

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
TERIOLOOGIA ÕPPETOOL

KADI KALJURAND
SOO DETERMINATSIOON SELGROOGSETEL LOOMADEL
Bakalaureusetöö

Juhendaja: Maris Hindrikson, PhD

TARTU 2022

Infoleht

Selgroogsetel loomadel on teada erinevad soo determinatsiooni ehk kujunemise mehhanismid: keskkonnast tingitud ja geneetiline soo determinatsioon. Kui vaadata soo kujunemist detailsemalt, siis see toimub erinevates selgroogsete rühmades kaladest imetajateni väga erinevalt. Selle töö eesmärk on anda ülevaade, mida on hetkel teada selgroogsete loomade soo determinatsiooni kohta. Soo kujunemine on keerukas protsess ning selle uurimine on olnud raskendatud, kuna alles viimasel paarikümnel aastal kasutusel olnud tehnoloogiad võimaldavad täita soo determinatsiooni valdkonnas mitmeid lünkasid. Selgus, et mida evolutsiooniliselt noorem rühm, seda konserveeruvam on sookujunemise mehhanism. Näiteks kalade soo kujunemine on väga mitmekesine, aga peaaegu kõigil imetajatel kujundab sugu üks kindel geen – Sry. Lisaks soo kujunemise mehhanismidele tuleb tänapäeval uurida ka kliimamuutuste ja suureneva reostuse mõju soo kujunemisele, sest praegused andmed näitavad, et nende protsesside mõju võib olla teatud liikidele väga oluline ning võib viia isegi liikide väljasuremiseni.

Märksõnad: soo determinatsioon, geneetiline soo determinatsioon, keskkonnast tingitud soo determinatsioon, selgroogsed, sugukromosoomid.

There are different known mechanisms of sex determination in vertebrate animals: environmental and genetic sex determination. Mechanisms behind sex determination vary greatly in vertebrates from fish to mammals. The aim of this work is to provide an overview of what is currently known about the mechanisms of sex determination in vertebrates. Sex determination is a complex process and has been difficult to study due to technologies used until very recent decades. Therefore, there are still many gaps in the field of sex determination. It turned out that the younger the group of vertebrates, the more conservative the mechanism of sex determination. For example, the sex determination of fish is very diverse, but almost all mammals have a specific sex determination gene – Sry. In addition, the effects of climate change and increasing pollution of environment on sex determination need to be further investigated, as recent data suggest that their effects may be catastrophic for certain species and may lead to extinction.

Keywords: sex determination, genetic sex determination, environmental sex determination, vertebrate animals, sex chromosomes.

Sisukord

1.	Sissejuhatus	6
2.	Mõisted	8
3.	Materjalid	9
4.	Selgroogsed loomad	10
	4.1 Mudelorganismid.....	11
	4.2 Eri sugude kujunemise põhjused	13
5.	Geneetiline soodeterminatsioon ehk GSD.....	14
	5.1 Sugu kujundavad kromosoomid.....	14
	5.2 Fülogeneetilised seosed selgroogsete kromosoomidel	16
	5.3 Sugukromosoomide evolutsioon	16
	5.4 Imetajate X- ja Y-kromosoom.....	18
	5.5 Imetajate soo kujunemine	21
	5.6 Z- ja W-kromosoom lindudel	23
	5.7 Linnu soo kujunemise rajad.....	24
	5.8 Roomajate X- ja Y- ning Z- ja W-kromosoom	27
	5.9 Roomajate soo kujunemine	27
	5.10 Kahepaiksete sugukromosoomid	28
	5.11 Kahepaiksete sookujunemine.....	29
	5.12 Kalade sugukromosoomid ja sookujunemine	29
6.	Keskkonnast tingitud soodeterminatsioon ehk ESD	32
	6.1 Temperatuurist sõltuv soodeterminatsioon ehk TSD.....	32
	6.2 Roomajate soo kujunemine TSD puhul.....	33
	6.3 Kalade ESD	34
	6.4 Reostuse mõju soo kujunemisele	35
7.	TSD vs GSD	36
8.	Arutelu	37
	Kokkuvõte	46
	Summary.....	47
	Tänuavaldus.....	48
	Kasutatud kirjandus	49

1. Sissejuhatus

Soo kujunemist selgroogsetel loomadel hakati uurima juba eelmisel sajandil, et mõista paremini eri liikide anatoomiat ja käitumist ning neid mõjutavaid tegureid (Ohno, 1967). Esimene sookujunemise hüpotees, mida nüüdseks on oluliselt täiendatud, loodi aastal 1967 Susumu Ohno poolt (Ferguson-Smith, 2006). Sookujunemise uurimine annab aimu liikide evolutsioonist ning erinevatest teguritest, mis mõjutavad liikide eri sugupoolte vahekorda. Lisaks geneetilistele ja keskkonnast tingitud mehhanismidele võivad olulist mõju selgroogsete loomade soo kujunemisele avaldada ka kliimamuutused ja keskkonnareostus, põhjustades genotüübi ja fenotüübi mittedobivuse (Wedekind, 2017). Keskkonnareostus on ohuks looduslikele populatsioonidele, kuna selle tulemusel võib sugukromosoomide tase liikides muutuda, mis mõjutab populatsiooni kasvu või halvimal juhul võib viia liigiväljasuremiseni (Wedekind, 2017).

Selgroogsetel loomadel on sookujunemine dihhotoomne tunnus, mistõttu tekib emane või isane isend (Parker *et al.*, 1972; Graves, 2008). Emase munaraku peab viljastama isase seemnerakk, et algaks uue isendi elu (Lehtonen & Parker, 2014). Tänapäeval peetakse emase ja isase soo tekkimise seletust kõige pädevamaks gameetide konkurentsi hüpoteesi (Lehtonen & Parker, 2014). Hüpoteesi järgi oli vanematel võimalus oma sugurakkude suurust iseseisvalt muuta, seega võis populatsioon koosneda vanematest, kes tootsid palju eri suurustes sugurakke (Parker *et al.*, 1972). Konkurentsi tõttu muutusid väikesed sugurakud üha väiksemaks, jäädes toitainevaesemaks, ja arvukamaks, mistõttu suured sugurakud muutusid suuremaks, et tagada vajalikud ressursid (toitained) sügooti arenguks ning kõik vahepealse suurusega sugurakud kadusid populatsioonist (Parker *et al.*, 1972). Kui omavahel liitusid pisikesed sugurakud, ei tekkinud elujõuline sügoot ning samuti ei saanud ka suured sugurakud omavahel ühineda, kuna pisikesed rakud olid kiiremad (Parker *et al.*, 1972). Samas on endiselt raske leida veenvat ja põhjapanevat põhjust, miks suguline taastootmine on nii levinud, sest asekuaalsel paljunemisel on seksuaalse ees mitmeid eeliseid, näiteks ei pea leidma sobivat kaaslast (Lehtonen & Parker, 2014). Praeguseks on teada mitmeid mehhanisme, mis selgroogsetel loomadel sugu kujundavad (Capel, 2017).

Selle töö eesmärk on anda ülevaade selgroogsete loomade soo kujunemise peamistest mehhanismidest, samuti sugu kujundavatest kromosoomidest ja geenidest ning uuritud soo määramise radadest. Bakalaureusetöö käsitleb järgmisi küsimusi: (1) millised on erinevad sookujunemise mehhanismid selgroogsetel; (2) millised on erinevad

sugukromosoomid ning kuidas on toimunud nende evolutsioon (3) kas on kujunenud kõiki selgroogsete rühmi läbivaid soo kujunemise mustreid kaladest imetajateni ning (4) millised on peamised geenid ja keskkonnategurid, mis selgroogsete soo kujunemist mõjutavad.

Töös käsitletakse roomajate rühma parafüleetilise, mitte monofüleetilise rühmana. Roomajate rühmast on välja jäetud linnud, mis tuleb sellest, et varasemad soo kujunemist käsitletud uuringud ei käsitle neid monofüleetilise rühmana ning lindude klass erineb suuresti teistest roomajatest, mistõttu on neid mugavam käsitleda eraldi (joonis 1).

2. Mõisted

Mõistete selgitused pärinevad A. Heinaru õpikust „Geneetika. Õpik kõrgkoolile.“

Apoptoos - nähtus, kus eukarüootse organismi rakud hukuvad samades rakkudes toimivate geneetiliselt programmeeritud sündmuste tõttu, raku enesetapp

Autosoom - suvaline kromosoom, mis pole sugukromosoom. Nende arv ja kuju ei sõltu soost, nad on mõlemale sugupoolele ühised

Hermafrodism - kahesoolisus

Heterogameetne - moodustab erinevate sugukromosoomidega gameete. Inimesel on heterogameetsed XY-isased

Heteromorfne - erikujulisus

Homogameetne - XX- või ZZ-sugupool. Moodustab sugukromosoomide osas ühesuguseid gameete

Homomorfne - samasugused

Inversioon - kromosoomne ümberkorraldus, kus geenide lineaarne järjestus kromosoomis pööratakse ümber

Monogeenne tunnus - ühest geenist sõltuv fenotüüp

Polügeen - üks paljudest geenidest, mis osaleb kvantitatiivse tunnuse määramisel (avaldumisel)

Pseudoautosomaalne geen - geen, mis asub nii X- kui ka Y-kromosoomis

Sugukromosoom - soo määramises osalevad kromosoomid, vastandatud autosoomidele.

Supressioon - pärssimine

3. Materjalid

Materjalide otsimine toimus *Scopus* andmebaasis. Kuna enamus materjalid on inglise keeles, toimus ka otsimine ingliskeelsete märksõnadega. Alguses olid otsingusõnadeks *sex determination in vertebrates*, et leida valdkonnast ülevaateartiklid, mis võtaksid selgroogsed kaladest kuni imetajateni kokku, kuid neid oli vähe ning enamus olid siiski imetajate-kesksed. Järgmised otsingud olid täpsemad: *sex determination in mammals*, *sex determination in bird/aves*, *sex determination in reptiles*, *sex determination in amphibians*, *sex determination in fish*. Nii oli võimalik leida ülevaateartiklid antud loomarühma kohta, kuid ka neid oli pigem vähe (v.a imetajate ja lindude puhul).

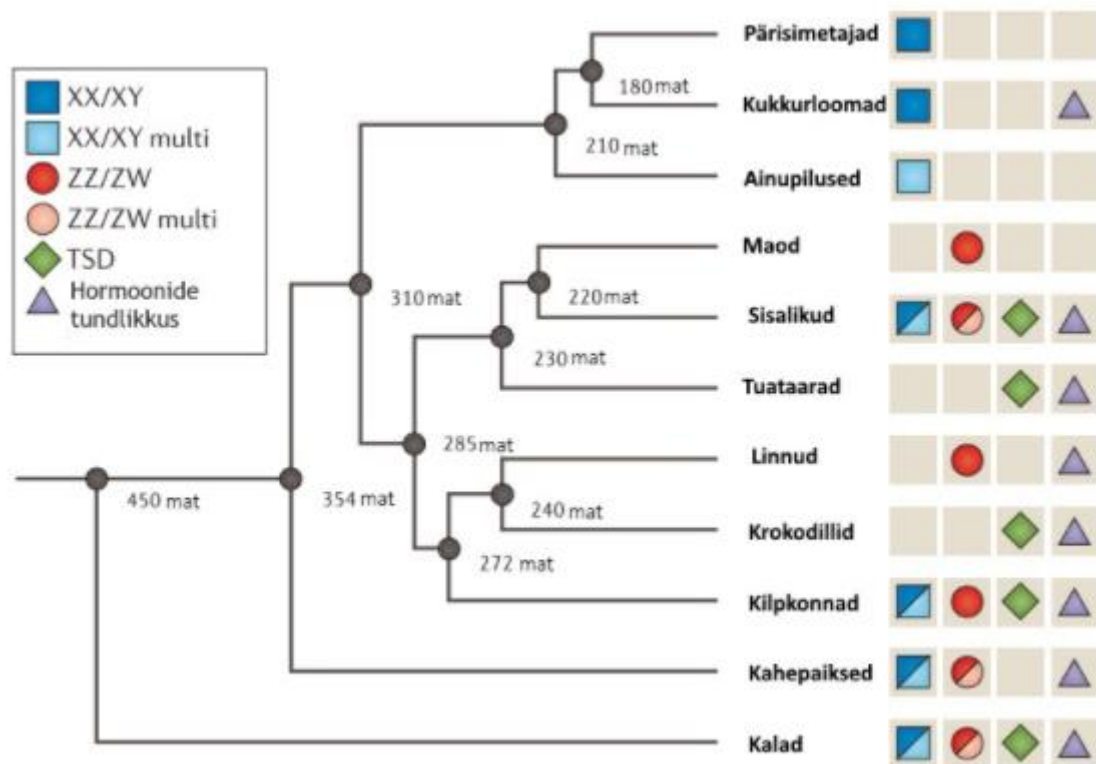
Imetajate puhul olid otsingusõnadeks veel *marsupial* (kukkurloom), *platypus* (nokkloom). Roomajate puhul tuli samuti eraldi otsida *lizards* (sisalikud), *crocodiles* (krokodillid), *snakes* (maod), *turtles* (kilpkonnad). Kuna soo determinatsiooni mehhanisme on mitmeid, tuli eraldi otsida veel *environmental sex determination*, *genetic sex determination* ja *temperature-dependent sex determination*. Nende sõnadega sai vajalikud artiklid kätte. Lisaks, kuna kasutasin Mendeley viitamissüsteemi, saatis Mendeley teemale sarnaseid artikleid, millest nii mõnigi sisaldas vajalikke andmeid.

4. Selgroogsed loomad

Selgroogsetel on sugu dihhotoomne omadus – kujuneb kas emane või isane isend (Graves, 2008). Sugu määrava süsteemi varieeruvus on seotud mitme väliselt või sisemiselt määratud teguriga, näiteks nagu ökoloogilised muustrid või eluloo parameetrid (Katona *et al.*, 2021). Ökoloogiliste muustrite hulka saab lugeda ümbritseva õhu ja temperatuuri muutuse, pikaealisus ja populatsioonide demograafiline koosseis on aga näited eluloo parameetritest (Katona *et al.*, 2021). Selgroogsetel esineb kaht tüüpi soo determinatsiooni: geneetiline ning keskkonnast tingitud (Straková *et al.*, 2020). Kui lindudel, kahepaiksetel ning imetajatel esineb geneetiline soo determinatsioon (*genotypic sex determination*, GSD), siis roomajatel ja kaladel võib soo kujunemine olla nii geneetiliselt kui ka keskkonna poolt määratud (*environmental sex determination*, ESD) (Bachtrog *et al.*, 2014; Capel, 2017). ESD alla kuulub temperatuurist sõltuv soo determinatsioon (*temperature-dependent sex determination*, TSD), peremeheorganismi suurusest sõltuv soo determinatsioon ning spetsiifilistest interaktsioonist (Bull, 1981) ja sotsiaalsetest faktoritest sõltuv determinatsioon (Kobayashi *et al.*, 2013).

Evolutsioonis ei ole olnud sugu määravate mehhanismide fülogeneetiline jaotumine ühtlane (joonis 1) (Ezaz *et al.*, 2010), mida ilmestab näiteks see, et krokodillidel on sugu tingitud TSD-st, aga nende sõsarrühmal lindudel GSD-st. Samas sisalike sugukonnas võib esineda nii TSD ja GSD (Rhen & Schroeder, 2010). Samuti on roomajaid ja kalu, kellel esinevad nii GSD kui ka TSD korraga (Santos *et al.*, 2017; Whiteley *et al.*, 2021). Sugu määravate mehhanismide komponendid näivad olevalt konserveerunud, kuid siiski pole nende esialgne päästikmehhanism (*trigger*) kõigil selgroogsetel sama (Schartl, 2004). Näiteks osad sugu kujundavad geenid nagu Sox9, Wt1 ja Sf-1 on säilinud kaladest imetajateni, kuid soo kujundamist alustavad igas rühmas erinevad päästikud (Schartl, 2004), olgu selleks kindel temperatuur või mõni sugu kujundav võtmegeen nagu Sry.

Sugu ei määratleta eri selgroogsete klassidel ka üldse mitte samades kudedes. Lindudel on autonoomne soo kujunemine, mis tähendab, et isendi fenotüüpi ei mõjuta suguhormoonid, vaid fenotüüp sõltub üksikute kudedes koosnevate rakkude olemusest (Zhao *et al.*, 2010). Imetajate gonaadid kujunevad aga vastavalt sugunäärme tüübile ning on suguhormoonidest mõjutatud (Zhao *et al.*, 2010).



Joonis 1. Soo kujunemise mitmekesisus selgroogsetel loomadel (Capel, 2017 põhjal).

4.1 Mudelorganismid

Mudelorganismiks nimetame organismi, kellelt saadud tulemused on interpreteeritavad ja osaliselt ülekantavad teistele liikidele (Heinaru, 2012). Lisaks on need liigid kergesti tehistingimustes kasvatatavad ning neil on lühike eluiga. Imetajate rühmas on soo kujunemise mudelorganismidena enim uuritud koduhiirt (*Mus musculus*) ning inimest (*Homo sapiens*). Inimese puhul on leitud X-kromosoomi kihilisus (Lahn & Page, 1999) ning koduhiire uurimisel on teada saadud peaaegu täpne sookujunemise rada ning selle mehhanismid (Sánchez & Chaouiya, 2016). Inimeste sookujunemise rada on suuresti sarnane hiirte omale (Katsura *et al.*, 2018). Lisaks sellele on uuritud ka muttlemminglaste hulka kuuluvat liiki *Ellobius tancrei* ning harjasrotlaste hulka kuuluvat närilist *Tokudaia osimensis*, kuna antud liikidel puudub erandlikult Y-kromosoom (Graves, 2008). Nende sookujunemine on teistest eluspoegijatest erinev, kuna neil pole Sry-geeni, mis on eluspoegijate soo määramise kontekstis võtmegeen (Graves, 2008). Hiire ja inimese mudelit aga ei saa näiteks kasutada ainupiluliste seltsi puhul, sest neil puudub Sry-geen ning nende soo kujundamist võib alustada mõni teine geen näiteks Dmrt1, mistõttu tuleb

noorklooma (*Ornithorhynchus anatinus*) ja sipelgasiili (*Tachyglossus*) veel eraldi uurida (Wallis *et al.*, 2008).

Lindude sugu kujundavaks mudeliks võib lugeda kodukana (*Gallus gallus domesticus*), kes on ka arengubioloogia olulisemaid mudelorganisme (Chue & Smith, 2011). Kana mudelorganismiks olemise peamine põhjus tuleneb sellest, et tegu on majanduslikult tähtsa liigiga. Näiteks nii munatööstuses kui ka lihatööstuses lähevad enamused isasisendid hukkamisele, siis teades, millised mehhanismid määravad kanade sugu, saab varakult määrata isendi soo. Viljastatud muna nakatakse pealt viirusega, mis suudab kommunikeerida muna sisemise materjaliga ning selle abil on võimalik isendi sugu määrata (Fioranelli *et al.*, 2019). Nii varases eas pole kukel veel närvisüsteemi kujunenud ning tema hukkamine ei põhjusta kannatusi, erinevalt tavapraktikast, milles isastibud lähevad elusalt hakklihamasinasse purustamisele (Reithmayer & Mußhoff, 2019). Lisaks kanale on uuritud ka teisi linde nagu emu (*Dromaius novaehollandiae*), sebra-amadiini (*Taeniopygia guttata*), kellel on uuritud metsikutest lindudest kõige põhjalikumalt soo kujunemist (Hirst *et al.*, 2017). Lindude rühmas ei ole lisaks ZZ/ZW süsteemile teisi süsteeme leitud, mistõttu kana sobib hetke teadmiste põhjal lindude mudelorganismiks.

Roomajatega on asi keerulisem. Kogu roomajate klassi peale ei saa võtta ühte mudelorganismi, kuna juba sugukonnasiseselt võib soo kujunemine olla väga erinev (Rhen & Schroeder, 2010). Samuti ei leidunud ühtegi artiklit, mis käsitleks roomajate sookujunemise mehhanisme nii põhjalikult nagu on Chue ja Smithi (2011) ülevaateartikkel lindude soo kujunemisest või Sánchez ja Chaouiya (2016) loodud imetajate ülevaateartikkel.

Kahepaiksetel on soo määramisel esindatud ainult GSD mehhanism, aga selle täpset toimimist ei teata (Schmid & Steinlein, 2001). Põhjalikumalt on uuritud konlaste sugukonda kuuluvat perekonda konn (*Rana*) ning harilikku kärnkonna (*Bufo bufo*).

Kalade rühmas on sarnane olukord nagu roomajate seas: ainult üks mudel ei suuda kirjeldada kogu sookujunemise mehhanismide mitmekesisust kalades (Kobayashi *et al.*, 2013). Kaladel on palju erinevaid soo determinatsiooni mehhanisme, mistõttu oleks nende jaoks vaja mitut mudelorganismi. Kuid ka see ei pruugi aidata, sest näiteks geeni, mis kujundab jaapani riisikala (*Oryzias latipes*) sugu, pole leitud üheski teises kalas v.a liigis *Oryzias curvinotus* (Kobayashi *et al.*, 2013). Kõige uuritum kala on jaapani riisikala, kellel on lühike generatsiooni aeg ja keda on lihtne tehistingimustes pidada (Bashamboo

& McElreavey, 2016). Järgmisena on rohkesti uuritud sebrakala (*Danio rerio*) (Schartl, 2004; Kobayashi *et al.*, 2013), kes on samuti heaks mudelorganismiks, sest tema generatsiooniaeg on lühike, isendid on väikesed, neil on kõrge viljakus, emakasisene ja läbipaistev embrüonaalne areng ning kõrge homoloogia inimesega (Santos *et al.*, 2017). Kalade puhul teeb olukorra keerulisemaks ka asjaolu, et 2% säilinud kalaliikidest on dokumenteeritud hermafroditismi (mõlemasoolisus) (Avisé & Mank, 2009).

4.2 Eri sugude kujunemise põhjused

Eraldi sood arenesid iseseisvalt nii taimedel kui ka loomadel, mis viitab sellele, et hermafroditismil on mõnedes rühmades evolutsiooniline hind (Bachtrog *et al.*, 2014). Kaks erinevat sugu võisid tekkida näiteks selleks, et ära hoida iseviljastumisest tingitud madalat kohasust või ka seetõttu, et isaste ja emaste isendite funktsioonide vahel on aja jooksul tekkinud seksuaalne konflikt (Bachtrog *et al.*, 2014). Näiteks mõni geen/funktsioon tõstab isase kohasust, aga emase oma langetab (ja vastupidi), andes eelise vastavalt kas isasele (või emasele), mistõttu on kasulikum spetsialiseeruda üheks või teiseks (Bachtrog *et al.*, 2014). Bachtrog jt. (2014) toovad välja, et viimasel hüpoteesil puuduvad vettpidavad tõestused. Parker jt. (1972) löid gameetide konkurentsi hüpoteesi, mille järgi muutusid sugurakud lõhestava valiku (*Disruptive selection*) tõttu, kas aina väikesemaks, toitainevaeseks ja arvukaks (tänapäeva spermid) või suureks ja toitainerikkaks (munarakud). See hüpotees on hetkel kõige pädevam, aga veenvat põhjust on raske leida (Lehtonen & Parker, 2014).

Kuigi soo kujunemise tulemus on üldiselt sama (produtseeritakse mõni suur munarakk või väga palju seemnerakke), on väga palju erinevaid mehhanisme, mis viivad sellise sugude kujunemise tulemuseni (Graves, 2008). Need mehhanismid on ajas muutunud, kaduma läinud või taas tekkinud ning seetõttu on nende mitmekesisus suur (Graves, 2008; Bachtrog *et al.*, 2014; Capel, 2017; Furman *et al.*, 2020).

5. Geneetiline soodeterminatsioon ehk GSD

5.1 Sugu kujundavad kromosoomid

Kromosoomid jagunevad kaheks: autosoomideks, mis ei sisalda isendi sugu mõjutavat geeni, ja sugukromosoomideks, mis omavad geeni/geene, mis mõjutavad soo kujunemist. Selgroogsetel loomadel esineb neli erinevat sugukromosoomi: X-, Y-, W- ja Z-kromosoom (Fridolfsson *et al.*, 1998). Kui X- ja Z-kromosoomid mõlemad on suured, geenirikkad ja hästi konserveerunud, siis Y- ja W-kromosoomid on enamasti väikesed ja neis on vähe aktiivseid geene (Veyrunes *et al.*, 2008; Graves 2014;). Näiteks on inimese ja šimpansi Y-kromosoomis ainult 40 - 80 geeni, kuid võrdluseks X-kromosoomis on 1098 valku kodeerivat geeni (Chen *et al.*, 2014). On leitud, et Y- ja W-kromosoom on muutlikumad ja kahanevad evolutsiooni jooksul ning X- ja Z-kromosoom konserveeruvad ja säilitavad oma suuruse (Veyrunes *et al.*, 2008). Samas näiteks kilpkonnadel ei ole Y- ja W- kromosoomid kujunenud geenide kadumise tagajärjel sarnaselt lindude ja imetajate samade kromosoomidega (Bista & Valenzuela, 2020), vaid nelja iseseisvalt juhtunud evolutsioonilise sündmuse käigus, mil korduvad järjestused Y- ja W- kromosoomides kuhjusid (Bista & Valenzuela, 2020). On ka erandlikke liike, kelle W- ja Y-kromosoom on suurem kui Z- ja X-kromosoom, näiteks nagu kukkurlehekonnal (*Gastrotheca riobambae*), kelle Y-kromosoom on suurem kui X-kromosoom (Schmid & Steinlein, 2001).

Selleks et kromosoom sugu kujundaks, on vaja kas (a) dominantset geeni (Y-l dominantne geen kujundab isast ja W-l dominantne geen kujundab emast) nagu imetajate Sry-geen või (b) doosist sõltuvat (*dose-dependent*) geeni (X- ja Z-kromosoomil olemas, aga Y- ja W-kromosoomil puudu) nagu lindudel, kellel Dmrt1-geeni topelt doos määrab isendi soo (Singchat *et al.*, 2020). Arvatakse, et kõikide amniotide (sõnast amnion – 'lootevesikest; roomajad, linnud ja imetajad' (Heinaru, 2012) eellane oli heterogameetne (erinevate sugukromosoomidega) emane isend Z- ja W-kromosoomiga (Alam *et al.*, 2018). Singchati jt. (2020) arvates viitab üks hüpotees sellele, et madude W-kromosoom võib olla kõige sarnasem amniotide esivanemate supersugukromosoomiga (*super-sex chromosome*). Eellase sugukromosoomi kutsutakse supersugukromosoomiks, kuna see sisaldab hüpoteetiliselt plokkide roomajate sugukromosoomist, mis kunagi lõhenes kromosomaalsete ümberkorralduste kaudu ning jagunes selle tulemusel paljudeks kromosoomideks (Singchat *et al.*, 2020).

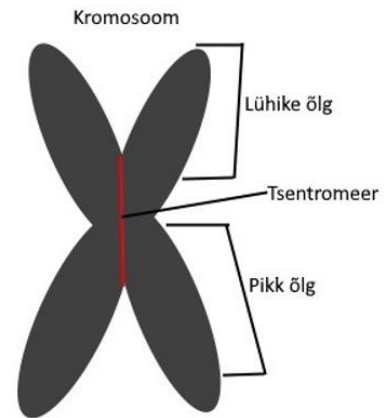
Lindudel on homogameetne isane (sugukromosoomid ZZ) ja heterogameetne emane (ZW) isend. Imetajatel on vastupidi: homogameetseks sooks on emane (XX) ja heterogameetne isane (XY). Imetajate, roomajate ja lindude sugukromosoomid on iseseisvalt arenenud erinevatest eellasautosoomidest (Fridolfsson *et al.*, 1998; Veyrunes *et al.*, 2008; Ezaz *et al.*, 2010; Smith, 2010; Chue & Smith, 2011; Graves, 2014; Irwin, 2018). Võimalik, et *flip-flop*’i (Z- ja W-kromosoom on võimeline kombineeruma X- ja Y-kromosoomiga) tulemusel on lindude ZZ/ZW süsteemist saanud imetajate XX/XY süsteem (Graves, 2008). Sellele võimalusele viitab geeni Dmrt1 olemasolu nii imetajatel kui ka lindudel (Graves, 2008). Suurim erinevus lindude, roomajate, kalade ja kahepaiksete (ZW/XY) ja imetajate sugukromosoomide (XY) vahel on Sry-geen, mis on imetajatel soo määramise võtmegeen, kuid puudub lindude, kahepaiksete, kalade ja roomajate sugukromosoomides (Wallis *et al.*, 2008; Bista & Valenzuela, 2020; Estermann *et al.*, 2020). Kuigi kahepaiksetel on leitud Sry-geeniga homoloogseid DNA järjestusi, pole siiski ükski leidudest sobiv kandidaat soo määramiseks kahepaiksetel (Schmid & Steinlein, 2001). On selgunud, et lindude ja imetajate sugukromosoomid on jäänud väga stabiilseks võrreldes roomajate sugukromosoomidega (Ezaz *et al.*, 2010).

Roomajatel esineb nii XX/XY sugukromosoomide kui ka ZZ/ZW sugukromosoomide süsteemi (Sarre *et al.*, 2004; Graves 2008; Ezaz *et al.*, 2010; Alam *et al.*, 2018; Bista & Valenzuela 2020; Singchat *et al.*, 2020). Kilpkonnade seas on täheldatud isaste heterogameetsust (XY või XXY), madudel on samas emane heterogameetne (ZW, ZZW või ZWW) ning mõlemad süsteemid on leitud ka sisalikel (Sarre *et al.*, 2004). Siinjuures tuleb ka märkida, et roomajate Z- ja W-kromosoomid ei ole homoloogsed lindude sugukromosoomidega (Graves, 2008). Kuigi madude ja lindude sugukromosoomid näevad sarnased välja, ei oma nad homoloogiat ning pärinevad ühise eellase erinevatest autosoomide paaridest (Matsubara *et al.*, 2006).

Vanematel rühmadel nagu kahepaiksetel on samuti esindatud X-, Y-, Z- ja W-kromosoomid ning lisaks esineb neil homomorfseid ehk suuruse ja geenisisalduse poolt vähe eristunud sugukromosoomide (Schmid & Steinlein, 2001; Miura, 2018). Kõige vanemas rühmas kaladel on esindatud mitmed erinevad süsteemid: näiteks riisikalal XX/XY süsteem (Schartl, 2004), lestalisel *Cynoglossus semilaevis* ZZ/ZW süsteem (Chen *et al.*, 2014) ning sebrakalal on sugukujundavad geenid üle genoomi laiali (Moore & Roberts, 2013).

5.2 Fülogeneetilised seosed selgroogsete kromosoomidel

Imetajate, lindude ja roomajate kromosoomistikus on ka homolooge, mis ei ole sookujunemisega seotud (Smith & Sinclair, 2004; Ezaz *et al.*, 2010; Graves, 2014). See võiks näidata, et sugukromosoomide evolutsioon on keerukas ning vähe uuritud, kuna osad plokid asuvad ühes selgroogsete rühmas sugukromosoomis, aga teistel autosoomis: näiteks lindude Z-kromosoom on sarnane inimese üheksanda kromosoomiga ning kannab samuti plokkide viiendast, kaheksandast, ja 18 kromosoomist ja X-kromosoomi geenid on homoloogsed lindude



Joonis 2. Kromosoom

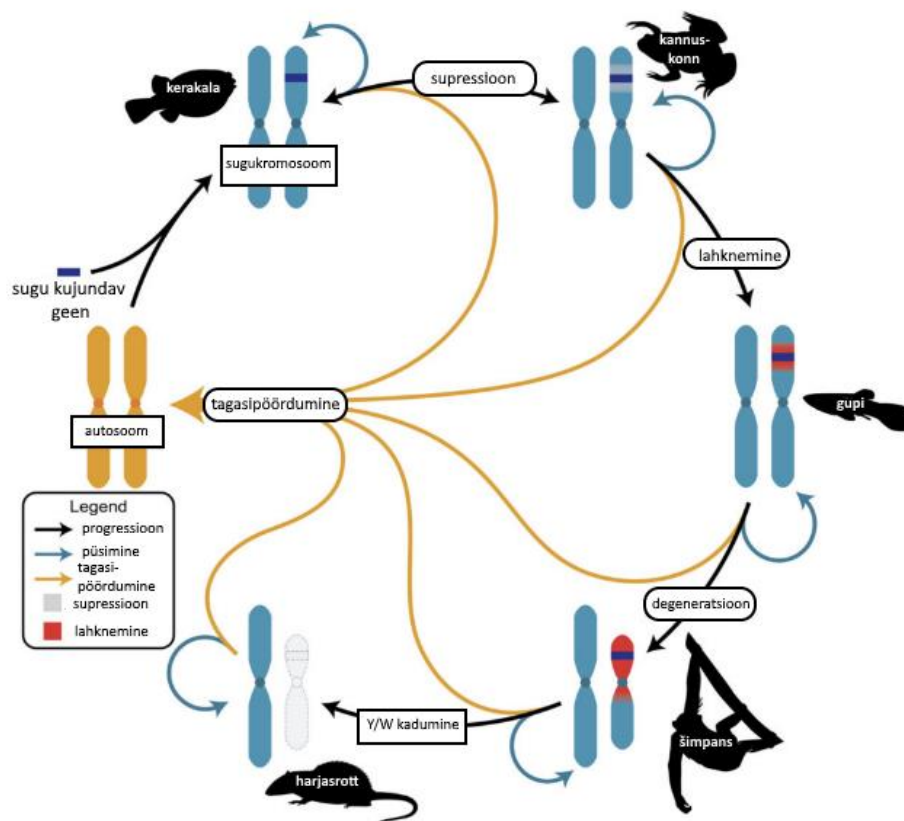
esimese, neljanda ja 12. kromosoomiga (Smith & Sinclair, 2004; Veyrunes *et al.*, 2008; Graves, 2014). Samas on nokklooma sugukromosoomid rohkem homoloogsed lindude, kui teiste imetajate sugukromosoomidega (Veyrunes *et al.*, 2008; Wallis *et al.*, 2008). Ükski nokklooma 10 sugukromosoomist ei ole homoloogne teiste imetajate sugukromosoomidega, kuid nokklooma X₅ osad regioonid on samad lindude Z-kromosoomiga (Wallis *et al.*, 2008). Madude Z-kromosoom jagab homoloogiat lindude teise kromosoomi lühikese õlaga ja 27. kromosoomiga rohkem kui lindude Z- ja W-kromosoomidega (Ezaz *et al.*, 2010; Graves 2014; joonis 2).

5.3 Sugukromosoomide evolutsioon

Klassikalise teooria järgi pärinevad sugukromosoomid autosoomide paaridest ning nende vahelised rekombinantsed alad surutakse inversioonide ehk kromosoomi lõikude ringipööramise kaudu alla (Furman *et al.*, 2020). Teooria näiteks võib tuua inimese X- ja Y-kromosoomid. Ohno (1967) arutluskäigu järgi arenesid imetajate X- ja Y-kromosoomid identsetest esivanemate sugukromosoomidest, millest ühel oli sugumäärav roll. Ohno (1967) sookujunemise hüpotees väidab, et lindude Z- ja W-kromosoomid on pärit eellase autosoomidest, mis on erinevad imetaja eellase autosoomidest, kuid aastatega on seda hüpoteesi modifitseeritud (Ferguson-Smith, 2006). Juurde on lisatud, et kukkurloomade (*Marsupialia*) X-kromosoom erineb pärisimetajate X-kromosoomist (Spencer *et al.*, 1991). Imetajate sugukromosoomid pärinevad imetajate eellase autosoomist, kuna neil on näha lahknemismustrit, mis väljendub evolutsiooniliste

kihtidena X-kromosoomil (Posyneck & Brown, 2019). Furman jt. (2020) toovad välja, et klassikaline teooria ei hõlma siiski kogu sugukromosoomide evolutsiooni, sisaldab palju erandeid ja on mitmekesisem. Näiteks (1) töid nad uute andmete põhjal välja, et sugukromosoomipaar ei kujune alati autosoomide paarist; (2) samuti on jäänud sugukromosoomipaaride vahelise rekombinatsiooni supressiooni põhjus ja mehhanism ebaselgeks ning võib juhtuda, et rekombinatsiooni supressiooni levik on arvatust järkjärgulisem protsess (Furman *et al.*, 2020). Seetõttu on X-, Y-, Z- ja W-kromosoomi vaheline rekombinatsiooni pärssimine korduv nähtus, mille põhjusel sugukromosoomid lahknevad ning tekib heteromorfia ehk sugukromosoomide üksteisest eristumine (Bachtrog *et al.*, 2014).

Furman jt (2020) arvates on kromosoomide eluiga pigem ringikujuline kui lineaarne (joonis 3). Selle üheks põhjuseks on tagasipöördumine ehk *turnover*. See tähendab, et (a) sugukromosoom võib muutuda tagasi autosoomiks ning sugu määrav geen liigub uude asukohta ja säilitab oma rolli, mida on raske näidata/tõestada või (b) sugukromosoom võtab soomääramise rolli endale täiesti uus geen. Kui tagasipöördumine tekib XX/XY ja ZZ/ZW süsteemide vahel, siis esineb periood, kus mõlemad süsteemid on koos (Furman *et al.*, 2020). Graves (2008) nimetas seda perioodi *flip-flopiks*, kui isendid ZZ/ZW on võimelised ristuma XX/XY-isenditega ning kus Y-kromosoom domineerib X- ja Z-kromosoomi üle, aga W-kromosoom domineerib omakorda Y-kromosoomi üle (XY/ZY/ZZ-isased, XX/ZW/WY-emased). Näiteks naastuse konna (*Rana rugosa*) populatsioonides on erinevad sugukromosoomide süsteemid (Graves, 2008). Graves (2008) oletab, et *flip-flop* võib näidata seda, kuidas lindude ZZ/ZW süsteemist on kujunenud imetajate XX/XY ja sellele viitab ka *Dmrt1*-geeni olemasolu mõlema sugukromosoomides. Lisaks esinevad tähnisel mõõksabal (*Xiphophorus maculatus*) X-, Y-, ja W-kromosoomid üheaegselt koos ühes ja samas populatsioonis, mistõttu on neil WX, XX ja WY emasisendid ning XY ja YY isasisendid (Schartl, 2004). Seega hiljutiste uuringute tulemusel saab oletada, et sugukromosoomide evolutsioon on kiire ning populatsioonide-põhised uuringud on kõige kasulikumad, et uurida varase sugukromosoomi evolutsiooni mehhanisme ja mustreid (Furman *et al.*, 2020).

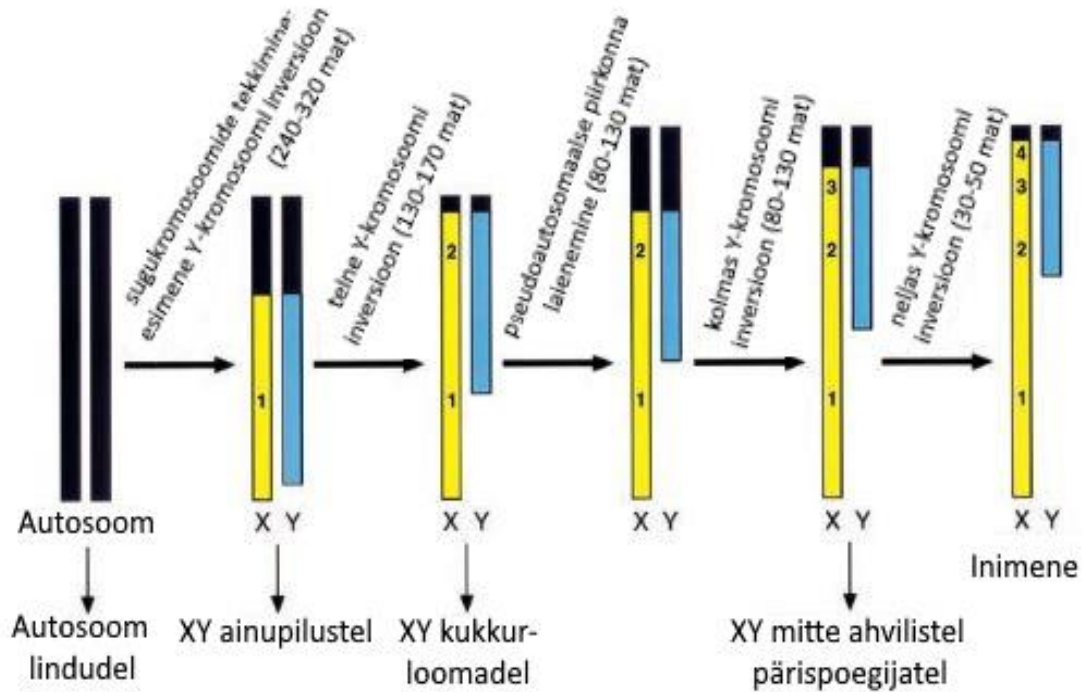


Joonis 3. Sugukromosoomide evolutsiooniring. Sugumäärava võtmegeeni lookuse tekkimine autosoomis (kuldne kromosoom, vasakul pool), mis viib sugukromosoomi tekkimiseni (sinine kromosoom, vasakul üleval), kuid sugukromosoomi tekkimine pole lihtsalt lahknemise progress. Pärast sugukromosoomide kujunemist võivad sugukromosoomid mis tahes edaspidises evolutsioonietapis jääda püsima praegusesse staadiumisse (sinine nool), kujuneda välja suuremad rekombinatsiooni pärssimis- (hall piirkond, paremas ülemises kromosoomis) ning lahknemisalad (punane piirkond, parempoolses kromosoomis) või võib kromosoom läbida turnover'i ehk tagasi pöörduda (kuldse nooled) autosoomiks, milles tekib uus sookujundav geen või liigub sugu määrav geen genoomis uude asukohta. (Furman et al., 2020 põhjal)

5.4 Imetajate X- ja Y-kromosoom

Inimese X-kromosoomi ehituse saab jagada nelja kihti (Lahn & Page, 1999; Cortez *et al.*, 2014; Posyck & Brown, 2019). Kihid tähistavad evolutsioonilist sündmust (joonis 4). Vanim ehk esimene kiht kujunes välja vahemikus 320 - 240 mat, kui imetajad lahknesid lindudega ühisest eellasest ning tekkisid sugukromosoomid (X ja Y). Teine kiht kujunes u 200 mat, lahknesid ainupilulised (*Monotremata*) ja eluspoegija imetajad (*Theria*). Kolmas kiht tekkis umbes 181 mat, kui toimus lahknemine kukkurloomadega ühisest eellasest ning tekkisid pärisimetajad (*Eutheria*). Noorim ehk neljas kiht tekkis 50 - 30 mat, kui kujunes välja inimene. Oletatakse, et kihid on tekkinud inversiooni tõttu ning selle tulemusel on imetajate kromosoomide rekombinatsioon pärsitud. Kui X-kromosoomi kihid on omavahel eristunud, siis Y-kromosoomi omad on segunenud, mistõttu on X-Y vaheline rekombinantsus ajas aina enam vähenenud (Lahn & Page,

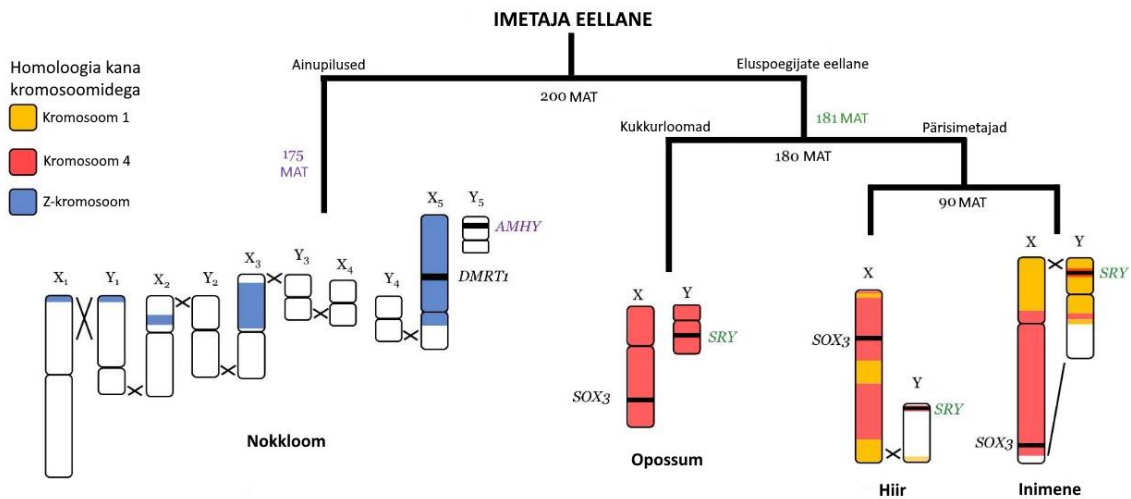
1999). Evolutsiooniteooria ennustab, et Y-kromosoomi kihtide segunemise tõttu tekkisid Y-kromosoomis kahjustatud piirkonnad ning sealsed geenid hakkasid lagunema ning hävisid lõpuks (Lahn & Page 1999).



Joonis 4. Pakutud evolutsiooniliste sündmuste jada, mille tulemusel tekkisid inimese X-kromosoomil neli kihti. Eeldatakse, et oli neli Y-kromosoomi inversiooni. Iga inversioon vähendas pseudoautosomaalse (X-Y rekombinatsiooni) piirkonna suurust (must; lihtsuse huvides on iga kromosoomi jaoks näidatud ainult üks pseudoautosomaalne piirkond) ja suurendas X- (kollane) ja Y- (sinine) kromosoomi piirkondi, mis ei rekombineerunu meeste meiosis. Y-geenide pidev lagunemine ja kadumine soosib Y-kromosoomi mitterekombineeruva piirkonna perioodilist laienemist. Näidatud on lahkemispunktid teiste imetajate sugukromosoomidest. See mudel ei välista (i) täiendavate inversioonide või muude ümberkorralduste esinemist arenevas Y-kromosoomi mitterekombineeravas piirkonnas või (ii) sarnaseid ümberkorraldusi arenevas X-kromosoomis seni, kuni need ei riku põhilist korda neljas kihis (Lahn & Page 1999 põhjal).

Nii kukurloomadel kui pärisimetajatel on isenditel kas üks X- ja üks Y- (isane) või kaks X-kromosoomi (emane). Nokkloomal on viis X- ja viis Y- või viis paari X-kromosoomi ning sipelgasiilil on viis X-kromosoomi ja neli Y-kromosoomi ning nende kromosoomid on eraldi arenenud (Veyrunes *et al.*, 2008; Wallis *et al.*, 2008). Selleks, et seletada, kuidas Sry-geen soo määramisrolli üle võttis, toovad Wallis jt. (2008) välja, et tuleks tuvastada ainupiluliste sugumäärav geen, sest see annab vihjeid, milline võis olla imetajate esivanemate sugumäärava geeni olemus.

Y-kromosoom on väike, geenivaene (Veyrunes *et al.*, 2008) ning omab olulist geeni Sry, mis on võtmerolliks eluspoegijate soo kujunemisel (Pask & Renfree, 2001). Sry puudub lindudes ning ka ainupilulistel, mis viitab, et see geen tekkis umbes 181 mat ehk enne kui kukkurloomad ja pärisimetajad lahknesid (Cortez *et al.*, 2014; joonis 5). Y-kromosoomi mutatsioonikiirus on kiirem kui X-kromosoomil ja teistel autosoomidel, mis on tingitud sellest, et spermide teekond läbib munandi erakordselt mutageenset keskkonda, milles sugurakud läbivad mitu replikatsioonitsükli. Kuna aga selles keskkonnas puuduvad parandusensüümid, tekkinud vigu ei parandata (Wallis *et al.*, 2008). Pärisimetajate seas on ka liike, kellel Y-kromosoom ning Sry-geen puuduvad, näiteks hamsterlaste sugukonda kuuluvatel *Ellobius lutescens* ja *E. tancrei* liikidel on X0 kromosoomistik, rottidel *Tokudaia osimensis* ja *T. tokunoshimensis* on samuti Y-kromosoom kaduma läinud (Rosenfeld, 2017). On võimalik, et Sry-geeni asendajaks rottidel *T. osimensis* ja *T. tokunoshimensis* on Er71 valk või Cbx2 kaks koopiat (Rosenfeld, 2017). Rotil *T. osimensis* on Y-kromosoomi geenid ümberpaigutatud X-kromosoomi (Graves, 2008). Lisaks Y-kromosoomi sugumääravate geenide kandumisele X-kromosoomile, võivad Y-kromosoomi geenid rännata ka autosoomidele ning Y-kromosoom kaduda (Furman *et al.*, 2020).



Joonis 5. Imetajate sugukromosoomide evolutsioon. Nokklooma, opossumi (*Didelphidae*), hiire ja inimese sugukromosoomid, kus on märgitud rekombinatsioonipiirkonnad (mustad X-id) ja homologia kana kromosoomidega (Z-kromosoom, sinine; kromosoom 4, punane; kromosoom 1, oranž). Samuti on märgitud ära lahknemise ajad (must) ning sugu määravate mutatsioonide ligikaudsed tekkimisaegad (ainupiluliste geen AMHY, lilla tekst; kukkurloomad ja pärisimetajate geen SRY, roheline tekst) Joonis on tehtud Posyneck & Brown, 2019 põhjal.

X-kromosoom on suurem kui Y-kromosoom, omab palju aktiivseid gene ja on konserveerunud (Graves, 2008) ehk evolutsioonis vähe muutunud. Kukkurloomade X-kromosoom on väiksem ning on homoloogne inimese X-kromosoomi pika õlaga, lühem

õlg on homoloogne kukkurlooma autosoomiga (Graves 2008). Ohno hüpoteesi järgi tekkis doosivõrdsus (*dosage equivalence*) XY ja XX vahel, kui Y-kromosoomist kadusid geenid (Posynick & Brown, 2019). Emastel imetajatel toimub varajases arengus epigeneetiline protsess, kus kõigides rakkudes üks X-kromosoom inaktiveeritakse (Posynick & Brown, 2019). On aga näidatud, et 15-30% geenidest pääsevad inaktivatsioonist, mis näitab, et taolist protsessi kontrollivad konserveerunud protsessid (Posynick & Brown, 2019).

5.5 Imetajate soo kujunemine

Kuna ainupilulistel puudub Sry geen, siis nende soo kujunemine erineb eluspoegijatest (Wallis *et al.*, 2007). Ainupiluliste soo kujunemise kohta on andmeid vähe, aga Wallis jt. (2007) pakuvad võimaluse, et see toimub sarnaselt lindudega - Dmrt1 doosi põhjal. See-eest pärisimetajate bipotentsiaalsetes gonaadides on madal Sox9, Fgf9, Dmrt1, Wnt4 ja Rspo1 tase ning erinevate geenide avaldumine sõltub, kas Sry geen avaldub või mitte (Sánchez & Chaouiya, 2016). Imetajate sugu pannakse samuti paika juba molekulaarsel tasemel nagu lindudel ja roomajatel (Pask & Renfree, 2001; Guioli *et al.*, 2014; Sánchez & Chaouiya, 2016; Bista & Valenzuela, 2020; tabel 1).

Pärisimetajate soo kujunemise alustalaks on Sry geen - kui see geen on olemas ja ekspresseerub, siis kujuneb isassugu, aga kui Sry geen pole kindlaks ajaks avaldunud, tekib emane isend (Sánchez & Chaouiya, 2016). Mudelorganismil hiirel avaldub Sry geen 10,5 -12,5 päeva pärast sugühet (Sánchez & Chaouiya, 2016). 10. – 11. päeval on somaatilised rakud võimelised muutuma kas Sertoli rakkudeks või granuloosarakkudeks (emasisendil; rakud, mis ümbritsevad munarakku ja aitavad sellel areneda) ehk tegu on bipotentsiaalsete gonaadidega. Sry olemasolul liitub temaga Sf-1 ja moodustub kompleks, mis on võimeline seonduma DNA-l oleva geeni *Sry-box9* võimendajale (*enhancer*) ning algab Sox9 geeni transkriptsioon, mille tulemusel hoitakse Sox9 tase hoitakse kõrgel (Sánchez & Chaouiya, 2016; Katsura *et al.*, 2018). Sox9 viib läbi erinevaid munandi kujunemise radu - Sertoli rakkude kujunemist, aktiveerib Fgf9 ja Pgd2 signaalsüsteemid. Fgf9 omakorda inhibeerib Wnt4 ja hoiab Sox9 taset kõrgel. Sox9 vaigistab beeta-kateniini (*β -catenin*), mis on oluline emase kujunemisel. Selle tulemusel hakkavad Sertoli rakud ekspresseerima geeni Dmrt1, mille taseme tõus inhibeerib Foxl2

- selle kõige lõpptulemuseks on arenenud munand (Sánchez & Chaouiya, 2016; Huang *et al.*, 2017).

Tabel 1. Imetajate sugu kujundavad geenid, hormoonid.

Nimi	Tüüp	Roll
Sry (<i>sex-determining region of the Y chromosome</i>)	Geen	Isase kujunemise raja algataja
Sf-1 (<i>Steroidogenic factor 1</i>)	Geen	Sry-geeniga kompleksi moodustaja ja Sox9 regulatsiooni algataja
Sox9 (<i>SRY-Box Transcription Factor 9</i>)	Geen	Beeta-kateniini mahasuruja, alustab Fgf9 ja Pgd2 ekspressiooni, algatab Sertoli rakkude kujunemist
Fgf9 (<i>Fibroblast growth factor 9</i>)	Geen	Surub maha Wnt4 ja hoiab Sox9 taset kõrgel
Pgd2 (<i>Prostaglandin D2</i>)	Lipiid	Vajalik Sertoli rakkude kujunemisel
AMH (Anit-Müller hormoon)	Hormoon	Ei lase Mülleri juhal kujuneda
Dmrt1 (<i>Doublesex and mab-3-related transcription factor 1</i>)	Geen	Hilisemas staadiumis vajalik Foxl2 maha surumiseks, vajalik munandi täielikuks kujunemiseks
Wnt4 (<i>Wingless related MMTV integration site 4</i>)	Geen	Surub maha Fgf9, aktiveerib Foxl2, efektormolekul koos Rspo 1-ga, stabiliseerib Beeta-kateniin
Beeta-kateniin (<i>β-catenin</i>)	Geen	Koos Wnt4/Rspo1 aktiveerivad Foxl2, inhibeerib Sox9
Rspo1 (<i>R sponding 1</i>)	Geen	Aktiveerib ja stabiliseerib koos Wnt4 β -catenin
Foxl2 (<i>Forkhead-domain transcription factor L2</i>)	Geen	Inhibeerib Dmrt1, reguleerib granuloosa-rakkude teket

Sekundaarse soo kujundamisel hakkavad Sertoli rakud tootma AMH-d (anti-Müller hormoon), mis takistab Mülleri juha (isasel ei arene, emasel arenevad sellest hiljem munajuha, emakas, emakakael) teket ning Wolffi juha väljaarenemist (emasel ei teki; isasel areneb hiljem sellest munandimanus, seemnejuha ja -põiekesed). Sertoli rakkude väljakujunemine algatab ka Leydigi rakkude diferentseerumise, mis on hiljem vajalik androgeeni produtseerimiseks (Katsura *et al.*, 2018).

Isase pärisimetaja kujunemine toimub rakutasemel (Huang *et al.*, 2017). Kui Sertoli rakud hakkavad kujunema, migreeruvad mesonefroose rakud, mille tulemusel algab testise kujunemine genitaalvallist (Pask & Renfree, 2001; Huang *et al.*, 2017; Estermann *et al.*, 2020). Samuti luuakse testise väädid, müoid- ja Leydigi rakud (Huang *et al.*, 2017).

Emase isendil ei avaldu Sry-geen ning soo määramise rada hakkab seetõttu teisiti kulgema. Wnt4 tase tõuseb, mis pärsib Fgf9 avaldumist. Wnt4/Rspo1 signaalid stabiliseerivad beeta-kateniini, mis reguleerib Foxl2 regulatsiooni (Estermann *et al.*, 2020). Beeta-kateniini kõrgem tase surub alla Sox9 ning selle tulemusel jääb madalaks ka Dmrt1 tase. Hiljem aga hoiab juba Foxl2 Dmrt1 taseme madala. Kuna AMH ei sünteesita, siis emasel isendil kujuneb välja Mülleri juha.

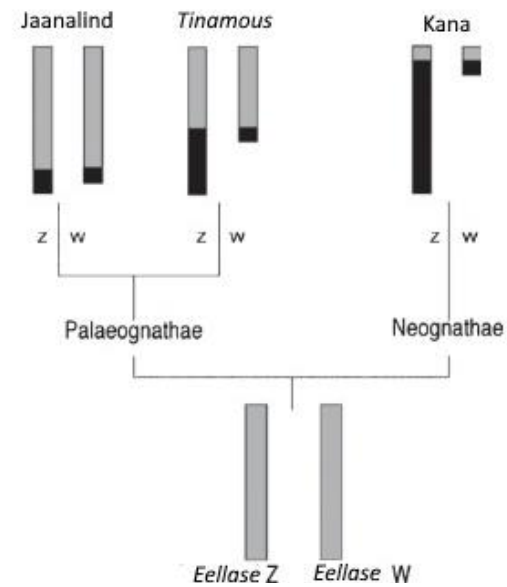
Emastel isenditel on kolm põhilist rakuliini: sugurakkude sisenemine meioosi, et tekiks primaarsed ootsüüdid; granuloosarakkude teke (analoog Sertoli rakkudele) ning teekarakud, mis hakkavad vajalikke hormoone tootma (analoog Leydigi rakkudele) (Huang *et al.*, 2017). Munasari kujuneb välja genitaalvallist (Estermann *et al.*, 2020).

Kukkurloomadel on samuti Sry olemas, aga osade aminohapete järjestus on teine võrreldes pärisimetajatega (Katsura *et al.*, 2018). Känguru *Macropus eugenii* soo kujunemine on sarnane inimese ja hiire omaga, põhiline areng genitaalvallis: 19. tiinuspäeval Sry-Sf-1 kompleks ühineb Sox9 võimendajaga, aga seda ekspresseeritakse vähem (Pask & Renfree, 2001). Edasine kulg on sarnane. Kukkurlooma sekundaarsed soostruktuurid võivad tekkida alles peale sündi, näiteks emaslooma kukkur areneb alles 8 - 10 päeva peale sündi (Pask & Renfree, 2001).

5.6 Z- ja W-kromosoom lindudel

Z- ja W-kromosoomi areng on evolutsiooniliselt toimunud teineteisest sõltumata (Graves 2014). Z-kromosoom on makrokromosoom, mis sisaldab rohkem kui 40 miljonit aluspaari, ning on erinevates linnurühmades homoloogne, sisaldades peamiselt

koduhoidja geene (*Housekeeping genes*) (Smith & Sinclair, 2004; Zhao *et al.*, 2010). Koduhoidja geenid on konstitutiivse avaldumisega geenid, mille produkte vajab rakk pidevalt oma funktsioneerimiseks (Heinaru, 2012). Smith (2010) kirjutab ülevaateartiklis, et lennuvõimetutel lindudel nagu jaanalindlasetal (*Struthionidae*) on Z- ja W-kromosoomid peaaegu sama suured (joonis 6). Lisaks on suur osa mõlemast sugukromosoomist pseudoautosoomaalne (Smith, 2010), mis tähendab, et samad geenid asuvad nii Z- kui ka W-kromosoomis (Heinaru, 2012). Tinamulastel (*Tinamidae*) on W juba natuke väiksem ja umbes pool on pseudoautosoomaalne ning alates uuduslõugsetest (*Neognathae*) on lindudel W-kromosoom kaotanud enamik oma aktiivsetest geenidest ning pseudoautosoomaalne osa on väga väike (Smith, 2010).



Joonis 6. Lindude Z- ja W-kromosoomi evolutsioon. Rekombinantne ala on hall ja mitte kombineeruv ala must (Smith, 2010 põhjal).

5.7 Linnu soo kujunemise rajad

Lindude soo kujunemiseks on uuritud kahte eri rada: Z-doosi rada ja W dominantse geeni rada (Smith, 2010); Hirst *et al.*, 2017; Ioannidis *et al.*, 2021). Uuemates uuringutes tuleb välja, et olulist rolli mängib Z-doos ning veelgi täpsemalt on määrav geen *Dmrt1*, mis asub Z-kromosoomis, kuid puudub W-kromosoomis (isastel kahekordne *Dmrt1*-doos ja emastel üks doos; tabel 2) (Chue & Smith, 2011; Guioli *et al.*, 2014; Hirst *et al.*, 2017; Ioannidis *et al.*, 2021). *Dmrt1* ei ole *Sry*-geeniga sarnane, sest soo kujunemise mõjutamiseks peab *Dmrt1* lindudel esinema mõlemas sugukromosoomis, aga *Sry* peab puuduma, et tekiks emane imetaja (Pask & Renfree, 2001; Hirst *et al.*, 2017).

Kanadel arenevad sugunäärmed mesodermist ning soolist erinevust ei ole võimalik päevadel 3,5 - 4,5 väliselt eristada (Smith & Sinclair, 2004; Smith, 2010; Zhao *et al.*, 2010). Bipotentsiaalsed gonaadid, mis saavad areneda testiseks või munasarjaks, koosnevad välimisest epiteelkihist ja nende rakkude väätidest (*cords*), mis on vaheldumisi säisiga (*medulla*), ning idurakkudest, mis germinatiivsirbist migreeruvad

arenema hakkavasse gonaadikoorde (Smith 2010). Isas- ja emasisendite kujunemine määratakse suurelt jaolt molekulaartasemel (tabel 2).

Soo kujunemine hakkab kuuendal päeval peale munaraku viljastumist ja kestab 21 päeva (Chue & Smith, 2011). Isastel hakkab 6,5 päeval mesonefroose sisemine osa ehk säsi paksenema ning sellest eristuvad Sertoli rakud ning välimine koor õheneb (Chue & Smith, 2011). Molekulaartasemel toimub järgnev: pärast geeni *Dmrt1* kahekordse doosi avaldumist aktiveerub *Sox9* geen, mis on testiste kujundamise marker ehk tekivad Sertoli rakud ning hiljem Leydigi rakud (Smith 2010). Nagu imetajatelgi, sünteesitakse ka lindudel anti-Mülleri hormoon (AMH) Sertoli rakkudes ning selle avaldumine takistab Mülleri juhade (isasel ei arene; emasel arenevad sellest munajuha, emakas, emakakael) teket, aidates kaasa Wolffii juha (emasel ei teki; isasel areneb hiljem sellest munandi manus, seemnejuha ja seemnepõiekesed) kujunemisele. Emasel tekib kaks Mülleri juha ja isasel kaks Wolffii juha. Lisaks surub AMH alla aromataasi hormooni, mis on oluline emase isendi kujunemiseks (Smith & Sinclair, 2004; Smith, 2010).

Emasel arenevad sugunäärmed asümmeetriliselt – vasak munajuha areneb välja ja parem redutseerub (Smith & Sinclair, 2004; Smith, 2010). Parema redutseerumise põhjuseks on arvatud olevat kaks erinevat põhjust: (1) lindudel lennuvõime tekkimine, mille tõttu tuli linnu kehakaalu vähendada (vähenes munasarja arvelt) või tõsiasi, et (2) kuna munemine on kehale kurnav, on ühe toimiva munasarjaga isendi ellu jäämise võimalus suurem (Smith 2010). Kuid on olemas liike, kellel on mõlemad munasarjad alles, näiteks kiivil (*Apteryx*) on mõlemad munasarjad funktsioneerivad (Kinsky, 1971). Emaslinnul hakkab 6,5. päeval mesonefrooset kujunema munasari. Koor pakseneb märkimisväärselt ning sellest arenevad somaatilised rakud ja idurakud migreeruvad arenevasse mesonefroosse ning samal ajal seespool olev säsi killustub ega paksene, moodustades nn *lacunae* (Smith & Sinclair, 2004; Smith, 2010; Chue & Smith, 2011). Parem munasari esialgu kasvab, aga selle koor ei paksene ning säsi taandareneb rudimentaalseks. (Smith & Sinclair, 2004; Smith, 2011). Kaheksandal nädalal sisenevad idurakud meioosi ning algab folliikulogenees.

Molekulaarsel tasemel avaldub 6. päeval emasel linnul ainult üks *Dmrt1* doos, mille tõttu emases ei avaldu kunagi *Sox9* geeni. Samal ajal aktiveeritakse säsis geen *Foxl2*, mille järel aktiveerub östrogeeni sünteesiv ensüüm aromataas (Smith, 2010; Guioli *et al.*, 2014). Östrogeeni sünteesiks on lisaks aromataasile vaja ka ensüümi *17βhsd* (Smith &

Sinclair 2004). Mõlemad on olulised soo dimorfsuse komponendid, aidates kujundada emast isendit.

Lindude sooline areng on kõigis rakkudes autonoomne (*cell autonomous*) (Zhao *et al.*, 2010; Chue & Smith, 2011; Graves, 2014;). Isendi välimus ei sõltu suguhormoonidest, vaid areneb iseseisvalt. Teisisõnu: lindude fenotüüp sõltub üksikute kudedes olevate rakkude olemusest. Zhao jt. (2010) tõid välja kana, kelle pool keha vastas emase fenotüübile (genotüüp ZW) ja teine pool keha isas-fenotüübile (genotüüp ZZ).

Tabel 2. Lindude sugu kujundavad geenid, hormoonid ja ensüümid.

Nimi	Tüüp	Roll
Dmrt1 (<i>Doublesex And Mab-3 Related Transcription Factor 1</i>)	Geen	Linnu soo kujundamise võtmerollis: a) kahekordne doos aktiveerib Sox9 b) ühekordne doos aktiveerib Foxl2
Sox9 (<i>SRY-Box Transcription Factor 9</i>)	Geen	Isasraja kujundaja; Sertoli rakkude kujundaja
AMH (anti-Müller hormoon)	Hormoon	Isastel avaldub suurem kogus kui emastel; Mülleri kanalite kujundajad
Foxl2 (<i>Forkhead-domain transcription factor L2</i>)	Geen	Emastel aromataasi promootori käivitaja; isasfaktori Sox9 allasurumiseks vajalik
Aromataas	Ensüüm	Östrogeeni sünteesiks vajalik; vajalik, et ei toimuks soo ümberkujundamist emaselt isaseks
17βhsd (<i>17β-hydroxysteroid dehydrogenase</i>)	Ensüüm	Östrogeeni sünteesiks vajalik

5.8 Roomajate X- ja Y- ning Z- ja W-kromosoom

Geenide kaardistamine madudel, sisalikel ja kilpkonnadel näitab, et ZW paarid ei ole erinevates roomajate gruppides homoloogsed, mistõttu võib oletada, et sugukromosoomid on mitmel korral roomajates iseseisvalt evolutsioneerunud (Ezaz *et al.*, 2010). Madudel on ZW heterogameetne emane isend, kilpkonnadel on enamasti olemas XX/XY kromosoomid ja harvemal juhul ZZ/ZW (Bista & Valenzuela, 2020) ja sisalikel on XX/XY või ZZ/ZY, näiteks gekolastel (*Gekkonidae*) on liike nii emas- kui isas-heterogameetsusega (Ezaz *et al.*, 2010; Alam *et al.*, 2018). Osadel liikidel on täheldatud isegi multi-sugukromosoomi süsteemi (*multiple sex chromosome systems*): arusisalikul (*Zootoca vivipara*) esinevad järgmised sugukromosoomid $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W$ (Ezaz *et al.*, 2010). Roomajate sugukromosoomide on hetkel veel vähe uuritud ja häid ülevaateid neist pole, aga uuemate uurimismetoodikate abil on lähitulevikus loodetavasti saada parem ülevaade roomajate sugukromosoomide evolutsioonist (Alam *et al.*, 2018).

5.9 Roomajate soo kujunemine

Roomajatel ei ole seni avastatud sarnast sookujunemise võtmegeeni nagu on imetajate Sry-geen (Bista & Valenzuela, 2020). Bista ja Valenzuela (2020) toovad välja, et mitmel roomajaliigil on geenid Dmrt1, Sf-1 ja Wt1 olulised soo kujunemisel ning samuti võib ka DNA metüleerimine olla sookujunemise osa. On teada, et DNA metüleerimine ja histoonide modifikatsioonid osalevad kromatiinide struktuuri ja geeniekspressiooni reguleerimises, samas on nende kahe protsessi koostoime epigeneetilistes protsessides keeruline ja kontekstist sõltuv (Furman *et al.*, 2020). DNA metüleerimise kõrge tase sugukromosoomide mitte rekombineeruvates piirkondades viitab sellele, et DNA metüleerimine võib mängida rolli rekombinatsiooni pärssimises (Furman *et al.*, 2020). Näited sugu kujundavatest geenidest roomajatel on välja toodud tabelis 3.

Tabel 3. Mõned olulisemad roomajate sugu kujundavad geenid (Ezaz *et al.*, 2010).

Kellel	Lühend	Nimi
<i>Gekko hokouensis</i>	ATP5a1	<i>ATP Synthase F1 Subunit Alpha</i>
	Ghr	<i>Growth Hormone Receptor</i>
	Dmrt1	<i>Doublesex And Mab-3 Related Transcription Factor 1</i>
	Chd1	<i>Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 1</i>
Madudel	Wac	<i>WW Domain Containing Adaptor With Coiled-Coil</i>
	Klf6	<i>Kruppel Like Factor 6</i>
	Tax1bp1	<i>Tax1 Binding Protein 1</i>
	Rab5a	
	Ctnnb1	<i>Catenin Beta 1</i>

5.10 Kahepaiksete sugukromosoomid

Kahepaiksete klass on erakordsel rikkalik geneetilise soo määramise süsteemide poolest: homomorfed sugukromosoomid; XX/XY süsteem; ZZ/ZW süsteem; W0/00 süsteem; populatsioonis eksisteerivad korraga X-, Y-, Z- ja W-kromosoom (Schartl, 2004). Päris-konnalistel (*Anura*) ja sabakonnalistel (*Urodela*) esineb nii eristumata sugukromosoomi kui ka keerukalt eristunud sugukromosoomi (Schmid & Steinlein, 2001). See-eest siugkonnaliste (*Gymnophiona*) soo determinatsiooni kohta puuduvad andmed (Schmid & Steinlein, 2001). Konnade 13st kromosoomist on potentsiaalsed X- ja Y-kromosoomid esimene, teine, kolmas, ja neljas kromosoom ning Z- ja W-kromosoomid on tavaliselt kas seitsmes või üheksas kromosoom (Miura, 2018). On ka leitud, et konnade heteromorfne süsteem (XX/XY või ZZ/ZW) tekkis väikestes gruppides (Miura, 2018), mistõttu on konnadel ülekaalus homomorfed sugukromosoomid.

Kahepaiksete seas esineb samuti sugukromosoomide *turnover* ehk tagasipöördumine autosoomiks, kus sugukromosoomi rolli võtab üle mõni teine kromosoom (Schartl, 2004). Näiteks kui enne määras sugu neljas kromosoom, siis tagasipöördumise tulemusel on nüüd sugukromosoomiks esimene kromosoom (Miura, 2018). Kui sugukromosoomid on ühel sool heterogameetsed (lindude emane, imetajate isane), siis sugu kujundav geen

ajapikku konserveerub nagu Sry-geen 166 mat (Miura, 2018). Kuna kahepaiksete sugukromosoomid on suuresti homoloogsed, siis sugu kujundavat geeni on lihtne vahetada teises kromosoomis oleva geeniga (Schartl, 2004). Seda kutsutakse sugumäärava geeni ja sugukromosoomi tagasipöördumiseks (*turnover of sex-determining genes and sex chromosomes*).

5.11 Kahepaiksete sookujunemine

Kahepaiksete gonaadid kujunevad kullese staadiumis (Roco *et al.*, 2021). On täheldatud liike, kellel algselt kujuneb munasarja-sugune gonaad ning hiljem apoptoosi (programmeeritud rakusurm) abil kujuneb munasarjast testis (Roco *et al.*, 2021). On leitud, et Dmrt1-geen mängib ka kahepaiksete soo kujundamises suurt rolli (Roco *et al.*, 2021), kuid lindudega sarnast doosipõhist sookujunemist ei ole kahepaiksetel täheldatud (Schmid & Steinlein, 2001). Kahepaiksete sugu kujundavad geenid on näha tabelis 4.

Tabel 4. Mõned kahepaiksete sugu kujundavad geenid (Roco *et al.*, 2021).

Lühend	Nimi
Dmrt1	<i>Doublesex And Mab-3 Related Transcription Factor 1</i>
Sox9	<i>SRY-Box Transcription Factor9</i>
Cyp19a1	<i>Cytochrome P450 Family 19 Subfamily A Member 1</i>
Cyp17a1	<i>Cytochrome P450 Family 17 Subfamily A Member 1</i>

5.12 Kalade sugukromosoomid ja sookujunemine

Kalade sookujunemist määravad mehhanismid on veel ebaselged (Santos *et al.*, 2017). Kalade seas on leitud XX, XY, WW, WZ, X0, Z0, XXY ja XYY sugukromosoomi paare (Schartl, 2004) ning on tähendatud ka, et kalade GSD võib olla monogeenne või polügeenne (Santos *et al.*, 2017): monogeense puhul asub sugu kujundav geen kindlas sugukromosoomis, aga polügeense mehhanismi puhul kujundavad sugu mitu geeni

korruga ning need paiknevad üle genoomi nagu sebrakalal (Santos *et al.*, 2017). Kaasaegsemate uuringute tulemusel on avastatud, et osad monogeenseteks liikideks peetud kalad on tegelikult polügeensed (Moore & Roberts, 2013). Moore ja Roberts (2013) tõid välja, et varasem tehnoloogia ei võimaldanud avastada polügeenset GSD, kuna polügeense süsteemi avastamine nõuab esinduslikke kaardistamisstrateegiaid ning avatust võimalusele, et populatsioonis võib esineda mitu erinevat soo määramise lookust. Kaladel pole täheldatud kindlat geeni, mis kõigil liikidel sarnaselt sugu kujundaks (Kobayashi *et al.*, 2013). Sebrakala primaarset sookujunemist mõjutab GSD, kuid juba sekundaarset sookujunemist mõjutab keskkond, kus kõrgemal temperatuuril tekib isane isend, kuigi geneetiliselt võiks ta olla emane: näiteks noore sebrakala (juveniili) munasari muutub testiseks. Santos jt. (2017) lisavad, et apoptoos on oluline sookujundaja isakaladel. Fancl-geen (*fanconi anemia complementation group L*) kutsub esile idurakkude apoptoosi, mille tulemusel areneb testis (Santos *et al.*, 2017). Seega, et sebrakalal saaks areneda munasari, tuleb apoptoosi teatud arenguetapis pärssida (Santos *et al.*, 2017).

Kuid head ülevaadet kalade geneetilisest sookujunemisest pole. Tabelis 5 on välja toodud kokkuvõtlikult seni teadalaolevad geenid, mis mõjutavad kalade gonaadide teket. Lisaks Kobayashi jt. (2013) toovad välja, et steroidid omavad samuti olulist rolli kalade soo kujundamisel. Võrreldes imetajatega ei teki kaladel sugujuhad neerujuhast, vaid somaatilistest rakkudest ja/või tsöloomsest epiteelist (Schartl, 2004).

Tabel 5. Mõned kalade sugu kujundavad geenid ja ensüümid (Schartl, 2004; Kobayashi *et al.*, 2013).

Lühend	Nimi	Tüüp	Roll
Dmrt1	<i>Doublesex And Mab-3 Related Transcription Factor 1</i>	Geen	Isase isendi kujundaja
Sox9	<i>SRY-Box Transcription Factor9</i>	Geen	Isase isendi kujundaja
	Östrogeen	Ensüüm	Munasarja kujundaja
	Androgeen	Ensüüm	Testise kujundaja
P450arom	<i>Aromatase</i>	Ensüüm	Munasarjakujundaja
Wnt	<i>Wingless-related integration site</i>	Geen	Emase isendi kujundaja
Cyp19	<i>Cytochrome P450 Family 19</i>	Geen	Osaleb östrogeenisünteesis
Dmy	<i>the DM-domain gene on the Y chromosome</i>	Geen	Riisikala potentsiaalne isase kujundaja
Foxl2	<i>Forkhead-domain transcription factor L2</i>	Geen	Emase isendi kujundaja

6. Keskkonnast tingitud soodeterminatsioon ehk ESD

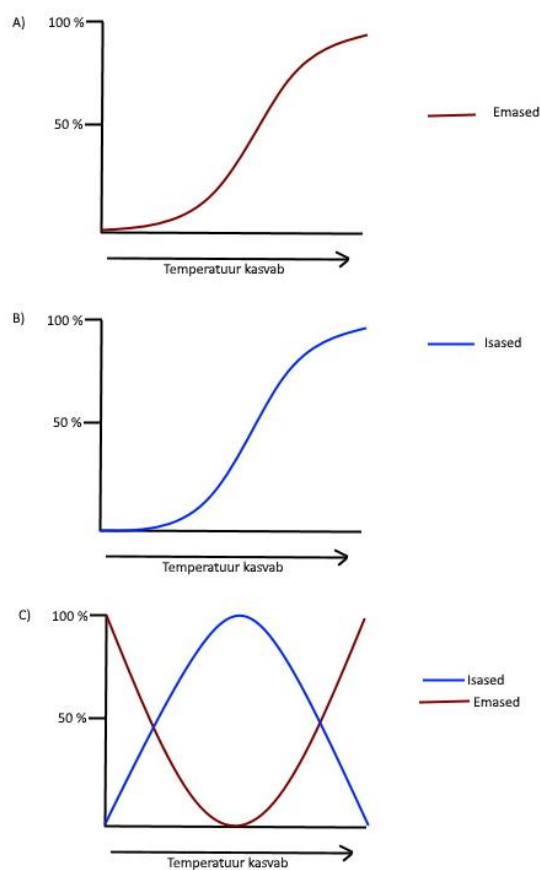
Sugu võib kujundada ükskõik milline stiimul ehk väliskeskkonna tegur, mis aktiveerib sookujundava mehhanismi (Ferguson-Smith, 2006). Senimaani on uuritud enim temperatuuri ja vähem pH-d, soolsust, fotoperioodi, sotsiaalsuheteid, asustihedust ning muid faktoreid (Baroiller & Guiguen, 2001; Santos *et al.*, 2017).

6.1 Temperatuurist sõltuv soodeterminatsioon ehk TSD

Lisaks GSD-le on roomajate seas levinud ka TSD: see esineb kõikidel krokodillidel, osadel sisalikel ja kilpkonnadel, kuid madudel ei ole seda täheldatud (Elf, 2003; Alam *et al.*, 2018). Hetkel puuduvad tõendid, et ka kahepaiksetel TSD esineks, kuigi tehistingimustes on näidatud, et väga kõrge temperatuur suudab mõjutada kahepaikse soo determinatsiooni (Schmid & Steinlein, 2001; Schartl, 2004). TSD puhul määrab temperatuur, milline sugu isendil kujuneb: keskkonnast tulev stiimul mõjub geenile, mis algatab testise või munasarja kujunemise raja (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019). TSD-l on kolm mustrit: FMF, MF ja FM (F -kujuneb emane, M - kujuneb isane; joonis 7). Temperatuuri, mil üks sugu läheb üle teiseks, nimetatakse

pöördetemperatuuriks (*pivotal temperature*; PT). Perioodi, mil sugu välja kujuneb, nimetatakse termotundlikuks perioodiks (*thermosensitive period*) (Elf, 2003).

FMF - kõikidel krokodillidel esineb FMF mustriga sookujunemine (Elf, 2003): madalal temperatuuril tekib emane, keskmisel isane ja kõrgel uuesti emane isend. Seda mustrit peetakse TSD eellasmustriks, millest kujunesid teised mustrid (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019).



Joonis 7. Temperatuurist sõltuva soo kujunemise mustrid. A) MF, B) FM ja C) FMF

MF - madalal temperatuuril kujuneb isane ja kõrgemal temperatuuril emane. Seda mustrit on täheldatud mõningatel kilpkonna- ja sisalikuliikidel (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019).

FM - madalal temperatuuril tekib emane, kõrgemal temperatuuril isane. Seda mustrit on täheldatud mõningatel sisalikuliikidel (Elf, 2003).

6.2 Roomajate soo kujunemine TSD puhul

Nagu ka GSD puhul, on ka siin rida geene, mis mängivad olulist rolli TSD radades (tabel 6). Alligaatoritel avalduvad gonaadide kujunemisel geenid *Dmrt1*, *Sox9*, *Sf-1*, *Dax1*, *AMH*, ja *Wt1*, kilpkonnadel avalduvad vaid *Dmrt1*, *Sox9* ja *Wt1* (Sarre *et al.*, 2004). Isast sugu kujundaval temperatuuril avalduvad *Dmrt1* ja *Sox9* geenid koos (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019). Emastel omab munasarjade kujunemises suurt rolli östrogeen (Pieau & Dorizzi, 2004). Huvitaval kombel on munasarja kujunemiseks TSD liikidel vaja androgeeni, mida muidu peetakse isashormooniks (Rhen & Schroeder, 2010). Emaslooma seisund võib samuti mõjutada soo kujunemist, sest on leitud, et stressis emane muneb väiksema muna, kus on vähem hormoone, aga see vajab veel täpsemaid uuringuid (Elf, 2003).

Sox9 geeni on täheldatud kõikidel TSD liikidel ning alligaatoritel ja kilpkonnadel ka geeni *AMH*, mis avaldub imetajatega võrreldes teisiti (Elf, 2003). Roomajatel avaldub *AMH* enne kui *Sox9*, mistõttu *AMH* inhibeeriv geen avaldub enne kui *Sox9*, samas imetajatel on *Sox9* *AMH* vaigistaja (Elf, 2003). Ka *Sf-1* avaldub alligaatoritel ja kilpkonnadel erinevalt (Elf, 2003). Punakõrv-ilukilpkonnal (*Trachemys scripta*) on *Sf-1* isastel üle- ja emastel alareguleeritud nagu imetajatelgi. On leitud, et punakõrv-ilukilpkonnal surub östradiool ehk E_2 *Sf-1* ekspressiooni alla (Elf, 2003). See-eest alligaatoril on munasarjas suurem *Sf-1* ekspressioon ja testises on väiksem ekspressioon nagu kanal (Elf, 2003).

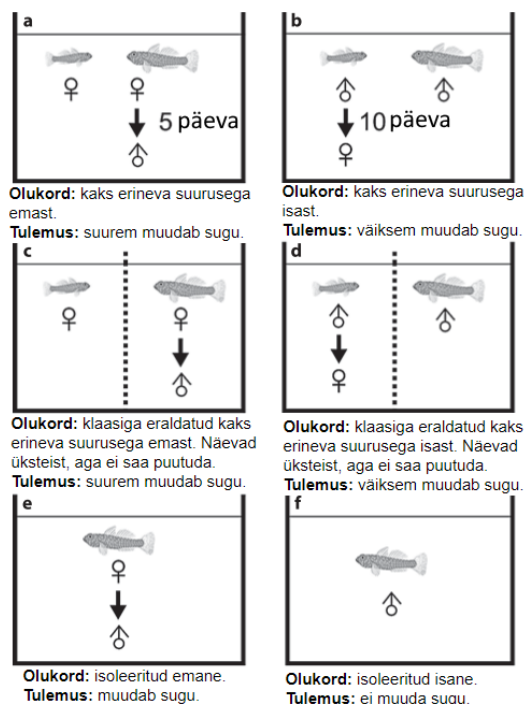
Tabel 6. Temperatuurist sõltuva soo kujunemisel avalduvad geenid, olulised hormoonid ja ensüümid roomajatel.

Nimi	Tüüp	Roll
E ₂ - östradiool	Hormoon	Emastel rohkem kui isastel; pärsib SF-1 ekspressiooni.
T - testosteroon	Hormoon	Oluline esmase soo kujundamisel
Aromataas	Ensüüm	Muudab androgeenid östrogeenideks
Androgen	Hormoon	Munasarja kujunemiseks
Dmrt1	Geen	Ei lase Sertoli rakkudel granuloosa rakkudeks muutuda
Sox9	Geen	Oluline testiste kujunemisel
Sf-1	Geen	Avaldumine sõltub östradiooli tasemest munarebus
Dax1	Geen	Isastel pärsib SF-1 regulatsiooni; arvatakse, et toimib ko-repressorina ja seega on oluline östrogeeni signaaliradades
AMH	Hormoon	Avaldub enne kui Sox9; isastel vajalik
Wt1	Geen	Oluline maskuliinsuseks

6.3 Kalade ESD

Kalade seas on lisaks TSD-le ka mitmeid muid faktoreid, mis sookujunemist mõjutavad: vee hapnikusisaldus, asustustihedus, toit, saastained, pH (Baroiller & Guiguen, 2001; Santos *et al.*, 2017). Näiteks huntahvena (*Dicentrarchus labrax*) sugu kujuneb temperatuurist sõltuvalt, aga perekonna *Apistogramma* liikide sugu kujundab pH (Santos *et al.*, 2017).

Kalade seas on huvitavaks nähtuseks soovaheldumine elu jooksul: emasest saab isane (*protogynous*), isasest saab emane (*protandrous*) või sugu vahetub isendil elu jooksul mitu korda (*bi-directional sex change*) (Kobayashi *et al.*, 2013). Kobayashi jt. (2013) uurisid Mudillaste sugukonda kuuluva kalaliigi *Trimma okinawae* soo vahetumist (joonis 8). Soo vahetust võimaldab testise ja munasarja samaaegne eksisteerimine isendil, kuid need organid on eri suurusega (Kobayashi *et al.*, 2013). Soo muutuse algatab kas isendi vanus, sotsiaalne faktor või temperatuur (Schartl, 2004). Sotsiaalseks faktoriks on näiteks see, kas piirkonnas on vastassugu esindatud.



Joonis 8. Akvaariumikatse ka *Trimma okinawae* näitel (Kobayashi *et al.*, 2013 põhjal).

6.4 Reostuse mõju soo kujunemisele

Nii põllumajanduses kasutatavad pestitsiidid kui rasestumisvastased vahendid saastavad veekeskkonda, tekitades kalade fenotüübi ja genotüübi vahelise ebakõla või mõjutades paljunemisedukust, mille tulemusel võib populatsioon välja surra (Decourten & Brander, 2017; Wedekind, 2017). Kuna steroidid omavad olulist rolli kalade soo kujunemises (Kobayashi *et al.*, 2013), siis nende sattumine vette, näiteks ravimite näol, võib mõjutada kalapopulatsioonide soovahekorda (Wedekind, 2017). Samas kasutatakse kalanduses meelega hormoonravi, et toota tulusamalt ühesoolisi kultuure, et vältida kontrollimatut paljunemist (Wedekind, 2017).

7. TSD vs GSD

TSD liikidel on nii koorudes kui ka hilisemas eas suurem sugude osakaalu nihe kui GSD liikidel (Bókony *et al.*, 2019). Tõenäoliselt on GSD tulnud, kuna kliimamuutuste tõttu soo tasakaal TSD liikidel kaldus rohkem ühe soo poole: XY süsteem tekkis kliima jahenemise tõttu, mil isaste osakaal vähenes ning ZW süsteem tekkis kliima soojenemise tõttu ja isaseid hakkas liiga palju kooruma (Pezaro *et al.*, 2017). On täheldatud, et TSD liigid, nagu kollakas klappkilpkonn (*Kinosternon flavescens*), alustavad tavapärasest ajast varem pesitsust, et olla korrelatsioonis temperatuuri tõusuga, mis võib olla kohasus kliimamuutusega (Pezaro *et al.*, 2017). Samas kalapopulatsioonidele mõjub kliimamuutus halvasti, kuna see mõjutab metüleerimist, mis on seotud soo kujunemisega (Santos *et al.*, 2017).

Üldjoontes on GSD liikide pesitsusperiood lühem kui TSD liikidel ning seetõttu on GSD liikidel kliimavarieeruvus suurem (Cornejo-Páramo *et al.*, 2020). Kuid GSD mehhanism pole tekkinud seetõttu, et TSD ei sobi äärmuslikesse kliimaoludesse (Cornejo-Páramo *et al.*, 2020). GSD liigid elavad varieeruvamas kliimas, kus ilmaolud võivad olla äärmusest äärmusesse, ja TSD liigid sobivad stabiilsemasse kliimapiirkonda. Pikema (5 - 12 kuud) pesitsusajaga GSD ja TSD liigid elavad soojematel aladel, kus on keskmiselt 25 ° C (Cornejo-Páramo *et al.*, 2020).

ESD liikidel on jällegi sooline dimorfism suurem kui GSD liikidel (Katona *et al.*, 2021). Sooline dimorfism on seotud mitmete aspektidega sigimises: sugude vahelise käitumise, ökoloogiliste ja elulooliste erinevustega (Katona *et al.*, 2021). Roomajatel, kellel emased isendid kujunevad kõrgemal temperatuuril, on emane suurem, mistõttu suurema kehaga emasel on viljakus samuti suurem, kuid suuremad isased on edukamad konkurentsias kaaslase pärast (Katona *et al.*, 2021).

On roomajaid, kellel on nii GSD kui ka TSD ehk äärmuslikel tingimustel TSD võtab võimust GSD üle ning tekib lahkeli isendi soo kromosoomide ja kujuneva soo vahel (Whiteley *et al.*, 2021). Kahel sisalikuliigil, habeagaamil (*Pogona vitticeps*) ja *Bassiana duperreyi* on tähendatud, et kõrgel temperatuuril GSD rolli ei mängi ning XX kromosoomidega isendist saab isane ja XY kromosoomidega isendist emane (Rhen & Schroeder, 2010; Whiteley *et al.*, 2021). Kuna temperatuur ja geenifaktorid suudavad teineteist mõjutada ja seetõttu hägustavad piiri TSD ja GSD vahel (Whiteley *et al.*, 2021).

8. Arutelu

Sookujunemise mehhanismid on selgroogsetel loomadel väga erinevad ning mitmekülgsed, kuigi tulemus on enamasti mehhanismidel sama: kujuneb kas emane või isane isend. Lõhestava valiku teel võisid tekkida munarakud ja seemnerakud (Parker *et al.*, 1972; Lehtonen & Parker, 2014). Kuna seemnerakud on väikesed, pidid nad muutuma kiireks ja kergeks, et jõuda munarakuni (Parker *et al.*, 1972). Munarakk see-eest pidi muutuma toitainerikkaks, kuna seemnerakus on toitaineid vähe ja vastasel korral sügoot (viljastatud munarakk) ei areneks täisväärtuslikuks isendiks (Parker *et al.*, 1972).

Pask ja Graves (2001) töid välja, et pealtnäha on selgroogsete loomade sookujunemine väga sarnane, aga detailselt igat klassi eraldi vaadeldes ilmnevad suured erinevused. Äärmiselt dünaamilise protsessi tagajärjel on soo määramismehhanismid ja sugukromosoomid evolutsioneerunud mitmekesiselt (Schartl, 2004). Mehhanisme on mõjutanud keskkond, kus liik elab ning DNA inversioonid, mutatsioonid ja metüleerimine (Furman *et al.*, 2020). Viimast on sookujunemise kontekstis veel vähe uuritud. On olnud üleminekuid ESD-lt GSD-le, mille tulemusel on XY- ja ZW-süsteemid kujunenud. Samuti kooseksisteerivad XY/ZW süsteemid samas populatsioonis, mille tulemusel geenid vahetuvad ja sugukromosoomid uuenevad/kaovad.

Mitte üheski selgroogsete loomade klassis pole ainult üht ainulaadset süsteemi/mehhanismi, mis on sellele klassile omane. Imetajatel on küll ühtlaselt sarnane mehhanism GSD, kus esinevad X- ja Y-kromosoomid. Lisaks on pärisimetajatel ja kukkurloomadel ka Sry-geen, mis on kõige olulisem imetaja sookujundamisel. Samas, ka siin on erandeid: pärisimetajate rühmas on nii mõnelgi näriliselgiil aja jooksul Y-kromosoom kaduma läinud (Graves, 2008). Seda võimaldab olukord, kus (a) oluline võtmegeen rändab teisele kromosoomile ja täidab oma funktsiooni edasi (Furman *et al.*, 2020) või (b) mingi teine kromosoom või geen võtab Sry-geeni ülesande endale (Graves, 2008). Kui osadel imetajatel on ajas sugukromosoom kaduma läinud, on ainupilulistel sugukromosoomide rohkem kui kaks (Wallis *et al.*, 2008). Ainupilulistel on teistsugune mehhanism, mis võib sarnaneda lindude omaga ehk olla doosipõhine (Veyrunes *et al.*, 2008), kuid hetkel on sipelgasiillasi ja nokkloomlasi vähe uuritud.

Lindudel on selgroogsetest kõige vähem varieeruv sookujunemise mehhanism, sest neil on täheldatud vaid Z- ja W-kromosoomide ning nende sugu kujundab Dmrt1-geeni kogus (Smith, 2010; Capel, 2017; Hirst *et al.*, 2017). Kõigi roomajate kohta sama ei saa öelda:

lindude sõsarrühmal krokodillidel on üldse TSD ning sisalikel ja kilpkonnadel nii GSD ja TSD (Ezaz *et al.*, 2010; Capel, 2017). Lisaks on sisalike seas sookujunemise mehhanismid eriti mitmekesised, kuna ühes sugukonnas võib olla nii GSD liike kui ka ESD liike. Kuigi ka madudel on ainult Z- ja W-kromosoomid, ei oma need lindude sugukromosoomidega homoloogiat (Graves, 2008). See kõik näitab, et sookujunemine ei liigu lineaarselt vaid pigem hargneb ning on, sõltuvalt rühma eellase sugu kujundavast mehhanismist, igas roomaja rühmas erinevalt evolutsioneerunud.

Kahepaiksetel pole pilt nii kirju kui roomajatel (Capel, 2017). Neil on täheldatud lisaks Z-, W-, X- ja Y-kromosoomidele ka homoloogseid kromosoomide (Miura, 2018). Nende uurimisel on avastatud, et kui kromosoomid on homoloogsed, on geenid võimelised lihtsamini rändama ja sugukromosoomi rolli võib üle võtta mingi teine autosoom, saades uueks sugukromosoomiks (Miura, 2018).

Vanimas selgroogsete rühmas on sookujunemise mehhanismide valik väga kirju: kaladel on kõik mehhanismid, mis on selgroogsetel loomadel teada, esindatud (Capel, 2017). Mehhanismide paljusus kalade rühmas viitab sellele, et nende seksuaalne areng on labiilne protsess ning kalade ja teiste selgroogsete soomääramismehhanismide areng on oluliselt erinev (Devlin & Nagahama, 2002). Kuna kalad on evolutsiooniliselt vana rühm, mis kujunes 450 miljonit aastat tagasi (Capel, 2017), siis on sookujunemise mehhanismide evolutsioon toimunud pikema aja jooksul, kui teistel selgroogsetel loomadel. Seetõttu kehtib selgroogsete puhul reegel, et mida evolutsiooniliselt vanem rühm, seda mitmekesisem on sookujunemine ning mida noorem rühm, seda lihtsam on mehhanism (Ferguson-Smith, 2006; Graves, 2008; Bachtrog *et al.*, 2014; Capel, 2017; Furman *et al.*, 2020). Lisaks sellele, et kaladel on sookujunemiseks palju erinevaid mehhanisme/süsteeme, on nende seas ka liike, kes on võimelised elu jooksul üks või mitu korda sugu vahetama, nagu seda teeb näiteks kala *Trimma okinawae* (Kobayashi *et al.*, 2013). See nähtus on samuti mitmekesine, sest soovahetuse võivad esile kutsuda mitmed eri tingimused: vastassoo puudumine lähieesmärges, isendi kehasuurus või temperatuur (Schartl, 2004; Kobayashi *et al.*, 2013). Teistes selgroogsete rühmades soovahetumine puudub, mistõttu on kalad selgroogsetest kõige mitmekesisemate sookujunemise radadega (Capel, 2017).

Sookujunemise protsessid üleüldiselt pole konserveerunud, vaid on muutunud nii populatsioonides kui sugukondades (Bachtrog *et al.*, 2014; Furman *et al.*, 2020). Vastasel juhul ei oleks sellist hulka eri mehhanisme. Lisaks, aja jooksul võib nii mõnestki

mehhanismist saada uus mehhanism, eriti kui kliimamuutused hakkavad liikide soo kujunemist ja sugulist tasakaalu mõjutama (Cornejo-Páramo *et al.*, 2020). Arvan, et eriti mõjutab see roomajaid ja kalu, kuna nende puhul on täheldatud, et äärmusliku temperatuuri tõusu/languse puhul võtab TSD üle GSD ehk mitte isendi sugukromosoomid ei kujunda sugu, vaid seda teeb temperatuur (Cornejo-Páramo *et al.*, 2020; Whiteley *et al.*, 2021). See võib paigast viia sugude tasakaalu. Vastupidine mure on TSD liikidel, kelle puhul on tõusva keskmise temperatuuri tõttu järglaste sugu kallutatud ühe soo poole (Pezaro *et al.*, 2017). Küll aga on varasem evolutsioon näidanud, et just äärmuslike tingimuste tõttu võis TSD-st saada GSD mehhanism (Pezaro *et al.*, 2017). Seega, kui kliima soojeneb, peaks TSD liikidest saama Z- ja W-kromosoomiga isendid, kuna vastasel korral on isaste osakaal suurem (Pezaro *et al.*, 2017). Kui isaste osakaal peaks vähenema ning kallutatud on emaste poole, minnakse üle XX/XY süsteemile (Pezaro *et al.*, 2017). See on kõigest teooria, mistõttu tuleb kliimamuutust soodeterminatsiooni aspektis veel põhjalikumalt uurida, et teada saada, kuidas see tegelikult liike mõjutab. Kui varem uuriti ja tunti muret TSD liikide pärast, ei tohi unustada ka teisi soo determinatsiooni mehhanismidega liike, sest nagu näha, võivad äärmuslikud temperatuurid ka GSD mõjutada (Alam *et al.*, 2018). Näiteks sisalikul *B. duperreyi* jahedamal temperatuuril tekib isane, kelle genotüüp on XX (Alam *et al.*, 2018), samas tehti see uuring tehistingimustes ning looduses on vaja seda veel uurida.

Samuti mõjutab aina suurenev keskkonnasaaste ESD liike. Eriti on ohustatud vesikeskkonnas elavad liigid, kuna nende kohta on andmeid vähem ning neid on raskem uurida (Wedekind, 2017). Saastatuse korral pole isendi genotüüp ja fenotüüp kooskõlas (Wedekind, 2017), järglaste arv väheneb järgmistes põlvkondades ning saaste takistab järglaste normaalset kasvumist (Decourten & Brander, 2017). Decourteni ja Branderi (2017) uuring tõi välja, et isegi suhteliselt madal kemikaalide kontsentratsioon vees võib viia kiirelt lokaalsete väljasuremisteni. Näiteks kalakasvatustes kasutatavad hormoonid, mille eesmärk on tekitada ühesooline kultuur, on looduslikele populatsioonidele ohtlikud, kuna nad moonutavad sugukromosoomide taset (Wedekind, 2017). Lisaks võivad kliimamuutus ja reostus ka koostoimes mõjuda. Näiteks kõrgemal temperatuuril on kemikaal bifentriin toksilisem, kuna ainevahetuse kiirus tõuseb temperatuuri tõustes ning kemikaal kahjustab kalade arengut, sigimisedukust, sugurakkude arengut ja mõjutab hormoonide taset (Decourten & Brander, 2017). ESD alla lähevad lisaks temperatuurile veel pH, soolsus, fotoperiood ja sotsiaalsed suhted. Ka nende stiimulite kohta on vähe

uuringuid ja need keskkonnategurid on peamiselt sugukujundavate mehhanismide uurimises kõrvale jäetud. Kuna veekeskkonna reostuse puhul võib selle pH muutuda, ei teata praegu, kui paljude liikide sookujundamist see muuta võiks ning kas liikide sugude tasakaal võib selle tulemusel ka nihkesse minna. Seetõttu on lisaks kliimamuutusele ohtlikud ka elukeskkonna reostumine ning neid tuleks põhjalikumalt uurida.

Kui vaadata ainult GSD-d, siis on näha, et sugukromosoomid on pidevalt muutunud ja degeneratsioon on vältimatu (joonis 3). Sugukromosoomid on kas heteromorfseid (X- ja Y-kromosoomid; Z- ja W-kromosoomid) või homomorfseid ehk eristumata. Erinevate kromosoomide tekkepõhjuseks on kas (a) TSD üleminek GSD-le (Pezaro *et al.*, 2017), (b) autosoomi muutus sugukromosoomiks, (c) homologsete sugukromosoomide rekombinantse piirkonna vähenemine, (d) geenide kadumine ühest kromosoomist (Furman *et al.*, 2020). Nooremate sugukromosoomide uurimine näitab rohkem kromosoomide kujunemisprotsesside kohta, kuid neid on raskem uurida, kuna kromosoomide vahelised erinevused on väikesed (Furman *et al.*, 2020), kuid Furman jt. (2020) ei too siiski selget põhjust, miks tuleks uurida just varaseid sugukromosoomi mehhanisme ja mustreid. Lisaks tõid Furman jt. (2020) välja, et sugukromosoomide evolutsioon võib toimuda kiiresti ning seetõttu tuleks kasutada populatsioonipõhiseid lähenemisviise, et uurida sugukromosoomide evolutsioonimehhanisme ja -mustreid.

Varasem klassikaline teooria ennustas, et sugukromosoomid pärinevad homologsete autosoomide paarist ja nendevaheline rekombinatsioon surutakse alla inversioonide kaudu. Lisaks hõlmab sugukromosoomiteooria ka lineaarset protsessi, mis algab sugukromosoomi päritolust kuni heteromorfismini ehk erikujulisuseni (Furman *et al.*, 2020). Vaadates uuemaid uuringuid, on aina selgem, et sugukromosoomide evolutsioon ei ole olnud lineaarne ning on palju erandeid (Miura, 2018; Furman *et al.*, 2020). Üks põhjus võib olla see, et senised tehnoloogiad ja meetodid ei võimaldanud soo kujunemise evolutsiooni uurida või ei olnud piisavalt mitmekesiseid andmeid kogutud (Griffiths *et al.*, 1998; Moore & Roberts, 2013; DeCourten & Brander, 2017; Furman *et al.*, 2020; Straková *et al.*, 2020). Kuna soo kujunemine toimub peamiselt raku ja kromosoomide tasemel, on alles nüüd tekkimas paremad võimalused genoomide sekveneerimiseks ja andmete hoiustamiseks.

Koopmani (2001) arvates soovitakse sookujunemise puhul kokku sobitada olemasolevad teadmised tervikuks, sealjuures arvestamata puuduolevate teadmistega, mis mängivad olulist rolli. Andmeid kahepaiksete, kalade ja roomajate sookujunemise kohta on vähe

ning nende rühmade puhul pole välja toodud näiteks kindlat geenirada, mille tulemusel tekivad gonaadid (Pieau & Dorizzi, 2004; Bista & Valenzuela, 2020; Roco *et al.*, 2021). Ainult lindude ja imetajate kohta saab juba välja tuua üsna hästi läbiuuritud sugu kujundavad rajad (Smith, 2010; Sánchez & Chaouiya, 2016). Üleüldse leian, et on keskendunud liiga palju mudelorganismidele ning tehistingimustes peetavatele loomadele, mistõttu ei teata hetkel piisavalt looduses olevate liikide sookujunemismehhanismidest. Teatud avastused tehistingimustes ei kehti looduses või vajavad veel uurimist (Alam *et al.*, 2018). Arvan, et rohkem tuleks uurida looduslikus keskkonnas elavaid isendeid ning laiendada uuritud liikide arvu, sest näiteks sisalike ja kalade mitmetes sugukondades on suur SD mehhanismide varieeruvus ning ainult ühe liigi uurimine kindlas sugukonnas ei anna ülevaadet ja piisavalt teadmisi kogu sugukonna kohta (Ezaz *et al.*, 2010; Rhen & Schroeder, 2010). Et paremini loodust kaitsta, on vajalik uurida looduskeskkonda, sest kliimamuutus ja reostus toimub looduslikus keskkonnas, mitte tehiskeskkonnas.

Kui esimene sookujunemise hüpotees loodi aastal 1967 (Ohno, 1967; Furman *et al.*, 2020), siis soo uurimiseks kasutatavate meetodite areng on toimunud peamiselt eelmise sajandi lõpukümnendilte ning sellel sajandil. Näiteks ei võimaldanud tehnoloogia varasemalt avastada polügeenset soo kujunemist (Moore & Roberts, 2013). Nüüd aga on nii genoomide sekveneerimine odavam ning on võimalik luua keerukaid strateegiaid geneetiliseks kaardistamiseks, mistõttu on polügeenset sookujunemist lihtsam tuvastada (Moore & Roberts, 2013). Seega, varem arvati, et sebrakalal on üks geen, mis tema sugu kujundab, kuid geenide kaardistamise kasutuselevõtu tõttu avastati, et sel liigil on polügeenne sookujunemine (Moore & Roberts). Ka uue põlvkonna sekveneerimismeetodid on sookujunemise uurimise teinud tunduvalt lihtsamaks (Kobayashi *et al.*, 2013), aidates avastada uusi geene või võrrelda erinevate liikide genome. Nii võib öelda, et laiaulatuslik molekulaarsete tööriistade kasutuselevõtt teaduses on aidanud uurida soo kujunemist (Baroiller & Guiguen, 2001). Näiteks on loodud MEGA programm, kus saab luua fülogeneesipuid, et leida lahknemisi, sarnasusi ja homoloogust liikide/kromosoomide/geenide vahel (Katsura *et al.*, 2018). Kaasaja andmebaasid, näiteks Ensembl, mahutavad palju informatsiooni ning need on üle maailma kättesaadavad, mistõttu on võimalik uurida eri genoomide homoloogust ning otsida ja märkida geene, mille põhjal saab uurida evolutsiooni (Katsura *et al.*, 2018).

Lindude puhul uuriti pikalt, kas nende sugu kujundab võtmegeen või on neil doosipõhine sookujunemine ning selle teadmiseni, et *Dmrt1* kogus mängib soo kujunemisel olulist rolli, jõuti alles üsna hiljuti (Smith & Sinclair, 2004; Graves, 2008; Hirst *et al.*, 2017). Lisaks PCRi tulekuga muutus teatud lindude soo määramine lihtsamaks (Griffiths *et al.*, 1998), sest näiteks kõikide lindude välimus ei reeda, kas tegu on isase või emase isendiga. Teades, et lindudel on Z- ja W-kromosoomid, võeti eri linnuliikidesse kuuluvatelt isenditelt proove ning saadi informatsiooni linnu soo kohta: kui test näitas CHD-W geeni, mis on ainult W-kromosoomil, oli teada, et tegu on emasega (Griffiths *et al.*, 1998). Teades, mis soost on isendid, saab teada emas- ja isasisendite arvu populatsioonis ning hinnata näiteks liigi looduskaitse seisundit.

Lisaks on selgunud, et uute meetodite tulekuga on avastatud, et mitmed praegused andmed ei ole tõesed. Paljud ESD roomajad on tegelikult GSD mehhanismiga, mis tõestab, et GSD on olnud arvatust palju stabiilsem (Straková *et al.*, 2020). Nimetatud uuringus näidati, et tõeline ESD on tekkinud ainult krokodillidel, enamuse kilpkonnadel, tuataaradel ning ainult teatud gekodel ja agaamlaste sugukonda kuuluvatel sisalikel. Samuti on alles hiljuti leitud, et sookujunemist võib mõjutada DNA metüleerimine, nimelt mõjutab DNA metüleerimine kromatiini struktuuri, mistõttu võib see pärssida geenide ekspressiooni või seda just võimendada (Furman *et al.*, 2020). Kirjeldatud mõju pole veel tõestatud, kuid see on suund, mida tuleb põhjalikumalt uurida (Furman *et al.*, 2020). Seetõttu võib juhtuda, et kui DNA metüleerimist uuritakse sookujunemise valdkonnas põhjalikumalt, võivad ilmnedä uued teadmised, mis muudavad praegused teadmised kehtetuks.

Sookujunemise uurimist hõlbustaks erinevate liikide kogu genoomi sekveneerimine, kuid see on aja- ja ressursimahukas. Kogu genoomi sekveneerimise põhjal on võimalik leida uusi lookusi, võrrelda kahe liigi kromosoomide ning leida sookujunemise mehhanisme ja nende põhjuseid (Moore & Roberts, 2013; Bachtrog *et al.*, 2014; Katsura *et al.*, 2018). Näiteks on konnade sugukromosoomides eristunud osad nii väikesed, et neid pole võimalik tsütoloogiliselt ära tunda (Schmid & Steinlein, 2001), mistõttu on sekveneerimisest palju kasu. Siiski leian, et ka kaasaegsed meetodid ja tehnoloogia ei pruugi aidata leida põhjust, miks on sookujunemine ikkagi nii keeruline ja milline on selgroogsete loomade seas sookujunemise evolutsioon. Kuna sugu kujundavad geenid rändavad ja kaovad, ei pruugi kunagi selguda kõik etapid, mida sookujunemise mehhanismid on läbinud (Furman *et al.*, 2020). Näiteks, üldjuhul, kui sugukromosoomid

on ühel soopolel heterogameetsed, on sugu kujundav geen konserveerunud (Miura, 2018). Erinevalt teistest selgroogsetest on aga kahepaiksetel homomorfised kromosoomid, mistõttu on sugu kujundavat geeni lihtne asendada teises kromosoomis oleva geeniga (Miura, 2018), ja seetõttu ei pruugi kunagi selguda, millised konnade ja teiste kahepaikset kromosoomid ja geenid on samuti omanud sugu kujundavat rolli.

Leidsin, et kõigis selgroogsetes rühmades mängivad mõned kindlad geenid soo kujundamisel rolli (tabel 7). Nende geenide mõju ja tähtsus varieerub klassiti, kuid eri rühmades on nähtavad teatud sarnased esinemismustrid. Evolutsiooniliselt on DNA allavoolujärjestuses (järjestus, mis järgneb transkriptsiooni 3'-algussaidile) olnud geenid rohkem konserveerunud, mistõttu on näiteks geenid Sox9, Wt1 ja Sf-1 säilinud kaladest imetajateni ning AMH roomajatest imetajateni (Schartl, 2004). Samuti on Dmrt1 geen olemas kõigis rühmades, kuigi madude puhul ei ole täheldatud selle olulisust soo kujunemisel (Ferguson-Smith, 2006) ning lisaks on Dmrt1 konserveerunud kärbeste soo determinatsioonis (Schartl, 2001). Kaladel, lindudel, roomajatel ja kukkurloomadel on Foxl3 (kaladel nimega Foxl2b) (Nishimura & Tanaka, 2016). Artiklite põhjal saab välja tuua geenid/hormoonid/ensüümid, mis pea igas rühmas esindatud nii TSD kui GSD puhul, kuid nende rollid pole samasugused: Dmrt1, AMH, Sox9. Lisaks on peaaegu alati mainitud aromataas, Foxl2, Cyp19, Sf-1, beeta-kateniin. Järeldan, et Dmrt1 on üks olulisemaid geeni selgroogsete sookujundamises. Jaapani riisikalal on võtmegeeniks Dmy, mis on Dmrt1 dubleeritud koopia (Kobayashi *et al.*, 2013), lindudel on samuti Dmrt1 pealmine sookujundaja ning teistel on vaja Dmrt1-te, et kujuneks välja terve isane isend. Dmrt1 omab rolli ka selgrootute loomade sookujunemises (Schartl, 2004; Ferguson-Smith, 2006). Kuna Dmrt1 asub DNA järjestuses allavoolu, on ta konserveerunud (Schartl, 2001) ning seda peetakse iidseks sugu kujundavaks geeniks (Ferguson-Smith, 2006).

TSD liikidel ei ole võtmegeene, vaid keskkonnast tulev stiimul mõjub geenile/geenidele, mistõttu algab kas emase või isase kujundamisrada (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019). Kuna kromosoomide evolutsioon on olnud väga mitmekülgne, on ka TSD liikide sookujunemisega seotud geenid mitmekülgsed ja erinevates rühmades erinevate rollidega. Näiteks on Sf-1 isasel alligaatoril alareguleeritud, kuid isasel kilpkonnal üle reguleeritud (Bowden *et al.*, 2000) või siis on androgeen TSD liikidel oluline munasarja kujundaja, kuigi teda peetakse peamiselt isase suguhormooniks (Rhen & Schroeder, 2010). Osade geenide puhul on võimalik, et need on vahepeal kaduma

läinud või pärsitud ning siis „taaselustatud“ (Ohno, 1999). Muidugi on võimalik, et olulised võtmegeenid on ka veel avastamata, mistõttu võtab nii ESD kui ka GSD liikide sugukujundavate geenide kaardistamine palju aega, eriti kui ühel ja samal geenil on erinevates rühmades erinev roll (Ferguson-Smith, 2006; Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019).

Leian, et soo kujunemist tuleb tulevikus veel uurida, sest nii suudame ja oskame paremini kaitsta liike, kelle sugu kujundavad keskkonnatingimused. Samuti saame vähendada põllumajandusliikide kannatus, et vältida mittesoovitud sooga isendite kujunemist.

Tabel 7. Selgroogsete loomade sugu kujundavad geenid, ensüümid ja hormoonid.

Nimi	Tüüp	Kellel
Dmrt1	Geen	Kalad Kahepaiksed Roomajad – madudel ei ole seotud SD-ga, teistel on isase kujundaja Linnud – võtmerollis Imetajad – isasekujundaja
Sox9	Geen	Kaladest imetajateni, kõikidel TSD liikidel
Sf-1	Geen	Kaladest imetajateni
Foxl3	Geen	Kaladel, roomajatel, lindudel ja kukkurloomadel
AMH	Hormoon	Roomajatest imetajateni
Wt1	Geen	Kaladest imetajateni

Kokkuvõtlikult järeldan, et peamised sookujunemisega seotud mustrid selgroogsetel on järgmised:

- Erinevatel selgroogsete klassidel on soomääramismehhanismid äärmiselt erinevad;
- Mitte üheski selgroogsete loomade klassis pole ainult üht ainulaadset süsteemi/mehhanismi, mis oleks vaid sellele klassile omane;
- Mida evolutsiooniliselt vanem selgroogsete rühm, seda mitmekesisemad on sookujunemise mehhanismid ning mida noorem rühm, seda lihtsamad on mehhanismid;
- Sookujunemise protsessid üleüldiselt pole selgroogsetel konserveerunud;
- Sugukromosoomid on pidevas muutumises, kuid nende evolutsioon ei ole olnud lineaarne ning seetõttu esineb palju erandeid;
- Dmrt1 on üks olulisemaid geene selgroogsete sookujundamises, samuti on väga olulised Sox9, Wt1, AMH ja Sf-1;
- Ainult lindude ja imetajate kohta saab juba välja tuua üsna hästi läbiuuritud sugu kujundavad rajad;
- DNA metüleerimisel võib olla oluline mõju soo kujunemisele;
- Nii kliimasoojenemine kui ka keskkonnasaaste on võimelised selgroogsete eri rühmade sugu kujundama;
- Seni on uuringutes liigselt keskendutud mudelorganismidele ning tehistingimustes peetavatele loomadele, seetõttu ei teata piisavalt looduslike liikide sookujunemismehhanismidest;
- TSD võib olla seotud GSD mehhanismiga ning TSD-ga seotud geenid on väga mitmekülgsed;
- Uue põlvkonna meetodikad on sookujunemise uurimist oluliselt lihtsustanud ja seniseid teadmisi täiendanud;

Kokkuvõte

Kuigi selgroogsete soo kujunemise uurimist alustati eelmise sajandi teises pooles, on märkimisväärsed avastused tehtud pigem hiljuti, alates 21. sajandi algusest. Praeguseks on teada, et selgroogsete seas leidub keskkonnast tingitud kui ka geneetiline soo determinatsioon. GSD puhul on liikidel heteromorfsed sugukromosoomid, homomorfsed sugukromosoomid või sugu kujundavad geenid asuvad genoomis laiali. Kuigi on veel mitmeid olulisi lünki sugukromosoomide ja soo kujunemismehhanismide evolutsioonis kaladest imetajateni, on siiski selgelt näha, et sugukromosoomide evolutsioon ei ole lineaarne. Kuigi on geene, mis esinevad kaladest imetajate, nagu *Dmrt1*, *Wt1*, *Sox9* ja *Sf-1*, kuid nende roll on liigiti varieeruv. Seetõttu tuleks loobuda mudelorganismi-põhisest uurimisest ning uurida looduses vabalt elavaid liike, sest alati pole tehistingimuses tehtud katsed ülekantavad looduslikesse tingimustesse ning kõiki liike ei saa ka vangistuses kasvatada.

On teada, et soo kujunemine võib olla erakordselt keerukas protsess, sest kõik sugukromosoomid pole konserveerunud ja on ajas muutuvad. Esineb muster, et mida noorem on selgroogsete rühm, seda konserveerumad on sookujunemise mehhanismid ning kasutusel on pigem üks kindel mehhanism: näiteks imetajatel XX/XY süsteem, lindudel ZZ/ZW süsteem ja krokodillidel temperatuurist sõltuv sookujunemine. Kalad ja sisalikud omavad selgroogsetest kõige mitmekesisemaid sookujunemismehhanisme. Arvan, et on võimalik, et praeguseks leitud sookujunemismehhanismid on neis rühmades siiski palju mitmekesisemad, mistõttu tuleks kasutada uuemaid meetodikaid nende uurimisel, näiteks kogu-genoomset sekveneerimist.

Tulevikus tuleb uurida soo kujunemise mehhanisme enam kalades, kahepaiksetes ja roomajates, kelle soo kujunemine on lisaks geenidele mõjutatud ka erinevatest keskkonnatingimustest nagu temperatuur, pH, soolsus, sotsiaalfaktorid jne. Kliimamuutuste ja suureneva reostuse tõttu tuleks praegusest enam keskenduda keskkonnast tingitud soo determinatsiooni puhul pH, reostuse, toidu ja teiste keskkonnategurite mõjude uurimisele ning senisest vähem temperatiiru mõjule, sest on veel liiga vähe infot selle kohta, kuidas kliimamuutus ja reostus mõjub ESD ja ka GSD liikidele. Tuleb vältida ka vaid lindude ja imetajate uurimisandmete põhjal teiste selgroogsete klasside kohta järelduste tegemist, sest vanemates selgroogsete rühmades on sookujunemine tunduvalt mitmekesisem ja nii on oht jätta näiteks tähelepanu alt välja ESD, mida ei esine ei lindudel ega imetajatel.

Summary

Sex determination in vertebrates

Although studies on sex determination began in the second half of the last century, significant discoveries have been made recently, since the beginning of the 21st century. It is now known that vertebrates have environmental and genetic sex determination. In GSD, the species has heteromorphic sex chromosomes, homomorphic sex chromosomes or genes of sex determination are all over the genome. However, there are still several important gaps in mapping the exact evolution of sex chromosomes and sex determination mechanisms from fish to mammals, it seems clearly that evolution of sex chromosome is not linear. After all, there are genes present from fish to mammals such as *Dmrt1*, *Wt1*, *Sox9* and *Sf-1*, but their role varies among species. That's why instead of concentrating on model organisms, wild species should be studied, as artificial experiments are not always transferable to wildlife and not all species can be bred in captivity.

It is now known that sex determination can be an extremely complex process, because not all sex chromosomes are conserved, and they change over time. The younger the vertebrate group, the more conserved sex determination is and more one sex determining mechanism prevails over others: for example, the XX/XY system in mammals, the ZZ/ZW system in birds and the temperature-dependent sex determination in crocodiles. Fish and lizards have the most diverse reproductive mechanisms of vertebrates. However, it may be that the mechanisms of sex determination found in these groups are much more diverse, than known so far, therefore studies using new methods, such as whole-genome sequencing, are needed.

In the future, studies on more fish, amphibians, and reptiles, whose sex development, in addition to genetical determination, is also affected by various environmental conditions like temperature, pH, salinity, social factors, etc., need to be studied. Due to climate change and increasing pollution, the focus of environmental sex determination studies should be on the effects of pH, pollution, food, and other aspects, rather than on the temperature, as has mainly been so far, as the effects of climate change and pollution on ESD and GSD species are vaguely known. Mammalian and avian data alone do not allow to draw conclusions for other vertebrate classes because they have only one sex determination mechanism. In older vertebrate groups, sex determination is more diverse and there is also a threat to exclusion of ESD, as it does not occur in birds or mammals.

Tänuavaldus

Suur aitäh juhendajale Maris Hindriksonile, kes esitas suunavaid küsimusi/kommentaare, andis põhjaliku tagasiside tööle, jagas artikleid ning aitas alati, kui olin hätta sattunud. Tänan ka õppejõudu Raivo Mändi, kes vastas kiirelt mu küsimusele ning jagas artiklit, mida küsisin. Suur tänu ka Rainer Kravetsile, kes andis tööle tagasisidet ning leidis üles märkamatuks jäänud vead.

Kasutatud kirjandus

- Alam, S. M. I., Sarre, S. D., Gleeson, D., Georges, A., & Ezaz, T. 2018. Did lizards follow unique pathways in sex chromosome evolution? *Genes*, **9**: 20–28.
- Avise, J. C., & Mank, J. E. 2009. Evolutionary perspectives on hermaphroditism in fishes. *Sexual Development*, **3**: 152-163.
- Bachtrog, D., Mank, J. E., Peichel, C. L., Kirkpatrick, M., Otto, S. P., Ashman, T. L., Hahn, M. W., Kitano, J., Mayrose, I., Ming, R., Perrin, N., Ross, L., Valenzuela, N., Vamosi, J. C. 2014. Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It? *PLoS Biology*, **12**: 1–13.
- Baroiller, J. F., & Guiguen, Y. 2001. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in gonochoristic fish. *Genes and mechanisms in vertebrate sex determination*, **55**: 177–201.
- Bashamboo, A., & McElreavey, K. 2016. Mechanism of Sex Determination in Humans: Insights from Disorders of Sex Development. *Sexual Development*, **10**: 313–325.
- Bista, B., & Valenzuela, N. 2020. Turtle insights into the evolution of the reptilian karyotype and the genomic architecture of sex determination. *Genes*, **11**: 1–16.
- Bókony, V., Milne, G., Pipoly, I., Székely, T., & Liker, A. 2019. Sex ratios and bimaturism differ between temperature-dependent and genetic sex-determination systems in reptiles. *BMC Evolutionary Biology*, **19**: 1–7.
- Bowden, R. M., Ewert, M. A., & Nelson, C. E. 2000. Environmental sex determination in a reptile varies seasonally and with yolk hormones. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **267**: 1745–1749.
- Bull, J. J. 1981. Evolution of environmental sex determination from genotypic sex determination. *Heredity*, **47**: 173–184.
- Capel, B. 2017. Vertebrate sex determination: Evolutionary plasticity of a fundamental switch. *Nature Reviews Genetics*, **18**: 675–689.
- Chen, S., Zhang, G., Shao, C., Huang, Q., Liu, G., Zhang, P., Song, W., An, N., Chalopin, D., Volff, J. N., Hong, Y., Li, Q., Sha, Z., Zhou, H., Xie, M., Yu, Q., Liu, Y., Xiang, H., Wang, N., ... Wang, J. 2014. Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle. *Nature Genetics*, **46**: 253–260.
- Chue, J., & Smith, C. A. 2011. Sex determination and sexual differentiation in the avian model. *FEBS Journal*, **278**: 1027–1034.

- Cornejo-Páramo, P., Lira-Noriega, A., Ramírez-Suástegui, C., Méndez-De-La-Cruz, F. R., Székely, T., Urrutia, A. O., & Cortez, D. 2020. Sex determination systems in reptiles are related to ambient temperature but not to the level of climatic fluctuation. *BMC Evolutionary Biology*, **20**: 1–14.
- Cortez, D., Marin, R., Toledo-Flores, D., Froidevaux, L., Liechti, A., Waters, P. D., Grützner, F., & Kaessmann, H. 2014. Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature*, **508**: 488–493.
- Decourten, B. M., & Brander, S. M. 2017. Combined effects of increased temperature and endocrine disrupting pollutants on sex determination, survival, and development across generations. *Scientific Reports*, **7**: 1–9.
- Devlin, R. H., & Nagahama, Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, **208**: 191-364.
- Elf, P. K. 2003. Yolk steroid hormones and sex determination in reptiles with TSD. *General and Comparative Endocrinology*, **132**: 349–355.
- Estermann, M. A., Major, A. T., & Smith, C. A. 2020. Gonadal Sex Differentiation: Supporting Versus Steroidogenic Cell Lineage Specification in Mammals and Birds. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**: 1–10.
- Ezaz, T., Sarre, S. D., Meally, D. O., Graves, J. A. M., & Georges, A. 2010. Sex Chromosome Evolution in Lizards : Independent Origins and Rapid. *Cytogenetic and genome research*, **2601**: 249–260.
- Ferguson-Smith, M. 2006. The evolution of sex chromosomes and sex determination in vertebrates and the key role of DMRT1. *Sexual Development*, **1**: 2–11.
- Fioranelli, M., Sepehri, A., Rocchia, M. G., Rossi, C., Vojvodic, P., Lotti, J., ... & Lotti, T. 2019. In ovo sexing of chicken eggs by virus spectroscopy. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, **7**: 3106.
- Fridolfsson, A. K., Cheng, H., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Liu, H. C., Raudsepp, T., Woodage, T., Chowdhary, B., Halverson, J., & Ellegren, H. 1998. Evolution of the avian sex chromosomes from an ancestral pair of autosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**: 8147–8152.
- Furman, B. L. S., Metzger, D. C. H., Darolti, I., Wright, A. E., Sandkam, B. A., Almeida, P., Shu, J. J., Mank, J. E., & Fraser, B. 2020. Sex Chromosome Evolution: So Many Exceptions to the Rules. *Genome Biology and Evolution*, **12**: 750–763.
- Graves, J. A. M. 2008. Weird animal genomes and the evolution of vertebrate sex and

- sex chromosomes. *Annual Review of Genetics*, **42**: 565–586.
- Graves, J. A. M. 2014. Avian sex, sex chromosomes, and dosage compensation in the age of genomics. *Chromosome Research*, **22**: 45–57.
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K., & Dawson, R. J. G. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, **7**: 1071–1075.
- Guioli, S., Nandi, S., Zhao, D., Burgess-Shannon, J., Lovell-Badge, R., & Clinton, M. 2014. Gonadal asymmetry and sex determination in birds. *Sexual Development*, **8**: 227–242.
- Heinaru, A. 2012. *Geneetika: Õpik kõrgkoolile*. Tartu: Tartu Ülikooli Kirjastus, **1135**: 964–1099.
- Hirst, C. E., Major, A. T., Ayers, K. L., Brown, R. J., Mariette, M., Sackton, T. B., & Smith, C. A. 2017. Sex reversal and comparative data undermine the W chromosome and support Z-linked DMRT1 as the regulator of gonadal sex differentiation in birds. *Endocrinology*, **158**: 2970–2987.
- Huang, S., Ye, L., & Chen, H. 2017. Sex determination and maintenance: The role of DMRT1 and FOXL2. *Asian Journal of Andrology*, **19**: 619–624.
- Ioannidis, J., Taylor, G., Zhao, D., Liu, L., Idoko-Akoh, A., Gong, D., Lovell-Badge, R., Guioli, S., McGrew, M. J., & Clinton, M. 2021. Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **118**: 1–21.
- Irwin, D. E. 2018. Sex chromosomes and speciation in birds and other ZW systems. *Molecular Ecology*, **27**: 3831–3851.
- Katona, G., Vági, B., Végvári, Z., Liker, A., Freckleton, R. P., Bókony, V., & Székely, T. 2021. Are evolutionary transitions in sexual size dimorphism related to sex determination in reptiles? *Journal of Evolutionary Biology*, **34**: 594–603.
- Katsura, Y., Kondo, H. X., Ryan, J., Harley, V., & Satta, Y. 2018. The evolutionary process of mammalian sex determination genes focusing on marsupial SRYs. *BMC Evolutionary Biology*, **18**: 1–11.
- Kinsky, F. C. 1971. The consistent presence of paired ovaries in the Kiwi (*Apteryx*) with some discussion of this condition in other birds. *Journal für Ornithologie*, **112**: 334–357.
- Kobayashi, Y., Nagahama, Y., & Nakamura, M. 2013. Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes. *Sexual Development*, **7**: 115–125.

- Koopman P. 2001. Sry, Sox9 and mammalian sex determination. *EXS*, **91**: 25–56.
- Lahn, B. T., & Page, D. C. 1999. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science*, **286**: 964–967.
- Lehtonen, J., & Parker, G. A. 2014. Gamete competition, gamete limitation, and the evolution of the two sexes. *Molecular Human Reproduction*, **20**: 1161–1168.
- Martínez-Juárez, A., & Moreno-Mendoza, N. 2019. Mechanisms related to sexual determination by temperature in reptiles. *Journal of Thermal Biology*, **85**: 102400.
- Matsubara, K., Tarui, H., Toriba, M., Yamada, K., Nishida-Umehara, C., Agata, K., & Matsuda, Y. 2006. Evidence for different origin of sex chromosomes in snakes, birds, and mammals and step-wise differentiation of snake sex chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 18190–18195.
- Miura, I. 2018. Sex determination and sex chromosomes in Amphibia. *Sexual Development*, **11**: 298–306.
- Moore, E. C., & Roberts, R. B. 2013. Polygenic sex determination. *Current biology*, **23**: R510–R512.
- Nishimura, T., & Tanaka, M. 2016. The Mechanism of Germline Sex Determination in Vertebrates. *Biology of reproduction*, **95**: 30-1.
- Ohno S. 1967. Sex chromosomes and sex-linked genes. New York: Springer
- Ohno, S. 1999. The one-to-four rule and paralogues of sex-determining genes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **55**: 824-830.
- Parker, G. A., Baker, R. R., & Smith, V. G. F. 1972. The origin and evolution of gamete dimorphism and the male-female phenomenon. *Journal of theoretical biology*, **36**: 529-553.
- Pask, A., & Graves, J. A. M. 2001. Sex chromosomes and sex-determining genes: insights from marsupials and monotremes. *Genes and mechanisms in vertebrate sex determination*, **55**: 71-95.
- Pask, A., & Renfree, M. B. 2001. Sex determining genes and sexual differentiation in a marsupial. *Journal of Experimental Zoology*, **290**: 586–596.
- Pezaro, N., Doody, J. S., & Thompson, M. B. 2017. The ecology and evolution of temperature-dependent reaction norms for sex determination in reptiles: a mechanistic conceptual model. *Biological Reviews*, **92**: 1348–1364.
- Pieau, C., & Dorizzi, M. 2004. Oestrogens and temperature-dependent sex determination in reptiles: All is in the gonads. *Journal of Endocrinology*, **181**: 367–377.

- Posynick, B. J., & Brown, C. J. 2019. Escape from X-chromosome inactivation: an evolutionary perspective. *Frontiers in cell and developmental biology*, **7**: 241.
- Reithmayer, C., & Mußhoff, O. 2019. Consumer preferences for alternatives to chick culling in Germany. *Poultry science*, **98**: 4539-4548.
- Rhen, T., & Schroeder, A. 2010. Molecular mechanisms of sex determination in reptiles. *Sexual Development*, **4**: 16–28.
- Roco, Á. S., Ruiz-García, A., & Bullejos, M. 2021. Testis development and differentiation in amphibians. *Genes*, **12**: 578.
- Rosenfeld, C. S. 2017. Brain sexual differentiation and requirement of SRY: Why or Why Not? *Frontiers in Neuroscience*, **11**: 1–14.
- Sánchez, L., & Chaouiya, C. 2016. Primary sex determination of placental mammals: A modelling study uncovers dynamical developmental constraints in the formation of Sertoli and granulosa cells. *BMC Systems Biology*, **10**: 1–11.
- Santos, D., Luzio, A., & Coimbra, A. M. 2017. Zebrafish sex differentiation and gonad development: A review on the impact of environmental factors. *Aquatic Toxicology*, **191**: 141–163.
- Sarre, S. D., Georges, A., & Quinn, A. 2004. The ends of a continuum: Genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. *BioEssays*, **26**: 639–645.
- Schartl, M. 2004. Sex chromosome evolution in non-mammalian vertebrates. *Current Opinion in Genetics and Development*, **14**: 634–641.
- Schmid, M., & Steinlein, C. 2001. Sex chromosomes, sex-linked genes, and sex determination in the vertebrate class Amphibia. *Genes and mechanisms in vertebrate sex determination*: 143-176.
- Singchat, W., Ahmad, S. F., Laopichienpong, N., Suntronpong, A., Panthum, T., Griffin, D. K., & Srikulnath, K. 2020. Snake W sex chromosome: The shadow of ancestral amniote super-sex chromosome. *Cells*, **9**: 2386.
- Smith, C. A. 2010. Rowley review. Sex determination in birds: A review. *Emu*, **110**: 364–377.
- Smith, C. A., & Sinclair, A. H. 2004. Sex determination: Insights from the chicken. *BioEssays*, **26**: 120–132.
- Spencer, J. A., Sinclair, A. H., Watson, J. M., & Graves, J. A. 1991. Genes on the short arm of the human X chromosome are not shared with the marsupial X. *Genomics*, **11**: 339–345.
- Straková, B., Rovatsos, M., Kubička, L., & Kratochvíl, L. 2020. Evolution of Sex

- Determination in Amniotes: Did Stress and Sequential Hermaphroditism Produce Environmental Determination? *BioEssays*, **42**: 1–9.
- Zhao, D., McBride, D., Nandi, S., McQueen, H. A., McGrew, M. J., Hocking, P. M., Lewis, P. D., Sang, H. M., & Clinton, M. 2010. Somatic sex identity is cell autonomous in the chicken. *Nature*, **464**: 237–242.
- Veyrunes, F., Waters, P. D., Miethke, P., Rens, W., McMillan, D., Alsop, A. E., Grützner, F., Deakin, J. E., Whittington, C. M., Schatzkamer, K., Kremitzki, C. L., Graves, T., Ferguson-Smith, M. A., Warren, W., & Marshall Graves, J. A. 2008. Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Research*, **18**: 965–973.
- Wallis, M. C., Waters, P. D., & Graves, J. A. M. 2008. Sex determination in mammals - Before and after the evolution of SRY. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **65**: 3182–3195.
- Wedekind, C. 2017. Demographic and genetic consequences of disturbed sex determination. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **372**: 20160326.
- Whiteley, S. L., Georges, A., Weisbecker, V., Schwanz, L. E., & Holleley, C. E. 2021. Ovotestes suggest cryptic genetic influence in a reptile model for temperature-dependent sex determination. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **288**: 20202819.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kadi Kaljurand,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Soo determinatsioon selgroogsetel loomadel“, mille juhendaja on Maris Hindrikson, 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.

Kadi Kaljurand

20.05.2022