatud kujul	

M. Irshabdullah	MI1	IND6	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI2		Pühvel	Kops	India	-	-	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI3	IND1	Pühvel	Kops	India	-	G3	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI4	IND7	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI5		Pühvel	Kops	India	-	-	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI6	IND2	Pühvel	-	India	-	G3	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI7	IND8	Pühvel	-	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI8	IND3	Pühvel	Kops	India	-	G3+ (G5)	14.03.2014	Algus G3, lõpp rekomb. G5
M. Irshabdullah	MI9		Pühvel	-	India	-	-	14.03.2014	

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
M. Irshabdullah	MI10		Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI11	IND4	Pühvel	-	India	-	G3+ (G5)	14.03.2014	Algus G3, lõpp rekomb. G5
M. Irshabdullah	MI12		Pühvel	Kops	India	-	-	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI13	IND9	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI14	IND10	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI15	IND11	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI16	IND5	Pühvel	Kops	India	-	G1+(G5)	14.03.2014	Algus G1, lõpp rekomb. G5
M. Irshabdullah	MI17	IND12	Pühvel	Kops	India	-	G5	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI18		Pühvel	-	India	-	-	14.03.2014	
M. Irshabdullah	MI19		Pühvel	Kops	India	-	-	14.03.2014	

Abdul Jabbar	86		Inimene	-	Mongoolia	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	88	MON1	Inimene	-	Mongoolia	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	91	MON2	Inimene	-	Mongoolia	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	122		Inimene	-	Mongoolia	G6-G10	-	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	132		Inimene	-	Mongoolia	G6-G10	-	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	133	MON3	Inimene	-	Mongoolia	G6-G10	G6	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	108		Inimene	-	Mongoolia	G6-G10	-	DNA eraldatud kujul	
Abdul Jabbar	144		Inimene	-	Mongoolia	G6-G10	-	DNA eraldatud kujul	

Lavikainen	Fin15	FIN15	Inimene	-	Iraak	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	0M	MEX3	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	1M	MEX4	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	2M	MEX5	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	3M	MEX6	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	4M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	5M	MEX7	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	6M	MEX8	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	7M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	8M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
H-P Maravilla	9M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	10M	MEX9	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	11M	MEX10	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	12M	MEX11	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	13M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	14M		Siga	-	Mehhiko	G7	-	DNA eraldatud kujul	
H-P Maravilla	15M	MEX12	Siga	-	Mehhiko	G7	G7	DNA eraldatud kujul	

H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 11	IRA4	Lammas	Maks	Iraan, Golestan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 12	IRA5	Lammas	Kops	Iraan, Golestan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 13	IRA6	Lammas	Maks	Iraan, Golestan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 14	IRA7	Lammas	Maks	Iraan, Golestan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 15		Lammas	Maks	Iraan, Golestan	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 16	IRA8	Lammas	Kops	Iraan, Golestan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 17	IRA9	Lammas	Maks	Iraan, Mazandaran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 18	IRA10	Lammas	Kops	Iraan, Mazandaran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 19	IRA11	Lammas	Maks	Iraan, Mazandaran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 20	IRA12	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 21	IRA13	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 22		Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 23	IRA14	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 24	IRA15	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 25	IRA16	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 26	IRA17	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 27	IRA18	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 28	IRA19	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G3	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 29	IRA20	Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 30	IRA21	Lammas	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 31	IRA22	Lammas	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 32	IRA23	Lammas	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 33	IRA24	Lammas	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 34	IRA25	Kits	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 35	IRA26	Kits	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	

Kellelt	Labori-kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 36	IRA27	Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 37	IRA28	Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G3	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 38	IRA29	Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G3	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 39		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 40		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 41		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6/G7	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 42	IRA30	Kaamel	Maks	Iraan, Isfahan	G6/G7	G3	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 43	IRA31	Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G3	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 44		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 45		Inimene	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 46	IRA32	Inimene	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 47	IRA33	Inimene	Munasari	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 48		Inimene	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 49	IRA34	Veis	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 50		Veis	Maks	Iraan, Isfahan	G1-G3	-	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 51	IRA35	Veis	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	
H. Mirhendi, M. Sharbatkori	IR 52	IRA36	Veis	Kops	Iraan, Isfahan	G1-G3	G1	DNA eraldatud kujul	

M. R. Nejad	N1	IRA1	Kits	Maks	Iraan, Lorestan	G1	G1	6.03.2014	
M. R. Nejad	N3	IRA2	Lammas	Maks	Iraan, Isfahan	G1	G3	6.03.2014	
M. R. Nejad	N4		Veis	Maks	Iraan, Isfahan	G1	-	6.03.2014	
M. R. Nejad	N5		Lammas	Maks	Iraan, Mazandaran	G1	-	6.03.2014	
M. R. Nejad	N6	IRA3	Lammas	Maks	Iraan, Mazandaran	G1	G1	6.03.2014	
M. R. Nejad	N7		Lammas	Maks	Iraan, Tehran	G1	-	14.03.2014	
M. R. Nejad	N8		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6	-	14.03.2014	
M. R. Nejad	N9		Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6	-	14.03.2014	
M. R. Nejad	N10	IR37	Kaamel	Kops	Iraan, Isfahan	G6	G6	14.03.2014	

F. Ponce	P66	ARG29	Veis	-	Argentina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P67	ARG30	Veis	-	Argentina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P68	ARG31	Veis	-	Argentina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P69	ARG32	Veis	-	Argentina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P70		Veis	-	Argentina	-	-	4.03.2014	

Kellelt	Labori- kood	Kood analüüsis	Peremees	Organ	Asukoht	Genotüüp	Tartus määratud genotüüp	DNA eraldamine	Märkused
F. Ponce	P71	ARG54	Siga	-	Argentiina	-	G7	4.03.2014	
F. Ponce	P72	ARG55	Siga	-	Argentiina	-	G7	4.03.2014	
F. Ponce	P73	ARG33	Lammas	-	Argentiina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P74	ARG34	Lammas	-	Argentiina	-	G1	4.03.2014	
F. Ponce	P75	ARG35	Lammas	-	Argentiina	-	G1	6.03.2014	
F. Ponce	P76	ARG36	Lammas	-	Argentiina	-	G1	6.03.2014	

V. Snabel	B20	KAZ1	Inimene	-	Kazakhstan	G1	G1	DNA eraldatud kujul	
-----------	-----	-------------	---------	---	------------	----	----	---------------------	--

Soriano	95	ARG46	Siga	-	Neuquen, Argentiina	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
Soriano	96	ARG47	Siga	-	Neuquen, Argentiina	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
Soriano	98	ARG48	Siga	-	Neuquen, Argentiina	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
Soriano	100	ARG49	Siga	-	Neuquen, Argentiina	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
Soriano	102	ARG50	Siga	-	Neuquen, Argentiina	G7	G7	DNA eraldatud kujul	
Soriano	131	ARG51	Kits	-	Neuquen, Argentiina	G6	G6	DNA eraldatud kujul	
Soriano	133	ARG52	Kits	-	Neuquen, Argentiina	G6	G6	DNA eraldatud kujul	
Soriano	138	ARG53	Kits	-	Neuquen, Argentiina	G6	G6	DNA eraldatud kujul	
Soriano	140		Kits	-	Neuquen, Argentiina	G6	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	157		Kits	-	Neuquen, Argentiina	G6	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	204		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnA	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	221		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnA	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	225		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnA	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	227		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnA	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	212		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnB	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	215		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnB	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	196		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnD	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	197		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnD	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	201		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnD	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	202		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnD	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	229		Lammas	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnD	-	DNA eraldatud kujul	
Soriano	208		Veis	-	Neuquen, Argentiina	G1nqnE	-	DNA eraldatud kujul	

KOKKU: 236 proovi

LISA 2 – Haplotüüpidesse kuulunud proovide nimed

21) MEX 8

AB1

- 1) BRA5
- 2) ARG1
- 3) ARG3
- 4) ARG6
- 5) ARG9
- 6) ARG12
- 7) ARG13
- 8) ARG14
- 9) ARG16
- 10) ARG17
- 11) ARG20
- 12) ARG22
- 13) ARG23
- 14) ARG24
- 15) ARG25
- 16) ARG26
- 17) ARG27
- 18) ARG31
- 19) ARG32

AB2

- 1) BRA6
- 2) ARG15

AM1

- 1) ARG37
- 2) ARG38
- 3) ARG39
- 4) ARG40
- 5) ARG 42
- 6) ARG 43
- 7) ARG 44
- 8) ARG 45
- 9) ARG 54
- 10) ARG 55
- 11) ARG 48
- 12) ARG 50
- 13) MEX10
- 14) MEX 2
- 15) ARG 41
- 16) MEX 3
- 17) MEX 4
- 18) MEX 6
- 19) MEX 7
- 20) MEX 5

22) MEX 9

23) MEX 11

24) MEX 12

AL1

- 1) Mon3
- 2) Ira37
- 3) Arg51
- 4) Arg52
- 5) Arg53

AR1

- 1) ARG28
- 2) ARG34

AR2

- 1) ARG29
- 2) ARG30

AR3

- 1) ARG33
- 2) ARG36

AR4

- 1) ARG37
- 2) ARG38
- 3) ARG39
- 4) ARG40
- 5) ARG42
- 6) ARG43
- 7) ARG44
- 8) ARG54
- 9) ARG55
- 10) ARG41

AR5

- 1) ARG46
- 2) ARG47
- 3) ARG49

BR1

- 1) BRA2
- 2) BRA4
- 3) BRA9

BR2

- 1) BRA12
- 2) BRA14

BR3

- 1) BRA11
- 2) BRA12
- 3) BRA13
- 4) BRA14

BR4

- 1) BRA1
- 2) BRA15

CH1

- 1) CHI2
- 2) CHI4
- 3) CHI6

CH2

- 1) CHI1
- 2) CHI3

ME1

- 1) MEX10
- 2) MEX11

ME2

- 1) MEX5
- 2) MEX12

MO1

- 1) MON1
- 2) MON2

IN1

- 1) IND6
- 2) IND7
- 3) IND8
- 4) IND9
- 5) IND10

- 6) IND11
- 7) IND12
- 8) IND3
- 9) IND4
- 10) IND5

IR1

- 1) IRA4
- 2) IRA5
- 3) IRA7
- 4) IRA21

IR2

- 1) IRA9
- 2) IRA10

IR3

- 1) IRA32
- 2) IRA33

IR4

- 1) IRA6
- 2) IRA11
- 3) IRA16
- 4) IRA35
- 5) IRA36

IR5

- 1) IRA17
- 2) IRA26
- 3) IRA27

RD1

- 1) IRA2
- 2) IRA19
- 3) IRA29
- 4) IRA30
- 5) IRA31
- 6) IND1
- 7) IND2
- 8) IND3

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Teivi Laurimäe,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Põistang-paelussi fülogeograafia Aasias ning Kesk- ja Lõuna-Ameerikas, ning mitokondriaalse DNA rekombinatsioon eri genotüüpide vahel, mille juhendaja on Urmas Saarma.

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. 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.

Tartu, 26.05.2014