

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
TERIOLOOGIA ÕPPETOOL

Kirke Raidmets

**HUNDI JA KOERA HÜBRIIDIDE
TUVASTAMINE EESTI
HUNDIPOPULATSIOONIS SNP-
MARKERITE PANEELIGA**

Magistritöö

Juhendajad: Maris Hindrikson, PhD

Egle Tammeleht, PhD

TARTU 2024

INFOLEHT

Hübriidiseerumine on protsess, mille käigus toimub kahe liigi ristumine. See võib ohustada geneetilist terviklikkust, kui sellele järgneb introgressioon. Hübriidiseerumise ja introgressiooni idendifitseerimine hundi populatsioonides on oluline, sest see võib vähendada hundipopulatsiooni kohasust, ellujäämist ja pikaajalist püsimist. Käesolevas magistritöös kasutati hundi ja koera hübriidide identifitseerimiseks esmakordselt Eestis uue põlvkonna markersüsteemi, 96 SNP-markeriga paneeli. Hübriidide identifitseerimiseks ja suguluse määramiseks kasutati programme PCA, ADMIXTURE, HYBRIDLAB, NewHybrid ja ML-Relate. Kui varasemates töodes on määratud tagasiristumised 1. põlvkonnani, siis käesolevas töös suudeti tuvastada hübriidid kuni 4. põlvkonnani ning leida hübriidsete isendite vaheline sugulus, mis näitab, et toimunud on vähemalt kaks hübriidiseerumisjuhtumit. Kokku tuvastati üheksa hübriidi, kellest üks teise põlvkonna hübriid, kaks kolmanda põlvkonna ja kuus neljanda põlvkonna hübriidi, kes kõik olid tagasiristunud hundipopulatsiooni. Introgressiooni määr meie valimis oli ~1,64% .

Märksõnad: hunt (*Canis lupus*), koer (*Canis familiaris*), hübriidiseerumine, introgressioon, Eesti, SNP genotüpeerimine

Abstract

Hybridization is the process of mating between two species or subspecies. It can pose a threat to genetic integrity of a species if followed by introgression. The identification of hybridization and introgression in wolf populations is important because these processes can reduce the fitness, survival and long-term persistence of this population. In this Master Thesis, a new generation marker system, a panel of 96 SNP markers was used for the first time in Estonia to identify wolf-dog hybrids. The programs PCA, ADMIXTURE, HYBRIDLAB, NewHybrid and ML-Relate were used to identify the hybrids and determine their relatedness. While in previous works backcrosses up to generation 1 have been determined, in the present work it was possible to identify hybrids up to generation 4 and to find relatedness between them, indicating that at least two hybridization events occurred. A total of 9 hybrids were identified, one of which was a second-generation hybrid, two of which were third-generation and six of which were fourth-generation hybrids, all were backcrossed into the wolf population. The rate of introgression in our study was ~1.64%.

Keywords: wolf (*Canis lupus*), dog (*Canis familiaris*), hybridization, introgression, Estonia, SNP genotyping.

SISUKORD

SISSEJUHATUS	6
MÕISTED	7
1. HUNT JA KOER.....	8
1.1 Kehaehitus	8
1.2 Eluviis	9
1.3 Sigimine	9
1.4 Toitumine.....	9
1.3 Elupaik.....	10
1.4 Ökoloogiline roll.....	10
2. HÜBRIDISEERUMINE JA INTROGRESSIOON	12
2.1 Hübridiseerumise negatiivsed mõjud.....	13
2.2 Hübridiseerumise positiivsed mõjud	14
3. HUNDI JA KOERA HÜBRIIDID	14
3.1 Hundi ja koera hübriidid Eesti hundipopulatsioonis.....	16
4. MATERJAL JA METOODIKA.....	18
4.1 Proovid.....	18
4.2 DNA eraldamine	18
4.3 SNP-markerite analüüs	18
4.4 Andmeanalüüs	18
4.5 Töö autori roll	19
5. TULEMUSED	20
5.1 PCA analüüs	20
5.2 Päritoluanalüüs.....	21
5.3 Hübridiseerumise ja introgressiooni määr	21
5.4 Sugulusanalüüs	22
5.5 Tulemuste kokkuvõte.....	23
6. ARUTELU	26
KOKKUVÕTE.....	30

SUMMARY	31
TÄNUAVALDUSED.....	32
KASUTATUD KIRJANDUS	33

SISSEJUHATUS

Hundi (*Canis lupus*) leviala on viimastel aastakümnetel jõudalt suurenenud soodustades konflikti inimese ja hundi vahel eelkõige kari- ja koduloomade murdmise tõttu (Kuijper et al., 2019). Kõikjal maailmas kiirelt kasvav inimeste arv, inimõju ning koduloomade arvu oluline suurenemine ning metsloomadele sobilike elupaikade vähenemine toovad kaasa metsloomade ja nendega lähedases suguluses olevate koduloomade hübriidiseerumise potentsiaali tõenäolise suurenemise (Donfrancesco et al., 2019; Hindrikson et al., 2012). Hübriidiseerumist koertega (*Canis familiaris*) kui ka sellele järgnevat introgressiooni ehk tagasiristumist kohalikku hundipopulatsiooni peetakse üheks suuremaks ohuks Euroopa killustunud hundipopulatsioonidele, lisaks laialdasele küttimele ja sobivate elupaikade hävitamisele. Märkimisväärne introgressioon võib mõjutada hundipopulatsiooni negatiivselt, vähendades hundi kohasust looduslikus keskkonnas (Nussberger et al., 2023).

Käesoleva magistr töö eesmärgiks oli määrata nii hübriidiseerumise kui ka introgressiooni määr Eesti hundiasurkonnas ja tagasiristumised kuni 3. põlvkonda tagasi viimase üheksa aasta jooksul kütitud huntide seast, kasutades selleks uudset SNP (üksiku nukleotiidi polümorfism) markerite paneeli, mida saab komplektina kasutada kõigi Euroopa hundipopulatsioonide uurimiseks (Harmoinen et al., 2021) ning mida on rakendatud mitu aastat nii Saksamaal (Kraus et al., 2015) kui ka Soome hundipopulatsioonide monitooringus.

Töös püstitatud hüpoteesid:

- 1) hübriidiseerumise ja tagasiristumise tase on suhteliselt madal;
- 2) SNP-paneeliga on võimalik Eesti hübriide määrata kõrge efektiivsusega;

Käesoleva magistr töö tulemused annavad teadmise, kui palju hübriide on Eesti hundipopulatsioonis viimase üheksa aasta andmete põhjal ning kui palju esineb hübriididel tagasiristumist. Lisaks aitavad saadud teadmised mõista paremini Eesti hundipopulatsiooni olukorda, läbi mille on võimalik paremini prognoosida selle edaspidist seisundit ning võtta neid teadmisi arvesse kaitse- ja ohjamiskavade koostamisel.

MÕISTED

1. **Hübriidiseerumine** - evolutsiooniline protsess (Stronen et al., 2022), mille käigus toimub kahe erineva liigi, alamliigi või populatsiooni indiviidi ristumine (Rhymer & Simberloff, 1996), see võib suurendada looduslike liikide kohasust (Brennan et al., 2014) või vähendada nende ellujäämist ja pikaajalist püsimist (Hirashiki et al., 2021)
2. **Introgressioon ehk tagasiristumine** - hübriidse isendi ristumine ühega vanemliikidest (Lescureux & Linnell, 2014)
3. **SNP** - (single nucleotide polymorphism) ühenukleotiidsed polümorfismid, on DNA järjestuse variatsioonid ühe genoomi nukleotiidi (A, T, C või G) vahetumisel
4. **Inimtekkeline hübriidsus** - kahe liigi vahelise reproduktiivse isolatsiooni lagunemine inimtegevuse tagajärjel, mis hõlmab muu hulgas ka liikide sissetoomist, elupaikade häirimist ja koduloomade vabadusse pääsemist (McFarlane & Pemberton, 2019)

1. HUNT JA KOER

Hunt ja koer kuuluvad mõlemad perekonda Koer (*Canis*) perekonda ning on omavahel lähedased sugulased (Wayne et al., 1997). Hunt on koera (*Canis familiaris*) esivanem (Vila, 1999) ning kodustamine oli pikaajaline protsess, mis kordus iseseisvalt maailma eri jagudes (WOJTAS et al., 2018). Koerte kodustamist nähakse kui metsiku looma kohanemist uue ja inimese poolt tugevalt mõjutatud ökoloogilise niššiga (Morey, 1994), millega kaasnes ka inimese selektiivse surve avaldamine koerte evolutsioonile, suunates seda vastavalt oma soovidele ning vajadustele (Range & Marshall-Pescini, 2022). Hundi ja koera põhilised erinevused on toodud tabelis 1.

1.1 Kehaehitus

Hunt on suurim kaasajal elav metsik koerlane, kes võib kaaluda kuni 62 kg. Kehapikkus on isastel 100-130 cm ja emastel 87-177 cm ning kehakujult meenutab hunt saksa lambakoera, kuid tema jalad on pikemad ja suuremad kui koeral, kõrvad väiksemad, silmad viltused ning saba on sirge. Karvavärvus võib sõltuvalt elupaigast varieeruda valgest või punasest mustani (Wilson & Mittermeier, 2009). Eestis jääb täiskasvanud looma kehakaal tavaliselt 30-45 kg ja tüvepikkus 110-140cm vahele (Remm et al., 2015).

Maailmas on tunnustatud üle 400 erineva koeratõu (Parker, 2012), kes olenemata ühisest esivanemast hundist (Vila, 1999) erinevad tänapäeval üksteisest välimuse poolest väga palju (Mehrkam & Wynne, 2014). Vastavalt koeratõu omadustele võivad koerte suurused jääda vahemiku 0,5 kg – > 100 kg ning karvkate värvus erinevate tõugude vahel varieerub valgest mustani, laigulisest täpiliseni. Lisaks suurusele, kehaehitusele ja värvile on kodustamine mõjutanud koeral kolju anatoomilisi tunnuseid, mis on tingitud hundi ja koera toitumisviisi erinevusest (Coli et al., 2023). Lisaks on kodustamine mõjutanud ka soolestiku, muutes selle paremini tärklisest seedivamaks, mis on seotud inimese poolt pakutava toidu tarbimisega (Xu et al., 2021).

1.2 Eluviis

Hundid on öise ja karjalise eluviisiga ning hundikarja suurus võib varieeruda 2-36 isendini, kuid tavalisemad on 5-12 liikmelised karjad (Wilson & Mittermeier, 2009). Karjas on tavaliselt domineeriv monogaamne paar ja nende järglased, kuid lisaks võivad karja kuuluda ka teised suguküpsed isendid ning mittesugulased (VONHOLDT et al., 2008).

Koer on peamiselt inimkaasleja ning ajalooliselt kui ka tänapäeval on koerad täitnud olulist rolli tööloomana -jahi-, karja-, kelgukoera või lemmikloomana (Jung & Pörtl, 2019). Vabalt elavad koerad elavad hierarhialiste gruppides (Cafazzo et al., 2010) peamiselt inimasulate läheduses (Butler & du Toit, 2002).

1.3 Sigimine

Huntide paaritumine toimub olenevalt laiuskraadist jaanuarist aprillini (Wilson & Mittermeier, 2014), Eestis peamiselt jaanuari lõpust veebruari lõpuni (Remm et al., 2015). Tiinus kestab 9 nädalat ning ühe pesakonna suurus varieerub 1-11 kutsikani, keskmiselt on ühes pesakonnas 6 kutsikat. Kutsikate kasvatamises osalevad mõlemad vanemad ja ka mõned eelmise pesakonna kutsikad (Wilson & Mittermeier, 2009).

Erinevalt huntidest võib koerte sigimine toimuda aastaringselt (Ruvinsky & Sampson, 2001), kuid hulkuvate koerte sigimises on mõningates maailma piirkondades tuvastatud ka hooajalist paaritumist. Näiteks Indias on kindlaks tehtud, et hulkuvate koerte sigimisperiod langeb kokku vihmaperioodiga (Pal, 2001).

1.4 Toitumine

Toidubaas on huntidel väga mitmekesine, kuid koosneb peamiselt suurtest sõralistest nagu põder (*Alces alces*), hirv (*Cervus*), metskits (*Capreolus capreolus*) ja metssiga (*Sus scrofa*) (Valdmann et al., 2005; Wilson & Mittermeier, 2009). Nad söövad ka väiksemaid loomi, kariloomi ja on võimelised toituma ka raipest (Remm et al., 2015; Wilson & Mittermeier, 2009). Talvel peetakse jahti suuremates karjades, suvel üksikult, paarides või väiksemates gruppides. Keskmise päevane toidutarbimine varieerub 2-6 kg vahel (Wilson & Mittermeier, 2009).

Koerte, kui lemmikloomade toitumine sõltub suurel määral tema omaniku valikutest, kuid nagu hundid, võivad ka koerad aeg-ajalt murda kariloomi, näiteks lambaid (Plumer et al.,

2018). On näidatud, et hulkuvad koerad eelistavad jääda inimasulate lähedusse, kus saavad toituda inimeste poolt tekitatud jäätmetest (Butler & du Toit, 2002), ilmselt seetõttu, et kodustamise käigus on neil tekkinud parem kohastumus tärgliserikka toidu seedimisega, mis võimaldab neil toituda hõlpsasti inimtoidust (Xu et al., 2021). Laialt on levinud arvamus, et kodustamine muudab liigi temperamenti, muutes ta vähem kartlikuks (Hansen Wheat et al., 2019) ja ka vähem agressiivseks ning vastupidi, rohkem sotsiaalseks, edendades seeläbi tema sotsiokognitiivseid võimeid. Teadusuuringud seda arvamust ei kinnita - koerad ei näita kõrgemaid sotsiokognitiivseid oskusi ning nad ei ole vähem agressiivsed kui hundid (Range & Marshall-Pescini, 2022). Hundi ja koera hübriididel on võrreldes koertega tuvatsatud madalam mänguhimulisus ja suurem kartlikus (Hansen Wheat et al., 2018).

1.3 Elupaik

Elupaigana eelistavad hundid vähese inimhõlpsusega alasid – metsi, soid ja rabasid, aga on võimelised saama hakkama ka tugeva inimhõlpsusega piirkondades (Remm et al., 2015). Nad on territoriaalsed ja kodupiirkonna suurus varieerub sõltuvalt saagitihedusest, jäädes 75-2500 km² vahele (Wilson & Mittermeier, 2009). Eestis on huntide kodupiirkonna suurus tavaliselt 250-500 km² (Remm et al., 2015).

Koerad on inimese lemmikloomad, elavad peamiselt koos inimesega. Koerad püüavad võrreldes huntidega rohkem vältida konflikte, eriti kõrgema positsiooniga liigikaaslastega ja samuti inimestega, ning neil võib olla suurem kalduvus järgida reegleid, mis muudab nad inimesele meeldivaks sotsiaalseks partneriks ning lemmikloomaks (Range & Marshall-Pescini, 2022).

1.4 Ökoloogiline roll

Varasemalt on hundipopulatsiooni kogu maailmas hinnatud 175 000 isendi suuruseks (Ripple et al., 2014), kuid *World Population Review* hinnangul jääb huntide arvukus 2024 aastal 200 000-250 000 isendi juurde (World Population Review, 2024). Huntidel on oluline roll bioloogilise mitmekesisuse säilitamisel ning ökosüsteemide toimimisel (Ripple et al., 2014). Nende peamiseks rolliks ökosüsteemides peetakse hundi saakloomade, kelleks peamiselt on sõralised, arvukuse reguleerimist. Näiteks on tehtud uuring, kus analüüsiti

huntide poolt murtud põtru ning tuvastati, et hundid eelistavad küttida eelkõige vanemaealisi või nooremaid haigeid põtru: nii hoiavad hundid põdrapopulatsiooni tervena, eemaldades haigeid isendeid ning takistades nõrgemate geenide edasikandumist põdra populatsioonis (Hoy et al., 2022). Saakloomade populatsioonide reguleerimisel erinevate haiguste või parasiitide vähendamise eesmärgil on hunt märksa efektiivsem, eetilisem ja loomulikum variant, kui seda on kütmine (Hoy et al., 2022). Hunt mõjutab oma saakloomi või konkurentide elu juba oma kohalolekuga piirkonnas. Näiteks on tehtud katse, kus imiteeriti kiskja kohalolu ning nähti märgatavat muutust pesukarude ööpäevases liikumisaktiivsuses ja nende saaklooma arvus (Suraci et al., 2016). Neil on oluline roll ka parasiitide elutsükli, olles nende lõppperemehed nagu näiteks paelussidel *Echinococcus* ja *Diphyllobothrium* perekonnast (Moks et al., 2006). Hundid mõjutavad oma elutegevusega ka märgalade ökosüsteeme küttes kopraid, kes märgalaid kujundavad. Hundil peale inimese vaenlasi ei ole ning nende arvukuse peamiseks mõjutajaks on kütmine (Moks et al., 2015).

Tänapäeval on koerte arvukus maailmas hinnanguliselt 700 miljonit, millest umbes 75% liigitatakse hulkuvateks. Kui järelvalveta liikuvate koerte arv on suur, võib sellel olla märkimisväärne mõju rahvatervisele, kuna nad võivad olla zoonootiliste haiguste kandjad (Jiménez et al., 2002). Samamoodi on neil mõju ka loomade heaolule ja elusloodusele (Smith et al., 2019), levitades erinevaid haiguseid nagu parvoviirus, marutaud ja koertekatk (Woodroffe, 1999). Kuna koerad on kiskjad, avaldavad nad oma elutegevusega mõju ka metsikutele konkurentliikidele, nagu hunt ja rebane, aga ka saakloomadele (Young et al., 2011).

1.1. Hundi ja koera omavahelised suhted

Suurim otsene oht koertelt huntidele, mis on teaduslikult kinnitust leidnud, tuleneb hübriidiseerumisest ning selle ulatusest (Lescureux & Linnell, 2014). Kuid on teada ka erinevate haiguste edasikandumine huntide ja koerte vahel nagu koertekatk (Beineke et al., 2015) ja marutaud (Woodroffe, 1999). Huntide poolne mõju koertele on eelkõige läbi nende murdmise (Tikkunen & Kojola, 2020).

Tabel 1. Hundi ja koera erinevuste kokkuvõte.

	Hunt	Koer
Kehaehitus	kaaluvad kuni 62 kg, kehapikkus on isastel 100-130 cm ja emastel 87-177 cm	välimus ja keha suurus väga varieeruv 0,5 - 100 kg
Eluviis	karjaline, öiselt aktiivne	inimkaasleja, hierarhialiste gruppidega
Sigimine	jaanuar – veebruar, kutsikate kasvatamisel osaleb terve kari	Aastaringselt, isane koer ei osale kutsikate kasvatamises
Toitumine	peamiselt suured sõralised, kariloomad	loomatoit, inimese toidujäänused, kariloomad
Elupaik	vähese inimõjuga alad - metsad, rabad	inimese kõrval, inimõjuga alad
Ökoloogiline roll	tippkiskja, saakloomade reguleerija	konkurent metsikutele liikidele, inimese kaaslane, zoonootiliste haiguste kandja

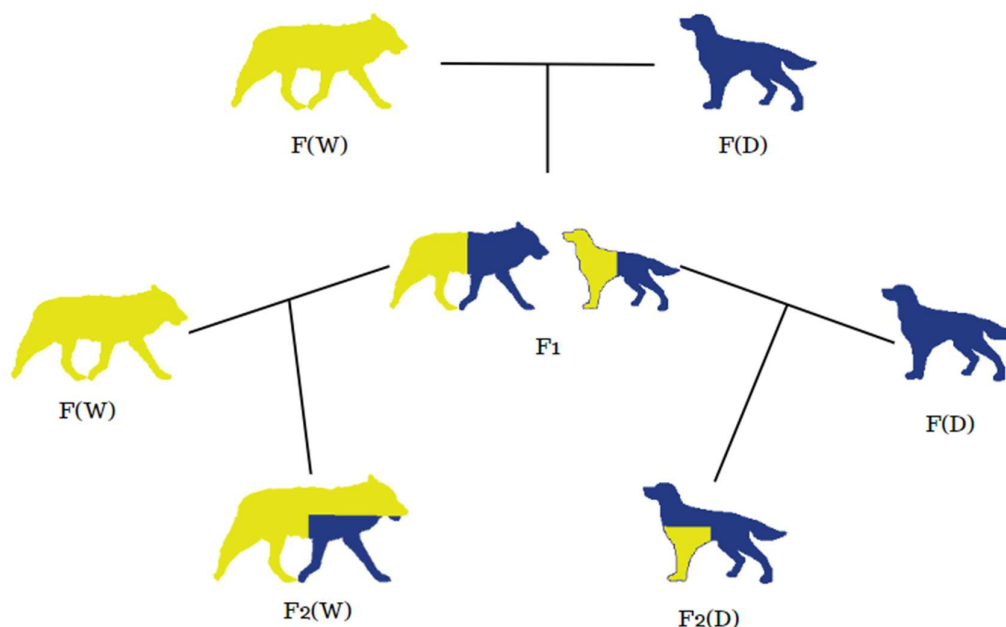
2. HÜBRIDISEERUMINE JA INTROGRESSIOON

Hübridiseerumine on protsess (Stronen et al., 2022), kus toimub kahe erineva liigi, alamliigi või populatsiooni indiviidi ristumine (Rhymer & Simberloff, 1996) ja mis võib suurendada looduslike liikide kohasust (Brennan et al., 2014) või vähendada nende ellujäämist ja pikaajalist püsimist (Hirashiki et al., 2021).

Looduslike ja kodustatud vormide vahelist hübridiseerumist on teada mitmete liikide vahel, nagu näiteks metssass (*Felis silvestris*) ja kodukass (*Felis catus*) (Hertwig et al., 2009; Randi et al., 2001) ning metssea ja kodusea (Lorenzini et al., 2020) vahel. Teada on ka koerlaste (*Canidae*) sugukonna esindajate omavaheline ristumine, millest kõige tavalisem on koera ja hallhundi ristumine (Galov et al., 2015; Ninausz et al., 2023), aga on teada ka koera ja šaakali (*Canis aureus*) omavahelist hübridiseerumist (Ninausz et al., 2023).

Introgressioon ehk tagasiristumine (Joonis 1) on geneetilise materjali ülekande ühelt liigilt teisele ning selleks, et saaksime rääkida introgressioonist, peab hübriidne isend sigima ja järglasi saama ühega vanemliikidest (Lescureux & Linnell, 2014). Introgressioon on hübridiseerumisega lähedalt seotud, kuid igale hübridiseerumisele ei järgne introgressioon. Näiteks on Saksamaal tehtud uuring näidanud, et sealse metssassi ja kodukassi omavaheline hübridiseerumine on kestnud pikka aega ning hübriidsed isendid on tagasiristunud metssassi populatsiooni (Hertwig et al., 2009). Itaalia hundipopulatsioonis on tuvastatud väga kõrge

introgressioonimäär, hinnanguliselt kuni 50% (Tabel 4) (Salvatori et al., 2019), ning see on tõsiseks ohuks sealsele hundi populatsioonile (Bassi et al., 2017).



Joonis 1. Hübridiseerumine ja introgressioon. Hübridiseerumine on kahe liigi (F) ristumine (joonisel $F(W)$ hunt (kollane) ja $F(D)$ koer (sinine)) ning introgressioon on hübriidi tagasiristumine ühe vanemliigiga ($F1 \times F(W)$ või $F1 \times F(D)$), mille järel tekivad teise põlvkonna hübriidid $F2$ joonisel $F2(W)$ - tagasiristumine hundiga ja $F2(D)$ tagasiristumine koeraga.

2. 1 Hübridiseerumise negatiivsed mõjud

Inimtekkelist hübriidsust (*anthropogenic hybridization*) (McFarlane & Pemberton, 2019) peetakse üheks peamiseks ohuks looduslikele populatsioonidele, kuna see võib põhjustada muutusi looduslike liikide geneetilises koosseisus ja tuua kaasa looduslike genoomide väljasuremise (Nussberger et al., 2023). Looduslike liikide ja koduloomade vaheline hübridiseerumine soodustab kodustamise käigus soositud tunnuste levikut ja sagedust, mis võivad looduslikes tingimustes olla selektiivselt ebasoodsad, mõjutades negatiivselt looduslike isendite elujõulisust (Gering et al., 2019). Näitena võib tuua etioopia hundi (*Canis simensis*), keda peetakse kõige ohustatumaks koerlaseks maailmas ning kelle väheses säilinud populatsioonis on toimunud ristumine emaste huntide ja isaste koerte vahel ning see on ohuks populatsiooni geneetilise säilimisele (GOTTELLI et al., 1994). Teise näitena saab

tuua Sierra Morena hundipopulatsiooni, mis on hübriidiseerumise tõttu koertega väljasurnud (Gómez-Sánchez et al., 2018).

2.2 Hübriidiseerumise positiivsed mõjud

Hübriidiseerumine koos geneetilise informatsiooni püsiva ülekandumise ehk introgressiooniga liikide või geneetiliselt diferentseerunud populatsioonide vahel toob sageli kaasa positiivseid mõjusid nagu geneetiline rikastumine ja evolutsiooniline uuenemine (Brennan et al., 2014). Näiteks metsskaside populatsioonide suure geneetilise mitmekesisuse taga arvatakse olevat kodukasside haplotüüpide korduv introgressioon metsskaside populatsioonidesse (Hertwig et al., 2009).

Looduslike liikide ja koduloomade hübriidiseerumine võib ka suurendada looduslike liikide kohasust (Hirashiki et al., 2021) järjest enam linnastuvas keskkonnas ning suurendada seeläbi nende ellujäämist (Adavoudi & Pilot, 2021). Näiteks alpi mägikitsel (*Capra ibex ibex*) suurenes hübriidiseerumise ja introgressiooni tagajärjel kodukitsega (*Capra aegagrus hircus*) geneetiliselt vaesunud liigi mitmekesisus immuunsüsteemi võtmekomponendi osas (Grossen et al., 2014).

Hundi ja koera hübriidiseerimisel on samuti leitud positiivseid mõjusid, kus hundi geenide introgressioon hulkuvate koerte populatsiooni annab neile kohasuse eelise tasakaalustades mõningaid kodustamise negatiivseid mõjusid (Pilot et al., 2021).

3. HUNDI JA KOERA HÜBRIIDID

Kõik perekonna Koer (*Canis*) liigid, sealhulgas ka koer ja hunt, on evolutsiooniliselt lähedased liigid (Wayne et al., 1997), omavad 78 kromosoomi ning on võimelised omavahel sigima ja saama elujõulisi järglasi (Vilà & Wayne, 1999). Hübriidiseerumist erinevate perekonna liikide vahel on teada mitmeid - hundi ja koera (Dziech, 2021; Hindrikson, 2016 jpt.), kus enamasti toimub ristumine isase koera ja emase hundi vahel, aga haruldastel kordadel ka vastupidist (Hindrikson et al., 2012). Veel šaakali ja koera (Galov et al., 2015; Ninausz et al., 2023), koioti (*Canis latrans*) ja hundi, koioti ja koera (Monzón et al., 2014) ning koioti ja punahundi (*Canis rufus*) omavaheline ristumine (Bohling & Waits, 2011).

Siiski võib suurenenud hübriidiseerumissagedus olla hundipopulatsioonidele kahjulik, mis omakorda rõhutab vajadust geneetilise seire järele, et hinnata hiljutise segunemise tulemusel tekkinud isendite sagedust ja levikut (Pilot et al., 2018).

Hundi ja koera hübriide võib olla välisel vaatlusel keeruline eristada, kuna hübriidid võivad olla väga sarnased ühele vanemliigile (Joonis 2), ent võivad välja näha ka unikaalsed (Lorenzini et al., 2014).



Joonis 2. Hundi ja koera F1 hübriidid Ida-Poolas Kadzidlowo looduspargis. Vasakul: vanemateks emane hunt ja isane poola spanjel; paremal: vanemateks emane hunt ja isane Lääne-Siberi laika. Fotod: A. Krzywinski (Hindrikson et al., 2012).

Hübriidiseerumist hundi ja koera vahel on täheldatud rohkem Euraasias ning vähem Ameerikas (Pilot et al., 2018). Euroopas on pea kõigis hundipopulatsioonides tuvastatud hundi ja koera hübriide (Hindrikson et al., 2017). Kuigi Euraasias on hübriidiseerumine toimunud ilmselt alates koera kodustamisest Siberi aladel (Perri et al., 2021), on hundipopulatsioonid säilitanud geneetilise eristumise koertest, mis näitab, et madala sagedusega hübriidiseerumine ei vähenda hundi genofondi eripära (Pilot et al., 2018).

Hiljuti tehtud üleeuroopalises huntide ja koerte hübriidiseerumise uuringus leiti, et 28-st uuritud ja küsitatud riigist esines hundi ja koera hübriide 21 riigis. Samas näevad väga vähesed riigid ette geneetilist seiret hübriidide tuvastamiseks hundi populatsioonides. Samas uuringus toodi välja, et vaid 11 riigis 21-st, kus esines hundi ja koera hübriide, on hübriide käsitlev poliitika olemas, mille kohaselt tuleb hübriidsed isendid populatsioonist eemaldada ehk maha lasta. Mõned riigid, nagu näiteks Prantsusmaa näeb ette hübriidide seiret koos vabalt liikuvate koerte kontrollimisega, Itaalias tuleb hübriidid vangistada või steriliseerida ning vabastada, seevastu Horvaatias on hübriidsed isendid kaitse all (Salvatori et al., 2020). Eestis tuleb huntide ja koerte hübriidide tuvastamisel väliste tunnuste põhjal nad esimesel võimalusel küttida ning hundiga seotud DNA uuringute tegemisel tuleb kahtluse korral analüüsida ka hübriidide esinemise olemasolu (Keskkonnaamet, 2022).

Itaalias tehtud uuringu järgi on sealne hübriidiseerumise tase küll madal, kuid introgressiooni määr on väga kõrge, hinnanguliselt 30-50% (Salvatori et al., 2019), mis on vastupidine varasematele uuringutele, mis näitasid, et hübriidiseerumise tase madal ning kohalike koerte geenide introgressioon ei ole sealsele hundi populatsioonile erilist mõju avaldanud (Kaplan et al., 2009; Lorenzini et al., 2014). Fennoskandias tehtud uuringud näitavad, et ka seal on nii hübriidiseerumise kui ka introgressiooni määr madal ning arvatakse, et selle põhjuseks on hulkuvate koerte vähene arvukus ja hundipopulatsiooni range seire ning aktiivne majandamine, mis eemaldab hübriidid enne, kui nad jõuavad tagasi ristuda hundipopulatsiooni (Smeds et al., 2021a).

3.1 Hundi ja koera hübriidid Eesti hundipopulatsioonis

Eesti hundipopulatsioon on osa Balti hundipopulatsioonist, kuhu kuuluvad lisaks Eestile ka Läti, Leedu, Kirde-Poola, Põhja-Ukraina ja ka Venemaa Euroopa poolsed hundipopulatsioonid (Boitani et al., 2022; Hindrikson et al., 2017). Eesti hundipopulatsiooni suurus hinnatakse pesakondade arvu järgi ning 2020 aastal hinnati pesakondade arvukuseks 31 pesakonda (Keskkonnaamet, 2022) ehk umbes võiks meil olla 300 hundi. Suure küttimeissurve ja geenisiirde tõttu on populatsioon jaotunud erinevateks geneetilisteks gruppideks (Hindrikson et al., 2013; Plumer et al., 2016). Eestis oli hundi küttimeissurve 2018. aastal 32% ning 2019. aastal 26%, samas kui potentsiaalseks juurdekasvumääraks hinnati pikema aja jooksul 40% (Keskkonnaamet, 2022). Aastal 2020 oli Eestis 31 hundipesakonda, samal aastal kütiti 129 isendit ning keskmiseks järglaste arvuks hinnati 5,35 (Keskkonnaamet, 2022). On teada, et arvukust hinnates korrutatakse pesakondade arv 10-ga. Seda arvesse võttes näeme, et 2020 aastal oli küttimeissurve Eestis 41,6%. Euroopa mõistes on Baltimaades üldiselt väga kõrge ja murettekitav küttimeismäär (Boitani et al., 2022) ning selline sekkumine võib lõhkuda karja struktuuri (Jędrzejewski et al., 2005; Valdmann et al., 2004) ning soodustada seeläbi hübriidiseerumist, tekitades sigimishooajal huntide hulgas rohkelt paariliseta isendeid.

Eestis on hundi ja koera hübriide uuritud Tartu Ülikooli Terioloogia õppetoolis, mille uuringutes tuvastati esimese põlvkonna hübriidid 2008. aastal kütitud huntide seast (Hindrikson et al., 2012). Kadi Kutseri magistritöös (2017), kus võrreldi koera (n = 99) ja aastatel 2008-2015 kogutud Eesti hundi (n = 211) geneetilisi markereid hübriidide tuvastamiseks, leiti 20 hübriidset isendit, kellest viie puhul oli tegemist esimese põlvkonna hübriidide või hiljuti hundiga tagasiristunud isenditega, 15 isendi puhul aga oli tegemist tagasiristumisega koerapopulatsiooni, kellest üheksa olid sündimata looted. Arvutuste

kohaselt määrati hübriidiseerumise määraks Eestis 5,4% ja koera geenide introgressioon hundipopulatsiooni 1,5% (Kutser, 2017).

Huntide ja koerte vahelist hübriidiseerimist mõjutab ka hulkuvate koerte hulk. Eestis puuduvad statistilised andmed lemmikloomade ja hulkuvate loomade kohta, kuid aastal 2015 viidi Eesti Loomakaitse Seltsi poolt läbi uuring hulkuvate koerte-kasside olukorra kohta Eesti omavalitsustes 2014. ja 2015. aasta esimesel poolel. Kokku teatati 2014. aasta esimese viie kuu jooksul 1702 ja 2015. aastal sama aja sees 2935 hulkuvast koerast, mis kindlasti pole täpne arv, kuna teateid võis ühe looma kohta olla mitu, samuti ei jõudnud kindlasti kõik juhtumid omavalitsusteni (Eesti Loomakaitse Selts, 2016). Uuemaid statistilisi andmeid ei ole, kuid võib arvata, et loomapidamisseaduste karmistamise ja ühiskonna arengu tõttu on hulkuvaid koeri aastatega jäänud oluliselt vähemaks.

4. MATERJAL JA METOODIKA

4.1 Proovid

Töö valimisse võeti viimase üheksa aasta (2014-2022) jooksul kütitud hundid, kuna sel perioodil kütitud hunte pole varasemalt hübriidiseerumise osas uuritud. Valimit saab pidada piisavalt suureks, üldistamaks tulemusi kogu populatsioonile, kuna Eestis kütitakse igal aastal märkimisväärne osa Eesti hundipopulatsioonist.

Huntide koeproovid saadi Keskkonnaagentuurist. Kokku saadi 564 proovi, millest kõigi proovide puhul oli tegemist koeproovidega. Peale genotüpiseerimist leiti, et 16 proovi on madala kvaliteediga ning edasisse analüüsi neid ei kaasatud. Seetõttu viidi edasised analüüsid läbi 548 prooviga.

4.2 DNA eraldamine

Hundi koeproovidest eraldati DNA vastavalt Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit'i protokollile. Hundi koeproovidest eraldatud DNA kontsentratsioonid mõõdeti Thermo scientific NanoDrop 8000-ga, et teha kindlaks proovide piisav kvaliteet edasiseks SNP markerite analüüsiks.

4.3 SNP-markerite analüüs

Analüüs viidi läbi Soome Loodusvarade Instituudis (*Natural Resources Institute Finland*, edaspidi LUKE) ajavahemikul november 2022 - jaanuar 2023 nende poolt välja töötatud 96 SNP- markerite paneeliga (Harmoinen et al., 2021), mis on välja arendatud sobilikuks kõigi Euroopa hundipopulatsioonide seast mitteinvasiivselt kogutud geneetilisesest materjalist hübriidide tuvastamiseks ja introgressiooni määramiseks. Analüüs toestati masinaga Fluidigm Juno™.

4.4 Andmeanalüüs

Selleks, et näha, kuidas hundid, koerad ja hundi-koera hübriidid omavahel klasterduvad teostati PCA-analüüs (*Principal component analysis*) (Joonis 3). Selleks kasutati tarkvara EIGENSOFT 7.2.0. Et hinnata sünnipära, teostati ADMIXTURE analüüs admixture_linux-1.3.0 tarkvaraga (Joonis 4), kuna sellega on võimalik analüüsida suuri SNP-genotüüpide

andmestike. Mõlema analüüsi tulemuste visualiseerimiseks (Joonis 3 ja Joonis 4) kasutati R 4.2.2 tarkvara.

Selleks, et veenduda NewHybridi analüüsi hübriidsete isendite määramises õigesse hübriidi kategooriasse, genereeriti HYBRIDLAB 1.0 programmiga 100 hübriidi iga hübriidi kategooria kohta. Selleks anti HYBRIDLAB-ile ette vastavad vanem populatsioonid nagu puhtad hundid ja tõukoerad, mille alusel genereeriti F1 hübriidid. Seejärel genereeriti F2 hübriidid (F1 x F1) ning tagasiristumised hundiga kuni 3. põlvkonda ($0B \times 1 = F1 \times$ puhtad hundid jne.). Indiviidide hübriidikategooriasse määramiseks teostati NewHybridi analüüs (Tabel 2) programmiga NewHybrids 1.1. Hübriidikategooriatesse jaotamiseks anti ette konkreetsed vahemikud, mille alusel NewHybrids indiviide klastritesse paigutas. NewHybrids määras HYBRIDLAB-i poolt genereeritud hübriidid õigesti, mis annab kinnitust, et hübriidsed isendid on suure tõenäosusega määratud õigesse hübriidi kategooriasse.

Tuvastatud hübriidide omavahelise suguluse leidmiseks teostati suguluse hindamise (*Estimating Relationship*) analüüs (Tabel 2) kasutades ML-Relate programmi, mis tuvastas 4 hübriidse isendi omavahelise suguluse. Sugulusanalüüs viidi läbi ka valimis olnud Eesti huntidega, kuid rohkem sugulussuhteid hübriidsete isenditega ei leitud.

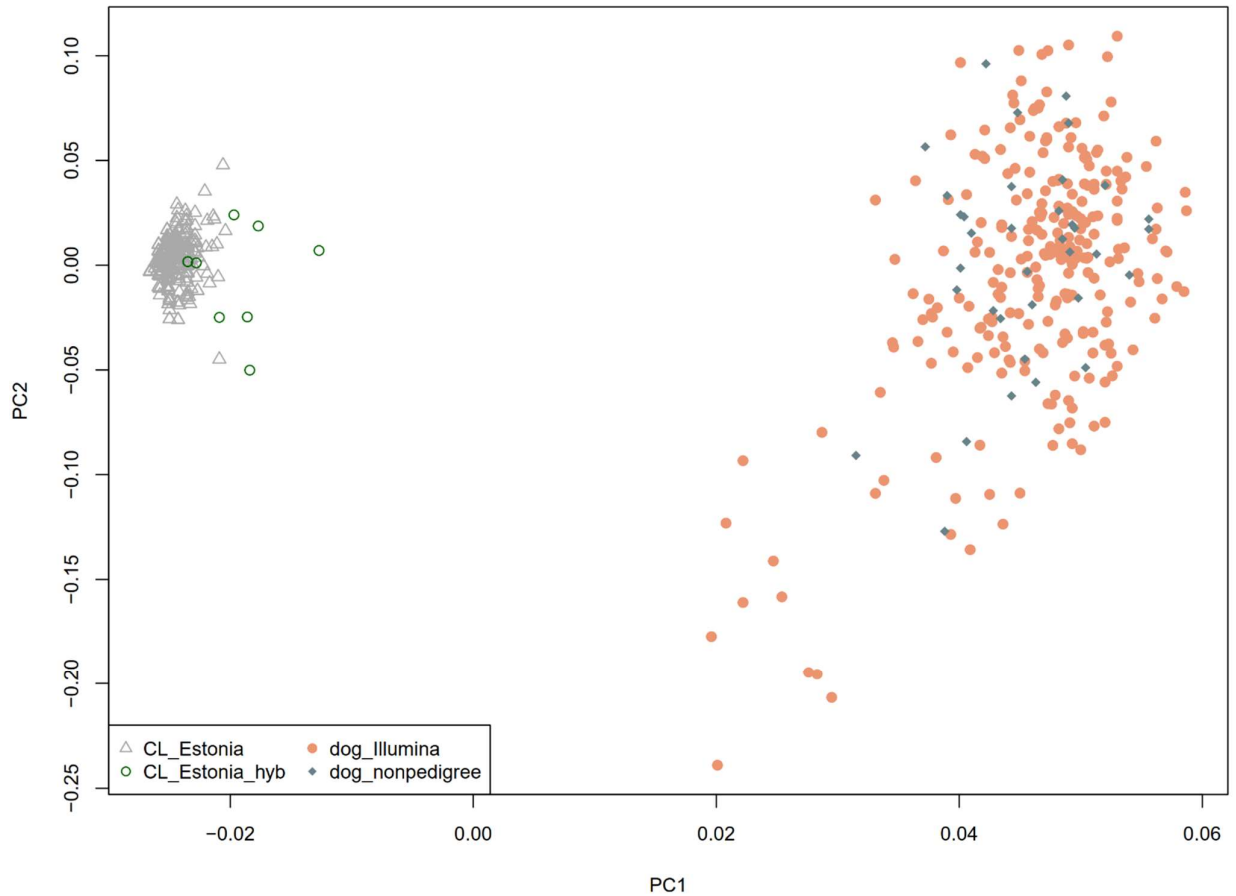
4.5 Töö autori roll

Magistritöö autor eraldas enamikust osast hundi koeproovidest DNA ja mõõtis proovide kontsentratsioone. Samuti käis autor 2022. aasta detsembris Soomes Loodusvarade Instituudis osalemas proovide SNP analüüsi läbiviimisel. Ta teostas kõik töös kasutatavad andmeanalüüsid ning kirjutas magistritöö teooria osa.

5. TULEMUSED

5.1 PCA analüüs

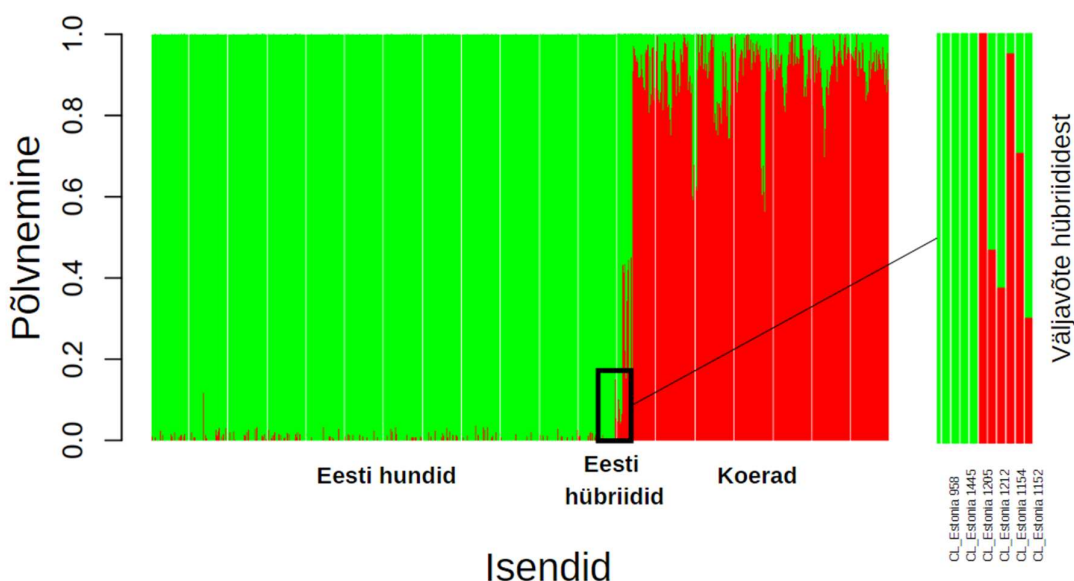
PCA analüüsi tulemus (Joonis 3), mis näitab kaheksa hübriidse isendi paiknemist huntide ja koerte klasteri vahel võrreldes teiste paneelis kasutatud koertega.



Joonis 3. PCA analüüsi tulemus. Analüüs näitab, et 8 isendit eristuvad teistest Eesti huntidest. CL_Estonia tähistab Eesti hunte, CL_Estonia_hyb tähistab Eesti hübriide, dog_Illumina tähistab andmeseti koeri ja dog_nonpedigree tähistab samuti koeri, kuid neid kes on segaverelised.

5.2 Päritoluanalüüs

Päritoluanalüüs näitas, et valimis on 6 hübriidset isendit (Joonis 4). Valimi analüüsid kasutati sobivaimat K väärtust ($K = 2$), mis näitab, et kõige tõenäolisem populatsioonide arv valimis on 2. K sobivaima väärtuse lasime arvutada ADMIXTURE programmil meie analüüsitava andmestiku põhjal.



Joonis 4. ADMIXTURE analüüsi tulemus: vasakult alates kujutatud Eesti hundid, Eesti hübriidid ja koerad. Selguse ja nähtavuse huvides on Eesti 6 hübriidi joonisest paremal suurendatult eraldi välja toodud.

5.3 Hübriidiseerumise ja introgressiooni määr

Newhybridi analüüsi tulemus koos HYBRIDLABI poolt genereeritud hübriididega (Tabel 2) näitas, et Eesti hübriidid olid kõik hundiga tagasiristunud isendid, kellest kuus olid 3. põlvkonna tagasiristunud isendid (kuid kellest kahe isendi kuuluvus sinna oli oluliselt madalam, mis viitab, et tegu võib olla suisa 4. põlvkonna tagasiristumisele), kaks olid 2. põlvkonna hübriidid ning üks 1. põlvkonna hübriid.

Tabel 2. Programmi *Newhybrids* poolt hübriidiks määratud isendite ja *HYBRIDLAB*-i poolt genereeritud hübriidide määrangud eri hübriidiseerumistaset näitavatesse kategooriatesse ning tõeanäosus (q) sinna kuulumiseks. $N=100$ tähistab, et genereeriti 100 hübriidi ning tulemus on võetud kokku.

Päritolu	Isend	NEWHYRBID	
		Määratud kategooria	q
Eesti	CL_Estonia 1031	0Bx_1	0.91-0.92
Eesti	CL_Estonia 980	0Bx_2	0.8
Eesti	CL_Estonia 1152	0Bx_3	0.96-0.97
Eesti	CL_Estonia 1154	0Bx_3	0.53
Eesti	CL_Estonia 1212	0Bx_3	0.89-0.9
Eesti	CL_Estonia 1205	0Bx_3	0.51-0.52
Eesti	CL_Estonia 1297	0Bx_3	0.71-0.72
Eesti	CL_Estonia 1445	0Bx_3	0.95
Eesti	CL_Estonia 958	0Bx_2	0.7
Hybridlab	F1 (n = 100)	F1	0.99-1
Hybridlab	F2 (n = 100)	F2	0.99-1
Hybridlab	0Bx_1 (n = 100)	0Bx_1	0.97-0.99
Hybridlab	0Bx_2 (n = 100)	0Bx_2	0.87-0.88
Hybridlab	0Bx_3 (n = 100)	0Bx_3	0.89-0.90

5.4 Sugulusanalüüs

Sugulusanalüüs tuvastatud hübriidsete isendite vahel leidis suguluse 4 isendi vahel (Joonis 6, Tabel 3). Isendid 1445 ja 1297 on omavahel täissugulased, kuid isend 1152 on 1297 antud töö puhul poolvend. Lisaks on isend 1154 isendi 1297 järeltulija. Teostati ka sugulusanalüüs hübriidsete isendite ja teiste valimis olnud Eesti huntidega, kuid otseseid sugulussidemeid nende vahel rohkem ei leitud.

Tabel 3. *ML-Relate* hübriidsete isendite analüüsi tulemus. *U* – mitte suguluses (*unrelated*) *HS* – poolõved (*half sibs*) *FS* – täissugulased (*full sibs*) ja *PO* – vanem/järeltulija (*parent/offspring*)

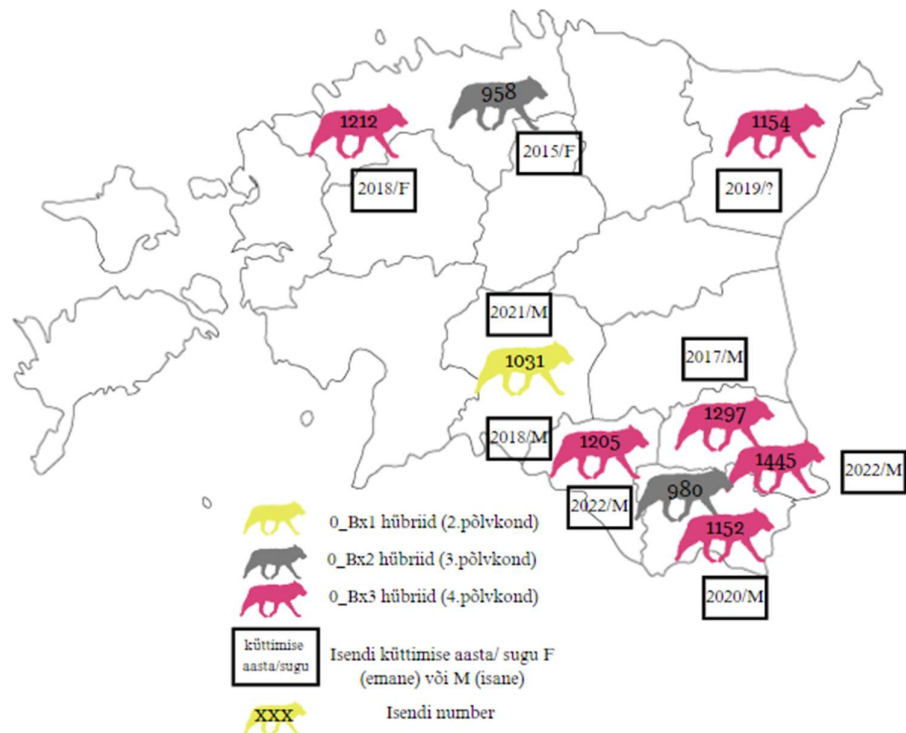
	CL_Estonia 1031	CL_Estonia 0980	CL_Estonia 1152	CL_Estonia 1154	CL_Estonia 1212	CL_Estonia 1205	CL_Estonia 1297	CL_Estonia 1445	CL_Estonia 0958
CL_Estonia 1031	-								
CL_Estonia 0980	U	-							
CL_Estonia 1152	U	U	-						
CL_Estonia 1154	U	U	U	-					
CL_Estonia 1212	U	U	U	U	-				
CL_Estonia 1205	U	U	U	U	U	-			
CL_Estonia 1297	U	U	HS	PO	U	U	-		
CL_Estonia 1445	U	U	U	U	U	U	FS	-	
CL_Estonia 0958	U	U	U	U	U	U	U	U	-

5.5 Tulemuste kokkuvõte

Magistritöös püstitatud eesmärgid saavutati: (1) määrati nii hübriidiseerumise kui ka introgressiooni määr asurkonnas ning tagasiristumised kuni 3. põlvkonda tagasi ning (2) määrati hübriidide osakaal Eesti asurkonnas viimase üheksa aasta jooksul kütitud huntide seas.

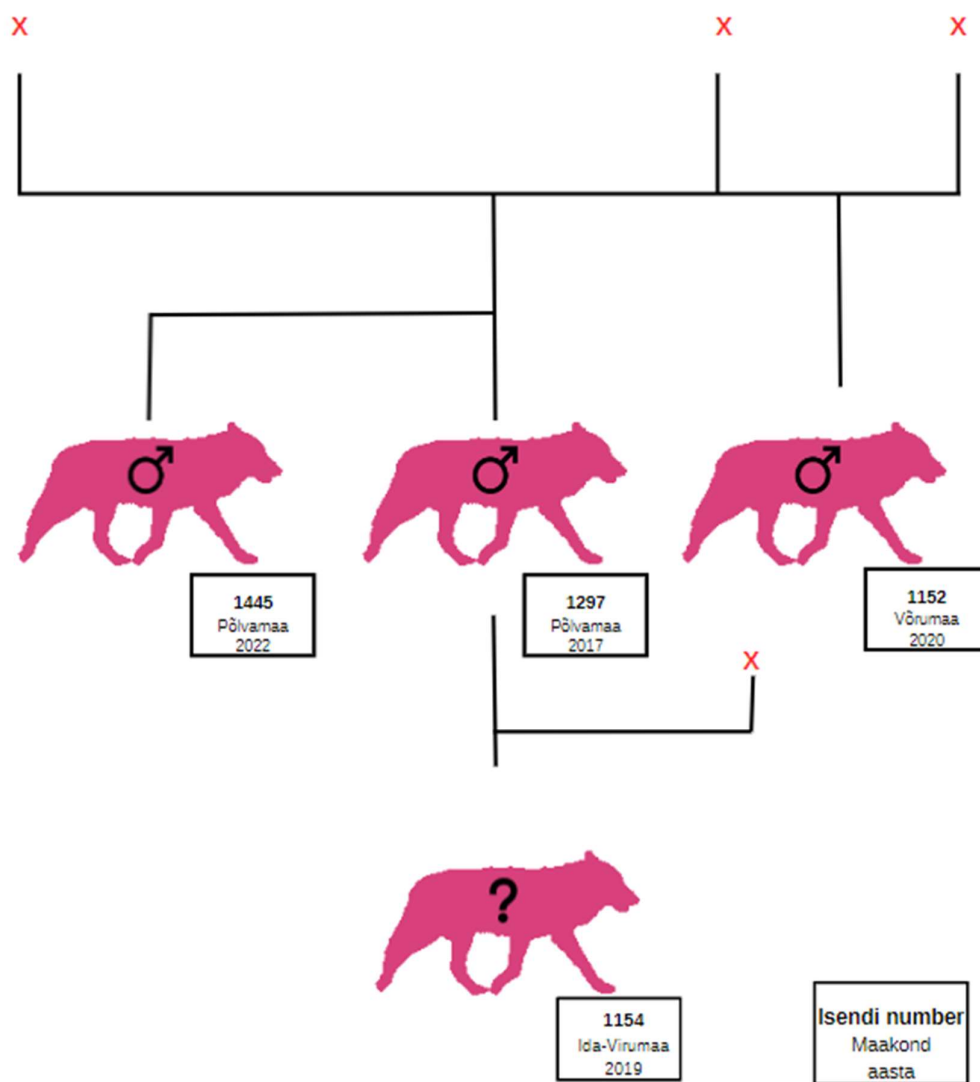
Läbiviidud uuringu tulemused näitasid, et viimase üheksa aasta kütitud huntide seas oli 9 hübriidset isendit ning introgressiooni määr viimase üheksa aasta kütitud huntide seas on ~ **1,64%** ($(9/548) \times 100$). Hübriidiseerumise määr viimase üheksa aasta kütitud huntide seas on **0%**, kuna ei tuvastatud ühtegi F1 hübriidi.

Tuvastatud hübriidsetest isenditest kuus on kütitud Lõuna-Eestist (Joonis 5) ning ülejäänud kolm Põhja-Eestist.



Joonis 5. Hübriidsete isendite küütmisasukohad. Küütnud huntide seast leiti analüüsi tulemusel üheksa hübriidi, kellest kuus on 4.põlvkonna (roosa), kaks on 3. põlvkonna (hall) ja üks on 2. põlvkonna hübriidid (kollane). Kasti sees on isendi küütmise aasta ja sugu, ühe isendi puhul on sugu teadmata.

Sugulusanalüüsid näitasid sugulust nelja hübriidse isendi: 1145, 1297, 1152 ja 1154 vahel (Tabel 3, Joonis 6).



Joonis 6. Hübriidsete isendite suguluskeem. Nelja hübriidse isendi puhul õnnestus leida omavaheline sugulus: isendid 1145 ja 1297 olid täisvennad, 1152 oli nende poolvend ja 1154 oli isendi 1297 järglane.

Töös teostati sugulusanalüüs lisaks ka kõigi valimis olnud huntidega, et tuvastada sugulusi hübriidsete isenditega, aga sugulussidemeid hübriididega ei leitud.

6. ARUTELU

Huntide ja koerte vaheline hübriidiseerumine on tuvastatud pea kõigis Euroopa riikides (Hindrikson et al., 2017) ning on tuvastatud ka Lähis-Idas (Pilot et al., 2018). Kuigi hübriide esineb pea kõigis hundipopulatsioonides, pole seda teemat tänapäevani eriti põhjalikult uuritud (Draper et al., 2021; Salvatori et al., 2020).

Eestis on varasemalt hübriidiseerumist tuvastatud mitmel korral. Esmakordselt 2008. aastal (Hindrikson et al., 2012), seejärel määrati ka huntide ja koerte hübriidiseerumise määr, mis oli 5,4% ning koerageenide introgressioon hundipopulatsiooni oli 1,5% (Kutser, 2017).

Käesolevas magistritöös kasutati hübriidide tuvastamiseks 96 SNP markeri paneeli (Harmoinen et al., 2021), mida pole varasemalt Eesti hundipopulatsiooni uurimiseks kasutatud. Magistritööle püstitatud hüpoteesid olid järgmised: (1) hübriidiseerumise ja introgressiooni tase on suhteliselt madal; (2) SNP-paneeliga on võimalik Eesti hübriide määrata kõrge efektiivsusega.

Töö tulemuste põhjal saime kinnituse esimesele hüpoteesile, et hübriidiseerumise ja introgressioonitase on tõesti suhteliselt madal. Meie tulemuste põhjal on hübriidiseerumise määr 0, aga tagasiristumise tase seevastu on 1,64%. Kinnitust leidis ka teine hüpotees, sest näeme, et SNP-paneeliga on Eesti hübriide võimalik määrata kõrge efektiivsusega. See oli ka ootuspärane, kuna paneel on välja töötatud sobivaks kõigile Euroopa hundipopulatsioonidele.

Töös ei identifitseeritud ühtegi F1 hübriidi (Tabel 2), mistõttu võime järeldada, et hiljutisi hübriidiseerumisi pole Eestis toimunud või meie valim ei sisaldanud neid isendeid. Tuvastatud hübriididest olid kütitud suurem osa Lõuna-Eestis (Joonis 5), mis viitab sellele, et hübriidiseerumine on tõenäoliselt aset leidnud ühes piirkonnas ning ajapikku on kas hübriidsed isendid ja/või nende järeltulijad liikunud mööda Eestit laiali. Eesti hundipopulatsiooni madal hübriidiseerimise määr võrreldes varasemate tulemetega (16,2% ja 5,4%) võib olla tingitud hulkuvate koerte arvu vähenemisest, kui ka suurest kütmissurveist, mis ühelt poolt soodustab hübriidiseerimist (jättes sotsiaalsesse struktuuri vakantseid kohti koertele kui potentsiaalsetele sigimispartneritele), kuid teisalt vähendab hübriidiseerimist, eemaldades hübriidid jooksvalt populatsioonist. Hübriidiseerumise tase võib olla ka madal seetõttu, et hübriidid ei pruugi täiskasvanu ikka jõuda. Peamiselt toimub hübriidiseerimine isase koera ja emase hundi vahel (Hindrikson et al., 2012) ning sellisel juhul jääb emahunt poegadele üksi ning ei pruugi nende üleskasvatamisel õnnestuda.

Tulemused näitavad, et Eestis on hübriidsed isendid välimuselt väga sarnased hundile, mida tõestab ka see, et ühelgi kütitud isendil ei lasunud hübriidi kahtlustust pelgalt välimuse alusel. See on loogiline, kuna kõik tuvastatud hübriidid olid tagasiristunud hundiga ning osad juba kolmanda põlvkonna hübriidid. Seetõttu ei ole välisel vaatlusel hübriidseid isendeid võimalik tuvastada ning ainukene meetod nende tuvastamiseks on geneetiline analüüs, mis on Euroopas ka peamiseks hübriidide identifitseerimise meetodiks (Dziech, 2021).

Leitud introgressioonitase ei tohiks märkimisväärselt meie hundipopulatsiooni kahjustada, kuna hübriidide osakaal on niivõrd väike ning enamus tuvastatud isendeid olid juba 3. põlvkonna hübriidid. Tasub ka märkida, et isendite 1154 kui ka 1205 puhul on 3. põlvkonna kategooriasse kuulumise tõenäosus ligi 0,5, neist isendi 1154 puhul aga näitas sugulusanalüüs, et tema vanemaks on 3. põlvkonna hübriid, mistõttu pigem on tegu isegi 4. põlvkonna hübriidiga (Joonis 6). Isendi 1205 puhul asetus ta ka tõenäosusega 0,48 kategooriasse 2. põlvkonna tagasiristunud hübriid, nii, et igal juhul on tegemist tagasiristunud isendiga. Kahjulikuks muutuks hübriidiseerimine üldiselt meie populatsioonile juhul, kui pidevalt tekiks hübriide juurde (ehk oleksime leidnud mitmeid F1 ja F2 hübriide) ning sellele järgneks ka tagasiristumine hundipopulatsiooni.

Üheksast hübriidsest isendist tuvastasime suguluse nelja isendi vahel (Joonis 6). Ülejäänud viie hübriidse isendi vahel me sugulust ei leidnud, mis tähendab, et hübriidiseerumist on toimunud viimase üheksa aasta jooksul vähemalt kaks korda. Hübriidiseerumise teket soodustab ka intensiivne kütmine, mille tagajärjel karja struktuur lõhutakse ning hundikari võib seetõttu laguneda (Jędrzejewski et al., 2005; Valdmann et al., 2004). Eestis on huntide kütmine küllaltki intensiivne (2020.aastal oli kütamise määr 41,6%) (Keskkonnaamet, 2022). Intensiivse jahipidamise mõjule viitab ka käesoleva töö sugulusanalüüsi tulemus (Joonis 6), kus on näha, et ühest hübriidsest isendist (X) on tulnud vähemalt kaks järglaskonda (üks järglaskond: 1445, 1297 ja teine järglaskond: 1152), kellel oli erinev teine vanemloom. See ei ole hundipopulatsioonides eriti tavaline, kuna hundid on monogaamsed loomad (Macdonald & Sillero-Zubiri, 2004).

Tabel 4. Viimased andmed Euroopa hübriidiseerimis- ja introgressioonimäärast. Tabelis on toodud sellele uuringule lisaks kaks eelnevat Eestis tehtud uuringut (Hindrikson et al., 2012; Kutser, 2017). Lisaks on toodud mõningate Euroopa riikide või populatsioonide: *Alpid* (Dufresnes et al., 2019), *Itaalia* (Salvatori et al., 2019), *Iberia poolsaar* (Pacheco et al.,

2017), *Karpaatide* (Jarausch et al., 2023), *Horvaatia* (Kusak et al., 2018) ja *Leedu* (Baltrūnaitė et al., 2013) ning *Venemaa* (Korablev et al., 2021) viimaste leitud uuringute tulemused. * - see arvutus on tehtud nimetatud artiklis esitatud Eesti valimi põhjal ja erinevus teiste töödega on selles, et siin lasti loomad hübriidiseerumiskahtluse alusel välimuse põhjal.

Riik	Aasta	Hübriidiseerumine	Introgressioon	Markerid
Eesti	2012	16,2%*	-	Y kromosoom, mikrosatelliit, mtDNA
Eesti	2017	5,4 %	1,5%	Mikrosatelliit
Eesti	2024	0	1,64%	SNP
Alpid	2019	0	<2%	mikrosatelliit, mtDNA
Itaalia	2019	0	30-50%	mikrosatelliit, mtDNA
Venemaa	2020	3%	-	Mikrosatelliit
Horvaatia	2018	10,8%	2,8%	mikrosatelliit, mtDNA
Leedu	2013	0	0	mikrosatelliit, mtDNA
Ibeeria poolsaar	2017	0	5,6%	mtDNA
Karpaadid	2023	0	1,57%	SNP

Eestis on hübriidiseerimis- ja introgressioonitase olnud viimastel aastatel madal (Tabel 4), nagu pea kõigis teistes Euroopa riikides, välja arvatud Itaalias, kus arvatakse introgressioonimääraks kuni 50% (Salvatori et al., 2019). Seega on Eesti tulemused sarnased lähinaabritega, sest kui Leedus pole viimastes uuringutes üldse hübriidiseerimist ja introgressiooni leitud (Baltrūnaitė et al., 2013), siis Fennoskandias on määr samuti madal (Smeds et al., 2021). Madal hübriidiseerumise ja introgressiooni tase Eestis on ilmselt tingitud sarnasest olukorrast Fennoskandiaga, kus hulkuvaid koeri on suhteliselt vähe ning toimub intensiivne huntide kütmine, mis eemaldab hübriidsed isendid kiiresti populatsioonist (Smeds et al., 2021a).

Varasemalt on hundi ja koera hübriidiseerumise tuvastamiseks kasutatud mikrosatelliitmarkereid, kuna nende suur variatiivsus annab piisava võimsuse isendi vanemate määramiseks (Flanagan & Jones, 2019). Lisaks on laialdaselt kasutatud ka emaliini tuvastamiseks mtDNA ja isaliini Y-kromosoomi mikrosatelliitmarkereid (Hindrikson et al., 2017). Viimasel ajal on mikrosatelliitmarkerite kasutamine vähenenud

seoses uute sekveneerimistehnoloogiate arengu ja levikuga (Flanagan & Jones, 2019; Kraus et al., 2015) nagu SNP-d (Harmoinen et al., 2021; vonHoldt et al., 2011) ja täisgenoomi sekveneerimine (Smeds et al., 2021b). Mikrosatelliitmarkeritel on küll suur variatiivsus ja lai kasutajaskond, kuid puuduvad standardid, mille alusel oleks võimalik eri laborite analüüsitulemusi võrrelda (Harmoinen et al., 2021; Kraus et al., 2015). SNP on osutunud mõistlikumaks vahendiks hübriidiseerumise analüüsimisel, kuna annab usaldusväärsemaid teadmisi, eriti vanemate põlvkondade tagasiristamise puhul ning võimaldab neid tuvastada kuni kolm põlvkonda tagasi (Dziech, 2021). Majanduslikust aspektist pole SNP siiski kõige mõistlikum, kuna on kulukas ja vajab spetsiifilist masinat ning mitte invasiivselt kogutud proovide puhul, mille kvaliteet on tavaliselt madalam, on vaja analüüsid läbi viia kaks korda, mis tõstab ka hinna kahekordseks.

SNP eeliseks on kindlasti ka see, et need markerid võimaldavad edukalt teha geneetilisi uuringuid lisaks vere- ja koeproovidele ka näiteks väljaheiteproovidest (Harmoinen et al., 2021), mis võimaldab loomi geneetilisel tasemel mitte invasiivselt ehk neile kahju tegemata uurida. Selline meetodika annab võimaluse uurida hetkes reaalset eksisteerivat populatsiooni, mitte ei piirdu vaid selle kütitud osaga.

Eesti hundipopulatsiooni geneetilisi uuringuid ja hübriidide tuvastamist tuleks teha järjepidevalt, et tagada adekvaatne ülevaade populatsiooni seisundist. Kuigi nii praeguses kui ka varasemates uuringutes on Eestis tuvastatud hübriidide osakaal suhteliselt väike, võib olukord kiiresti muutuda, kuna Baltikumi (sh. ka Eesti) ja Venemaa piirile rajatakse piiritara, mis hakkab piirama samasse hundipopulatsiooni kuuluvate isendite vaba liikumist ja seetõttu ka ristumist. See võib kaasa tuua hundipopulatsiooni geneetilise vaesumise, suurenenud sugulusristumise ja lisaks hakata soodustama ka hübriidide tekkimist. Kuna piiritara tõttu muutub loomade vaba liikumine üle riigipiiri keerulisemaks, ning lisaks suurele kütmissurvele võib tekkida olukord, kus Eesti-Vene piirialadel Eesti poole peal elavad hundid ei leia endale enam paarilist ning hakkavad seda otsima koerte seast.

KOKKUVÕTE

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli määrata hübriidiseerumise ja introgressiooni määr Eesti hundi asurkonnas ja esmakordselt ka tagasiristumised kuni 3. põlvkonda tagasi viimase üheksa aasta kütitud huntide seast, kasutada selleks uudset 96-SNP markerite paneeli. Kinnitust leidsid hüpoteesid, et hübriidiseerumise tase on madal ja SNP-paneeliga on Eesti hübriide võimalik määrata kõrge efektiivsusega.

Analüüsiiti 564 hundi koeproovi, mis pärinesid Keskkonnaagentuurist ning millest lõpliku analüüsi jõudis 548 proovi. 96 SNP-markerit hübriidide tuvastamiseks kasutatav analüüs viidi läbi Soome Loodusvarade Instituudis ning andmeanalüüsis kasutati PCA, ADMIXTURE, HYBRIDLAB ja NewHybrid-i programme. Lisaks kasutati hübriidide omavahelise suguluse määramiseks ML-Relate programmi.

Analüüsi tulemused näitasid, et Eesti asurkonnas leidus viimase üheksa aasta kütitud 548 hundi seast hübriide, täpsemalt üheksa isendit, kellest ükski pole esimese põlvkonna (F1) hübriid. Kuna ühtegi F1 hübriidi ei tuvastatud, on hübriidiseerumise määr Eestis 0% ning vaadates tagasiristumisi, siis introgressioonimäär on meie valimi põhjal 1,64%. Valimi peal läbi viidud sugulusanalüüs näitas, et neli hübriidset isendit on omavahel suguluses, mis näitab, et hübriidiseerumist on toimunud vähemalt kahel eri korral. Lisaks tuvastas sugulusanalüüs kahe 3.põlvkonna hübriidi vahel seose, kus üks oli teise vanem, mis näitab, et tõenäoliselt on tegu lausa 4.põlvkonna tagasiristumisega.

Kokkuvõtteks võib öelda, et meie valimi põhjal pole Eestis hiljutisi hübriidiseerumist toimunud ning kõik hübriidsed isendid on tõenäoliselt tagasi ristunud huntidega ja nende osakaal kogu populatsioonist on väike. Hübriidide tuvastamiseks ja introgressiooni määramiseks Eesti hundipopulatsioonis on SNP-markerite paneel tõhus ning seda võiks kasutada ka edaspidi sarnaste uuringute läbi viimiseks. Kuigi käesoleva magistritöö tulemused näitavad, et hübriidiseerumine ja introgressioon ei ole hetkel Eesti hundipopulatsioonis väga suur, tuleks jätkata nende tuvastamist järjepidevalt ka edaspidi, et see ei hakkaks negatiivselt mõjutama meie hundipopulatsiooni, seda eriti suurema isolatsiooni tingimustes Venemaast.

SUMMARY

The aim of the present thesis was to determine the rate of hybridization and introgression in the Estonian wolf population and, for the first time, backcrosses up to the 3rd generation in wolves hunted in the last nine years, using a novel 96-SNP marker panel. The hypotheses that the level of hybridization is low and that the SNP panel can identify Estonian hybrids with high efficiency were confirmed.

564 wolf tissue samples from the Environment Agency were analysed, of which 548 samples reached the final analysis. Analysis using 96 SNP markers for hybrid detection was carried out at the Finnish Institute of Natural Resources and PCA, ADMIXTURE, HYBRIDLAB and NewHybrid programs were used for data analysis. In addition, the ML-Relate program was used to determine the relatedness of hybrids.

The results of the analysis showed that 548 wolves hunted during the last nine years in Estonia contained hybrids, specifically nine individuals, none of which were first generation (F1) hybrids. As no F1 hybrids were detected, the hybridisation rate in Estonia is 0% and looking at backcrosses, the introgression rate is 1.64% based on our sample. Pedigree analysis performed on the sample showed that four hybrid individuals are related to each other, indicating that hybridization has occurred on at least two different occasions. In addition, the pedigree analysis identified a link between two 3rd generation hybrids, with one being the parent of the other, indicating that a 4th generation backcross is likely.

In conclusion, based on our sample, there have been no recent hybridizations in Estonia and all hybrid individuals are likely to be backcrossed to wolves and represent a small proportion of the total population. The SNP marker panel is effective for detecting hybrids and determining introgression in the Estonian wolf population and could be used to conduct similar studies in the future. Although the results of this thesis show that hybridization and introgression are not very high in the Estonian wolf population at present, they should continue to be detected consistently in the future so that they do not negatively affect our wolf population, especially in conditions of increased isolation from Russia.

TÄNUAVALDUSED

Soovin käesoleva magistritöö valmimise eest kogu südamest tänada eelkõige oma juhendajaid Maris Hindriksoni ja Egle Tammelehte, kes olid alati nõu ja jõuga abiks ning andsid töösse oma olulise panuse.

Samuti soovin väga tänada Soome Loodusvarade Instituudi (LUKE) töötajaid Jenni Harmoinenit, kes andis mitmekülgset nõu ja abi magistritöö andmeanalüüsiga ning Jouni Virtat, kes teostas SNP analüüsid ning kelle kõrvalt sain ka ise kogu protsessi õppida.

Suured tänusõnad kuuluvad ka Keskkonnaagentuuri töötajale Inga Jõgisalule, kelle käest saime huntide koeproovid, mida töös kasutati.

Tänan ka terioloogia õppetooli liikmeid, kes on andnud soovitusi töö paremaks muutmiseks ja suuniseid materjali leidmiseks.

Kõige lõpus sooviksin tänada taustajõudu Christel Rose Bachmanni, Veiko Kastanjet, Kadi Kutserit, Sandra-Liis Eensood, Triinu Seppa ja Piret Truumaad toetuse eest töö tegemisel.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Adavoudi, R., & Pilot, M. (2021). Consequences of Hybridization in Mammals: A Systematic Review. *Genes*, 13(1), 50. <https://doi.org/10.3390/genes13010050>
2. Baltrūnaitė, L., Balčiauskas, L., & Åkesson, M. (2013). The genetic structure of the Lithuanian wolf population. *Open Life Sciences*, 8(5), 440–447. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0154-9>
3. Bassi, E., Canu, A., Firmo, I., Mattioli, L., Scandura, M., & Apollonio, M. (2017). Trophic overlap between wolves and free-ranging wolf \times dog hybrids in the Apennine Mountains, Italy. *Global Ecology and Conservation*, 9, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2016.11.002>
4. Beineke, A., Baumgärtner, W., & Wohlsein, P. (2015). Cross-species transmission of canine distemper virus—an update. *One Health*, 1, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2015.09.002>
5. Bohling, J. H., & Waits, L. P. (2011). Assessing the prevalence of hybridization between sympatric *Canis* species surrounding the red wolf (*Canis rufus*) recovery area in North Carolina. *Molecular Ecology*, 20(10), 2142–2156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05084.x>
6. Boitani, L., Kaczensky, P., Alvares, F., Andrén, H., Balys, V., Blanco, J. C., Chapron, G., Chiriac, S., Cirovic, D., Drouet-Houguet, N., Groff, C., Huber, D., Iliopoulos, Y., Ionescu, O., Kojola, I., Krofel, M., Kutal, M., Linnell, J., Majic, A., ... Patkó, L. (2022). *Assessment of the conservation status of the Wolf (Canis lupus) in Europe*. https://iciepub.nina.no/pdf/638036032684557257_LCIE%20CoE%20Wolf%20status%20report%202022.pdf
7. Brennan, A. C., Woodward, G., Seehausen, O., Muñoz-Fuentes, V., Moritz, C., Guelmami, A., Abbott, R. J., & Edelaar, P. (2014). Hybridization due to changing species distributions: Adding problems or solutions to conservation of biodiversity during global change? *Evolutionary Ecology Research*, 16(6).
8. Butler, J. R. A., & du Toit, J. T. (2002). Diet of free-ranging domestic dogs (*Canis familiaris*) in rural Zimbabwe: implications for wild scavengers on the

- periphery of wildlife reserves. *Animal Conservation*, 5(1), S136794300200104X. <https://doi.org/10.1017/S136794300200104X>
9. Cafazzo, S., Valsecchi, P., Bonanni, R., & Natoli, E. (2010). Dominance in relation to age, sex, and competitive contexts in a group of free-ranging domestic dogs. *Behavioral Ecology*, 21(3), 443–455. <https://doi.org/10.1093/beheco/arq001>
 10. Coli, A., Prinetto, D., & Giannessi, E. (2023). Wolf and Dog: What Differences Exist? *Anatomia*, 2(1), 78–87. <https://doi.org/10.3390/anatomia2010007>
 11. Donfrancesco, V., Ciucci, P., Salvatori, V., Benson, D., Andersen, L. W., Bassi, E., Blanco, J. C., Boitani, L., Caniglia, R., Canu, A., Capitani, C., Chapron, G., Czarnomska, S. D., Fabbri, E., Galaverni, M., Galov, A., Gimenez, O., Godinho, R., Greco, C., ... Mukherjee, N. (2019). Unravelling the Scientific Debate on How to Address Wolf-Dog Hybridization in Europe. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00175>
 12. Draper, D., Laguna, E., & Marques, I. (2021). Demystifying Negative Connotations of Hybridization for Less Biased Conservation Policies. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.637100>
 13. Dziech, A. (2021). Identification of Wolf-Dog Hybrids in Europe – An Overview of Genetic Studies. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.760160>
 14. Dufresnes, C., Remollino, N., Stoffel, C., Manz, R., Weber, J.-M., & Fumagalli, L. (2019). Two decades of non-invasive genetic monitoring of the grey wolves recolonizing the Alps support very limited dog introgression. *Scientific Reports*, 9(1), 148. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37331-x>
 15. Eesti Loomakaitse Selts. (2016). *Hulkuvate loomadega seotud probleemistik Eesti kohalikes omavalitsustes*.
 16. Flanagan, S. P., & Jones, A. G. (2019). The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond. *Molecular Ecology*, 28(3), 544–567. <https://doi.org/10.1111/mec.14988>
 17. Galov, A., Fabbri, E., Caniglia, R., Arbanasić, H., Lapalombella, S., Florijančić, T., Bošković, I., Galaverni, M., & Randi, E. (2015). First evidence of hybridization between golden jackal (*Canis aureus*) and domestic dog (*Canis familiaris*) as revealed by genetic markers. *Royal Society Open Science*, 2(12), 150450. <https://doi.org/10.1098/rsos.150450>

18. Gering, E., Inorvaia, D., Henriksen, R., Conner, J., Getty, T., & Wright, D. (2019). Getting Back to Nature: Feralization in Animals and Plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 34(12), 1137–1151. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.07.018>
19. Gómez-Sánchez, D., Olalde, I., Sastre, N., Enseñat, C., Carrasco, R., Marques-Bonet, T., Lalueza-Fox, C., Leonard, J. A., Vilà, C., & Ramírez, O. (2018). On the path to extinction: Inbreeding and admixture in a declining grey wolf population. *Molecular Ecology*, 27(18), 3599–3612. <https://doi.org/10.1111/mec.14824>
20. GOTTELLI, D., SILLERO-ZUBIRI, C., APPLEBAUM, G. D., ROY, M. S., GIRMAN, D. J., GARCIA-MORENO, J., OSTRANDER, E. A., & WAYNE, R. K. (1994). Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular Ecology*, 3(4), 301–312. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1994.tb00070.x>
21. Grossen, C., Keller, L., Biebach, I., & Croll, D. (2014). Introgression from Domestic Goat Generated Variation at the Major Histocompatibility Complex of Alpine Ibex. *PLoS Genetics*, 10(6), e1004438. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004438>
22. Hansen Wheat, C., Fitzpatrick, J., Tapper, I., & Temrin, H. (2018). Wolf (*Canis lupus*) hybrids highlight the importance of human-directed play behavior during domestication of dogs (*Canis familiaris*). *Journal of Comparative Psychology*, 132(4), 373–381. <https://doi.org/10.1037/com0000119>
23. Hansen Wheat, C., van der Bijl, W., & Temrin, H. (2019). Dogs, but Not Wolves, Lose Their Sensitivity Toward Novelty With Age. *Frontiers in Psychology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02001>
24. Harmoinen, J., von Thaden, A., Aspi, J., Kvist, L., Cocchiararo, B., Jaraus, A., Gazzola, A., Sin, T., Lohi, H., Hytönen, M. K., Kojola, I., Stronen, A. V., Caniglia, R., Mattucci, F., Galaverni, M., Godinho, R., Ruiz-González, A., Randi, E., Muñoz-Fuentes, V., & Nowak, C. (2021). Reliable wolf-dog hybrid detection in Europe using a reduced SNP panel developed for non-invasively collected samples. *BMC Genomics*, 22(1), 473. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07761-5>
25. Hertwig, S. T., Schweizer, M., Stepanow, S., Jungnickel, A., Böhle, U.-R., & Fischer, M. S. (2009). Regionally high rates of hybridization and introgression

- in German wildcat populations (*Felis silvestris*), Carnivora, Felidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47(3), 283–297. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2009.00536.x>
26. Hindrikson, M. (2016). *Grey wolf (Canis lupus) populations in Estonia and Europe: genetic diversity, population structure and -processes, and hybridization between wolves and dogs*. University of Tartu.
 27. Hindrikson, M., Männil, P., Ozolins, J., Krzywinski, A., & Saarma, U. (2012). Bucking the Trend in Wolf-Dog Hybridization: First Evidence from Europe of Hybridization between Female Dogs and Male Wolves. *PLoS ONE*, 7(10), e46465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046465>
 28. Hindrikson, M., Remm, J., Männil, P., Ozolins, J., Tammeleht, E., & Saarma, U. (2013). Spatial Genetic Analyses Reveal Cryptic Population Structure and Migration Patterns in a Continuously Harvested Grey Wolf (*Canis lupus*) Population in North-Eastern Europe. *PLoS ONE*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075765>
 29. Hindrikson, M., Remm, J., Pilot, M., Godinho, R., Stronen, A. V., Baltrūnaitė, L., Czarnomska, S. D., Leonard, J. A., Randi, E., Nowak, C., Åkesson, M., López-Bao, J. V., Álvares, F., Llaneza, L., Echegaray, J., Vilà, C., Ozolins, J., Rungis, D., Aspi, J., ... Saarma, U. (2017). Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews*, 92(3), 1601–1629. <https://doi.org/10.1111/brv.12298>
 30. Hirashiki, C., Kareiva, P., & Marvier, M. (2021). Concern over hybridization risks should not preclude conservation interventions. *Conservation Science and Practice*, 3(4). <https://doi.org/10.1111/csp2.424>
 31. Hoy, S. R., Vucetich, J. A., & Peterson, R. O. (2022). The Role of Wolves in Regulating a Chronic Non-communicable Disease, Osteoarthritis, in Prey Populations. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.819137>
 32. Jarausch, A., von Thaden, A., Sin, T., Corradini, A., Pop, M. I., Chiriac, S., Gazzola, A., & Nowak, C. (2023). Assessment of genetic diversity, population structure and wolf-dog hybridisation in the Eastern Romanian Carpathian wolf population. *Scientific Reports*, 13(1), 22574. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48741-x>

33. Jędrzejewski, W., Branicki, W., Veit, C., MeĐugorac, I., Pilot, M., Bunevich, A. N., Jędrzejewska, B., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Okarma, H., Gula, R., Szymura, L., & Förster, M. (2005). Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves *Canis lupus*. *Acta Theriologica*, *50*(1), 3–22. <https://doi.org/10.1007/BF03192614>
34. Jiménez, S., Pérez, A., Gil, H., Schantz, P. M., Ramalle, E., & Juste, R. A. (2002). Progress in control of cystic echinococcosis in La Rioja, Spain: decline in infection prevalences in human and animal hosts and economic costs and benefits. *Acta Tropica*, *83*(3), 213–221. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(02\)00091-8](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00091-8)
35. Jung, C., & Pörtl, D. (2019). How old are (Pet) Dog Breeds? *Pet Behaviour Science*, *7*, 29–37. <https://doi.org/10.21071/pbs.v0i7.11494>
36. Kaplan, J. O., Krumhardt, K. M., & Zimmermann, N. (2009). The prehistoric and preindustrial deforestation of Europe. *Quaternary Science Reviews*, *28*(27–28), 3016–3034. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2009.09.028>
37. Keskkonnaamet. (2022). *Suurkiskjate: hundi, ilvese ja pruunkaru kaitse ja ohjamise tegevuskava*.
38. Korablev, M. P., Korablev, N. P., & Korablev, P. N. (2021). Genetic diversity and population structure of the grey wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) and evidence of wolf × dog hybridisation in the centre of European Russia. *Mammalian Biology*, *101*(1), 91–104. <https://doi.org/10.1007/s42991-020-00074-2>
39. Kraus, R. H. S., vonHoldt, B., Cocchiara, B., Harms, V., Bayerl, H., Kühn, R., Förster, D. W., Fickel, J., Roos, C., & Nowak, C. (2015). A single-nucleotide polymorphism-based approach for rapid and cost-effective genetic wolf monitoring in Europe based on noninvasively collected samples. *Molecular Ecology Resources*, *15*(2), 295–305. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12307>
40. Kuijper, D. P. J., Churski, M., Trouwborst, A., Heurich, M., Smit, C., Kerley, G. I. H., & Cromsigt, J. P. G. M. (2019). Keep the wolf from the door: How to conserve wolves in Europe’s human-dominated landscapes? *Biological Conservation*, *235*, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.04.004>
41. Kusak, J., Fabbri, E., Galov, A., Gomerčić, T., Arbanasić, H., Caniglia, R., Galaverni, M., Reljić, S., Huber, D., & Randi, E. (2018). Wolf-dog

- hybridization in Croatia. *Veterinarski arhiv*, 88(3), 375–395. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.170314>
42. Kutser, K. (2017). *Huntide (Canis lupus)ja koerte (Canis familiaris) hübridiseerumine ja introgressioon Eestis*.
 43. Lescureux, N., & Linnell, J. D. C. (2014). Warring brothers: The complex interactions between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) in a conservation context. *Biological Conservation*, 171, 232–245. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.01.032>
 44. Lorenzini, R., Fanelli, R., Grifoni, G., Scholl, F., & Rosario, F. (2014). Wolf–dog crossbreeding: “Smelling” a hybrid may not be easy. *Mammalian Biology*.
 45. Lorenzini, R., Fanelli, R., Tancredi, F., Siclari, A., & Garofalo, L. (2020). Matching STR and SNP genotyping to discriminate between wild boar, domestic pigs and their recent hybrids for forensic purposes. *Scientific Reports*, 10(1), 3188. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59644-6>
 46. Macdonald, D. W., & Sillero-Zubiri, C. (Toim). (2004). *The Biology and Conservation of Wild Canids*. Oxford University PressOxford. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198515562.001.0001>
 47. McFarlane, S. E., & Pemberton, J. M. (2019). Detecting the True Extent of Introgression during Anthropogenic Hybridization. *Trends in Ecology & Evolution*, 34(4), 315–326. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.12.013>
 48. Mehrkam, L. R., & Wynne, C. D. L. (2014). Behavioral differences among breeds of domestic dogs (*Canis lupus familiaris*): Current status of the science. *Applied Animal Behaviour Science*, 155, 12–27. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.03.005>
 49. Moks, E., Jõgisalu, I., Saarma, U., Talvik, H., Jarvis, T., & Valdmann, H. (2006). HELMINTHOLOGIC SURVEY OF THE WOLF (*CANIS LUPUS*) IN ESTONIA, WITH AN EMPHASIS ON *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(2), 359–365. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.2.359>
 50. Moks, E., Remm, J., Kalda, O., & Valdmann, H. (2015). *Eesti imetajad*. Kirjastus Varrak.
 51. Monzón, J., Kays, R., & Dykhuizen, D. E. (2014). Assessment of coyote–wolf–dog admixture using ancestry-informative diagnostic <sc>SNP</sc> s. *Molecular Ecology*, 23(1), 182–197. <https://doi.org/10.1111/mec.12570>

52. Morey, D. F. (1994). The Early Evolution of the Domestic Dog. *American Scientist*, 82(4), 336–347.
53. Ninausz, N., Fehér, P., Csányi, E., Heltai, M., Szabó, L., Barta, E., Kemenszky, P., Sándor, G., Jánoska, F., Horváth, M., Kusza, S., Frank, K., Varga, L., & Stéger, V. (2023). White and other fur colourations and hybridization in golden jackals (*Canis aureus*) in the Carpathian basin. *Scientific Reports*, 13(1), 21969. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49265-0>
54. Nussberger, B., Barbosa, S., Beaumont, M., Currat, M., Devillard, S., Heurich, M., Howard-McCombe, J., Mattucci, F., Nowak, C., Quilodrán, C. S., Senn, H., & Alves, P. C. (2023). A common statement on anthropogenic hybridization of the European wildcat (*Felis silvestris*). *Frontiers in Ecology and Evolution*, 11. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1156387>
55. Pacheco, C., López-Bao, J. V., García, E. J., Lema, F. J., Llaneza, L., Palacios, V., & Godinho, R. (2017). Spatial assessment of wolf-dog hybridization in a single breeding period. *Scientific Reports*, 7(1), 42475. <https://doi.org/10.1038/srep42475>
56. Pal, S. K. (2001). Population ecology of free-ranging urban dogs in West Bengal, India. *Acta Theriologica*, 46(1), 69–78. <https://doi.org/10.1007/BF03192418>
57. Parker, H. G. (2012). Genomic analyses of modern dog breeds. *Mammalian Genome*, 23(1–2), 19–27. <https://doi.org/10.1007/s00335-011-9387-6>
58. Perri, A. R., Feuerborn, T. R., Frantz, L. A. F., Larson, G., Malhi, R. S., Meltzer, D. J., & Witt, K. E. (2021). Dog domestication and the dual dispersal of people and dogs into the Americas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(6). <https://doi.org/10.1073/pnas.2010083118>
59. Pilot, M., Greco, C., vonHoldt, B. M., Randi, E., Jędrzejewski, W., Sidorovich, V. E., Konopiński, M. K., Ostrander, E. A., & Wayne, R. K. (2018). Widespread, long-term admixture between grey wolves and domestic dogs across Eurasia and its implications for the conservation status of hybrids. *Evolutionary Applications*, 11(5), 662–680. <https://doi.org/10.1111/eva.12595>
60. Pilot, M., Moura, A. E., Okhlopkov, I. M., Mamaev, N. V., Manaseryan, N. H., Hayrapetyan, V., Kopaliani, N., Tsingarska, E., Alagaili, A. N., Mohammed, O. B., Ostrander, E. A., & Bogdanowicz, W. (2021). Human-modified canids in human-modified landscapes: The evolutionary consequences of

- hybridization for grey wolves and free-ranging domestic dogs. *Evolutionary Applications*, 14(10), 2433–2456. <https://doi.org/10.1111/eva.13257>
61. Plumer, L., Keis, M., Remm, J., Hindrikson, M., Jõgisalu, I., Männil, P., Kübarsepp, M., & Saarma, U. (2016). Wolves Recolonizing Islands: Genetic Consequences and Implications for Conservation and Management. *PLOS ONE*, 11(7), e0158911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158911>
 62. Plumer, L., Talvi, T., Männil, P., & Saarma, U. (2018). Assessing the roles of wolves and dogs in livestock predation with suggestions for mitigating human–wildlife conflict and conservation of wolves. *Conservation Genetics*, 19(3), 665–672. <https://doi.org/10.1007/s10592-017-1045-4>
 63. Randi, E., Pierpaoli, M., Beaumont, M., Ragni, B., & Sforzi, A. (2001). Genetic Identification of Wild and Domestic Cats (*Felis silvestris*) and Their Hybrids Using Bayesian Clustering Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 18(9), 1679–1693. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003956>
 64. Range, F., & Marshall-Pescini, S. (2022). Comparing wolves and dogs: current status and implications for human ‘self-domestication’. *Trends in Cognitive Sciences*, 26(4), 337–349. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2022.01.003>
 65. Remm, J., Kalda, O., Valdman, H., & Moks, E. (2015). *Eesti imetajad. Liikide tundmaõppimise teejuht*. Tartu Ülikooli ökoloogia- ja maateaduse instituut.
 66. Rhymer, J. M., & Simberloff, D. (1996). EXTINCTION BY HYBRIDIZATION AND INTROGRESSION. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27(1), 83–109. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.83>
 67. Ripple, W. J., Estes, J. A., Beschta, R. L., Wilmers, C. C., Ritchie, E. G., Hebblewhite, M., Berger, J., Elmhagen, B., Letnic, M., Nelson, M. P., Schmitz, O. J., Smith, D. W., Wallach, A. D., & Wirsing, A. J. (2014). Status and Ecological Effects of the World’s Largest Carnivores. *Science*, 343(6167). <https://doi.org/10.1126/science.1241484>
 68. Ruvinsky, A., & Sampson, J. (Toim). (2001). *The genetics of the dog*. CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851995205.0000>
 69. Salvatori, V., Donfrancesco, V., Trouwborst, A., Boitani, L., Linnell, J. D. C., Alvares, F., Åkesson, M., Balys, V., Blanco, J. C., Chiriac, S., Cirovic, D., Groff, C., Guinot-Ghestem, M., Huber, D., Kojola, I., Kusak, J., Kutal, M., Iliopoulos, Y., Ionescu, O., ... Ciucci, P. (2020). European agreements for nature

- conservation need to explicitly address wolf-dog hybridisation. *Biological Conservation*, 248, 108525. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108525>
70. Salvatori, V., Godinho, R., Braschi, C., Boitani, L., & Ciucci, P. (2019). High levels of recent wolf × dog introgressive hybridization in agricultural landscapes of central Italy. *European Journal of Wildlife Research*, 65(5), 73. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1313-3>
71. Smeds, L., Aspi, J., Berglund, J., Kojola, I., Tirronen, K., & Ellegren, H. (2021a). Whole-genome analyses provide no evidence for dog introgression in Fennoscandian wolf populations. *Evolutionary Applications*, 14(3), 721–734. <https://doi.org/10.1111/eva.13151>
72. Smith, L. M., Hartmann, S., Munteanu, A. M., Dalla Villa, P., Quinnell, R. J., & Collins, L. M. (2019). The Effectiveness of Dog Population Management: A Systematic Review. *Animals*, 9(12), 1020. <https://doi.org/10.3390/ani9121020>
73. Stronen, A. V., Aspi, J., Caniglia, R., Fabbri, E., Galaverni, M., Godinho, R., Kvist, L., Mattucci, F., Nowak, C., von Thaden, A., & Harmoinen, J. (2022). Wolf-dog admixture highlights the need for methodological standards and multidisciplinary cooperation for effective governance of wild x domestic hybrids. *Biological Conservation*, 266, 109467. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109467>
74. Suraci, J. P., Clinchy, M., Dill, L. M., Roberts, D., & Zanette, L. Y. (2016). Fear of large carnivores causes a trophic cascade. *Nature Communications*, 7(1), 10698. <https://doi.org/10.1038/ncomms10698>
75. Tikkenen, M., & Kojola, I. (2020). Does public information about wolf (*Canis lupus*) movements decrease wolf attacks on hunting dogs (*C. familiaris*)? *Nature Conservation*, 42, 33–49. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.42.48314>
76. Valdmann, H., Andersone-Lilley, Z., Koppa, O., Ozolins, J., & Bagrade, G. (2005). Winter diets of wolf *Canis lupus* and lynx *Lynx lynx* in Estonia and Latvia. *Acta Theriologica*, 50(4), 521–527. <https://doi.org/10.1007/BF03192645>
77. Valdmann, H., Laanetu, N., & Korsten, M. (2004). Group size changes and age/sex composition of harvested wolf (*Canis lupus*) in Estonia. *Baltic Forestry*, 10(2), 83–86.

78. Vila, C. (1999). Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog. *Journal of Heredity*, 90(1), 71–77. <https://doi.org/10.1093/jhered/90.1.71>
79. Vilà, C., & Wayne, R. K. (1999). Hybridization between Wolves and Dogs. *Conservation Biology*, 13(1), 195–198. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.97425.x>
80. vonHoldt, B. M., Pollinger, J. P., Earl, D. A., Knowles, J. C., Boyko, A. R., Parker, H., Geffen, E., Pilot, M., Jedrzejewski, W., Jedrzejewska, B., Sidorovich, V., Greco, C., Randi, E., Musiani, M., Kays, R., Bustamante, C. D., Ostrander, E. A., Novembre, J., & Wayne, R. K. (2011). A genome-wide perspective on the evolutionary history of enigmatic wolf-like canids. *Genome Research*, 21(8), 1294–1305. <https://doi.org/10.1101/gr.116301.110>
81. VONHOLDT, B. M., STAHLER, D. R., SMITH, D. W., EARL, D. A., POLLINGER, J. P., & WAYNE, R. K. (2008). The genealogy and genetic viability of reintroduced Yellowstone grey wolves. *Molecular Ecology*, 17(1), 252–274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03468.x>
82. Wayne, R. K., Geffen, E., Girman, D. J., Koepfli, K. P., Lau, L. M., & Marshall, C. R. (1997). Molecular Systematics of the Canidae. *Systematic Biology*, 46(4), 622–653. <https://doi.org/10.1093/sysbio/46.4.622>
83. Wilson, D. E., & Mittermeier, R. A. (Toim). (2009). *Handbook of Mammals of the World, Vol. 1: Carnivores*. Lynx Edicions.
84. Wilson, D. E., & Mittermeier, R. A. (2014). *Handbook of the Mammals of the World*. Lynx Edicions.
85. WOJTAŚ, J., KARPIŃSKI, M., TAJCHMAN, K., CZYŻOWSKI, P., GOLEMAN, M., ZIELIŃSKI, D., KOZAK, A., KRUPA, W., GARBIEC, A., & DROZD, L. (2018). Canis lupus familiaris – DOMESTICATION. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 345(48), 129–136. <https://doi.org/10.21005/AAPZ2018.48.4.13>
86. Woodroffe, R. (1999). Managing disease threats to wild mammals. *Animal Conservation*, 2(3), 185–193. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.1999.tb00064.x>

87. World Population Review. (2024). *Wolf Population by Country 2024*. <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/wolf-population-by-country>
88. Xu, J., Becker, A. A. M. J., Luo, Y., Zhang, W., Ge, B., Leng, C., Wang, G., Ding, L., Wang, J., Fu, X., & Janssens, G. P. J. (2021). The Fecal Microbiota of Dogs Switching to a Raw Diet Only Partially Converges to That of Wolves. *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.701439>
89. Young, J. K., Olson, K. A., Reading, R. P., Amgalanbaatar, S., & Berger, J. (2011). Is Wildlife Going to the Dogs? Impacts of Feral and Free-roaming Dogs on Wildlife Populations. *BioScience*, *61*(2), 125–132. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.7>

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kirke Raidmets

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Hundi ja koera hübriidide identifitseerimine Eeesti hundipopulatsioonis SNP-markerite paneeliga”,

mille juhendaja on Maris Hindrikson ja Ege Tammeleht,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Kirke Raidmets
27.05.2024