

Hominoideoen analisi filogenomikoa: sei tximu espezetan hautespen positiboa detektatzeko azterketa eta portaera-azalpen posibleak

(Phylogenomic analysis of hominoids: study to detect positive selection in six ape species and possible behavioral explanations)

Iker Loidi Vadillo, Santos Alonso Alegre, Neskuts Izagirre Arribalzaga*

Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila.
Zientzia eta Teknologia Fakultatea. UPV/EHU. Leioa, Bizkaia

LABURPENA: Primateak izugarriko aniztasun etologikoa eta biologikoa erakusten duten ugaztunak dira, genetikoki ondoen ezagutzen diren animalietako batzuk, gainera, genomika konparatuari esker. Azkeneko honek hautespen positiboa noiz gertatu den ulertaraztea baimendu du kasu batzuetan. Primateetan, harrera sentsorialari, metabolismoari, immunologiari eta ugalketari lotutako geneetan identifikatu dira hautespen positiboaren seinaleak bereziki. Hori horrela, ikerketa honen helburua hominoideoen analisi filogenomiko bat bideratzea izan da, talde filogenetiko honetan hautespena detektatzeko. 9 primate-espezieren miloi-erdi baino transkrito gehiago erabilia, ortologoak inferitu, espezie-zuhaitza eraiki, azkeneko horrekin bat datozen gene-zuhaitzak hautatu eta gene horien gaineko hautespen-test bat aplikatu da. Horrela, hominoideoen bost genetarako (*ZP1*, *OR4D5*, *GPR151*, *PPP1R3A* eta *HTR1B*) hautespen positiboa izan dela ondorioztatu da (BRANCH eta BRANCH-SITES, $p < 0,05$). *ZP1* ugalketari lotutakoa dugu; *OR4D5* usaimenaren perzeptzioa baimentzen duen geneetako bat da; *GPR151* nozizeptzioari lotuta dago; *HTR1B* serotoninaren harreraren parte hartzen du; eta *PPP1R3A* metabolismo energetikoarekin erlazionatzen da. Ikerketa honetan, gene hauetan detektatutako hautespen positiboaren seinaleak azaltzeko proposamen zentzudun bat bilatzen saiatu gara, modu esangarrian hautespenaren aldeko emaitzak eman dituzten espezie horietan. Etorkizunera begira, oso interesgarria litzateke analisietarako metodo automatizatuak garatzea, gene-espezie-zuhaitz desadostasunak erakutsitako geneetan ere hautespenaren aldeko seinaleak detektatzen saiatzeko eta, horri esker, primate-talde honek nozitu dituen prozesu adaptatiboak ulertzeko. Aldi berean, planteatutako hipotesiak onartzearen, azterketa etologiko ugariagoak bideratzea proposatzen dugu.

HITZ GAKOAK: Hominoideoak, primateak, hautespen positiboa, ortologoak, ortotaldeak, geneak.

ABSTRACT: *Primates are mammals that exhibit extreme ethological and biological diversity, including some of the genetically best-known animals, thanks to their comparative genomics. This has in some cases allowed us to understand when positive selection has been given. In primates, positive selection signals have been identified in genes related to sensory reception, metabolism, immunology, and reproduction. Thus, the purpose of this research has been to conduct a phylogenomic analysis of hominoids to detect selection in this phylogenetic group. Using more than half a million transcripts of nine primate-species, orthologues have been inferred, a species tree has been constructed, gene trees have been selected, and a selection test has been applied on these genes. Thus, for five hominoid genes (*ZP1*, *OR4D5*, *GPR151*, *PPP1R3A*, and *HTR1B*), positive selection has been concluded to be given (BRANCH and BRANCH-SITES, $p < 0.05$). *ZP1* is linked to reproduction; *OR4D5* is one of the genes that allows perception of smell; *GPR151* is linked to nociception; *HTR1B* participates in serotonin reception; and *PPP1R3A* is related to energetic metabolism. In this study, we have attempted to find a sense proposal to explain the signals of positive selection in these genes, in those species which have significantly been selected. Looking to the future, it would be very interesting to develop automated analysis methods to try to detect the signs of selection even in genes that show gene tree-species tree discordance, and to understand the adaptive processes that this group of primates have undergone. At the same time, in order to accept the established hypotheses, we propose a more numerous ethological studies.*

KEYWORDS: Hominoids, primates, positive selection, orthologues, orthogroups, genes.

* **Harremanetan jartzeko/Corresponding author:** Neskuts Izagirre Arribalzaga. Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila. Zientzia eta Teknologia Fakultatea. UPV/EHU. Leioa, Bizkaia.  <https://orcid.org/0000-0001-9111-1111>, neskuts.izagirre@ehu.eus

Nola aipatu/How to cite: Loidi, Iker, Alonso, Santos; Izagirre, Neskuts (2025). «Hominoideoen analisi filogenomikoa: sei tximu espezetan hautespen positiboa detektatzeko azterketa eta portaera-azalpen posibleak», *Ekaia*, 47, 2025, 261-277. (<https://doi.org/10.1387/ekaia.25152>).

Jasoa: urriak 1, 2023; Onartua: azaroak 22, 2024

ISSN 0214-9001-eISSN 2444-3225 / © UPV/EHU Press



Lan hau Creative Commons Aitortu-EzKomertziala-PartekatuBerdin 4.0 Nazioartekoa lizentzia baten mende dago

1. SARRERA

Ikuspuntu sistematiko eta taxonomiko batetik, Primates ordena osatzen duten animaliak kordatuak eta ornodunak dira, eta ugaztun gisara sailkatu izan dira biziaren zuhaitzean [1]. Bada, ordea, primateetan azpimarratu beharreko zerbait: ez dute bereizgarria kontsidera daitekeen ezaugarri deskribatzaile nabarmenik [2]. Beste modu batera esanda, animalia hauek ugaztun orenen arbaso amankomunaren ezaugarri ugari kontserbatu dituzte, berritasun ebolutibo gutxi batzuk garatzearekin batera [3]. Ustez, espezializazio nabarmen baten falta horrek ekarri zuen primateak hego-hemisferioko kontinente guztietan zehar hedatzea [1].

Mundu zaharreko tximinoak, giboia eta Asiako zein Afrikako tximu antropomorfoak duela 28 milioi urte hasitako erradiazio-prozesu dibertso baten azkeneko ordezkariak dira gizakiak, eta batera katarrinoen taldea osatzen dute [4]. Miozenoan zehar, gaur egungo tximino antropomorfoen eta zerkopitekoideoen arbaso amankomunak bi leinu ezberdin emango zituen, gaur egun hominoideo izenez ezagutzen ditugun espezieak itxuratzen bideari hasiera emanez [5]. Hominoideoak edo tximuak (Hominoidea superfamilia) goi-mailako primate gisa sailkatutako animaliak dira, amankomunak eta bereizleak diren zenbait ezaugarri agertzen dituztenak; isatsik gabeko primate handiak dira, enbor laburtua dutenak, 5 erpinetako gainazala duten atzeko hagin zabalak, burmuinaren garapen ikaragarria eta brakiatorako errazteko sorbaldaren antolakuntza anatomiko berezia erakusten dutenak [1].

Edozein organismoren eboluzioa aztertzeko, genomak konparatzea da metodorik eraginkor eta oparoenetarikoa. Izan ere, metodo horrek leinu ezberdinen genomak sortutako berritasun ebolutiboak detektatzen laguntzen du, espezieak euren artean konparatuz. Horrela, espezie edo leinu zehatz batek dituen berezitasun genetikoen berri ematen du, eta azkeneko horiek, aldi berean, euren prozesu ebolutibo-adaptatibo bereizgarriaren berri eman dezakete. Gaur egun, primate ez-humanoeekin egiten diren analisi hauek oinarritzko bi helbururekin gauzatzen dira nagusiki: 1) primateak gizakion gaixotasunak aztertzeko animalia eredu bikainak dira; eta 2) analisi konparatiboek giza genomaren eboluzioan zehar gertatutako aldaketak ulertzen lagundu dezakete [6].

Azterketa genomikoek islatu bezala, primate ez-humanoeak gizakiak baino aldakortasun genetiko intraespezifikoa handiagoa erakusten dute, nahiz eta gaur egungo tximino-populazioak ez izan gurea bezain handiak [6-8]. Espezie bakoitzak bere historia ebolutibo propioa erakuts dezake, eta azpipopulazio bakoitzak, aldi berean, gertakari ezberdinak nozitu ahal izan ditu; hau da, primate espezie guztietan defini daitezke genetikoki ezberdintutako populazioak [9]. Ezberdintasun genetiko horiek, noski, eboluzioan zehar fixatuz joan dira, eta denboran aurrera mantenduta, espezie berrien sorrerarako lehengai gisa jardun dute.

Ausaz gertatzen diren mutazio horiek bi mekanismo makroebolutiboren bidez fixatzen dira nagusiki: jito genetikoa eta hautespen naturala. Jito genetikoa aleloen zorizko hautaketa deskribatzen duen fenomeno da. Hori dela eta, mekanismo honek esangura handia lortzen du tamaina txikiko populazioetan [10]. Hautespen naturala, berriz, ingurumenarekiko alelo batek eskaintzen duen moldagarritasunaren arabera bere maiztasuna handitzen edo txikitzen duen mekanismo ebolutiboa da. Alelo bat kaltegarria suertatzen bada, orduan hautespenak alelo hori daramaten indibiduoak desagerraraziko ditu —haren maiztasuna populazioan murriztera joko du—. Hori hautespen negatibo esaten zaio. Aldiz, onuragarria izatekotan, aleloaren maiztasuna handituko da, eskaintzen dituen abantailek bultzatuta. Hori horrela, gene hauek hautespen positiboa izan dutela esan daiteke [10].

Azterketa askok erakutsitakoaren arabera, modu positiboan hautatu diren geneak ugariak dira primateen artean, eta horiek guztiek argi erakusten dute hautespen naturalaren zeregina, funtsezko suertatzen baitira organismoaren biziraupena eta, beraz, geneen transmisioa bermatzerako momentuan. Funtzioaren araberrako lau kategoria ezberdinetan sailkatu daitezke positiboki hautatutako gene horiek [6, 8, 10-12].

- **Harrera sentsorialari lotutako geneak.** Kanpo- eta barne-ingurumeneko aldaketei buruzko informazioa jasotzeaz arduratzen dira gene hauek kodetutako proteinak [12]. Hedapen geografiko handia lortu duten animaliak dira primateak eta, beraz, euren historia ebolutiboan zehar ingurumen-, dieta- eta jokabide-aldaketa ugari nozitu behar izan dituzte. Horrek ingurune berrietan azkar moldatzeko beharra sortu du, eta horren eraginez, munduaren pertzepzioari lotutako gene hauek hautespen positiboa nozitu izanaren berri eman dute [13].
- **Immunologiari eta patogenoen aurkako babesari lotutako geneak.** Patogenoen eta ostalarien koeboluzioan arrunta den legez, primateek azkar eta etengabe eboluzionatzeko beharra izan dute askotan hilgarriak suertatzen diren gaixotasun infekziosoak ekiditeko eta, ondorioz, hautespen naturalak guda amaigabe horretan onuragarriak suertatu diren aleloak faboratu ditu, erresistentzia handiagoa eskaintzen dutenak besteak beste. Adibide gisa ditugu *BMP* geneek (*Bone Morphogenetic Proteins*) kodetutako proteinak, prozesu infekzioso ugarietan garrantzi handikoa suertatzen den burdinaren harrera erregulatuta birusen eragina murrizten laguntzen baitute [14].
- **Metabolismoan eta elektroigarraio katean inplikaturiko geneak.** Primateek dieta aldaketa ugari nozitu dituzte euren eboluzioan zehar eta, ondorioz, animalia hauek aldaketa metaboliko eta energetiko ugari nozitu behar izan dituzte jaki ezberdin guzti horietara moldatzen joateko. Ez hori bakarrik: ikerketek erakutsitakoaren arabera, hautatutako gene ugariak substantzia toxikoak eliminatzen zuzenduta daude (toxinak eliminatzen). Honen adibide dira *CYP* izeneko geneak, zitokromo

P450 entzima gisa ezagututakoak kodetzen dituztenak. Hemoproteina hauek toxina eta droga ezberdinen metabolismoan dihardute, odolaren detoxifikazioa ahalbidetuz [12]. Ustez, dieta-aldaketa sakonen eta toxinei aurre egiteko beharraren atzean primateen beharrian energetiko handiak daude, bestelako ugaztunekin konparatuta, bizitza luzeagoa, fetuaren garapen-denbora nabarmenagoa edota glukosa-eskari ikaragarria duen neokortex handiagoa dutelako animalia hauek [15].

- **Ugalketari lotutako geneak.** Gene hauek kodetutako proteinek, ugalketan eragin zuzena izateaz gain, espezie ezberdinen arteko ernalketa eteten dela bermatzen laguntzen dute; hau da, espeziaziarako behar-beharrezkoa den isolamendu genetiko sustatzen dute. Horrenbestez, geneak transmititzen direla ziurtatzen eta, aldi berean, espeziearen identitate genetiko mantentzen duten gene hauek azkar eboluzionatu dute, hautespen positiboak bultzatuta.

Hautespen positiboa, beraz, esangura handikoa suertatu da primatetan, baina fenomeno biologiko honen arrastoak jarraitzea ez da batere erraza [16]. Izan ere, halako mekanismo ebolutiboak detektatzeko balio duten test eta proba ezberdinek fidagarritasun-mailaren murrizpena nozitzen dute estuki erlazionatuta dauden espezieak analizatzen direnean. Hautespen naturala detektatzeko balio duten mekanismo ezberdinak sekuentzia genetikoen eskaintako informazioan oinarritzen dira. dn/ds erratioa kontuan hartzen duten metodoek, esate baterako, hautespen positiboa eman dela onartzen dute ordezkapen ez-sinonimoen kopurua (dn) ordezkapen sinonimoena (ds) baino handiagoa denean [6]. Honen adibide dugu PAML programak eskaintako *log-likelihood ratio* testa (LRT). Kasu honetan, bi modelo konparatzen dira; horietako batek hautespen positiborako parametro bat onartzen du, eta besteak hautespen positiborik gabeko kasua islatzen. Horrela, bi modelo hauen probabilitatea estatistikoki konparatu eta hautespen positiboa gertatu den edo ez ondoriozta daiteke [17].

Hori horrela, ikerketa honen helburua hominoideoen azterketa filogenomiko bat bideratzea izan da, gu baitan hartzen gaituen taldearen filogenia ulertzeko eta, aldi berean, hautespen positiboa nozitu duten geneak aurkitu (LRT metodoa erabilia) eta horri azalpen ebolutibo sentsuduna eman ahal izateko. Horrekin batera, ikerketa honek metodologia ezberdinek dituzten mugak izan ditu kontuan, eta etorkizunera begira, primateen analisi filogenomikoaren baitan egin daitezkeen aurrerapenak baloratu ditu, ikerketa-lerro berriak proposatuz.

2. METODOLOGIA

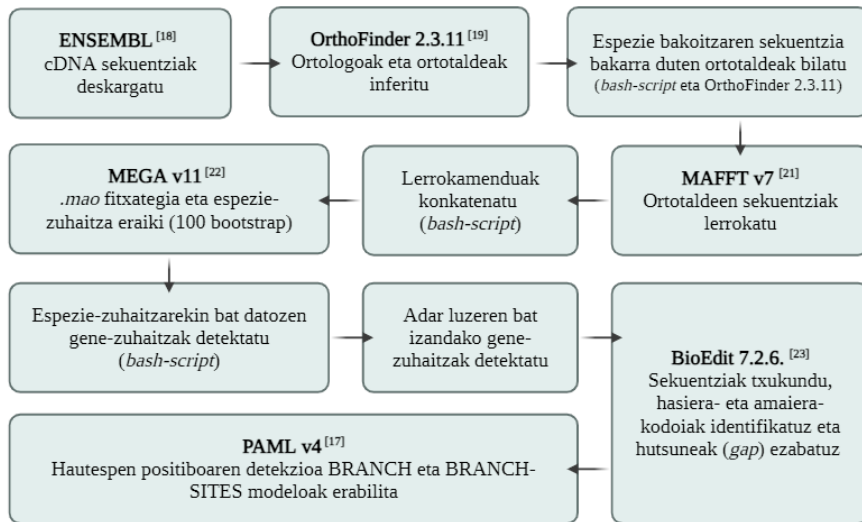
Lana bideratzeko, hominoideoen superfamilian sailkatutako sei espezierekin lan egin genuen: *Nomascus leucogenys* (iparraldeko papo-txuridun

giboia), *Pan paniscus* (bonoboa), *Pan troglodytes* (txinpantzea), *Pongo abelii* (Sumatrako orangutana), *Gorilla gorilla* (mendebaldeko lautadetak gorila) eta *Homo sapiens* (gizakia). Hauek izan ziren gure aztergaiaren nukleoak; halere, *Macaca* generoko beste hiru tximino espezieren datuak ere gehitu genituen gure analisisian: *M. fascicularis* (makako karramarrozalea), *M. mulatta* (Rhesus makakoa) eta *M. nemestrina* (txerri-buztandun makakoa). Azkeneko hiru espezie hauek *outgroup* modura erabili ziren; hau da, analizatu nahi zen taldetik kanpoko espezieak izanda, gure intereseko espezieetatik aldentutako sekuentzien informazioa eskaini zuten. Espezie guztien datu genomikoak (cDNA-k, hain zuzen) ENSEMBL [18] datu-basetik deskargatu ziren (1. irudia). cDNA fitxategiak transkriptomatik abiatuta esperimentalki lortzen den DNA-ri egiten dio erreferentzia.

Ortologoak espezie ezberdinetan agertzen diren baina jatorri berdina duten gene-sekuentziak dira. Hori dela eta, analisi filogenomikoak bideatzeko ezin hobeagoak dira: jatorri bera dutenez gero, aitzindari amankomun bat dute, baina espeziazioak ekarri du pixkanaka-pixkanaka elkarrengandik aldentzen joatea. Hauek bilatzearen, OrthoFinder 2.3.11 programa erabili zen [19] (1. irudia), input gisa 9 espezieen cDNA-ren sekuentziak sartuta. Programa honek analisisian erabilitako sekuentzien artean ortologoak bilatu, ortotaldeak ezarri, azkeneko hauen gene-zuhaitz filogenetikoak eraiki eta analizatutako espezieen espezie-zuhaitz sustraidun bat sortzen du. Ortotaldea espezie anitzen gene-multzoa da, espezie multzo horren azken arbaso komunaren gene bakar batetik datorrena; hau da, espezie ugarietan zeharreko ortologoek hedapen naturala da, espezie ezberdinei dagozkien ortologoek multzoa [20].

Lortutako ortotalde guztietatik, espezie bakoitzarentzat sekuentzia bakarra zutenak detektatzeko *script* bat egin genuen. Ortotalde egokien sekuentziak MAFFT v7 programa [21] erabilia lerrokatu, *script* baten bidez konkatenatu (bata bestearen atzean jarri), eta lerrokamendua (.meg formatuan) MEGA v11 programan [22] analizatu zen, espezie-zuhaitz filogenetiko bat lortzeko *Maximum Likelihood* metodoa erabilia. Zuhaitz horren adarren fidagarritasuna ebaluatzeko, 100 *bootstrap* bidezko birlaginketa egin zen. Balio hura 100etik zenbat eta hurbilago, orduan eta handiagoa da adarraren fidagarritasuna, horrek adierazten baitu informazio genetikoko sendo babesten duela harreman filogenetiko hori. Lortutako zuhaitza erreferentziatzat hartuta, espezie-zuhaitz horretara doitzen ziren gene-zuhaitzak hautatzeko beste *script* bat egin genuen (1. irudia). Gene- zein espezie-zuhaitzek espezieen arteko harreman filogenetikoak islatzen dituzte, baina gene-zuhaitz zehatz bat ortotalde bakar batean oinarritzen da, eta espezie-zuhaitzak ortotalde ugari kontuan hartzen ditu. Hori horrela, gene-zuhaitz batek gene bakar baten historia ebolutiboa kontatzen duen bitartean, espezie-zuhaitzak espezieen historia orokorragoa islatzen du, gene ugarietan oinarritzen baita. Horrexegatik, gene-zuhaitzek eta espezie-zuhaitzak ez dute

beti bat egiten, eta lana erraztearren, gomendagarria zitzaigun bat egiten zuteneko gene horiek hautatzea soilik. Gerora, zuhaitz orokorrarekin bat zetozen geneetatik interesekoak zirenak bakarrik hartu ziren, eta horretarako espezie baterako adar luze bat aurkezten zutenak hautatu ziren. Izan ere, adar luze baten presentziak espezie horrek besteekiko distantzia genetikoko handiagoa erakusten duela islatu dezake.



1. irudia. Analisisian jarraitutako metodologiaren laburpen-taula.

Hautatutako geneen lerrokamendu-fitxategiak (.fasta formatuan zeudenak) BioEdit 7.2.6 programa [23] erabilia editatu ziren, hutsuneak (gap) ezabatzeko asmoz (1. irudia). UCSC Genome Browser [24] eta ENSEMBL [18] datu-baseak erabilia, hasiera- (ATG) eta amaiera- (STOP) kodoien (TAA/TGA/TAG) arteko sekuentzia identifikatu ahal izan zen eta, jarraian, sekuentzia horretatik kanpoko hutsuneak eta nukleotido-sekuentziak ezabatu ziren (betiere kodoien irakurketa egokia bermatuz).

Intereseko geneak prest edukita, PAML v4 programa [17] erabilia bideratu zen hautespen positiboaren detekzioa (1. irudia). PAML-ko CodeML programa erabilia, ordezkapen sinonimoen eta ez-sinonimoen arteko erratioa ($\omega = d_n/d_s$) estimatu eta hautespen positiboa detektatzeko bi modelo ezberdin erabili ziren, BRANCH eta BRANCH-SITES alegia. Lehenengoak zuhaitzaren adarretako batean hautespena detektatzeko balio du, eta bigarrenak, berriz, adarretako batean positiboki hautatutako leku zehatzen bat bilatzen du. Bakoitzarentzat, hipotesi nulu bana (H_0 , ez dago hautespenik; $\omega < 1$) eta hipotesi alternatibo (H_1 , hautespena gertatzen da; $\omega > 1$) diseinatu ziren.

Modelo hauetako bakoitzaren hipotesi nulu eta alternatiboaren probabilitate-balioak (ML) gene eta hominoideo espezie bakoitzaren kasurako estimatu ziren (120 estimazio guztira; 2 modelo, 2 hipotesi, 5 gene, 6 espezie). Kasu bakoitzean, bi fitxategi erabili ziren: genearen zuhaitza (.tree) eta lerrokamendu-fitxategia, Phylip formatuan (.phy). Lortutako maximum likelihood (ML) balioen logaritmoa (lnL) erabilita, *log-likelihood ratio* testa (LRT) aplikatu zen jarraian. Modelo bakoitzarentzat planteatutako hipotesi bakoitzaren bi probabilitateak konparatzen ditu metodo honek, oinarrizko formula honi jarraituta:

$$2\Delta\ln L = 2(\ln LH1 - \ln LH0)$$

Ondoren, LRT delakoaren p balioa estimatu zen, χ^2 testa erabilita. Hori horrela, $p < 0,05$ izanez gero, H_0 errefusatzen zen eta, ondorioz, hautatutako adarraren ω balioa 1 baino handiagoa suertatzen zen esangarriki. Halakorik gertatuz gero, espezie horren gene horretan hautespen positiboa gertatu dela ondorioztatu zen, zeren eta ordezkapen ez-sinonimoen kopurua sinonimoena baino handiagoa izateak ω balioa bat baino handiagoa izatea eragiten baitu.

3. EMAITZAK

OrthoFinder analisiak 9 primate-espezie ezberdinei esleitutako 550.451 transkrito identifikatu zituen. Horietatik, %89,96 ortotalde bateren batean sailkatu zen; %10,4 ezin izan zen sailkatu. Hori horrela, 34.190 ortotalde sortu zituen programak analisia bukatzerakoan. Azkeneko hauetatik, 703-k zuten sekuentzia bakarra espezie bakoitzerako; hau da, aztertutako espezie guztientzat amankomunak ziren 703 gene ortologo lortu ziren, horietako bakoitzaren gene-zuhaitza eskuratuz. Aldi berean, primate-espezie bakoitzeko sekuentzia bakarra zuten 703 ortotalde hauen sekuentziak konkatenatu eta haien artean lerrokatu ondoren, 9 espezieak batzen zituen espezie-zuhaitz filogenetikoa eraikitzea lortu zen, adarrek 100eko *bootstrap* balioa erakutsita (2. irudia).

Espezie-zuhaitza eraikitzeke erabili ziren ortotalde hauen artean, espezie-zuhaitz horri doitutako tipologia bera zuten gene-zuhaitzak aurkitu zituen analisiak, 30 guztira. Azkeneko hauek aztertuta, interesekoak (espezie-zuhaitzarekin konparatuta, adar luze bat edo gehiago zeukateanak) ziren 5 aurkitu ziren (i.e., 3. irudia). Gene-zuhaitzen adarren luzera espezieen arteko distantzia genetikoarekiko proportzionala da. Horrela, besteak baino luzeagoa den adarren bat erakusten duen zuhaitzak gene horretarako espezie batek desberdintasun genetiko handiagoak dituela adierazten du eta, beraz, nolabaiteko hautespena gertatu izanaren seinaleztat interpretatu daiteke.

UCSC Genome Browser datu-basea erabilia, gene hauen izaera ondo-ondoztatu zen: metabolismoari lotutako *PPP1R3A* genea (proteina fosfatasa-ren 1 entzimaren 3A azpiunitate erregulatzailea), ugalketarekin erlaziona-tutako *ZPI* genea (zona pellucida-ko esperma-atxikipenerako 1 proteina), eta harrera sentorialarekin zerikusia duten *GPR151* (G-proteinara atxikitutako 151 hartzailea), *OR4D5* (4D5 usain-hartzailea), eta *HTR1B* (5-hidro-xitriptamina 1B hartzailea) geneak.

Adar zehatz batean hautespen positiboa gertatu den detektatzeko balio duen BRANCH analisiaren kasuan, gene guztietan hautespen positiboaren aldeko seinaleak identifikatu ziren adar batean behintzat: *Nomascus leucogenys* espeziearen adarrean *PPP1R3A* (df=1; $p=0,0023^{**}$) eta *HTR1B* (df=1; $p=0,0027^{**}$) geneetarako, *Pan paniscus* eta *Gorilla gorilla* espe-zieen adarretan *ZPI* genearen kasurako (df=1; $p_{Pp}=0,0056^{**}$; $p_{Gg}=0,027^{*}$) eta *Pongo abelii* espeziearen adarrean *GPR151* (df=1; $p=0,0003^{***}$) eta *OR4D5* (df=1; $p=0,0194^{*}$) geneetarako. Adar zehatz bateko leku zehatz ba-tean hautespena detektatzeko erabili zen BRANCH-SITES analisiak, or-dea, *Gorilla gorilla* espeziearen adarraren leku batean baino ez zuen hau-tespenaren seinalea detektatu, *OR4D5* generako (df=1; $p=0,0191^{*}$). Leku hura 130. nukleotidoa suertatu zen, $p=0,89$ probabilitatearekin; hau da, %89ko ziurtasunarekin, leku horrek nolabaiteko hautespena nozitu duela ondoriozta daiteke (1. Taula).

1. taula. BRANCH eta BRANCH-SITES analisien emaitzak. $p < 0,05^{*}$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$

GENEA	Espezia	BRANCH		BRANCH-SITES	
		2ΔL	p-balioa	2ΔL	p-balioa
<i>GPR151</i>	<i>Nomascus</i>	0,9440	0,3313	0,0000	1,0000
	<i>Pongo</i>	13,3879	0,0003^{***}	0,0000	0,9966
	<i>Gorilla</i>	0,0088	0,9252	0,1068	0,7439
	<i>Homo</i>	1,6331	0,2013	0,0000	1,0000
	<i>Pan pa.</i>	0,0000	1,0000	0,0000	1,0000
	<i>Pan tro.</i>	0,0000	1,0000	0,0000	1,0000
<i>OR4D5</i>	<i>Nomascus</i>	0,0171	0,8958	0,4571	0,4990
	<i>Pongo</i>	5,4653	0,0194[*]	0,0000	1,0000
	<i>Gorilla</i>	0,1599	0,6892	5,4893	0,0191[*]
	<i>Homo</i>	0,7463	0,3876	0,7463	0,3877
	<i>Pan pa.</i>	0,0000	1,0000	0,0000	1,0000
	<i>Pan tro.</i>	0,3055	0,5805	0,0000	1,0000
<i>HTR1B</i>	<i>Nomascus</i>	9,0319	0,0027^{**}	0,0000	1,0000
	<i>Pongo</i>	1,4741	0,2247	0,3940	0,5302

GENEA	Especiea	BRANCH		BRANCH-SITES	
		2ΔL	p-balioa	2ΔL	p-balioa
	<i>Gorilla</i>	2,6101	0,1062	0,0000	1,0000
	<i>Homo</i>	2,8586	0,0909	0,0000	1,0000
	<i>Pan pa.</i>	0,0000	1,0000	0,0000	1,0000
	<i>Pan tro.</i>	0,0000	1,0000	0,0000	1,0000
PPP1R3A	<i>Nomascus</i>	9,2940	0,0023**	0,0000	1,0000
	<i>Pongo</i>	1,9857	0,1588	0,0000	1,0000
	<i>Gorilla</i>	0,3602	0,5484	0,0000	0,9989
	<i>Homo</i>	0,9713	0,3243	0,0000	1,0000
	<i>Pan pa.</i>	0,5275	0,4676	0,5181	0,4717
	<i>Pan tro.</i>	0,6784	0,4101	0,0000	1,0000
ZPI	<i>Nomascus</i>	1,3502	0,2453	0,0000	1,0000
	<i>Pongo</i>	3,2391	0,0719	0,0000	1,0000
	<i>Gorilla</i>	4,8728	0,0273*	0,0000	1,0000
	<i>Homo</i>	0,0860	0,7693	0,0000	1,0000
	<i>Pan pa.</i>	7,6829	0,0056**	0,0000	1,0000
	<i>Pan tro.</i>	0,6345	0,4257	0,6230	0,4299

4. EZTABAIDA

Gure emaitzek bat egiten dute LRT metodoa aplikatuz lan egin duten bestelako ikerketa ugari adierazitakoarekin. Izan ere, autore ezberdinek ugalketari, immunologiari, metabolismoari eta harrera sensorialari lotutako geneetan detektatu zituzten hautespen positiboaren seinaleak metodo hau erabiliz [10, 12]. Daub eta haren lagunek [12], gainera, guk bezala, G-proteinetara akoplatutako hartzaileen geneetan (GPCR gene-familiako horietan) behatu zituzten zantzurik sendoenak.

Ugalketari erreparatuz, gure analisiak funtzio horretara lotutako *ZPI* genean detektatu zituen hautespen naturalaren seinaleak. Gene horrek obuluaren zona pellucida (ZP) izeneko glikokaliza egituratzen duten proteinetako bat kodetzen du, eta egitura hura obulua babesteaz eta ernalketa erregulatzeaz arduratzen da [25]. BRANCH modeloan oinarrituta, bi izan ziren gene honetan hautespen positiboa erakutsi zuten espezieak: bonoboa (*P. paniscus*) eta mendebaldeko lautadetako gorila (*G. gorilla*).

Bonoboa txinpantzearen (*P. troglodytes*) ahaidetik hurbilena da, baina bigarren honetan ez da hautespen positiboaren aldeko seinalerik behatu gene honetan. Hori azaltzeko, bi espezie hauen historia biogeografiko ezberdinetan zentratutako hipotesia proposatzen dugu. Bonoboak Kongo

ibaiaren hegoaldean bizi diren tximu matriarkal eta pazifikoak dira; txinpantzeek, berriz, iparraldeko lurraldeetan paratuta dauden sozietate patriarkal eta agresiboak ezartzen dituzte [26]. Ezberdintasun etologiko horren atzean autodomestikazio prozesu bat legoke [27]. Bonoboen aitzindariak Kongo ibaia hegoaldera zeharkatu zutenean, baliabideen eskuragarritasun handiagoa lortu zuten, han txinpantzeekin lehian dauden espezie asko falta direlako (adibidez, gorilak). Hori horrela, bonoboek arbasoek askoz ere maiztasun txikiagoz sortu behar zituzten txinpantzeen generoan hain arruntak diren fisio-fusio taldeak [27]. Talde hauek populazio handi baten noiz-behinkako zatiketaz sortzen diren talde txikiagoak dira, eta euren helburua bizi-eremu handiago bat lortzea da, elikagaiak errazago eskuratzeko [1]. Baliagaietan aberatsagoa zen gune batera heltzean, bonoboek fisio-fusio taldeak sortzeko behar txikiagoa zuten eta, horrela, talde handiagoak eta egonkorragoak sortzen hasi ziren [28]. Egonkortasun horrek emeen arteko erlazioak indartzen hastea eragin zuen, denbora luzeagoa pasatzen zutelako elkarrekin. Horri esker, agresibitate-maila handia erakusten zuten banakoei aurre egiteko gaitasuna lortu zuten emeek, eta hautespen naturalak gazteen antzeko agresibitate-maila baxua erakusten zuten arren moldapena emendatzea ekarri zuen, eta autodomestikazioa gertatu. Hare eta haren lagunek [27] prozesu honen aldeko frogak aurkitu zituzten bonoboetan, eta horien artean ugalketa-zikloari lotutakoak ditugu: bonobo emeek txinpantzeek baino araldi luzeagoa dute, emeen eta arren artean sortzen diren alianza sendo eta luzeagoei esker. Gure ustez, *ZPI* genean ikusitako hautespenaren seinaleak obulazio-aldaketa horrekin izan dezakete zerikusia; izan ere, 2019. urteko ikerketa batean behatu zenez, *ZPI* genean aurkitutako mutazio batzuek folikulu hutsen sindromea zekarten aztertutako emakume gaixo batzuetan [29]. Hau da, *ZPI* genean gertatutako mutazioek obulazio-aldaketak sor ditzakete.

Goriletan ez da autodomestikaziorik ikusi; beraz, aurreko azalpenak ez du zentzurik. Interpretazio bat ernalketa espezifikoarekin lotuta egon zitekeen. Gaur egun existitzen diren bi gorila espezieen arbasoak duela 1,75 milioi urte inguru banatu ziren, baina duela 500 mila urteko bien arteko gene-fluxuaren seinaleak behatu dira bi espezieen genomak [30]. Hori horrela, banako hibridoak sortuko ziren seguruenik, baina oso probablea da banako horietako askok *fitness* murriztuta edukitzea, barrera postzigotiko modura [31]. Denborak aurrera eginda, beraz, hautespen naturalak barrera prezigotiko baten alde egin zuen agian, ernalketa ekiditearen alde eginez. Horretarako, *ZPI* genean mutazio ez-sinonimoak faboratu ahal izan ziren. Ez dago argi, ordea, guk hemen proposatutakoa posiblea den. Izan ere, *ZPI* ez da zuzenean lotzen ernalketaren espezifikotasunarekin [31], eta ikerketa honetan ez dira bestelako gorila-espezieak ikertu.

Harrera sentzorialari dagokionez, GPCR familiako hiru gene ezberdinetan detektatu zen hautespen naturala. Lehenengoa *OR4D5* genea du.

BRANCH modeloa erabilia, gene honetan hautespen positiboaren seinaleak identifikatu ziren Sumatrako orangutanaren (*P. abelii*) adarrean. Usaimenaren pertzepzioa baimentzen duten hartzaileetako bat kodetzeaz arduratzen den genea dugu hau [32]. Espekulazioan oinarrituta, guk planteatutako interpretazioak honako hau postulatu du: orangutanetan limonenoa (fruitu zitrikoen azalean agertzen den substantzia aromatikoa) hobeto detektatzeko mutazioak faboratu ziren gene honetan, uretan joriak diren zitrikoak errazago aurkitzeko. Bi organismoen historia biogeografikoak ere bat datoz honekin; izan ere, bi generoak (*Pongo* eta *Citrus*) Miozeno-Pleistozenoan zehar sortu eta hedatu ziren Asia hego-ekialdeko gune kontinental eta insularretik [33-36]. Interpretazio horrek, gainera, Trimmer eta haren lagunek [37] adierazitakoarekin bat egiten du, gizakietan limonenoaren pertzepzioari lotutako fenotipoa sustatzen duelako gene horrek. Possiblea da, beraz, orangutanak zitrikoak hobeto detektatzeko eboluzionatu izana. Arrazoia pleistozenoko glaziazioek ekarritako lehortek izan zitezkeen; uretan eta zuntzetan oso joriak diren zitrikoak erraz detektatzea faboragarri suertatuko zitzaien orangutanei. Gaur egun, orangutanek zitrikoen familia berean sailkatutako mangladietako limak (*Merope angulata*) jaten dituzte [38], limonenoa detektatzeko fenotipoa esanguratsua suertatu dakiekeela islatuz. BRANCH-SITES modeloak gene honetarako hautespena ondorioztatu zuen gorilan, 130. posizioan 0,89-ko probabilitatearekin. Gorilek oso historia biogeografiko ezberdina dute, eta, beraz, usaimenean aldaketaren bat nozitu duten ondorioztatzeko ikerketa gehiago dira beharrezko.

Hurrengo genea *HTR1B* genea dugu. BRANCH modeloak erakutsi zuenez, gene horrek hautespen positiboaren aldeko seinaleak eman zituen iparraldeko papo-txuridun giboiairen (*N. leucogenys*) adarrean. Serotonina-sisteman parte hartzen duen 5-HT1B hartzailea kodetzeaz arduratzen da gene hau [39]. Mutazio ez-sinonimoen nagusitasun hori azaltzeko, animalia honek erakusten duen portaera bereizgarria azpimarratu daiteke. Giboiak eta siamang-ak (hilobatidoak, oro har) hominoideo monogamo bakarrak dira [1]. Gure hipotesia, beraz, honako hau da: arretan promiskuitatea murriztea eta agresibitatea emendatzea zekarten aldaketak faboratu ziren gene honetan, hilobatidoen monogamia eta horrek behar duen lurraldekoitasuna indartzeko. Ustez, animalia hauen lurraldekoitasuna emeen eskasiari lotuta dago: emeak eskasak direnez gero, arrek etekin handiagoa ateratzen dute monogamo izanda [40] eta, horrek, emeak eta lurraldeak monopolizatzeo agresibitate handia garatzera bultzatzen ditu [41]. Proposatutako hipotesi honen alde egiten dute zenbait ikerketak; izan ere, gene hau inhibitzen denean, gizakien eta saguen agresibitate-maila emendatu egiten da, eta polimorfismo batzuek banakoen promiskuitatea murrizten laguntzen dute [39,42-44]. Garrantzitsua da azpimarratzea, gainera, gene honetan gertatzen diren aldaketek arretan soilik dutela eragina [45].

Azkenik, *GPR151* izan zen hautespen positiboa nozitu izanaren seinaleak emandako harrera sentsorialari lotutako azkeneko genea. BRANCH modeloan, Sumatrako orangutanak erakutsi zituen hautespen naturalaren aldeko seinaleak. Hau dugu gure hipotesia: orangutanetan, nozizepsioa (minaren pertzepzio kontziente) murrizteko mutazioak faboratu ahal izan dira gene honen kasuan, euren bizimodu zuhaiztarraren eta pisu handiaren ondorioz maiz nozitzen dituzten haustura oseoen sendatze-prozesuak hain estresagarri ez suertatzeko. Gene honen funtzioak nahiko ezezaguna izaten jarraitzen du, baina gure hipotesia Xia eta haren lagunak [46] ikerketan oinarritzen da nagusiki. Ikusi zutenez, gene honen adierazpena inhibituta, minaren detekzioa murriztu egiten zen min neuropatikoa pairatutako saguetan. Hori horrela, badirudi gene honek kodetutako hartzaileak minaren harreran nolabaiteko zeregina dutela. Bestelako ikerketa batzuetan behatu denez, gainera, orangutanen hezur luzeek beste tximu antropomorfoenak baino haustura-seinale gehiago dituzte; hau da, orangutanetan hezurak maizago apurtzen dira [47, 48]. Horren arrazoia euren bizimodua litzateke: zuhaiztarrak diren tximu antropomorfo bakarrak dira, pisu nabarmena dutenak. Ondorioz, erorketak maiztasun handiz izaten dituzte. Gerta liteke min gutxiago detektatzeko gaitasuna hezurak azkarrago sendatzeko gaitasunarekin konbinatu izana, baina guk ez dugu horren aldeko frogarik aurkitu.

Amaitzeko, metabolismoarekin erlazionatutako gene batean hauteman zen hautespen naturala, *PPP1R3A* genean hain zuzen. GM/RGL izeneko azpiunitate proteinikoa kodetzen du, muskulu eskeletikoan kokatutako proteina fosfata-1 (PP1) entzimara batzen dena; konplexu hau glukemia maila emendatzean aktibatzen da, muskuluetan glukogenogenesia abiaraziz [49]. BRANCH modeloan, giboak erakutsi zuen hautespen positiboa gene honetarako. Gure interpretazioa hauex litzateke: brakiazioak eta bizimodu zuhaiztarrak hilobatidoak lirainak izatea bultzatuko zuten agian, gene honen gainadierazpena ekarritako mutazioak faboratuz. Hori horrela, bi lorpen hauek izango zituzten primate hauek: energia muskular ugaria (glukogeno asko) eta pisu txikia (gantz gutxi). Horrek bat egiten du Delibegovic eta haren lagunak [50] ikusitakoarekin, gene honen inhibizioak arratoien pisua eta gantz-edukia emendatzea ekartzen baitu, glukosa lipido bilakatzen delakoeta ez glukogeno. Savage eta haren lagunak [51] ikusi zutenez, gainera, gene honetan gerta daitekeen FS mutazioak gizakien zein arratoien miozitoen glukogeno-erreserbagaiak murriztea dakar. Guk detektatutako mutazio hauek eskaintako abantaila, beraz, animalia hauen lokomozio-eredu bereizgarria lotuta egon zitekeen, aurretik aipatutako brakiaziora, hain zuzen. Izan ere, mugitzeko era honek energia-kontsumo ikaragarria eskatzen du [52], eta bizimodu zuhaiztarrak gantz-edukia murriztera bultzatu ditu espezie asko [53].

Gure analisisian ez da immunologiarekin erlazionatutako generik detektatu. Arrazoia espezie-zuhaitzen eta gene-zuhaitzen arteko desadosta-

sunean egon zitekeen, zeren eta 9 espezieetarako ortologoak suertatutako eta espezie-zuhaitzarekin bat etorritako geneak baino ez baitziren hautatu. Hori da, hain zuzen, ikerketa honek duen mugarik nabarmenena, jarraitutako gene-hautaketarako prozedura zehatzak informazio genetiko handia galtzea ekarri baitu. Hala, etorkizunera begira, ikerketan baztertu diren geneak (bai desadostasuna dela medio, bai adar luzea ez zutelako) integratu ditzaketen metodoak aplikatu daitezke. Aldi berean, azterketa berriak bideratu daitezke populazio-mailan, proposatutako prozesu ebolutiboak espezie baten baitako populazioen artean ezberdinak suertatu diren ikusteko. Gainera, orain arte egindako azterketa etologikoak ez dira nahikoak lan honetan plazaratutako zenbait hipotesi argitzeko. Hori horrela, informazio molekularren eta jokabidearen arteko erlazioa sendotu ahal izateko, azterketa etologiko gehiago beharko lirarteke.

ESKER ONAK

Ikerketa hau burutzeko, Eusko Jaurlaritzako Ikasiker beka - 21/22 (I.L. jaso du) eta ikerketa taldeetarako 2021ko deialdiko laguntza (IT1693-22) jaso da.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] ESPINO, M.L. 2019. *Primates: Biología, comportamiento y evolución*. Lynx, Barcelona.
- [2] MARTIN, R.D. eta MARTIN, A.E. 1990. *Primate Origins and Evolution: A Phylogenetic Reconstruction*. Princeton University Press, Princeton.
- [3] NAPIER, J.R. 1961. «Prehensibility and Opposability in the hands of primates». *Symposium of the Zoological Society of London*, **5**, 115-132.
- [4] BENEFIT, B.R. eta MCCROSSIN, M.L. 2015. «A window into ape evolution». *Science*, **6360**, 515-516.
- [5] ROSENBERGER, A.L. eta HARTWIG, W.C. 2013. *Primates (Lemurs, Lorises, Tarsiers, Monkeys and Apes)*. Chichester, Wiley.
- [6] ENARD, W. eta PÄÄBO, S. 2004. «Comparative Primate Genomics». *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, **5**, 351-378.
- [7] SIEPEL, A. 2009. «Phylogenomics of primates and their ancestral populations». *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, **19**, 1929-1941.
- [8] ROGERS, J. eta GIBBS, R.A. 2014. «Comparative primate genomics: emergent patterns of genome content and dynamics». *Nature*, **15**, 347-359.
- [9] PRADO-MARTINEZ, J., SUDMANT, P. H., KIDD, J. M., LI, H., KELLEY, J. L., LORENTE-GALDOS, B. ... MARQUES-BONET, T. 2013. «Great ape genetic diversity and population history». *Nature*, **499**, 471-475.
- [10] KOSIOL, C., VINAR, T., DA FONSECA, R., HUBISZ, M.J., BUSTAMANTE, C.D., NIELSEN, R. eta SIEPEL, A. 2008. «Patterns of Positive Selection in Six Mammalian Genomes». *PLoS Genetics*, **8**, 1-17.

- [11] CLARK, A.G., GLLANOWSKI, S., NIELSEN, R., THOMAS, P.D. eta KEJARIWAL, A. 2003. «Inferring non-neutral evolution from human-chimp-mouse orthologous gene trios». *Science*, **302**, 1960-1963.
- [12] DAUB, J.T., MORETTI, S., DAVYDOV, I.I., EXCOFFIER, L. eta ROBINSON-RECHAVI, M. 2017. «Detection of Pathways affected by Positive Selection in Primate Lineages Ancestral to Humans». *Molecular Biology and Evolution*, **6**, 1391-1402.
- [13] ARBIZA, L., DOPAZO, J. eta DOPAZO, H. 2006. «Positive selection, relaxation, and acceleration in the evolution of the human and chimp genome». *PLoS Computational Biology*, **2**, 20-38.
- [14] DAUB, J.T., HOFER, T., CUTIVET, E., DUPANLOUP, I., QUINTANA-MURCI, L., ROBINSON-RECHAVI, M. eta ESCOFFIER, L. 2013. «Evidence for phylogenetic adaptation to pathogens in the human genome». *Molecular Biology and Evolution*, **30**, 1544-1558.
- [15] GROSSMAN, L.I., WILDMAN, D.E., SCHMIDT, T.R. eta GOODMAN, M. 2004. «Accelerated evolution of the electron transport chain in anthropoid primates». *Trends Genetics*, **20**, 578-585.
- [16] ANISIMOVA, M. eta YANG, Z. 2007. «Multiple hypothesis testing detect lineages under positive selection that affects only a few sites». *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 1219-1228.
- [17] YANG, Z. 2007. «PAML 4: Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood». *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 1586-1591.
- [18] CUNNINGHAM, F., ALLEN, J.E., ALLEN, J., ALVAREZ-JARRETA, J., AMODE, M.R., ARMEAN, I.M., ... FLICEK, P. 2021. «Ensembl 2022». *Nucleic Acids Research*, **50**, 988-995.
- [19] EMMS, D.M, eta KELLY, S. 2015. «Solving fundamental biases in whole genome comparisons dramatically improves orthogroup inference accuracy». *Genome Biology*, **16**, 157-166.
- [20] EMMS, D.M. eta KELLY, S. 2019. «OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics». *Genome Biology*, **20**, 238-252.
- [21] KATOH, K. eta STANDLEY, D.M. 2013. «MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability». *Molecular Biology and Evolution*, **30**, 772-780.
- [22] TAMURA, K., STECHER, G. eta KUMAR, S. 2021. «MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11». *Molecular Biology and Evolution*, **38**, 3022-3027.
- [23] HALL, T.A. 1999. «BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows». *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95-98.
- [24] KENT, W.J., SUGNET, C.W., FUREY, T.S., ROSKIN, K.M., PRINGLE, T.H., ZAHLER, A.M. eta HAUSSLER, D. 2002. «The Human genome browser at UCSC». *Genome Research*, **12**, 996-1006.
- [25] SWANSON, W., YANG, Z., WOLFNER, M.F. eta AQUADRO, C.F. 2001. «Positive Darwinian selection drives the evolution of several female reproductive proteins in mammals». *PNAS*, **98**, 2509-2514.

- [26] TAKEMOTO, H., KAWAMOTO, Y. eta FURUICHI, T. 2015. «How did Bonobos come to range south of the Congo River? Reconsideration of the divergence of *Pan paniscus* from other *Pan* populations». *Evolutionary Anthropology*, **24**, 170-184.
- [27] HARE, B., WOBBER, V. eta WRANGHAM, R. 2011. «Self-domestication hypothesis: evolution of bonobo psychology is due to selection against aggression». *Animal Behaviour*, **2012**, 1-13.
- [28] FURUICHI, T. 2011. «Female contributions to the peaceful nature of bonobo society». *Evolutionary Anthropology*, **20**, 131-142.
- [29] DAI, C., CHEN, Y., HU, L., DU., J., GONG, F., DAI, J., ... LIN, G. 2019. «ZP1 mutations are associated with empty follicle syndrome: evidence for the existence of an intact oocyte and zona pellucida in follicles up to the early antral stage. A case Report». *Human Reproduction*, **34**, 2201-2207.
- [30] SCALLY, A., DUTHEIL, J.Y., HILLIER, L.W., JORDAN, G.E., GOODHEAD, I., HERRERO, J., ... DURBIN R. 2012. «Insights into hominid evolution from the gorilla genome sequence». *Nature* **483**, 169-175.
- [31] VIEIRA, A. eta MILLER, D.J. 2006. «Gamete interaction: is it species-specific?». *Molecular Reproduction and Development*, **73**, 1422-1429.
- [32] OLENDER, T., LNCET, D. eta NEBERT, W. 2008. «Update on the olfactory receptor (OR) gene superfamily». *Human Genomics*, **3**, 87-97.
- [33] SWINGLE, W.T. eta REECE, P.C. 1967. *The Citrus Industry: History, World Distribution, Botany, and Varieties Vol.1*. University of California, California.
- [34] RIKSEN, H.D. eta MEIJAARD, E. 1999. *Our Vanishing Relative: The Status of Wild Orang-Utans at the Close of the Twentieth Century*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- [35] STEIPER, M.E. 2006. «Population history, biogeography, and taxonomy of orangutans (Genus: *Pongo*) based on a population genetic meta-analysis of multiple loci». *Journal of Human Evolution*, **50**, 509-522.
- [36] WU, G.A., TEROL, J., IBANEZ, V., LOPEZ-GARCÍA, A., PÉREZ-ROMÁN, E., BORREDÁ, C., ... TALON, M. 2018. «Genomics of the origin and evolution of *Citrus*». *Nature*, **554**, 311-316
- [37] TRIMMER, C., KELLER, A., MURPHY, N.R., SNYDER, L.L., WILLER, J.R., NAGAI, M., ... MAINLAND, J.D. 2019. «Genetic variation across the human olfactory receptor repertoire alters odor perception». *PNAS*, **116**, 9475-9480.
- [38] GALDIKAS, B.M.F. 1988. «Orangutan Diet, Range, and Activity at Tanjung Puting, Central Borneo». *International Journal of Primatology*, **9**, 1-35.
- [39] NEW, A.S., GELERNTER, J., GOODMAN, M., MITROPULOU, V., KOENIGSBERG, H., SILVERMAN, J. eta SIEVER, L.J. 2001. «Suicide, Impulsive Agression, and HTR1B genotype». *Biological Psychiatry*, **50**, 62-65.
- [40] SCHACHT, R. eta BELL, A.V. 2016. «The evolution of monogamy in response to partner scarcity». *Scientific Reports*, **6**, 1-9.
- [41] PALOMBIT, R.A. 1993. «Lethal territorial aggression in a white-handed gibbon». *American Journal of Primatology*, **31**, 311-318.

- [42] RAMBOZ, S., SAUDOU, F., AMARA, D.A., BELZUNG, C., SEGU, L., MISSLIN, R., ... HEN, R. 1996. «5-HT1B receptor knock out-behavioral consequences». *Behavioural Brain Research*, **73**, 305-312.
- [43] JÓZKOV, P., SLOWINSKA-LISOWSKA, M., LACZMANSKI, L. eta MEDRAS, M. 2013. «Polymorphic variants of neurotransmitter receptor genes may affect sexual function in aging males: data from the HALS study». *Neuroendocrinology*, **98**, 51-59.
- [44] OLIVER, B., CHAN, J.S., SNOEREN, E.M., OLIVER, J.D., VEENING, J.G., VINKERS, C.H., ... OOSTING, R.S. 2011. «Differences in sexual behaviour in male and female rodents: role of serotonin». *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, **8**, 15-36.
- [45] CONNER, T.S., JENSEN, K.P., TENNEN, H., FURNEAUX, H.M., KRANZLER, H.R. eta COVAULT, J. 2009. «Functional Polymorphisms in the Serotonin 1B Receptor Gene (*HTR1B*) Predict Self-Reported Anger and Hostility Among Young Men». *American Journal of Medical Genetics*, **2**, 67-78.
- [46] XIA, L.P., LUO, H., MA, Q., XIE, Y.K., LI, W., HU, H. eta XU, Z.Z. 2021. «*GPR151* in nociceptors modulates neuropathic pain via regulating P2X3 function and microglial activation». *BRAIN*, **144**, 3405-3420.
- [47] SCHULTZ, A.H. 1956. *Primatologia: handbook of primatology*. Karger, New York.
- [48] THORPE, S.K.S. eta CROMPTON, R.H. 2006. «Orangutan positional behavior and the nature of arboreal locomotion in Hominoidea». *American Journal of Physical Anthropology*, **131**, 384-401.
- [49] TANG P.M., BONDOR, J.A., SWIDEREK, K.M. eta DEPOALI-ROACH, P. 1991. «Molecular cloning and expression on the regulatory (R_{GL}) subunit of the glycogen associated protein phosphatase». *Journal of Biological Chemistry*, **266**, 15782-15789.
- [50] DELIBEGOVIC, M., ARMSTRONG, C.G., DOBBIE, L., WATT, P.W., SMITH, A.J.H. eta COHEN P.T.W. 2003. «Disruption of the striated muscle glycogen targeting subunit PPP1R3A of protein phosphatase 1 leads to increased weight gain, fat deposition, and development of insulin resistance». *Diabetes*, **3**, 596-604.
- [51] SAVAGE, D.B., ZHAI, L., RAVIKUMAR, B., CHOI, C., SNAAR, J.E., MCGUIRE, A., ... DE PAOLI-ROACH, A.A. 2008. «A prevalent variant in *PPP1R3A* impair glycogen synthesis and reduces muscle glycogen content in humans and mice». *PLoS Medicine*, **5**, e27.
- [52] PARSON, P.E eta TAYLOR, C.R. 1977. «Energetics of Brachiation versus Walking: A Comparison of a Suspended and an Inverted Pendulum Mechanism». *Physiological Zoology*, **50**, 182-188.
- [53] DITTUS, W.P.J. 2013. «Arboreal Adaptations of Body Fat in Wild Toque Macaques (*Macaca sinica*) and the Evolution of Adiposity in primates». *American Journal of Physical Anthropology*, **152**, 333-344.